

مقاله پژوهشی اصیل**نقش گیرنده‌های GABA_A در اکتساب و بیان حساسیت حرکتی القا شده توسط مورفین در موش کوچک آزمایشگاهی****احمد حیدری درویشانی**

گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه،
دانشگاه ارومیه

دکتر محمدرضا زرین‌دست^۱

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 استرنوتاکسی کانول‌گذاری و آماده‌تزیق شد. این مطالعه در یک برنامه ۸ 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:** تزیق 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 پیش‌تیمار شده با مورفین (۰/۵، ۱/۵ و ۳۰ mg/kg) نشان‌دهنده توسعه حساسیت بود. تزیق 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 القا شده 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 القا شده 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

پدیده حساسیت رفتاری^۱ نامیده می‌شود و شامل افزایش فعالیت حرکتی و دیگر پاسخ‌های ناشی از گرفتن این قبیل داروها می‌باشد. (مک‌دید^۲، دالی‌مور^۳، مکی^۴، میکی ویکسز^۵ و ناپیر^۶، ۲۰۰۵).

مقدمه

تجویز متناوب و مکرر انواع داروهای اعتیادآور همانند مورفین باعث افزایش مزمن فعالیت حرکتی (شپینبرگ^۲ و هایدبردر^۳، ۱۹۹۵؛ ولیسلی^۴، ایسترلینگ^۵، کیمل^۶ و هولتزمن^۷، ۱۹۹۹) و خصوصیات انگیزشی (اشپینبرگ و هایدبردر، ۱۹۹۵) می‌شود. این

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

۱- نشانی تماس: تهران، دانشگاه تهران، دانشکده پزشکی، گروه فارماکولوژی.

Email: zarinmr@mas.as.ir

نمی‌رسد که بتوان دوپامین را تنها میانجی این پاسخ قلمداد کرد. چندین سیستم میانجی دیگر شامل گابا، سروتونین^{۲۷}، گلو تامات^{۲۸} و اکسید نیتریک^{۲۹} نیز می‌توانند در حساسیت ناشی از مورفین نقش داشته باشند (چنتکه^{۳۰} و اشمیدت^{۳۱}، ۱۹۹۷؛ زرین دست، غلامی، صحرائی و حائری - روحانی، ۲۰۰۳).

به نظر می‌رسد حساسیت حرکتی ناشی از مشتقات تریاک توسط سیستم گابائریژیک در VTA میانجی‌گری شود (واندرشورن^{۳۲} و کالیواس^{۳۳}، ۲۰۰۰؛ لیت موریس^{۳۳}، فوکودوم^{۳۴}، شوب^{۳۵} و کاپلان^{۳۶}، 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 گابائریژیک 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^{۳۷} NMRI به وزن ۲۵-۲۰ گرم استفاده شد. کلیه حیوانات از انستیتو پاستور ایران تهیه و در حیوان‌خانه با دمای 22 ± 2 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

نتایج چندین مطالعه حاکی از بروز تغییر در سیستم دوپامینی مزولیمبیک ناشی از حساسیت رفتاری مورفین بوده است (اسپانگل^۱ و شپینبرگ، ۱۹۹۳؛ پاول^۲ و هالترمان، ۲۰۰۱). تجویز مکرر مورفین تحریک نورون‌های دوپامینریژیک را افزایش می‌دهد که می‌تواند باعث تحریک حساسیت و افزایش تحول رفتاری شود (ولپسلی و همکاران، ۱۹۹۹).

مسیر دوپامینی مزوکورتیکولیمبیک از جسم سلولی دوپامینریژیک در نواحی تگمنتوم شکمی^۳ (VTA) و شبکه‌ای در هسته اکومبیس^۴ (NAcc) آغاز می‌گردد. احتمالاً این سیستم در خصوصیات پاداش عصبی و اعتیادآور بودن مشتقات تریاک نقش دارد (وایز^۵، ۱۹۹۶؛ باردو^۶، ۱۹۹۸). VTA شامل زیرمجموعه‌ای از نورون‌های گابائریژیک است که نورون‌های واسطه دوپامینی را مهار می‌کند (کسای^۷ و اشتاین^۸، ۲۰۰۲)، پیام را به سایر نواحی مغز می‌فرستد و در فرآیند پاداش رفتاری دخالت می‌کند (وان بوکستیلی^۹ و پیکل^{۱۰}، ۱۹۹۵).

