

اللَّهُ
أَكْرَمُ
الْحَمَنِ



بسمه تعالی

تاییدیه اعضای هیات داوران حاضر در جلسه دفاع از رساله دکتری

خانم مژده نوید حمیدی رشته فیزیولوژی رساله دکتری خود را با عنوان: بررسی اثر تعدیلی کلسیم - کالمودولین II α بر جریان کانالهای پتاسیمی و کلسیمی در هسته لوکوس سرولئوس موش صحرائی وابسته به مرفین

در تاریخ ۸۹/۶/۲ ارائه کردند. اعضای هیات داوران نسخه نهایی این رساله را از نظر فرم و محتوا تایید کرده است و پذیرش آنرا برای تکمیل درجه دکتری پیشنهاد می‌کنند.

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

آیین نامه 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 عنوان پایان‌نامه، رساله و طرحهای تحقیقاتی با هماهنگی دانشگاه انجام شده است، موارد زیر را رعایت نمایند:

ماده ۱- حق نشر و تکثیر پایان‌نامه/ 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 تایید استاد راهنمای اصلی، یکی از اساتید راهنما، مشاور و یا دانشجوی مسئول مکاتبات مقاله باشد. ولی مسئولیت علمی مقاله مستخرج از پایان‌نامه و رساله به عهده اساتید راهنما و دانشجو می باشد.

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

ماده ۳- انتشار کتاب و یا نرم افزار و یا آثار ویژه حاصل از نتایج پایان‌نامه/ رساله و تمامی طرحهای تحقیقاتی کلیه واحدهای دانشگاه اعم از دانشکده ها، مراکز تحقیقاتی، پژوهشکده ها، پارک علم و فناوری و دیگر واحدها باید با مجوز کتبی صادره از معاونت پژوهشی دانشگاه و براساس آیین‌نامه‌های مصوب انجام شود.

ماده ۴- ثبت اختراع و تدوین دانش فنی و یا ارائه یافته ها در جشنواره‌های ملی، منطقه‌ای و بین‌المللی که حاصل نتایج مستخرج از پایان‌نامه/ رساله و تمامی طرحهای تحقیقاتی دانشگاه 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 ۸۷/۴/۱ در شورای پژوهشی و در تاریخ ۸۷/۴/۲۳ در هیأت رئیسه دانشگاه به تایید رسید و در جلسه مورخ ۸۷/۷/۱۵ شورای دانشگاه به تصویب رسیده و از تاریخ تصویب در شورای دانشگاه لازم‌الاجرا است.

آئین نامه پایان نامه (رساله) های دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس

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

ماده ۱: در صورت اقدام به چاپ پایان نامه (رساله) ی خود، مراتب را قبلاً به طور 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 آقای دکتر سعید سمنانیان، مشاوره آقایان دکتر محمد جوان و یعقوب فتح الهی از آن دفاع شده است."

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

ماده ۴: در صورت عدم رعایت ماده ۳، ۵۰٪ بهای شمارگان چاپ شده را به عنوان خسارت به دانشگاه تربیت مدرس، تادیه کند.

ماده ۵: دانشجو تعهد و قبول می کند در صورت خودداری از پرداخت های بهای خسارت، دانشگاه مذکور را از طریق مراجع قضایی مطالبه و وصول کند، به علاوه به دانشگاه حق می دهد به منظور استیفای حقوق خود، از طریق دادگاه، معادل وجه مذکور در ماده ۴ را از محل توقیف کتابهای عرضه شده نگارنده برای فروش، تامین نماید.

ماده ۶: اینجانب مژده نویدحمیدی دانشجوی رشته فیزیولوژی مقطع دکتری تعهد فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملتزم می شوم.



رساله

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

عنوان

بررسی اثر تعدیلی کلسیم- کالمودولین کیناز $\text{II}\alpha$ بر جریان کانال های پتاسیمی و

