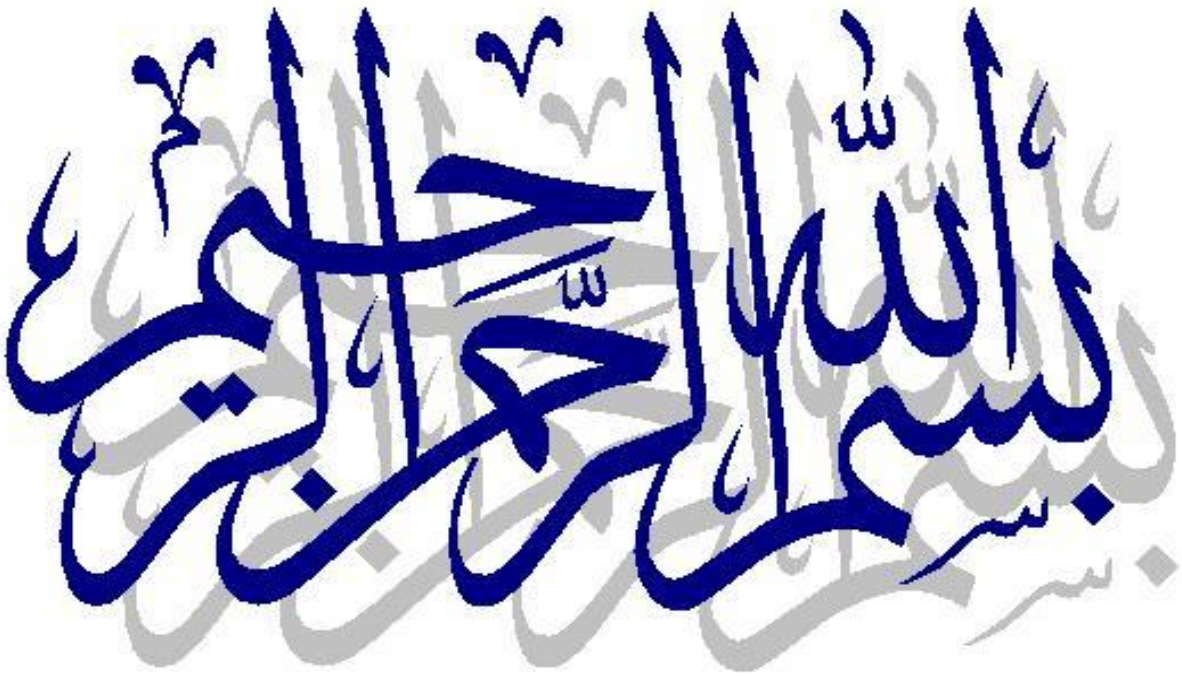
بسم الله الرحمن الرحيم

دانشگاه تربیت مدرس
دانشکده علوم پزشکی

رساله

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

عنوان

بررسی اثر پالس با ریتم تتا (TPS) بر شکل پذیری سیناپسی ناشی از تحریک تتانیک در ناحیه CA1 مقاطع زنده هیپوکمپ موش های صحرایی وابسته به مرفین

نگارش

نرگس حسین مردی

استاد راهنما

دکتر یعقوب فتح اللهی

اساتید مشاور

دکتر محمد جوان

دکتر ناصر نقدی

زمستان ۱۳۸۸

چکیده

اثرات مصرف مزمن مرفین بر شکل پذیری سیناپسی در ناحیه CA1 مقاطع زنده هیپوکمپ موش صحرایی، با استفاده از ثبت خارج سلولی پتانسیل های عمل میدانی (PS) در پاسخ به تحریک شاخه های جانبی شافر مورد مطالعه قرار گرفت. از تحریک با فرکانس بالا و پالس با ریتم تتا به عنوان الگوهای تحریک استفاده شد. تغییرات زیر در مقاطع بدست آمده از موش های صحرایی وابسته به مرفین نسبت به مقاطع کنترل مشاهده شد: پالس با ریتم تتا به تنهایی سبب القای تضعیف طولانی مدت (LTD) در سیناپس های CA3-CA1 شد. PS LTD القا شده توسط پالس با ریتم تتا در حضور آنتاگونیست گیرنده NMDA، (AP5) به تنهایی یا آنتاگونیست گیرنده آدنوزینی A1 (CPX) به تنهایی مهار شد. اما وقتی هر دو به کار برده شدند از وقوع PS LTD جلوگیری نکرد. به کار بردن پالس با ریتم تتا قبل از تحریک با فرکانس بالا از القای PS LTP جلوگیری کرد. اما وقتی بعد از تحریک با فرکانس بالا اعمال شد، PS LTP زدوده نشد. اثر تضعیف کننده پالس با ریتم تتا و همچنین ناتوانی اش در زدایشPS LTP در حضور طولانی مدت مرفین در شرایط *in vitro* مشاهده نشد. می توان نتیجه گرفت که ترک مرفین سبب تضعیف بیشتر PS در اثر الگوی فعالیت القا شده با تحریک طبیعی در ناحیه CA1 می شود. این اثر با تغییراتی در گیرنده های NMDA، A1 وA3 آدنوزین در اثر مصرف مزمن مرفین مرتبط است.