مشتقات تریاک می‌توانند اثر گابای رها شده از نورون‌های پیش‌سیناپسی در مهار سلول‌های دوپامینی را خنثی کند (رنو^{۱۱}، مولت^{۱۲} و بیتز^{۱۳}، ۱۹۹۲؛ شوچی^{۱۴}، دلفس^{۱۵} و ویلیامز^{۱۶}، ۱۹۹۹). عملکرد مهاری گابا به‌وسیله دو دسته از گیرنده‌های مهم میانجی‌گری می‌شود: گیرنده حساس به بیکوکلین، 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^{۱۷} و راث^{۱۸}، ۱۹۹۷؛ بینک^{۱۹}، هونز^{۲۰}، میشل^{۲۱}، بتلر^{۲۲} و ماهلر^{۲۳}، 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^{۲۴} و کالیواس^{۲۵}، ۱۹۸۹) و سلول‌های دوپامینی در VTA اعمال می‌شود، از این‌رو باعث افزایش رها سازی دوپامین در هسته اکومبیس می‌گردد (کسای و اشتاین، ۲۰۰۰).

اگرچه شواهد فراوانی دال بر نقش مسیر دوپامینریژیک مزولیمبیک در میانجی‌گری حساسیت رفتاری ناشی از مورفین وجود دارد (اسپانگل، ۱۹۹۵؛ کوری بارا^{۲۶}، ۱۹۹۵)، به‌نظر

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- Eukudome
35- Shoeb	36- Kaplan
37- Albino - NMRI	

سرسوزن شماره ۳۰ دندانپزشکی جهت کانول تزریق استفاده شد. مختصات کانول گذاری روی جمجمه بر اساس مقیاس کتاب پاکسیوس (۰/۹ میلی متر از براگما و ۱/۴ میلی متر از شیار میانی به طرف بطن جانبی راست و دو میلی متر از سطح جمجمه به عمق) انجام گرفت. سپس با استفاده از سرسوزن سرننگ پنج سی سی یک سوراخ کم عمق 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 می گشت. بعد از طی این مراحل به حیوان پنج روز جهت بهبودی استراحت داده می شد و سپس جهت انجام آزمایش مورد استفاده قرار می گرفت.

روش کار

برای اجرای آزمون‌ها یک برنامه ۹ روزه با سه مرحله مشخص مورد استفاده قرار گرفت. این مراحل عبارت بود از ابتدا مرحله حساس سازی، که در این مرحله به مدت سه روز متوالی مقدار معینی مورفین (۱۵ mg/kg) در طی ساعات معینی از روز به صورت زیرجلدی با سرننگ انسولین به حیوانات تزریق شد (در مدت ۴۰ ثانیه). این مرحله در روز دوم و سوم تکرار می شد؛ سپس مرحله قطع دارو، که در این مرحله حیوانات به مدت پنج روز هیچ دارویی دریافت نمی کردند؛ و در نهایت مرحله آزمون، که در طی این مرحله به هر حیوان ۵ mg/kg مورفین تزریق می شد (زرین دست و همکاران، ۲۰۰۴ الف) و سپس در دستگاه حرکت سنج گذاشته، به مدت ۲۰ دقیقه تعداد حرکات افقی حیوان اندازه گیری می شد. جهت تزریق دارو به داخل بطن راست، از یک کانول تزریق که به وسیله لوله پلی اتیلنی به طول حدود ۲۰ سانتی متر به سرننگ هامیلتون ده میکرولیتری متصل شده بود، استفاده می گردید. دو میکرولیتر دارو یا دارونما به هر یک از کانول‌ها ظرف مدت ۴۰ ثانیه تزریق می شد.

