Original Article

Effect of Morphine-Sensitization in D2 Receptor Gene Expression in the Mice Brain in the Absence and Presence of Lithium Chloride

Hoda Mehregan, M.Sc.[1], Majid Sadeghizadeh, Ph.D.[1]*, Mohammad Reza Zarrindast, Ph.D.[2], Kayhan Azadmanesh, Ph.D.[3], Ali Jahanshahi, M.Sc.[4], Hadi Shirzad, M.Sc.[5], Mojtaba Saadati, Ph.D.[5]

1. Department of Genetics, Faculty of Biological Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
2. Department of Pharmacology, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
3. Department of Hepatitis and AIDS, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran
4. Department of Physiology, School of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
5. Biological Research Center, Imam Hossein Comprehensive University, Tehran, Iran

** Corresponding Address: P.O.Box: 175-14115, Department of Genetics, Faculty of Basic Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran*
Email: sadeghma@modares.ac.ir

Received: 22/Apr/2010, Accepted: 12/Sep/2010

Abstract

Objective: In this study we have investigated the changes in D2 receptor expression level in morphine-sensitized mice, in the absence and presence of lithium chloride (LiCl). The result would pave the way to comprehend and confront this complicated event.

Materials and Methods: Male NMRI mice, weighing 20-25g, were used in this study. They were divided into six groups. The first group received 0.9% saline as the control group and the other group was treated with morphine sulphate (30 mg/kg). LiCl (5 and 10 mg/kg treatments) was separately performed in two other groups. The final two groups were simultaneously treated with morphine sulphate (30 mg/kg) and LiCl (5 mg/kg) in one group and morphine sulphate (30 mg/kg) accompanied by LiCl (10 mg/kg) in the other group. All injections were performed intraperitoneally and once daily. After a five day wash-out, mice were decapitated and the brain regions which included the striatum, prefrontal cortex (PFC) and hippocampus were extracted. Using relative Real-Time polymerase chain reaction (PCR), the expression levels of the long (D2L) and short (D2S) isoforms of the D2 receptor were investigated.

Results: Morphine treatment leads to a significant increase ($p<0.0.5$) in D2S levels in the striatum and PFC but has no effect on D2L levels in the examined regions. In the group receiving LiCl 5mg/kg, the D2L levels showed a significant augmentation in PFC and the hippocampus ($p<0.05$) as well as the striatum ($p<0.001$). The D2S levels in the same group, significantly increased in the PFC ($p<0.05$) and striatum ($p<0.001$). LiCl at a dose of 10 mg/kg did not alter the expression of either isoforms in any region. While simultaneous administration of morphine and LiCl (10 mg/kg) resulted in a marked increase in D2S levels in the striatum ($p<0.001$) and PFC ($p<0.05$), morphine administration along with LiCl (5mg/kg) was ineffective on the expression levels of D2L and D2S isoforms when compared to the control group.

Conclusion: Morphine sensitization leads to an increase in D2S receptor expression and is affected by lithium in a dose-dependent manner where the lower dose inhibits and higher dose to enhances this effect. It is assumed that sensitization-induced changes in the transcript level are more regulated by dopamine transmission rather than by the direct effect of morphine and/or lithium on gene expression.

Keywords: Morphine Sensitization, D2 Receptor, Lithium Chloride, Real-Time PCR, Gene Expression

Yakhteh Medical Journal, Vol 12, No 3, Autumn 2010, Pages: 395-404

Archive of SID

www.SID.ir

تاثیر حساسیت به مورفین بر تغییرات بیان ژن گیرنده D2 دوپامین در مغز موش‌های سوری در نبود و حضور لیتیم کلراید

هدی مهرگان M.Sc.[1]، مجید صادقی‌زاده Ph.D.[1*]، محمدرضا زرین‌دست Ph.D.[2]، کیهان آزادمنش Ph.D.[3]، علی جهانشاهی M.Sc.[4]، هادی شیرزاد M.Sc.[5]، مجتبی سعادتی Ph.D.[5]

۱. دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم زیستی، گروه ژنتیک، تهران، ایران
۲. دانشگاه تهران، دانشکده علوم پزشکی، گروه فارماکولوژی، تهران، ایران
۳. انستیتو پاستور ایران، بخش هپاتیت و ایدز، تهران، ایران
۴. دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی، تهران، ایران
۵. دانشگاه امام حسین، گروه علوم زیستی، تهران، ایران

* آدرس نویسنده مسئول: ایران، تهران، صندوق پستی: ۱۴۱۱۵-۱۷۵، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم زیستی، گروه ژنتیک
پست الکترونیک: Email: sadeghma@modares.ac.ir

دریافت مقاله: ۸۹/۲/۲، پذیرش مقاله: ۸۹/۶/۲۱

چکیده

* **هدف:** بررسی تغییر بیان گیرنده D2 دوپامین در موش‌های حساس به مورفین در نبود و حضور لیتیم کلراید

* **مواد و روش‌ها:** در این طرح از موش‌های سوری نر (NMRI) با وزنی معادل ۲۵-۲۰ گرم که به طور تصادفی انتخاب شده بودند، استفاده شد. حیوانات به ۶گروه تقسیم شدند: گروه اول به عنوان گروه کنترل، سالین ۰/۹ درصد و گروه دیگر مورفین سولفات ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دریافت کردند. دو گروه دیگر، یکی به طور جداگانه با لیتیم‌کلراید ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم و دیگری با لیتیم ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تیمار شدند. دو گروه باقی‌مانده به طور هم‌زمان با مورفین‌سولفات ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و لیتیم کلراید ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم (در یک گروه) و مورفین ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و لیتیم‌کلراید ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (در گروه دیگر) تحت تیمار قرار گرفتند. تیمار در هر یک از گروه‌ها در ۳ روز متوالی به صورت داخل صفاقی و یک بار در روز انجام شد و پس از ۵ روز از آخرین تیمار، از هیپوکامپ، استریاتوم و کورتکس پر فرونتال (Prefrontal Cortex; PFC) نمونه‌برداری و بیان ایزوفرم کوتاه (D2 Short; D2S) و بلند (D2 Long; D2L) گیرنده توسط Real-Time PCR نسبی بررسی شد.

* **یافته‌ها:** تیمار با مورفین باعث افزایش معنی‌دار ($p<0/05$) رونوشت D2S در استریاتوم و PFC می‌شود ولی بر بیان D2L در هیچ یک از نواحی، تاثیر معنی‌داری ندارد. در گروه دریافت‌کننده لیتیم ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم، سطح بیان ژن D2L افزایش معنی‌دار را در نواحی هیپوکامپ و ($p<0/05$) PFC و هم‌چنین استریاتوم ($p<0/001$) نشان می‌دهد. سطح بیان D2S در همین گروه، با افزایش معنی‌دار در نواحی استریاتوم ($p<0/001$) و ($p<0/05$) PFC همراه است. در گروه تیمار شده با لیتیم ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، تغییر معنی‌دار در میزان بیان ژن هیچ یک از دو ایزوفرم مشاهده نمی‌شود. در حالی که تیمار هم‌زمان ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم با افزایش معنی‌دار رونوشت D2S در استریاتوم ($p<0/001$) و ($p<0/05$) PFC همراه است، تیمار هم‌زمان مورفین ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم لیتیم‌کلراید در مقایسه با گروه کنترل (سالین)، بر بیان ایزوفرم‌ها تاثیری ندارد.

* **نتیجه‌گیری:** حساسیت به مورفین با افزایش بیان D2S همراه است که در حضور دوز کمتری از لیتیم مهار و در حضور دوز بالاتر تقویت می‌شود. با توجه به این امر، تصور می‌شود که تغییر بیان گیرنده D2 در حضور مورفین یا همراه با لیتیم عمدتا متاثر از تغییر در انتقال دوپامین است تا اینکه به‌طور مستقیم توسط لیتیم و یا مورفین کنترل شود.