کلسیمی در هسته لوکوس سرولئوس موش صحرائی وابسته به مرفین

نگارش

مژده نویدحمیدی

استاد راهنما

دکتر سعید سمنانیان

اساتید مشاور

دکتر محمد جوان

دکتر یعقوب فتح الهی

تابستان ۱۳۸۹

چکیده

هدف از این مطالعه بررسی تاثیر تزریق مهار کننده آنزیم CaMKII α بر بروز علائم سندرم محرومیت در موش های صحرایی وابسته به مرفین و تاثیر تزریق مزمن مرفین بر فعالیت آنزیم CaMKII α در هسته لوکوس سرولئوس موش صحرایی و تاثیر این دارو بر جریان کانال های کلسیمی و پتاسیمی است. این مطالعه در دو بخش رفتاری و مولکولی با استفاده از موش های صحرایی نژاد ویستار (۲۵۰-۳۰۰ گرم) و در بخش الکتروفیزیولوژی از موش های ۱۷-۱۲ روزه استفاده شد. در مطالعه رفتاری توسط جراحی استریو تاکسیک کانول گذاری در هسته LC انجام شد و پس از یک هفته بهبودی، داروهای KN-93 (مهار کننده آنزیم CaMKII α)، KN-92 (آنالوگ غیر فعال KN-93) یا DMSO (حلال این دو دارو) درون هسته LC تزریق شد. گروه های کنترل نیز شامل گروه دریافت کننده مرفین و گروه دریافت کننده نرمال سالین بودند. در مطالعه ملکولی با استفاده از تکنیک وسترن بلات، میزان پروتئین CaMKII α فسفریله در هسته LC در سه گروه کنترل، وابسته به مرفین و دریافت کننده نالوکسان (گروه withdrawal) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج به دست آمده از این تحقیق حاکی از آن است که در مطالعه رفتاری، گروه دریافت کننده KN-93 نسبت به گروه حلال در چهار علامت Teeth chattering، Chewing، Jumping و Head shake کاهش معنی داری را نشان داد ($P < 0.05$). در گروه های دیگر کاهش معنی داری نسبت به گروه دریافت کننده مرفین مشاهده نشد. در مطالعه ملکولی افزایش معنی داری در میزان پروتئین CaMKII α فسفریله در گروه وابسته به مرفین نسبت به گروه کنترل و نیز کاهش معنی داری بین گروه مرفین با گروه نالوکسان مشاهده شد ($P < 0.05$). تزریق مزمن مرفین سبب افزایش فعالیت آنزیم CaMKII α در هسته LC شده و مهار این آنزیم در کاهش برخی از علائم سندرم محرومیت از مرفین نقش دارد. به نظر می رسد با مهار این آنزیم می توان تا حدودی از ایجاد وابستگی به مرفین در افراد مصرف کننده آن جلوگیری نمود. در آزمایش patch clamp استفاده مزمن از مرفین سبب افزایش جریان پتاسیمی و کاهش جریان کلسیمی شد ($P < 0.05$). استفاده از مهار کننده آنزیم CaMKII α سبب کاهش جریان پتاسیمی گردید ولی روی جریان کلسیمی تاثیر نداشت. بنابراین می توان نتیجه گرفت که افزایش جریان پتاسیمی در نتیجه افزایش فسفریلاسیون کانال توسط افزایش فعالیت آنزیم CaMKII α می باشد ولی کاهش جریان کلسیمی وابسته به آنزیم CaMKII α نبوده و احتمالاً مسیرهای دیگر دخیل در ایجاد وابستگی نظیر فعال شدن PKC و CREB و غیره در این مورد نقش دارند.

کلید واژگان: مرفین؛ وابستگی؛ آنزیم CaMKII α ؛ لوکوس سرولئوس؛ موش صحرایی

فهرست مطالب

فصل اول: مقدمه و مروری بر مطالعات انجام شده	۱
۱-۱. مقدمه و هدف	۲
۲-۱. وابستگی	۴
۳-۱. مراحل عمل اپیوئیدها	۶
۱-۳-۱. گیرنده ها و لیگاندها	۶
۱-۱-۳-۱. گیرنده μ	۷
۲-۱-۳-۱. گیرنده دلتا	۸
۳-۱-۳-۱. گیرنده های کاپا	۸
۴-۱-۳-۱. گیرنده های یتیم یا اورفان	۸
۴-۱. سازش های سلولی ایجاد شده توسط کاربرد مزمن مرفین	۱۰
۱-۴-۱. غیر حساس شدن حاد	۱۱
۲-۴-۱. اینترنالیزاسیون	۱۱
۳-۴-۱. غیر حساس شدن طولانی مدت و تنظیم کاهشی	۱۱
۵-۱. سازش های معکوس (Counter Adaptations)	۱۱
۱-۵-۱. مکانیسم های سازش معکوس	۱۲
۱-۱-۵-۱. آدنیلیل سیکلاز	۱۲
۲-۱-۵-۱. تاثیر بر هدایت کانال های پتاسیمی	۱۳
۳-۱-۵-۱. تاثیر بر هدایت کانال کلسیمی	۱۵
۴-۱-۵-۱. تاثیر بر رهایش ترانسمیتر	۱۵
۵-۱-۵-۱. فعال شدن پروتئین کیناز C	۱۶
۶-۱. هسته لوکوس سرولتوس	۱۷
۱-۶-۱. نقش هسته لوکوس سرولتوس در وابستگی اپیوئیدی	۱۸