برای اندازه گیری فعالیت حرکتی حیوان از یک دستگاه حرکت سنج Animax مدل LKB Farad SEP استفاده شد. برای

به راحتی به آب و غذای کافی دسترسی داشتند. جهت عادت کردن حیوانات به محیط و حذف استرس‌های ناشی از جابجایی، یک هفته قبل از شروع هر گونه آزمایشی، حیوانات به حیوان‌خانه منتقل می شدند و پنج دقیقه قبل از آزمایش حیوانات نوازش می شدند. در تمامی آزمایش‌ها هر حیوان فقط یک بار مورد استفاده قرار می گرفت و آزمایش‌ها در زمان معینی در طی مرحله نوری از دوره روشنایی - تاریکی انجام می شد.

روش تهیه و تجویز داروها

داروهایی که در این تحقیق مورد استفاده قرار گرفت عبارت بود از: موسیمول^۱ (شرکت توکریس، انگلستان)، بیکوکولین (شرکت سیگما، آمریکا)، سولفات مورفین (شرکت تماد، ایران). کلیه داروها به جز بیکوکولین بلافاصله قبل از آزمایش‌ها در محلول سرم فیزیولوژیک ۰/۹ درصد استریل حل می شد. برای حل کردن بیکوکولین از محلول حاوی یک قطره اسید استیک گلاسیال استفاده می شد. مورفین به صورت زیرجلدی^۲ (sc) و موسیمول و بیکوکولین به صورت داخل بطن مغزی^۳ (icv) تزریق می شد. گروه‌های شاهد سالمین یا حامل دریافت می کردند. دوزهای مورد استفاده در این تحقیق، دوزهایی بود که در مطالعات قبلی نیز مورد استفاده قرار گرفته بود (زرین دست و همکاران، ۲۰۰۳؛ زرین دست و همکاران، ۲۰۰۴ ب).

روش کانول گذاری داخل مغزی

با استفاده از دستگاه استرنوتاکسی در بطن راست مغز حیوانات کانول گذاری انجام شد. هر حیوان با محلول آماده شده زایلازین^۴ و کتامین^۵ (۲۰-۳۰ mg/kg) بیهوش می شد و جهت تثبیت و مختصات برداری در دستگاه استرنوتاکسی قرار می گرفت. در این وضعیت میله‌های گوشه^۶ در فرورفتگی‌های مربوط به صندوق صماخ و دندان‌های پیشین در داخل سوراخ میله دندان^۷ جاسازی می شد. پس از برش و آماده سازی سطح جمجمه ناحیه براگما^۸ (محل تقاطع استخوان‌های پیشانی و آهیانه) مشخص می گشت (زرین دست، جعفری، احمدی و جهانگیری، ۲۰۰۴ الف). برای کانول گذاری از سر سوزن شماره ۲۳ جهت کانول راهنما و از

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

جانبی مغز تجویز می‌شد و پنج دقیقه بعد به آنها سالیان (10 ml/kg) (شکل ۳، سمت چپ) و یا مورفین (15 mg/kg) (شکل ۳، سمت راست) تزریق می‌گردید و در قفس Diff به مدت ۲۰ دقیقه قرار می‌گرفتند. تزریق در روز دوم و سوم نیز تکرار می‌شد. پنج روز بعد از مرحله پیش‌درمان، تمام گروه‌ها مورفین (5 mg/kg) دریافت می‌کردند و بلافاصله در قفس آزمون به مدت 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 به عنوان آنتاگونیست گیرنده گابا A (0/5، 1 و 10 μg/mouse) و یا سالیان (2 μl/mouse) دریافت می‌نمودند و پنج دقیقه بعد به آنها سالیان (10 ml/kg) (شکل ۴-، سمت چپ) و یا مورفین (15 mg/kg) (شکل ۴-، سمت راست) تزریق می‌شد و در قفس Diff به مدت ۲۰ دقیقه قرار می‌گرفتند. این مرحله در روز دوم و سوم نیز تکرار می‌شد. پنج روز بعد از مرحله پیش‌درمان، گروه‌ها با دریافت مورفین (5 mg/kg)، بلافاصله به مدت 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 (0/5، 1 و 10 μg/mouse) یا سالیان (2 μl/mouse) پنج دقیقه قبل از تزریق موسیمول (0/1 μg/mouse) دریافت کردند. پنج دقیقه بعد به آنها سالیان (10 ml/kg) یا مورفین (15 mg/kg) تزریق شد و در قفس‌های Diff به مدت ۲۰ دقیقه قرار گرفتند. سپس حیوانات به حیوان‌خانه برگردانده می‌شدند و این مرحله در روزهای دوم و سوم