* **کلیدواژگان:** : حساسیت به مورفین، گیرنده D2 دوپامین، لیتیم کلراید، Real-Time PCR، بیان ژن

فصلنامه پزشکی یاخته، سال دوازدهم، شماره ۳، پاییز ۸۹، صفحات: ۴۰۴-۳۹۵

مقدمه

مصرف مداوم و متناوب داروهای اعتیادآور نظیر اپیات‌ها و محرک‌های روانی (Psycho Stimulant) باعث افزایش فعالیت‌های حرکتی (Locomotor Sensitization) می‌شود؛ این پدیده که از آن تحت عنوان "حساسیت رفتاری" (Behavioral semsitization) نام برده می‌شود، زمینه‌ساز جنبه‌های خاصی از اعتیاد است. تصور می‌شود که حساسیت رفتاری به‌علت تطابقات نورونی سیستم عصبی و ناشی از مصرف مداوم دارو است که آن را به‌تدریج و به احتمال برای همیشه به دارو حساس می‌کند (۱). پروسه ایجاد حساسیت رفتاری به سه مرحله: گسترش (Initation/Development Phase)، گذر (Transfer Phase) و بیان (Expression phase) تقسیم می‌شود؛ مصرف متناوب دارو مرحله گسترش، دوره متعاقب آخرین تزریق مرحله گذر و زمان طولانی پس از قطع مصرف مرحله بیان خوانده می‌شود. این سه مرحله از حساسیت، وقایع مجزایی هستند که با مکانیسم‌های متفاوتی در ارتباط هستند (۲). مطالعات نشان می‌دهد که دوپامین و گیرنده‌های آن به‌خصوص گیرنده های D1 و D2 در کسب و بیان این پدیده نقش مهمی دارند و تیمار با آنتاگونیست‌های این گیرنده ها باعث مهار آن می شود (۳-۵). در میان انبوه آزمایش‌های انجام شده، به منظور یافتن ماده‌ای جهت کاهش اثرات مختلف ناشی از مصرف مواد، لیتیم به علت تداخلی که با عملکرد مورفین نشان می‌دهد، از

Archive of SID
www.SID.ir

اهمیت ویژه‌ای برخوردار است و مطالعات حیوانی، آن را به عنوان دارویی که می‌تواند در درمان اعتیاد کارگشا باشد، پیشنهاد داده است (۶). لیتیم، علایم ناشی از ترک مصرف مورفین در موش‌های وابسته به آن را مهار می‌کند (۷)، خودتحریکی (Self-Stimulation) تسهیل شده توسط مورفین را کاهش می‌دهد (۸)، تسکین درد (Analgesia) القا شده توسط مورفین را دستخوش تغییر می‌سازد (۹، ۱۰) و بر بیش‌فعالی (Hyperactivity) القا شده توسط مورفین تاثیرمی‌گذارد (۱۱). مصرف لیتیم می‌تواند علایم ترک القا شده توسط نالوکسان در موش‌های صحرایی معتاد به مورفین را کاهش دهد (۱۲). برخی مطالعات بیوشیمیایی نیز نشان داده‌اند که لیتیم می‌تواند بیوسنتز و رهاسازی اپیوییدهای درون‌زاد را افزایش دهد و باعث کاهش تعداد نواحی اتصال اپیوییدها و اتصال آنتاگونیست‌های گیرنده اپیوییدی (۱۳) و افزایش بیان گیرنده‌های μ اپیوییدی در مغز موش صحرایی شود (۱۴). لیتیم هم‌چنین می‌تواند فعالیت آدنیلیل سیکلاز و سطح cAMP را – که هر دو طی مصرف نالوکسان و یا ترک سریع مصرف مورفین افزایش می‌یابند – کاهش دهد (۱۵). در حالی‌که مکانیسم دقیق عملکرد لیتیم به خوبی شناخته شده نیست اما مشاهدات، حاکی از آن است که تنظیم بیان ژن یکی از مکانیسم‌های بالقوه‌ای است که لیتیم از طریق آن اثرات درمانی خود را اعمال می‌کند. شواهد بسیاری حاکی ازآن است که لیتیم در دوزهای موثر درمانی، قادر به تنظیم بیان ژن‌های بسیاری در مغز انسان و مدل‌های کشت سلولی است (۱۶، ۱۷). بر طبق یک مطالعه، تیمار موش‌های صحرایی با لیتیم منجر به افزایش سطح رونوشت گیرنده D2 دوپامین در استریاتوم و هسته آکومبنس (Nucleus Accumbens; NAc) می‌شود (۱۸). مطالعات هم‌چنین نشان می‌دهد که مهار گلیکوژن سنتاز کیناز (Glycogen Synthase Kinase; GSK) در پاسخ به لیتیم، نقش مهمی در کاهش رفتارهای حرکتی افزایش‌یافته مرتبط با دوپامین در موش‌های فاقد انتقال دهنده دوپامین (Dopamine Transporter; DAT) و یا موش‌های تیپ وحشی تیمارشده با آمفتامین دارد و با بیش‌فعالی حرکتی وابسته به دوپامین مقابله می‌کند (۱۹).

گیرنده D2 دوپامینی (Dopamine Receptor D2; DRD2) اولین گیرنده دوپامینی است که شناخته شد و با ۲۰ برابر گرایش بیشتر به دوپامین، نسبت به سایر گیرنده‌ها از اهمیت بیشتری برخوردار است و فعالیت حرکتی را کنترل می‌کند (۲۰). مطالعات نشان می‌دهد که گیرنده‌های D2 نقش مستقیم و بسیار مهمی در تنظیم میزان دوپامین ناشی از مورفین و کوکایین دارند (۲۱). ژن این گیرنده حاوی ۸ اینترون است و پردازش متناوب (Alternative Splicing) از رونوشت آن دو ایزوفرم پروتئینی کوتاه (D2S) و بلند (D2L) تولید می‌کند که در ۸۷ جفت باز با یکدیگر تفاوت دارند (۲۲). فرم بلند D2 با ۴۴۴ اسیدآمینه، وزنی معادل ۵۰ کیلو دالتون دارد و بر روی غشای پس‌سیناپسی واقع است و برداشت دوپامین و باز کردن کانال‌های Ca^{+2} را تنظیم می‌کند؛ فرم کوتاه متشکل از ۴۱۵ اسیدآمینه، به‌صورت اتورسپتور عمل کرده و تنظیم فعالیت تیروزین هیدروکسیلاز را بر عهده دارد. این دو ایزوفرم به‌جز حضور ۲۹ اسیدآمینه در حلقه درون‌سلولی سوم فرم بلند، به طور کامل با یکدیگر مشابه هستند (۲۳).

با توجه به افزایش میزان دوپامین ناشی از حساسیت القا شده توسط مورفین و تاکید مطالعات متعدد بر اثرگذاری لیتیم بر سیستم دوپامینرژیک و نقش آن در جلوگیری از اثرات مختلف ناشی از مصرف مورفین، در این طرح بیان ژن گیرنده D2 ابتدا در حضور مورفین و سپس همراه با لیتیم در سه ناحیه از مغز موش سوری شامل هیپوکامپ، استریاتوم و کورتکس پر فرونتال (Prefrontal Cortex; PFC) بررسی می‌شود. نواحی مورد نظر از جمله مناطقی هستند که به عنوان بخشی از سیستم دوپامینی مغز ژن گیرنده دوپامینی، بیان و نقش آنها در موارد مختلفی نظیر افزایش فعالیت حرکتی پس از مصرف مواد، یادگیری و حافظه کوتاه مدت شناخته شده است. با توجه به موارد مذکور، تصور می شود که بیان ژن گیرنده D2 دوپامین در پاسخ به تغییرات حاصل از حساسیت القا شده توسط مورفین می‌تواند در سیستم دوپامینرژیک تغییر کند و لیتیم به صورت مستقیم و یا غیرمستقیم، با تاثیر بر بیان ژن مذکور و با تغییر الگوی بیانی آن در جلوگیری از ایجاد حساسیت نقش ایفا نماید.

