فصلنامه اعتیاد پژوهی سوء مصرف مواد، سال پنجم، شماره نوزدهم، پاییز ۱۳۹۰
Journal of Research on Addiction, Vol. 5, No. 19, Autumn 2011

مقاله پژوهشی
Research Article

اثر تزریق L–آرژینین و L-NAME در ناحیه CA_1 هیپوکامپ موش بزرگ نر بر بی دردی ناشی از مرفین در آزمون فرمالین

محبوبه هاشمی[۱]، منیژه کرمی[۲]، محمدرضا زرین دست[۳]، موسی صاحبقرانی[۴]

تاریخ دریافت: ۱۳۸۹/۰۷/۰۹ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۹/۱۲/۱۴

چکیده

مقدمه: پژوهش حاضر به بررسی اثر تزریق L–آرژینین و L-NAME که به ترتیب پیش ساز نیتریک اکساید و بازدارنده آنزیم نیتریک اکساید سینتاز هستند در ناحیه CA_1 هیپوکامپ بر بی دردی ناشی از مرفین در موش بزرگ نر در آزمون فرمالین پرداخته است. **روش:** درد التهابی در موش‌های نر نژاد ویستار توسط تزریق کف پای فرمالین (۲/۵ درصد به مقدار ۵۰ میکرولیتر) به صورت زیرپوستی قبل از آزمون ایجاد شد. مرفین (mg/Kg ۹–۳) به صورت داخل صفاقی ۱۰ دقیقه قبل از فرمالین تزریق شد. **یافته‌ها:** مطالعه اخیر نشان داد که مرفین (mg/kg۹–۳) بر درد التهابی فرمالین اثر کاهشی داشت. تزریق L–آرژینین (µg/rat ۰/۰،۱۵/۳،۱،۳)، ۵ دقیقه قبل از تزریق فرمالین، پاسخ ناشی از مرفین را برگرداند و L-NAME (µg/rat ۰/۰،۱۵/۱،۳) این اثر را در فاز مزمن نشان داد. اما در فاز مزمن هر دو عامل تزریق شده اثر معنی دار ایجاد کردند. پیش تزریق L-NAME از پاسخ L–آرژینین جلوگیری کرد. از طرف دیگر، L–آرژینین یا L-NAME به تنهایی پاسخ معنی داری را در فاز مزمن ایجاد نکردند. بر طبق داده‌ها تداخل بین مرفین و نیتریک اکساید از لحاظ آماری معنی دار بود. **نتیجه‌گیری:** بر طبق یافته‌ها نیتریک اکساید در ناحیه CA_1 هیپوکامپ موش بر بی دردی ناشی از مرفین تأثیر داشت.

کلید واژه‌ها: نیتریک اکساید، مرفین، بی دردی، هیپوکامپ

۱. نویسنده مسئول: کارشناسی ارشد فیزیولوژی جانوری دانشگاه شاهد. پست الکترونیکی: mahboob_m80@yahoo.com
۲. استادیار گروه فیزیولوژی دانشگاه شاهد
۳. استاد گروه داروشناسی دانشگاه علوم پزشکی تهران
۴. استادیار گروه فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی تهران

مقدمه

نیتریک اکساید[1] کوچک‌ترین پیامبر زیستی (احتمالاً به استثنای منواکسیدکربن) است. این ماده که منبسط کننده قوی عروق است توسط اندوتلیوم عروق به طور مداوم تولید شده و با اثر بر عضلات صاف باعث ایجاد انبساط عروقی و حفظ جریان خون می‌شود. این ماده اولین بار به عنوان فاکتور شل کننده مشتق از اندوتلیوم[2] نامیده شد. در سال ۱۹۸۷، پالمر[3] و همکاران گزارش کردند که این عامل همان نیتریک اکساید است (به نقل از اوکاتومی[4] و نومتو[5]، ۱۹۹۷).