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 (30×30×50 cm) گذاشته می‌شدند (باتیستی^۱، شرفلر^۲، یورتسکی^۳ و والاک^۴، ۲۰۰۰). بعد از تجویز داروها حیوانات در قفسه پلاستیکی شفاف مخصوص (با ارتفاع 30×25×20 سانتی متر) قرار می‌گرفتند و تعداد حرکات افقی هر حیوان برای مدت ۲۰ دقیقه به وسیله حس گرهای فعال شده شمارش می‌شد. تعداد این حرکات به عنوان نمادی از فعالیت حرکتی حیوان در نظر گرفته می‌شد.

کلیه حیوانات به کار گرفته شده در این آزمایش‌ها، در داخل بطن جانبی راست مغز کانول گذاری 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 (10، 20، 30 و 40 mg/kg) و یک گروه از حیوانات به عنوان شاهد سالیان (10 ml/kg) دریافت کرد. تزریق بلافاصله قبل از اندازه گیری فعالیت حرکتی انجام شد. این آزمایش جهت به دست آوردن منحنی دوز-پاسخ^۵ 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 (5، 7/5، 15 و 30 mg/kg) و یک گروه سالیان (10 ml/kg) دریافت نمود و در قفس پلاستیکی به مدت 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 (5 mg/kg) تجویز و بلافاصله به مدت 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 به عنوان آگونیست گیرنده گابا A (0/5، 0/1، 0/25، 0/5 و 1 μg/mouse) و یا سالیان (2 μl/mouse) از طریق تزریق داخل بطن

1- Battisti
3- Uretsky
5- dose-response

2- Shreffler
4- Wallac

MSTAT و SPSS استفاده شد.

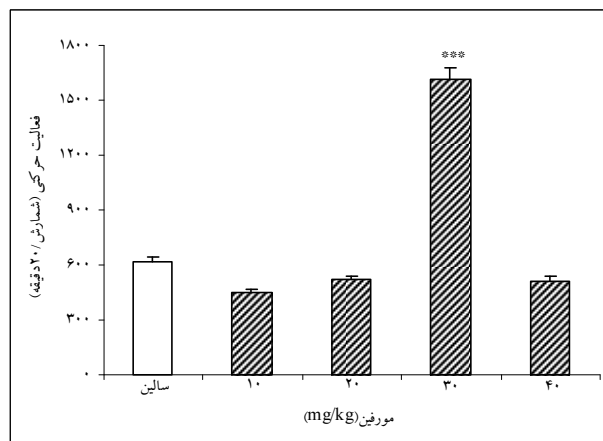
یافته‌ها

آزمایش اول: اثر مورفین بر فعالیت حرکتی.

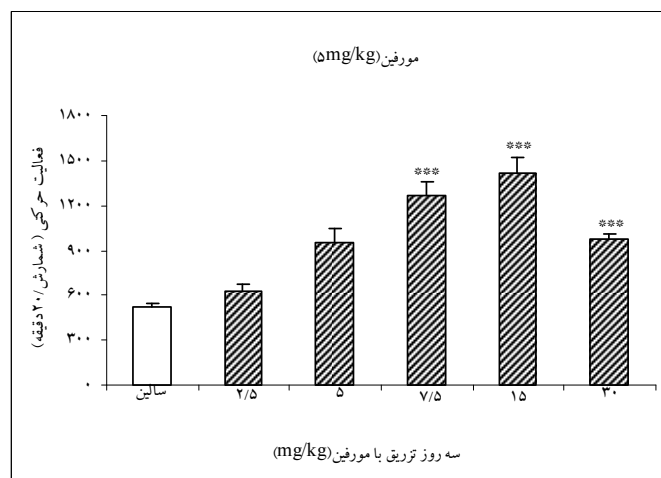
شکل ۱ القای حرکتی به وسیله تزریق زیر پوستی غلظت‌های متفاوت مورفین (۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ mg/kg) را به مدت ۲۰ دقیقه بعد از تزریق نشان می‌دهد. ANOVA یک طرفه نشان داد که مورفین به صورت معنی دار و وابسته به غلظت فعالیت حرکتی را در مقایسه با سالین افزایش می‌دهد [F(۴ و ۴۵) = ۴۷/۲، $p < ۰/۰۰۱$].