مواد و روش‌ها

داروها

داروهای مورد استفاده در این مطالعه، شامل سولفات مورفین (تماد) و لیتیم کلراید Merk بوده که تمامی آنها پیش از آزمایش در سالین ۰/۹ درصد و در حجم نهایی ۱۰ میلی‌لیتر بر کیلوگرم حل شدند. تمامی تزریقات به‌صورت داخل‌صفاقی و به مدت ۳ روز انجام شد.

حیوانات

در این طرح از موش‌های سوری نر (NMRI) با وزنی معادل ۲۵–۲۰ گرم که به صورت تصادفی انتخاب شده بودند، استفاده شد. حیوانات از انستیتو پاستور ایران خریداری و در گروه‌های ۸تایی در قفس‌های جداگانه نگهداری شدند. درجه حرارت اتاق حیوانات ۲۴–۲۲ درجه سانتی‌گراد و میزان نور بر مبنای چرخه ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، مطابق با مصوبه کمیته اخلاق و پژوهش دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تهران تنظیم شد. حیوانات در تمام مدت نگهداری به استثنای زمان آزمایش، آب و غذای مخصوص در اختیار داشتند و تمامی مراحل کار طبق دستورالعمل نگهداری و کار با حیوانات آزمایشگاهی انجام شد.

حیوانات به ۶ گروه، هر یک شامل ۸ موش تقسیم شدند: گروه اول سالین ۰/۹ درصد، گروه دوم مورفین ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، گروه سوم لیتیم‌کلراید ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم، گروه چهارم لیتیم‌کلراید ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دریافت کردند. گروه پنجم به طور هم‌زمان و بلافاصله با مورفین ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و لیتیم‌کلراید ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم و گروه ششم نیز به طور هم‌زمان با مورفین ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و لیتیم‌کلراید ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مورد تیمار قرار گرفتند.

اندازه‌گیری فعالیت حرکتی (Locomotor Activity)

۵ روز پس از آخرین تیمار، گروهی از حیواناتی که به تنهایی مورفین ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دریافت کرده بودند، به طور تصادفی انتخاب شده و به منظور بررسی حساسیت ایجاد شده، مجدد تحت تیمار با دوز مشابهی از مورفین قرار گرفتند (۲۴). حیوانات پس از تیمار، در یک ستون استوانه‌ای قرار گرفتند که کف آن با دو خط متقاطع به ۴ قسمت تقسیم شده بود و هر بار گذر کامل از هر یک از ۴ خط به منزله یک بار حرکت در نظر گرفته شد. پس از گذشت ۱۰ دقیقه به منظور انطباق با محیط، شمارش حرکت حیوان آغاز و به مدت ۲۰ دقیقه ادامه یافت. یک گروه از حیوانات که قبل با سالین تیمار شده بودند نیز به عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شدند (۲۵).

استخراج RNA و ساخت cDNA

پس از ۵ روز از آخرین تیمار، نمونه‌برداری از نواحی مغزی مورد

Archive of SID
www.SID.ir

نظر شامل استریاتوم، هیپوکامپ و کورتکس پر فرونتال انجام شد. پیش از هر بار نمونه‌برداری، کلیه وسایل اتوکلاو و در حین کار نیز با الکل شعله‌ور شده سپس مورداستفاده قرار گرفت. پس از بیهوشی خفیف حیوان توسط CO_2، سر حیوان به سرعت قطع و پس از باز کردن پوست سر از ناحیه پشت، استخوان جمجمه شکسته و مغز حیوان خارج و به مدت ۳۰ ثانیه در محلول رینگر و بر روی یخ، قرار می‌گرفت تا بافت مغز برای نمونه‌برداری آماده شود. پس از این مرحله، مغز به‌سرعت برش داده شده و از ۳ ناحیه مغز شامل: استریاتوم، پری‌فرونتال کورتکس (PFC) و هیپوکامپ نمونه‌برداری صورت گرفت. نمونه‌ها پس از جداسازی از مغز، به‌سرعت در نیتروژن مایع قرار گرفته و تا زمان استخراج RNA در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. RNA کل با استفاده از محلول RNX (سیناژن)، استخراج شد. کمیت و کیفیت RNA استخراج شده با استفاده از ژل الکتروفورز و اسپکتروفتومتر ارزیابی شد. ۱ میکروگرم از RNA کل، جهت حذف آلودگی به DNA ژنومی با آنزیم DNase I (Fermentas) به مدت ۳۰ دقیقه در۳۷ درجه سانتی‌گراد تیمار و سپس برای تهیه cDNA با استفاده ازکیت ساخت cDNA (Fermentas) و الیگومرهای dT (Fermentas) به عنوان پرایمر، مورد استفاده قرار گرفت.

طراحی پرایمر

ژن کدکننده گیرنده دوپامین، حاوی ۸ اگزون است؛ از پردازش متناوب mRNA گیرنده دوپامین دو ایزوفرم بلند (D2L) و کوتاه (D2S) ایجاد می‌شود که فرم بلند دارای تمامی اگزون‌ها و فرم کوتاه فاقد اگزون ۵ است . با توجه به این امر، به‌جهت تکثیر افتراقی هر دو نوع گیرنده، از پرایمرهایی استفاده شد که از قبل به همین منظور طراحی شده و در بررسی بیان ژن در مغز موش‌های حساس به آمفتامین توسط گیوردانو و همکاران مورداستفاده قرار گرفته بود (۲۶). پرایمر Forward جهت تکثیر

D2L (5’ AACTGTACCCACCCTGAGGA 3')

به ناحیه‌ای درون اگزون ۵ و پرایمر

Forward D2S (5’CACCACTCAAGGATGCTGCCCG 3')

به ناحیه اتصال اگزون ۴ و ۶ متصل می‌شود؛ پرایمر

Reverse (5’ GTTGCTATGTAGACCGTG 3')

نیز که درون ناحیه‌ای در اگزون ۶ طراحی شده قابلیت اتصال به هر دو نوع گیرنده را داراست. β-actin نیز به‌عنوان کنترل داخلی، با توالی

(5’GAAATCGTGCGTGACATCAAAG 3')

برای پرایمر Forward و توالی

(5’ TGTAGTTTCATGGATGCCACAG 3')

برای پرایمر Reverse، مورد استفاده قرار گرفت.

تکثیر قطعه موردنظر

آزمایش‌های qPCR بر نمونه‌های موردنظر در دستگاه Corbet Rotorgene Research, Australia 65H0 و با استفاده از کیت Quantifast SYBRGreen PCR محصول شرکت کیاژن انجام شد. فعال‌سازی اولیه آنزیم به مدت ۵ دقیقه در ۹۵ درجه سانتی‌گراد، واسرشت‌سازی (Denatuartion) به مدت ۱۰ ثانیه در ۹۵ درجه سانتی‌گراد، اتصال / طویل‌سازی (Annealing/extension) به مدت ۳۰ ثانیه در ۶۰ درجه سانتی‌گراد انجام و برای ۴۰-۳۵ چرخه تکرار شد.

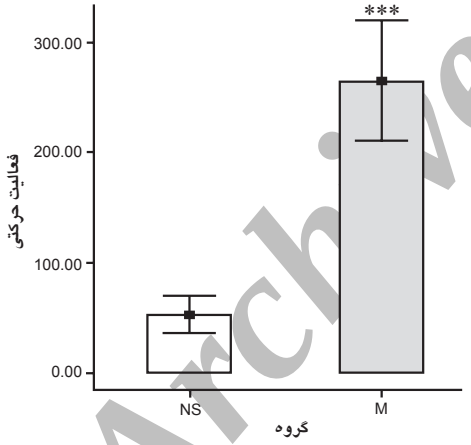
آنالیز بیان ژن

پس از بررسی منحنی ذوب محصولات و هضم آنزیمی محصولات تکثیر یافته به منظور حصول اطمینان از صحت عملکرد پرایمرهای طراحی‌شده، آزمایش بر نمونه‌ها انجام و بیان ژن در گروه‌های مورد آزمایش توسط تکنیک Real-time PCR نسبی (Relative Real-Time PCR)، محاسبه و با گروه کنترل (سالین) مقایسه شد. در هر آزمایش انجام‌شده، از دو نمونه کنترل مثبت و منفی جهت سهولت و دقت در تعیین Ct استفاده شد. داده‌های نهایی توسط نرم‌افزار SPSS 14 مورد بررسی قرار گرفت. به منظور بررسی بیان ژن، هر یک از گروه‌های دریافت کننده مورفین، لیتیم ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم و لیتیم ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ابتدا به طور جداگانه نسبت به گروه کنترل (سالین) مقایسه و تحلیل داده‌ها با استفاده از آزمون یک طرفه ANOVA و آزمون Tukey صورت گرفت. در مرحله بعد به منظور بررسی تداخل عملکرد لیتیم و مورفین از آزمون دوطرفه ANOVA و آزمون Tukey استفاده شد.

