مقاله پژوهشی اصیل

نقش گیرنده‌های $GABA_A$ در اکتساب و بیان حساسیت حرکتی القاشده توسط مورفین در موش کوچک آزمایشگاهی

احمد حیدری درویشانی
گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه ارومیه

دکتر محمدرضا زرین‌دست [1]
گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی و مرکز ملی مطالعات اعتیاد، دانشگاه علوم پزشکی تهران

دکتر آمنه رضایوف
گروه زیست‌شناسی. دانشکده علوم پایه، دانشگاه تهران

دکتر فتح‌الله فتحی آذربایجانی
گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه ارومیه

دکتر اکبر حاجی‌زاده
گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران

هدف: بررسی اثرات موسیمول (آگونیست گیرنده $GABA_A$) و بیکوکولین (آنتاگونیست گیرنده $GABA_A$) بر حساس‌سازی حرکتی ناشی از مورفین در موش آزمایشگاهی هدف این پژوهش بود. **روش:** ۴۰۰ موش سوری به‌کمک دستگاه استرئوتاکسی کانول‌گذاری و آماده تزریق شد. این مطالعه در یک برنامه نُه روزه و در سه مرحله انجام شد. ابتدا به مدت سه روز حساسیت‌زایی توسط دارو اجرا گردید و سپس به مدت پنج روز دارو قطع و در نهایت آزمون انجام شد. سپس حیوان به مدت ۲۰ دقیقه برای ثبت فعالیت حرکتی در دستگاه حرکت‌سنج قرار گرفت. داده‌ها به کمک روش تحلیل واریانس و پس‌آزمون توکی تحلیل شد. **یافته‌ها:** تزریق زیرجلدی مورفین (۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ mg/kg) به‌صورت وابسته به غلظت، فعالیت حرکتی حیوانات را به‌طور معنی‌داری افزایش داد. افزایش فعالیت حرکتی موش‌های سوری پیش‌تیمارشده با مورفین (۷/۵، ۱۵ و ۳۰ mg/kg) نشان‌دهنده توسعه حساسیت بود. تزریق داخل مغزی موسیمول (۰/۰۲۵، ۰/۰۵، ۰/۱ و ۰/۲۵ µg/mouse) در حضور یا در غیاب مورفین (۵ mg/kg) به‌طور معنی‌داری فعالیت حرکتی القاشده به‌وسیله مورفین (۵ mg/kg) را کاهش داد. از طرف دیگر القای فعالیت حرکتی توسط مورفین (۵ mg/kg) در حیواناتی که قبلاً با بیکوکولین (۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ µg/mouse) در حضور یا در غیاب مورفین (۱۵ mg/kg) پیش‌درمان شده بودند، به‌طور معنی‌داری کاهش می‌یافت. تجویز همزمان داخل مغزی غلظت‌های بیکوکولین (۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ µg/mouse) و موسیمول (۰/۱ µg/mouse) فعالیت حرکتی القاشده توسط مورفین (۵ mg/kg) را در حیواناتی که قبلاً با سالین یا مورفین (۱۵ mg/kg) پیش‌تیمار شده بودند، کاهش می‌داد. **نتیجه‌گیری:** گیرنده‌های $GABA_A$ می‌توانند در اکتساب و بیان حساس‌سازی حرکتی ناشی از مورفین دخالت داشته باشند.

کلمات کلیدی: سولفات مورفین، موسیمول، بیکوکولین، فعالیت حرکتی، حساسیت حرکتی

مقدمه

تجویز متناوب و مکرر انواع داروهای اعتیادآور همانند مورفین باعث افزایش مزمن فعالیت حرکتی (شیپنبرگ [2] و هایدبردر [3]، ۱۹۹۵؛ ولپیسلی [4]، ایسترلینگ [5]، کیمل [6] و هولتزمن [7]، ۱۹۹۹) و خصوصیات انگیزشی (اشپنبرگ و هایدبردر، ۱۹۹۵) می‌شود. این پدیده حساسیت رفتاری [8] نامیده می‌شود و شامل افزایش فعالیت حرکتی و دیگر پاسخ‌های ناشی از گرفتن این قبیل داروها می‌باشد. (مک‌دید [9]، دالی‌مور [10]، مکی [11]، میکی‌ویکسز [12] و ناپیر [13]، ۲۰۰۵).

۱ - نشانی تماس: تهران، دانشگاه تهران، دانشکده پزشکی، گروه فارماکولوژی.
Email: zarinmr@mas.as.ir

2- Shippenberg
3 - Heidhreder
4- Volpicelli
5- Easterling
6- Kimmel
7 - Holtzman
8- behavioral sensitization
9- McDaid
10- Dallimore
11 - Mackie
12- Mickiewicz
13 - Napier

نتایج چندین مطالعه حاکی از بروز تغییر در سیستم دوپامینی مزولیمبیک ناشی از حساسیت رفتاری مورفین بوده است (اسپانگل[1] و شینبرگ، ۱۹۹۳؛ پاول[2] و هالتزمان، ۲۰۰۱). تجویز مکرر مورفین تحریک نورون‌های دوپامینرژیک را افزایش می‌دهد که می‌تواند باعث تحریک حساسیت و افزایش تحول رفتاری شود (ولپیلی و همکاران، ۱۹۹۹).

مسیر دوپامینی مزوکورتیکولیمبیک از جسم سلولی دوپامینرژیک در نواحی تگمنتوم شکمی[3] (VTA) و شبکه‌ای در هسته اکومبنس[4] (NAcc) آغاز می‌گردد. احتمالاً این سیستم در خصوصیات پاداش عصبی و اعتیادآور بودن مشتقات تریاک نقش دارد (وایز[5]، ۱۹۹۶؛ باردو[6]، ۱۹۹۸). VTA شامل زیرمجموعه‌ای از نورون‌های گابائرژیک است که نورون‌های واسطه دوپامینی را مهار می‌کند (کسای[7] و اشتاین[8]، ۲۰۰۲)، پیام را به سایر نواحی مغز می‌فرستد و در فرآیند پاداش رفتاری دخالت می‌کند (وان‌بوکستیلی[9] و پیکل[10]، ۱۹۹۵).

مشتقات تریاک می‌توانند اثر گابای رهاشده از نورون‌های پیش‌سیناپسی در مهار سلول‌های دوپامینی را خنثی کند (رنو[11]، مولت[12] و بیتز[13]، ۱۹۹۲؛ شوجی[14]، دلفس[15] و ویلیامز[16]، ۱۹۹۹). عملکرد مهاری گابا به‌وسیله دو دسته از گیرنده‌های مهم میانجی‌گری می‌شود: گیرنده حساس به بیکوکولین، موسوم به گابا A، که روی کانال کلر وابسته به لیگاند اثر می‌کند و گابا B که روی کانال پتاسیم وابسته به ولتاژ عمل می‌کند. این گیرنده‌ها به پروتئین G متصل می‌شوند (هیروتا[17] و راث[18]، ۱۹۹۷؛ بنک[19]، هونر[20]، میشل[21]، بتلر[22] و ماهلر[23]، ۱۹۹۹). گابا فعالیت دیگر نورون‌های دریافت‌کننده سیگنال را به‌وسیله عمل متقابل گیرنده گابا A مهار می‌کند. مهار این گیرنده عمدتاً بر روی نورون‌های واسطه در VTA (دیلتس[24] و کالیواس[25]، ۱۹۸۹) و سلول‌های دوپامینی در VTA اعمال می‌شود، از این‌رو باعث افزایش رهاسازی دوپامین در هسته اکومبنس می‌گردد (کسای و اشتاین، ۲۰۰۰).