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).

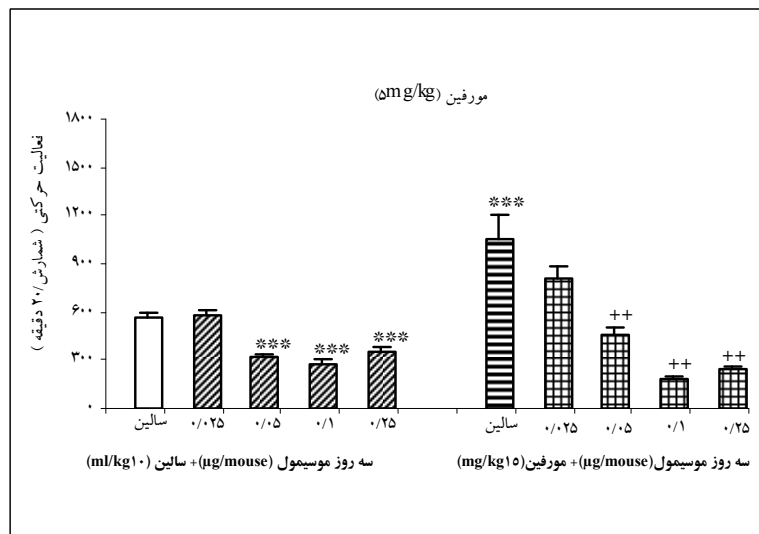
در تمامی آزمایش‌های فوق به منظور تعیین میزان فعالیت حرکتی از اعداد نمایشگر مندرج در روی دستگاه استفاده می‌شد. در کلیه آزمایش‌ها فعالیت حرکتی در هر گروه حیوانی به صورت میانگین و انحراف معیار ثبت می‌گردید. جهت تعیین وجود اختلاف معنی دار بین گروه‌های آزمایش، از روش آنالیز واریانس (ANOVA) یک طرفه و دوطرفه و به دنبال آن از آزمون تعقیبی توکی استفاده گردید و $p < ۰/۰۵$ به عنوان سطح معنی داری در نظر گرفته شد. برای انجام محاسبات آماری از نرم افزارهای



شکل ۱- اثر مورفین روی فعالیت حرکتی: تزریق مقادیر مختلف مورفین (۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ mg/kg) یا سالین (۱۰ ml/kg) (n=10). داده‌ها به صورت میانگین و خطای معیار میانگین (SEM) ارائه شده است. $p < ۰/۰۰۱$ *** 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=10). داده‌ها به صورت میانگین و خطای معیار میانگین (SEM) ارائه شده است. $p < ۰/۰۰۱$ *** در مقایسه با گروه سالین.



شکل ۳- اثر تجویز مکرر موسیمول در حضور یا در غیاب مورفین روی فعالیت حرکتی ناشی از مورفین (n=10). داده‌ها به صورت میانگین و خطای معیار میانگین (SEM) ارائه شده است. $p < 0.001$ با گروه کنترل سالیین/سالیین/مورفین و $p < 0.001$ با گروه کنترل سالیین/مورفین/مورفین مقایسه شد.

