بررسی تجویز مزمن عصاره بابونه بر بیان c-fos هنگام قطع مصرف مورفین در موش سوری نر بالغ

مهناز کسمتی Ph.D.*، حمید گله داری Ph.D.، آذر مساح M.Sc.

دانشگاه شهید چمران اهواز، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی

* آدرس مکاتبه: اهواز، صندوق‌پستی: ۱۴۱-۶۵۳۵۵، دانشگاه شهید چمران، دانشکده علوم، بخش زیست شناسی
پست الکترونیک: Email: mahnazkessmati@yahoo.com

چکیده

دریافت مقاله: ۸۵/۶/۷، پذیرش مقاله: ۸۵/۱۰/۱۹

هدف: بررسی اثر تسکینی تجویز مزمن عصاره هیدروالکلی بابونه (۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بر میزان وابستگی به مورفین با ارزیابی رفتار پرش و بیان فاکتور رونویسی c-fos در مغز موش سوری نر بالغ به هنگام قطع مصرف آن

مواد و روش‌ها: در این تحقیق موش سوری نر به گروه‌های دریافت کننده: مورفین+ سالین، مورفین+ نالوکسان، مورفین+ عصاره مزمن بابونه+ نالوکسان، مورفین+ سالین+ نالوکسان و سالین+ نالوکسان تقسیم شدند. برای ایجاد وابستگی از دوز فزاینده مورفین طی چهار روز استفاده شد و جهت قطع مصرف مورفین نالوکسان (۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) تزریق شد. گروه دریافت کننده بابونه مزمن، هم‌زمان عصاره آن را طی چهار روز با مورفین به صورت داخل صفاقی دریافت کردند. در بررسی رفتاری، علامت پرش بلافاصله پس از تزریق نالوکسان به مدت نیم ساعت ارزیابی شد و در بررسی سلولی mRNA بافت مغز نود دقیقه پس از تیمارها در هر گروه استخراج شد. با استفاده از پروب نشان‌دار c-fos و بتاکتین (کنترل مثبت) و روش dot bloting، میزان بیان c-fos آنالیز شد.

یافته‌ها: میزان رفتار پرش و بیان c-fos در سندرم ترک افزایش یافت و استفاده مزمن از عصاره بابونه به همراه مورفین علاوه بر کاهش قابل ملاحظه رفتار پرش، باعث کاهش میزان فاکتور رونویسی c-fos در مغز، به هنگام قطع مصرف مورفین شد.

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد عصاره بابونه اثر تسکینی خود را از طریق تنظیم بیان فاکتور رونویسی c-fos، اعمال می‌کند بنابراین می‌تواند یک اثر پایدار مهاری بر پدیده اعتیاد به مورفین نشان دهد.

کلیدواژگان: مورفین، پرش، c-fos، بابونه

فصلنامه پزشکی یاخته، سال هشتم، شماره ٤، زمستان ۱۳۸۵، صفحات ۲۵۱-۲۴۶

مقدمه

مصرف مکرر اوپیت‌ها از جمله مورفین، باعث ایجاد تغییرات سازشی در سیستم عصبی مرکزی می‌شود که این خود وابستگی را به دنبال دارد. اساس مکانیسم‌های وابستگی اوپیتی به خوبی مشخص نشده است. با این حال شواهد اخیر پیشنهاد می‌کند که سازش‌های طولانی مدت ناشی از مصرف مکرر داروهای اوپیتی، مستلزم تغییر در بیان ژن است (۱، ۲). گزارش‌هایی هم مبنی بر تغییرات در سیستم (cyclic Adnosin Monophosphste: cAMP) و برخی فاکتورهای رونویسی به هنگام وابستگی اوپیتی و سندرم ترک اپیوییدها وجود دارد. فاکتور رونویسی (cAMP Response Element Binding Protein: CREB) و خانواده فاکتوررونویسی fos (FBJ Osteosarcoma oncogene)، از جمله فاکتورهایی هستند که پیشنهاد شده در مکانیسم‌های اعتیاد اوپیوییدی دخالت دارند.

ثابت شده است که تنظیم افزایشی مسیر cAMP نقش مهمی در ایجاد وابستگی به مورفین و همچنین بیان ژن‌های اولیه فوری مانند فاکتورهای رونویسی FOS، به هنگام ترک مورفین دارد (۳). از طرفی بررسی‌ها نشان می‌دهند که بیان فاکتور رونویسی c-fos، به هنگام سندرم ترک مورفین، در بسیاری از مناطق مغز افزایش چشم‌گیری می‌یابد (۲، ۳). گزارش شده است که مهارکننده‌های فسفو دی استراز مانند رولیپرام، نفی راستام، انپروفیلین و IMBX، می‌توانند باعث تضعیف وابستگی به مورفین و بیان علایم ترک شوند. پیشنهاد شده است این مواد با جلوگیری از تنظیم افزایشی cAMP، باعث کاهش بروز علایم ترک به هنگام قطع مصرف مورفین می‌شوند. استفاده از این مهارکننده‌ها، همچنین باعث کاهش بیان c-fos، به هنگام قطع مصرف مورفین می‌شوند (۶-۴).