علاوه براین بررسی mRNA زیرواحد NR2A گیرنده NMDA وهمچنین آنزیم پروتئین فسفاتاز ۱ (PP1) در هیپوکمپ موش های وابسته به مرفین و همچنین در ناحیهCA1 مقاطع هیپوکمپی بدست آمده از این موش ها بعد از القای LTP، LTD و تقویت زدایی نشان داد که بیان این مولکول ها متفاوت از گروه کنترل می باشد. تغییر بیان این مولکول ها تحت تأثیر مصرف مزمن مرفین ممکن است نقشی در تفاوت استعداد سیناپس ها برای شکل پذیری سیناپسی در گروه وابسته و کنترل داشته باشد.

اثر مرفین در مدل تحمل متقاطع نیز بررسی گردید. مصرف سدیم سالیسیلات سبب کاهش توان تحریک با فرکانس بالا برای القای PS LTP و همچنین کاهش اثر مرفین حاد در افزایش پاسخ های پایه شد که شاید بتواند به عنوان نشان الکتروفیزیولوژیک تحمل متقاطع مطرح گردد.

کلمات کلیدی: اعتیاد، مقاطع هیپوکمپی، پالس با ریتم تتا، تقویت زدایی، تضعیف طولانی مدت، گیرنده NMDA، گیرنده های آدنوزین، پروتئین فسفاتاز ۱، تحمل متقاطع.

فهرست مطالب

فصل اول: مقدمه و مروری بر مطالعات گذشته

۱-۱. مقدمه..... ۲

۱-۲. اعتیاد ۵

۱-۲-۱. اپیوئید ها..... ۶

۱-۲-۱-۱ گیرنده های اپیوئیدی..... ۷

۱-۲-۱-۲ پیک های ثانویه/ افکتورها..... ۸

۱-۲-۱-۳ سازگاری های سلولی در اثر مصرف مزمن مرفین..... ۱۰

۱-۳ تحمل متقاطع..... ۱۴

۱-۳-۱ تحمل متقاطع مرفین و داروهای دیگر..... ۱۴

۱-۳-۲ دارو های ضد التهاب غیر استروئیدی (NSAIDs)..... ۱۵

۱-۴ مدار عصبی پاداش..... ۱۷

۱-۵ اعتیاد و هیپوکمپ..... ۱۸

۱-۵-۱ هیپوکمپ و توزیع اپیوئید ها و گیرنده های اپیوئیدی..... ۲۱

۱-۵-۲ اثرات اپیوئیدی بر هیپوکمپ..... ۲۳

۱-۶ شکل پذیری سیناپسی..... ۲۴

۱-۶-۱ القا و بروز LTP..... ۲۵

۱-۶-۲ تقویت زدایی..... ۲۶

۱-۶-۲-۱ شرایط القای تقویت زدایی..... ۲۶

۱-۶-۲-۲ ویژگی های تقویت زدایی..... ۲۸

۱-۶-۲-۲-۱ وابستگی به زمان..... ۲۸

۱-۶-۲-۲-۲ اختصاصی بودن ورودی..... ۲۸

۱-۶-۲-۲-۳ وابستگی به گیرنده گلوتاماتی..... ۲۹

۱-۶-۲-۲-۴ دخالت پروتئین فسفاتازها..... ۳۰
۱-۶-۲-۲-۵ نقش آدنوزین..... ۳۱
۱-۶-۲-۲-۶ نقش سن در فرآیند تقویت زدایی..... ۳۱
۱-۶-۲-۳ سازوکار محتمل تقویت زدایی..... ۳۲
۱-۶-۲-۴ تعدیل تقویت زدایی..... ۳۳
۱-۶-۳ تضعیف طولانی مدت (LTD)..... ۳۴
۱-۶-۳-۱ تنظیم تکاملی LTD..... ۳۵
۱-۶-۳-۲ نقش پروتئین فسفاتاز ها..... ۳۶
۱-۶-۴ داروهای با مصرف نامتعارف و شکل پذیری سیناپسی..... ۳۷
۱-۶-۴-۱ اپیوئید ها و شکل پذیری سیناپسی هیپوکمپی..... ۳۷
۱-۷ گیرنده NMDA..... ۴۰
۱-۷-۱ زیر واحد های گیرنده NMDA ۴۱
۱-۷-۲ تأثیر شکل پذیری سیناپسی بر گیرنده NMDA ۴۲
۱-۷-۳ نقش زیر واحد های گیرنده NMDA در شکل پذیری سیناپسی..... ۴۲
۱-۷-۴ نقش گیرنده NMDA در تحمل و وابستگی..... ۴۳
۱-۷-۵ تأثیر اپیوئید ها بر بیان زیر واحد های گیرنده NMDA..... ۴۴
۱-۸ پروتئین فسفاتاز ها و شکل پذیری سیناپسی..... ۴۶
۱-۹ پروتئین فسفاتاز ها در تحمل و وابستگی به مرفین..... ۴۷

فصل دوم: مواد و روش ها

۲-۱ مشخصات مواد، دارو ها و دستگاه های مورد استفاده..... ۵۰
۲-۱-۱ مواد..... ۵۰
۲-۱-۲ داروها..... ۵۱