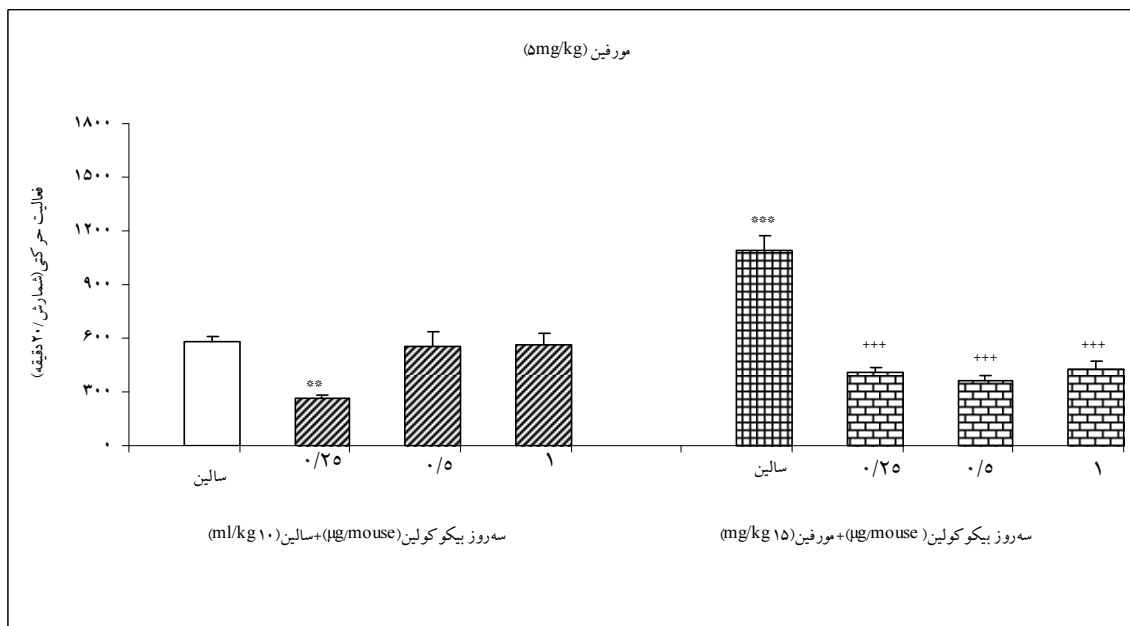
آزمایش دوم: اثر مورفین بر القای حساسیت حرکتی. فعالیت حرکتی حیواناتی که به مدت سه روز به مقدار ۲/۵، ۵، ۷/۵، ۱۵ و ۳۰ mg/kg مورفین دریافت کرده بودند با آنهایی که سالیین گرفته بودند، اختلاف معنی دار داشت (شکل ۲-). تزریق ۳۰ mg/kg مورفین کاهش معنی داری را در فعالیت حرکتی حیوان ایجاد می‌کرد. مقادیر متفاوت مورفین با حیوان پیش درمان شده با سالیین مقایسه شد.