بابونه یکی از قدیمی‌ترین گیاهان دارویی است که امروزه نیز به طور گسترده از آن استفاده می‌شود. اثرات ضدالتهابی، اسپاسمولیتیک و آرام‌بخشی از جمله ویژگی‌های است که برای این گیاه در نظر گرفته شده است (۷). اخیرا ثابت شده است عصاره این گیاه و برخی از ترکیبات فلاونوییدی آن، اثر تعدیلی بر علایم ناشی از قطع مصرف مورفین دارند (۱۱-۸). همچنین ثابت شده است عصاره بابونه قادر به مهار افزایش cAMP، ناشی از ترک مورفین است (۱۲، ۱۳). گزارش‌هایی نیز وجود دارد که نشان می‌دهد برخی از ترکیبات بابونه مانند آپی‌ژنین و کامازولن، اثر مهاری بر تنظیم افزایشی پروتیین در

Archive of SID
www.SID.ir

سطح رونویسی دارند (۱۰، ۱۴). با توجه به بررسی‌های گذشته، تحقیق حاضر برای بررسی اثر عصاره بابونه بر بیان c-fos در مغز، به هنگام قطع مصرف مزمن مورفین در موش‌های سوری نر بالغ صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

مواد مورد استفاده در این پژوهش شامل، مورفین تهیه شده از شرکت تماد ایران، نالوکسان هیدروکلراید از شرکت سهامی تولید دارو، گل بابونه تهیه شده از شرکت گل داروی اصفهان، کیت‌های استخراج mRNA و DNA، کیت سنتز cDNA، کیت تهیه پروب، کیت تخلیص محصول PCR (تهیه شده از شرکت ROCHE)، مواد PCR، غشای نایلونی (شرکت ROCHE)، نیتروژن مایع.

روش ایجاد وابستگی و ترک

برای القای وابستگی و ایجاد اعتیاد به مورفین به مدت چهار روز و برای ده نوبت، حیوانات دوزهای افزاینده از مورفین را دریافت کردند. به این صورت که روز اول سه نوبت با دوز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، روز دوم سه نوبت با دوز ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و روز سوم هم سه نوبت با ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مورفین، به صورت زیرپوستی تیمار شدند. صبح روز چهارم یک دوز نهایی ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از مورفین را دریافت کردند. برای القای ترک مورفین، حیوانات سه ساعت پس از دریافت آخرین دوز مورفین، نالوکسان را با دوز ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی دریافت کردند (۱۵). دوزهای تزریقی مورفین با حل کردن آن در ۱۰ میلی‌لیتر سالین (برای هزار گرم) روزانه تهیه می‌شد و حجم تزریقی متناسب با وزن حیوان انتخاب و سپس تزریق انجام می‌شد.

روش عصاره‌گیری گل بابونه

برای تهیه عصاره هیدروالکلی بابونه (گونه ایرانی با نام علمی Matricaria recutita) از روش خیساندن استفاده شد (۱۶). ابتدا ۲۰گرم از پودر خرد شده گل بابونه با ۲۰۰ میلی‌لیتر الکل ۷۰درجه مخلوط و پس از ۴۸ ساعت (هر ۱۲ساعت یک‌بار بطری تکان داده شد) مخلوط مذکور دوبار به وسیله کاغذ صافی، صاف شد. برای جدا کردن حلال از دستگاه روتاری استفاده شد. مایع حاصل روی یک قطعه شیشه به صورت یک لایه نازک پهن شد.

پس از خشک شدن عصاره، از روی شیشه جمع‌آوری و در جای خشک و خنک نگهداری شد. میزان مورد استفاده پودر گل بابونه ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود. ۳۰ میلی‌گرم بابونه در ۱۰ میلی لیتر سالین (برای هزار گرم) حل و حجم تزریقی متناسب با وزن حیوان مورد استفاده قرار گرفت. زمان تزریق عصاره گل بابونه هم‌زمان با هر تزریق مورفین صورت گرفت.