۱۸.....	۷-۱. آنزیم کلسیم- کالمودولین کیناز II
۲۰.....	فصل دوم: مواد و روش‌ها.....
۲۱.....	۱-۲. روش انجام تحقیق.....
۲۱.....	۲-۲. مواد و روش‌ها.....
۲۱.....	۱-۲-۲. حیوانات.....
۲۲.....	۲-۲-۲. مطالعه رفتاری.....
۲۲.....	۱-۲-۲-۲. تجهیزات و مواد.....
۲۲.....	۲-۲-۲-۲. روش کار.....
۲۲.....	۱-۲-۲-۲-۲. جراحی و تزریق داخل هسته ای.....
۲۳.....	۲-۲-۲-۲-۲. پرفیوژن و ثابت نمودن بافت.....
۲۴.....	۳-۲-۲-۲-۲. جداکردن مغز.....
۲۵.....	۳-۲-۲-۲. گروه های مورد مطالعه.....
۲۶.....	۴-۲-۲-۲. آنالیز آماری.....
۲۶.....	۳-۲-۲. مطالعه مولکولی.....
۲۶.....	۱-۳-۲-۲. تجهیزات و مواد.....
۲۷.....	۲-۳-۲-۲. روش کار.....
۲۷.....	۱-۲-۳-۲-۲. تهیه نمونه بافت لوکوس سرولئوس.....
۲۷.....	۲-۲-۳-۲-۲. استخراج پروتئین از بافت لوکوس سرولئوس.....
۲۸.....	۳-۲-۳-۲-۲. تعیین غلظت پروتئین به روش برادفورد.....
۲۹.....	۴-۲-۳-۲-۲. SDS- PAGE الکتروفورز بر روی ژل.....
۳۱.....	۵-۲-۳-۲-۲. روش تهیه ژل.....
۳۳.....	۶-۲-۳-۲-۲. وسترن بلات.....
۳۴.....	۷-۲-۳-۲-۲. تهیه Blocking buffer و محلول رقیق کننده آنتی بادی‌ها.....
۳۴.....	۸-۲-۳-۲-۲. روش انجام آزمایش.....
۳۵.....	۹-۲-۳-۲-۲. Blocking مرحله.....

۳۶	مرحله انکوبه کردن با آنتی بادی اولیه.....	۱۰-۲-۳-۲-۲
۳۶	مرحله انکوبه کردن با آنتی بادی ثانویه	۱۱-۲-۳-۲-۲
۳۶	مرحله آشکارسازی.....	۱۲-۲-۳-۲-۲
۳۷	ظهور فیلم در تاریک خانه.....	۱۳-۲-۳-۲-۲
۳۷	گروه های مورد مطالعه	۳-۳-۲-۲
۳۷	آنالیز داده ها	۴-۳-۲-۲
۳۸	مطالعه الکتروفیزیولوژیک (Whole Cell Patch Clamp).....	۴-۲-۲
۳۸	تجهیزات و مواد.....	۱-۴-۲-۲
۳۹	روش کار.....	۲-۴-۲-۲
۳۹	تهیه برش های زنده از هسته لوکوس سرولئوس.....	۱-۲-۴-۲-۲
۴۰	روش تشخیص سلول های LC	۲-۲-۴-۲-۲
۴۱	خلاصه مراحل انجام Whole-cell patch Clamp.....	۳-۴-۲-۲
۴۳	گروه های مورد آزمایش.....	۴-۴-۲-۲
۴۳	ثبت جریان پتاسیمی.....	۵-۴-۲-۲
۴۳	محلول داخل پی پت (Internal solution)	۱-۵-۴-۲-۲
۴۴	محلول خارج سلولی (External solution).....	۲-۵-۴-۲-۲
۴۴	پروتکل ثبت جریان پتاسیمی.....	۳-۵-۴-۲-۲
۴۵	ثبت جریان کلسیمی.....	۶-۴-۲-۲
۴۵	محلول داخل پی پت (Internal solution).....	۱-۶-۴-۲-۲
۴۵	محلول خارج سلولی (External solution).....	۲-۶-۴-۲-۲
۴۶	پروتکل ثبت جریان کلسیمی.....	۳-۶-۴-۲-۲
۴۷	آنالیز داده ها.....	۷-۴-۲-۲
۴۸	فصل سوم: نتایج و یافته ها	
۴۹	یافته های آزمایش رفتاری.....	۱-۳
۴۹	بررسی علائم سندرم محرومیت از مرفین در موش های وابسته	۱-۱-۳

