Physiology and Pharmacology, 11(2), 115 - 122
Summer 2007 [Article in Persian]

Physiology and Pharmacology

Possible role for integrins in development of tolerance to analgesic effect of morphine in rats

Jamal Ghorbi[1], Mohammad Javan[1*], Vahid Sheibani[2], Leila Satarian[1], Amir Zarebkohan[1]

1. Dept. Physiology, School of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
2. Neuroscience Research Center, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran

Abstract

Introduction: There is some evidence supporting the reduced activity of integrins following chronic administration of morphine. This reduction might play a role in morphine tolerance development. Manganese binds to the extracellular domain of integrins and makes them to be activated. The effect of integrins activation using manganese on tolerance development to the analgesic effect of morphine was investigated in this study.

Methods: To induce tolerance to analgesic effect of morphine, morphine (15 µg/rat) was injected intrathecally (i.t.) to male adult Wistar rats twice a day for five days. To investigate the effect of manganese, it was injected (20 nmol/rat-i.t.) 15 minutes prior to morphine injections during mentioned period. The analgesic effect of morphine (15 µg/rat) was measured using tail flick test on day 6.

Results: The results indicated that in animals which received both manganese and morphine during first 5 days, morphine induced a significant analgesia on day 6. Chronic administration of manganese did not change the pain threshold and morphine induced analgesia. Comparison of morphine analgesia following a single dose of morphine (15 µg/rat) or chronic manganese+morphine, indicated that manganese did not have any effect on the morphine analgesia.

Conclusion: Our results showed that, manganese administration prior to morphine is able to prevent morphine tolerance development. It seems that decreased activity of integrins following chronic administration of morphine plays a pivotal role in tolerance development to morphine analgesia. Further investigation needs to determine whether manganese effect is dependent on the integrins role in cell adhesions, or on their intracellular signaling pathways.

Keywords: Morphine, Tolerance, Manganese, Integrins, Lumbar spinal cord, Rat.

* Corresponding Author Email: mjavan@modares.ac.ir
Available online @: www.phypha.ir/ppj

فیزیولوژی و فارماکولوژی

فیزیولوژی و فارماکولوژی ۱۱ (۲)، ۱۱۵ - ۱۲۲
تابستان ۱۳۸۶

نقش احتمالی اینتگرینها در تکوین تحمل به اثر ضددردی مرفین در موش صحرایی

جمال قربی[۱]، محمد جوان[۱*]، وحید شیبانی[۲]، لیلا ستاریان[۱]، امیر ضارب‌کهن[۱]
۱- گروه فیزیولوژی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران.
۲- مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان.

دریافت: خرداد ۸۵ بازبینی: مرداد ۸۶ پذیرش: مرداد ۸۶

چکیده

مقدمه: شواهدی وجود دارد که فعالیت اینتگرینها با مصرف مکرر مرفین کاهش می‌یابد. این تغییرات کاهشی ممکن است در تکوین تحمل به مرفین نقش داشته باشد. کاتیون منگنز (Mn^{++}) با بخش خارج سلولی اینتگرینها متصل شده و موجب فعال شدن آن می‌شود. در این مطالعه سعی شده است اثر فعال نمودن اینتگرینها به کمک کاتیون منگنز بر ایجاد تحمل به اثر ضددردی مرفین بررسی شود.

روش‌ها: برای القاء تحمل به مرفین، دوز ۱۵ میکروگرم مرفین دو بار در روز به مدت پنج روز به شیوه داخل نخاعی به موشهای صحرایی نر بالغ تزریق می‌شد. برای بررسی اثر کاتیون منگنز، ۱۵ دقیقه قبل از مرفین، کاتیون منگنز (با دوز ۲۰ nmol/rat) به صورت داخل نخاعی تجویز می‌گردید. اثر ضددردی مرفین توسط آزمون Tail Flick سنجیده می‌شد. زمان قطع (Cut off time) تابش نور ۸ ثانیه بود.

یافته‌ها: مقایسه زمان تاخیر Tail Flick بدنبال تجویز تک دوز مرفین (۱۵ µg/rat) یا کاتیون منگنز + مرفین، نشان داد که کاتیون منگنز اثری بر بی دردی مرفین ندارد در گروهی از حیوانات که به مدت پنج روز همزمان با دریافت مرفین، کاتیون منگنز دریافت می‌کردند، مرفین در روز ششم بی دردی بارزی ایجاد کرد. همچنین مصرف کاتیون منگنز به صورت مزمن اثری بر آستانه درد نداشت.

نتیجه‌گیری: بر اساس این یافته‌ها، کاتیون منگنز در کاربرد داخل نخاعی به همراه مرفین از ایجاد تحمل به اثر ضد دردی مرفین جلوگیری می‌کند. بنابراین، به نظر می‌رسد به دنبال مصرف مزمن مرفین کاهش سطح فعالیت اینتگرینها پدید می‌آید که در ایجاد تحمل به اثر ضددردی مرفین نقش دارد. مطالعه گسترده تری لازم است تا مشخص شود آیا اثر کاتیون منگنز به نقش اینتگرینها در چسبندگی سلولها وابسته است و یا به مکانیزم‌های نشانه پردازی داخل سلولی ناشی از فعالیت آنها.

واژه‌های کلیدی: مرفین، تحمل، کاتیون منگنز، اینتگرینها، نخاع کمری، موش صحرایی.