نیتریک اکساید از اسید آمینه L-Arginine در یک واکنش اکسیداسیون (۵-الکترون) کاتالیز می‌شود که توسط نیتریک اکساید سینتاز[6] مشتق می‌گردد (آریگارد[7]، ۱۹۹۴). نیتریک اکساید یک ترکیب شیمیایی بسیار کوچک است که ذخیره نمی‌شود بلکه از محل تشکیل خود به جایگاه اثرش منتشر می‌شود و قابل حل در آب و چربی است و به راحتی در بافت‌ها منتشر می‌شود. این مولکول نیمه عمر کوتاهی دارد و تولید آن در پاسخ به آگونیست ظرف مدت کوتاهی خاتمه می‌یابد (وینر[8] و تامپسون[9]، ۱۹۹۷؛ ویسر[10]، گرابر[11] و شاگل[12]، ۱۹۹۷). از آنجائی که نیتریک اکساید در اندامک های درون سلولی ذخیره نمی‌شود، تراکم بالای آنزیم‌های سنتز کننده‌اش در مواقعی که به افزایش تولید آن نیاز باشد، ضروری است. این مولکول از نقطه تولید خود از هر سو تا مسافت ۳/. میلی متر منتشر می‌شود؛ با توجه به این محدوده وسیع نقش‌های احتمالی زیادی برای نیتریک اکساید محتمل می‌باشد (سلیمانی نژاد، نقدی، سمنانیان، فتح الهی و کاظم نجاد، ۱۹۹۱).

نقش هیپو کامپ[13] به عنوان بخشی از سیستم لیمبیک در حافظه طولانی مدت نشان داده شده است. اما تحقیقات اخیر نقش تشکیلات هیپوکامپ در درد را نشان داده‌اند

1. Nitric Oxide
2. Endothelium derived relaxing factor
3. Palmer
4. Okutomi
5. Nometo
6. Nitric Oxide Synthesis
7. Ariggar
8. Weiner
9. Thompso
10. Wieser
11. Gruber
12. Tschuggl
13. Hippocampus

(سلیمانی‌نژاد و همکاران، ۱۹۹۱). بر طبق آزمایشات قبلی سلول‌های هرمی و بینابینی ناحیه CA_1 هیپوکامپ پشتی در ایجاد درد نقش دارند و تزریق موضعی مولدهای درد به شکنج دندانه‌ای موجب بروز درد در آزمون فرمالین می‌شود (خانا[1]، ۱۹۹۷).

در این پژوهش نقش نیتریک اکساید در ناحیه CA_1 هیپوکامپ بر بی دردی القائی مرفین در آزمون فرمالین بررسی شد. به این منظور از تزریق مستقیم عوامل پیش ساز و بازدارنده سیستم نیتریک اکساید استفاده شد.

روش

جامعه، نمونه و روش نمونه گیری

در این تحقیق موش‌های سفید بزرگ[2] نر نژاد ویستار[3] خریداری شده از انستیتو پاستور تهران که وزن آنها ۲۰۰ تا ۲۴۰ گرم می‌باشد مورد استفاده قرار گرفته‌اند. موش‌ها در حیوان خانه آزمایشگاه نگهداری می‌شوند. وقتی که موش‌ها شرایط جراحی را پیدا می‌کنند آن‌ها را به اتاق جراحی منتقل کرده و پس از تزریق داخل صفاقی ماده بی هوشی (کتامین و زایلازین (۵:۲)) در دستگاه استریو تاکسی عملیات کانول گذاری بر روی آن‌ها انجام شد. کانول راهنما مجرایی است که برای هدایت صحیح کانول تزریق، مورد استفاده قرار می‌گیرد و نسبت به محل مورد نظر که CA_1 مغز موش است با فاصله مناسبی از آن قرار می‌گیرد تا کانول تزریق را به آن ناحیه هدایت کند. مختصات این سایت‌ها از اطلس پاکسینوس[4] و واتسون[5] استخراج شده است. پس از شماره گذاری موش‌ها و ثبت مشخصات و به هوش آمدن مجدداً به حیوان خانه منتقل می‌شوند.

پس از بهبودی، تزریقات داخل مغزی توسط یک کانول تزریق که 1mm پایین‌تر از انتهای کانول راهنما است با سرنگ هامیلتون صورت گرفت. سپس برای سنجش درد از آزمون فرمالین استفاده شد. برای این کار ابتدا به منظور انطباق با محیط آزمایش موش‌ها به

1. Khanna
2. Rat
3. Wistar
4. Paxinox
5. Watson

مدت ۳۰ دقیقه پیش از تزریق دارو، در محل به حال خود رها می‌شدند. بعد از تزریق داروها، محلول فرمالین ۲/۵ ٪ به مقدار ۵۰ میکرولیتر به صورت زیر پوستی به پنجه پای عقب و چپ موش با سرنگ انسولین تزریق می‌شدند. محفظه آزمون شامل یک صفحه شیشه‌ای بود که در زیر آن آینه‌ای با زاویه ۴۵° قرار داشت و استوانه‌ای شیشه‌ای به اضلاع ۳۰×۳۰×۳۰ روی آن قرار داده شده بود. کل زمانی را که حیوان مشغول لیسیدن یا گاز گرفتن پنجه تزریق شده بود، در فاصله زمانی ۵-۰ و ۶۰-۱۵ دقیقه به عنوان معیاری از درد در نظر گرفته شد.