۴۹.....	۲-۱-۳. بررسی علائم سندرم محرومیت از مرفین در موش های گروه DMSO.....
۵۰.....	۳-۱-۳. بررسی علائم سندرم محرومیت از مرفین در موش های گروه KN-93.....
۵۰.....	۴-۱-۳. بررسی علائم سندرم محرومیت از مرفین در موش های گروه KN-92.....
۵۴.....	۲-۳. یافته های آزمایش مولکولی.....
۵۵.....	۳-۳. یافته های آزمایش Whole cell patch clamp.....
۵۵.....	۱-۳-۳. ثبت جریان پتاسیمی.....
	۱-۱-۳-۳. مقایسه میزان تغییر جریان پتاسیمی رو به خارج وابسته به ولتاژ در گروه های کنترل، مرفین حاد و مزمن.....
۵۸.....	۲-۱-۳-۳. بررسی میزان جریان پتاسیمی پس از اضافه شدن داروی KN-93 در گروه کنترل.....
۶۰.....	۳-۱-۳-۳. بررسی میزان جریان پتاسیمی وابسته به ولتاژ پس از اضافه شدن داروی KN-93 در گروه کنترل.....
	۴-۱-۳-۳. بررسی تاثیر داروی ترا اتیل آمونیوم کلراید بر جریان پتاسیمی وابسته به ولتاژ در گروه وابسته به مرفین.....
۶۳.....	۵-۱-۳-۳. بررسی میزان جریان پتاسیمی پس از اضافه شدن داروی KN-93 در گروه وابسته به مرفین.....
۶۵.....	۲-۳-۳. ثبت جریان کلسیمی.....
۶۷.....	۱-۲-۳-۳. بررسی جریان رو به داخل وابسته به ولتاژ در گروه کنترل.....
۶۸.....	۲-۲-۳-۳. بررسی میزان جریان رو به داخل پس از اضافه شدن داروی کادمیوم کلراید در گروه کنترل.....
۶۸.....	۳-۲-۳-۳. بررسی میزان جریان رو به داخل کلسیمی در گروه کنترل پس از اضافه شدن داروی KN-93.....
۷۰.....	۴-۲-۳-۳. بررسی تاثیر داروی مرفین به شکل حاد روی جریان کلسیمی وابسته به ولتاژ.....
۷۱.....	۵-۲-۳-۳. بررسی میزان جریان رو به داخل در گروه وابسته به مرفین.....
	۶-۲-۳-۳. بررسی میزان جریان رو به داخل کلسیمی پس از اضافه شدن داروی کادمیوم کلراید در گروه وابسته به مرفین.....
۷۲.....	۷-۲-۳-۳. بررسی تاثیر داروی KN-93 در گروه وابسته به مرفین.....
۷۳.....	۸-۲-۳-۳. مقایسه گروه های مورد مطالعه در ثبت جریان کلسیمی.....
۷۸.....	فصل چهارم: بحث، نتیجه گیری ، پیشنهادها.....
۷۹.....	۱-۴. بحث و نتیجه گیری.....

۲-۴. پیشنهادها..... ۸۳

فهرست منابع..... ۸۴

چکیده انگلیسی..... ۹۸

فصل اول

مقدمه و مروری بر مطالعات انجام شده

۱-۱. مقدمه و هدف

اعتیاد یک پدیده روانی، اجتماعی و اقتصادی است که از مصرف غیرطبیعی و غیرمجاز برخی مواد مانند الکل، تریاک و حشیش ناشی می‌شود و باعث وابستگی روانی یا فیزیولوژیک فرد مبتلا (معتاد) به این مواد می‌شود و در عملکرد جسمی، روانی و اجتماعی وی تأثیرات نامطلوب بر جای می‌گذارد [۱]. از سال ۱۹۶۴ میلادی سازمان بهداشت جهانی استفاده از عبارت وابستگی دارویی یا وابستگی به دارو را به جای اصطلاح اعتیاد توصیه نموده‌است، اما استفاده از اصطلاح اعتیاد هنوز رایج است. اعتیاد پاسخ فیزیولوژیک بدن است به مصرف مکرر مواد اعتیادآور. این وابستگی از طرفی باعث تسکین و آرامش موقت و گاهی تحریک و نشاط گذرا برای فرد می‌گردد و از طرف دیگر بعد از اتمام این اثرات سبب اجبار برای یافتن مجدد ماده و وابستگی مداوم به آن می‌شود. در این حالت فرد هم از لحاظ جسمی و هم از لحاظ روانی به ماده مخدر وابستگی پیدا می‌کند و مجبور است به تدریج مقدار ماده مصرفی را افزایش دهد. سازمان بهداشت جهانی مواد اعتیادآور را از جهت تأثیر آنها بر انسان به ۸ دسته کلی تقسیم می‌کند، که عبارت‌اند از: مواد توهم‌زا، کانابیس یا شیره گیاه شاهدانه، مواد مخدر، سستی‌زاها (مسکن‌ها و خواب‌آورها)، آرام‌بخش‌ها، مواد فرار (مواد استنشاقی)،