اگرچه شواهد فراوانی دال بر نقش مسیر دوپامینرژیک مزولیمبیک در میانجی‌گری حساسیت رفتاری ناشی از مورفین وجود دارد (اسپانگل، ۱۹۹۵؛ کوری پارا[26]، ۱۹۹۵)، به‌نظر نمی‌رسد که بتوان دوپامین را تنها میانجی این پاسخ قلمداد کرد. چندین سیستم میانجی دیگر شامل گابا، سروتونین[27]، گلوتامات[28] و اکسید نیتریک[29] نیز می‌توانند در حساسیت ناشی از مورفین نقش داشته باشند (چتکه[30] و اشمیدت[31]، ۱۹۹۷؛ زرین‌دست، غلامی، صحرایی و حائری روحانی، ۲۰۰۳).

به‌نظر می‌رسد حساسیت حرکتی ناشی از مشتقات تریاک توسط سیستم گابائرژیک در VTA میانجی‌گری شود (واندرشورن[32] و کالیواس، ۲۰۰۰؛ لیت موریس[33]، فوکودوم[34]، شوب[35] و کاپلان[36]، ۲۰۰۴).

همانطور که مشاهده می‌گردد حساسیت رفتاری نقش مهمی در القا و توسعه وابستگی به مشتقات تریاک ایفا می‌کند و در این مسیر سیستم دوپامینی دارای عملکرد اثبات شده‌ای است. ولی مطالعه کمی روی سیستم گابائرژیک که در راه‌اندازی اثرات پاداشی مورفین و به‌طور کلی مشتقات تریاک اهمیت دارد، انجام شده است. لذا در تحقیق حاضر نقش گیرنده‌های گابا A در القای حساسیت رفتاری در موش‌های سوری مطالعه شده است.

روش

در تحقیق حاضر از موش کوچک سوری نر نژاد آلبینو[37] NMRI به وزن ۲۵ ۲۰ گرم استفاده شد. کلیه حیوانات از انستیتو پاستور ایران تهیه و در حیوان‌خانه با دمای ۲ ± ۲۲ درجه سانتی‌گراد و دوره تاریکی – روشنایی ۱۲ ساعته (هفت صبح تا هفت شب) در گروه‌های ده‌تایی در قفس‌های مخصوص نگه‌داری شدند. در تمامی مدت نگهداری به‌جز هنگام آزمایش، حیوانات

1- Spanagel
2 - Powell
3- ventral tegmental area
4 - nucleus accumbens
5- Wise
6 - Bardo
7- Xi
8 - Stein
9- Van Bockstaele
10- Pickel
11- Renno
12- Mullett
13- Beitz
14- Shoji
15- Delfs
16- Williams
17- Hirota
18- Roth
19- Benke
20- Honer
21- Michel
22- Bettler
23- Mohler
24- Dilts
25- Kalivas
26- Kuribara
27 - serotonin
28- glutamate
29 - nitric oxide
30- Tzschenntke
31- Schmidt
32- Vanderschuren
33- Leite-Morris
34- Fukudome
35 - Shoeb
36- Kaplan
37- Albino - NMRI

به‌راحتی به آب و غذای کافی دسترسی داشتند. جهت عادت‌کردن حیوانات به محیط و حذف استرس‌های ناشی از جابجایی، یک هفته قبل از شروع هرگونه آزمایشی، حیوانات به حیوان‌خانه منتقل می‌شدند و پنج دقیقه قبل از آزمایش حیوانات نوازش می‌شدند. در تمامی آزمایش‌ها هر حیوان فقط یک‌بار مورد استفاده قرار می‌گرفت و آزمایش‌ها در زمان معینی در طی مرحله نوری از دوره روشنایی- تاریکی انجام می‌شد.

روش تهیه و تجویز داروها

داروهایی که در این تحقیق مورد استفاده قرار گرفت عبارت بود از: موسیمول[1] (شرکت توکریس، انگلستان)، بیکوکولین (شرکت سیگما، آمریکا)، سولفات مورفین (شرکت تماد، ایران).

کلیه داروها به‌جز بیکوکولین بلافاصله قبل از آزمایش‌ها در محلول سرم فیزیولوژیک ۰/۹ درصد استریل حل می‌شد. برای حل‌کردن بیکوکولین از محلول حاوی یک قطره اسید استیک گلاسیال استفاده می‌شد.

مورفین به‌صورت زیرجلدی[2] (sc) و موسیمول و بیکوکولین به‌صورت داخل بطن مغزی[3] (icv) تزریق می‌شد. گروه‌های شاهد سالین یا حامل دریافت می‌کردند. دوزهای مورد استفاده در این تحقیق، دوزهایی بود که در مطالعات قبلی نیز مورد استفاده قرار گرفته بود (زرین‌دست و همکاران، ۲۰۰۳؛ زرین‌دست و همکاران، ۲۰۰۴ب).

روش کانول‌گذاری داخل مغزی

با استفاده از دستگاه استرئوتاکسی در بطن راست مغز حیوانات کانول‌گذاری انجام شد. هر حیوان با محلول آماده شده زایلازین[4] و کتامین[5] (۲۰-۳۰ mg/kg) بیهوش می‌شد و جهت تثبیت و مختصات‌برداری در دستگاه استرئوتاکسی قرار می‌گرفت. در این وضعیت میله‌های گوشی[6] در فرورفتگی‌های مربوط به صندوق صماخ و دندان‌های پیشین در داخل سوراخ میله دندانی[7] جاسازی می‌شد. پس از برش و آماده‌سازی سطح جمجمه ناحیه براگما[8] (محل تقاطع استخوان‌های پیشانی و آهیانه) مشخص سی‌گشت (زرین‌دست، جعفری، احمدی و جهانگیری، ۲۰۰۴ الف). برای کانول‌گذاری از سر سوزن شماره ۲۳ جهت کانول راهنما و از سرسوزن شماره ۳۰ دندانپزشکی جهت کانول تزریق استفاده شد.

مختصات کانول‌گذاری روی جمجمه بر اساس مقیاس کتاب پاکسینوس (۰/۹ میلی‌متر از براگما و ۱/۴ میلی‌متر از شیار میانی به‌طرف بطن جانبی راست و دو میلی‌متر از سطح جمجمه به عمق) انجام گرفت. سپس با استفاده از سرسوزن سرنگ پنج سی‌سی یک سوراخ کم‌عمق برای کاشتن کانول راهنما ایجاد و با استفاده از پیچ تنظیمی و سیمان دندانپزشکی کانول راهنما روی جمجمه ثابت شد. برای جلوگیری از انسداد کانول، از یک کانول تزریق استفاده می‌گشت. بعد از طی این مراحل به حیوان پنج روز جهت بهبودی استراحت داده می‌شد و سپس جهت انجام آزمایش مورد استفاده قرار می‌گرفت.

