مجله علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی، (JSIAU)
شماره ٦٦ زمستان ١٣٨٦

بررسی اثر تستوسترون انانتات بر اکتساب ترجیح مکانی شرطی شده ناشی از مرفین با روش میکرودیالیز در مغز موش صحرائی نر بالغ

نسرین حیدریه*
دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم وتحقیقات تهران ، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی
شهربانو عریان
دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم وتحقیقات تهران ، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی.
دانشگاه تربیت معلم تهران ، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی
عبدالوهاب وهابزاده
دانشگاه علوم پزشکی ایران ، انستیتو روانپزشکی تهران، بخش اعصاب
وهاب باباپور و علی حائری روحانی
دانشگاه تهران ، دانشکده علوم و دامپزشکی، گروه زیست شناسی

چکیده

تحمل و وابستگی دو مشکل عمده ناشی ازمصرف مرفین می باشند که سبب ایجاد عوارض و خطرات جدی دراستفاده از آن شده اند. شواهد قبلی پیشنهاد نموده اند که داروهای مختلف می توانند بر وابستگی روانی ناشی از مرفین تاثیر بگذارند.

بر این اساس هدف پژوهش حاضر بررسی اثر پرفیوژن درون بطنی و طولانی مدت تستوسترون انانتات براکتساب ترجیح مکان شرطی شده ناشی ازمرفین در موش صحرائی نر نژاد ویستار می‌باشد.

ابتدا هر حیوان با میانگین وزنی ۲۵۰ تا ۳۰۰ گرم با کلرال هیدرات (۵۰۰ میلی گرم/ کیلوگرم به صورت تزریق درون صفاقی) بیهوش و یک کانول راهنما در بطن جانبی طرف راست توسط دستگاه استریوتاکسیک کاشته شد. بعد از یک هفته دوره بهبودی پس از جراحی، تزریق زیر جلدی مرفین بهمراه پرفیوژن درون بطنی و طولانی مدت تستوسترون انانتات (دو میکرو لیتردر دقیقه به مدت دو ساعت) توسط پرب میکرودیالیزوکانول راهنما انجام شد و القاء ترجیح مکانی شرطی شده با استفاده از متد طرفدار مورد استفاده قرار گرفت. پس از ثبت تمامی تغییرات، آنالیز آماری بر مبنای داده های مطلق وآزمون آنالیز واریانس یکطرفه انجام گرفت واختلاف کوچکتر از ۰/۰۵ به عنوان تغییر معنی دار در نظرگرفته شد.

* عهده دار مکاتبات

Archive of SID
www.SID.ir

مصرف زیر جلدی مقادیر مختلف مرفین سولفات(۱۰-۰/۵ میلی گرم/ کیلوگرم به صورت تزریق زیر جلدی) به صورت وابسته به دوز، ترجیح مکان شرطی شده معنی داری را ایجاد کرد، در صورتیکه پرفیوژن درون بطنی و طولانی مدت تستوسترون انانتات (۲ میلی گرم/ کیلوگرم) به تنهایی ترجیح مکان شرطی شده معنی داری ایجاد نکرد، ولی پرفیوژن درون بطنی و طولانی مدت تستوسترون انانتات، اکتساب ترجیح مکانی شرطی شده ناشی از مرفین (۱۰ میلی گرم/ کیلوگرم) را به طور معنی داری تغییر داد.

این نتایج پیشنهاد می کنند که تستوسترون میتواند اثر سرخوشی آور(وابستگی روانی) مرفین را تحت تاثیر قرار دهد.

***واژه‌های کلیدی*: تستوسترون انانتات، مرفین،اکتساب ترجیح مکانی شرطی شده، وابستگی روانی و میکرودیالیز.**

مقدمه:

اعتیاد یکی از مشکلات اجتماعی وزیستی بوده وشیوع بالای اعتیاد به اپیات ها در کشورهای مختلف از جمله مواردی است که توجه به پیشگیری و درمان آنرا ضروری می سازد. مرفین یک آلکالوئید گیاهی است که اولین بار در سال ۱۸۰۳ از تریاک استخراج وتخلیص شد نام این ماده از ریشه مورفوس[1] یعنی خدای یونانی رویاءها گرفته شده است که دارای اثرات ضددردی و پاداش می باشد[۱].سیستم لذت و پاداش به طور تصادفی درسال ۱۹۵٤ توسط الدز کشف گردید. او به اشتباه الکترودی را روی سیستم لیمبیک قرار دادومتوجه شد که حیوان بدون وقفه و با تحمل دردهای شدید اقدام به خود تحریکی می نماید[۲]. با مشاهده اثرات پاداشی مرفین این تئوری مطرح شد که عمل آن از طریق گیرنده میانجی گری می شود بدین ترتیب نه تنها گیرنده های اپیوئیدی(مو، کاپاودلتا) بلکه پپتیدهای اپیوئیدی درون زاد(انکفالین واندورفین) شناسایی گردیدند.[۳]پدیده پاداش منجر به وابستگی روانی می گرددکه با رفتارهای جستجوگرانه برای به دست آوردن دارو وتکرار مصرف آن مشخص می شود[٤و ٥] و وابستگی روانی حاصل از اثر داروهای مخدر ،عامل اصلی بازگشت فرد معتاد پس از دوران باز پروری است[٦]. جهت بررسی نورولوژیک اثر داروها بر تقویت و پاداش عموما از مدل های حیوانی استفاده می کنند و تغییر رفتار حیوان در نتیجه مصرف دارو به عنوان معیاری برای بررسی تقویت [۱] و پاداش مورد توجه قرار می گیرد و مهمترین مدل های حیوانی شامل خود تجویزی داخل جمجمه ای، خود تحریکی داخل جمجمه ای[2] و ترجیح مکان شرطی شده [3]می باشند[۷] مکانیسم های ترجیح مکان شرطی شده از اصول شرطی سازی کلاسیک (پاولف) تبعیت می کنند[۸]. تقویت یعنی افزایش برقراری ارتباط بین یک محرک غیر شرطی شده و یک محرک شرطی شده هنگامیکه از نظر زمانی با هم جفت شوند بر این اساس در ترجیح مکان شرطی شده حیوانات برای ارتباط دادن یک محیط مشخص با دارو ویک محیط متفاوت دیگر،با دارو نما(حلال) تربیت می شوند و هنگامیکه برای انتخاب دو محیط آزادگذاشته شوند مدت زمان بیشتری را در محیط جفت شده با دارو سپری می کنند[۹] .