محرک ها، الکل، توتون و قهوه. هم اکنون بیش از ۲۲۰ میلیون مصرف کننده مواد اعتیادآور در جهان وجود دارد. ۱۵۰ میلیون نفر معتاد به مواد ، ۱۵ تا ۲۰ میلیون نفر معتاد به مواد توهم زایی مانند حشیش و کوکائین، ۱۵ تا ۲۱ میلیون نفر معتاد به هروئین و سایر مواد مخدرو سایرین نیز انواع مواد روان گردان و شیمیایی را مورد سو استفاده قرار می دهند [۲]. مصرف مواد مخدر و دیگر ترکیبات اعتیادآور به علت اثرات دارویی ویژه خود تغییراتی در سطح فیزیولوژی و بیولوژی در شخص بوجود می آورد که قسمت مهم این تغییرات روی سلسله اعصاب مرکزی و محیطی انجام می گیرد و روی حالات جسمانی- روانی فرد اثر می گذارد. مهمترین این تغییرات عبارتند از: تسکین موقت آلام روحی مانند اضطراب و افسردگی و بی قراری، تسکین موقت دردهای جسمانی و احساس رضایت و آرامش درونی موقت و تشدید موقت میزان هوشیاری. چون اغلب معتادین قبل از اینکه به اعتیاد روی آورند با مشکلاتی متعدد مانند اضطراب، افسردگی ، بی قراری و تضادهای گوناگون مواجه بوده اند لذا مصرف مواد مخدر در کوتاه مدت ممکن است سبب تسکین موارد بالا شود. وابستگی فرد معتاد صرف بدنی نیست و جنبه های وابستگی روانی به دارو در رابطه با مشکلات شخصیتی فرد از اهمیت ویژه ای برخوردار است. وابستگی به مرفین هم چنین در بیمارانی که از این ماده به منظور کنترل دردهای شدید استفاده می کنند دیده می شود. مطالعات اولیه سبب ساخت برخی از داروهای کاهش دهنده اعتیاد گردید ولی ابعاد حاصل از تغییرات این داروها بسیار وسیع بود و دانش انسان نیاز به اطلاعات جدیدتری از مکانیسم اثرات این داروها داشت. با گسترش علوم زیست شناسی سلولی و مولکولی راه های جدیدی برای شناسایی مکانیسم تاثیر این مواد به دست آمد. مطالعات علوم اعصاب و الکتروفیزیولوژی نیز توانست در این زمینه نقش مهمی را ایفا کند. آنزیم ها و پروتیین های مختلف می توانند در ایجاد وابستگی دخالت داشته باشند. یکی از این آنزیم ها، کلسیم- کالمودولین پروتیین کیناز است که در همه جا حضور دارد و با افزایش کلسیم و وجود کالمودولین فعال شده و می تواند در روند ایجاد وابستگی نقش مهمی را ایفا کند. ثابت شده است که در بعضی از قسمت های مغز نظیر هیپوکامپ میزان این آنزیم تحت تاثیر کاربرد مزمن مرفین افزایش می یابد. در این

پژوهش تلاش شده است که با ترکیبی از مطالعات رفتاری، مولکولی و الکتروفیزیولوژی قدمی در راه کشف مکانیسم تاثیر اپیوئیدها در هسته لوکوس سرولئوس و یافتن راه حلی در جهت کاهش علائم محرومیت از مرفین که در موارد ترک اعتیاد بسیار دردناک و ملال آور است برداشته شود.

۱-۲. وابستگی:

سازمان بهداشت جهانی وابستگی را به صورت زیر تعریف کرده است: وابستگی حالتی روانی و گاه جسمی است که ناشی از اثرات متقابل ارگانیسم زنده و دارو بوده و با پاسخ های رفتاری یا پاسخ های دیگر مشخص می شود به گونه ای که فرد وابسته مجبور به دریافت مداوم یا موقتی دارو برای ممانعت از بروز آثار روانی و گاهی بیماری های جسمی حاصل از کاهش دریافت آن می گردد [۳]. بر این اساس وابستگی حالتی است که فرد علی رغم اطلاع از اثرات سو مصرف مواد، باز هم برای به دست آوردن و استفاده از آن تلاش می کند [۴]. معمولاً در دوره های بروز علائم وابستگی به دارو تغییرات جسمی خاص که نشان دهنده بر هم خوردن پایداری زیستی یا هومئوستاز است روی می دهد که بیان کننده وابستگی فیزیکی است که توسط علائم سندرم محرومیت از مرفین مشخص می شود. وابستگی فیزیکی به دو عامل بستگی دارد:

۱- کاهش یا حذف ماده اعتیاد آور در بدن.