حیوانات مورد بررسی

در این تحقیق از موش‌های سفید آزمایشگاهی کوچک (سوری) نر بالغ از نژاد ان ماری (NMRI) و با وزن ۲±۴۰ گرم استفاده شد. موش‌ها تحت شرایط کنترل شده (دمای ۲±۲۳ درجه سانتی‌گراد و سیکل‌های روشنایی و تاریکی ثابت) در قفس‌های مخصوص وگروه‌های تصادفی ۴تایی نگهداری شدند. این حیوانات از آب معمولی شهر و غذای فشرده آماده شرکت دام پارس تهران تغذیه شدند. کلیه آزمایش‌ها بر روی حیوانات مطابق با مجوز کمیته اخلاق دانشگاه شهید چمران انجام شد.

گروه‌بندی حیوانات

حیوانات به صورت تصادفی به پنج گروه چهارتایی برای بررسی رفتاری و پنج گروه چهارتایی برای بررسی مولکولی تقسیم شدند. ۱. گروه دریافت کننده مورفین+نالوکسان، ۲. گروه دریافت کننده مورفین+سالین، ۳. گروه دریافت کننده مورفین+عصاره مزمن بابونه+نالوکسان، ۴. گروه دریافت کننده مورفین+سالین+نالوکسان، ۵. گروه دریافت کننده سالین+نالوکسان

روش کار

استفاده مزمن عصاره بابونه بر رفتار پرش وبیان C-FOS مغز به هنگام قطع مصرف مزمن مورفین

در این حالت، حیوانات عصاره بابونه را با دوز ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی، هم‌زمان با تزریق مزمن مورفین (سه بار در روز) برای سه روز، دریافت کردند. روز آخر نیز حیوانات آخرین تزریق عصاره را همراه با مورفین و سه ساعت قبل از دریافت نالوکسان گرفتند (۸، ۱۰، ۱۷).در بررسی رفتاری تحقیق، حیوانات بلافاصله پس از دریافت نالوکسان در هر گروه و یا سالین در گروه شاهد، در استوانه شیشه‌ای گذاشته شدند و رفتار پرش به مدت نیم ساعت در آنها بررسی شد (۱۰). جهت بررسی مولکولی، موش‌ها در هر پنج گروه، ۹۰ دقیقه پس از دریافت نالوکسان و یا سالین در گروه شاهد،کشته و مغز آنها بلافاصله استخراج شد و بعد برای چند ثانیه در نیتروژن مایع قرار گرفته، بلا فاصله وزن شده و تا مرحله استخراج mRNA، برای نگهداری به دمای ۷۰-درجه سانتی‌گراد منتقل شدند (۱۸).نکته قابل ذکر اینکه برای مقابله با RNaseها که ازمقاوم‌ترین آنزیم‌ها هستند و تمامیت RNAها را در تمام مراحل استخراج و کار با آن تهدید می‌کنند، اقدامات احتیاطی قبل از کار با RNA انجام گرفت. تمام وسایل شیشه‌ای و پلاستیکی با محلول دپس (diethlpyrocarbonate: DEPC) ۰/۱درصد در آب پر شدند و پس از یک ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، به مدت ۱۵ دقیقه اتوکلاو شدند. سایر وسایل آزمایشگاهی که قابل اتوکلاو و یا شستشو با آب دپس نبودند، مثل سمپلرها، با الکل کاملا پاک شدند. تمام مراحل این تحقیق زیر هود وروی یخ انجام شد.

استخراج mRNA از بافت مغز و آنالیز کمی آن

در این مرحله استخراج mRNA از بافت مغز موش توسط کیت mRNA Isolation Kit from Roche انجام شد. در این کیت با استفاده از حضور دم پلی A در mRNA، از پروب الیگو

Archive of SID
www.SID.ir

۲۰-(dT) نشان‌دار با بیوتین وذرات مغناطیسی استراپتاویدین (streptavidin magnetic particle) برای جداسازی mRNA استفاده شد. استخراج دقیقا به ازای ۱۰۰ میلی‌گرم بافت مغز صورت گرفت. سپس با استفاده از تکنیک دات بلاتینگ میزان بیان c-fos مورد بررسی قرار گرفت. در این روش اسیدهای نوکلییک روی غشا نایلونی ثابت و پس از هیبرید با پروب مناسب، غلظت توالی هدف مورد نظر توسط دنسیتومتری تخمین زده شد. در دات بلات نمونه‌های اسید نوکلییک مستقیما روی غشا نایلونی منتقل شدند. OD(optic density) هر نمونه mRNA در طول موج ۲۶۰ نانومتر اندازه‌گیری (Gene quest) و به میزان مساوی ۱/۲ میکروگرم از هر نمونه mRNA روی نایلون تثبیت شد.