روش کار

برای اجرای آزمون‌ها یک برنامه نُه روزه با سه مرحله مشخص مورد استفاده قرار گرفت. این مراحل عبارت بود از ابتدا مرحله حساس‌سازی، که در این مرحله به‌مدت سه روز متوالی مقدار معینی مورفین (۱۵ mg/kg) در طی ساعات معینی از روز به‌صورت زیرجلدی با سرنگ انسولین به حیوانات تزریق شد (در مدت ۴۰ ثانیه). این مرحله در روز دوم وسوم تکرار می‌شد؛ سپس مرحله قطع دارو، که در این مرحله حیوانات به‌مدت پنج روز هیچ دارویی دریافت نمی‌کردند؛ و در نهایت مرحله آزمون، که در طی این مرحله به هر حیوان ۵ mg/kg مورفین تزریق می‌شد (زرین‌دست و همکاران، ۲۰۰۴ الف) و سپس در دستگاه حرکت‌سنج گذاشته، به‌مدت ۲۰ دقیقه تعداد حرکات افقی حیوان اندازه‌گیری می‌شد.

جهت تزریق دارو به‌داخل بطن راست، از یک کانول تزریق که به‌وسیله لوله پلی‌اتیلنی به‌طول حدود ۲۰ سانتی‌متر به سرنگ هامیلتون ده میکرولیتری متصل شده بود، استفاده می‌گردید. دو میکرولیتر دارو یا دارونما به هر یک از کانول‌ها ظرف مدت ۴۰ ثانیه تزریق می‌شد.

برای اندازه‌گیری فعالیت حرکتی حیوان از یک دستگاه حرکت‌سنج Animax مدل LKB Farad SEP استفاده شد. برای

1- muscimol
2- subcutaneous
3- intra-cerebroventricular
4 - xylazine
5- ketamine
6 - ear bar
7- incisor bar
8 - bragma

اینکه استرس جابجایی حیوان از حیوان‌خانه به آزمایشگاه برطرف شود و با محیط جدید منطبق گردد، به مدت ۱۵ دقیقه در قفس پلاستیکی مخصوص Diff (۵۰cm ×۳۰×۳۰) گذاشته می‌شدند (باتیستی[1]، شرفلر[2]، یورتسکی[3] و والاک[4]، ۲۰۰۰). بعد از تجویز داروها حیوانات در قفسه پلاستیکی شفاف مخصوص (با ارتفاع ۳۰×۲۵×۲۰ سانتی‌متر) قرار می‌گرفتند و تعداد حرکات افقی هر حیوان برای مدت ۲۰ دقیقه به‌وسیله حس‌گرهای فعال‌شده شمارش می‌شد. تعداد این حرکات به‌عنوان نمادی از فعالیت حرکتی حیوان در نظر گرفته می‌شد.

کلیه حیوانات به‌کارگرفته‌شده در این آزمایش‌ها، در داخل بطن جانبی راست مغز کانول‌گذاری شده، در هر گروه، ۱۰ موش کوچک آزمایشگاهی مورد استفاده قرار گرفت.

آزمایش اول: تعیین فعالیت حرکتی بعد از تزریق مورفین.

در این آزمایش چهار گروه از حیوانات مقادیر مختلف مورفین (۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ mg/kg) و یک گروه از حیوانات به‌عنوان شاهد سالین (۱۰ ml/kg) دریافت کرد. تزریق بلافاصله قبل از اندازه‌گیری فعالیت حرکتی انجام شد. این آزمایش جهت به‌دست‌آوردن منحنی دوز-پاسخ[5] در دستگاه برای ثبت فعالیت حرکتی مورد استفاده واقع شد (شکل ۱).

آزمایش دوم: القای حساسیت حرکتی توسط مورفین.

شش گروه از حیوانات در این آزمایش مورد استفاده قرار گرفتند. پنج گروه از حیوانات مقادیر مختلف مورفین (۲/۵، ۵، ۷/۵، ۱۵ و ۳۰ mg/kg) و یک گروه سالین (۱۰ ml/kg) دریافت نمود و در قفس پلاستیکی به‌مدت ۲۰ دقیقه نگه‌داری شد (باتیستی و همکاران، ۲۰۰۰). سپس حیوان‌ها به حیوان‌خانه برگردانده شدند و روزهای دوم و سوم نیز این عمل تکرار شد. پنج روز بعد مورفین (۵ mg/kg) تجویز و بلافاصله به‌مدت ۲۰ دقیقه فعالیت حرکتی آنها ثبت گردید (شکل ۲).

آزمایش سوم: تعیین اثر آگونیست گیرنده گابا A در غیاب و در حضور مورفین بر میزان فعالیت حرکتی القاشده توسط مورفین.

در این آزمایش به همه حیوانات مقادیر مختلف موسیمول به‌عنوان آگونیست گیرنده گابا A (۰/۰۲۵، ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲۵ و ۰/۵ µg/mouse) و یا سالین (۲ µl/mouse) از طریق تزریق داخل بطن جانبی مغز تجویز می‌شد و پنج دقیقه بعد به آنها سالین (۱۰ ml/kg) (شکل ۳، سمت چپ) و یا مورفین (۱۵ mg/kg) (شکل ۳، سمت راست) تزریق می‌گردید و در قفس Diff به‌مدت ۲۰ دقیقه قرار می‌گرفتند. تزریق در روز دوم و سوم نیز تکرار می‌شد. پنج روز بعد از مرحله پیش‌درمان، تمام گروه‌ها مورفین(۵ mg/kg) دریافت می‌کردند و بلافاصله در قفس آزمون به‌مدت ۲۰ دقیقه برای ثبت فعالیت حرکتی قرار داده می‌شدند (شکل ۳).

آزمایش چهارم: تعیین اثرات آنتاگونیست گیرنده گابا A در غیاب و در حضور مورفین بر میزان فعالیت حرکتی القاشده توسط مورفین.

در این آزمایش همه حیوانات با تزریق داخل بطن جانبی مغز مقادیر مختلف بیکوکولین به‌عنوان آنتاگونیست گیرنده گابا A (۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ µg/mouse) و یا سالین (۲ µl/mouse) دریافت می‌نمودند و پنج دقیقه بعد به آنها سالین (۱۰ ml/kg) (شکل-۴، سمت چپ) و یا مورفین (۱۵ mg/kg) (شکل ۴، سمت راست) تزریق می‌شد و در قفس Diff به‌مدت ۲۰ دقیقه قرار می‌گرفتند. این مرحله در روز دوم و سوم نیز تکرار می‌شد. پنج روز بعد از مرحله پیش‌درمان، گروه‌ها با دریافت مورفین(۵ mg/kg)، بلافاصله به‌مدت ۲۰ دقیقه برای ثبت فعالیت حرکتی در قفس آزمون قرار می‌گرفتند (شکل ۴).