۲- افزایش فعالیت سیستم عصبی به دلیل سازش مجدد به آن در غیاب ماده اعتیاد آور.

وابستگی روانی معمولاً قبل از وابستگی فیزیکی بروز می کند ولی همیشه نمی تواند منجر به بروز وابستگی فیزیکی شود. اعتیاد مجموعه ای از وابستگی فیزیکی و روانی است [۵،۶]. اندیشه اصلی که اختلالات ایجاد شده توسط اپیوئیدها فرآیند های هومئوستاتیک را ایجاد می کند که منجر به گسترش وابستگی به این داروها می شود تلاش برای توجیه طبیعت وابستگی در نورون های مسوول ایجاد اعتیاد دارویی را توجیه می کند [۷]. مطالعات انجام شده روی شناخت اشکال اصلی اعتیاد دارویی نظیر تحمل، سندرم قطع و استفاده اجباری از دارو علی رغم آگاهی از مضرات آن متمرکز شده است. با استفاده مکرر از داروهای اپیوئیدی مکانیسم های تطابقی آغاز می شوند

که در کوتاه مدت سبب ایجاد تغییرات طولانی در عمل نورون های حساس به اپیوئیدها و شبکه های نورونی می شوند. یکی از این مکانیسم ها گسترش تحمل است که مشخصه آن افزایش دوز مورد نیاز برای استفاده تا رسیدن به نتیجه مطلوب است [۸]. به نظر می رسد که مکانیسم های در گیر در شروع استفاده اجباری از داروهای اپیوئیدی در مسیرهای اصلی به خصوص در مسیر پاداش داخلی مشترک باشند. با استفاده مکرر از این داروها مکانیسم های تطابقی آغاز می شوند. یکی از این مکانیسم ها گسترش تحمل (تولرنس) است. نتایج دیگر شامل گسترش تطابق معکوس^۱ است که زمانی پیش می آید که به طور ناگهانی مصرف دارو قطع شده و یک توالی از علائم و نشانه های برگشتی آشکار می شود. این نشانه های سندرم قطع می تواند کوتاه مدت، طولانی یا بسیار بلند مدت باشد و ممکن است با میل برای مصرف مجدد دارو همراه باشد. بنابراین تطابق بلند مدت ایجاد شده در درمان مزمن اپیوئیدی در فقدان داروی شروع کننده آغاز شده و نشان دهنده تغییرات دراز مدت در عمل سیستم های نورونی خاص می باشد [۸]. شاید مهم ترین تطابقی که در نتیجه مصرف مزمن اپیوئیدها رخ می دهد در سیستم های نورونی مسئول انتقال وضعیت مصرف از حالت اتفاقی به وضعیت اجباری رخ می دهد. اگرچه تحمل و سندرم قطع در ایجاد این وضعیت دخیل هستند ولی مکانیسم های دخیل در شروع مصرف اجباری اپیوئیدها و داروهای دیگر عمدتاً در سیستم عصبی مرکزی قرار دارند. سیستم دوپامینرژیک مزولیمبیک که نقش اصلی در اعمال پاداشی داروهای اعتیاد آور بازی می کند، کاندید اصلی در واسطه گری این فرآیند است که در آن نورون های دوپامینرژیک مزولیمبیک در تشکیل ارتباطات بین محرک ها و سیستم پاداش داخلی یا حوادث آسیب رسان درگیر هستند. تطابق طولانی مدت معمول که در اثر مصرف اپیوئیدها و داروهای اعتیاد آور دیگر در این سیستم ایجاد می شود این روند را افزایش داده و بنابراین نقش مهمی در شروع و ادامه مصرف اجباری این دارو بازی می کند [۱۰،۹،۸].