در پدیده پاداش دارویی نواحی، نوروترانس میتر ها ونورومدولاتورهای مغزی مختلفی درگیر می باشند. سیستم دوپامین مزوکورتیکولیمبیک یکی از مسیرهای اصلی درگیر در روند اعتیاد وپاداش دارویی است.نورون های این

[1] - morpheus
[2] - reinforcement
[3] - conditioned place preference

Archive of SID

www.SID.ir

مسیر از ناحیه تگمنتوم شکمی منشاء گرفته وسپس از طریق دسته مغزی میانی به ناحیه مغزقدامی و عمدتا بـه هـسته آکومبنس، پیازبویایی، قشر پیشانی، آمیگدال و ناحیه سپتوم خـتم مـی شـوند[٢و١٠] مـرفین لیگانـد بـرون زاد رسـپتور مو اپیوئیدی می باشد و از سویی این رسپتور بر روی اینتر نورون های مهاری گاباارژیـک ناحیـه تگمنتـوم شـکمی واقع شده وسبب مهار آنها می گردد[١١و١٢] گیرندهای اپیوئیدی جزء گیرنده های متصل به G پروتئین مـی باشـند و با اتصال لیگاند، آدنیلات سیکلاز مهار شده و میزان آدنوزین مونوفسفات حلقوی کاهش می یابد و منجر بـه کـاهش فعالیت نورونی می گردد[١٣].

از سوی دیگر سیستم عصبی نه تنها یک هدف برای هورمونهای جنسی می باشد بلکه قادر به سنتز آنها نیز بوده و به عنوان نورومدلاتور عمل کرده و اثرات مختلفی را ایجاد می کنند[١٤]. شواهد و مدارک متعدد حاکی از آن هستند که بین سیستم اپیوئیدی و آندروژن بر هم کنش وجود دارد. دوزهای بالای آندروژن سبب افزایش فعالیت اپیوئیدهای درون زاد میگردد. به گونه ای که تزریق دوز بالای آندروژن به مدت ١٤ روز سبب افزایش بیست برابری در سطوح بتا اندورفین در تگمنتوم شکمی مغز رت می گردد که ممکن است در تحریک سیستم پاداش دخالت داشته باشد[١٥].

شواهد و مدارک نشان میدهند رتهایی که قبل از تولد در معرض مرفین قرار گرفته اند دانسیتهٔ رسپتورهای مو اپیوئیدی درآنها افزایش می یابد ولی سبب کاهش دانسیتهٔ رسپتوردلتا اپیوئیدی میشود که با یک دوز منفرد تستوسترون دانسیته این رسپتورها (دلتا) به سطح نرهای طبیعی می رسد [١٦]

تزریق مرفین برای یک دورهٔ کوتاه به مدت ٥ تا ١٠ روز سبب افزایش مقدار ادراری هیدروکسی استروئید (متابولیت تستوسترون) می گردد[١٧]. مطالعات نشان میدهند که سیگار کشیدن به صورت حاد، سبب افزایش غلظت تستوسترون درپلاسما و مایع مغزی نخاعی می شود[١٨] .

در رتهای ماده ای که یک هفته قبل از مرفین، تستوسترون دریافت کرده اند، اثرات ضد دردی مرفین از بین می رود و تستوسترون سبب کاهش غلظت های سرمی مرفین و متابولیت های آن می شود[١٩] . تفاوتهای متعدد مرتبط با جنس، در نوروآناتومی، نوروشیمیایی و رفتار مشاهده شده است [٢٠].

در جوندگان در اثرات ضددردی اپیوئیدها، تفاوت جنسی وجود دارد و عموماً نرها نسبت به ماده ها حساسیت بیشتری را به اپیوئید نشان میدهند و این تفاوت ناشی از اثرات هورمونهای استروئیدی گونادی نر می باشد.به گونه ای که در رتهای نر، گونادکتومی سبب کاهش قدرت مرفین می شود و تیمار کرونیک با تستوسترون یا ترکیبی از دو متابولیت اولیه آن بنام دی هیدروتستوسترون واسترادیول، قدرت مرفین به این حیوانات بازگردانده می شود[٢١و٢٢]. این تفاوت منعکس کننده تفاوت مربوط به جنس در حساسیت مغز به مرفین می باشد، زیرا مقدار مرفین در خون و مغز رتهای نر و ماده یکسان است[٢٣].

بر این اساس هدف پژوهش حاضر بررسی اثر تستوسترون انانتات براکتساب ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مرفین می باشد.

مواد و روشها

Archive of SID

www.SID.ir

حیوانات

دراین تحقیق از موشهای بزرگ آزمایشگاهی با میانگین وزنی ۳۰۰-۲۵۰ گرم استفاده شد.حیوانات در قفس های چهارتایی با دوره تاریکی-روشنایی ۱۲ ساعته و در دمای ۲٤-۲۲ درجه با آب و غذای کافی نگهداری می شدند.در هر سری آزمایش ۸ سر حیوان مورد استفاده قرارمی گرفت.

جراحی و کانول گذاری

به منظور پرفیوژن دارو به داخل بطن جانبی، کانول راهنما در جمجمه حیوان کارگذاشته می شد.به این منظور حیوانات با استفاده از کلرال هیدرات(۵۰۰ میلی گرم/ کیلوگرم به صورت تزریق درون صفاقی) بیهوش شده و موی سر آنها حذف می شد، سپس دردستگاه استریوتاکس قرار گرفته و یک کانول راهنما در بطن جانبی سمت راست قرارداده می شد. مشخصات محل کارگذاری کانول برطبق اطلس پاکسینوس: ۱/٤میلیمتراز خط وسط، ۰/۸ میلیمترجلوتر ازنقطه برگما و۳/٤میلیمتراز سطح جمجه بود[۲٤].پرفیوژن توسط پرب میکرودیالیزکه با لوله پلی اتیلن به مجموعه سرم متصل بود، انجام می گرفت (دومیکرولیتردردقیقه به مدت دوساعت).