آزمایش پنجم: تعیین اثرات تداخل آگونیست و آنتاگونیست گیرنده گابا A در غیاب و در حضور مورفین بر میزان فعالیت حرکتی القاشده توسط مورفین.

در این آزمایش دوزهای مختلف بیکوکولین در تداخل با یک دوز از موسیمول مورد استفاده قرار گرفت. تمامی گروه‌های حیوانات، تزریق داخل مغزی غلظت‌های بیکوکولین (۰/۲۵، ۰/۵ و ۱µg/mouse) یا سالین (۲ µl/mouse) پنج دقیقه قبل از تزریق موسیمول (۰/۱ µg/mouse) دریافت کردند. پنج دقیقه بعد به آنها سالین (۱۰ ml/kg) یا مورفین (۱۵ mg/kg) تزریق شد و در قفس‌های Diff به‌مدت ۲۰ دقیقه قرار گرفتند. سپس حیوانات به حیوان‌خانه برگردانده می‌شدند و این مرحله در روزهای دوم و سوم

1- Battisti
2 - Shreffler
3- Uretsky
4- Wallac
5- dose-response

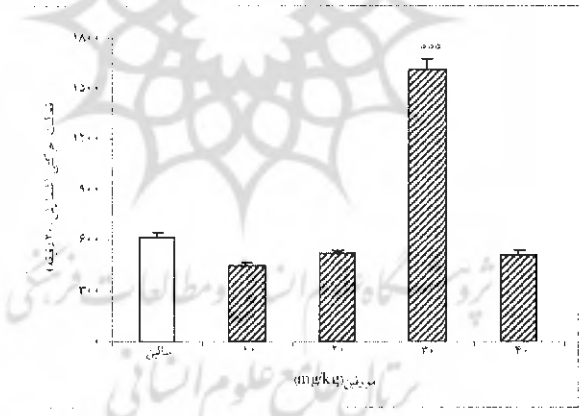
نیز تکرار می‌شد. پنج روز بعد گروه‌ها به مقدار ۵ mg/kg مورفین دریافت می‌کردند و بلافاصله در قفس آزمون قرار داده می‌شدند و فعالیت حرکتی هر حیوان اندازه‌گیری می‌شد (شکل ۵).

در تمامی آزمایش‌های فوق به‌منظور تعیین میزان فعالیت حرکتی از اعداد نمایشگر مندرج در روی دستگاه استفاده می‌شد. در کلیه آزمایش‌ها فعالیت حرکتی در هر گروه حیوانی به‌صورت میانگین و انحراف معیار ثبت می‌گردید. جهت تعیین وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های آزمایش، از روش آنالیز واریانس (ANOVA) یک‌طرفه و دوطرفه و به‌دنبال آن از آزمون تعقیبی توکی استفاده گردید و $p<0/05$ به‌عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد. برای انجام محاسبات آماری از نرم افزارهای MSTAT و SPSS استفاده شد.

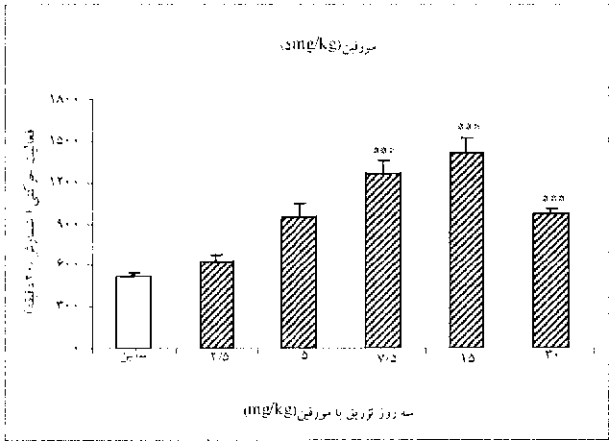
یافته‌ها

آزمایش اول: اثر مورفین بر فعالیت حرکتی.

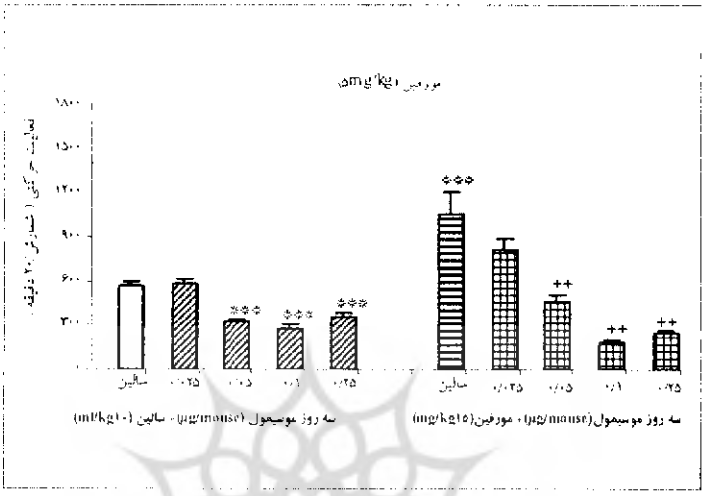
شکل ۱ القای حرکتی به‌وسیله تزریق زیرپوستی غلظت‌های متفاوت مورفین (۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ mg/kg) را به‌مدت ۲۰ دقیقه بعد از تزریق نشان می‌دهد. ANOVA یک‌طرفه نشان داد که مورفین به‌صورت معنی‌دار و وابسته به غلظت فعالیت حرکتی را در مقایسه با سالین افزایش می‌دهد [$F(4و45)=47/2$ ،$p<0/001$].



شکل ۱ *-اثر مورفین روی فعالیت حرکتی: تزریق مقادیر مختلف مورفین (۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ mg/kg) یا سالین (۱۰ ml/kg) (n=۱۰). داده‌ها به‌صورت میانگین و خطای معیار میانگین (SEM) ارایه شده است. $p<0/001$ *** در مقایسه با گروه کنترل سالین.*



شکل ۲ *-اثر مورفین روی توسعه حساسیت حرکتی: تزریق مورفین (۵ mg/kg) سه روز پس از تزریق مورفین به میزان ۲/۵، ۵، ۷/۵، ۱۵ و ۳۰ mg/kg (n=۱۰). داده‌ها به‌صورت میانگین و خطای معیار میانگین (SEM) ارایه شده است. $p<0/001$ *** در مقایسه با گروه سالین.*



شکل ۳- *اثر تجویز مکرر موسیمول در حضور یا در غیاب مورفین روی فعالیت حرکتی ناشی از مورفین (۱۰-n). داده‌ها به صورت میانگین و خطای معیار میانگین (SEM) ارایه شده است. $p<0/01$ ** $p<0/001$ *** با گروه کنترل سالین/سالین، مورفین و $p<0/001$ ††† با گروه کنترل سالین/مورفین، مورفین مقایسه شد.*

آزمایش دوم: اثر مورفین بر القای حساسیت حرکتی.