مقدمه

اصطلاح اینتگرین برای اولین بار در مقاله‌ای مروری در سال ۱۹۸۷ بکار رفت تا خانواده‌ای از گیرنده‌های هترومریک سطح سلولی را از نظر ساختمانی و عملکردی توصیف کند که ماتریکس خارج سلولی را به اسکلت سلولی داخل سلولی متصل می‌نمایند و اتصال و مهاجرت سلولی را وساطت می‌کنند [۳۶]. تا کنون ۸ اینتگرین بتا و ۱۸ اینتگرین آلفا که حداقل ۲۴ هترودایمر α/β را تشکیل می‌دهند، شناسایی شده‌اند [۵]. اینتگرینها نقشهای کلیدیی در CNS بازی

* نویسندهٔ مسئول مکاتبات: mjavan@modares.ac.ir
وبگاه مجله: www.phypha.ir/ppj

می‌کنند، از جمله شرکت در تکوین سیناپس، انتقال سیناپسی و شکل‌گیری حافظه، اما مکانیسم دقیق آنها ناشناخته است [۴، ۴۹]. در سیناپسهای CNS خانواده اینتگرینها بعنوان واسطه‌های چسباننده سلولی عمل می‌کنند [۳۳] و در نرونهای بالغ اثرات تنظیم کنندگی نرونی دارند. اینتگرینها بویژه در نواحی سیناپسی غنی شده اند، جاییکه آنها در گسترش سیناپس، حفظ و تجدید اسکلت سلولی (که در فعالیت سیناپسی شرکت می‌کنند) نقش دارند [۴۹].

اینتگرینها به عنوان متالوپروتئینها مطرح هستند: در هر هترودایمر اینتگرین ۵-۳ جایگاه اتصال به کاتیون دوظرفیتی وجود دارد. اتصال این کاتیونها اثرات قویی روی عملکرد اینتگرین دارند. اتصال کاتیونهای دوظرفیتی می‌تواند موجب تحریک یا مهار اتصال اینتگرین به پروتئینهای ماتریکس خارج سلولی (به عنوان لیگاند اینتگرین) شود و یا اختصاصی بودن اتصال لیگاند به اینتگرین را تغییر می‌دهند [۳۶]. برای بسیاری از اینتگرینها کاتیون منگنز می‌توانند موجب تغییر شکل فضایی شوند که با افزایش تمایل اتصال به لیگاند همراه است [۲۷].

کاتیون منگنز فلز ضروری است که در همه بافت‌های پستانداران وجود دارد [۴۷]. این کاتیون دو ظرفیتی برای عملکرد نرونی ضروری است و در تنظیم رشد نرونها، از طریق تعامل با اینتگرین‌ها نقش دارد [۶]. کمبود آن باعث نقص در عملکرد CNS می‌شود [۳۴]. مقدار این کاتیون در مایع مغزی نخاعی ۱/۵ μg/L -۸۳/. می‌باشد [۴۴]. کاتیون منگنز در مغز در تنظیم ترشح بعضی از نروترنسمیترهای عصبی و تنظیم بیان بعضی از ترنسپورترها شرکت دارد [۱۳، ۴۱، ۴۴، ۴۶]. در سلولهای استریاتال Mn^{++} مزمن فرکانس و دامنه پتانسیلهای تحریکی خودبخودی در غشای پس سیناپسی را در عدم حضور تغییرات خواص ذاتی غشاء افزایش می‌دهد [۷]. پراکندگی Mn^{++} در مغز در طی رشد و افزایش سن تغییر می‌کند. تغییرات آن ممکن است با بالغ شدن مغز و عملکردهای آن مرتبط باشد [۴۳].

کاتیون منگنز باعث فعال شدن اینتگرینها می‌شود [۱۰، ۱۵، ۲۳، ۳۱، ۴۲، ۵۰] و از میان کاتیونهای دو ظرفیتی بیشترین اثر را روی فعال شدن اینتگرینها دارد [۳۱]. تزریق داخل نخاعی مرفین در موش صحرایی موجب افزایش mRNA اینتگرین αM در سلولهای میکروگلیال می‌شود [۴۵]. شواهدی وجود دارد که احتمال کاهش در عملکرد اینتگرینها با مصرف مکرر مرفین را مطرح می‌کند و این تغییر ممکن است در ایجاد تحمل به مرفین نقش داشته باشد. بطور خلاصه، تکوین تحمل به اثر ضددردی اپیوئیدها با چندین فرآیند سلولی همراه است که از جمله آنها می‌توان به افزایش NO، PKC و CaMKII اشاره کرد. هر سه این مولکولها به گونه‌ای اثرات مهاری روی فعال شدن اینتگرینها دارند [۳، ۱۴، ۲۱، ۲۵، ۳۰]. بنابراین، شاید بتوان پیش بینی کرد که منگنز با فعال کردن اینتگرینها و جبران اثرات مهاری اپیوئیدها بر فعالیت اینتگرینها، بتواند تا حدودی از تکوین تحمل جلوگیری کند. در این مطالعه سعی شده است اثر مهاری فعال نمودن اینتگرینها بوسیله کاتیون منگنز بر تکوین تحمل به اثر ضددردی مرفین بررسی شود. به دلیل اینکه سد خونی- مغزی مانعی برای ورود مقادیر دلخواه کاتیون منگنز به CNS است و برای پرهیز از اثرات وسیع آن در مصرف سیستمیک، از تزریق داخل نخاعی (i.t.) و موضعی کلرید منگنز ($MnCl_2$) استفاده شد.

مواد و روش‌ها

موشهای صحرایی نر بالغ نژاد Wistar با محدوده وزنی ۲۲۰-۱۸۰ گرم که تصادفی در گروههای حداقل شش تایی قرار گرفتند، مورد استفاده بود. حیوانات محدودیتی از نظر دسترسی به آب و غذا نداشتند و در شرایط کنترل شده نوری و گرمایی نگهداری می‌شدند (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، روشنایی از ساعت ۷ صبح بود). برای همه آزمایشها، موشهای صحرایی دو نوبت (صبح و عصر) با دارو تیمار و آزمایش می‌شدند. برای تزریقات داخل نخاعی، حیوانات بعد از کانول گذاری، جداگانه نگهداری می‌شدند و به آنها اجازه داده می‌شد تا به مدت ۴۸ ساعت قبل از تیمار با دارو بهبود یابند. برای پرهیز از القای استرس، حیوانات قبل از آزمایش دست آموز می‌شدند. هر حیوان تنها یک بار استفاده می‌شد.

مرفین سو لفات (شرکت تماد ایران) در سالین (۹/.٪) حل شده و بصورت داخل نخاعی (i.t.) در حجم ۱۰μl/rat (با دوز ۱۵μg/rat) تزریق می‌شد. کلرید کاتیون منگنز ($MnCl_2$) نیز بصورت داخل نخاعی و در حجم ۱۰μl/rat (با دوز ۲۰nmol/rat) تزریق می‌شد.