حیوانات را در گروه‌های شش یا هفت تایی قرار داده و برای هر گروه تزریق صورت گرفته است. با استفاده از داده‌های خام، میانگین ± خطای استاندارد (SEM) را محاسبه کردیم.

بررسی آماری و آنالیز داده‌ها به روش آنووا[1] یک طرفه و دوطرفه برای مقایسه بین اثر دوزهای مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرد. در صورت وجود F-value معنی دار، آزمون توکی[2] برای مقایسه بین گروه‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد. تفاوت با P< ۰/۰۵ بین گروه‌ها از لحاظ آماری معنی دار[3] تلقی می‌گردد.

در پایان آزمایشات تمام حیوانات گروه‌های مختلف جهت تعیین کانول مورد بررسی قرار می‌گیرند. به این ترتیب که حیوانات با کلروفرم کشته شده و سپس با سرنگ هامیلتون آبی متیلن از طریق کانول راهنما به داخل مغز تزریق شده و بعد از خارج نمودن مغز حیوان از جمجمه و فیکس نمودن آن‌ها در فرمالین با انجام فرآیند بافتی صحت عمل کانول گذاری تائید می‌گردد.

سال پنجم، شماره ۱۹، پاییز ۱۳۹۰
Vol. 5, No. 19, Autumn 2011

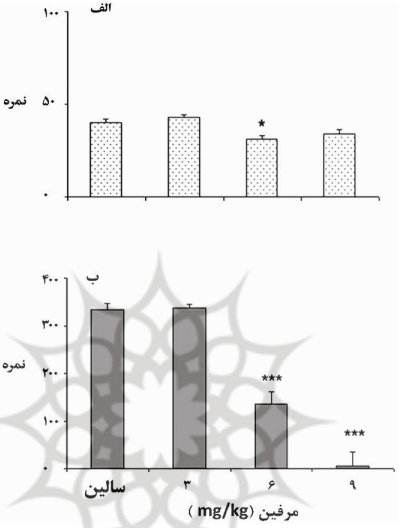
یافته‌ها

اثر مرفین بر درد التهابی آزمون فرمالین در موش‌های سالم: اثر مرفین بر درد در فاز حاد (الف) و فاز مزمن(ب) آزمون فرمالین در نمودار (۱) نمایش داده شده است. حیوانات

1. One Way Anova
2. Tukey
3. Significant

تحت آزمایش، مرفین (۹ mg/kg، ۶، ۳) و سالین (۱ ml/kg) را به صورت داخل صفاقی[1] یک بار ۱۰ دقیقه قبل از آزمون دریافت کردند. گروه کنترل فقط سالین (۱ ml/kg) دریافت کرد.

داده‌ها به صورت میانگین درجه بی دردی ± خطای استاندارد(SEM) نشان داده شده است.



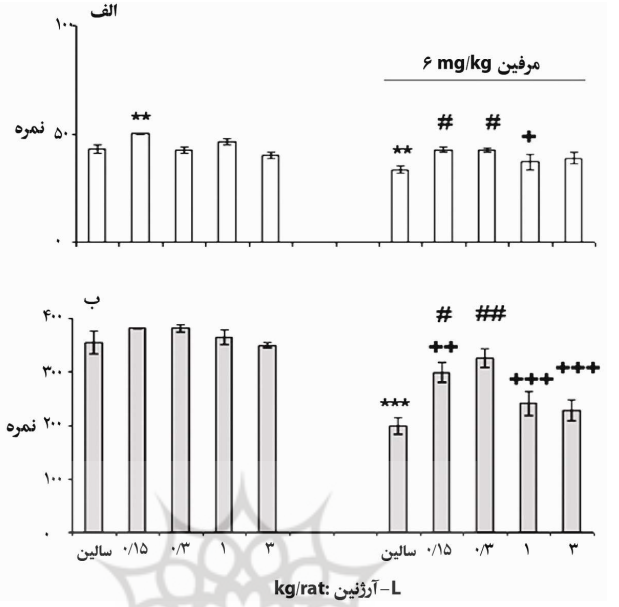
نمودار ۱: اثر مرفین بر درد ناشی از فرمالین در فاز حاد (الف) و فاز مزمن (ب) نشان داده شده است.

