بسم الله
الرحمن الرحیم

تاییدیه اعضای هیات داوران حاضر در جلسه دفاع از رساله دکتری

آقای حسین عزیزی رشته فیزیولوژی رساله دکتری خود را با عنوان: بررسی نقش گیرنده نوع ۱ اورکسین در نورونهای هسته لوکوس سرولئوس بر وابستگی به مورفین در موشهای صحرایی: مطالعه رفتاری و الکتروفیزیولوژی در تاریخ ۸۹/۱۱/۴ ارائه کردند. اعضای هیات داوران نسخه نهایی این رساله را از نظر فرم و محتوا تایید کرده و پذیرش آنرا برای تکمیل درجه دکتری پیشنهاد می‌کنند.

اعضای هیات داوران	نام و نام خانوادگی	امضاء
استاد راهنما	دکتر سعید سمنانیان	
استاد مشاور	دکتر سید جواد میر نجفی زاده	
استاد ناظر	دکتر سهراب حاجی زاده	
استاد ناظر	دکتر علیرضا مانی	
استاد ناظر	دکتر مهیار جان احمدی	
استاد ناظر	دکتر نیما نادری	
استاد ناظر و نماینده تحصیلات تکمیلی	دکتر محمد جوان	

آیین‌نامه حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهش‌های علمی دانشگاه تربیت مدرس

مقدمه: با عنایت به سیاست‌های پژوهشی و فناوری دانشگاه در راستای تحقق عدالت و کرامت انسان‌ها که لازمه شکوفایی علمی و فنی است و رعایت حقوق مادی و معنوی دانشگاه و پژوهشگران، لازم است اعضای هیأت علمی، دانشجویان، دانش‌آموختگان و دیگر همکاران طرح، در مورد نتایج پژوهش‌های علمی که تحت عناوین پایان‌نامه، رساله و طرح‌های تحقیقاتی با هماهنگی دانشگاه انجام شده است، موارد زیر را رعایت نمایند:

ماده ۱- حق نشر و تکثیر پایان نامه/ رساله و درآمدهای حاصل از آن‌ها متعلق به دانشگاه می باشد؛ ولی حقوق معنوی پدید آورندگان محفوظ خواهد بود.

ماده ۲- انتشار مقاله یا مقالات مستخرج از پایان‌نامه/ رساله به صورت چاپ در نشریات علمی و یا ارائه در مجامع علمی باید به نام دانشگاه بوده و با تأیید استاد راهنمای اصلی، یکی از اساتید راهنما، مشاور و یا دانشجوی مسئول مکاتبات مقاله باشد. ولی مسئولیت علمی مقاله مستخرج از پایان نامه و رساله به عهده اساتید راهنما و دانشجو می‌باشد.

تبصره: در مقالاتی که پس از دانش‌آموختگی بصورت ترکیبی از اطلاعات جدید و نتایج حاصل از پایان‌نامه/ رساله منتشر می‌شود نیز باید نام دانشگاه درج شود.

ماده ۳- انتشار کتاب و یا نرم افزار و یا آثار ویژه (اثری هنری مانند فیلم، عکس، نقاشی و نمایشنامه) حاصل از نتایج پایان‌نامه/ رساله و تمامی طرح‌های تحقیقاتی کلیه واحدهای دانشگاه اعم از دانشکده‌ها، مراکز تحقیقاتی، پژوهشکده‌ها، پارک علم و فناوری و دیگر واحدها باید با مجوز کتبی صادره از معاونت پژوهشی دانشگاه و براساس آئین‌نامه‌های مصوب انجام شود.

ماده ٤- ثبت اختراع و تدوین دانش فنی و یا ارائه یافته‌ها در جشنواره‌های ملی، منطقه‌ای و بین‌المللی که حاصل نتایج مستخرج از پایان‌نامه/ رساله و تمامی طرح‌های تحقیقاتی دانشگاه باشد، باید با هماهنگی استاد راهنما یا مجری طرح از طریق معاونت پژوهشی دانشگاه انجام گیرد.

ماده ۵- این آیین‌نامه در ۵ ماده و یک تبصره در تاریخ ۸۷/٤/۱ در شورای پژوهشی و در تاریخ ۸۷/٤/۲۳ در هیأت رئیسه دانشگاه به تأیید رسید و در جلسه مورخ ۸۷/۷/۱۵ شورای دانشگاه به تصویب رسیده و از تاریخ تصویب در شورای دانشگاه لازم‌الاجرا است.

«اینجانب **حسین عزیزی** دانشجوی رشته **فیزیولوژی** ورودی سال تحصیلی **۱۳۸۵** مقطع **دکتری** دانشکده **علوم پزشکی** متعهد می‌شوم کلیه نکات مندرج در آیین نامه حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهش‌های علمی دانشگاه تربیت مدرس را در انتشار یافته‌های علمی مستخرج از پایان نامه/ رساله تحصیلی خود رعایت نمایم. در صورت تخلف از مفاد آیین نامه فوق الاشعار به دانشگاه وکالت و نمایندگی می دهم که از طرف اینجانب نسبت به لغو امتیاز اختراع بنام بنده و یا هرگونه امتیاز دیگر و تغییر آن به نام دانشگاه اقدام نماید. ضمناً نسبت به جبران فوری ضرر و زیان حاصله براساس برآورد دانشگاه اقدام خواهم نمود و بدینوسیله حق هرگونه اعتراض را از خود سلب نمودم».