یافته ها

اندازه‌گیری فعالیت حرکتی

بررسی میزان فعالیت حرکتی در دو گروه آزمایشی، با استفاده از آزمون T (شکل ۱)، در گروهی که از قبل با مورفین تیمار شده بودند نسبت به گروه کنترل سالین، افزایش معنی‌دار (p<۰/۰۰۱) را نشان می‌دهد که این به معنای القای حساسیت است.



شکل ۱: افزیش فعالیت حرکتی ناشی از حساسیت به مورفین با استفاده از آزمون T. یک گروه از حیوانات (M) به مدت ۳ روز مورفین ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و گروه دیگر (NS) سالین دریافت کردند. پس از ۵ روز هر دو گروه با مورفین ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تیمار شدند و فعالیت حرکتی آن‌ها در ۲۰ دقیقه شمارش شد. * نشان دهنده (p<۰/۰۰۱) است. داده‌ها بر اساس میانگین ± خطای معیار میانگین (SEM) برای ۱۶ موش در هر گروه، نشان داده شده است.**

بررسی کارایی واکنش PCR و رسم منحنی استاندارد

به این منظور، رقت‌های متوالی ۱، ۱/۴ و ۱/۱۶ از مخلوط cDNA حاصل از هر سه ناحیه برای پرایمرهای گیرنده D2 دوپامین و رقت‌های متوالی ۱، ۱/۴ و ۱/۱۶ و ۱/۶۴ برای پرایمر β-actin به میزان ۴۰ سیکل تکثیر شدند و نمودار Ct در مقابل غلظت رسم و شیب نمودار جهت محاسبه بازدهی تکثیر (Amplification Efficiency) مورد استفاده قرار گرفت. رسم منحنی استاندارد نشان داد که هر دو فاکتور E و $R^{\wedge 2}$ برای ژن D2L برابر با ۰/۹۹ و

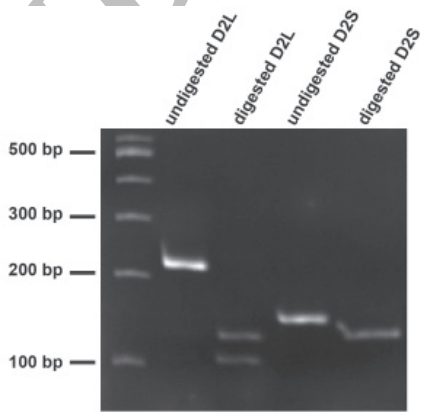
Archive of SID

www.SID.ir

برای ژن های D2S و β-actin به طور مشابه به ترتیب برابر با ۱ و ۰,۹۹ می باشد. جهت حصول اطمینان از تکثیر اختصاصی قطعات موردنظر و عدم حضور محصولات غیراختصاصی، در پایان کار بررسی منحنی ذوب از دمای ۶۰ تا ۹۵ درجه سانتیگراد برای هر سه نوع محصول تکثیر شده رسم شده و حضور تنها یک پیک، دال بر تکثیر اختصاصی قطعه مورد نظر بود.

تایید محصولات تکثیر یافته توسط هضم آنزیمی

پس از تکثیر رونوشت‌های D2L و D2S به منظور تایید صحت قطعات تکثیر یافته، از هضم آنزیمی محصولات PCR با آنزیم SacI استفاده شد. مکان شناسایی این آنزیم توالی GAGCT'C می‌باشد. هضم آنزیمی D2L با طول bp ۲۲۸، دو قطعه به طول ۱۲۶ و ۱۰۲جفت باز و هضم آنزیمی D2S با طول bp ۱۵۵ قطعاتی به طول ۱۱۶ و ۳۹ جفت باز ایجاد می کند (شکل ۲).



شکل ۲: نتایج هضم آنزیمی؛ محصول تکثیرشده D2L دو قطعه به طول‌های ۱۲۶ و ۱۰۲ جفت باز و محصول D2S قطعاتی به طول ۱۱۶ و ۳۹ جفت باز تولید می‌کند که قطعه دوم به علت کوچک بودن قابل مشاهده نیست.

بررسی بیان ژن D2L و D2S در حضور مورفین

بررسی نتایج در گروه‌های دریافت کننده مورفین نشان می‌دهد که سطح رونوشت D2L در هر سه ناحیه مورد بررسی (استریاتوم، هیپوکامپ و PFC) نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی‌دار ندارد، درحالی که سطح رونوشت D2S در نواحی استریاتوم و PFC با افزایش معنی‌دار ($p<0/05$) همراه است (شکل‌های ۵-۳).

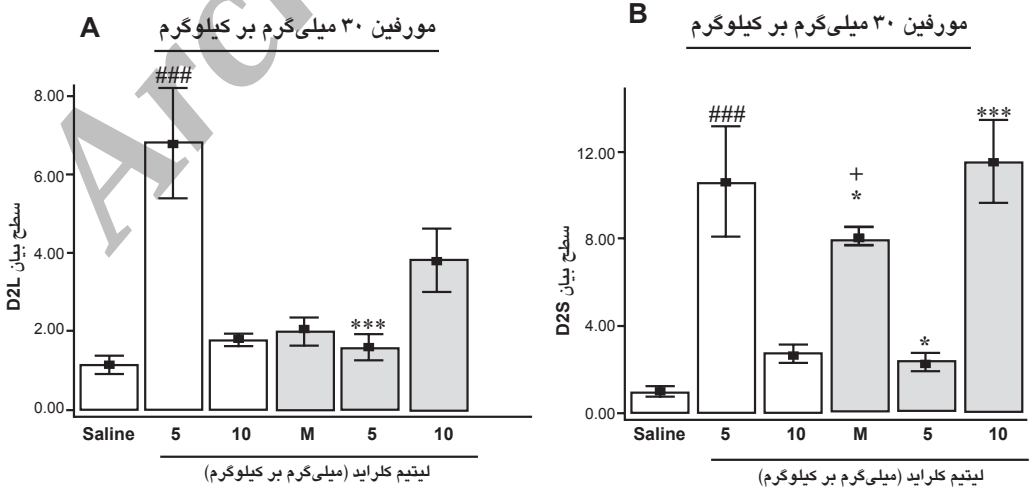
بررسی بیان ژن D2L و D2S در حضور لیتیم کلراید

میانگین سطح بیان ژن D2L افزایش معنی‌دار را میان گروه دریافت‌کننده لیتیم ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم و گروه کنترل در نواحی هیپوکامپ و ($p<0/05$) PFC و هم‌چنیناستریاتوم ($p<0/001$) نشان می‌دهد در حالی که در گروه‌های تیمار شده با لیتیم ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، اختلاف معنی‌دار در هیچ‌یک از نواحی مورد آزمایش مشاهده نمی‌شود (شکل‌های ۳A-۵A).

میانگین سطح بیان D2S در گروه تیمار شده با لیتیم کلراید ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم با گروه کنترل سالین (NS)، با افزایش معنی‌دار در نواحی استریاتوم ($p<0/001$) و ($p<0/05$) PFC همراه است. تغییر معنی‌دار در میزان بیان ژن D2S در گروه تیمار شده با لیتیم ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، نسبت به گروه کنترل (NS) مشاهده نمی‌شود (شکل‌های ۳B-۵B).