تزریق داخل نخاعی (i.t.) بر اساس روش Yaksh و Ruddy [۵۲] انجام گرفت. بطور خلاصه، دو روز قبل از آزمایشهای رفتاری، حیوانات با تزریق کتامین (۱۰۰mg/kg) و زایلازین (۲۰mg/kg) به طریق داخل صفاقی بیهوش می‌شدند. سپس سر حیوان در دستگاه استریوتاکس جهت انجام جراحی ثابت می‌شد. یک برش کوچک به طول ۲ سانتیمتر از بین گوشها به طرف پایین ایجاد و عضلات گردنی کنار زده شده و به آرامی از روی تیغه اکسی پیتال جمجمه آزاد می‌شدند. سپس وسط غشاء اطلس- اکسی پیتال سوراخ کوچکی ایجاد می‌شد که منجر به خروج مایع مغزی- نخاعی می‌گردید که نشانه‌ای از دسترسی به فضای زیر عنکبوتیه بود. یک لوله پلی اتیلن ۱۰ به طول ۱۱ سانتیمتر آماده و ۸ سانتی متر آن به آرامی در فضای زیر عنکبوتیه به طرف قطعه کمری نخاع پیش برده می‌شد. لوله پلی اتیلن قبل از استفاده، به وسیله اتانول ۷۰٪ استریل و سپس با سالین استریل شسته می‌شد. موشهای صحرایی دارای کانول تغییر معنی داری را در زمان تاخیر Tail Flick قبل و بعد از جراحی نشان نمی‌دادند (اطلاعات نشان داده نشده است). ۳ سانتیمتر از لوله خارج از نخاع قرار می‌گرفت و برای تزریق دارو استفاده می‌شد. تنها حیواناتی که بعد از کانول گذاری نقص حرکتی پیدا نمی‌کردند مورد آزمایش قرار می‌گرفتند. دارو یا سالین به صورت داخل نخاعی در حجم ۱۰µl/rat تزریق می‌شد.

از تزریق مزمن مرفین به صورت داخل نخاعی، ۱۵µg/rat (در حجم ۱۰µl/rat) دو بار در روز (صبح و عصر) به مدت ۵ روز برای القاء تحمل به مرفین استفاده می‌شد [۲۴] و برای بررسی اثر مهاری کاتیون منگنز روی تکوین تحمل به مرفین، گروه اول از موشهای صحرایی ۱۰µl/rat سالین و ۱۵ دقیقه بعد از آن ۱۵µg/rat (در حجم ۱۰µl/rat) مرفین را به صورت داخل نخاعی دریافت می‌کردند. گروه دوم ۱۵µg/rat مرفین (i.t.) را ۱۵ دقیقه بعد از تزریق ۲۰ nmol/rat کاتیون منگنز (در حجم ۱۰µl/rat) دریافت می‌کردند. دو گروه کنترل دیگر سالین (۱۰ µl/rat-i.t.) را بعد از تزریق داخل نخاعی کاتیون منگنز یا سالین دریافت می‌کردند. این روند به مدت ۵ روز تکرار می‌شد.

۱۴ ساعت پس از آخرین تزریق برای القاء تحمل (روز ششم) حیوانات یک دوز دیگر مرفین (۱۵µg/rat) دریافت می‌کردند و اثر ضددردی آن با استفاده از آزمون Tail Flick [۱۱] ارزیابی می‌شد. سنجش میزان بی دردی قبل از تزریق مرفین و ۱۵، ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ دقیقه بعد از تزریق مرفین یا سالین ۹/۰٪ (گروه کنترل) انجام گرفت. سه زمان تاخیر Tail Flick پایه قبل از تزریق مرفین اندازه‌گیری می‌شد و میانگین آنها به عنوان زمان تاخیر پایه در نظر گرفته می‌شد. در هر مورد زمان تاخیر برای کشیدن دم، سه بار با فواصل یک دقیقه‌ای اندازه‌گیری می‌شد و میانگین آن به عنوان زمان تاخیر قبل (BL) و یا بعد (TL) از مصرف دارو محاسبه می‌شد. شدت نور دستگاه طوری تنظیم می‌شد که زمان تاخیر پایه بین ۳ تا ۴ ثانیه باشد. برای جلوگیری از صدمه بافت، تابش نور پس از ۸ ثانیه قطع می‌شد (cut-off time). برای مقایسه پاسخ زمان تاخیر آزمون Tail-flick در گروههای مختلف با کمک فرمول زیر درصد بیدردی از حد اکثر بیدردی ممکن (MPE %) محاسبه می‌شد [۲۰].

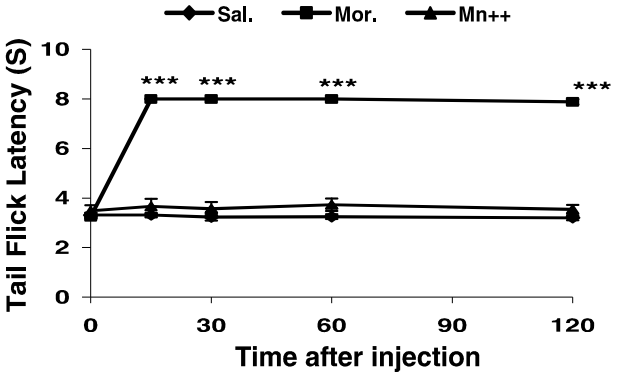
$$\% \text{ MPE} = [(\text{TL-BL}) / (\text{Cut-off time- BL})] \times ۱۰۰$$

نتایج بصورت میانگین±SEM ارائه شده اند. تفاوت آماری بین زمان تاخیر در آزمون Tail Flick در قبل و بعد از مصرف دارو با آزمون Paird t-student برآورد شده است. تفاوت بین میانگین اثر بی دردی از حداکثر اثر ممکن در گروههای مختلف با کمک آزمون ANOVA یکطرفه و بدنبال آن آزمون Tukey برآورد شد. $P<۰/۰۵$ به عنوان حداقل سطح معنی دار بودن تفاوت میانگین‌ها مورد استفاده قرارگرفته است.