حسین عزیزی

۸۹/۱۱/٤

آئین‌نامه پایان‌نامه (رساله)های دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان‌نامه (رساله)های تحصیلی دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس، مبین بخشی از فعالیت‌های علمی پژوهشی دانشگاه است. بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه، دانش آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می‌شوند:

ماده ۱: در صورت اقدام به چاپ پایان‌نامه (رساله)ی خود، مراتب را قبلاً به‌طور کتبی به دفتر "دفتر نشر آثار علمی" دانشگاه اطلاع دهد.

ماده ۲: در صفحه سوم کتاب (پس از برگ شناسنامه)، عبارت ذیل را چاپ کند:

"کتاب حاضر، حاصل **رساله دکتری** نگارنده در رشته **فیزیولوژی** است که در سال **۱۳۸۹** در دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس به راهنمایی **دکتر سعید سمنانیان**، مشاوره **دکتر سید جواد میرنجفی‌زاده** از آن دفاع شده است".

ماده ۳: به منظور جبران بخشی از هزینه‌های انتشارات دانشگاه، تعداد یک درصد شمارگان کتاب (در هر نوبت چاپ) را به "دفتر نشر آثار علمی" دانشگاه اهداء کند. دانشگاه می‌تواند مازاد نیاز خود را به نفع مرکز نشر در معرض فروش قرار دهد.

ماده ٤: در صورت عدم رعایت ماده ۳، ۵۰٪ بهای شمارگان چاپ شده را به‌عنوان خسارت به دانشگاه تربیت مدرس، تأدیه کند.

ماده ٥: دانشجو تعهد و قبول می‌کند در صورت خودداری از پرداخت‌های بهای خسارت، دانشگاه مذکور را از طریق مراجع قضایی مطالبه و وصول کند، به علاوه به دانشگاه حق می‌دهد به منظور استیفای حقوق خود، از طریق دادگاه، معادل وجه مذکور در ماده ٤ را از محل توقیف کتاب‌های عرضه شده نگارنده برای فروش، تامین نماید.

ماده ٦: اینجانب **حسین عزیزی** دانشجوی رشته **فیزیولوژی** مقطع **دکتری** تعهد فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملتزم می‌شوم.

حسین عزیزی

۸۹/۱۱/٤

دانشگاه تربیت مدرس
دانشکده علوم پزشکی

رساله

دوره دکتری تخصصی (Ph.D.) در رشته فیزیولوژی

عنــوان

بررسی نقش گیرنده نوع ۱ اورکسین در نورون‌های هسته لوکوس‌سرولئوس بر وابستگی به مورفین در موش‌های صحرایی: مطالعه رفتاری و الکتروفیزیولوژی

نگــارش

حسین عزیزی

استاد راهنمــا

دکتر سعید سمنانیان

استاد مشــاور

دکتر سید جــواد میرنجفی‌زاده

زمستان ۱۳۸۹

تقدیم به:

پدر و مادر عزیزم؛

به پاس محبت‌های بی دریغشان که هرگز فروکش نمی‌کند.

همسر مهربانم؛

که در تمامی فراز و نشیب‌های زندگی همراهیم می‌کند.

تشکر و قدردانی:

اکنون که با لطف بیکران الهی دوره دکتری را با موفقیت به پایان رسانده‌ام، بر خود لازم می‌دانم که از همه عزیزانی که مرا در سپری نمودن این دوره کمک کرده‌اند تشکر و قدردانی نمایم.

از استاد محترم راهنما جناب آقای دکتر سعید سمنانیان که علاوه بر مسؤلیت راهنمائی این رساله، کمک‌ها و راهنمایی‌های دلسوزانه خود را از من دریغ نکردند سپاسگذاری می‌نمایم. بدون دقت نظر و راهنمایی‌های ارزنده ایشان این تحقیق به نتیجه نمی‌رسید.

از استاد محترم مشاور، جناب آقای دکتر سید جواد میرنجفی‌زاده که در طول تحصیل همواره از مشاوره‌های ارزشمند ایشان بهره برده‌ام کمال تشکر و قدردانی را دارم.

از تلاش‌ها و زحمات اساتید محترم؛ جناب آقای دکتر یعقوب فتح الهی، جناب آقای دکتر سهراب حاجی‌زاده، جناب آقای دکتر علیرضا مانی و مدیر محترم گروه فیزیولوژی جناب آقای دکتر محمد جوان کمال تشکر را دارم.

از اساتید محترم و بزرگوار، سرکار خانم دکتر جان‌احمدی و جناب آقای دکتر نادری که نظارت این رساله را بر عهده داشتند و همچنین در طی انجام این تحقیق از راهنمایی‌های ارزشمند آن‌ها بهره برده‌ام تشکر و قدردانی می‌نمایم.

از کمک‌های فراوان و دلسوزی‌های بیدریغ دوستان و همکلاسی‌های گرامی آقای دکتر غلامرضا بیات، آقای دکتر پرویز شهابی، خانم دکتر فاطمه صفری و خانم دکتر شیوا خضری تشکر می‌نمایم.

از کمک‌ها و راهنمایی‌های دوستان و دانشجویان عزیز از جمله آقای دکتر کامبیز رهام‌پور، آقای دکترحسن اژدری زرمهری، آقای دکتر مهدی گودرزوند، خانم دکتر نرگس حسین‌مردی، خانم دکتر مژده نویدحمیدی، خانم زهره قطب‌الدین، خانم فیروزه علویان، آقای مهدی صادق، آقای یداله رنجبر، آقای مصطفی احمدی و سایر دوستان و دانشجویان گروه فیزیولوژی دانشگاه تربیت مدرس کمال تشکر را دارم.