* $P<0.05$ و *** $P<0.001$ تفاوت گروه‌های تجربی را نسبت به گروه کنترل نشان می‌دهند (۷ مورد).

مطابق نتایج مرفین بر درد ناشی از فرمالین موثر بود و با توجه به منحنی پاسخ، در آزمایشات بعدی از ۶ mg/kg دارو به عنوان دوز موثر استفاده شد.

اثر تزریق L-آرژینین به داخل ناحیه CA_1 هیپوکامپ به تنهایی و یا همراه با مرفین در آزمون فرمالین: تزریق L-آرژینین به داخل ناحیه CA_1 هیپوکامپ با مقادیر (۰/۱۵ – ۳ µg/rat) به تنهایی یا همراه دوز مؤثر مرفین (۶mg/kg) برای بررسی این دست‌کاری بر درد ناشی از فرمالین به وسیله آزمون فرمالین بررسی شد.

1. i.p.



نمودار ۲: اثر L-آرژنین را به تنهایی در آزمون فرمالین بر درد ناشی از فرمالین در فاز حاد (الف) و فاز مزمن (ب) نشان می‌دهد.

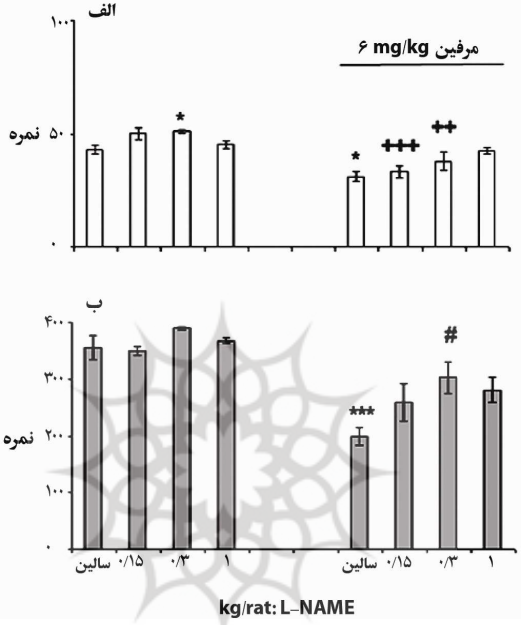
$P<0/01$ ** و $P<0/001$*** تفاوت گروه‌های تحت آزمایش را با گروه کنترل منفی یعنی سالین و $P<0/05$+ و $P<0/01$++ و $P<0/001$+++ تداخل گروه‌های متناظر را مشخص می‌کند (۶ مورد) و $P<0/05$# و $P<0/01$## تفاوت گروه‌های تحت آزمایش را با گروه کنترل مثبت نشان می‌دهند (۷ مورد).

نمودار (۲) اثر L-آرژنین را بر پاسخ مرفین در آزمون فرمالین در فاز حاد (الف) و فاز مزمن (ب) نشان می‌دهد. در این قسمت آزمایش، حیوانات مرفین (۶ mg/kg) را یکبار به صورت داخل صفاقی ۱۰ دقیقه قبل از آزمون فرمالین دریافت داشتند.

گروه کنترل به جای L-آرژنین، سالین (۱µg/rat) را به صورت داخل CA_1 هیپوکامپ دریافت کرد. داده‌ها به صورت میانگین درجه درد ± خطای استاندارد (SEM) نشان داده شده است. بررسی یافته‌ها نشان داد که تزریق L-آرژنین به تنهایی در آزمون فرمالین، بر پاسخ فاز حاد موثر است اما اثر آن بر پاسخ فاز مزمن نسبت به گروه کنترل از نظر آماری معنی دار نیست. تجزیه و تحلیل داده‌ها به کمک آنوا یک طرفه اثر L-آرژنین همراه با مرفین را بر پاسخ درد در دو فاز حاد و مزمن معنی دار نشان می‌دهد ($P<0/05$).