یافته‌ها

همانطور که در (شکل ۱) نشان داده شده است، در مصرف تک دور مرفین با دوز ۱۵ µg/rat-i.t. در موشهای صحرایی بی‌دردی معنی داری را ایجاد نمود. تک دوز کاتیون منگنز و سالین (کنترل) هیچ گونه بی دردی ایجاد نکرد.

در موشهای صحرایی دریافت کننده سالین به مدت ۵ روز، تزریق مرفین با دوز ۱۵ µg/rat-i.t. در روز ششم بی دردی قوی ایجاد کرد که نشان دهنده عدم تحمل به مرفین به دنبال مصرف داخل نخاعی سالین است (شکل۲). در گروهی از حیوانات که کاتیون منگنز را به مدت ۵ روز (با دوز ۲۰ nmol/rat و در حجم ۱۰ µl) دریافت کرده بودند، تزریق مرفین با دوز۱۵µg/rat-i.t. در روز ششم بی دردی قوی ایجاد کرد. مصرف مزمن مرفین با دوز ۱۵ µg/rat-i.t. به مدت پنج روز باعث کاهش میزان بی دردی ناشی از همان دوز مرفین در روز ششم گردید (شکل۲).



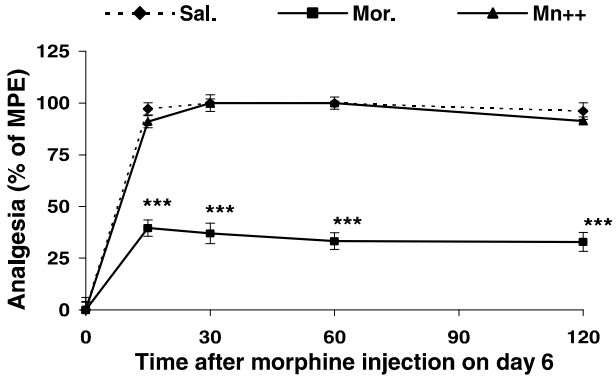
شکل ۱– مقایسه اثر تک دوز مرفین (.Mor)، سالین (.Sal) و کاتیون منگنز (Mn++) بر آستانه درد. مصرف تک دور مرفین با دوز .۱۵µg/rat-i.t در موشهای صحرایی بی دردی معنی داری را ایجاد نمود. تک دوز کاتیون منگنز (۲۰nmol/rat) و سالین (کنترل) هیچ گونه بی دردی ایجاد نکرد. *** P< ۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه دریافت کننده سالین. نتایج بصورت میانگین ± خطای استاندارد نشان داده شده است.

مصرف مزمن مرفین با دوز ۱۵ µg/rat-i.t. به همراه کاتیون منگنز به مدت پنج روز باعث شد تا در روز ششم مرفین به تنهایی قادر به ایجاد بی دردی قوی باشد. این بیدردی بطور معنی داری قویتر از اثر بی دردی مرفین در حیواناتی بود که قبلا به مدت ۵ روز مرفین تنها دریافت کرده بودند و البته بطور معنی داری ضعیف تر از بیدردی مرفین در حیواناتی بود که قبلا به مدت ۵ روز سالین تنها دریافت کرده بودند (شکل۳).

مقایسه زمان تاخیر Tail Flick بدنبال تک دوز مرفین (۱۵ µg/rat) یا کاتیون منگنز + مرفین، نشان داد که کاتیون منگنز اثری روی بیدردی مرفین ندارد (شکل ۴).

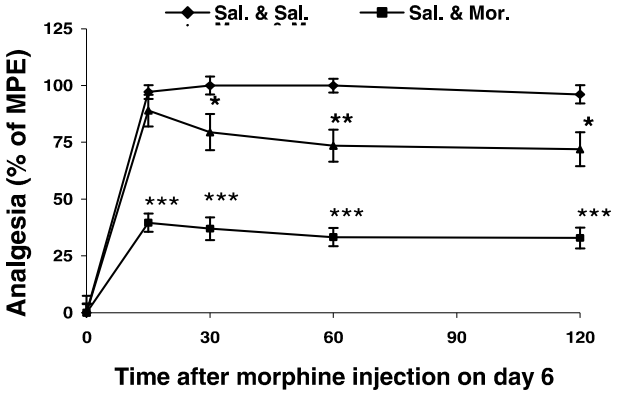
بحث

در این مطالعه فرض این بود که کاتیون منگنز می‌تواند بوسیله فعال کردن اینتگرینها از تکوین تحمل به اثر ضددردی مرفین در موش صحرایی ممانعت کند. برای القاء تحمل به اثر ضددردی مرفین، از تزریق داخل نخاعی آن به میزان .۱۵µg/rat-i.t به مدت ۵ روز و دو بار در روز (صبح و عصر) استفاده شد. نتایج بدست آمده حاکی از کاهش معنی دار اثر ضددردی مرفین در این گروه از حیوانات در روز ششم بود و نشان داد که مصرف مزمن مرفین با الگوی مذکور قادر است تا نسبت به اثر ضددردی همان دوز مرفین، ایجاد تحمل نماید.

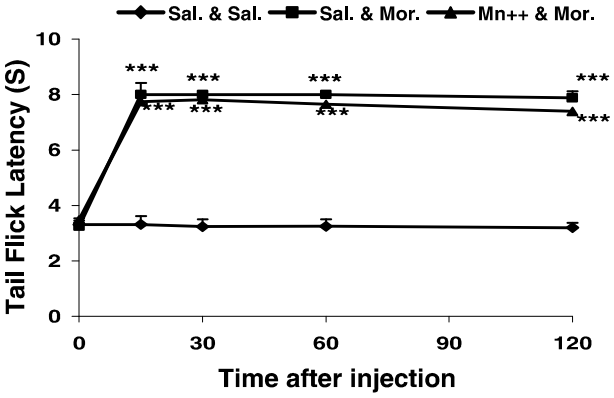


شکل ۲– بررسی تحمل زایی نسبت به بی دردی مرفین ۱۵µg/rat-i.t در اثر تجویز .i.t و مکرر مرفین (.Mor) سالین (.sal) و کاتیون منگنز (Mn++). در موشهای صحرایی که به مدت ۵ روز .۱۵µg/rat-i.t مرفین را در یافت می‌کردند، تحمل ایجاد شد. در موشهای صحرایی دریافت کننده سالین و کاتیون منگنز به مدت ۵ روز، تزریق مرفین با دوز .۱۵µg/rat-i.t در روز ششم بیدردی شدیدی ایجاد کرد. MPE= بیدردی از حداکثر بیدردی ممکن، *** P< ۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه دریافت کننده سالین در طی روزهای ۱ تا ۵. نتایج بصورت میانگین ± خطای استاندارد نشان داده شده است.