پس از ثابت شدن mRNAها بر روی غشا نایلونی باردار (Naylon Membrane Positively Charged from Roche) نایلون آماده مرحله دورگه سازی (Hybridization) می‌شود.

تهیه و نشان‌دار کردن پروب‌های c-FOS و بتا اکتین

برای تهیه پروب‌های ژن c-fos و بتااکتین، ابتدا پرایمرها توسط نرم‌افزار Primer 3 out و به کمک الگوی ترادف ژن‌های مذکور در بانک ژن MGI (MGI Accession ID: MGI:2656884) طراحی شد (جدول یک). برای تکثیر ژن بتا اکتین از نستد PCR(Nested polymerase chain reaction) استفاده شد. cDNAی سنتز شده از بافت مغز موش به عنوان الگوی نستد PCR به کار برده شد. واکنش مرحله اول نستد PCR با پرایمرهای بتا اکتین ۱ و واکنش مرحله دوم نستد PCR با بتا اکتین ۲ انجام گرفت (جدول یک). دمای اتصال پرایمرهای اکتین ۵۴ درجه سانتی‌گراد و تعداد سیکل‌ها ۳۵ عدد تعیین شد. از ژنوم استخراج شده بافت موش جهت نمونه (الگو) برای PCR ژن c-fos استفاده و در دمای اتصال پرایمرهای c-fos ۵۵ درجه سانتی‌گراد و در ۳۵ سیکل اعمال شد.

در مرحله بعد محصول PCR هر دو ژن، به کمک کیت (High Pure PCR Product Purification Kit from Roche) تخلیص شد. با استفاده از روش نشان‌دار کردن تصادفی (random primed labeling Technique) با دیگ اکسی‌ژنین ۱۱- dUTP (digoxigenin -11- dUTP)، محصول تخلیص شده PCR اکتین و c-fos با استفاده از کیت (Dig High Prime DNA Labeling and Detection Starter Kit from roche) نشان‌دار شد. ارزیابی محصول نشان‌دار برای تعیین غلظت مناسب پروب نشان‌دار شده با تهیه رقت‌های متفاوت و مقایسه آنها با نمونه نشان‌دار کنترل موجود در کیت انجام شد.

هیبریداسیون و شناسایی سیگنال‌های اختصاصی

در مرحله هیبریداسیون، غشای نایلونی آماده شده از مرحله دات بلات در محلول حاوی پروب c-fos در دمای ۶۱ درجه سانتی‌گراد به مدت شانزده ساعت قرار گرفت. سپس نایلون طی چند مرحله در بافرهایی که بر اساس دستورالعمل کیت (Dig High Prime DNA Labeling and Detection Starter Kit from Roche) پیشنهاد شده بود، شستشو داده شد. در مرحله آخر با استفاده ازآنتی دیگ اکسی‌ژنین (Anti -DIG Alkalin Phosphatase conjugate)، سیگنال‌ها ظاهر شدند. سپس با استفاده از نرم‌افزار ویژه (برنامه دنسیتومتری نرم افزار Zero Dscan) میزان بیان c-fos بررسی شد.

جدول شماره ۱: ترادف پرایمر های به کار برده شده جهت تکثیر ژن های منکور

نام پرایمر	پرایمر رفت Forward primer	پرایمر برگشت Reverse primer	طول محصول
C-FOS	5′GAC TTT TGC GCA GAT CTG TC 3′	5′TCT ACT TTG CCC CTT CTG CC 3′	250 bp
بتا اکتین ۱	5′GTG GGC CGC TCT AGG CAC CAA 3′	5′CTC TTT GAT GTC ACG CAC GAT TTC 3′	430 bp
بتا اکتین ۲	5′ GAC TCC TAT GTG GGT GAC GAG G 3′	GGA TCT TCA TGA GGT AGT CCG TCA 3′5′	300 bp

آنالیز آماری

داده‌های حاصل از دنسیتومتری، به کمک نرم افزار SPSS و آزمون‌های T و ANOVA مورد بررسی قرار گرفتند. سطح معنی‌داری در این حالات $p<0.05$ در نظر گرفته شد. آزمون Duncan نیز جهت تشخیص اختلاف بین گروه‌های مختلف مورد استفاده قرار گرفت.

یافته‌ها

بررسی اثر تزریق مزمن مورفین در موش های سوری بالغ نر

ستون اول و دوم نمودار یک تعداد پرش را در دو گروه دریافت کننده مورفین مزمن+ نالوکسان و گروه سالین+ نالوکسان را نشان می‌دهد. با مقایسه آماری فاکتور پرش در دو گروه فوق مشاهده می‌شود که استعمال دوزهای افزاینده مورفین طی چهار روز، پس از تزریق نالوکسان با دوز ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم باعث بروز قابل ملاحظه ی ($p<0.001$) این علامت ترک شده است.