از کارشناس محترم آزمایشگاه Patch clamp، سرکار خانم هادیان تشکر و قدردانی می‌نمایم.

از کارشناسان محترم گروه فیزیولوژی؛ جناب آقای نعیمی، جناب آقای سلیمی و سرکار خانم پهلوان تشکر و قدردانی می‌نمایم.

از زحمات کارشناسان و کارمندان محترم واحدهای آموزش و پژوهش دانشکده علوم پزشکی به‌ویژه جناب آقای سرمدی و جناب آقای موسویان تشکر می‌نمایم.

در نهایت سپاسگزارم از پدر و مادر مهربانم که با تلاش و از خود گذشتگی در همه مراحل زندگی به یاریم همت گماردند و همسر مهربانم که در همه حال پشتیبانم بوده و هست.

چکیده:

یافته‌ها نقش اورکسین را در وابستگی به اوپیات‌ها و بروز سندرم محرومیت از مورفین نشان می‌دهند. هسته لوکوس-سرولئوس (LC) نیز یکی از نواحی مهم مغزی است که در وابستگی به اوپیات‌ها و بروز علائم رفتاری محرومیت از آن‌ها ایفای نقش می‌کند. این هسته در بسیاری از گونه‌ها متراکم‌ترین استطاله‌های اورکسینرژیک را از هیپوتالاموس دریافت می‌کند. بعلاوه تراکم بالایی از گیرنده نوع ۱ اورکسین در هسته LC دیده شده‌است. تا کنون مطالعه‌ای در مورد اثر اورکسین بر هسته LC در وابستگی و بروز سندرم محرومیت از اوپیات‌ها انجام نشده‌است.

در این مطالعه تأثیر اورکسینA در هسته LC بر بروز علائم سندرم محرومیت از مورفین مورد ارزیابی قرار گرفت. همچنین نقش این نوروپپتید بر انتقالات سیناپسی تحریکی در نورون‌های هسته LC بررسی شد. در بخش رفتاری این پژوهش، موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار با وزن ۲۵۰ تا ۳۰۰ گرم پس از کانول‌گذاری در هسته LC به مورفین وابسته شدند؛ سپس اثر تزریق داخل هسته‌ای آنتاگونیست انتخابی گیرنده نوع ۱ اورکسین (SB 334867) بر بروز علائم رفتاری سندرم محرومیت القائی با تزریق نالوکسان بررسی شد. همچنین اثر تزریق داخل هسته‌ای SB 334867 بر علائم رفتاری سندرم محرومیت القائی با تزریق گلوتامات به داخل هسته LC بررسی گردید. بعلاوه در این بخش، بروز علائم رفتاری محرومیت با تزریق اورکسینA به داخل هسته LC حیوانات وابسته به مورفین ارزیابی شد. در قسمت الکتروفیزیولوژی با تکنیک ثبت Whole-cell clamp اثر اورکسین بر انتقالات سیناپسی تحریکی بررسی گردید.

یافته‌های این پژوهش نشان داد که مهار گیرنده نوع ۱ اورکسین در هسته LC شدت بروز علائم رفتاری سندرم محرومیت از مورفین القایی با نالوکسان را کاهش می‌دهد؛ اما بر رفتارهای محرومیت القایی با تزریق داخل هسته‌ای گلوتامات اثری نمی‌گذارد. همچنین تزریق اورکسینA به داخل هسته LC در حیوانات وابسته به مورفین سبب بروز علائم رفتاری محرومیت شد. داده‌های این مطالعه در بخش الکتروفیزیولوژی نشان می‌دهد که اورکسینA در موش‌های وابسته و غیر وابسته به مورفین سبب افزایش دامنه جریان‌های پس‌سیناپسی خودبخودی (sEPSC) می‌شود. این نوروپپتید همچنین سبب افزایش جریان‌های پس‌سیناپسی برانگیخته (eEPSC) ناشی از گیرنده‌های NMDA در نورون-های هسته LC در موش‌های وابسته و غیر وابسته به مورفین شد؛ اما کاربرد اورکسین eEPSC ناشی از گیرنده‌های AMPA را فقط در نورون‌های هسته LC حیوانات وابسته به مورفین افزایش داد. اورکسینA اثری بر تسهیل ناشی از جفت تحریک (Paired pulse facilitation) در نورون‌های هسته LC نداشت.

بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که احتمالاً اورکسینA به‌طور مستقیم و یا از طریق تقویت انتقال سیناپس‌های تحریکی در نورون‌های هسته LC در بروز رفتارهای سندرم محرومیت از مورفین نقش ایفا می‌کند.

واژه‌های کلیدی: اورکسین، گیرنده نوع ۱ اورکسین، SB-334867، ثبت Whole-cell patch clamp، هسته لوکوس سرولئوس، سندرم محرومیت از مورفین، موش صحرایی

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل اول: مقدمه و مروری بر مطالعات انجام شده