اینتگرینها یک خانواده از گیرنده‌های اتصال سلولی برای وساطت تغییرات در ارتباطات سیناپسی (پلاستیسیتی سیناپسی) هستند [۸, ۱۶, ۲۲, ۳۵]. گیرنده‌های اینتگرین دارای دو زیرواحد α و β هستند که هرکدام از زیرواحدها دارای چندین ایزوفرم هستند. این گیرنده‌ها امکان انتقال دوطرفه سیگنالهای بیوشیمیایی و مکانیکی را از عرض غشاء فراهم می‌کنند [۶, ۱۶]. اینتگرینها دارای زیرواحد کاتالکتیک نیستند و بنابراین سیگنالینگ اینتگرین به مولکولهای حدواسط وابسته است [۵]. دامنه سیتوپلاسمی کوتاه اینتگرینها دارای هیچ فعالیت آنزیمی نیست و بنابراین اینتگرینها مسیرهای پیام رسانی را توسط برهمکنش با پروتئینهای سیتوپلاسمی از جمله پروتئینهای اسکلت سلولی و پروتئینهای سیگنالینگ کاتالکتیک، وساطت می‌کنند [۴۰]. وقتی اینتگرینها به پروتئینهای ماتریکس بین سلولی (ECM) متصل می‌شوند، مجتمع شده و اجتماعات اینتگرینی کانونی را تشکیل می‌دهند. تشکیل این کانونها مکانیسمی را فراهم می‌کند که بوسیله آن مولکولهای پیام رسانی سیتوپلاسمی می‌توانند کنار هم قرار گیرند [۵]. حداقل ۲۱ پروتئین از جمله پروتئینهای متصل شونده به اکتین، آنزیمها، پروتئینهای آداپتور و فعال کننده‌های نسخه برداری، شناخته شده‌اند که به انتهای سیتوپلاسمیک اینتگرینهای بتا متصل می‌شوند [۲۸]. بنابراین، اینتگرینها، جنبه‌های مختلفی از رشد



شکل ۳- کاهش بارز تحمل به مرفین به دنبال مصرف داخل نخاعی و مکرر کاتیون منگنز. در موشهای صحرایی دریافت کننده کاتیون منگنز+ مرفین به مدت ۵ روز، تزریق مرفین با دوز ۱۵µg/rat-i.t. در روز ششم بی دردی شدیدی ایجاد کرد. ***P< ۰/۰۰۱، **P< ۰/۰۱، *P< ۰/۰۵ در مقایسه با گروه دریافت کننده دو دوز سالین در طی روزهای ۱ تا ۵. نتایج بصورت میانگین ± خطای استاندارد نشان داده شده است.



شکل ۴- عدم تداخل کاتیون منگنز با اثر ضد دردی مرفین در مصرف داخل نخاعی و توام. مصرف تک دوز مرفین با دوز ۱۵µg/rat-i.t. به تنهایی و یا به همراه کاتیون منگنز باعث بی دردی مشابهی گردید. ***P< ۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه دریافت کننده دو دوز سالین. نتایج بصورت میانگین ± خطای استاندارد نشان داده شده است.

وتمایز نرونی را تحت تاثیر قرار می‌دهند [۱۷, ۳۸]. اینتگرینها بویژه در نواحی سیناپسی فراوان‌اند [۴۹]. این اینتگرینها بیشتر در سرخارهای دندریتی قرار دارند و در انتهای آکسونی اغلب تراکم کمتری نسبت به خارهای دندریتی نشان می‌دهند [۳۳]. اینتگرینها می‌توانند عملکرد رسپتورهای جفت شونده با G- پروتئین (GPCRs) و اجزای سیگنالینگ مرتبط با آنها را تنظیم کنند. بعضی از G پروتئینها به طور مستقیم بوسیله مولکولهای حدواسط به اینتگرینهای خاصی متصل می‌شوند. بنابراین، اینتگرینها می‌توانند سیگنالینگ را بوسیله بعضی از GPCRها از قبیل رسپتورهای اپیوئیدی تحت تاثیر قرار دهند [۵]. ارتباط فیزیکی میان اینتگرینهای متصل شونده به توالی آرژنین- گلایسین- آسپارتات (RGD) و گیرنده اپیوئیدی میو (MOR) در نرونهای هسته عصب سه قلو گزارش شده است. اینتگرینهای متصل شونده به RGD در این نرونها همراه با MOR هستند که به نقاط خاصی که اتصالات کانونی هستند، محدود می‌شوند. همچنین این اینتگرینها نقش مهمی را در تنظیم سیگنالینگ اپیوئیدی در نورونهای هسته عصب سه قلو بازی می‌کنند. گیرنده‌های اپیوئیدی میو (MOR) در اجتماعات کانونی ذکر شده بیشتر وجود دارند [۵]. بطور خلاصه این اطلاعات پیشنهاد می‌کند که تنظیم الگوی پراکندگی MOR و تنظیم مولکولهای سیگنالینگ بوسیله اینتگرینهای متصل شونده به RGD ممکن است برای سیگنالینگ موثر در نورونهای هسته عصب سه قلو ضروری باشد [۵]. فعال شدن اینتگرینها بطور بارزی cAMP داخل سلولی را کاهش می‌دهد. غیرفعال کردن بتا ۱ اینتگرین، سیگنالینگ DAMGO (لیگاند رسپتور اپیوئیدی میو) را مهار می‌کند و موجب مهار کاهش cAMP در این سلولها می‌شود. این پیشنهاد می‌کند که اینتگرینهای اتصال کانونی احتمالا بوسیله تغییر تعاملات با G پروتئینها (مثلاً Gαi در مقابلGαs)، سیگنالینگ رسپتور اپیوئیدی میو را کنترل می‌کنند، [۵]. علاوه بر این، کانالهای وابسته به لیگاند، بویژه رسپتورهای گلوتامات بوسیله اینتگرینها کنترل می‌شوند. همچنین شواهدی وجود دارند که اینتگرینها می‌توانند کانالهای یونی را تنظیم کند و کمپلکس‌های ماکرومولکولی را تشکیل می‌دهند، بنابراین، در تعیین مکان کانال در غشای پلاسمایی شرکت دارند. همانطور که اینتگرینها فعالیت کانالها را کنترل می‌کنند، کانالها نیز فعال شدن و بیان اینتگرین را کنترل می‌کنند. در نرونهای هیپوکمپ، اینتگرینها موجب افزایش بیان کانال kv4.2 می‌شوند [۲]. بنابراین بنظر می‌رسد اینتگرینها نقشی فعال و مهم در تمرکز گیرنده‌های غشایی از جمله گیرنده‌های اپیوئیدی میو و کانالهای یونی در نقاطی خاص، بویژه در سیناپس‌ها دارند و از این طریق در افزایش کارآیی سیناپسی موثر هستند.