پس از انجام آزمایشات، حیوان بیهوش شده و مغزحیوان از جمجمه خارج شده و درفرمالین ده درصد فیکس می شد. برای تعیین محل کانول، برشهای نازکی ازمغز تهیه ورنگ آمیزی شده و محل تزریق با استفاده از اطلس پاکسینوس تعیین می شد.اطلاعات مربوط به نمونه هایی که محل تزریق درآنها خارج از بطن جانبی بود از نتایج حذف می شدند.

روش القاء ترجیح مکان شرطی شده

برای انجام آزمایش ترجیح مکان شرطی شده از دستگاه چوبی مخصوصی استفاده شد که از سه قسمت مجزا تشکیل شده است.قسمت مرکزی(خنثی) به رنگ قرمز وبه ابعاد ۳۰*۱۸*۳۰سانتی متر(طول، عرض وارتفاع) می باشد که توسط دریچه های گیوتینی با دو قسمت جانبی در ارتباط می باشد. قسمت های جانبی دارای ابعاد مساوی ۳۰*۳۰*۳۰ سانتی متر(طول، عرض وارتفاع) می باشندکه دیواره های یک طرف سفیدرنگ با تزئینات خاص وکف، چوبی و صاف است درحالیکه دیواره های سمت دیگر سیاه رنگ بوده و نوارهای سفید رنگ به فاصله سه سانتی متر از هم آنرا به صورت خطوط راه راه مزین کرده است، همچنین کف این بخش به وسیله میله های فلزی مشبک شده است.

جهت سنجش فعالیت حرکتی حیوان، کف بخش های جانبی بوسیله کشیدن علامتی به شکل بعلاوه(+) به چهار مربع کاملا مساوی تقسیم می گردید.

دوره آزمایش ترجیح مکان شرطی شده پنج روزه و شامل مراحل زیربود:

الف- مرحله تعیین ترجیح: دراولین روز هر دوره که روز آشنایی نامیده می شود پس از برداشتن دریچه های گیوتینی، هر حیوان به مدت ۱۵ دقیقه در داخل دستگاه قرار می گرفت تا آزادانه در دستگاه گردش کرده وبا محیط آن آشنا شود. زمان سپری شده در هر قسمت دستگاه در این روز ثبت می شد. نتایج نشان دادکه در این دستگاه

Archive of SID

www.SID.ir

حیوانات تمایل ذاتی به قسمت سیاه دستگاه نشان می دهند بنابراین از روش طرفداربرای ادامه کار استفاده شد.در این روش حیوانات در سمت دیگر دستگاه (بخش سفید) شرطی می شدند.

ب- مرحله شرطی سازی : برای اینکه حیوان را به مکان معینی شرطی کنیم، طی مدت سه روز بطور متناوب به آنها دارو تزریق می کردیم. به این ترتیب که در ساعت ده صبح روز دوم، پس از توزین حیوانات، مرفین را به صورت زیر جلدی به هر حیوان تزریق وپس از بستن دریچه های گیوتینی آنها را به مدت ٤٥ دقیقه در قسمت روشن دستگاه قرار می دادیم. چهار ساعت بعد پس از توزین مجدد به حیوانات سالین تزریق می کردیم وآنهارا در قسمت تاریک دستگاه قرار می دادیم. در روز سوم زمان تزریق مرفین و سالین بر عکس می شد(صبح سالین و عصر مرفین). درروز چهارم زمان تزریقات مانند روز دوم بود.

ج- مرحله آزمون : در روز پنجم آزمایشات (آ خرین روز هر دوره آزمایش)، ابتدا دریچه های گیوتینی برداشته می شد و سپس هر حیوان در داخل دستگاه قرار می گرفت و برای مدت ١٥ دقیقه اجازه حرکت آزادانه در هر قسمت دستگاه را داشت. مدت زمان توقف هر حیوان در هر قسمت دستگاه ثبت شده و زمان توقف حیوان در قسمت دریافت دارو(بخش سفید) از زمان توقف حیوان در همین بخش در روز تعیین ترجیح کم شده و به عنوان تغییر ترجیح بر حسب ثانیه به عنوان نمادی از اثر دارو در القاء شرطی شدن در نظر گرفته می شد.

در این روز فعالیت حرکتی نیز مورد سنجش قرار می گرفت. بدین ترتیب که در کف هر یک از بخش های تاریک وروشن دستگاه چهار مربع مساوی وجود داشت ودر روز تست هر بار که حیوان در یکی از مربع ها قرار می گرفت به عنوان یک فعالیت حرکتی ثبت می گردید.در پایان زمان آزمون، تعداد دفعاتی که حیوان در مربع های هر دو بخش قرار گرفته بود محاسبه شده وبه عنوان نمادی از فعالیت حرکتی در نظرگرفته می شد.

دارو

در این تحقیق مرفین سولفات (تماد- ایران) وتستوسترون انانتات(شرکت دارو سازی ابوریحان) مورد استفاده قرار گرفت. مرفین سولفات در سالین حل شده وبا حجم یک میلی لیتر به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت زیر جلدی تزریق می گردید. تستوسترون انانتات دردی متیل سولفوکساید ساخت شرکت مرک حل شده و با حجم دو میکرو لیتر در دقیقه به مدت دو ساعت توسط پرب میکرودیالیز به درون بطن مغزی پرفیوژن می شد.

مایع مغزی نخاعی مصنوعی از این مواد در حد میکرو مول ساخته می شد: کلریدسدیم١٢٥ ،کلرید منیزیم ١/٣ ،کلرید کلسیم ٢/٥ ، گلوگز ١٠ ، بی کربنات سدیم ٢٦ ، فسفات دی هیدروژن پتاسیم ٣ [٢٥].

محلول دی متیل سولفوکساید جهت گروههای کنترل برای مقایسه با حیواناتی که تستوسترون انانتات دریافت می کردند، استفاده می شد و از آن بعنوان حامل یاد می شود. در سایر موارد، گروههای کنترل برای تزریقات زیر جلدی، سرم فیزیولوژیک ٠/٩٪ استریل یا به اصطلاح سالین (در حجم یک میلی لیتر به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) و برای پرفیوژن درون بطنی، مایع مغزی نخاعی مصنوعی استفاده می شد.