سال پنجم، شماره ۱۹، پاییز ۱۳۹۰
Vol. 5, No. 19, Autumn 2011

اثر تزریق داخل ناحیه CA_1 هیپوکامپ L-NAME به تنهایی یا با مرفین بر پاسخ در آزمون فرمالین: نمودار (۳) اثر L-NAME (۰/۱۵ – ۱ µg/rat) را به تنهایی در آزمون فرمالین بر درد در فاز حاد (الف) و فاز مزمن (ب) آزمون فرمالین نشان می‌دهد.



نمودار ۳: اثر L-NAME را به تنهایی در آزمون فرمالین بر درد ناشی از فرمالین در فاز حاد (الف) و فاز مزمن (ب) نشان می‌دهد.

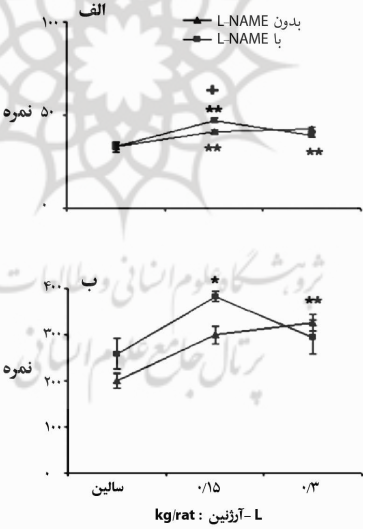
*P< ۰/۰۵ و ***P< ۰/۰۰۱ تفاوت گروه‌های تحت آزمایش را نسبت به گروه کنترل منفی یعنی سالین و ++P< ۰/۰۱ و +++P< ۰/۰۰۱ تفاوت گروه‌های متناظر را مثبت نشان می‌دهد (۶ مورد) و #P< ۰/۰۵ تفاوت را با گروه کنترل مثبت مشخص می‌کند (۷ مورد).

همچنین حیوانات تحت آزمایش به صورت داخل ناحیه CA_1 هیپوکامپ، L-NAME را با مقادیر (۰/۱۵ – ۱ µg/rat) همراه با مرفین (۶ mg/kg) دریافت کردند. گروه کنترل به جای L-NAME، سالین (۱ µg/rat) را به صورت داخل ناحیه CA_1 هیپوکامپ دریافت کرد. داده‌ها به صورت میانگین درجه درد ± خطای استاندارد (SEM) نشان داده شده است.

در این شرایط، مرفین (۶ mg/kg) یک بار به صورت داخل صفاقی ۱۰ دقیقه قبل از آزمون فرمالین تزریق شد. L-NAME (۰/۱۵-۱ µg/Rat) ۵ دقیقه قبل از آزمون تزریق شد. گروه کنترل مربوطه به جای L-NAME، سالین (۱ µg/Rat) را به صورت داخل ناحیه CA_1 هیپوکامپ دریافت کرد. داده‌ها به صورت میانگین درجه درد ± خطای استاندارد (SEM) نشان داده شده است.

اثر پیش تزریق L-NAME به داخل ناحیه CA_1 هیپوکامپ هم‌زمان با تزریق L-آرژینین بر بی دردی ناشی از مرفین: حیوانات L-آرژینین (۰/۳ µg/rat - ۰/۱۵) را به تنهایی (گروه کنترل) و یا توام با L-NAME (۰/۱۵ µg/Rat) به صورت داخل ناحیه CA_1 هیپوکامپ دریافت کردند. گروه کنترل منفی به جای L -آرژینین و یا L-NAME، سالین (۱ µg/Rat) را به صورت داخل ناحیه CA_1 هیپوکامپ دریافت کرد.

نمودار (۴) اثر پیش تزریق L-NAME بر پاسخ L-آرژینین در هر دو فاز آزمون فرمالین را نشان می‌دهد. داده‌ها به صورت میانگین ± خطای استاندارد نشان داده شده است.



نمودار ۴: اثر L-NAME را در برگرداندن اثر L-آرژنین در کاهش بی دردی حاصل از مرفین را در دو فاز نشان می‌دهد.

P<۰/۰۵ * و P<۰/۰۱** تفاوت گروه‌های تجربی را نسبت به گروه کنترل مربوطه و P<۰/۰۵+ تداخل گروه‌های متناظر را مشخص می‌کند (۷ مورد).