کاتیون منگنز باعث فعال شدن اینتگرینها می‌شود [۱۰, ۱۵, ۲۳, ۳۱, ۴۲, ۵۰] و از میان کاتیونهای دو ظرفیتی بیشترین اثر را روی فعال شدن اینتگرینها دارد [۳۱]. اثر کاتیون

منگنز روی گیرنده‌های اینتگرین چندین گونه سلولی ثابت شده است [۱۲, ۱۸, ۱۹]. کاتیون منگنز با دمین خارج سلولی اینتگرینها متصل شده و موجب فعال شدن آن می‌شود [۱, ۲۶, ۴۲, ۵۱]. زیرواحد α اینتگرین دارای ناحیه متصل شونده به یون فلزی است که می‌تواند به طور بارزی اتصال اینتگرین را به مولکولهای ECM تحت تاثیر قرار دهد، برای مثال زیرواحد αv اینتگرین دارای چهار ناحیه متصل شونده به یونهای فلزی می‌باشد که در نزدیکی جایگاهی است که ECM به اینتگرین متصل می‌شود. در مقایسه با همه کاتیونهای دو ظرفیتی، کاتیون منگنز بالاترین میل اتصالی را برای αv دارد و اتصال کاتیون منگنز قادر است میل اتصالی اینتگرین را به ECM افزایش دهد [۳۹]. همچنین در سلولهای فئوکروموسیتومای موش صحرایی (PC12)، اینتگرینها پیام کاتیون منگنز را به داخل سلول منتقل می‌کنند. در این سلولها کاتیون منگنز موجب رشد نرونی می‌شود که بوسیله β1 اینتگرین وساطت می‌شود و αv اینتگرینها نقش بارزی در این رشد نرونی دارند [۲۶]. همچنین کاتیون منگنز بوسیله تنظیم اتصال گیرنده اینتگرین به پروتئینهای ماتریکس خارج سلولی، نقش مهمی را در تمایز سلولی دارد [۳۷]. به نظر می‌رسد کاتیون منگنز با فعال کردن اینتگرینها موجب افزایش قدرت اتصالات غشایی در سیناپسها و تمرکز گیرنده‌های غشایی مانند گیرنده‌های اپیوئیدی و کانالهای یونی در سیناپس‌ها می‌شود و بدین وسیله کارآیی سیناپس را افزایش می‌دهند و از طرفی با تنظیم الگوی پراکندگی گیرنده‌های اپیوئیدی و متمرکز کردن آنها در سیناپس‌ها، می‌توانند کارآیی این گیرنده‌ها را در سیناپس‌ها افزایش دهند.

اطلاعاتی وجود دارد که نشان می‌دهند مرفین (بصورت داخل نخاعی) موجب افزایش mRNA اینتگرین αM می‌شود [۴۵]. افزایش میزان mRNA اینتگرینها می‌تواند دو علت داشته باشد: ۱- افزایش مستقیم بیان توسط مرفین. ۲- فیدبک ناشی از مهار اینتگرین توسط مرفین مکرر. فعال کردن اینتگرینها بوسیله منگنز موجب مهار تحمل به اثر ضددردی مرفین می‌شود. همچنین نتایج اولیه آزمایشات ما نشان داد که تزریق توام منگنز + مرفین منجر به کاهش mRNA اینتگرین نسبت به گروه مرفین تنها می‌شود (اطلاعات چاپ نشده). بر اساس مطالعات قبلی، ایجاد تحمل با افزایش NO، PKC و CaMKII همراه است. هر سه این مولکولها به گونه‌ای اثرات مهاری روی فعال شدن اینتگرینها دارند [۳, ۱۴, ۲۱, ۲۵, ۳۰]. بنابراین، شاید بتوان پیشنهاد کرد که منگنز با فعال کردن اینتگرینها و مخالفت با اثرات مهاری اپیوئیدها بر اینتگرینها، می‌تواند تا حدودی از اثرات ناخواسته اپیوئیدها از قبیل تحمل جلوگیری کند.

مکانیسمهای احتمالی دیگری برای اثر کاتیون منگنز در مهار روند تحمل به مرفین می‌توان مطرح نمود که بیشتر مستقل از اینتگرینها می‌باشد. در تکوین تحمل به مرفین تولید NO افزایش می‌یابد [۲۱] از طرفی کاتیون منگنز قادر است فعالیت آنزیمی iNOS را کاهش دهد و از این طریق می‌تواند سنتز NO را کم کند [۹]، بنابراین شاید بتوان پیشنهاد کرد که کاتیون منگنز با کاهش تولید NO قادر است از تکوین تحمل به مرفین جلوگیری کند.