۱-۱. مقدمه ۲

۱-۲. اورکسین یا هیپوکرتین ۵

۱-۲-۱. آوران‌ها و وابران‌های نورون‌های اورکسینرژیک ۶

۱-۲-۲. نقش اورکسین ۷

۱-۲-۳. گیرنده‌های اورکسین ۸

۱-۲-۴. توزیع گیرنده‌های اورکسین ۹

۱-۲-۵. آنتاگونیست‌ها و آگونیست‌های گیرنده‌های اورکسین ۹

۱-۲-۶. نقش اورکسین در وابستگی به دارو ۱۰

۱-۲-۷. نقش اورکسین در سندرم محرومیت از دارو ۱۲

۱-۳. هسته لوکوس سرولئوس (LC) ۱۲

۱-۳-۱. آناتومی و ارتباطات هسته LC ۱۳

۱-۳-۲. نقش هسته LC ۱۴

۱-۳-۳. نقش هسته LC در وابستگی به دارو ۱۵

۱-۳-۴. نقش ورودی گلوتاماترژیک PGi به هسته LC در وابستگی به دارو ۱۷

۱-۳-۵. نقش گلوتامات در هسته LC در وابستگی به دارو ۱۹

۱-۳-۶. نقش گیرنده‌های گلوتاماترژیک هسته LC در وابستگی به دارو ۲۰

۱-۳-۷. فیبرهای اورکسینرژیک هسته LC ۲۱

فصل دوم: مواد و روش‌ها

۲-۱. مواد و وسایل ۲۴

۲-۲. روش انجام تحقیق ۲۷

۲-۲-۱. مطالعه رفتاری ۲۷

۲-۲-۲. تهیه کانول ۲۸

۲-۲-۳. جراحی و کانول‌گذاری ۲۸

۲-۲-۴. روش ایجاد وابستگی به مورفین ۲۹

۲-۲-۵. روش بررسی علائم رفتاری سندرم محرومیت از مورفین ۳۰
۲-۲-۶. تزریق داخل هسته‌ای ۳۱
۲-۲-۷. پرفیوژن، تثبیت بافت و خارج نمودن مغز ۳۱
۲-۲-۸. گروه‌های مورد آزمایش در بخش مطالعه رفتاری ۳۳
۲-۲-۹. آنالیز داده‌های مطالعه رفتاری ۳۴
۲-۳. مطالعه الکتروفیزیولوژی ۳۵
۲-۳-۱. ایجاد وابستگی در موش‌های نوزاد ۳۵
۲-۳-۱. تهیه برش‌های مغزی ۳۶
۲-۳-۲. شناسایی نورون‌های هسته LC در برش‌های افقی ساقه مغز ۳۷
۲-۳-۳. تهیه الکترود و انجام ثبت ۳۸
۲-۳-۴. گروه‌های مورد آزمایش الکتروفیزیولوژیک ۴۲
۲-۳-۵. ارزیابی شاخص‌های پایه سلول ۴۲
۲-۳-۶. ثبت جریان‌های پس سیناپسی تحریکی خودبخودی (sEPSC) ۴۳
۲-۳-۷. ثبت جریان‌های پس سیناپسی تحریکی برانگیخته (eEPSC) ۴۴
۲-۳-۸. ثبت جریان‌های پس سیناپسی تحریکی بر انگیخته دوتایی ۴۶
۲-۳-۹. آنالیز داده‌های مطالعه الکتروفیزیولوژی ۴۷

فصل سوم: نتایج و یافته‌ها

۳-۱. یافته‌های مطالعه رفتاری ۴۹
۳-۱-۱. مهار گیرنده اورکسین در هسته LC موش‌های وابسته به مورفین سبب کاهش علائم محرومیت القایی با نالوکسان شد ۴۹
۳-۱-۲. مهار گیرنده اورکسین در هسته LC موش‌های وابسته به مورفین بر علائم رفتاری سندرم محرومیت القایی با تزریق گلوتامات در این هسته اثری نداشت ۵۲
۳-۱-۳. مهار گیرنده اورکسین در هسته LC موش‌های وابسته به مورفین مانع بروز علائم رفتاری سندرم محرومیت القایی با تزریق اورکسینA در این هسته شد ۵۵
۳-۲. یافته‌های مطالعه الکتروفیزیولوژی ۵۸
۳-۳-۱. خصوصیات غیر فعال غشای نورون‌های هسته LC ۵۸
۳-۳-۱-۱. تیمار مزمن با مورفین روی ویژگی‌های غیرفعال نورون‌های هسته LC تاثیری نداشت ۵۸

۳-۳-۲. ثبت جریان‌های پس‌سیناپسی تحریکی خودبخودی (sEPSC) ۶۰
۳-۳-۲-۱. تیمار مزمن مورفین تأثیری بر فرکانس و دامنه sEPSC در نورون‌های LC نداشت ۶۰
۳-۳-۲-۲. اورکسینA سبب افزایش دامنه sEPSC در نورون‌های LC موش‌های گروه کنترل شد ولی روی فرکانس sEPSC تاثیری نداشت ۶۲
۳-۳-۲-۳. اورکسینA سبب افزایش دامنه sEPSC در نورون‌های LC موش‌های وابسته به مورفین شد ولی روی فرکانس sEPSC تاثیری نداشت ۶۲
۳-۳-۳. جریان‌های پس سیناپسی تحریکی برانگیخته (eEPSC) ۶۴
۳-۳-۳-۱. اورکسنA تأثیر معنی‌داری بر دامنه eEPSC ناشی از گیرنده‌های AMPA در موش‌های غیر وابسته به مورفین نداشت ۶۴
۳-۳-۳-۲. اورکسنA به‌طور معنی‌داری دامنه eEPSC ناشی از گیرنده‌های AMPA را در موش‌های وابسته به مورفین افزایش داد ۶۶
۳-۳-۳-۳. اورکسینA به‌طور معنی‌داری دامنه eEPSC ناشی از گیرنده‌های NMDA را در موش‌های غیر وابسته به مورفین افزایش داد ۶۸
۳-۳-۳-۴. اورکسینA به‌طور معنی‌داری دامنه eEPSC ناشی از گیرنده‌های NMDA را در موش‌های وابسته به مورفین افزایش داد ۷۰
۳-۳-۴. اثر اورکسینA بر تسهیل پتانسیل‌های برانگیخته دوتایی در نورون‌های هسته LC ۷۲
۳-۳-۴-۱. اورکسینA تأثیر معنی‌داری بر میزان PPF نورون‌های هسته LC در موش‌های غیر وابسته به مورفین نداشت ۷۳
۳-۳-۴-۲. اورکسینA اثر معنی‌داری روی میزان PPF نورون‌های هسته LC در موش‌های وابسته به مورفین نداشت..۷۴