۲-۱-۳ دستگاه ها و وسایل ۵۱
۲-۲ روش ایجاد وابستگی به مرفین..... ۵۳
۲-۳ روش ایجاد تحمل به سدیم سالیسیلات..... ۵۴
۲-۴ مطالعات الکترو فیزیولوژیک در مقاطع جدا شده..... ۵۴
۲-۴-۱ مراحل تهیه و نگهداری مقاطع زنده هیپوکمپ..... ۵۴
۲-۴-۲ ثبت پتانسیل های میدانی در مقاطع جدا شده..... ۵۵
۲-۴-۳ پارامتر های قابل بررسی در ثبت پتانسیل میدانی..... ۵۶
۲-۴-۴ تحریک و ثبت..... ۵۸
۲-۵ طراحی آزمایش..... ۵۸
۲-۶ تجویز دارو..... ۵۹
۲-۷ گروه های آزمایشی..... ۶۳
۲-۸ نحوه تجزیه و تحلیل و ارائه اطلاعات..... ۶۷
۲-۹ بررسی های ملکولی..... ۶۸
۲-۹-۱ استخراج RNA..... ۶۸
۲-۹-۲ سنتز cDNA..... ۶۹
۲-۹-۳ تکثیر قطعه ای از cDNA مربوط به ژن های NR2A، PP1 و β – اکتین توسط واکنش PCR..... ۶۹
۲-۹-۴ بهینه سازی شرایط واکنش PCR..... ۷۰
۲-۹-۵ الکتروفورز نمونه ها..... ۷۱
۲-۱۰ روش های آماری..... ۷۱

فصل سوم: نتایج

۳-۱ آزمون وابستگی به مرفین..... ۷۳
۳-۲ پاسخ سیناپسی پایه در ناحیه CA1 مقاطع بدست آمده از موش های صحرایی وابسته

به مرفین.....۷۳
۳-۲-۱ پاسخ سیناپسی پایه در مدل سندرم ترک خود به خودی.....۷۴
۳-۲-۲ پاسخ سیناپسی پایه در حضور مرفین و نالوکسان.....۷۴
۳-۳ پاسخ های زوج پالس.....۷۷
۳-۳-۱ شاخص زوج پالس در مدل سندرم ترک خود به خودی.....۷۸
۳-۳-۲ شاخص زوج پالس در حضور مداوم مرفین و نالوکسان هیدرو کلراید.....۷۸
۳-۴ اثر TPS بر روی پاسخ های سیناپسی پایه.....۸۱
۳-۴-۱ اثر TPS بر روی پاسخ های سیناپسی پایه در مدل ترک خود به خودی.....۸۱
۳-۴-۲ اثر TPS بر روی پاسخ های سیناپسی پایه درحضور مداوم مرفین و نالوکسان.....۸۱
۳-۵ فارماکولوژی PS LTD القا شده توسط TPS.....۸۴
۳-۵-۱ اثر CPX و 8-PT بر تضعیف پاسخ سیناپسی القاء شده با TPS.....۸۴
۳-۵-۲ اثر MRS1220 بر تضعیف پاسخ سیناپسی القاء شده با TPS.....۸۶
۳-۵-۳ اثر AP5 بر تضعیف پاسخ سیناپسی القاء شده با TPS.....۸۷
۳-۵-۴ اثر CPX و AP5 بر تضعیف پاسخ سیناپسی القاء شده با TPS.....۸۷
۳-۶ تقویت طولانی مدت پاسخ های سیناپسی در اثر اعمال HFS.....۹۴
۳-۷ زدایش PS LTP توسط TPS.....۹۶
۳-۷-۱ اثر TPS بر پاسخ های سیناپسی تقویت شده در مدل ترک خود به خودی...۹۶
۳-۷-۲ اثر TPS بر پاسخ های سیناپسی تقویت شده در حضورر مداوم مرفین و نالوکسان ۹۷
۳-۸ تأثیر TPS مقدم برHFS برالقای PS LTP در مقاطع وابسته.....۱۰۱
۳-۹ پاسخ سیناپسی پایه در ناحیه CA1 مقاطع بدست آمده از موش های صحرایی در یافت کننده سدیم سالیسیلات.....۱۰۳
۳-۹-۱ پاسخ سیناپسی پایه در حضور مرفین.....۱۰۳

۳-۱۰ پاسخ های زوج پالس.....۱۰۶
۳-۱۰-۱ پاسخ های زوج پالس در حضور مرفین.....۱۰۶
۳-۱۱ تقویت پاسخ های سیناپسی در اثر اعمال HFS.....۱۰۸
۳-۱۲ اثرات مرفین برالقای LTP دردو گروه کنترل و دریافت کننده سدیم سالیسیلات۱۰۹
۳-۱۲-۱ تأثیر کاربرد کوتاه مدت مرفین قبل از اعمال HFS بر القایLTP.....۱۰۹
۳-۱۲-۲ اثر کاربردمرفین قبل ودرطی ۶۰ دقیقه پس ازاعمال HFS برالقایLTP ۱۰۹
۳-۱۲-۳ اثر کاربرد طولانی مدت مرفین بر القای LTP.....۱۱۰

فصل چهارم: بحث، نتیجه گیری و پیشنهاد ها

۴-۱ تأثیر مصرف مزمن مرفین بر فعالیت عصبی بر انگیخته.....۱۱۶
۴-۲ اثر مصرف مزمن مرفین بر شکل پذیری سیناپسی کوتاه مدت.....۱۱۷
۴-۳ بررسی بیان دو ژن دخیل درشکل پذیری سیناپسی و وابستگی و تحمل به مرفین.۱۲۳
۴-۳-۱ اثر مصرف مزمن مرفین بر بیان زیر واحد NR2A گیرنده NMDA و آنزیم PP1 .....۱۲۴
۴-۴ القای LTD در اثرTPS.....۱۲۹
۴-۵ تأثیر القای LTD بربیان NR2A وPP1 درCA1 هیپوکمپ مقاطع وابسته به مرفین.۱۳۳
۴-۶ اثر TPS بر PS LTP.....۱۳۶
۴-۷ تأثیر القای LTP و تقویت زدایی بر بیان NR2A وPP1 درCA1 هیپوکمپ مقاطع وابسته به
مرفین.....۱۴۶
۴-۸ اثر کاربرد TPS بر القایPS LTP ۱۵۱
۴-۹ تحمل متقاطع NSAID ها و اپیوئید ها.....۱۵۳