نتایج داده‌ها نشان می‌دهد که پیش تزریق L-NAME در هر دو مرحله آزمون فرمالین اثر معنی دار دارد. در این آزمایشات تداخل سیستم نیتریک اکساید با مرفین به کمک آنالیز نشان داده شده است.

بحث و نتیجه گیری

این تحقیق نشان داد که L-آرژینین تزریق شده به ناحیه CA_1 هیپوکامپ موش‌های بزرگ پاسخ بی دردی مرفین را در هر دو مرحله حاد و مزمن به طور معنی دار کاهش می‌دهد. ولی تزریق L-NAME به ناحیه CA_1 هیپوکامپ بر فاز حاد این پاسخ موثر نبود. اما این بازدارنده تشکیل نیتریک اکساید در فاز مزمن آزمون فرمالین (بیجلانی[1]، ۱۹۹۷)، به طور قابل ملاحظه‌ای رفتار بی دردی را در موش‌هایی که مرفین دریافت کرده بودند، تغییر داد. هیپوکامپ به عنوان بخش ضروری حافظه و یادگیری در مغز شناخته می‌شود (بوزارث[2]، پودیاک[3] و موریس[4]، ۱۹۹۳؛ لنکستر[5]، ۱۹۹۶؛ پکارد[6] و وایت[7]، ۱۹۹۱؛ اسکووایر[8]، ۱۹۹۲؛ ساترلند[9] و مک دو نالد[10]، ۱۹۹۰؛ وان[11] پنگ[12]، التن[13]،۱۹۹۴). نیتریک اکساید با حافظه طولانی مدتی ارتباط دارد که وابسته به هیپوکامپ است و معمولاً این پدیده به دنبال دریافت سیگنال توسط یک نورون یا گروهی از نورون ها رخ می‌دهد (هالسچر[14] و رز[15]، ۱۹۹۲؛ اسکامن[16] و مدیسون[17]، ۱۹۹۱).

مطالعات قبلی نقش CA_1 هیپوکامپ را در درد نشان داده‌اند (سلیمانی نژاد و همکاران، ۲۰۰۷) و نشان داده شده که اگر آنتاگونیست گیرنده NMDA، MK801 به ناحیه CA_1 هیپوکامپ تزریق شود، درد طی فاز مزمن آزمون فرمالین کاهش می‌یابد (سلیمانی نژاد و همکاران، ۲۰۰۷).

1. Bijlani
2. Bozarth
3. Pudiak
4. Morris
5. Lancaster
6. Packard
7. White
8. Squire
9. Sutherland
10. McDonald
11. Wan
12. Pang
13. Olton
14. Holscher
15. Rose
16. Schuman
17. Madison

همان گونه که یافته‌های قبلی نشان می‌دهد، اینترنورون های گاباارژیک دارای گیرنده‌های NMDA هستند (راکا[1]، استریت[2]، رابرتز[3]، سومگی[4]، استفنسون[5]، ۲۰۰۰)، پس بدیهی است که MK801 اثر بی دردی خود را به وسیله مهار این اینتر نورون ها در ناحیه CA_1 هیپوکامپ اعمال می‌کند (سلیمانی نژاد و همکاران، ۲۰۰۷). همچنین یافته‌های قبلی نشان می‌دهد که تزریق زیر پوستی فرمالین میزان شلیک نورونی[6] را در بخش وسیعی از CA_1 که محل تراکم نورون های بینابینی گاباارژیک است افزایش داده و تحریک سیناپسی سلول‌های هرمی CA_1 را کاهش می‌دهد. دو دانشمند به نام‌های زنگ[7] و خانا (۱۹۹۹) استدلال کردند که پاسخ به محرک‌های درد زا توسط اثر مرفین بر اینتر نورون‌های CA_1 هیپوکامپ تعدیل می‌شود (کانا، ۱۹۹۷).