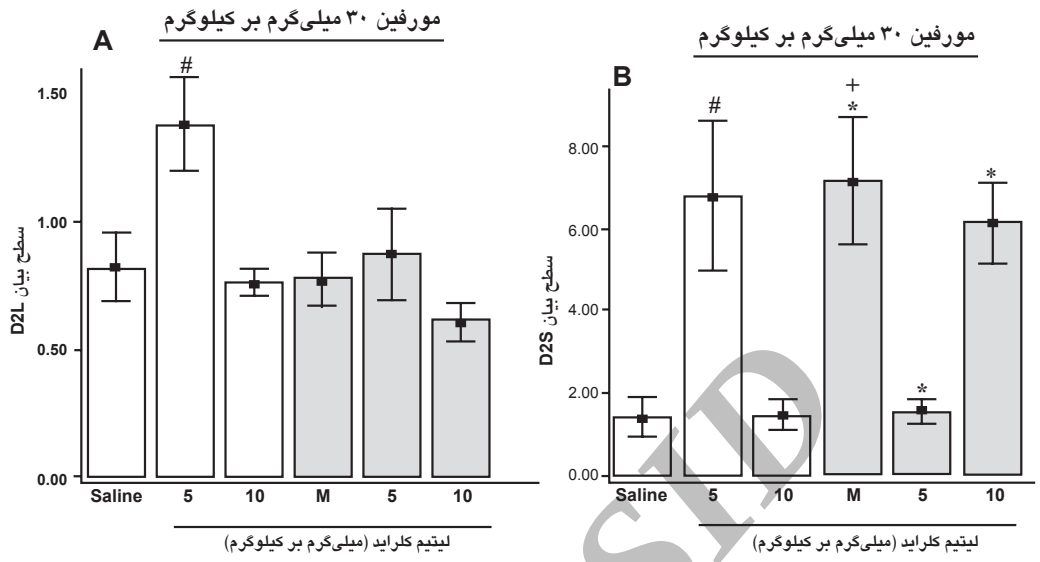
بررسی تداخل (Interaction) عملکرد لیتیم و مورفین

به‌منظور بررسی تداخل عملکرد لیتیم و مورفین بر بیان ژن گروه‌های کنترل (سالین)، لیتیم کلراید ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم و لیتیم‌کلراید ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در یک گروه و گروه‌های «مورفین»، «مورفین + لیتیم‌کلراید ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم» و «مورفین + لیتیم کلراید ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم» در گروه دوم قرار گرفتند.

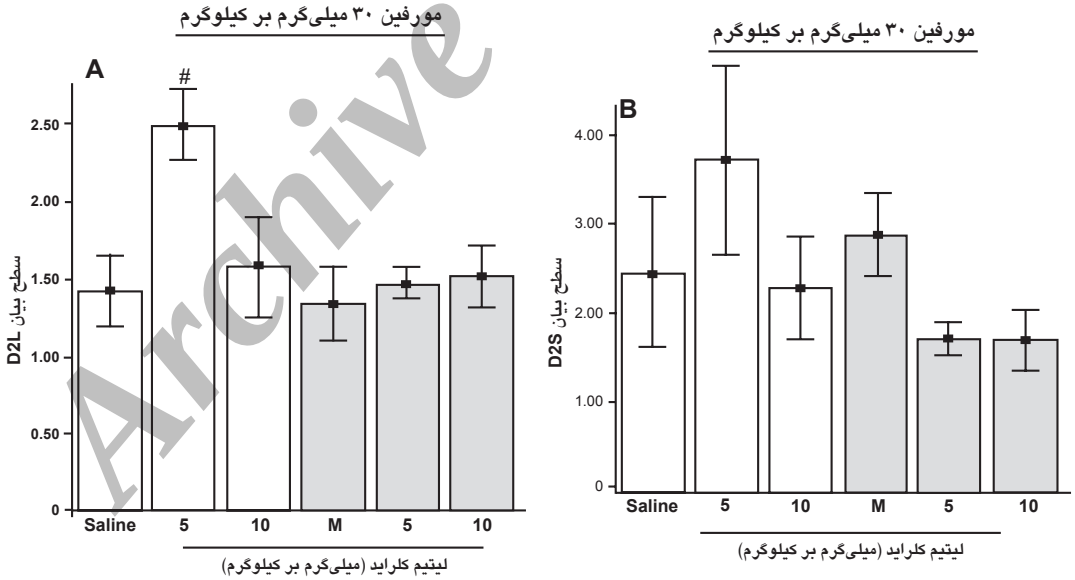


شکل ۳: در استریاتوم، مقایسه میانگین سطح بیان در گروه تیمار شده با مورفین (M) با گروه کنترل سالین برای D2S معنی‌دار ($p<0/05$*) است. مقایسه میانگین سطح بیان در گروه تیمار شده با لیتیم‌کلراید ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم (۵) با گروه کنترل سالین برای هر دو ایزوفرم. A) D2L و B) D2S معنی‌دار ($p<0/001$) ### است. بررسی تداخل عملکرد لیتیم و مورفین نیز برای هر دو ایزوفرم معنی‌دار است ($p<0/05$*، $p<0/001$*). داده‌ها بر اساس میانگین± خطای معیار میانگین (SEM) برای ۸ موش در هر گروه، بیان شده است.**

Archive of SID
www.SID.ir



شکل ۴: در پری فرونتال کورتکس (PFC)، مقایسه میانگین سطح بیان در گروه تیمار شده با مورفین (M) با گروه کنترل سالین برای D2S معنی‌دار (p<۰/۰۵+) است. در مقایسه گروه تیمار شده با لیتیم کلراید ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم (۵) با گروه کنترل سالین (NS) تغییر میانگین سطح بیان برای هر دو ایزوفرم D2L (A) و D2S (B) معنی‌دار (p<۰/۰۵) # است. بررسی تداخل عملکرد لیتیم و مورفین تنها برای ایزوفرم D2S معنی‌دار است (p<۰/۰۵*). داده‌ها بر اساس میانگین ± خطای معیار میانگین (SEM) برای ۸ موش در هر گروه، بیان شده است.



شکل ۵: در هیپوکامپ، مقایسه میانگین سطح بیان در گروه تیمار شده با مورفین (M) با گروه کنترل سالین برای هیچ یک از دو ایزوفرم معنی‌دار نیست تغییر میانگین سطح بیان پس از تیمار با لیتیم‌کلراید ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم (۵) در مقایسه با گروه کنترل سالین برای ایزوفرم D2L معنی‌دار (p<۰/۰۵#) است. تداخل عملکرد لیتیم و مورفین تغییر معنی‌داری در هیچ‌یک از گروه‌ها را نشان نمی‌دهد. داده‌ها بر اساس میانگین ± خطای معیار میانگین (SEM) ۸ موش در هر گروه، نشان داده شده است.

نتایج به دست آمده نشان داد که در استریاتوم، تیمار هم‌زمان مورفین و لیتیم به طرز معنی‌دار سبب کاهش سطح رونوشت ایزوفرم D2L (p <۰/۰۰۱) در گروه «مورفین + لیتیم کلراید ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم» در مقایسه با گروه لیتیم‌کلراید ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم می‌شود؛ تداخل عملکرد در این ناحیه معنی‌دار است [(p<۰/۰۰۱) F(۲ ،۴۲)=۱۵/۲] (شکل ۳A).

Archive of SID
www.SID.ir

در همین ناحیه، سطح رونوشت D2S در گروه «مورفین + لیتیم‌کلراید ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم «در مقایسه با گروه لیتیم‌کلراید ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم به طرز معنی‌دار کاهش یافته است؛ بیان D2S در گروه «مورفین + لیتیم کلراید ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم» در مقایسه با گروه لیتیم‌کلراید ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و هم‌چنین گروه مورفین نسبت به گروه سالین، با افزایش معنی‌دار همراه است؛ بنابراین تداخل عملکرد در این ناحیه نیز معنی‌دار است (شکل ۳B).