۴-۹-۱ اثرمصرف سدیم سالیسیلات برپاسخ های سیناپسی پایه وشاخص زوج پالس.۱۵۳
۴-۹-۲ بررسی تقویت طولانی در مقاطع بدست آمده از حیوانات دریافت کننده سدیم سالیسیلات.....۱۵۶
۴-۹-۳ بررسی تقویت طولانی مدت در مقاطع بدست آمده از حیوانات دریافت کننده سدیم سالیسیلات در حضور مرفین.....۱۵۹
۴-۹-۴ تأثیر القای LTP بر بیان NR2A وPP1 درCA1 هیپوکمپ مقاطع بدست آمده از حیواناتی که سدیم سالیسیلات دریافت کردند.....۱۶۰
نتیجه گیری.....۱۶۲
پیشنهاد ها.....۱۶۳
فهرست منابع و مآخذ.....۱۶۴
چکیده انگلیسی.....۱۹۴

فهرست شکل ها

شکل۲-۱. مقطعی از هیپوکمپ همراه با مکان الکترود های تحریکی و ثبات.....۵۶

شکل۲-۲. طرح الکتروفورزی محصول RT-PCR مربوط به انتخاب حجم cDNA برای ژن هایPP1، NR2A و β-Actin ۷۰

شکل۳-۱. پاسخ های سیناپسی پایه در گروه کنترل و وابسته به مرفین در ناحیه جسم سلولی CA1 هیپوکمپ.....۷۶

شکل ۳-۲. شاخص زوج پالس (PPI) برای دو گروه کنترل و وابسته به مرفین.....۸۰

شکل ۳-۳. اثر TPS بر پاسخ های سیناپسی پایه.....۸۳

شکل ۳-۴. اثر CPX و AP5 بر کاهش دامنه PS ناشی از اعمال TPS.....۸۵

شکل ۳-۵. اثر 8-PT و MRS1220 بر کاهش دامنه PS ناشی از اعمال TPS.....۸۸

شکل ۳-۶. تأثیر مصرف مزمن مرفین بر میزان بیان ژن NR2A و PP1 در هیپوکمپ راست و چپ.....۹۰

شکل ۳-۷. تأثیرTPS بر میزان بیان ژن NR2A و PP1 در ناحیه CA1 مقاطع هیپوکمپی یک ساعت پس از اعمال TPS.....۹۱

شکل ۳-۸. تأثیراعمال TPS بر میزان بیان ژن NR2A و PP1 در ناحیه CA1 مقاطع هیپوکمپی یک ساعت پس از اعمال TPS در حضور CPX و AP5 .....۹۳

شکل ۳-۹. اثر HFS بر پاسخ های سیناپسی پایه.....۹۴

شکل ۳-۱۰. تأثیر القای LTP بر میزان بیان ژن NR2A و PP1 در ناحیه CA1 مقاطع هیپوکمپی یک ساعت پس از اعمال HFS.....۹۵

شکل ۳-۱۱. اثر TPS بر پاسخ های سیناپسی تقویت شده توسط HFS.....۹۸

شکل ۳-۱۲. تأثیر پدیده تقویت زدایی بر میزان بیان ژن NR2A و PP1 در ناحیه CA1 مقاطع هیپوکمپی یک ساعت پس از اعمال HFS و TPS.....۱۰۰

شکل ۳-۱۳. اثر کاربرد قبلی TPS بر تقویت ناشی از HFS.....۱۰۲

شکل۳-۱۴. پاسخ های سیناپسی پایه در گروه کنترل و دریافت کننده سدیم سالیسیلات در ناحیه جسم سلولی CA1 هیپوکمپ.....۱۰۵

شکل ۳-۱۵. شاخص زوج پالس (PPI) برای هر دو گروه کنترل و دریافت کننده سدیم سالیسیلات.....۱۰۷
شکل ۳-۱۶. تأثیر مصرف سدیم سالیسیلات بر میزان بیان ژن NR2A و PP1 در هیپوکمپ راست و چپ.....۱۰۷
شکل ۳-۱۷. القای LTP توسط HFS در حیوانات دریافت کننده سدیم سالیسیلات....۱۰۸
شکل ۳-۱۸. اثر HFS بر پاسخ های سیناپسی پایه در حضور مرفین.....۱۱۱
شکل ۳-۱۹. تأثیر القای LTP بر میزان بیان ژن NR2A و PP1 در ناحیه CA1 مقاطع هیپوکمپی موش های صحرایی تیمار شده با سدیم سالیسیلات یک ساعت پس از اعمال HFS.....۱۱۳

فصل اول

مقدمه و

مروری بر مطالعات

گذشته

۱-۱ مقدمه

اعتیاد به عنوان یک بیماری عصبی- روانی[1] [۱، ۲] به طور مستمر تعداد بسیار زیادی از انسان ها را مبتلا می کند و هزینه اقتصادی زیادی را به جامعه تحمیل می نماید، اما درمان های موجود بر اغلب افراد تأثیر کمی دارد. مشابه سایر بیماری ها، یک فهم درست از پایه بیولوژیک اعتیاد، به درمان های مؤثرتر و نهایتاً به درمان قطعی و تدابیر پیشگیری کننده مؤثرتر منجر خواهد شد [۳].