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

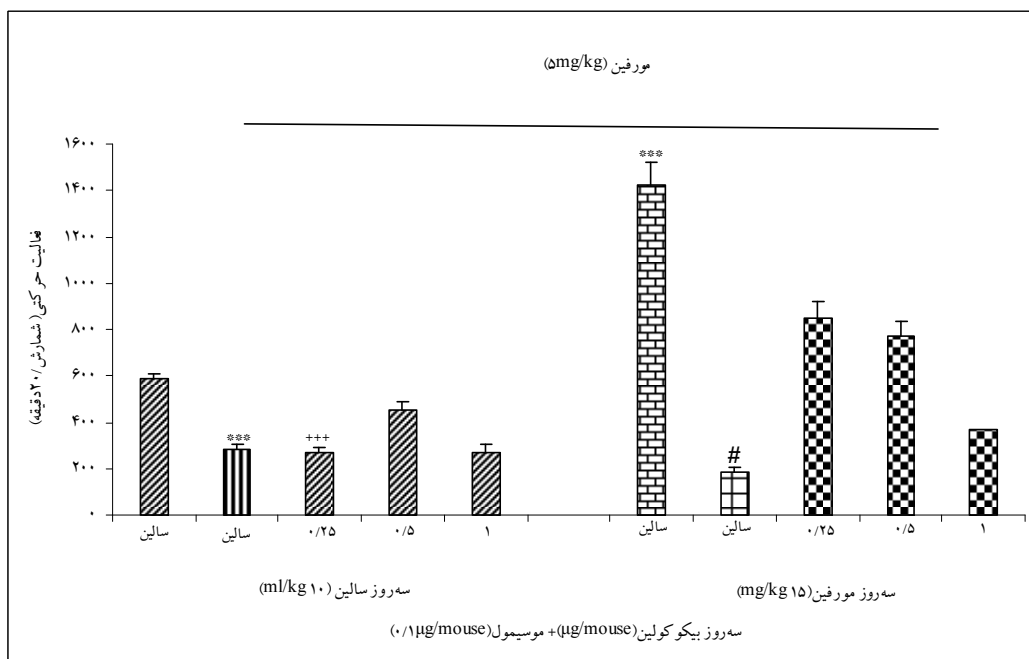
شکل ۴ اثرات تجویز مکرر بیکوکولین داخل بطن جانبی مغز را در غیاب و در حضور مورفین، بر میزان فعالیت حرکتی ناشی از مورفین نشان می‌دهد. اثر بیکوکولین (۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ μg/mouse) به تنهایی و یا با مورفین (۱۵ mg/kg) بر اکتساب حساسیت القاشده توسط مورفین تفاوت معنی داری داشت. تحلیل بیشتر نشان داد حیواناتی که قبلاً به مدت سه روز بیکوکولین به تنهایی یا با مورفین دریافت کرده و سپس پنج روز دارویی نگرفته بودند فعالیت حرکتی آنها به طور معنی داری به وسیله مورفین (۵ mg/kg) کاهش یافت: بیکوکولین و سالیین در مقایسه با سالیین [$F(۳, ۳۹) = ۷/۳۹$ ، $p < 0.001$]. بیکوکولین با مورفین در مقایسه با سالیین [$F(۳, ۳۶) = ۲۵/۴$ ، $p < 0.001$]. (شکل ۴-).

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 معنی داری را بین پاسخ به موسیمول (۰/۲۵، ۰/۵، ۱، ۰/۲۵ μg/mouse) به تنهایی 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 به مدت سه روز موسیمول به تنهایی [$F(۳, ۳۰) = ۳۰/۵$ ، $p < 0.001$]



شکل ۴- اثر تجویز مکرر بیکوکلین در حضور یا در غیاب مورفین روی فعالیت حرکتی ناشی از مورفین ($n=10$). داده‌ها به صورت میانگین و خطای معیار میانگین (SEM) ارائه شده است. $p < 0.001$ و $p < 0.01$ با گروه کنترل سالمین/سالمین/مورفین و $p < 0.001$ با گروه کنترل سالمین/مورفین مقایسه شد.



شکل ۵- تداخل اثر تجویز مکرر بیکوکلین و موسیمول در حضور یا غیاب مورفین بر میزان فعالیت حرکتی القا شده توسط مورفین ($n=10$). داده‌ها به صورت میانگین و خطای معیار میانگین (SEM) ارائه شده است. $p < 0.001$ با گروه کنترل سالمین/سالمین/مورفین، $p < 0.001$ با گروه کنترل سالمین/موسیمول/سالمین، $p < 0.001$ با گروه کنترل سالمین/مورفین/مورفین و $p < 0.001$ با گروه کنترل سالمین/موسیمول/مورفین مقایسه شد.

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

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

تحریک کنندگی مشتقات تریاک روی فعالیت حرکتی، توسط پیش تیمار مورفین در طولانی مدت 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 (کوربیارا، ۱۹۹۷). تجویز طولانی مدت با اثر روی گابا در هسته اکومبیس موجب افزایش انتقال دوپامین می‌شود (دی‌روور^{۲۲}، لودر^{۲۳}، شوفلمی^{۲۴} و بروسارد^{۲۵}، ۲۰۰۵). به علاوه به نظر می‌رسد که تغییر در انتقال سیستم‌های گابائریژیک، 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 القا شده توسط مورفین را تغییر دهد. اگرچه فرآیند حساسیت حرکتی به مراحل طولانی نیاز دارد (شینبرگ و هایدبردر، ۱۹۹۵)، ولی مطابق گزارش زرین دست 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 (کریس تنسن^{۲۶}، آرنست^{۲۷} و شیل کروگر^{۲۸}، ۱۹۷۸). پژوهش‌های دیگر نیز مشخص کردند که مهار انتقال سیستم گابائریژیک با تحریک مورفین انجام می‌گیرد (جیانگ^{۲۹} و نورت^{۳۰}، ۱۹۹۲).