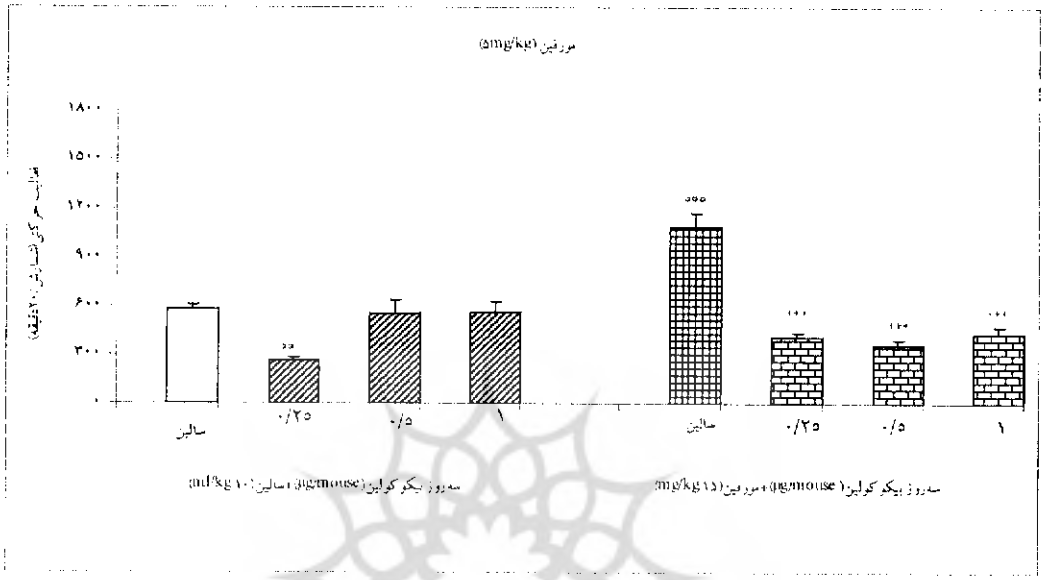
فعالیت حرکتی حیواناتی که به مدت سه روز به مقدار ۲/۵، ۵، ۷/۵، ۱۵ و ۳۰ mg/kg مورفین دریافت کرده بودند با آنهایی که سالین گرفته بودند، اختلاف معنی‌دار داشت (شکل-۲). تزریق ۳۰ mg/kg مورفین کاهش معنی‌داری را در فعالیت حرکتی حیوان ایجاد می‌کرد. مقادیر متفاوت مورفین با حیوان پیش‌درمان شده با سالین مقایسه شد.

آزمایش سوم: تعیین اثرات آگونیست گیرنده $GABA_A$ در غیاب و در حضور مورفین بر میزان فعالیت حرکتی القاشده توسط مورفین.

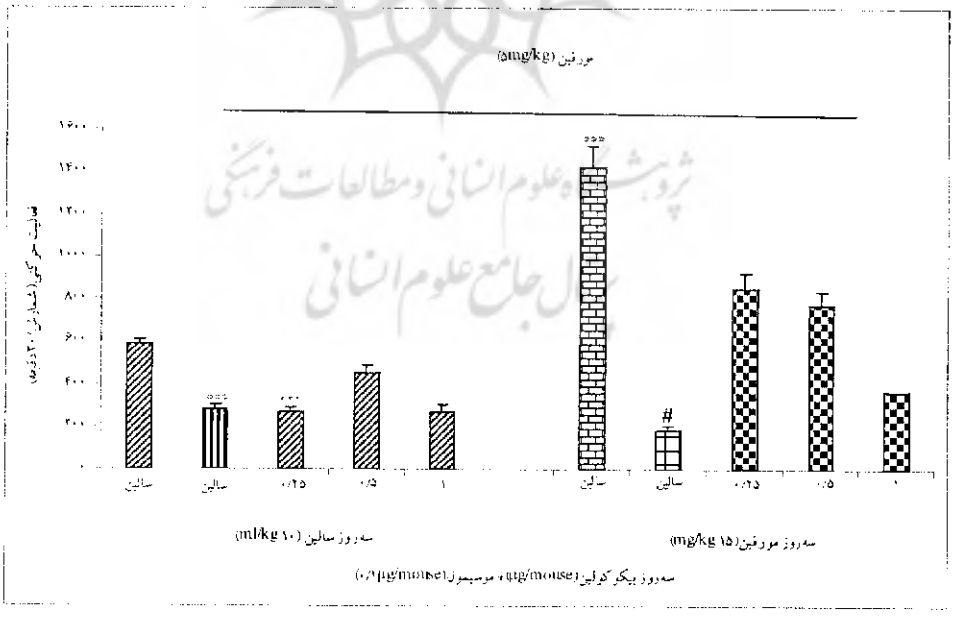
شکل ۳ اثر تجویز مکرر موسیمول داخل بطن جانبی مغز، در غیاب و حضور مورفین را بر میزان فعالیت حرکتی ناشی از مورفین نشان می‌دهد. ANOVA دوطرفه اختلاف معنی‌داری را بین پاسخ به موسیمول (۰/۰۲۵، ۰/۰۵، ۰/۱ و ۰/۲۵ µg/mouse) به‌تنهایی و یا همراه با مورفین (۱۵ mg/kg) بر اکتساب حساسیت القاشده توسط مورفین نشان داد. آنالیز بیشتر نشان داد فعالیت حرکتی حیواناتی که قبلاً به‌مدت سه روز موسیمول به تنهایی [$F(4$ و $45)$ $\psi<0/001$ ،۳۰/۵- یا موسیمول با مورفین [$F(4$ و $45)$ $\psi<0/001$ ،۲۲/۳=$F(4$ و $45)$] دریافت کرده و سپس پنج روز دارویی نگرفته بودند، به‌طور معنی‌داری توسط مورفین (۵ mg/kg) کاهش می‌یابد (شکل-۳).

آزمایش چهارم: اثر آنتاگونیست گیرنده گابا A در غیاب و در حضور مورفین بر میزان فعالیت حرکتی القاشده توسط مورفین.

شکل۴ اثرات تجویز مکرر بیکوکولین داخل بطن جانبی مغز را در غیاب و در حضور مورفین، بر میزان فعالیت حرکتی ناشی از مورفین نشان می‌دهد. اثر بیکوکولین (۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ µg/mouse) به‌تنهایی و یا با مورفین (۱۵ mg/kg) بر اکتساب حساسیت القاشده توسط مورفین تفاوت معنی‌داری داشت. تحلیل بیشتر نشان داد حیواناتی که قبلاً به‌مدت سه روز بیکوکولین به‌تنهایی یا با مورفین دریافت کرده و سپس پنج روز دارویی نگرفته بودند فعالیت حرکتی آنها به‌طور معنی‌داری به‌وسیله مورفین (۵ mg/kg) کاهش یافت: بیکوکولین و سالین در مقایسه با سالین [$p<0/001$، ۷/۳۹- $F(3$ و $36)$]؛ بیکوکولین با مورفین در مقایسه با سالین [$p<0/001$، ۲۵/۴- $F(3$ و $36)$] (شکل ۴).