گروه بندی دارویی

بررسی اثر دوزهای مختلف مرفین بر ترجیح مکان شرطی شده وتعیین دوز موثر

Archive of SID

www.SID.ir

در این مرحله از آزمایشات، دوزهای مختلف مرفین (۱۰، ۷/۵ ، ۵ ، ۲/۵ ، ۰/۵ میلی گرم/ کیلوگرم) بهمراه سالین(مرفین/سالین) به صورت جداگانه در روزهای شرطی سازی تزریق می گردید.

بررسی اثر دی متیل سولفوکساید بر ترجیح مکان شرطی شده

در این مرحله از آزمایشات، سالین/ سالین در روزهای شرطی سازی به صورت زیر جلدی تزریق می شد و روزانه یک نوبت قبل از سالین دی متیل سولفوکساید و یا مایع مغزی نخاعی مصنوعی پرفیوژن می گردید .

بررسی اثر دی متیل سولفوکساید بر ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مرفین

در این مرحله از آزمایشات، مرفین (۱۰ میلی گرم/ کیلوگرم)/سالین در روزهای شرطی سازی به صورت زیر جلدی تزریق می شد و قبل از مرفین، مایع مغزی نخاعی مصنوعی و یا دی متیل سولفوکساید پرفیوژن می گردید.

بررسی اثر تستوسترون انانتات بر ترجیح مکان شرطی شده

در این مرحله از آزمایشات ،سالین /سالین در روزهای شرطی سازی به صورت زیر جلدی تزریق می شد وروزانه یک نوبت قبل از سالین دی متیل سولفوکساید و یا تستوسترون انانتات (۲ میلی گرم/ کیلوگرم) پرفیوژن می گردید .

بررسی اثر تستوسترون انانتات بر ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مرفین

در این مرحله از آزمایشات، مرفین (۱۰ میلی گرم/ کیلوگرم)/سالین در روزهای شرطی سازی به صورت زیر جلدی تزریق می شد و قبل از مرفین، دی متیل سولفوکساید و یا تستوسترون انانتات (۲ میلی گرم/ کیلوگرم) پرفیوژن می گردید . در تمامی آزمایشات ،در روز آزمون، حیوانات بدون دریافت هیچ دارویی از نظر ترجیح مکان شرطی شده و فعالیت حرکتی تست می شدند.

تجزیه وتحلیل داده ها

اطلاعات به دست آمده به صورت میانگین ± انحراف معیار استانداردتغییر ترجیح و فعالیت حرکتی بیان شدند.به منظور تجزیه و تحلیل اطلاعات از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و به دنبال آن تست توکی استفاده شد. اختلاف کوچکتر از ۰/۰۵ مرز معنی دار بودن اطلاعات در نظر گرفته شد.

نتایج

بررسی اثر دوزهای مختلف مرفین بر ترجیح مکان شرطی شده وتعیین دوز موثر

آزمون آماری نشان می دهد که تزریق زیرجلدی مرفین به صورت وابسته به دوز سبب القاء ترجیح مکان شرطی شده می شود.مرفین در دوزهای ۱۰، ۷/۵ میلی گرم/ کیلوگرم ترجیح مکان شرطی شده معنی داری را نسبت به گروه کنترل(سالین/سالین) ایجاد می کند(اختلاف کوچکتر از ۰/۰۱ و ۰/۰۰۱) وبهترین پاسخ در دوز ۱۰ میلی گرم/

Archive of SID

www.SID.ir

کیلوگرم مرفین می باشدکه به عنوان دوز موثر در سایر آزمایشات، مورد استفاده قرار گرفت.(تصویر شماره یک-الف)

ازسویی آنالیزآماری نشان می دهد فعالیت حرکتی حیواناتی که در طی مرحله شرطی سازی مقادیر مختلفی از مرفین را دریافت کرده اند نسبت به گروه کنترل(سالین/سالین) تفاوت معنی داری ندارند .(تصویر شماره یک-ب)

بررسی اثر دی متیل سولفوکساید بر اکتساب ترجیح مکان شرطی شده

تجزیه و تحلیل آماری نشان می دهند که پرفیوژن درون بطنی و طولانی مدت دی متیل سولفوکساید(دو میکرولیتر دردقیقه به مدت دو ساعت) در حیوانات دریافت کننده سالین/سالین، نسبت به گروه کنترل(مایع مغزی نخاعی مصنوعی)، ترجیح مکان شرطی شده معنی داری را ایجاد نمی کند.(تصویر شماره دو-الف)

همچنین فعالیت حرکتی حیواناتی که در طی مرحله شرطی سازی با سالین/سالین، دی متیل سولفوکساید را دریافت کرده بودند نسبت به گروه کنترل(مایع مغزی نخاعی مصنوعی) تفاوت معنی داری را نشان نمی دهند. (تصویر شماره دو-ب)

بررسی اثر دی متیل سولفوکساید بر اکتساب ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مرفین

نتایج نشان می دهند پرفیوژن درون بطنی وطولانی مدت دی متیل سولفوکساید(دو میکرولیتر دردقیقه به مدت دو ساعت) در حیوانات دریافت کننده سالین/مرفین، برترجیح مکان شرطی شده ناشی از مرفین اثری نداشته و بین گروه های دریافت کننده دی متیل سولفوکساید + مرفین و مایع مغزی نخاعی مصنوعی + مرفین تفاوت معنی داری وجود ندارد .(تصویر شماره سه-الف)

همچنین فعالیت حرکتی حیواناتی که در طی مرحله شرطی سازی با سالین/ مرفین، دی متیل سولفوکساید را دریافت کرده بودند نسبت به گروه کنترل(مایع مغزی نخاعی مصنوعی) تفاوت معنی داری مشاهده نمی شود . (تصویر شماره سه-ب)

بررسی اثر تستوسترون انانتات بر اکتساب ترجیح مکان شرطی شده

تجزیه وتحلیل آماری نشان می دهند پرفیوژن درون بطنی و طولانی مدت تستوسترون انانتات (دو میکرولیتر دردقیقه به مدت دو ساعت) در حیوانات دریافت کننده سالین/ سالین، نسبت به گروه کنترل(دی متیل سولفوکساید)، ترجیح مکان شرطی شده معنی داری را ایجاد نمی کند.(تصویر شماره چهار-الف)