فصل چهارم: بحث، نتیجه‌گیری و پیشنهادها

۴-۱. بحث و تفسیر یافته‌های رفتاری ۷۶
۴-۱-۱. تأثیر مهار گیرنده نوع ۱ اورکسین در هسته لوکوس سرولئوس بر علائم رفتاری سندرم محرومیت از مورفین القایی با نالوکسان ۷۶
۴-۱-۲. تأثیر مهار گیرنده نوع ۱ اورکسین در هسته LC بر علائم رفتاری محرومیت از مورفین القایی با تزریق گلوتامات به داخل هسته LC ۸۰
۴-۱-۳. تأثیر مهار گیرنده نوع ۱ اورکسین در هسته LC بر علائم رفتاری محرومیت از مورفین القایی با تزریق اورکسینA به داخل هسته LC ۸۳

۴-۲. بحث و تفسیر یافته‌های الکتروفیزیولوژیک ۸۵
۴-۲-۱. تأثیر اورکسین در هسته LC بر جریان‌های پس‌سیناپسی تحریکی خودبخودی (sEPSC) و تسهیل پتانسیل‌های برانگیخته دوتایی (PPF) ۸۷
۴-۲-۲. تأثیر اورکسین در هسته LC بر جریان‌های پس‌سیناپسی تحریکی برانگیخته (eEPSC) ۸۹
۴-۳. نتیجه‌گیری ۹۰
۴-۴. پیشنهادها ۹۰
فهرست منابع ۹۲
چکیده انگلیسی ۱۰۴

فصل اول

مقدمه و
مروری بر مطالعات انجام شده

۱-۱. مقدمه

وابستگی به دارو یک بیماری پایدار مغزی با ویژگی‌های جستجوی دارو، اشتیاق اجباری به دارو و مصرف آن علی‌رغم عواقب مضر دارو تعریف می‌شود. مکانیسم‌های مولکولی وابستگی در طی مصرف نامتعارف دارو به میزان زیادی ناشناخته باقی مانده‌است [۱]. احتمالاً سازش‌های مولکولی در مدارهای عصبی خاصی در پاسخ به در معرض قرارگیری مکرر دارو، برای وابستگی به دارو ضروری است [۲].

در بسیاری از مدل‌های وابستگی به دارو ترغیب مثبت و ترغیب منفی دو جزء کلیدی هستند. تداوم استفاده از دارو، بخشی به دلیل ترغیب مثبت از آثار پاداش دریافت دارو است و بخشی به خاطر ترغیب منفی از سندرم محرومیت است، که با قطع دارو ایجاد می‌شود. قطع دارو سبب ایجاد علائم محرومیت می‌شود که آن را به دو بخش علائم جسمی (فیزیکی) و روانی (هیجانی) تقسیم می‌کنند. بعضی از شواهد پیشنهاد می‌کنند که این بخش‌ها از طریق سیستم‌های نورونی مجزایی بوجود می‌آیند [۳]. در حیوانات وابسته به مورفین تزریق آنتاگونیست اوپیات در هسته لوکوس‌سرولئوس[1] (LC) سندرم محرومیت فیزیکی شدیدی ایجاد می‌کند [۴،۵].

مطالعات الکتروفیزیولوژی، رفتاری و بیوشیمی نشان داده‌اند که هسته LC در وابستگی به اوپیات‌ها نقش دارد. این سلول‌ها تراکم بالایی از گیرنده‌های اوپیاتی، به‌ویژه μ و κ دارند [۶]. کاربرد موضعی یا سیستمیک اوپیات‌ها در موش‌های صحرایی بیهوش و همچنین در حیوانات بیدار سبب مهار ثبت تک واحدی نورون‌های هسته LC می‌شود [۴]. به‌علاوه در گربه‌های بیدار تزریق موضعی اوپیات‌ها سبب کاهش فعالیت نورون‌های هسته LC می‌شود [۷،۸]. در موش‌های صحرایی وابسته به اوپیات‌ها،

[1] Locus coeruleus (LC)

محرومیت القایی با آنتاگونیست سبب افزایش بارزی در آهنگ شلیک نورونی هسته LC [۲،۹،۱۰]، Turn over نوراپی‌نفرین و رهایش آن در نواحی هدف می‌شود [۱۱،۱۲]. این فرضیه مطرح است که افزایش فعالیت نورون‌های هسته LC نقش مهمی در علائم محرومیت ایفا می‌کنند؛ زیرا اولاً، از نظر زمانی افزایش شلیک نورونی آن با رفتارهای محرومیت مطابقت دارد [۹]. ثانیاً، تزریق سیستمیک و یا موضعی کلونیدین (آگونیست گیرنده α_2 آدرنرژیک) به هسته LC سبب سرکوب شلیک افزایش یافته LC [٤] و سرکوب افزایش Turn over نوراپی‌نفرین و رهایش آن در نواحی هدف [۱۲،۱۳] و نیز کاهش بسیاری از علائم رفتاری ناشی از محرومیت اوپیاتی می‌شود [٥]. ثالثاً، تخریب هسته LC علائم فیزیکی محرومیت اوپیاتی را کاهش می‌دهد [١٤] و رابعاً، حساس‌ترین محل برای القای علائم محرومیت توسط تزریق موضعی آنتاگونیست اوپیاتی، هسته LC می‌باشد [١٥].