اولین مرحله عمل اپیوئیدی با واسطه فعال شدن گیرنده های G- پروتئینی انجام می شود. گیرنده های اپیوئیدی نظیر دیگر گیرنده های G- پروتئینی مسیرهای پیامبر دوم چندگانه را

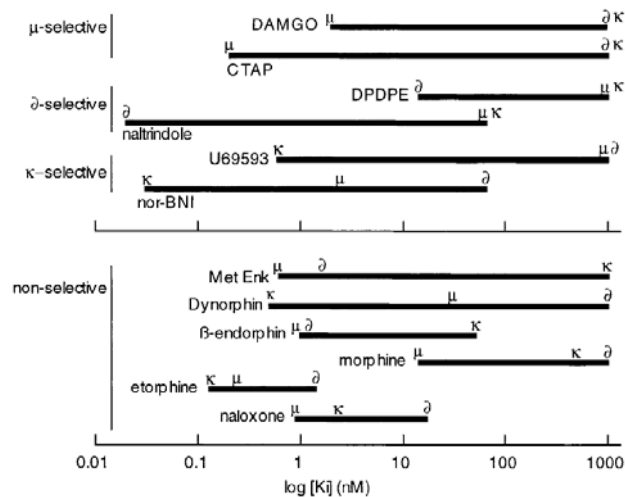
¹ counter adaptation

فعال و تنظیم می کنند و با افکتورها، تجمع گیرنده ها و سیگنالینگ هسته ای مرتبط هستند. این اثرات اولیه برای درک مکانیسم تحمل و وابستگی در سلول هایی که گیرنده های اپیوئیدی دارند ضروری است. همچنین تغییرات شبکه ای رخ می دهد که ممکن است نتیجه تغییر در تنظیم سیناپسی باشد که روی نورون های بعدی موجود در مسیر که حتی گیرنده اپیوئیدی نیز ندارند تاثیر بگذارد. در نهایت اپیوئیدها و داروهای اعتیاد آور دیگر ممکن است مسیرهای آناتومیک و سلولی مشترک داشته باشند. شناسایی این مسیرهای مشترک مخصوصا بعد از درمان مزمن با این داروها اهمیت زیادی در درک اعتیاد دارویی دارد [۸].

۳-۱. مراحل عمل اپیوئیدها:

۱-۳-۱. گیرنده ها و لیگاندها:

گیرنده های اپیوئیدی چندگانه اساس اعمال آگونیست های آلکالوئیدی مختلف و آنتاگونیست ها در بافت های حیوانی را تشکیل می دهند [۱۱]. بر اساس نظریه وجود گیرنده برای مواد درون زا و عملکرد داروها از طریق آنها وجود گیرنده هایی برای عملکرد بی دردی و وابستگی مرفین مطرح شد [۱۲]. بر پایه مطالعات فارماکولوژیک سه گیرنده اصلی اپیوئیدی شناسائی شده اند: μ ، K ، σ [۱۳]. گیرنده های مختلف اپیوئیدی دارای پراکندگی متفاوتی در سیستم های بدن بوده و نقش های مختلفی را به آنها نسبت می دهند. پس از کشف پتید های درون زا جدید نوع گیرنده های اپیوئیدی افزایش یافت. با گسترش روش های جدید شناسایی انواع فرعی گیرنده های اپیوئیدی امکان پذیر شد. لیگاندهای قوی و بسیار تخصصی برای هر نوع گیرنده شناسائی شده اند [۸] (شکل ۱-۱).



شکل ۱-۱. آگونیست ها و آنتاگونیست های انتخابی و غیر انتخابی اپیوئیدی [۸].

۱-۱-۳-۱. گیرنده μ:

ژن گیرنده μ_1 نوعی از گیرنده μ را کد می کند که ۵۰ تا ۷۰ درصد همسانی با محصولات کد شده ژن های دلتا (DOR-1) و کاپا (KOR-1) و اورفان (ORL1) دارد. پس از مراحل اسپلایس محصولات ژن MOR-1 دو نوع واریانت از آن حاصل می شود که از نظر اتصال به لیگاند همسان بوده ولی در اتصال القایی لیگاند با هم تفاوت دارند [۱۴]. Pasternak و همکاران بر اساس مطالعات لیگاند های با هیدروژن نشان دار وجود دو نوع گیرنده μ_1 و μ_2 را مشخص کرده اند [۱۵]. از سوی دیگر چون در بعضی از نژاد های موش مرفین عامل بی دردی ضعیفی بوده ولی هروئین و ۶-استیل مرفین عامل بی دردی قوی می باشند احتمالاً نوع دیگری از گیرنده های μ وجود دارد [۱۶]. مطالعات حذف ژن در ژن MOR-1 به همراه کاربرد عوامل فارماکولوژیک مختلف نیز دلیل دیگری بر وجود گیرنده های دیگر از گروه μ می باشند [۱۷].