بیین و بارگاوا (۱۹۹۸) نشان دادند که اثر بی دردی تزریق مرفین (زیر پوستی ۱۰mg/kg) در موش‌های نر نژاد ویستار به وسیله تجویز مزمن L-آرژینین (داخل صفاقی ۲۰۰mg/kg) کاهش یافت و پیشنهاد دادند که فعال شدن سیستم نیتریک اکساید بی دردی مرفین را احتمالاً به وسیله مهار اثر آن بر مناطق مرکزی نخاع و مغز میانی کاهش می‌دهد. مطالعات دیگر نشان داد که تزریق طولانی مدت L-آرژینین بی دردی القا شده به وسیله مرفین که به شکل محیطی تزریق شده بود به خاطر کاهش جذب مرفین در مغز اثر کاهشی داشت. شواهد نشان می‌دهد که تزریق طولانی مدت با L-آرژینین اثرات بی دردی مرفین را یا با افزایش فعالیت نیتریک اکساید سینتاز یا کاهش سطح مرفین در مناطق مرکزی مغز و نخاع کاهش می‌دهد (بارگاوا[8] و بیین[9]، ۱۹۹۷). برای روشن شدن مکانیسم اثرات L-آرژینین بر بی دردی القا شده به وسیله مرفین، MK801 بلوک کننده رسپتورهای

1. Racca
2. Streit
3. Roberts
4. Somogyi
5. Stephenson
6. Firing
7. Zheng
8. Bhargava
9. Bian

NMDA ۱۰ دقیقه قبل از آن به موش‌ها تزریق شد (بارگاوا و همکاران، ۱۹۹۸) و مشخص شد که این رسپتورها در القا اثرات L-آرژینین بر بی دردی القا شده به وسیله مرفین نقش دارند. مطالعات دیگر نشان دادند که بعضی از اثرات مرکزی رسپتورهای NMDA از طریق فعال سازی نیتریک اکساید سینتاز با آزاد شدن طولانی مدت نیتریک اکساید میانجیگری می‌شود (برد[1] و اسنایدر[2]، ۱۹۹۲؛ اسنایدر و برد، ۱۹۹۱). علاوه بر این نشان داده شده که فعال شدن رسپتورهای نیتریک اکساید سینتاز در سیستم عصبی مرکزی منجر به افزایش فعالیت نیتریک اکساید سینتاز می‌شود (گارث‌ویت[3]، ۱۹۹۱). داده‌های حاضر نشان می‌دهند می‌دهند که L-آرژینین تزریق شده به ناحیه CA_1 هیپو کامپ اثرات مهمی بر فرایند درد دارد که این امر احتمالاً از طریق مکانیسم‌های وابسته به فعالیت گیرنده‌های NMDA وساطت می‌شود. این نتایج احتمالاً نشان داد که تزریق L-آرژینین اثر بی دردی مرفین را به واسطه افزایش فعالیت نیتریک اکساید سینتاز هیپوکامپ کاهش می‌دهد. در تایید این بخش از یافته‌های حاضر می‌توان از اثر جلوگیری کننده پیش تزریق L-NAME، آنتاگونیست رقابتی نیتریک اکساید سینتاز، بر اثر القا شده به توسط L-آرژینین یاد کرد.

این یافته‌ها توسط مطالعات قبلی نیز تائید می‌شوند (بارگاوا و بیین، ۱۹۹۷). این پژوهش نشان داد که مهارکننده نیتریک اکساید سینتاز اثر تعدیلی L-آرژینین را بر درد کاهش می‌دهد. مطالعه اخیر ارتباط منطقه هیپوکامپ را در فرآیندهای نورونی القا کننده رفتار درد مزمن و حاد از طریق مکانیسم وابسته به فعال سازی نیتریک اکساید سینتاز نشان داد. در این مطالعه نقش تعدیل کننده واضحی مشخص نشد، اما ناحیه CA_1 هیپوکامپ ممکن است اثر بی دردی مرفین را به وسیله فعال کردن گیرنده‌های NMDA القا کند. همچنان که یافته‌های

1. Bredt
2. Snyder
3. Garthwaite

حاضر نقش نیتریک اکساید سینتاز را در بروز رفتارهای ناشی از درد وابسته به ناحیه CA_1 نشان می‌دهد.