فاکتورهای خارجی نقش مهمی در افزایش فعالیت ناشی از محرومیت اوپیاتی در نورون‌های LC ایفا می‌کنند [١٦]. تخریب هسته PGi (شکمی جانبی بصل‌النخاع) که منبع اصلی آوران‌های آمینو اسید تحریکی به LC است نیز سبب کاهش فعالیت افزایش یافته ناشی از محرومیت نورون‌های LC می‌شود [١٧]. همچنین در طی محرومیت القایی با نالوکسان میزان گلوتامات خارج سلولی در هسته LC افزایش می‌یابد [۱۸،۱۹] و این افزایش رهایش گلوتامات حدود ۳۰ دقیقه پایدار است [۲۰]. پیش-تیمار با آنتاگونیست انتخابی AMPA بطور بارزی افزایش فعالیت ناشی از محرومیت اوپیاتی در نورون-های LC را کاهش می‌دهد [١٦]. تزریق نالوکسان، گلوتامات یا NMDA به‌صورت داخل بطنی (i.c.v.) و یا به داخل LC در موش‌های وابسته به مورفین سبب ایجاد علائم فیزیکی محرومیت می‌شوند؛ این علائم توسط پیش‌تیمار با MK-801 (آنتاگونیست برگشت‌ناپذیر NMDA) بطور کامل مهار می‌شوند [۲۰]. آنتاگونیست‌های گیرنده NMDA از ایجاد تحمل و وابستگی به اوپیات‌ها و همچنین از ایجاد تحمل به عمل ضددردی مورفین جلوگیری می‌کنند [۲۱]. لذا مطالعات نشان‌دهنده نقش گیرنده‌های NMDA و AMPA در این وضعیت به‌عنوان رابط‌های عوامل خارجی می‌باشند.

اخیراً نشان داده شده‌است که پپتید کشف شده دهه اخیر، اورکسین یا هیپوکرتین در وابستگی به دارو نقش ایفا می‌کند [۲۲]. پپتیدهای اورکسینی شامل اورکسینA و اورکسینB در ابتدا با نقش

تحریکی بر غذا خوردن معرفی شدند. اورکسین از کلمه یونانی اورکسیز[1] به معنی اشتها گرفته شده است [۲۳]. به دلیل تشابه توالی اسیدهای‌آمینه این پپتیدها با هورمون‌های اینکرتین معدی-روده‌ای، گروهی دیگر به اینها هیپوکرتین، به معنی اینکرتین هیپوتالاموسی گفته‌اند [۲٤]. این پپتیدها از طریق دو گیرنده متصل به پروتئینG عمل می‌کنند، گیرنده نوع ۱ اورکسین (OXR_1) و گیرنده نوع ۲ اورکسین (OXR_2) [۲۳]. نورون‌های حاوی اورکسین تعداد محدودی از نورون‌ها را در ناحیه جانبی هیپوتالاموس (LH)، ناحیه Perifornical (PFA) و هیپوتالاموس پشتی- میانی (DMH) تشکیل می-دهند [۲۳،۲۵]. علی‌رغم تعداد کم این نورون‌ها (در موش صحرایی حدود ۱۰۰۰ نورون)، توزیع وسیع استطاله‌های آنها در مغز نمایانگر اهمیت و عملکرد گسترده آنها می‌باشد [۲۵]. از جمله شواهدی که نشان می‌دهند اورکسین (هیپوکرتین) به‌عنوان عاملی مهم در وابستگی فیزیکی به مورفین و بروز علائم فیزیکی محرومیت ایفای نقش می‌کند، می‌توان موارد زیر را نام برد:

۱. کاهش چشمگیر علائم فیزیکی سندرم محرومیت در موش‌های فاقد اورکسین [۲٦].

۲. تزریق داخل صفاقی آنتاگونیست OXR_1 قبل از تزریق نالوکسان سبب کاهش چشمگیر علائم فیزیکی محرومیت از مورفین می‌شود [۳].

۳. تزریق سیستمیک اورکسینA منجر به تقویت فشار پدال، برای دریافت کوکائین می‌شود [۲۷].

۴. تقریباً ٪۵۰ نورون‌های اورکسینرژیک گیرنده اپیوئیدی μ را بیان می‌کنند [۲٦].

۵. فعال شدن سلول‌های اورکسینرژیک در LH با ترجیح مکانی شرطی شده برای مورفین [۲۸].

۶. افزایش بیان c-Fos در نورون‌های اورکسینی DMH و PFA، با القاء سندرم محرومیت از مورفین توسط نالوکسان [۳].

متراکم‌ترین استطاله‌های اورکسینرژیک از هیپوتالاموس جانبی به نورون‌های هسته لوکوس-سرولئوس (LC) می‌باشد [۲۵]. میزان قابل توجهی از OXR_1 در هسته LC بیان می‌شود [۲۹]. از آنجا که میل اتصالی اورکسینA برای این گیرنده خیلی بیشتر از اورکسینB است (۱۰۰۰-۱۰۰ برابر)؛ لذا معمولاً برای مطالعه اثر این پپتیدها در هسته LC از اورکسینA استفاده می‌شود [۲۳،۲۵]. بنابراین به

[1] Orexis

نظر می‌رسد اورکسین از طریق OXR_1 به‌عنوان یکی دیگر از عوامل خارجی دخیل در سازش‌های نورونی هسته LC در طی سوء مصرف مواد ایفای نقش کند؛ هر چند که تا به‌حال مطالعه‌ای برای توصیف این ارتباط صورت نگرفته است. در این پژوهش سعی شده‌است که با ترکیبی از مطالعات رفتاری و الکتروفیزیولوژی قدمی در راه کشف مکانیسم‌های تاثیر نوروپپتید اورکسین در هسته لوکوس سرولئوس بر وابستگی به مورفین و یافتن راه حلی در جهت کاهش علائم محرومیت از مورفین که در موارد ترک اعتیاد بسیار دردناک و ملال آور است برداشته شود.