علاوه براین، کاتیون منگنز برای فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز (SOD) ضروری است، این آنزیم در نخاع با حذف سوپر اکسید، هایپرآلجزیای ایجاد شده با گیرنده NMDA را از بین می‌برد [۳۲] و ممکن است با جلوگیری از فعال شدن این گیرنده از تحمل به مرفین ممانعت کند. یکی از مکانیسمهایی که در تکوین تحمل به مرفین نقش دارد، فعال شدن گیرنده‌های NMDA می‌باشد [۲۹، ۴۸].

منابع

[1] Adair BD, Xiong JP, Maddock C, Goodman Sl, Arnaout MA, Yeager M, Three-dimensional EM structure of the ectodomain of integrin αvβ3 in a complex with fibronectin. ***J Cell Biol*** 168 (2005) 1109-1117.

[2] Arcangeli A, Becchetti A, Complex functional interaction between integrin receptors and ion channels. ***Trends Cell Biol*** 16 (2006) 631-639.

[3] Banick PD, Chen Q, Thom SR, Nitric oxide inhibits neutrophil beta 2 integrin function by inhibiting membrane-associated cyclic Gmp synthesis. ***J Cell Physiol*** 172 (1997) 12-24.

[4] Barhoumi R, Faske J, Liu X, Tjalkens RB, Manganese potentiates lipopolysaccharide-induced expression of NOS2 in C6 glioma cells through mitochondrial-dependent activation of nuclear factor kappaB. ***Mol Brain Res*** 122 (2004) 167-179.

[5] Berg KA, Zardeneta G, Hargreaves KM, Clarke WP, Milam SB, Integrins regulate opioid receptor signsling in trigeminal ganglion neurons. ***Neuroscience*** 144 (2007) 889-897.

[6] Brassard DL, Maxwell E, Malkowski M, Nagabhushan TL, Kumar CC, Armstrong L, Integrin αvβ3-mediated activation of apoptosis. ***Exp Cell Res*** 251 (1999) 33-45.

[7] Centonze D, Gubellini P, Bernardi G, Calabresi P, Impaired Excitatory Transmission in the Striatum of Rats Chronically Intoxicated with Manganese. ***Exp Neurol*** 172 (2001) 469-476.

[8] Chan CS, Weeber EJ, Kurup S, Integrin requiremeant for hippocampal synaptic and spatial memory. ***Neuroscience*** 23 (2003) 7107-7116.

[9] Chen CJ, Ou YC, Lin SY, Liao SL, Chen SY, Chen JH, Manganese modulates pro-inflammatory gene expression in activated glia. ***Neurochem Int*** 49 (2006) 62-71.

[10] Czekay RP, Aertgeerts K, Curriden SA, Loskutoff DJ, Plasminogen activator inhibitor-1 detaches cells from extracellular matrices by inactivating integrins. ***J Cell Biol*** 160 (2003) 781-779.

[11] D'Amour FE, Smith DL, A method for detemination loss of pain sensation. ***J Pharmacol Exp Ther*** 72 (1941) 74-79.

[12] Elices MJ, Urry LA, Hemler ME, Receptor functions for the integrin VLA-3: fibronectin, collagen, and laminin binding are differentially influenced by Arg-Gly-Asp peptide and by divalent cations. ***J Cell Biol*** 112 (1991) 169-181.

[13] Erikson KM, Aschner M, Manganese neurotoxicity and glutamate-GABA interaction. ***Neurochem Int*** 43 (2003) 475-480.

[14] Fan GH, Wang LZ, Qiu HC, MAL P, Inhibition of calcium/calmodulin dependent protein kinase II in rat hippocampus attenuates morphine tolerance and dependence. ***Mol Pharmacol*** 56 (1999) 39-45.

[15] Fujimoto TT, Katsutani Sh, Shimomura T, Fujimura K, Thrombospondin-bound Integrin-associated Protein (CD47) Physically and Functionally Modifies Integrin $\alpha_{IIb}\beta_3$ by Its Extracellular Domain. ***J Biol Chem*** 278 (2003) 26655-26665.

[16] Gibson RM, Craig SE, Heenan L, Tournier C, Humphries MJ, Activation of inegrin α5β1 delays apoptosis of Ntera2 neuronalcells. ***Mol Cell Neurosci*** 28 (2005) 588-598.

[17] Granados-Soto V, Kalcheva I, Hua XY, Newton A, Yaksh TL, Spinal PKC activity and expression: role in tolerance produced by continuous spinal morphine infusion. ***Pain*** 85 (2000) 395-404.

[18] Grazia M, Lampugnani MG, Bernasconi S, Neri P, Lozzi L, Gavazzi I, Marchisio PC, Dejana E, Role of manganese in MG-63 osteosarcoma cell attachment to fibrinogen and von Willebrand factor. ***Lab Invest*** 65 (1991) 96-103.

[19] Grinnell F, Backman R, Role of integrin receptors in manganesedependent BHK cell spreading on albumin-coated substrata. ***Exp Cell Res*** 195 (1991) 218-223.

[20] Harris LS, Pierson AK, Some narcotic antagonists in the benzomorphan series. ***J Pharmacol Exp Ther*** 143 (1964) 141-148.

[21] Heinzen EL, Pollack GM, Pharmacodynamics of morphine-induced neuronal nitric oxide production and antinociceptive tolerance development. ***Brain Res*** 1023 (2004) 175– 184.

[22] Hoffman KB, The relationship between adhesion molecules and neuronal plasiticity. ***Cell Mol Neurobiol*** 18 (1998) 461-470.

[23] Ivins JK, Yurchenco PD, Lander AD, Regulation of Neurite Outgrowth by Integrin Activation. ***J Neurosci*** 20 (2000) 6551–6560.

[24] Javan M, Motamadi F, Kazemi B, Changes in G proteins genes expression in rat lumbar spinal cord support the inhibitory effect of chronic pain on the development of tolerance to morphine analgesia. ***Neurosci Res*** 53 (2005) 250–256.

[25] Lavaska J, Whelan RDH, Watso R, PKCε controls the traffic of β1 integrins in motile cells. ***EMBO J*** 21 (2002) 3608-3819.