همچنین فعالیت حرکتی حیواناتی که در طی مرحله شرطی سازی با سالین/ سالین، تستوسترون انانتات را دریافت کرده بودند نسبت به گروه کنترل(دی متیل سولفوکساید) تفاوت معنی داری مشاهده نمی شود.(تصویر شماره چهار-ب)

بررسی اثر تستوسترون انانتات بر اکتساب ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مرفین

نتایج نشان می دهند پرفیوژن درون بطنی و طولانی مدت تستوسترون انانتات (دو میکرولیتر در دقیقه به مدت دو ساعت) در حیوانات دریافت کننده سالین/مرفین، سبب افزایش ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مرفین می گردد و

Archive of SID

www.SID.ir

بین گروه های دریافت کننده تستوسترون انانتات + مرفین و دی متیل سولفوکساید + مرفین تفاوت معنی داری وجود دارد(اختلاف کوچکتر از ۰/۰۰۱).(تصویر شماره پنج_الف)

همچنین فعالیت حرکتی حیواناتی که در طی مرحله شرطی سازی با سالین/ مرفین، تستوسترون انانتات را دریافت کرده بودند نسبت به گروه کنترل(دی متیل سولفوکساید) تفاوت معنی داری مشاهده نمی شود .(تصویر شماره پنج–ب)

بحث

در این تحقیق، نتایج نشان داد که مرفین به صورت وابسته به دوز سبب القاء وابستگی روانی در موش های صحرایی نر نژاد ویستار می شودکه موافق با سایر مطالعات می باشد[۱۲].

مرفین با اتصال به گیرنده های مو اپیوئیدی واقع بر اینتر نورون های مهاری گاباارژیک ناحیه تگمنتوم شکمی، با کاهش آدنوزین مونو فسفات حلقوی، منجر به مهار آنها می گردد .بدین ترتیب مهار از روی نورون های دوپامینرژیک ناحیه تگمنتوم شکمی برداشته شده وسبب افزایش آزاد سازی دوپامین در هسته آکومبنس می گردد [۱۱] احتمالا مرفین با افزایش دوپامین در هسته آکومبنس منجر به القاء ترجیح مکان شرطی شده می گردد.

از سوی دیگردر ترجیح مکان شرطی شده یادگیری دخیل می باشد زیرا حیوان باید بین پاداش و محل مربوطه ارتباط برقرار کند. یادگیری و حافظه نقش مهمی را در توسعه اعتیاد دارویی ایفاء می کنند و بهبود فرآیند شناختی توسط مرفین به اثبات رسیده است [۲۶] و احتمالا مرفین با افزایش یادگیری و حافظه درالقاء ترجیح مکان شرطی شده درگیر بوده است.

درتحقیق حاضر مشخص شد مرفین در دوزهای استفاده شده نسبت به گروه کنترل تغییر معنی داری را در فعالیت حرکتی ایجاد نکرده است که موافق با دیگر شواهد می باشد[۲۷]. بنابراین محرکهای شرطی شده تعیین کننده اصلی در پاسخ حرکتی به مرفین می باشند[۲۷] .

در تحقیق حاضرپرفیوژن درون بطنی و طولانی مدت تستوسترون انانتات به تنهایی هیچگونه ترجیح مکان شرطی شده معنی داری را ایجاد نکرد اما پرفیوژن درون بطنی و طولانی مدت تستوسترون انانتات قبل از مرفین، اکتساب ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مرفین را افزایش داد .لازم به ذکر است در تمامی آزمایشات مربوط به اثر تستوسترون انانتات بر وابستگی روانی، تغییرات حرکتی در هیچ یک مشاهده نگردید.بنابراین تغییر در اکتساب ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مرفین حاصل اثر تستوسترون انانتات بر شرطی شدن مکانی می باشد.

دوزهای بالای تستوسترون در رتهای نر سبب افزایش متابولیسم دوپامینرژیک میشود [۲۸]. سیستم دوپامین مزولیمبیک یک سوبسترای مهم در اعمال تقویت داروهای سوء مصرف شونده می باشد. گونادکتومی رت ها ی نر،سبب کاهش دوپامین مزولیمبیک و تیمار با تستوسترون سبب بازگشت غلظت دوپامین در این رت های میشود. با تزریق آنتاگونیست رسپتورهای دوپامینی به صورت محیطی یا درون هسته آکومبنس، ترجیح مکان شرطی شده القاء شده توسط آندروژن ها مهار میگردد. از این نتایج حدس می زنند که فعالیت رسپتورهای دوپامینی برای اثر آندروژن ها بر ترجیح مکان شرطی شده از طریق عمل در هسته آکومبنس ضروری می باشد[۲۹]. تزریق محیطی و یا

Archive of SID

www.SID.ir

درون هسته آکومبنس آنتاگونیست رسپتور دوپامینی سبب مهار بروز ترجیح مکان شرطی شده ناشی از آندروژن میشود و این مهار ناشی از اثر بر رفتار حرکتی نمی باشد [٣٠].

بطور جالب توجهی مطالعات اخیر نشان می دهد که آندروژنها در الکتروانسفالوگرافی تغییراتی ایجاد می کنند که مشابه آنهایی است که داروهای روان گردان (مانند آمفتامین) و داروهایی مثل ضد افسردگیهای سه حلقه ای ایجاد می کنند [٣١].

اثرات پاداشی آندروژن ممکن است ناشی از عمل بر رسپتورهای اپیات باشد. تزریق آنتاگونیست رسپتور اپیات بنام نالوکسان سبب مهار ترجیح مکان شرطی شده در رت های ماده میشود و این اثرات مشابه مهار ترجیح مکان شرطی شده ایجاد شده توسط اخته کردن است . بنابراین تستوسترون و سایر آندروژنها میتوانند فعالیت اپیات را در مغز تعدیل کنند [٢٩].

مقدار بتااندورفین در هسته پاراونتریکولار رت هایی که در معرض مخلوطی از آندروژنها قرارگرفته بودند بطور معنی داری افزایش می یابد. از آنجائیکه این هسته یک پروجکت گلوتاماترژیک به استرادیوم ارسال میکند، گمان می رود که تعدیل سطح اندورفین توسط آندروژنها در این ناحیه از مغز ،مدار پاداشی را دچار تغییر می کند[٣٢].