در ناحیه PFC سطح رونوشت D2L تغییر معنی‌دار در هیچ یک از گروه‌ها نشان داده نمی‌شود و تداخل عملکرد در این ناحیه معنی‌دار نیست [($p<۰/۰۵$) $F(۲، ۴۲)=۱/۷$] (شکل ۴A). در همین ناحیه، افزایش معنی‌دار سطح رونوشت D2S ($p<۰/۰۵$) در مقایسه گروه مورفین با گروه سالین و هم‌چنین گروه «مورفین + لیتیم‌کلراید ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم «با گروه لیتیم‌کلراید ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مشاهده می‌شود. بیان D2S در گروه «مورفین + لیتیم‌کلراید ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم» در مقایسه با گروه لیتیم‌کلراید ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم به طرز معنی‌دار ($p>۰/۰۵$) کاهش یافته است. بنابراین تداخل عملکرد هم‌زمان مورفین و لیتیم در این ناحیه و برای ژن مذکور معنی‌دار است [($p<۰/۰۵$) $F(۲، ۴۲)=۲۵/۳$] (شکل ۴B). سطح بیان ژن در هیپوکامپ، تغییر معنی‌دار در هیچ یک از گروه‌ها نشان نمی‌دهد؛ تداخل عملکرد در این ناحیه برای هیچ یک از دو ایزوفرم [D2L ($F(۲، ۴۵)=۳$ ($p<۰/۰۵$)) D2S ($F(۲، ۴۵)=۱/۹۴$ ($p<۰/۰۵$)] معنی‌دار نیست (شکل ۵).

بحث

در مطالعه حاضر، بیان گیرنده D2 دوپامین با استفاده از پرایمرهایی که به‌طور جداگانه هر دو ایزوفرم را شناسایی و تکثیر می‌کنند، بررسی شد. پردازش متناوب از پیش‌ساز mRNA این گیرنده، دو نوع ایزوفرم کوتاه (D2S) و بلند (D2L) تولید می‌کند که به جز حضور ۲۹ اسیدآمینه در حلقه سوم درون‌سلولی به طور کامل با یکدیگر مشابه هستند (۲۲). هر دو ایزوفرم از طریق اتصال به G پروتئین‌های حساس به سم پرتوسیس (Pertussis Toxin-Sensitive G Proteins) که باعث کاهش فعالیت آدنیلات سیکلاز می‌شود عمل می‌کنند. مطالعات نشان می‌دهد که گیرنده‌های D2L و D2S به پروتئین‌های Gi متفاوتی متصل می‌شوند که به احتمال به‌دلیل تفاوت ساختاری آن‌هاست (۲۳).

در مرحله اول کار، بیان گیرنده‌ها در حضور مورفین بررسی شد. مطالعه ما نشان داد که بیان D2L در هر سه ناحیه مورد بررسی (استریاتوم، PFC و هیپوکامپ) نسبت به گروه کنترل تغییر معنی‌دار ندارد در حالی‌که بیان D2S در دو ناحیه استریاتوم و PFC به طور معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) با افزایش همراه است. مطالعه فرانسوا و همکاران نشان می‌دهد که که گیرنده‌های D2 نقش مستقیم و بسیار مهمی در تنظیم میزان دوپامین ناشی از مورفین و کوکایین دارد. طی بررسی بر روی موش‌های knock-out برای D2L نشان داده شد که این گیرنده نقشی در کنترل میزان دوپامین ندارد. یافته‌های این مطالعه حاکی از آن است که اتوگیرنده D2S - که توسط دوپامین خارج سلولی فعال می‌شود - با مهار سنتز و رهاسازی دوپامین نقش اصلی در این تنظیم بر عهده دارد (۲۱). پیش از این نیز اسپنگل و همکاران (۲۷) و نستبای و همکاران (۲۸) طی یک بررسی نشان دادند که حساسیت به داروهای اپیوییدی با افزایش حساسیت انتهای پیش‌سیناپسی دوپامین در آکومبنس همراه است. اگرچه تصور عموم بر آن است که تطابقات نورونی حاصل از مصرف مکرر دارو منجر به بیان حساسیت رفتاری می‌شود، اما توجه به این نکته ضروری است که برخی از تاثیرات ناشی از دارو به طور مستقیم واسطه بیان حساسیت نیست بلکه برخی تغییرات ممکن است بر روی حساسیت بی‌اثر بوده و برخی دیگر نتیجه پاسخی جبرانی در راستای کاهش حساسیت داشته باشند (۲۹). با توجه به این یافته‌ها به نظر می‌رسد که افزایش سطح رونوشت اتوگیرنده D2S در استریاتوم و PFC یک پاسخ جبرانی در برابر افزایش میزان دوپامین ناشی از حساسیت به مورفین بوده باشد.

گیرنده‌های دوپامین، همانند سایر پروتئین‌های (GPCR) G-protein Coupled Receptor در معرض مکانیسم‌های تنظیمی متعددی هستند که می‌تواند به‌طور مثبت یا منفی بیان و فعالیت آن‌ها را تنظیم کند. مطالعه بر روی گیرنده D2 نشان داده است که تنظیم این گیرنده به‌شدت وابسته به فعال‌سازی آن توسط آگونیست است و می‌تواند به نتایج متفاوتی نظیر: از بین رفتن حساسیت (Desensitization) عملکردی ، درونی شدن (Internaliza-tion) گیرنده، تنظیم کاهشی (Down Regulation) یا افزایشی (Up Regulation) منجر شود (۳۰).

پروتئین کیناز C (PKC) یک آنزیم تنظیمی کلیدی است که عملکرد نورون‌های پیش و پس‌سیناپسی، رهاسازی نوروترنسمیتر و تنظیم گیرنده را وساطت می‌کند. مطالعات متعددی نشان می‌دهد که PKCهای مختلفی در CNS، در بسیاری از پاسخ‌های تطابق عصبی (Neuroadaptation) به مورفین دخیل هستند (۳۱). نتایج یک بررسی نشان می‌دهد که PKC فعال‌شده توسط پیامبر ثانویه، گیرنده D2 را در چندین ناحیه درون ۲ دامین از سومین حلقه درون‌سلولی فسفریله می‌کند و این عمل منجر به از بین رفتن حساسیت و درونی شدن گیرنده توسط β- ارستین (β-Arrestin) می‌شود. نتیجه یک مطالعه نیز نشان می‌دهد که میزان PKC فسفریله شده در پی حساسیت به مورفین در لیمبیک مغز جلویی (Limbic Forebrain) افزایش می‌یابد (۳۲). بنابراین به‌نظر می‌رسد که پاسخ گیرنده پس‌سیناپسی D2L به افزایش دوپامین ناشی از حساسیت به مورفین، به صورت تغییرات عملکردی و انتقال گیرنده است تا اینکه با تغییر در سطح بیان ژن همراه باشد.

در مرحله دوم کار، بیان ژن در حضور مورفین به‌همراه دو دوز متفاوت از لیتیم کلراید بررسی شد. اما پیش از آن، نحوه عملکرد لیتیم بر بیان ژن در دو گروه کنترل که لیتیم کلراید را به تنهایی دریافت کرده بودند، مورد مطالعه قرار گرفت، مطالعه ما نشان داد که تیمار ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم با افزایش میزان رونوشت هر دو نوع ایزوفرم در هر سه ناحیه همراه است که این تغییر در مورد D2L در تمام نواحی مورد مطالعه و در مورد D2S در نواحی استریاتوم و PFC معنی‌دار است ($p<۰/۰۵$). این نتیجه مطابق با یافته‌های وسی‌لوسکا - زیدزیکا و ودزونی (۱۸) و کامدا و همکاران (۳۳) است که نشان دادند بیان گیرنده دوپامین در اثر تیمار با لیتیم افزایش می‌یابد.