شکل ٤- *اثر تجویز مکرر بیکوکولین در حضور یا در غیاب مورفین روی فعالیت حرکتی ناشی از مورفین (n=۱۰). داده‌ها به صورت میانگین و خطای معیار میانگین (SEM) ارایه شده است. $p<۰/۰۰۱$ *** و $p<۰/۰۱$ ** با گروه کنترل سالین/سالین/مورفین و $p<۰/۰۰۱$ +++ با گروه کنترل سالین/سالین/مورفین مقایسه شد.*



شکل ٥- *تداخل اثر تجویز مکرر بیکوکولین و موسیمول در حضور یا غیاب مورفین بر میزان فعالیت حرکتی القاشده توسط مورفین (n=۱۰). داده‌ها به صورت میانگین و خطای معیار میانگین (SEM) ارایه شده است. $p<۰/۰۰۱$ *** با گروه کنترل سالین/سالین/مورفین، $p<۰/۰۰۱$ +++ با گروه کنترل سالین/موسیمول/سالین. $p<۰/۰۰۱$ با گروه کنترل سالین/مورفین/مورفین و $p<۰/۰۰۱$ ### با گروه کنترل سالین/موسیمول/مورفین مقایسه شد.*

آزمایش پنجم: تداخل اثر آگونیست و آنتاگونیست گیرنده گابا A درغیاب یا در حضور مورفین بر میزان فعالیت حرکتی القاشده توسط مورفین.

شکل ۵ تداخل اثر موسیمول و بیکوکولین را بر میزان فعالیت حرکتی ناشی از مورفین نشان می‌دهد. تداخل اثر تجویز مکرر داخل مغزی بیکوکولین با غلظت‌های متفاوت (μg/mouse ۱ و ۵،

۰/۲۵) همراه با موسیمول (۰/۱ µg/mouse)، القای فعالیت حرکتی توسط مورفین (۱۵ mg/kg) را تغییر داد. ANOVA دوطرفه نشان داد که تجویز بیکوکولین (۰/۲۵ و ۰/۵ µg/mouse) اثر موسیمول را بر پاسخ به مورفین برگشت می‌دهد. آنالیز بیشتر نشان داد که تزریق مکرر بیکوکولین داخل بطن جانبی مغز، اثر موسیمول (همراه با سالین یا مورفین) را بر فعالیت حرکتی حیواناتی که قبلا به‌مدت سه روز با سالین یا مورفین پیش‌تیمار شده بودند (بدنبال پنج روز بدون گرفتن دارو) کاهش می‌دهد: موسیمول با سالین [$F(4 و 45)=۲۳/۶$، $p<۰/۰۰۱$]؛ موسیمول با مورفین [$F(4 و 45)=۶۴/۸$، $p<۰/۰۰۱$] کاهش می‌دهد (شکل ۵).

بحث

در تحقیق حاضر، دخالت گیرنده‌های گابا A در اکتساب و تجلی حساسیت حرکتی[1] ناشی از القای مورفین بررسی گردید. نتایج این مطالعه نیز مطابق با مطالعات پیشین (زرین‌دست و همکاران، ۲۰۰۳؛ موری[2]، یتو[3]، ناریتا[4]، سوزوکی[5] و ساواگوچی[6]، ۲۰۰۴؛ پتی[7] و همکاران، ۲۰۰۵) نشان می‌دهد که تزریق سیستمیک مورفین فعالیت حرکتی را افزایش می‌دهد. فعالیت حرکتی القاشده توسط مورفین در سیستم عصبی مرکزی مشاهده شده است (بسپالو[8] و زوارتاو[9]، ۱۹۹۶؛ اولسون[10] و همکاران، ۲۰۰۶)، به‌ویژه اگر ناشی از تحریک سیستم دوپامینرژیک باشد (کوک[11] و بردسلی[12]، ۲۰۰۳؛ هناسکو[13]، سوتک[14] و پالمیتر[15]، ۲۰۰۵).

تجویز سیستمیک مورفین می‌تواند رهاسازی گابا را در مغز میانی (رینو و همکاران، ۱۹۹۲) و در نواحی جسم سیاه (استار[16]، ۱۹۸۵) مهار کند و سطح دوپامین خارج سلولی را در دیواره جانبی با کاهش ریتم مهارکنندگی سیستم گابائرژیک در VTA افزایش دهد (سوتومایر[17]، فورای[18] و گیسلینگ[19]، ۲۰۰۵).

در تحقیق حاضر تزریق زیرجلدی مورفین به‌مدت سه روز و سپس پنج روز بدون تجویز دارو و در نهایت استفاده از غلظت رقابتی مورفین (۵ mg/kg) در روز نهم، فعالیت حرکتی را به‌طور معنی‌دار افزایش داد. این یافته با نتایج دیگر تحقیقات انجام شده مطابقت دارد (پاول و هولتزمان، ۲۰۰۱؛ ناریتا، شیاساکی[20]، میزو[21] و سوزوکی، ۲۰۰۳). نتیجه آزمایش‌های این تحقیق نشان داد که اثر تحریک‌کنندگی مشتقات تریاک روی فعالیت حرکتی، توسط پیش‌تیمار مورفین در طولانی‌مدت افزایش می‌یابد. فرض شده است که در این فرآیند سیستم دوپامینرژیک تحت تأثیر قرار می‌گیرد و یا انتقال‌دهنده عصبی اپیوئید می‌تواند حساسیت حرکتی ناشی از مورفین را تحریک کند (کوریبارا، ۱۹۹۷). تجویز طولانی مدت با اثر روی گابا در هسته اکومبنس موجب افزایش انتقال دوپامین می‌شود (دی‌روور[22]، لودر[23]، شوفلمی[24] و بروسارد[25]، ۲۰۰۵). به‌علاوه به‌نظر می‌رسد که تغییر در انتقال سیستم‌های گابائرژیک، دوپامینرژیک و گلوتامینرژیک در حساسیت حرکتی ناشی از مشتقات تریاک دخالت داشته باشد (برای مرور نگاه کنید به واندرشورن و کالیواس، ۲۰۰۰)، بنابراین تحریک و مهار گیرنده‌های گابا A مرکزی می‌تواند اکتساب و بیان حساسیت حرکتی القاشده توسط مورفین را تغییر دهد. اگرچه فرآیند حساسیت حرکتی به مراحل طولانی نیاز دارد (شپنبرگ و هایدبردر، ۱۹۹۵)، ولی مطابق گزارش زرین‌دست و همکاران (۲۰۰۳) القای حساسیت در کوتاه مدت نیز ممکن است.

داده‌های این تحقیق نشان داد که تجویز مکرر داخل مغزی موسیمول به تنهایی فعالیت حرکتی ناشی از مورفین را کاهش می‌دهد. نشان داده شده است که موسیمول (آگونیست اختصاصی گیرنده گابا A) با شدت بالایی خصوصیت فعالیت حرکتی ناشی از القای مورفین را کاهش می‌دهد (کریس‌تنسن[26]، آرنت[27] و شیل‌کروگر[28]، ۱۹۷۸). پژوهش‌های دیگر نیز مشخص کردند که مهار انتقال سیستم گابائرژیک با تحریک مورفین انجام می‌گیرد (جیانگ[29] و نورث[30]، ۱۹۹۲).