همچنین آندروژنها سبب افزایش رسپتورهای آندروژن در نواحی می شوند، که دارای نورونهای اپیوئیدی و دوپامینرژیک هستند واینگونه فرض می شود افزیش رسپتورها، مکانیسم فیدفورواردی را القاءمی کند که سبب تقویت مدارهای مغزی درگیر در پاداش می شود[٣٢] .

یکی از راههایی که تستوسترون سبب افزایش دوپامین می شود، افزایش سنتز نیتریک اکسیداست. در رت های نرگونادکتومی شده، سطوح دوپامین خارج سلول به میزان قابل توجهی کاهش می یابد به گونه ای که سطوح بافتی دوپامین و متابولیتهای اصلی آن در هستهٔ آکومبنس نیز کاهش می یابد. اما نیتریک اکسید در آنها سبب تشدید آزادسازی دوپامین وهمچنین سبب مهار بازجذب دوپامین میشود که احتمالاً این امر از طریق معکوس کردن ترانسپورترهای دوپامینی صورت می گیرد. [٣٣] .

بنابراین ممکن است که آندروژن ها به تنهایی جنبه پاداشی نداشته باشند ولی مدارهای نورونی درگیر در پاداش را میتوانند تغییر دهند آنگونه که سبب میشوند مغز نسبت به اثرات سایر داروها، حساس تر شود.به گونه ای که آندروژنها سبب افزایش اثرات پاداشی آمفتامین میشوند[٣٢] از سویی بین جنس نر و ماده از نظر شدت سوء مصرف الکل و کوکائین تفاوت وجود دارد [٣٤].

تفاوت جنسی زیادی در پاسخ رفتاری به داروهای محرک روان وجود دارد به گونه ای که پاسخ رفتاری رتهای ماده به تزریق حاد و تزریق مکرر آمفتامین بیش از رتهای نر میباشد و متناسب با آن آزادسازی دوپامین تحریک شده توسط آمفتامین درماده ها بیش از نرهاست. در این تفاوت جنسی ممکن است استروژن اثر داشته باشد زیرا که استروژن بر عملکرد سیستم دوپامینی مزولیمبیک و همچنین بر سنتز و آزادسازی دوپامین اثرات تعدیلی دارد. از سویی استروژن ممکن است بعنوان یک محافظ نورونی عمل کند[٣٥].

دلایلی وجود دارد مبنی بر اینکه استرادیول بوسیلهٔ انتقالات دوپامینی در مغز میانی، بر پاسخ ماده ها به داروهای محرک روان اثر می گذارد. استرادیول در رت های ماده گونادکتومی شده، سبب تشدید آزادسازی دوپامین تحریک

Archive of SID

www.SID.ir

شده توسط آمفتامین، می گردد. همچنین بطور مستقیم سبب تسهیل آزادسازی دوپامین و افزایش دوپامین در مغز رت می گردد. مشخص شده با برداشتن تخمدان به مدت طولانی و سپس جایگزین کردن استرادیول، در رسپتورهای دوپامینی رت ها تغییراتی ایجاد می شود. از سویی استرادیول بطور مستقیم بر غشاء نورونی اثراتی را اعمال می کند (۳٦) و از آنجائیکه تستوسترون انانتات از نوع قابل آروماتیزه می باشد این امکان وجوددارد که از طریق تبدیل به استرادیول اثر خود را میانجی گری کند.

حتی در پاسخهای رفتاری و هورمونی به کوکائین،نیز تفاوت جنسی وجود دارد به گونه ای که خود تزریقی کوکائین در رتهای ماده بیش از رتهای نر می باشد.اخیراً ثابت شده در ماده ها، کوکائین در دوز پایین تر و سریعتری سبب توسعه ارتباط بین محرک محیطی و اثرات پاداشی، در متد ترجیح مکان شرطی شده، می شود. این فرضیه وجود دارد که هورمونهای گونادی، تعیین کننده مهمی در اثرات کوکائین بر رفتار هستند که بوسیلهٔ تحت تاثیر قرار دادن فعالیت نورونی و پلاستیسیتی نورونی مغز می باشد

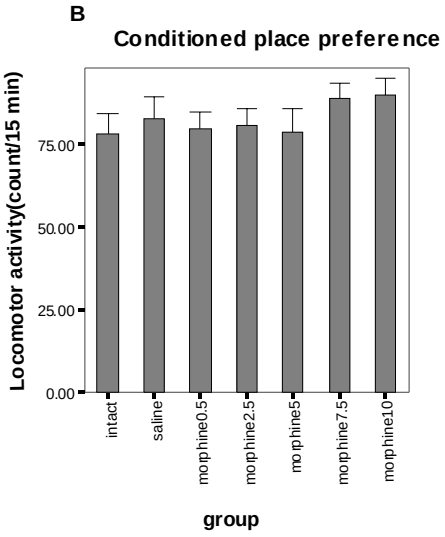
یادگیری و حافظه پایه و اساسی برای توسعه ترجیح مکان شرطی شده می باشند و ممکن است اثر هورمونهای گونادی بر ترجیح مکان شرطی شده از طریق اثر بر یادگیری و حافظه میانجی گری شده باشد. به گونه ای که پروژسترون سبب مهار یادگیری و حافظه می شود[۳۷] .اما تستوسترون انانتات حافظه فضایی را در رت افزایش می دهد و این افرایش ناشی از آروماتیزاسیون به استرادیوال می باشد[۳۸] . تستوسترون انانتات همچنین سبب افزایش یادگیری اجتناب غیرفعال می شود[۳۲]. در این تحقیق ،احتمالا تستوسترون به دنبال آروماتیزاسیون، با افزایش یادگیری ، منجر به افزایش ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مرفین گردیده است.