اعتیاد را میتوان به صورت تحمل[2] به دارو، وابستگی[3] به آن و یا جستجو و مصرف اجباری دارو تعریف کرد. زمانیکه اعتیاد ایجاد می شود می تواند در تمام طول زندگی فرد باقی بماند، به طوریکه افراد معتاد اشتیاق شدید به دارو را در سراسر زندگی شان نشان می دهند و سال ها و حتی دهه ها بعد از ترک در معرض خطر عود قرار دارند. این بدین معنی است که اعتیاد سبب تغییرات بسیار پایدار در مغز می شود که مسؤول چنین اختلالات رفتاری طولانی مدت می باشد [۳]. بنابراین اعتیاد به داروها مثل اعتیاد به مرفین ممکن است از سازوکارهای حافظه و یادگیری در مناطق مغزی استفاده نموده و همچنین اعمال طبیعی این مناطق را تحت تأثیر قرار داده و منجر به تشکیل حافظه غیرعادی گردد [۴].

تصور می شود حافظه و یادگیری بوسیله تغییراتی در کارکرد یا قدرت انتقال سیناپسی صورت می گیرد [۵، ۶]. بر اساس یک فرضیه موجود، داروهای با مصرف نامتعارف سبب سازماندهی مجدد[4] اعمال سیناپسی بویژه شکل پذیری سیناپسی وابسته به فعالیت در مناطق مغزی در گیر در رفتارهای مربوط به اعتیاد می شود [۳، ۷، ۸، ۹] که نتایج رفتاری مهمی را به همراه دارد [۱۰]. مدارک آزمایشگاهی زیادی از این فرضیه حمایت می کند. مصرف مزمن داروهای اعتیادآور تغییراتی را در انتقال سیناپسی و/یا شکل پذیری در VTA[5]، NA[6] و هیپوکمپ القا می کند [۹، ۱۱-۱۶]. شواهد و قرائن زیادی نشان می دهدکه هیپوکمپ که ساختار مغزی مربوط به حافظه و یادگیری فضایی است [۵، ۱۷، ۱۸]، همچنین یک منطقه مهم دخیل در بازخوانی و توزیع اطلاعات

---

[1] Neuropsychiatric
[2] Tolerance
[3] Dependence
[4] Remodeling
[5] Ventral tegmental area
[6] Nucleuse accumbence

مربوط به دارو در مغز است که در پاسخ های مربوط به پاداش و رفتار جستجوی دارو نقش دارد [۴، ۱۹].

تقویت طولانی مدت (LTP)[۷] و تضعیف طولانی مدت (LTD)[۸] به عنوان پایه واساس نوروفیزیولوژیک حافظه و یادگیری در مغز شناخته شده است [۱۷]. این کنترل دو طرفه قدرت سیناپسی، انعطاف پذیری و ظرفیت ذخیره مدارهای عصبی را افزایش می دهد. در حقیقت هیچ دلیلی وجود ندارد که LTP سازوکار مفید تری نسبت به LTD برای ذخیره اطلاعات یا تعدیل وابسته به تجربه مدار عصبی باشد [۲۰، ۲۱].

مدارک زیادی پیشنهاد می کند که مصرف مزمن مرفین و وابستگی به آن می تواند بر القای LTP تأثیر بگذارد [۱۵، ۲۲-۲۶]. LTP در سیناپس های فیبر خزه ای بعد از مصرف مزمن مرفین تشدید می گردد [۱۵]. همچنین تجویز مزمن مرفین پس از تولد سبب تشدید LTP القا شده با تحریک با شدت پایین در سیناپس های شاخه جانبی شافر-CA1 می شود. احتمالا مصرف مزمن مرفین ممکن است منجر به تغییر در آستانه LTP گردد [۲۲، ۲۳]. در همین آزمایشگاه هم نشان داده شده است که مقاطع وابسته به مرفین در حضور مداوم مرفین، یعنی زمانیکه از ترک[۹] خود به خودی جلوگیری می شود؛ LTP را بیان نمی کنند. برعکس در مقاطعی که دچار ترک شده اند، LTP تشدید یافته ای دیده می شود که احتمالا از طریق سازوکارهای پایین دست به گیرنده اپیوئیدی که ممکن است بوسیله مواجهه با اپیوئیدها مهار شوند، رخ می دهد [۲۷، ۲۸].

از طرف دیگر برگرداندن قدرت سیناپسی از وضع تقویت شده به سطوح قبل از LTP که تقویت زدایی[۱۰] نامیده می شود ممکن است برای جلوگیری از اشباع قدرت سیناپسی سازوکاری را فراهم کند و کارایی و ظرفیت ذخیره اطلاعات شبکه های نورونی را افزایش دهد [۲۹]. به دلیل نزدیک بودن به شرایط فیزیولوژیک، انواعی از شکل پذیری سیناپسی که در پاسخ به الگوهای طبیعی فعالیت سیناپسی (یا در پاسخ به پروتوکل های تحریکی که از فعالیت سیناپسی طبیعی تقلید

[7] Long-term potentiation
[8] Long-term depression
[9] Withdrawal
[10] Depotentiation

می کنند) القا می شوند؛ از اهمیت ویژه ای برخوردار است. TPS[11] (تحریک ۵ هرتزی به مدت ۳ دقیقه) یکی از الگوهای تحریک طبیعی است که برای زدایش LTP و همچنین القای LTD به کار می رود [۳۰].