۱-۱-۳-۲. گیرنده دلتا:

ژن DOR-1 تنها ژن کلون شده برای گیرنده های دلتا است. در حالی که دو گروه گیرنده های σ_1 و σ_2 نیز برای این گیرنده ها در نظر گرفته می شود [۱۸]. لیگاند درون زا این گیرنده ها، انکفالین ها هستند [۱۹]. فعال شدن گیرنده های دلتا ایجاد بی دردی می کند که از بی دردی

ایجاد شده توسط گیرنده های مو کمتر است [۲۰]. هم چنین بعضی از آگونیست های دلتا در دوز بالا قادر به ایجاد تشنج هستند [۲۱].

۱-۳-۱. گیرنده های کاپا:

وجود گیرنده های کاپا برای اولین بار با استفاده از آگونیست نشان دار H-اتیل کتوسیکلازوسین در مغز مشخص شد [۲۲]. امروزه با استفاده از آگونیست های اختصاصی تر تراکم حضور گیرنده های K_1 و K_2 در بافت های برخی از جانوران مشخص شده است [۲۳]. همچنین گیرنده K_3 نیز مشخص شده است [۲۴]. لیگاند درون زا این گیرنده ها دینورفین می باشد [۲۵]. این گیرنده ها به طور گسترده ای در مغز، طناب نخاعی و نورون های مربوط به درد پراکنده شده اند [۲۶، ۲۷]. گزارش شده است که فعال شدن گیرنده کاپا بسیاری از اثرات گیرنده مو را آنتاگونیزه می کند [۲۸].

۱-۳-۴. گیرنده های یتیم یا اورفان:

نوعی از گیرنده های اپیوئیدی با همسانی ساختمانی حدود ۹۰ درصد بین گونه های موش، موش صحرایی و انسان شناسایی شده است. این گیرنده ها با گیرنده های کلاسیک اپیوئیدی نیز هم سانی دارند ولی در مورد موقعیت ژنی آنها اطلاعات بسیار کمتری در مقایسه با گیرنده های اپیوئیدی وجود دارد [۲۹]. این گیرنده ها با اسامی گیرنده های ORL1، گیرنده های نوسی سپتین و گیرنده های اورفانین نیز نامیده می شوند [۳۰، ۳۱]. این گیرنده ها با وجود این که شباهت ساختمانی زیادی با گیرنده های کلاسیک اپیوئیدی دارند ولی تا چند سال قبل که از طرفی آگونیست درون زاد آن شناخته نشده بود و از طرفی تمایل اتصالی کمتری به لیگاند های غیر انتخابی داشته لذا از نظر فارماکولوژیکی به عنوان گیرنده های اپیوئیدی محسوب نمی شدند (در این حالت گیرنده را یتیم می نامند) [۳۲]. حدود ۶۰ درصد هومولوگی بین سه نوع گیرنده وجود دارد. گیرنده های مرتبط با G- پروتئین ها به شکل دimer وجود دارند. گیرنده های کاپا و دلتا هومودimer و در برخی بافت ها هتروdimر را تشکیل می دهند [۳۳، ۳۴]. پراکندگی

آناتومیک و سلولی گیرنده های اپیوئیدی برای شناسائی سیستم ها و شبکه های محلی درگیر در شروع عمل دارو و گسترش تطابقات ایجاد شده در نتیجه مصرف مکرر دارو ضروری هستند [۳۵،۳۶] میزان پراکندگی این گیرنده ها نشان می دهد که اپیوئیدها روی سیستم های مختلف هم از طریق هورمونی و هم نورونی تاثیردارند. پراکندگی سلولی گیرنده های مو و کاپا بیشتر در غشا پلاسمائی هم در سوما و هم در دندریت ها و پایانه های عصبی است. گیرنده ها معمولا در مناطق پیش سیناپسی و ترجیحا در نواحی زیر سیناپسی یافت می شوند [۳۷]. گیرنده دلتا بیشتر در درون سلول ها و در ارتباط با وزیکل ها یافت میشود [۳۸].

پراکندگی وابسته به فعالیت گیرنده های کاپا و دلتا پیشنهاد می کند که تجمع گیرنده ها ثابت نیست و با فعالیت سلول به شکل قابل ملاحظه ای تغییر می کند [۸]. فعال شدن هر یک از این سه نوع گیرنده اعمال سلولی مشترکی را فعال می کند. هر گیرنده با G- پروتئین های حساس به توکسین پرتوسیسی زوج می شود اگر چه Gz که غیر حساس به توکسین پرتوسیسی است نیز شناسایی شده است. طرح کلی زوج شدن این سه نوع گیرنده با G- پروتئین ها تقریبا مشابه است [۳۹]. اعمال کلی مشترک گیرنده ها شامل مهار آدنیلیل سیکلاز، فعال شدن هدایت پتاسیمی، مهار هدایت کلسیمی و مهار رهائش نوروترانسمیتر است (شکل ۱-۲).