۱-۲. اورکسین یا هیپوکرتین

در سال ۱۹۹۸ دو گروه از محققین بطور جداگانه دو پپتید هیپوتالاموسی را که اثر تحریکی بر غذا خوردن داشتند گزارش کردند [۲۳،۲٤]. این پپتیدها را که از پردازش پروتئولیتیک پپتیدی پیش-ساز، حاوی ۱۳۰ اسیدآمینه در جوندگان و ۱۳۱ اسیدآمینه در انسان، به‌نام پره‌پرواورکسین ایجاد می-شوند، اورکسینA و اورکسینB [۲۳] یا هیپوکرتین۱ و هیپوکرتین۲ [۲٤] نامیدند. اورکسینA از ۳۳ اسید آمینه و اورکسینB که ۴۶٪ تشابه ساختاری با اورکسینA دارد از ۲۸ اسید آمینه تشکیل شده-است. توالی اورکسینA بطور کامل بین انسان، رت، موش، خوکچه و گاو حفظ شده‌است و در مورد اورکسینB تنها در چند اسید آمینه تفاوت وجود دارد؛ برای نمونه اورکسینB موش آزمایشگاهی و موش صحرایی تنها در دو اسید آمینه با نوع انسانی تفاوت دارد [۲۳،۳۰]. ژن مربوط به این پپتیدها در موش بر روی کروموزوم شماره ۱۱ قرار دارد [۲٤]. به‌دلیل تشابه توالی اسیدهای‌آمینه این پپتیدها با هورمون‌های اینکرتین معدی-روده‌ای، گروهی اینها را هیپوکرتین به معنی اینکرتین هیپوتالاموسی نام نهادند [۲٤]. از آنجا که تزریق داخل بطنی (i.c.v.) اورکسین سبب تحریک غذا خوردن می‌شود؛ گروهی دیگر آن را اورکسین نام نهادند. اورکسین از کلمه یونانی اورکسیز[1] به معنی اشتها گرفته شده است [۲٤].

[1] Orexis

میزان اورکسینA در مایع مغزی-نخاعی ۱۰۰۰ پیکوگرم در میلی‌لیتر است که یک نوسان شبانه روزی را نشان می‌دهد. هر چه حیوان هوشیارتر باشد؛ میزان اورکسین مایع مغزی-نخاعی نیز بیشتر است [۳۱]. اورکسینA در گردش خون و مایع مغزی-نخاعی نسبت به اورکسینB پایدارتر است؛ هر چند که میزان اورکسینB ۲ تا ۵ برابر بیشتر از اورکسینA است [۳۲].

۱-۲-۱. آوران‌ها و وابران‌های نورون‌های اورکسینرژیک

وجود mRNA اورکسین در مغز، منحصراً در هیپوتالاموس یافت شده‌است [۳۳]. تعداد این نورون-ها در موش صحرایی حدود ۱۰۰۰ نورون است [۲۵]. نورون‌های حاوی اورکسین در نواحی محدودی در هیپوتالاموس جانبی (LH) قرار دارند؛ ناحیه جانبی (LH)، ناحیه Perifornical (PFA) و هیپوتالاموس پشتی- میانی (DMH) [۲۳،۲۵]. در بسیاری از موارد، این سه ناحیه را به‌صورت LH (نورون‌های اورکسینی جانبی به فورنیکس)، PFA (نورون‌های اورکسینی پشتی به فورنیکس و با کشیدگی ۴۰۰ میکرو متری میانی به فورنیکس) و DMH (نورون‌های اورکسینی خیلی میانی به فورنیکس) نشان می‌دهند [۳٤]. بخش عمده‌ای از نورون‌های اورکسینرژیک علاوه بر اورکسین، گلوتامات و دینورفین را هم بیان می‌کنند [۳۵،۳٦].

میزان mRNA اورکسین و پپتید اورکسین در هیپوتالاموس و CSF طی دوره فعالیت افزایش می-یابد [۳۷،۳۸،۳۹]. نوسان در میزان اورکسین در CSF با تخریب هسته فوق بصری (SCN) از بین می-رود [٤۰] که نشان می‌دهد ورودی‌های آناتومیک از SCN [٤۱] فعالیت نورون‌های اورکسینی را با یک چرخه شبانه روزی متأثر می‌کنند.

فیبرهای اورکسینرژیک بطور وسیعی مغز را عصب‌دهی می‌کنند؛ از جمله نواحی که فیبرهای اورکسینرژیک زیادی دریافت می‌کند پیاز بویایی، قشر مغز، تالاموس، هیپوتالاموس، هسته اکومبنس، VTA، و لوکوس سرولئوس را می‌توان نام برد [۲۵]. در توزیع فیبرهای اورکسینرژیک، تشابه زیادی بین گونه‌های مختلف وجود دارد. در بسیاری از گونه‌ها هسته لوکوس سرولئوس، متراکم‌ترین استطاله-های اورکسینرژیک را دریافت می‌کند [٤۲].