پیشنهاد شده است که فعالیت هیپوکمپی که به طور طبیعی در محدوده فرکانس تتا (۱۲Hz– ۵) در طی رفتار جستجوگرانه در یک محیط جدید اتفاق می افتد، در زدایش وابسته به تجربه LTP شرکت کند و با پردازش اطلاعات جدید ارتباط داشته باشد [۳۱]. به نظر می رسد افزایش آدنوزین خارج سلولی که بر گیرنده A1 آدنوزین عمل می کند مسؤول LTD و زدایش LTP القا شده با تحریک با فرکانس پایین (LFS)[12] باشد [۳۲، ۳۳]. بنابراین، اثرات TPS برشبکه CA1 مطالعه شد تا معلوم گردد که آیا TPS سبب زدایش LTP تشدید یافته در موش های صحرایی وابسته به مرفین می شود و آیا LTD در این حیوانات القا می کند. همچنین نقش بالقوه گیرنده های NMDA[13]، A1 وA3 آدنوزین در شکل پذیری القا شده با TPS در CA1 هیپوکمپ موش های صحرایی وابسته به مرفین بررسی شد.

روندهای تنظیمی داخل سلولی پس گیرنده ای متفاوت نظیر افزایش کلسیم داخل سلولی و سپس فعال شدن انواع آنزیم ها از جمله پروتئین کینازها و فسفاتازها در وقوعLTP، LTD و تقویت زدایی نقش بازی می کنند [۱۹، ۳۴]. مشخص گردیده که بسیاری از این مولکول ها اهداف اپیوئیدها می باشند و این امکان مطرح است که مواد اعتیاد آور با تغییر بیان آنها در درازمدت باعث تغییر شکل پذیری سیناپسی گردند [۹، ۳۵]. به همین دلیل بیان برخی از مولکول هایی که هم در شکل پذیری سیناپسی و هم در تحمل و وابستگی به اپیوئید ها نقش دارند از جمله زیرواحد NR2A گیرنده NMDA و آنزیم پروتئین فسفاتاز ۱ (PP1)[14] را بررسی نمودیم.

کنترل درد حاد در افراد مصرف کننده اپیوئیدها بسیار مشکل می باشد، چرا که بسیاری از داروهای ضد درد از جمله داروهای ضد التهاب غیر استروئیدی با اپیوئیدها تحمل متقاطع[15] دارند

[11] Theta pulse stimulation
[12] Low frequency stimulation
[13] N-methyl-D-aspartate
[14] Protein phosphatase 1
[15] Cross tolerance

و این امر در درمان درد حاد معتادان به داروهای اپیوئیدی حائز اهمیت است [۳۶-۳۹]. در این تحقیق به بررسی مدل الکتروفیزیولوژیک تحمل متقاطع به اثرات ضد دردی بین سدیم سالیسیلات و مرفین پرداختیم.

۱-۲ اعتیاد

شماری از داروها وعوامل شیمیایی می توانند با ایجاد وضعیتی که اعتیاد نامیده می شود، رفتار انسان را کنترل نمایند. ویژگی اصلی اعتیاد، مصرف اجباری دارو علی رغم نتایج زیانبار آن نظیر بیماری، اختلال در ایفای نقش های مهم زندگی و حتی مشارکت در فعالیت های جنایی برای تهیه دارو می باشد. برای افراد معتاد، دارو بر تمامی اهداف دیگر برتری می یابد بطوریکه زندگی آنها محدود به تهیه و مصرف داروها می گردد [۴۰]. اعتیاد با تأثیر دارو بر مغزهای آسیب پذیر ایجاد می شود و عموماً نیاز به مواجهه تکراری با دارو است. این فرآیند قویاً تحت تأثیر هم خصوصیات ژنتیکی فرد و هم شرایط سایکولوژیک و اجتماعی که مصرف دارو اتفاق می افتد، قرار می گیرد. زمانیکه اعتیاد ایجاد می شود می تواند در تمام طول زندگی فرد باقی بماند، به طوریکه افراد معتاد اشتیاق شدید به دارو را در سراسر زندگی شان نشان می دهند و سال ها و حتی دهه ها بعد از ترک در معرض خطر عود قرار دارند. این بدین معنی است که اعتیاد سبب تغییرات بسیار پایدار در مغزمی شود که مسؤول چنین اختلالات رفتاری طولانی مدت می باشد [۳].

با مصرف مکرر داروها، سازگاری های هومئوستاتیک ممکن است در سلول ها و مدارهای متأثر از آن دارو اتفاق افتاده و منجر به تحمل و وابستگی گردد. احتمال وقوع تحمل و وابستگی و تظاهرات دقیق آنها بطور بارز در میان داروهای اعتیاد آور، بسته به الگوهای بیان گیرنده های هر دارو و سازوکار های سیگنالینگ فعال شده در سلول های مربوط، متفاوت می باشد. تحمل به معنی نیاز به افزایش دوز دارو برای حفظ اثر پایدار آن دارو می باشد. وابستگی بیانگر تغییرات ایجاد شده توسط دارو در فیزیولوژی سلول ها و مدارهاست. به طوریکه با قطع دارو نشانگان قطع مصرف[16] پدیدار می شود [۴۰].

[16] Withdrawal syndrome

تحمل به برخی اثرات دارو و همچنین نوع علائم قطع مصرف بستگی به سیناپس ها و مدارهایی دارد که دارو بر آنها عمل کرده و سازگاری هایی در آنها ایجاد می کند. بر این اساس قطع مصرف برخی داروها باعث تولید علائم فیزیکی نظیر علائم سرماخوردگی و انقباضات شکمی دردناک می شود. درحالیکه قطع مصرف برخی دیگر سبب تولید علائم قطع مصرف احساسی[17] نظیر anhedonia و دیسفوریا، یا علائم قطع مصرف انگیزشی[18] نظیر اشتیاق به دارو می شود [۴۰].