ناحیه پروموتوری گیرنده D2 دارای یک توالی حفاظت شده برای اتصال (Activatior protein a; AP-a) است (۳۴). مطالعات صورت گرفته بر روی لیتیم و عملکرد ملکولی آن نشان می‌دهد که تیمار با

Archive of SID
www.SID.ir

لیتیم منجر به افزایش بیان و یا فعالیت بسیاری از فاکتورهای رونویسی، از جمله AP-1 می‌شود (۳۵، ۳۶). امروزه مشخص شده است که فسفریلاسیون و دفسفریلاسیون فاکتورهای رونویسی در سلول‌های یوکاریوتی، نقش مهمی در راه‌اندازی بیان ژن دارد. بر طبق یک مطالعه انجام شده، فعالیت تنظیمی گیرنده D2 توسط AP-1، ناشی از فسفریلاسیون در نواحی متفاوت c-jun است که برخی از این نواحی سوبسترای آنزیم GSK-3 است (۳۷). مطالعات نشان می‌دهد که لیتیم با مهار GSK-3، باعث افزایش فعالیت اتصال این فاکتور به DNA می‌شود (۱۶).

در گروه دیگر، بیان ژن پس از تیمار با لیتیم‌کلراید ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بررسی شد. نتایج حاکی از آن است که تیمار صورت گرفته، اثری بر بیان ژن هیچ یک از دو ایزوفرم نداشت، به نظر می‌رسد افزایش دوز با تاثیری متفاوت، و یا فعال کردن مسیری جبرانی، با مهار عمل لیتیم در افزایش بیان ژن گیرنده D2 دوپامینی همراه است. مطالعات نشان می‌دهد که تیمار مزمن با لیتیم منجر به کاهش فعالیت اتصال AP-1 می‌شود؛ این عمل دوگانه لیتیم منجر به فرضیه‌ای شده است که بیان می‌دارد لیتیم قادر است توازن میان تنظیم‌کننده‌های منفی و مثبت بیان ژن را برقرار کند و از این طریق پایداری و بقای عملکرد آن‌ها را به صورت بهینه تنظیم نماید (۳۸).

در مرحله سوم کار، بیان ژن در حضور مورفین به همراه لیتیم بررسی شد. به منظور بررسی تداخل لیتیم در عملکرد مورفین از آزمون دوطرفه ANOVA استفاده شد. نتایج به دست آمده حاکی از آن است که در استریاتوم سطح رونوشت D2L در تیمار هم‌زمان لیتیم ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم و مورفین با کاهش معنی‌دار نسبت به تیمار صرف با لیتیم همراه است و سطح رونوشت حاصل، نسبت به گروه کنترل سالین بدون تغییر باقی می‌ماند این امر در حالی است که تیمار جداگانه با لیتیم و مورفین با افزایش معنی‌دار همراه است. مشابه همین قضیه در مورد D2S نیز مصداق دارد. سطح رونوشت D2S در تیمار هم‌زمان لیتیم ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم و مورفین با کاهش معنی‌دار نسبت به تیمار لیتیم بدون مورفین همراه است. عکس قضیه در مورد لیتیم ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مشاهده می‌شود؛ در حالی که تیمار با لیتیم به تنهایی اثری بر بیان ژن ندارد ولی در حضور مورفین سطح رونوشت ژن با افزایش معنی‌دار همراه است. آنالیز آماری نیز نشان می‌دهد که تداخل عمل لیتیم و مورفین در استریاتوم بر بیان ژن هر دو ایزوفرم معنی‌دار است. در PFC، میزان بیان D2L تغییر معنی‌دار را نشان نمی‌دهد ولی سطح رونوشت D2S مشابه با آن‌چه که در استریاتوم اتفاق می‌افتد، دچار تغییر می‌شود و آنالیز آماری تداخل را معنی‌دار نشان می‌دهد. در هیپوکامپ تداخل عمل در هیچ یک از دو ایزوفرم مشاهده نمی‌شود. با توجه به نتایج فوق، تصور می‌شود که در کل تغییر در سطح رونوشت گیرنده D2 در حضور مورفین به تنهایی و یا به‌همراه لیتیم متاثر از تغییر در انتقال دوپامین است تا اینکه به‌طور مستقیم توسط لیتیم و یا مورفین کنترل شود. مطالعه انجام‌شده توسط وسی‌لوسکا-زیدزیکا (۳۹) حاکی از آن است که تیمار با لیتیم سبب کاهش انتقال دوپامین در سیستم دوپامینرژیک می‌شود. چنانچه این امر در مورد تیمار انجام‌شده صادق باشد، به‌نظر می‌رسد که لیتیم در دوز پایین تر به‌شیوه‌ای مشابه، با افزایش دوپامین ناشی از حساسیت به مورفین مقابله کرده و میزان بیان ژن اتوگیرنده D2S دچار تغییر نمی‌شود؛ این امر در حالی است که تیمار با لیتیم‌کلراید ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بدون تاثیر بر میزان انتقال دوپامینی، به مورفین اجازه عمل می‌دهد و با پاسخ جبرانی مغز (افزایش میزان اتوگیرنده) مواجه می‌شود.

در کل، نتایج حاصل از این طرح نشان می‌دهد که حساسیت القا شده توسط مورفین، با افزایش در سطح رونوشت ایزوفرم D2S در نواحی استریاتوم و PFC همراه است و این افزایش در حضور دوز کمتری از لیتیم (۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) مهار و در حضور دوز بالاتر آن (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) تقویت می‌شود.

عدم مشاهده تغییر سطح رونوشت در ناحیه هیپوکامپ، شاید به دلیل درگیر بودن سایر میانجی‌های عصبی و گیرنده‌ها در این ناحیه باشد. در هر صورت، با توجه به پیچیده بودن نوروبیولوژی مغز و مکانیسم‌های نورونی درگیر در پدیده اعتیاد و اطلاعات اندکی که در رابطه با حساسیت به مورفین در سطح ملکولی در دسترس است که آن هم بیشتر بر نواحی مزولیمبیک (شامل VTA و NAc) متمرکز است، اعلام نظر قطعی در مورد چگونگی رخدادهای واقع شده بسیار دشوار است و به تحقیقات حساب شده و بی‌شماری در این زمینه نیازمند است.

از جمله سایر تحقیقات تکمیلی در این زمینه می‌توان به بررسی گیرنده D2L و D2S در سطح پروتئین نظیر وسترن بلات، بررسی تغییرات احتمالی اعمال شده ناشی از حساسیت به مورفین در سایر گیرنده‌های دوپامینی، بررسی انتقال دوپامین در نواحی بررسی شده به منظور تایید و یا رد فرضیه داده شده، بررسی سطح پروتئین GRK و یا سایر هدف‌های مهم فرودست گیرنده دوپامین، بررسی سایر تنظیم کننده‌های سطح دوپامین سیناپسی نظیر DAT، TH و غیره و در نهایت بررسی میزان گرایش و فعالیت گیرنده دوپامین به لیگاند در حضور لیتیم کلراید، اشاره کرد.

نتیجه‌گیری

در حال حاضر، تحقیقات زیست‌شناسی سلولی و ملکولی با گسترش دامنه اطلاعات راجع به ریشه‌یابی و نوروبیولوژی پدیده اعتیاد و کشف راهکارهای جدید درمانی، می‌تواند در کاهش این معضل اجتماعی نقش چشم‌گیری ایفا نماید. این سطح از بررسی‌ها می‌تواند دیدگاهی جامع از تاثیرات ژنتیکی، اهداف بیولوژیکی داروها و آن دسته از مسیرهای انتقال پیام که منجر به راه‌اندازی فرایندهای انطباق نورونی و به تعاقب آن پیامدهایی، نظیر استفاده غیر قابل کنترل از مواد، ترک، وسوسه مصرف و برگشت می‌شوند، فراهم آورد.

تقدیر و تشکر

با تشکر از ستاد مبارزه با مواد مخدر که با حمایت مالی از این طرح، ما را در انجام آن یاری رساندند.