علاوه بر این نتایج، پژوهش حاضر نشان داد که پیش‌تیمار با

1- locomotor sensitization
2- Mori
3- Ito
4- Narita
5- Suzuki
6- Sawaguchi
7- Patti
8- Bespalov
9- Zvartau
10- Olson
11- Cook
12- Beardsley
13- Hnasko
14- Sotak
15- Palmiter
16- Starr
17- Solomayor
18- Forray
19- Gysling
20- Shibasaki
21- Mizuo
22- derover
23- Lodder
24- Schoffelmee
25- Brussaard
26- Christensen
27- Arnt
28- Scheel-Kruger
29- Jiang
30- North

تزریق داخل بطن مغزی موسیمول به‌مدت سه روز در حضور مورفین، حساسیت حرکتی ناشی از مورفین را به‌طور معنی‌دار کاهش می‌دهد. این اثر همچنین در تحریک گیرنده گابا B در نواحی تگمنتوم شکمی و توقف حساسیت حرکتی ناشی از مورفین گزارش شده است (لیت – موریس و همکاران، ۲۰۰۴).

داده‌های تحقیق حاضر نشان داد که تجویز مکرر داخل مغزی بیکوکولین در یک غلظت پایین به‌تنهایی فعالیت حرکتی ناشی از مورفین را کاهش می‌دهد. همچنین نشان داد که فعالیت حرکتی ناشی از تجویز مکرر مورفین در حیواناتی که قبلاً به‌مدت سه روز با بیکوکولین پیش‌تیمار شده بودند، به‌طور معنی‌داری کاهش می‌یابد. تفسیری که برای این اثر وجود دارد این است که بیکوکولین هر دو گیرنده‌های پیش‌سیناپسی و پس‌سیناپسی گابا A را مهار می‌کند. پس این اثر سبب تحریک گیرنده پیش‌سیناپسی می‌شود؛ اگرچه آنتاگونیست می‌تواند هم جایگاه گیرنده‌های پیش‌سیناپسی و هم رهاسازی گابا را مهار کند (میشل[1] و مارتین[2]، ۱۹۷۸). بنابراین رهاسازی گابا می‌تواند روی زیرواحدهای گیرنده گابا B و مهار حساسیت حرکتی اثر کند. این نتیجه به‌وسیله گزارش‌های جدید لیت موریس و کوورکر (۲۰۰۴) تأیید شده است؛ آنها نشان دادند که گیرنده‌های گابا B در نواحی تگمنتوم شکمی در حساسیت ناشی از مورفین دخالت دارند. داده‌های به‌دست آمده در تضاد با مکانیسم عمل بیکوکولین در مسیر پاداش مغزی است.

مطالعات قبلی هم‌چنین نشان داده‌اند که تجویز بیکوکولین مشابه موسیمول نعوظ آلت تناسلی القاشده توسط آپومورفین را کاهش می‌دهد. این واکنش مربوط به افزایش رهاسازی گابا توسط بیکوکولین می‌باشد (زرین‌دست و فرهوش، ۱۹۹۴). تحقیقات دیگر تداخل تجویز بیکوکولین و موسیمول با هم به‌داخل VTA را در محدوده وسیعی ازغلظت‌ها نشان دادند (لاویولت[3] و وان‌درکوی[4]، ۲۰۰۱). بنابراین تزریق بیکوکولین می‌تواند جلوی اثر مهاری موسیمول را بر فعالیت حرکتی ناشی از مورفین در طی توسعه حساسیت حرکتی بگیرد. این پاسخ با اثر تجویز مکرر موسیمول روی حساسیت حرکتی ناشی از مورفین که در نتیجه دخالت گیرنده‌های گابا A صورت می‌گیرد، همسوست.

بنابراین افزایش فعالیت حرکتی موش‌های سوری پیش‌تیمارشده با مورفین نشان‌دهنده توسعه حساسیت می‌باشد و تزریق داخل بطنی آگونیست و آنتاگونیست گیرنده‌های گابا A در غیاب و در حضور مورفین فعالیت حرکتی ناشی از مورفین را به‌طور معنی‌داری کاهش می‌دهد. بنابراین این تحقیق نشان داد که گیرنده‌های گابا A می‌توانند در اکتساب و بیان حساس‌سازی حرکتی ناشی از مورفین دخالت داشته باشند.

سپاسگزاری

این تحقیق در گروه فارماکولوژی دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام گرفت، لذا بدین وسیله از مدیریت محترم و تمامی همکاران گروه به‌ویژه آقای دکتر موسی صاحبقرانی و همیاری دوست گرانقدرآقای دکتر مجید جعفری ثابت تشکر و قدردانی می‌شود.

دریافت مقاله: ۱۳۸۵/۵/۱۲؛ پذیرش مقاله: ۱۳۸۵/۱۱/۱۲

1- Mitchell
2- Martin
3- Laviolette
4- Van der Kooy

منابع

Bardo, M. T. (1998). Neuropharmacological mechanisms of drug reward: Beyond dopamine in the nucleus accumbens. *Critical Reviews in Neurobiology, 12,* 37-67.

Battisti, J. J., Shreffler, C. B., Uretsky, N. J., & Wallace, L. J. (2000). NMDA antagonists block expression of sensitization of amphetamine- and apomorphine-induced stereotypy. *Pharmacology Biochemistry and Behavior, 67,* 241-246.

Benke, D., Honer, M., Michel, C., Bettler, B., & Mohler, H. (1999). Gamma-aminobutyric acid type B receptor splice variant proteins GBR1a and GBR1b are both associated with GBR2 in situ and display differential regional and subcellular distribution. *Journal of Biological Chemistry, 274,* 27323-27330.

Bespalov, A. Y., & Zvartau, E. E. (1996). Intraaccumbens administration of NMDA receptor antagonist (1/-)-CPP prevents locomotor activation conditioned by morphine and amphetamine in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior, 55,* 203-207.

Cook, C. D., & Beardsley, P. M. (2003). The modulatory actions of dopamine D2/3 agonists and antagonists on the

locomotor-activating effects of morphine and caffeine in mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior, 75,* 363-371.

Christensen, A. V., Arnt, J., & Scheel-Kruger, J. (1978). Muscimol antagonizes morphine hypermotility without potentiation of analgesia. *European Journal of Pharmacology, 48,* 459-462.

de Rover, M., Lodder, J. C., Schoffelmeer, A. N., & Brussaard, A. B. (2005). Intermittent morphine treatment induces a long-lasting increase in cholinergic modulation of GABAergic synapses in nucleus accumbens of adult rats. *Synapse, 55,* 17-25.

Dilts, R. P., & Kalivas, P. W. (1989). Autoradiographic localization of mu-opioid and neurotensin receptors within the mesolimbic dopamine system. *Brain Research, 488,* 311-327.