زمانی تصور می شد که وابستگی و نشانگان قطع مصرف علائم اصلی اعتیاد هستند. اما امروزه مشخص شده که برای اینکه فردی معتاد شناخته شود (یعنی تمایل قوی برای گرفتن دارو نشان دهد) وابستگی و نشانگان قطع مصرف نه لازم و نه کافی هستند [۴۰].

پدیده جالبی که گاهی رخ می دهد، تحمل متقاطع است، یعنی؛ مصرف مکرر یک دارو علاوه بر ایجاد تحمل به اثرات دارویی آن نسبت به اثرات داروی دیگر، که به طور مکرر استفاده نشده، نیز تحمل ایجاد می کند. از جنبه فارماکولوژیکی، تحمل متقاطع به پدیده ای اطلاق می شود که در آن بیمار درمان شده با یک دارو نسبت به اثرات درمانی داروهای مشابه، مقاومت فیزیولوژیکی نشان می دهد [۴۱].

چندین گروه از ترکیبات که اثرات فارماکولوژیک متفاوت تولید می کنند، می توانند منجر به اعتیاد شوند. این ترکیبات شامل اپوئیدها، محرک های روانی[19]، کوکائین، اتانل، نیکوتین و کانابینوئید ها هستند [۴۲]. اگرچه این داروهای اعتیاد آور ملکول های شیمیایی متنوع با فعالیت های اولیه متنوع هستند، اما اعتیاد حاصل از آنها ویژگی های بسیار مهم مشترکی دارد [۳].

۱-۲-۱ اپیوئیدها

اپیوئیدها از قدیمی ترین و شناخته شده ترین گروه از داروهایی هستند که به طور نامتعارف مصرف می شوند. داروهای اپیوئیدی به صورت بالینی به عنوان عوامل ضد درد استفاده می شوند. اما همچنین به طور غیر قانونی هم مورد سوء مصرف قرار می گیرند تا یک حس خوب بودن و سر

---

[17] Emotional
[18] Motivational
[19] Psychostimulant

خوشی القا کنند. تحمل به اپیوئیدها، که به معنی از دست دادن اثر آنها به دنبال مصرف مکـرر مـی باشد، به طوریکه یک دوز بالاتر برای رسیدن به همان اثر مورد نیاز است، کـارایی ضـد دردی ایـن دسته از داروها را محدود می کند و منجر به مشکلات اجتماعی مربوط بـه مصـرف نـا متعـارف و تفننی اپیوئیدها می شود. در حیوانات تحمل به اثرات ضد دردی اپیوئیـدها حتـی بعـد از یـک دوز واحد هم دیده می شود و در طی هفته ها توسعه می یابد. تعامل پیچیده ای از وقایع کـه در سـطح سلولی و همچنین در شبکه های نورونی اتفاق می افتد، احتمالاً در تحمـل حیـوان بـه اپیوئیـد هـا شرکت می کنند [۴۳].

داروهای اپیوئیدی تجویز شده به صورت برون زاد برهمان گیرنده هایی عمـل مـی کننـد کـه مربوط به اپیوئیدهای درون زاد هستند. کشف اولیه جایگاه های اتصالی برای مـواد مخـدر در مغـز این سؤوال را مطرح کرد که بایستی لیگاندهای درون زادی وجود داشته باشد که بر این گیرنده هـا عمل کنند. به این ترتیب تخلیص اپیوئیدهای درون زاد از قسمت های مختلف مغز صورت گرفت. پپتیدهای اپیوئیدی (به جز اندومرفین ها به عنوان لیگاندهای انتخابی جدید برای گیرنـده هـای μ)، متعلق به یک خانواده سه ژنی هستند که پیش ساز آنها ؛ پرواپیوملانوکـورتین، پروانفکـالین و پـرو دینورفین را کد می کنند. هر کدام از این ژن ها چندین پپتید فعال از نظر بیولوژیک را کد می کننـد که حاوی قطعات تکراری هستند که به نظر می رسد از همانند سازی قطعات اولیه DNA در طـی روند تکامل منشأ می گیرند [۴۴].

۱-۲-۱-۱ گیرنده های اپیوئیدی

در ابتدای سال ۱۹۷۰ از طریق مطالعه میل اتصال با استفاده از لیگاندهای اپیوئیدی نشان دار، وجود گیرنده های اپیوئیدی در مغز نشان داده شد [۴۵]. بطور کلی سه دسـته گیرنـده اصـلی μ (میـو)، κ (کاپا) و δ (دلتا) برای اپیوئیدها شناخته شده است. لیگاندهای قوی و به شدت انتخـابی بـرای هـر کدام از این سه دسته گیرنده عمومی ساخته شده است. حدود ۶۰٪ شباهت توالی بین گیرنده هـای μ ، κ و δ وجود دارد [۹]. همچنین مشخص شده است که هـر گـروه از گیرنـده هـای اپیوئیـدی دارای زیر گروه های مختلفی می باشند که اثرات متفاوتی را میـانجیگری کـرده و بـه آنتاگونیسـت