اختلاف معنی‌دار بین این دو گروه نشان می‌دهد مصرف مزمن مورفین طی چهار روز باعث ایجاد وابستگی و بروز اعتیاد در موش‌ها شده است.

بررسی اثر تزریق مزمن عصاره بابونه بر علامت پرش ناشی از قطع مصرف مزمن مورفین در موش‌های سوری نر بالغ

بررسی ستون‌های سه و چهار در نمودار یک، نشان می‌دهد که رفتار پرش بین گروه‌های معتاد دریافت کننده عصاره بابونه به صورت مزمن با دوز ۳۰میلی‌گرم بر کیلوگرم و گروه شاهد آن که فقط مورفین + نالوکسان و یا مورفین+سالین+نالوکسان دریافت کرده بودند، تفاوت معنی‌داری ($p<0.05$) وجود دارد.

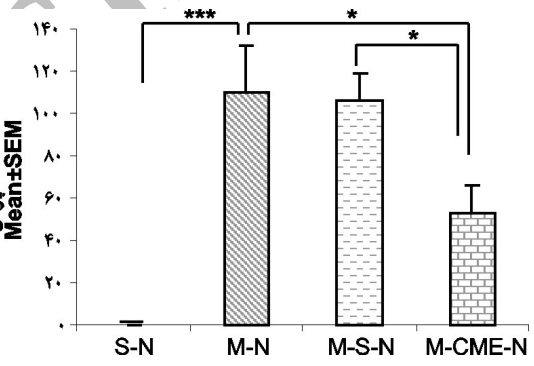
ضمنا اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های دریافت کننده مورفین+ نالوکسان و مورفین+ سالین+ نالوکسان مشاهده نشد (عدم تاثیر سالین).این نتایج نشان می‌دهد که تزریق مزمن این عصاره هم‌زمان با هر تزریق مورفین، باعث کاهش معنی‌دارعلامت پرش پس از قطع مصرف

Archive of SID
www.SID.ir

مورفین می‌گردد و این امر حاکی از اثر تسکینی عصاره بابونه بر این رفتار است.

بررسی نتایج حاصل از dot bloting

نتیجه حاصل از این روش در شکل یک نشان داده شده است. در این شکل نایلون dot bloting، کنترل مثبت با پروب تهیه شده با بتا اکتین، ستون شماره یک گروه مورفین+ سالین، شماره دو گروه مورفین+ نالوکسان، شماره ۳ گروه مورفین+ عصاره مزمن+ نالوکسان، شماره چهار گروه مورفین+ سالین+ نالوکسان، شماره ۵گروه سالین+ نالوکسان، کنترل منفی با پروب غیر تخصصی (برای تایید اتصال تخصصی پروب اصلی) از یک کنترل منفی نیز استفاده شد. یعنی از پروبی با منشای غیر موشی (با منشای ویروسی) استفاده شد که جایگاه مکمل آن در ژنوم موش وجود ندارد، در نتیجه همان طور که مشاهده می‌شود هیچ گونه سیگنالی ایجاد نشد.



نمودار۱: اثر قطع مصرف مزمن مورفین بر تعداد پرش در حضور و غیاب تجویز مزمن عصاره بابونه در موش‌های سوری نر بالغ، اختلاف معنی‌دار با $p<0.001$ و $p<0.05$ بین گروه‌های فوق وجود دارد.

S: Saline, N: Naloxone, M: Morphine, CME: Chronic Matricaria Extract

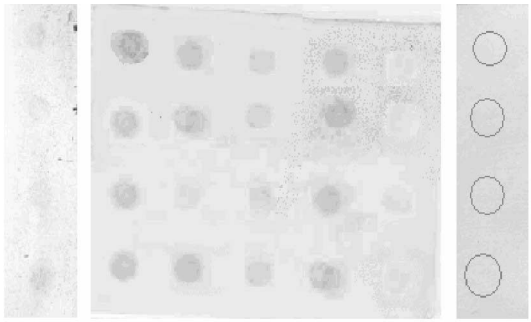
*****: p<0.001, *: p<0.05**

بررسی اثر تزریق نالوکسان بر میزان بیان C-FOS در موش‌های سوری نر بالغ وابسته به مورفین