در تمامی آزمایشات مطالعه حاضر، تستوسترون انانتات هیچگونه تغییری را در فعالیت حرکتی القاء نکرد. اما در مطالعه ای، تستوسترون به تنهایی برفعالیت حرکتی اثری نداشته ولی فعالیت حرکتی افزایش یافته توسط کوکائین، توسط تستوسترون نیز تشدیدمی شود[۳۲].البته نتایج متضادی هم گزارش شده است بدین ترتیب که فعالیت حرکتی تحریک شده توسط کوکائین خوراکی از طریق تستوسترون کاهش می یابد.دلیل این اختلاف آشکار نیست ولی ممکن است به تفاوت گونه ای، نحوه دریافت کوکائین و یا نحوه تزریق و مدت زمان تزریق آندروژنها باشد [۳۲].

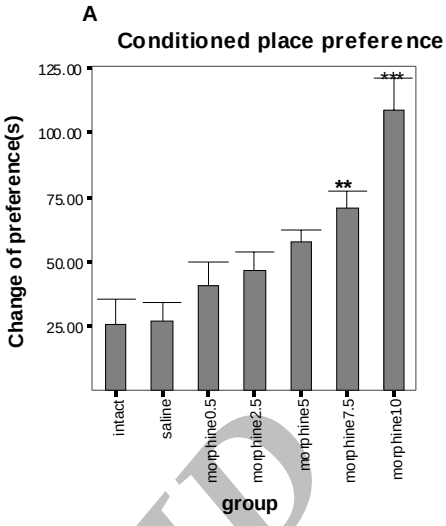
امید است با مطالعات و تحقیقات مختلف راهکارهایی جهت پیشگیری و درمان اعتیاد فراهم گردد.