های متفاوت پاسخ می دهند. اخیراً پیشنهاد شده است که کمپلکس های گیرنده های اپیوئیدی نیز علاوه بر انواع مستقل وجود دارند. وجود چنین کمپلکس های فرضی گیرنده ای ممکن است توضیح دهد که چرا تحریک یک نوع گیرنده اپیوئیدی می تواند گیرنده اپیوئیدی دیگری را تحت تأثیر قرار دهد [۴۶، ۴۷]. دانستن توزیع سلولی و آناتومیکی گیرنده های اپیوئیدی برای تعیین سیستم های نورونی و شبکه های موضعی درگیر در شروع عمل داروها و تکامل بعدی سازگاری های حاصل از مصرف مکرر دارو مهم است. توزیع گسترده این گیرنده ها نشان می دهد که اپیوئیدها پتانسیل متأثر کردن سیستم های گوناگون شامل سیستم عصبی و هورمونی را دارند. توزیع سلولی گیرنده های μ و κ به میزان زیاد در طول غشای پلاسمایی هم جسم سلولی و هم دندریت ها و پایانه های عصبی می باشد. گیرنده ها به جای جایگاه های تحت سیناپسی[۲۰] در مناطق اطراف سیناپسی[۲۱] یافت می شوند. گیرنده های δ بر خلاف آنها، اغلب در داخل سلول ها درغشای وزیکول ها یافت می شوند. توزیع مجدد وابسته به فعالیت گیرنده های κ و δ از وزیکول ها به غشای پلاسمایی پیشنهاد می کند که موقعیت گیرنده ها ثابت نیست و ممکن است بسته به فعالیت به طور قابل ملاحظه ای تغییر کند [۹].

۱-۲-۱-۲ پیک های ثانویه / افکتورها

فعال شدن هر سه نوع گیرنده اپیوئیدی، آثار سلولی مشترکی را به بار می آورد. اثر اپیوئید ها با فعال شدن گیرنده های متصل به پروتئین G شروع می شود. این گیرنده ها همانند تمامی گیرنده های متصل به پروتئین G مسیرهای پیک ثانویه گوناگونی را فعال یا تنظیم می کنند. معمول ترین آثار گزارش شده پس از اتصال اپوئیدها به گیرنده های متصل به پروتئین های G حساس به سم سیاه سرفه عبارتند از: مهار آدنیلیل سیکلاز، فعال شدن هدایت های پتاسیمی، مهار هدایت کلسیمی و مهار رهایش پیک عصبی. اگر چه سایر آثار شامل فعال شدن پروتئین کیناز C (PKC)، رهایش

[20] Subsynaptic
[21] Perisynaptic

کلسیم از ذخایر داخل سلولی، فعال شدن آبشار MAP[22] کیناز گزارش شده است و مشخص گردیده است که نقل وانتقال گیرنده نقش مهمی در عمل آن بازی می کند.

مهار حاد آدنیلیل سیکلاز (AC) توسط اپیوئیدها می تواند منجر به تغییر جریان ها از طریق کانال های وابسته به cAMP[23]، نظیر کانال کاتیونی غیر انتخابی (I_h)، کانال سدیمی غیر حساس به تتردوتوکسین گردد که نتیجه آن کاهش این جریان های دپلاریزان و در نتیجه کاهش تحریک- پذیری نورون هاست. نتیجه دیگر مهار آدنیلیل سیکلاز بوسیله اپیوئیدها مهار رهایش وابسته به cAMP پیک عصبی است. فعال شدن هدایت های پتاسیمی و یا مهار هدایت کلسیمی نیز می- تواند منجر به مهار رهایش پیک عصبی گردد. با اینکه مهار مستقیم ماشین رهایش مستقل از هدایت های پتاسیمی و کلسیمی نیز گزارش شده است. بسته به محل، اپیوئیدها رهایش پیک های عصبی تحریکی یا مهاری را فرو می نشانند. مهار اپیوئیدی رهایش GABA در مدارهای موضعی اولین بار در هیپوکمپ مشاهده شد که یافته ای شایع برای اثرات غیر مستقیم تحریکی یا رفع مهار اپیوئیدها است. اپیوئیدها سبب هیپرپلاریزاسیون مستقیم نورون های واسط شده و بنابراین تحریک پذیری این سلول ها را کاهش می دهند. به علاوه رهایش خود به خودی کوانتال GABA از پایانه ها بوسیله اپیوئیدها کاهش می یافت که نشان می دهد اپیوئیدها مستقیماً بر پایانه های آکسونی اثر کرده تا احتمال رهایش GABA را کاهش دهند. همچنین اپوئیدها با فعال کردن PKC سبب افزایش جریان های گلوتاماتی پس سیناپسی (وابسته به NMDA) می گردند. فعال شدن PKC بوسیله اپیوئیدها در نتیجه فعال شدن فسفولیپاز C و تولید اینوزیتول تری فسفات (IP3)[24] و دی آسیل- گلیسرول (DAG) [25] است که منجر به رهایش کلسیم از منابع داخل سلولی نیز می گردد.

گیرنده های اپیوئیدی نظیر سایر گیرنده های وابسته به پروتئین های G در محل خود ثابت نبوده و بین غشای پلاسمایی و داخل سلول گردش می کند. نقل و انتقال گیرنده با اتصال آگونیست و با درون بری از طریق مسیر اندوزومال آغاز می شود که ممکن است در حساسیت زدایی و یا شروع پیام رسانی هسته ای نقش داشته باشد. وقایعی که منجر به درون بری می شود

[22] Mitogen-activated protein kinase
[23] cyclic-adenosine-monophosphate
[24] Inositol 1, 4, 5 -triphosphate
[25] Diacyl-glycerol