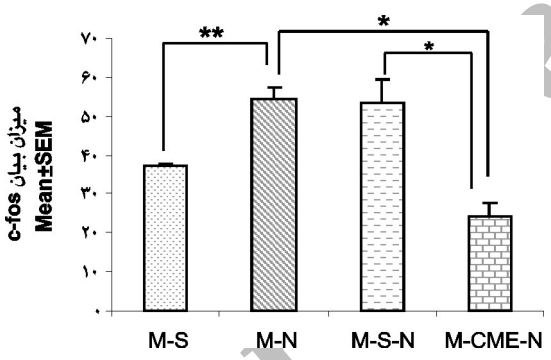
مقایسه میزان بیان c-fos بین گروه مورفین+ نالوکسان و گروه مورفین+ سالین در ستون‌های یک و دو نمودار دو، نشان می‌دهد که تفاوت معنی‌داری ($p<0.01$) بین گروه‌های فوق وجود دارد. این نتیجه بیان می‌کند که تزریق نالوکسان با دوز ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم، سه ساعت پس از آخرین تزریق مورفین، باعث افزایش میزان بیان c-fos مغز شده است. به عبارت دیگر وابستگی به مورفین با افزایش بیان c-fos در مغز همراه است.

بررسی اثر تزریق مزمن عصاره بابونه بر میزان بیان C-FOS در خلال قطع مصرف مزمن مورفین در موش‌های سوری نر بالغ

نتایج آماری بین ستون‌های سه و چهار در نمودار دو، نشان می‌دهد که میزان بیان c-fos، بین گروه معتاد دریافت کننده عصاره بابونه به صورت مزمن و با دوز ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و گروه شاهد آن که فقط مورفین+ نالوکسان و یا مورفین+ سالین+ نالوکسان دریافت کرده بودند، تفاوت معنی داری ($p<0.05$) وجود دارد. ضمنا اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های دریافت کننده مورفین+ نالوکسان و مورفین+ سالین+ نالوکسان مشاهده نشد (عدم تاثیر سالین). به عبارت دیگر تزریق مزمن عصاره بابونه همزمان با تزریق مورفین باعث کاهش بیان c-fos مغز پس از تزریق نالوکسان شده است. این امر حاکی از مقابله بابونه در سطح سلولی در برابر فاکتور سلولی حاصل از وابستگی به مورفین است.



شکل۱: نایلون dot bloting، کنترل مثبت با پروب تهیه شده با بتا اکتین، ستون شماره ۱ گروه مورفین+ سالین، شماره ۲ گروه مورفین+ نالوکسان، شماره ۳ گروه مورفین+ عصاره مزمن+ نالوکسان، شماره۴گروه مورفین+ سالین+ نالوکسان، شماره ۵ گروه سالین+ نالوکسان، کنترل منفی با پروب غیر تخصصی (برای تایید اتصال تخصصی پروب اصلی، از یک کنترل منفی نیز استفاده شد).



نمودار۲: اثر قطع مصرف مزمن مورفین بر میزان بیان c-fos مغز در حضور و غیاب تجویز مزمن عصاره بابونه در موش‌های سوری نر بالغ، اختلاف معنی‌دار با $p<0.01$ و $p<0.05$ بین گروه‌های فوق وجود دارد.

S: Saline, N: Naloxone, M: Morphine, CME: Chronic Matricaria Extract

*****: p<0.001, *: p <0.05**

بحث

نتایج این تحقیق نشان داد استفاده مزمن عصاره بابونه با دوز ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، همزمان با زمان وابستگی به مورفین باعث کاهش معنی‌دار رفتار پرش به هنگام قطع مصرف می‌گردد. یکی از علایم واضح سندرم ترک، تحریک‌پذیری عصبی است که می‌تواند منشای، برخی رفتارها و علایم قطع مصرف مواد مخدر به شمار آید. از طرفی گیاه بابونه در تحقیقات متعددی، اثر آرام‌بخشی و ضداضطرابی از خود نشان داده است که این مساله می‌تواند یکی از علل اثرات تسکینی این

www.SID.ir

عصاره بر بیان علایم ناشی از ترک مواد مخدر مانند مورفین باشد (۷، ۱۷).

تحقیقات متعدد نشان داده است که به دنبال ترک اوپیتی توسط آنتاگونیست‌های اپیوییدی مانند نالوکسان یا نالترکسان، بیان mRNAی c-fos، به طور قابل ملاحظه‌ای در بسیاری از مناطق مغز افزایش می‌یابد (۲، ۱۹) و این درحالی است که درحالت اعتیاد، در اکثر این مناطق، فقط میزان پایه از این ژن بیان می‌گردد (۲). از طرفی مطرح شده که بین پاسخ‌های رفتاری و بیان c-FOS در مغز، در رت‌های وابسته به مورفین ارتباط وجود دارد (۴، ۲۰).