Archive of SID

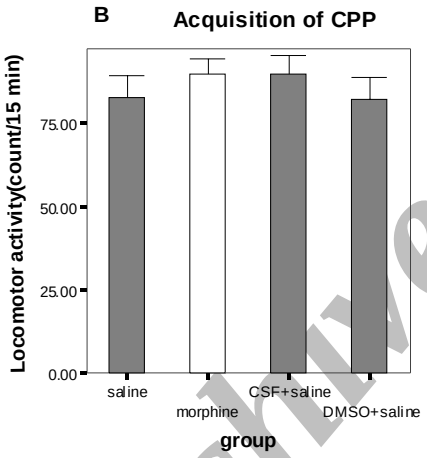
www.SID.ir



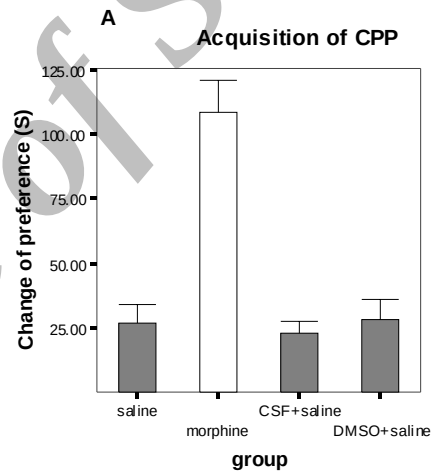
تصویر شماره یک-ب



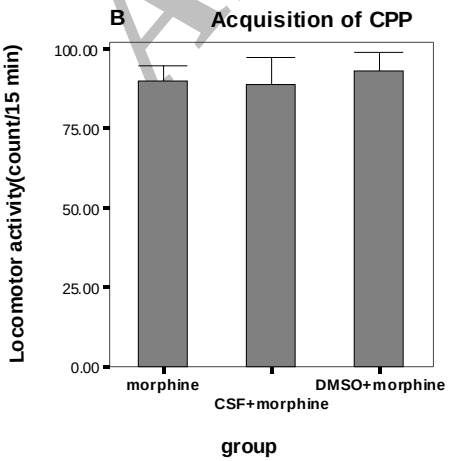
تصویر شماره یک-الف



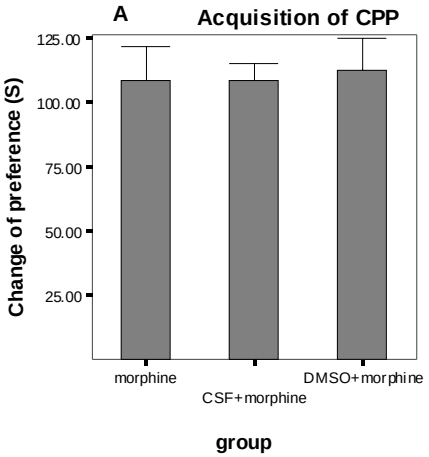
تصویر شماره دو-ب



تصویر شماره دو-الف



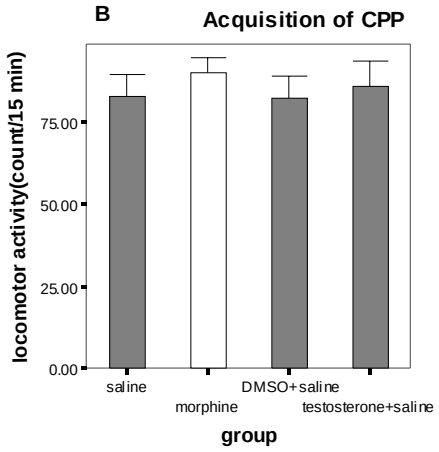
تصویر شماره سه-ب



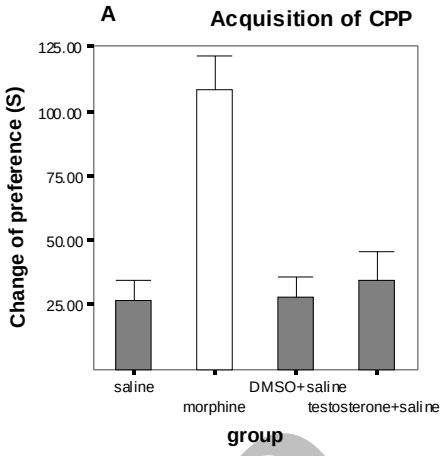
تصویر شماره سه-الف

Archive of SID

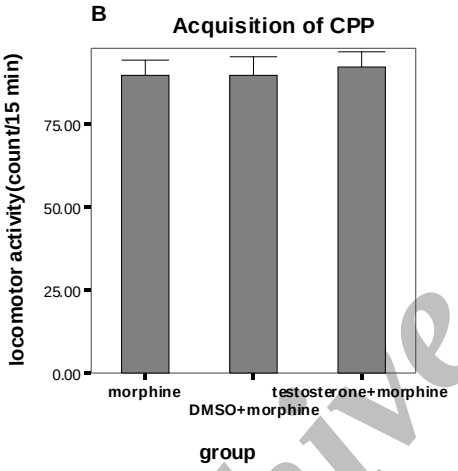
www.SID.ir



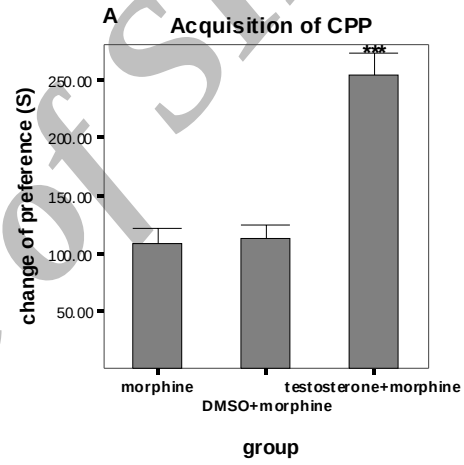
تصویر شماره چهار-ب



تصویر شماره چهار-الف



تصویر شماره پنج-ب



تصویر شماره پنج-الف

Archive of SID

www.SID.ir

References

1- Wise, R.A., *Pharmacological Therapeutics*, **33**, 227 (1987).
2- Blum, K. and Cull, J.G., *Americal Scientist*, **84**, 132 (1996).
3- Corbett, A., Mcknight, S. and Hardenson, G., *Opioid receptors*, Tocris.(2001).
4- Nestler, E.J., *Semin Nerurosci*., **9**, 84 (1997).
5- Gray, A.M., *European Neuropsychopharmacology*, **12**, 245 (2002).
6- Hu, J., Lee, H. J. and Fakahany, E. E., *Psychopharmacology*, **114**, 161 (1994).
7- Vander, T. M., *Endorphin and experimental addiction, Alchol*, **13**, 20 (1998).
8- Benyhe, S., *Life Science*, **55**, 969 (1994).
9- Lu, L., Shepard, J. D., Hall, F. S. and Shaham, Y., *Neuroscience & Biobehavioral*, **27**, 457 (2003).
10- Hai, t. A., Tamura, R. and Uwano. T., *International Congress Series*, **1250**, 493 (2003).
11- Steffensen, S. C., Lee, R. S. and Stobbs, S., *Brain Research*, **906**, 190 (2001).
12- Narita, M., Funada, M. and Suzuki, T., *Pharmacology & Therapeutics*, **89**, 1 (2001).
13- Childers, S.R., *Life Science*, **48**, 1991 (1991).
14- Veiga, S., Melcangi, R. C., Doncarlos, L. L., Garcia-Segura, L. M. and Azcoitia, I., *Experimental Gerontology*, **39**, 1623 (2004).
15- Negus, S. S., Pope, H. G., Danayama, G., Wines, J. D. and Bradford, D., *Psychoneuroendocrinology*, **26**, 789 (2001).
16- Slamberova, R., Rimanazy, A., Schindler, C. J. and Vathy, I., *Brain Research Bulletin*, **1**, 47 (2003).
17- Paroli, E. and Melchiorri, P., *Biochemical Pharmacology*, **6**, 1 (1961).
18- Mulchahey, J. J., Ekhator, N. N., Zhang, H., kasckow, J. W., Baker, D. G. and Ceraciotijr, T. D., *Psychoneuroendocrinology*, **26**, 273 (2001).
19- Bodnar, R. J. and Hadjimarkou, M. M., *Peptides*, **23**, 2307 (2001).
20- Ma, L. W., Barker, J. L. and Rubinow, D. R., *Neuroscience*, **94**, 251 (1999).
21- Stoffel, E. C., Ulibarri, C. M., Folk, J. E., Rice, k. C. and Craft, R. M., *The Journal of Pain*, **6**, 261 (2005).
22- Craft, R.M. and Bernal, S. A, *Drug and Alcohol Dependence*, **63**, 215 (2001).
23- Cicero,T. J., Nock, B. and Meyer, E. R., *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, **72**, 691 (2002).
24- Paxions, G., Watson, C., *The rat brain in stereotaxic coordinates.* Academic Press, *Sydney* (1986).
25- Li, X., Raninie, D.G., MCCarley R.W., Greene R.W., *The Journal of Neuroscience*, **18**, 1904 (1998).
26- Zarrindast, M. R., Rezayof, A., Sahraei, H. and Haeri-Rohani, A., *Brain Research*, **965**:212 (2003).
27- Karami, M., Zarrindast, M. R. and Sahraei, H.,*Brain Research*, **976**, 30 (2003).
28- Tomas, M., Sanchez – Hidalgo, M. C., Sanchez del pino, M. J., Navarro, A., Machado, A. and Cano, J., *Neuroscience*, **109**, 569 (2002).
29- Frye, C. A., Rhodes, M. E., Rosellini, R. and Svare, B., *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, **74**, 119 (2002).
30- Packard, M. G., Shroeder, J. P. and Alexander, G. M., *Hormones and Behavior*, **34**, 39 (1998).
31- Rosellin, R. A., Svare, B. B., Rhodes, M. E. and Frye, A., *Brain Research Reviews*, **37**, 162 (2001).
32- Clarck, A. S. and Henderson, L. P., *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, **27**, 413 (2003).
33- Hull, E. M., Muschamp, J. W. and Sato, S., *Physiology & Behavior*, **83**, 291 (2004).

Archive of SID

www.SID.ir

34- Cicero, T. J., Nock, B. and Meyer, E. R., *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, **72**, 691 (2002).
35- Moroz, I. A., Rajabi, H., Rodaros, D. and Stewart, J., *Neuroscience*, **118**, 463 (2003).
36- Stewart, J. and Rodaros, D., *Behavioral Brain Research*, **102**, 89 (1999).
37- Russo, S. J., Festa, E. D., Fabian, S. J., Gazi, F.M., kraish, M., Jenab S. and Quinones – Jenab, V., *Neuroscience*, **120**: 523 (2003).
38- Naghdi, N., Oryan, Sh. and. Etemadi R., *Brain Research*, **972**, 1 (2003).

Archive of SID

www.SID.ir