علاوه بر این نتایج، پژوهش حاضر نشان داد که پیش تیمار با

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 بیکو کولین (۰/۲۵ و ۰/۵ μg/mouse) اثر موسیمول را بر پاسخ به مورفین برگشت می‌دهد. آنالیز بیشتر نشان داد که تزریق مکرر بیکو کولین داخل بطن جانبی مغز، اثر موسیمول (همراه با سالین یا مورفین) را بر فعالیت حرکتی حیواناتی که قبلاً به مدت سه روز با سالین یا مورفین پیش تیمار شده بودند (بدنبال پنج روز بدون گرفتن دارو) کاهش می‌دهد: موسیمول با سالین [F(۴ و ۴۵)=۲۳/۶، p<۰/۰۰۱]؛ موسیمول با مورفین [F(۴ و ۴۵)=۶۴/۸، p<۰/۰۰۱] کاهش می‌دهد (شکل-۵).

بحث

در تحقیق حاضر، دخالت گیرنده‌های گابا A در اکتساب و تجلی حساسیت حرکتی^۱ ناشی از القای مورفین بررسی گردید. نتایج این مطالعه نیز مطابق با مطالعات پیشین (زرین دست و همکاران، ۲۰۰۳؛ موری^۲، یو^۳، ناریتا^۴، سوزوکی^۵ و ساواگوچی^۶، ۲۰۰۴؛ پتی^۷ و همکاران، ۲۰۰۵) نشان می‌دهد که تزریق سیستمیک مورفین فعالیت حرکتی را افزایش می‌دهد. فعالیت حرکتی القا شده توسط مورفین در سیستم عصبی مرکزی مشاهده شده است (بسپالو^۸ و زوارتاو^۹، ۱۹۹۶؛ اولسون^{۱۰} و همکاران، ۲۰۰۶)، به ویژه اگر ناشی از تحریک سیستم دوپامینرژیک باشد (کوک^{۱۱} و بردسلی^{۱۲}، ۲۰۰۳؛ هناسکو^{۱۳}، سوتک^{۱۴} و پالمیر^{۱۵}، ۲۰۰۵).

تجویز سیستمیک مورفین می‌تواند رهاسازی گابا را در مغز میانی (رینو و همکاران، ۱۹۹۲) و در نواحی جسم سیاه (استار^{۱۶}، ۱۹۸۵) مهار کند و سطح دوپامین خارج سلولی را در دیواره جانبی با کاهش ریتم مهارکنندگی سیستم گابائریژیک در VTA افزایش دهد (سوتومایر^{۱۷}، فورای^{۱۸} و گیسلینگ^{۱۹}، ۲۰۰۵).

در تحقیق حاضر تزریق زیرجلدی مورفین به مدت 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 هولتزمن، ۲۰۰۱؛ ناریتا، شیباساکی^{۲۰}، میزو^{۲۱} و سوزوکی، ۲۰۰۳). نتیجه آزمایش‌های این تحقیق نشان داد که اثر

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- Sotomayor	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

دیگر تداخل تجویز بیکوکولین و موسیمول با هم به داخل VTA را در محدوده وسیعی از غلظت‌ها نشان دادند (لاویولت^۳ و وان در کوی^۴، 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 پیش‌تیمار شده 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 حساس سازی 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 گرانقدر آقای دکتر مجید جعفری ثابت تشکر و قدردانی می‌شود.

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

1- Mitchell
3- Lavolette

2- Martin
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

تزریق داخل بطن مغزی موسیمول به مدت 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 نگمنتوم 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 تجویز مکرر مورفین در حیواناتی که قبلاً به مدت 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^۱ و مارتین^۲، 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 نگمنتوم 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

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 (+/-)-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 sensitization 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., Daring, M. J., Weinschenker, 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-aminobutyrate 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.
- Vanderschuren, 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.