نتایج تحقیق دیگری پیشنهاد کرد القای c-FOS یکی از ویژگی‌های ترک مورفین است که نقش مهمی در بروز علایم ترک ایفا می‌کند (۴، ۶). شاید بتوان گفت عواملی که باعث کاهش بیان c-FOS در خلال ترک می‌گردند می‌توانند به عنوان عوامل درمانی علایم ترک در نظر گرفته شوند. لذا کاهش بیان c-fos در خلال قطع مصرف مزمن مورفین، در اثر استفاده از عصاره بابونه در این تحقیق می‌تواند دلیلی برای کاهش علایم ترک باشد. همچنین طی بررسی‌های انجام شده روی عوامل مختلف از جمله مهار کننده‌های فسفودی استراز، آنتاگونیست گیرنده‌های AMPA (alpha amino – 3- hydroxy – 5- methyl –4- isoxazol propionic acid) و NMDA (N-methyl-D-aspartare) گلوماتات، مهارکننده‌های آنزیم نیتریک اکساید سنتاز و...، برعلایم ناشی از قطع مصرف مواد مخدر، نشان داده شده این عوامل باعث تضعیف یا مهار علایم ترک، کاهش وابستگی به مورفین و همچنین کاهش بیان c-fos در مناطق مختلف مغز، در خلال ترک می‌شوند (۴، ۶، ۲۱).

از آنجایی که برخی منابع برای بابونه و یا ترکیبات آن ویژگی مهار کنندگی فسفودی استرازی پیشنهاد کرده‌اند، احتمال می‌رود که این عصاره از این طریق باعث کاهش علایم ترک شده باشد. به طوری که با جلوگیری از افزایش cAMP در خلال ترک، باعث مهار فعالیت بیش از حد پروتیین کیناز A و در نتیجه کاهش فسفوریلاسیون CREB شود. با کاهش فسفوریلاسیون CREB، بیان ژن‌های هدف آن نیز (مانند c-fos) کاهش می‌یابد. در نتیجه جلوی بروز تحمل و ایجاد وابستگی را می‌گیرد و به این طریق علایم سندرم ترک را تضعیف می‌کند (۱۲، ۱۳).

در بررسی اثر برخی ترکیبات فلاونوییدی بابونه از جمله آپی‌ژنین بر تومور پوستی درموش‌های سوری، پیشنهاد شد که این ترکیب از طریق مهار پروتیین کیناز C، باعث سرکوب بیان پروتوانکوژن‌هایی مانند c-fos و c-jun می‌گردد و از این طریق پیشرفت این تومورها را سد می‌کند (۲۲). پس یکی دیگر از مکانیسم‌های احتمالی اثر عصاره بابونه بر بیان c-fos به هنگام قطع مصرف مورفین، می‌تواند از طریق مهار پروتیین کیناز C باشد.

نتیجه گیری

مجموعه بررسی‌های انجام گرفته روی عصاره بابونه و ترکیبات موجود در آن نشان دادند که این گیاه دارویی اثرات خود را از طریق اثر بر اجزای مختلف مکانیسم‌های درون سلولی اعمال می‌کند (۲۲، ۱۴-۱۰). نتایج این تحقیق نشان داد که عصاره بابونه به صورت مزمن باعث تغییر بیان فاکتور رونویسی c-fos می‌شود. چون بروز علایم ناشی از قطع مصرف مورفین هم‌زمان با افزیش بیان این فاکتور در بسیاری از مناطق مغز نشان داده شده (۲، ۱۹) و اثر مهاری عصاره بابونه بر علامت ترک (کاهش پرش)، با کاهش بیان این فاکتور همزمان است پس می‌توان پیشنهاد داد که بابونه می‌تواند یکی از عوامل موثر بر تنظیم بیان فاکتور c-fos باشد که در نتیجه، کاهش علایم ناشی از قطع مصرف مورفین را به همراه خواهد داشت. البته با شناخت دقیق‌تر اجزای مکانیسم‌های درون سلولی دخیل در روند اعتیاد، بهتر می‌توان در مورد مکانیسم عمل بابونه و محل اثرگذاری آن نظر داد. از این رو بررسی‌های هم‌زمان در مورد بیان فاکتور c-fos در مناطق مختلف مغزی که در روند اعتیاد و سندرم ترک دخیل هستند، حایز اهمیت خواهد بود.