[26] Lein P, Gallagher PJ, Amodeo J, Howie H, Roth JA, Manganese induces neurite outgrowth in PC12 cells via upregulation of αv integrins. ***Brain Res*** 885 (2000) 220-230.

[27] Leitinger B, McDowall A ،Stanley P, Hogg N, The regulation of integrin function by Ca^{2+}. ***Biochem Biophys Act*** 1498 (2000) 91-98.

[28] Liu S, Calderwood DA, Ginsberg MH, Integrin cytoplasmic domain-binding proteins. ***J Cell Sci*** 113 (2000) 3563-3571.

[29] Mao J, Price DD, Mayer DJ, Mechanisms of hyperalgesia and morphine tolerance: a current view of

their possible interactions. ***Pain*** 62 (1995) 274-259.

[30] Massimo C, Pasquale M, Antonietta RM, Giovanni M, Ermenegildo S, uno A, Nitric Oxide Inhibits Neutrophil Adhesion during Experimental Extracorporeal Circulation. ***Anesthesiology*** 89 (1998) 443-448.

[31] Mould AP, Garratt AN, Puzon-Mclanughlin W, Takada Y, Humphries MJ, Regulation of integrin function: evidence that bivalent-cation-induced conformational changes lead to the unmasking of ligand-binding sites within integrin α5β1. ***Biochem J*** 331 (1998) 821-828.

[32] Muscoli C, Mollace V, Wheatley J, Masini E, Superoxide-mediated nitration of spinal manganese superoxide dismutase: a novel pathway in N-methyl-D-aspartate-mediated hyperalgesia. ***Pain*** 111 (2004) 96-103.

[33] Nishimura SL, Boylen KP, Einheber S, Milner TA, Ramos DM, Pytela R, Synaptic and glial localization of the integrin [alpha]v[beta]8 in mouse and rat brain. ***Brain Res*** 791 (1998) 271-282.

[34] Pearson GF, Greenway GM. Recent developments in manganese speciation. ***Trends Analyt Chem*** 24 (2005) 803-809.

[35] Pinkstaff JK, Detterrich J, Lynch G, Gall C, Integrin subunit gene expression is regionally differentiated in adult brain. ***J Neurosci*** 19 (1999) 1541-1556.

[36] Plow EF, Haas TA, Zhang L, Loftusi J, Smith JW, Ligand Binding to Integrins. ***J Biol Chem*** 275 (2000) 21785-21788.

[37] Reichardt LF, Tomaselli KJ, Extracellular matrix molecules and their receptors: functions in neural development. ***Neuroscience*** 14 (1991) 531-570.

[38] Ross RS, Molecular and mechanical synergy: cross-talk between integrins and growth factor receptors. ***Cardiovasc Res*** 63 (2004) 381-390.

[39] Roth JA, Horbinski C, Higgins D, Lein P, Garrick MD, Mechanisms of Manganese-Induced Rat Pheochromocytoma (PC12) Cell Death and Cell Differentiation. ***NeuroToxicology*** 23 (2002) 147-157.

[40] Schottelndreier H, Mayr GW, Guse AH, β_1-Integrins Mediate Ca^{2+}-Signalling and T Cell Spreading via Divergent Pathways. ***Cell Signal*** 11 (1999) 611-619.

[41] Sengupta A, Mense SM, Lan C, Zhou M, Mauro RE, Kellerman L, Bentsman G, Volsky DJ, Louis ED, Gene expression profiling of human primary astrocytes exposed to manganese chloride indicates selective effects on several functions of the cells. ***NeuroToxicology*** 28 (2007) 478-89.

[42] Takagi J, Erickson HP, Springer TA, C-terminal opening mimics inside-out activation of integrin α5β1. ***Nat Struct Biol*** 8 (2001) 412-416.

[43] Takeda A, Sawashita J, Okada S, Manganese concentration in rat brain: manganese transport from the peripheral tissues. ***Neurosci lett*** 242 (1998) 45-48.

[44] Takeda A, Sotogaku N, Oku N, Influence of manganese on the release of neurotransmitters in rat striatum. ***Brain Res*** 965 (2003) 279-282.

[45] Tawfik VL, LaCroix-Fralish ML, Nutile-McMenemy N, DeLeo JA, Transcriptional and Translational Regulation of Glial Activation by Morphine in a Rodent Model of Neuropathic Pain. ***J Pharmacol Exp Ther*** 313 (2005) 1239-1212.

[46] Tjalkens RB, Zoran MJ, Mohl B, Barhoumi R, Manganese suppresses ATP-dependent intercellular calcium waves in astrocyte networks through alteration of mitochondrial and endoplasmic reticulum calcium dynamics. ***Brain Res*** 1113 (2006) 210 - 219.

[47] Torrente M, Colomina MT, Domingo JL, Effects of prenatal exposure to manganese on postnatal development and behavior in mice: Inf luence of maternal restraint. ***Neurotoxicol Teratol*** 24 (2002) 219-225.

[48] Trujillo KA, Akil H, Inhibition of morphine tolerance and dependence by the NMDA receptor antagonist MK-801. ***Science*** 251 (1991) 85-87.

[49] Watson PMD, Humphries MJ, Relton J, Rothwell NJ, Integrin-binding RGD peptides induce rapid intracellular calcium increases and MAPK signaling in cortical neurons. ***Mol Cell Neurosci*** 34 (2007) 147-154.

[50] Xiong JP, Stehle T, Zhang R, Joachimiak A, Frech M, Goodman SL, Arnaout MA, Crystal Structure of the Extracellular Segment of Integrin aVb3 in Complex with an Arg-Gly-Asp Ligand. ***Science*** 296 (2002) 151-155.

[51] Xiong JP, Stehle T, Goodman SL, Arnaout MA, ntegrins, cations and ligands: making the connection. ***J Thromb Haemost*** 1 (2003) 1642-1654.

[52] Yaksh TL, Ruddy TA, Chronic catheterization of the spinal sub-arachnoid space. ***Physiol Biochem Behav*** 17 (1976) 1031-1036.