References

1. Robinson TE, Berridge KC. The neural basis of drug craving: an incentive-sensitization theory of addiction. Brain Res Brain Res Rev. 1993; 18(3): 247-291.
2. Richtand NM. Behavioral sensitization, alternative splicing, and d3 dopamine receptor-mediated inhibitory function. Neuropsychopharmacology. 2006; 31(11): 2368-2375.
3. Kuribara H. Modification of morphine sensitization by opioid and dopamine receptor antagonists: evaluation

Archive of SID
www.SID.ir

by studying ambulation in mice. Eur J Pharmacol. 1995; 275(3): 251-258.
4. Serrano A, Aguilar MA, Manzanedo C, Rodríguez-Arias M, Miñarro J. Effects of DA D1 and D2 antagonists on the sensitisation to the motor effects of morphine in mice. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry 2002; 26(7-8): 1263-1271.
5. Jeziorski M, White FJ. Dopamine receptor antagonists prevent expression, but not development, of morphine sensitization. Eur J Pharmacol 1995; 275(3): 235-244.
6. Abrahamson JR. Use of lithium to control drug abuse. Am J Psychiatry. 1983; 140(9): 1256.
7. Dehpour AR, Farsam H, Azizabadi-Farahani M. Inhibition of the morphine withdrawal syndrome and the development of physical dependence by lithium in mice. Neuropharmacology. 1995; 34(1): 115-121.
8. Liebman JM, Segal DS. Lithium differentially antagonises self-stimulation facilitated by morphine and (+)-amphetamine. Nature, 1976; 260(5547): 161-163.
9. Dehpour AR, Farsam H, Azizabadi-Farahani M. The effect of lithium on morphine-induced analgesia in mice. Gen Pharmacol. 1994; 25(8): 1635-1641.
10. Johnston IN, Westbrook RF. Inhibition of morphine analgesia by lithium: role of peripheral and central opioid receptors. Behav Brain Res. 2004; 151(1-2): 151-158.
11. Carroll BJ, Sharp PT. Rubidium and lithium: opposite effects on amine-mediated excitement. Science. 1971; 172(990): 1355-1357.
12. You ZD, Li JH, Song CY, Lu CL, He C. Oxytocin mediates the inhibitory action of acute lithium on the morphine dependence in rats. Neurosci Res. 2001; 41(2): 143-150.
13. O'Donnell KC, Gould TD. The behavioral actions of lithium in rodent models: leads to develop novel therapeutics. Neurosci Biobehav Rev. 2007; 31(6): 932-962.
14. de Gandarias JM, Acebes I, Echevarría E, Vegas L, Abecia LC, Casis L. Lithium alters mu-opioid receptor expression in the rat brain. Neurosci Lett. 2000. 279(1): 9-12.
15. Sharma SK, Klee WA, Nirenberg M. Dual regulation of adenylate cyclase accounts for narcotic dependence and tolerance. Proc Natl Acad Sci USA. 1975; 72(8): 3092-3096.
16. Ikonomov OC, Manji HK. Molecular mechanisms underlying mood stabilization in manic-depressive illness: the phenotype challenge. Am J Psychiatry. 1999; 156(10): 1506-1514.
17. Li PP. Transcriptional mechanisms of lithium action: therapeutic implications. Clinical Neuroscience Research. 2004; 4: 271-280.
18. Dziedzicka-Wasylewska M, Wedzony K. The effect of prolonged administration of lithium on the level of dopamine D2 receptor mRNA in the rat striatum and nucleus accumbens. Acta Neurobiol Exp (Wars). 1996; 56(1): 29-34.
19. Bozzi, Y, Borrelli E. Dopamine in neurotoxicity and neuroprotection: what do D2 receptors have to do with it? Trends Neurosci. 2006; 29(3): 167-174.
20. Rani M, Kanungo MS. Expression of D2 dopamine receptor in the mouse brain. Biochem Biophys Res Commun. 2006; 344(3): 981-986.
21. Rouge-Pont F, Usiello A, Benoit-Marand M, Gonon F, Piazza PV, Borrelli E. Changes in extracellular dopamine induced by morphine and cocaine: crucial control by D2 receptors. J Neurosci. 2002; 22(8): 3293-3301.
22. Monsma FJ Jr, McVittie LD, Gerfen CR, Mahan LC, Sibley DR. Multiple D2 dopamine receptors produced by alternative RNA splicing. Nature. 1989; 342(6252): 926-929.
23. Lindgren N, Usiello A, Goiny M, Haycock J, Erbs E, Greengard P, et al. Distinct roles of dopamine D2L and D2S receptor isoforms in the regulation of protein phosphorylation at presynaptic and postsynaptic sites. Proc Natl Acad Sci USA. 2003; 100(7): 4305-4309.
24. Zarrindast MR, Fazli-Tabaei S, Ahmadi S, Yahyavi SH. Effect of lithium on morphine state dependent memory of passive avoidance in mice. J Physio Behav. 2006; 87: 409-415.
25. Sahraei H, Faghih-Monzavi Z, Fatemi SM, Pashaei-Rad S, Salimi SH, Kamalinejad M. Effect of papaver rhoeas Extract on the acquisition and expression of morphine-induced behavioral sensitization in mice. Phytother Res. 2006; 20: 737-741.
26. Giordano TP 3rd, Satpute SS, Striessnig J, Kosofsky BE, Rajadhyaksha AM. Up-regulation of dopamine D(2) L mRNA levels in the ventral tegmental area and dorsal striatum of amphetamine-sensitized C57BL/6 mice: role of Ca(v)1.3 L-type Ca(2+) channels. J Neurochem. 2006; 99(4): 1197-1206.
27. Spanagel R, Almeida OF, Shippenberg TS. Long lasting changes in morphine-induced mesolimbic dopamine release after chronic morphine exposure. Synapse. 1993; 14(3): 243-245.
28. Nestby P, Vanderschuren LJ, De Vries TJ, Hogenboom F, Wardeh G, Mulder AH, et al. Ethanol, like psychostimulants and morphine, causes long-lasting hyperreactivity of dopamine and acetylcholine neurons of rat nucleus accumbens: possible role in behavioural sensitization. Psychopharmacology (Berl). 1997; 133(1): 69-76.
29. Vanderschuren LJ, Kalivas PW. Alterations in dopaminergic and glutamatergic transmission in the induction and expression of behavioral sensitization: a critical review of preclinical studies. Psychopharmacology (Berl). 2000; 151(2-3): 99-120.
30. Sibley DR, Neve KA. The Dopamine Receptors. In: Neve KA, Neve RL (eds). Totowa, NJ, US: Humana Press Inc; 1997; 383-424.
31. Namkung Y, Sibley DR. Protein kinase C mediates phosphorylation, desensitization, and trafficking of the D2 dopamine receptor. J Biol Chem. 2004; 279(47): 49533-49541.
32. Narita M, Mizuo K, Shibasaki M, Narita M, Suzuki T. Up-regulation of the G(q/11alpha) protein and protein kinase C during the development of sensitization to morphine-induced hyperlocomotion. Neuroscience. 2002; 111(1): 127-132.
33. Kameda K, Miura J, Suzuki K, Kusumi I, Tanaka T, Koyama T. Effects of lithium on dopamine D2 receptor expression in the rat brain striatum. J Neural Transm. 2001; 108(3): 321-334.
34. Valdenaire O, Vernier P, Maus M, Dumas Milne Edwards JB, Mallet J. Transcription of the rat dopamine-D2-receptor gene from two promoters. Eur J Biochem.

Archive of SID
www.SID.ir

1994; 220(2): 577-584.
35. Yuan PX, Chen G, Huang LD, Manji HK. Lithium stimulates gene expression through the AP-1 transcription factor pathway. Brain Res Mol Brain Res. 1998; 58(1-2): 225-230.
36. Ozaki N , Chuang DM. Lithium increases transcription factor binding to AP-1 and cyclic AMP-responsive element in cultured neurons and rat brain. J Neurochem. 1997; 69(6): 2336-2344.
37. Wang J, Miller JC, Friedhoff AJ. Differential regulation of D2 receptor gene expression by transcription factor AP-1 in cultured cells. J Neurosci Res. 1997; 50(1): 23-31.
38. Jope RS. A bimodal model of the mechanism of action of lithium. Mol Psychiatry. 1999; 4(1): 21-25.
39. Dziedzicka-Wasylewska M, Maćkowiak M, Fijat K, Wedzony K. Adaptive changes in the rat dopaminergic transmission following repeated lithium administration. J Neural Transm. 1996; 103(7): 765-767.

Archive of SID

www.SID.ir