References

1. Blendy JA, Maldondo R. Genetic analysis of drug addiction: the role of cAMP response element binding protein. J Mol Med 1998; 76, 104-110

2. Georges F, Stinus L Moine C. Mapping of c-fos gene expression in the brain during morphine dependence and precipitated withdrawal, and phenotypic identification of the striatal neurons involved. Eur J Neurosci 2000; 12, 4475-4486

3. Nestler EJ. Molecular basis of long-term plasticity underlying addiction. Nature Rev Neurosci 2001; 2, 119-128

4. Hamdy MM, Mamiya T, Noda Y, Sayed M, Assi A, Gomaa A, Yamada K, Nabeshima T. A selective phosphodiesterase IV inhibitor, rolipram blocks both withdrawal behavioral manifestation s, and C-fos protein expression in morphine dependent mice. Behav Br Res 2001; 118, 85-93

5. Harlan RE, Kailas SR, Tagoe CEF, Garcia MM. Morphine actions in the rat forebrain: role of protein kinase C . Br Res Bull 2004; 62, 285-295

6. Itoh A, Shiotani T, Nakayama S, Mamiya T, Hasegawa T, Noda Y, Nabeshima T. Attenuation of the development of morphine dependence/tolerance by nefiracetam: involvement of adenosine 3':5'-cyclic monophosphate system. Behav Br Res 2000; 115, 65-74

7. Nmecz G. Herbal pharmacy: chamomile,this widely

Archive of SID

www.SID.ir

available herb has diverse therapeutic uses, including antiphlogistic, sedative and antimicrobial effects. U.S. Pharmacist 2000; 23, 115-123

8. Honarvaran F, Kesmati M, Esmaeili ME, Jafari H, Jahani Hashemi H, Abasi E. Effect of Matricaria Chamomilla Extract on morphine withdrawal symptoms in male adult mice. 3rd National Congress on Addiction, 2005, 121

9. Capasso A, Piacente S, Pizza C, Sorrentino I: Flavonoids reduce morphine withdrawal in-vitro. J Pharm Pharmacol 1998; 50 (5): 561-4

10. Gomaa A, Hashem T, Mohamed M, Ashry E. Matricaria chamomilla extract inhibits both development of morphine dependence and expression of abstinence syndrome in Rats. J Pharmacol Sci 2003; 92, 50-55

11. Naidu PS, Singh A, Joshi D, Kulkarni SK: Possible mechanisms of action in quercetin reversal of morphine tolerance and dependence. Addict Biol 2003; 8 (3): 327-36

12. Kuppusamy UR, Das NP. Effects of flavonoids on cyclic AMP phosphodiasterase and lipid mobilization in rat adipocytes. Biochem Pharmacol 1992; 44(7): 1307-15

13. Revuelta MP, Hidalgo A, Cantabrana B. Involvment of cAMP and beta-adrenoceptors in the relaxing effect elicited by flavonoids on rat uterine smooth muscle. J Auton Pharmacol 1999; 19(6): 353-8

14. Kuo ML, Yang NC. Reversion of v-H-ras-transformed NIH 3T3 cells by apigenin through inhibiting mitogen activated protein kinase and its downstream oncogens Biochem Biophys Res Commun 1995; 26, 212

15. Kest B, Hopkins E. Morphine tolerance after chronic intracerebroventricular injection in male and female mice. Br Res 2001; 892, 208-210

16. Samsam Shariat SH. Extraction of effective component of herbal drug, recognizing and evaluating. Mani, First Edition, 1371, 12-19

17. Eizadi A. Study of anxiolytic effect of Matricaria recutita in two models of anxiety in male and female adult mice. M.Sc Thesis: Shahid Chamran University of Ahvaz. 1382

18. Martinez PJ, Laorden ML, Cerezo Martinez-Pinero MG, Milanes MV. Characterization of the signal transduction pathways mediating morphine withdrawal-stimulated C-fos expression in hypothalamic nucli. Eur J Pharmacol 2001; 430, 59-68

19. Bilecki W, Przewlocki R. Effect of opioids on ca2+/cAMP responsive element binding protein. Acata Neurobiol Exp 2000; 60, 557-567

20. Tolliver BK, Sganga MW, Sharp FR. Suppression of c-fos induction in the nucleus accumbens prevents acquisition but not expression of morphine-conditioned place preference. Eur J Neurosci 2000; 12(9): 399-406.

21. Harlan RE, Webber DS, Garcia MM. Involvement of nitric oxide in morphine-induced C-fos expression in the rat striatum. Br Res Bull 2001; 54, 207-212

22. Hung YT, Kuo ML, Liu JY, Hung SY, Lin JK. Inhibitions of protein kinase C and proto-oncogene expressions in NIH 3t3 cells by apigenin. Eur J Cancer 1996; 32, 146-151

Archive of SID

www.SID.ir