پیشنهاد می‌گردد تا در تکمیل و تعقیب بهتر یافته‌های حاضر این موارد در پژوهش‌های بعدی صورت پذیرند: بررسی تداخل سیستم‌های پیامبر زیستی دیگر نظیر سیستم دوپامینرژیک، گابائرژیک و... در ناحیه CA_1 هیپوکامپ با مرفین، در ارتباط با اثر این سیستم‌ها بر روند بی دردی القایی مرفین؛ اندازه گیری سطح مرفین داخل مغزی در ناحیه مورد مطالعه پس از آزمایش؛ اندازه گیری فعالیت نیتریک اکساید سینتاز نشان دادن افزایش تولید نیتریک اکساید پس از هر آزمایش؛ بررسی مولدهای دیگر نیتریک اکساید، غیر از L–آرژینین مانند: سدیم نیترو پروساید[1] و هیدروکسیلامین[2]؛ اندازه گیری نمره درد[3] از ۳۰ دقیقه بعد از تزریق فرمالین و یا تزریق L–آرژینین و L-NAME، ۱۰ دقیقه بعد از تزریق فرمالین؛ Y تزریق L–آرژینین و L-NAME، قبل از تزریق مرفین؛ استفاده از آنتاگونیست های دیگری غیر از L-NAME؛ استفاده از روش‌های دیگر اندازه گیری درد و استفاده از دوزهای دیگر مرفین.

منابع

Ariggard, E. (1994). **Nitric oxide**. Lancet, 343, 1199-1206.

Bijlani, R. L. (1997). **Understanding medical physiology**. Jaypee brothers.

Bozarth, M. A., Pudiak, C. M., Morris, M. (1993). Nitric oxide synthesis does not affect brain stimulation reward. **Pharmacol, Biochem, Behavior**, 481, 487-490.

Bhargava, H. N. Bian, J. T. (1998) Effects of acute and chronic administratioin of L-arginine on the antinociceptive action of morphine-6-beta-D-glucuronide. **Pharmacol**, 55, 165-172.

Bhargava, H. N., Sharma, S. S., Bian, J. T. (1998) **Evidence for a role of N-methyl-D-aspartate receptors in L-arginine-induced attenuation of morphine antinociception**. Brain. Res, 782, 314-7.

1. Sodium Nitroprusside
2. Hydroxylamine
3. Pain score

Bredt, D. S., Snyder, S. H. (1992) Nitric oxide, a novel neuronal messenger. **Neuron,** 8, 3-11.

Garthwaite, J. (1991) Glutamate, nitric oxide and cell-cell signaling in the nervous system. **Trends Neurosci,** 14, 60-67.

Holscher, C., Rose, S. P. R. (1992). An inhibition of nitric oxide synthesis prevents memory formation in the chick. **Neurosci. Lett**, 145, 165-167.

Khanna, S. (1997). Dorsal hippocampus field CA1 pyramidal cell responses to a persistent versus an acute nociceptive stimulus and their septal modulation. **Neurosci,** 77, 713–721.

Lancaster, J. R. (1996). **Nitric oxide: principles and actions.** California: Academic press. 3-37.

Okutomi, T., & Nometo, K. **(**1997). Nitric oxide metabolite in pregnant women before and after delivery. **Acta ostet Gnecol scand**, 76, 222-6.

Packard, M. G., White, N. M. (1991). Dissociation of hippocampus and caudate nucleus memory systems by post training intracerebral injection of dopamine agonists. **Behav. Neurosci,** 105, 295-306.

Racca, C., Stephenson, F. A., Streit, P., Roberts, J. D., Somogyi, P. (2000). NMDA receptor content of synapses in stratum radiatum of the hippocampal CA1 area. **Journal of Neurosci**, 20, 2512–2522.

Squire, L. R. (1992). Memory and the hippocampus: A synthesis from findings with rats, monkeys, and humans. **Psychol. Rev,** 99, 195-231.

Sutherland, R. J., McDonald, R. J. (2008). Hippocampus, amygdale, and memory deficits in rats. **Behav. Brain Res**, 37, 57-79.

Schuman, E. M., Madison, D. V. (1991). A requirement for the intracellular messenger nitric oxide in long-term potentiation. **Science**, 254, 1503-1506.

Soleimannejad, E., Naghdi, N., Semnanian, S., Fathollahi, Y., Kazemnejad, A. (2005). Antinociceptive effect of intra-hippocampal CA1 and dentate gyrus injection of MK801 and AP5 in the formalin test in adult male rats. **Eur.Journal Pharmacol**, 562,39–46.

Snyder, S. H., Bredt, D. S. (1991). Nitric oxide as a neuronal messenger. **Trends Pharmacol. Sci,** 12, 125-128.

Weiner, C. P., Thompson, L. P. (1997). **Nitric oxide and pregnancy.** Seminars in perinatology. 21, 367-80.

Wieser, F., Gruber, D. M., Tschuggl, W. (1997). **Progesterone and nitric oxide. Zentrabl-Gnokol**. 119, 12-6.