Hirota, K., & Roth, H. (1997). Sevoflurane modulates both $GABA_A$ and $GABA_B$ receptors in area CA1 of rat hippocampus. *British Journal of Anaesthesia, 78,* 60-65.

Hnasko, T. S., Sotak, B. N., & Palmiter, R. D. (2005). Morphine reward in dopamine-deficient mice. *Nature, 438,* 854-857.

Jiang, Z. G., & North, R. A. (1992). Pre- and postsynaptic inhibition by opioids in rat striatum. *Journal of Neuroscience, 12,* 356-361.

Kuribara, H. (1995). Modification of morphine sensit ization by opioid and dopamine receptor antagonists: Evaluation by studying ambulation in mice. *European Journal of Pharmacology, 275,* 251-258.

Kuribara, H. (1997). Induction of sensitization to hyperactivity caused by morphine in mice: Effects of post-drug environments. *Pharmacology Biochemistry and Behavior, 57,* 341-346.

Laviolette, S. R., & van der Kooy, D. (2001). GABA(A) receptors in the ventral tegmental area control bidirectional reward signalling between dopaminergic and non-dopaminergic neural motivational systems. *European Journal of Neuroscience, 13,* 1009-1015.

Leite-Morris, K. A., Fukudome, E. Y., Shoeb, M. H., & Kaplan, G. B. (2004). GABA(B) receptor activation in the ventral tegmental area inhibits the acquisition and expression of opiate-induced motor sensitization. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 308,* 667-678.

McDaid J., Dallimore, J. E., Mackie, A. R., Mickiewicz, A. L., & Napier T. C. (2005). Cross-sensitization to morphine in cocaine-sensitized rats: Behavioral assessments correlate with enhanced responding of ventral pallidal neurons to morphine and glutamate, with diminished effects of GABA. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 313* 1182-1193.

Mitchell, P. R., & Martin, I. L. (1978). Is GABA release modulated by presynaptic receptors? *Nature, 274,* 904-905.

Mori, T., Ito, S., Narita, M., Suzuki, T., & Sawaguchi, T. (2004). Combined effects of psychostimulants and morphine on locomotor activity in mice. *Journal of Pharmacological Sciences, 96,* 450-458.

Narita, M., Shibasaki, M., Mizuo, K., & Suzuki, T. (2003). Changes in G-protein activity mediated through the stimulation of dopamine and GABA(B) receptors in the mesolimbic dopaminergic system of morphine-sensitized mice. *Addiction Biology, 8,* 319-325.

Olson, V. G., Heusner, C. L., Bland, R. J., During, M. J., Weinshenker, D., & Palmiter, R. D. (2006). Role of noradrenergic signaling by the nucleus tractus solitarius in mediating opiate reward. *Science, 311,* 1017-1020.

Patti, C. L., Frussa-Filho, R., Silva, R. H., Carvalho, R. C., Kameda, S. R., Takatsu-Coleman, A. L., Cunha, J. L., & Abilio, V. C. (2005). Behavioral characterization of morphine effects on motor activity in mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior, 81,* 923-927.

Powell, K. R., & Holtzman, S. G. (2001). Parametric evaluation of the development of sensitization to the effects of morphine on locomotor activity. *Drug Alcohol Dependence, 62,* 83-90.

Renno, W. M., Mullett, M. A., & Beitz, A. J. (1992). Systemic morphine reduces GABA release in the lateral but not the medial portion of the midbrain periaqueductal gray of the rat. *Brain Research, 594,* 221-223.

Shippenberg, T. S., & Heidbreder, C. (1995). Sensitization to the conditioned rewarding effects of cocaine: Pharmacological and temporal characteristics. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 273,* 808-815.

Shoji, Y., Delfs, J., & Williams, J. T. (1999). Presynaptic inhibition of GABA(B)-mediated synaptic potentials in the ventral tegmental area during morphine withdrawal. *Journal of Neuroscience, 19,* 2347-2355.

Sotomayor, R., Forray, M. I., & Gysling, K. (2005). Acute morphine administration increases extracellular DA levels in the rat lateral septum by decreasing the GABAergic inhibitory tone in the ventral tegmental area. *Journal of Neuroscience Research, 81,* 132-139.

Spanagel, R., & Shippenberg T. S. (1993). Modulation of morphine-induced sensitization by endogenous kappa opioid systems in the rat. *Neuroscience Letter, 153,* 232-236.

Spanagel, R. (1995). Modulation of drug-induced sensitization processes by endogenous opioid systems. *Behavioural Brain Research, 70,* 37-49.

Starr, M. S. (1985). Multiple opiate receptors may be involved in suppressing gamma-aminbutyrate release in substantia nigra. *Life Science, 37,* 2249-2255.

Tzschentke, T. M., Schmidt, W. J. (1997). Interactions of MK-801 and GYKI 52466 with morphine and amphetamine in place preference conditioning and behavioural sensitization. *Behavioural Brain Research, 84,* 99-107.

Van Bockstaele, E. J., Pickel, V. M. (1995). GABA-containing neurons in the ventral tegmental area project to the nucleus accumbens in rat brain. *Brain Research, 682,* 215-221.

Vandersehuren, L. J., & Kalivas, P. W. (2000). Alterations in

dopaminergic and glutamatergic transmission in the induction and expression of behavioral sensitization: A critical review of preclinical studies. *Psychopharmacology, 151,* 99-120.

Volpicelli, L. A., Easterling, K. W., Kimmel, H. L., & Holtzman, S. G. (1999). Sensitization to daily morphine injections in rats with unilateral lesions of the substantia nigra. *Pharmacology Biochemistry and Behavior, 64,* 487-493.

Wise, R. A. (1996). Addictive drugs and brain stimulation reward. *Annual Review of Neuroscience, 19,* 319-340.

Xi, Z. X., & Stein, E. A. (2000). Increased mesolimbic GABA concentration blocks heroin self-administration in the rat. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 294,* 613-619.

Xi, Z. X., & Stein, E. A. (2002). GABAergic mechanisms of opiate reinforcement. *Alcohol, 37,* 485-494.

Zarrindast, M. R., & Farahvash, H. (1994). Effects of GABA - ergic drugs on penile erection induced by apomorphine in rats. *Psychopharmacology, 115,* 249-253.

Zarrindast, M. R., Gholami, A., Sahraei, H., & Haeri-Rohani, A., (2003). Role of nitric oxide in the acquisition and expression of apomorphine- or morphine-induced locomotor sensitization. *European Journal of Pharmacology, 482,* 205-213.

Zarrindast, M. R., Jafari, M. R., Ahmadi, S., & Djahanguiri, B. (2004a). Influence of central administration ATP-dependent K+ channel on morphine state-dependent memory of passive avoidance. *European Journal of Pharmacology, 487,* 143-148.

Zarrindast, M. R., Ahmadi, S., Haeri-Rohani, A., Rezayof, A., Jafari, M. R., & Jafari-Sabet, M. (2004b). GABA(A) receptors in the basolateral amygdala are involved in mediating morphine reward. *Brain Research, 1006,* 49-58.

پژوهشگاه علوم انسانی و مطالعات فرهنگی
پرتال جامع علوم انسانی