بسیاری از نواحی مغزی آوران‌های خود را به نورون‌های اورکسینرژیک هیپوتالاموس جانبی ارسال می‌نمایند. از جمله این نواحی می‌توان به هیپوتالاموس پشتی، ناحیه پیش‌بصری[1]، تیغه جانبی[2]، هسته فوق کیاسمایی و ... اشاره کرد [٤١].

۱-۲-۲. نقش اورکسین

ژن این پپتید در روند تکاملی مهره‌داران حفظ شده‌است. وجود این ژن در ماهیها، دوزیستان، خزندگان، پرندگان و پستانداران نشان‌دهنده عملکرد مهم آن در روندهای رفتاری و فیزیولوژیک مهم و مشترک در همه مهره‌داران است [٤٢]. میزان mRNA اورکسین پس از ۴۸ ساعت گرسنگی بیش از دو برابر می‌شود [٢٣]. اورکسین ممکن است در ارتباط دادن اطلاعات مربوط به وضعیت تغذیه‌ای و متابولیسم با ایجاد برانگیختگی[3] نقش مهمی داشته باشد. در حالی که بیشتر پستانداران در پاسخ به کاهش غذا با افزایش بیداری و فعالیت پاسخ می‌دهند، موش‌های فاقد اورکسین این‌گونه پاسخ نمی-دهند [٤٣].

موش‌های فاقد اورکسین فنوتیپ مشابه نارکولپسی را نشان می‌دهند که بیان‌گر نقش مهم اورکسین در کنترل خواب و بیداری می‌باشد [٤٤]. نارکولپسی یک بیماری نورولوژیک با مشخصه‌های خواب‌آلودگی زیاد در طی روز و حمله‌های کاتاپلکسی است. شروع خواب در این بیماران با خواب REMاست و حاشیه بین بیداری و خواب را ندارند [٤٥]. نارکولپسی را می‌توان بیماری سیستم اورکسینرژیک خواند [٤٦]. اورکسین در مایع مغزی-نخاعی تعداد بسیار زیادی از بیماران نارکولپتیک وجود ندارد [٤٧]. از مطالعه بافت‌های انسانی مشخص شده‌است که تعداد نورون‌های اورکسینرژیک در هیپوتالاموس بطور بارزی به دلیل روندهای دژنراتیو کاهش یافته‌است [٤٨]. شایان ذکر است که اورکسین در تثبیت انتقال بین حالت خواب و بیداری نقش دارد. این نوروپپتید در ایجاد الگوهای خواب و بیداری اهمیت ندارد [٤٩]. نوروپپتید اورکسین تنظیم رفتارهایی مانند غذا خوردن، نوشیدن،

[1] Preoptic area
[2] Lateral septum
[3] Promotion of arousal

هموستاز انرژی، فعالیت عمومی بدن، دمای بدن، برانگیختگی[1] و تنظیم سیکل خواب و بیداری نقش دارد [۴۲،۵۰]. با توجه به توزیع گسترده فیبرهای اورکسینرژیک و گیرنده‌های اورکسین در مغز، دور از ذهن نیست که اورکسین با چنین عملکردهای متنوعی ارتباط داشته‌باشد.

۱-۲-۳. گیرنده‌های اورکسین

نوروپپتیدهای اورکسین دو گیرنده به‌نام گیرنده نوع ۱ اورکسین (OXR_1) و گیرنده نوع ۲ اورکسین (OXR_2) را فعال می‌کنند. این گیرنده‌ها ۶۴٪ با هم شباهت دارند و در بین گونه‌های مختلف پستانداران به میزان زیادی حفظ شده‌اند؛ بطور مثال OXR_1 انسان با موش صحرایی ۹۴٪ مشابه است. این تشابه در مورد OXR_2 ۹۵٪ می‌باشد [۲۳]. بر خلاف اورکسین که mRNA آن فقط در هیپوتالاموس یافت شده‌است؛ mRNA گیرنده‌های آن توزیع گسترده‌ای در مغز دارند. الگوی بیان هر کدام از این گیرنده‌ها متفاوت از دیگری است [۲۹]. این دو گیرنده از نوع گیرنده‌های متصل به پروتئینG هستند. OXR_1 از طریق G_q و OXR_2 به‌واسطه G_i/G_o و نیز G_q عمل می‌کند [۲۳،۵۱]. میل اتصالی اورکسینB برای OXR_2 ده برابر بیشتر از OXR_1 است [۲۳]. اورکسینA میل اتصالی بیشتری نسبت به اورکسینB برای OXR_1 دارد [۵۲]. به بیان دیگر OXR_1 نسبت به OXR_2 میل اتصالی ۱۰۰-۱۰۰۰ برابر بیشتر برای اتصال به اورکسینA دارد [۵۳].

تا کنون فقط دو نوع گیرنده برای اورکسین شناخته شده‌است. احتمالاً گیرنده‌های دیگری برای اورکسین وجود دارد. بعضی از پاسخ‌های ناشی از اورکسین با این گیرنده‌ها قابل توجیه نیست [۵۴]. گروهی از محققین گزارش کرده‌اند که اورکسین در VTA سبب افزایش فرکانس جریان‌های پس-سیناپسی تحریکی مینیاتور ناشی از گیرنده‌های AMPA و کاهش نسبت جفت-پالس در جریان‌های پس سیناپسی تحریکی بر انگیخته دوتایی می‌شود. نکته جالب این بود که آنها نتوانستند این دو اثر را با گیرنده‌های شناخته‌شده اورکسین توجیه کنند [۳۲].

[1] Arousal