Physiology and Pharmacology, 15 (2), 221-228
Summer 2011 [Article in Persian]

Physiology and Pharmacology

Microinjection of orexin-A into the locus coeruleus area induces morphine withdrawal-like behaviors in morphine dependent rats

Hossein Azizi, Saeed Semnanian, Seyed Javad Mirnajafi-Zadeh

Dept. Physiology, School of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

Received: 14 Nov 2010 **Accepted: 11 Jun 2011**

Abstract

Introduction: It has been shown that orexin peptides have a role in opioid withdrawal behaviors. Orexin-expressing neurons that are present in the hypothalamic nuclei send dense projections to the Locus Coeruleus (LC). Withdrawal syndrome is temporally associated with hyperactivity of LC neurons. However, LC neurons do not show withdrawal-induced hyperactivity in the brain slices from morphine-dependent rats. Thus, it has been suggested that the increase in LC neuronal activity seen in vivo is mediated by extrinsic factors. Therefore, this study was carried out to find whether LC microinjection of orexin-A can induce withdrawal behaviors.

Methods: Adult male Wistar rats weighing 250-300 grams were rendered morphine dependent by subcutaneous injection of morphine sulfate (10 mg/kg) at an interval of 12 h for 9 days. On day 10, intra-LC microinjection of orexin-A (100 μM, 200 nl) was performed two hours after morphine administration. Thereafter, somatic signs of withdrawal were evaluated in a Plexiglas chamber (30 cm diameter, 50 cm height) during a period of 25 min.

Results: Orexin-A induced several signs of morphine withdrawal including chewing, scratching, rearing, teeth chattering, wet-dog shake and paw tremor. Acute LC microinjection of an orexin type 1 receptor antagonist, SB-334867-A, prior to orexin-A prevents the expression of these signs.

Conclusion: It may be concluded that orexin, via orexin type 1 receptor at LC acts as an extrinsic factor in the expression of morphine withdrawal syndrome.

Key words: Orexin-A, SB-334867, Morphine withdrawal, Locus coeruleus

* Corresponding author e-mail: ssmenan@modares.ac.ir
Available online at: www.phypha.ir/ppj

فیزیولوژی و فارماکولوژی

فیزیولوژی و فارماکولوژی ۱۵ (۲)، ۲۲۱ – ۲۲۸
تابستان ۱۳۹۰

القاء علائم رفتاری شبه محرومیت از مورفین با تزریق اورکسین A به داخل هسته لوکوس سرولئوس در موش‌های صحرایی وابسته به مورفین

حسین عزیزی، سعید سمنانیان*، سید جواد میرنجفی زاده
گروه فیزیولوژی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

دریافت: ۲۳ آبان ۸۹ پذیرش: ۲۱ خرداد ۹۰

چکیده

مقدمه: نوروپپتید اورکسین که از هسته های هیپوتالاموسی منشأ می گیرد در رفتارهای محرومیت اپیوئیدی نقش دارد. هسته لوکوس سرولئوس (LC) متراکم ترین فیبرهای اورکسینرژیک را دریافت می کند. سندرم محرومیت از نظر زمانی با افزایش فعالیت نورون های هسته LC منطبق است. با وجود این، افزایش فعالیت القایی با محرومیت در این نورون ها در محیط in vitro اتفاق نمی افتد. بنابراین ممکن است فاکتورهایی خارج از این هسته سبب تشدید فعالیت نورون های هسته LC طی سندرم محرومیت شوند. در این مطالعه می خواهیم بدانیم که آیا تزریق اورکسین A به داخل هسته LC قادر است سبب بروز علایم رفتاری سندرم محرومیت در موش های صحرایی وابسته به مورفین شود.

روش ها: موش های نر بالغ (ویستار) در محدوده وزنی ۲۵۰ تا ۳۰۰ گرم از طریق تزریق زیر جلدی مورفین (10 mg/kg ,1 ml/kg) دو بار در روز با فاصله ۱۲ ساعته به مدت ۹ روز به مورفین وابسته می شدند. در روز دهم ۲ ساعت پس از تزریق مورفین، اورکسین A (100 µM, 200 nl) به داخل هسته LC تزریق می شد. این تیمار به دنبال تزریق آنتاگونیست آن، SB-3334867-A (100 µM, 0.2 µl)، نیز مورد ارزیابی قرار گرفت. علائم سندرم محرومیت به مدت ۲۵ دقیقه در حالی که حیوان در یک استوانه شفاف از جنس پلکسی گلاس بود ارزیابی می شد.

یافته ها: اورکسین A توانست سبب القاء چندین علامت از علائم سندرم محرومیت شود (جویدن، خاراندن، روی پاها ایستادن، دندان قروچه، سگ لرزه و لرزش اندام جلویی). همچنین تزریق آنتاگونیست اورکسین A به داخل هسته لوکوس سرولئوس، SB-334867-A، قبل از تزریق اورکسین A سبب کاهش این علائم شد.

نتیجه گیری: بنابراین ممکن است اورکسین از طریق گیرنده آن در هسته LC به عنوان یک فاکتور خارج از هسته در ایجاد علائم رفتاری سندرم محرومیت نقش ایفا کند.

واژه‌های کلیدی: اورکسین A، SB-334867، محرومیت از مورفین، لوکوس سرولئوس

مقدمه

در بسیاری از مدل های وابستگی به دارو، ترغیب مثبت و منفی دو جزء کلیدی هستند. تداوم استفاده از دارو، بخشی به دلیل ترغیب مثبت از آثار پاداش دریافت دارو است و بخشی به خاطر ترغیب منفی از سندرم محرومیت است که با قطع دارو ایجاد می شود.

مطالعات متعددی نشان داده اند که هسته LC در وابستگی به اوپیات ها دخیل است. در این سلول ها تراکم بالایی از گیرنده های اوپیاتی بویژه μ و κ وجود دارد [۲۴]. کاربرد موضعی یا سیستمیک اوپیات ها در موش های صحرایی سبب مهار ثبت تک واحدی نورون های هسته LC می شود [۲]. در موش های صحرایی وابسته به اوپیات ها طی محرومیت القایی

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

با نالوکسان، افزایش بارزی در شلیک نورونی در هسته LC دیده می شود [۲،۳،۱۷]. دلایل متعددی نشان می دهند که افزایش فعالیت نورون های هسته LC نقش مهمی در بروز علائم محرومیت ایفا می کند؛ اولاً، از نظر زمانی، افزایش شلیک نورونی هسته LC با رفتارهای محرومیت مطابقت دارد [۱۷]. ثانیاً، تزریق سیستمیک یا موضعی کلونیدین (آگونیست گیرنده α۲ آدرنرژیک) به داخل هسته LC سبب سرکوب شلیک افزایش یافته نورون های این هسته [۲۰] و نیز خیلی از علائم رفتاری ناشی از محرومیت اوپیاتی می شود [۲۲]. ثالثاً، تخریب هسته LC علائم فیزیکی محرومیت اوپیاتی را کاهش می دهد [۱۱] و رابعاً، حساس ترین محل برای القای علائم محرومیت توسط تزریق موضعی آنتاگونیست اوپیاتی، هسته LC می باشد [۱۲].

فاکتورهای خارجی نقش مهمی در افزایش فعالیت ناشی از محرومیت اوپیاتی در نورون های هسته LC ایفا می کنند [۱۸]. تخریب هسته PGi (شکمی جانبی بصل النخاع) که منبع اصلی آوران های گلوتاماترژیک به هسته LC است سبب کاهش فعالیت افزایش یافته ناشی از محرومیت در این نورون ها می شود [۱۶]. همچنین در طی محرومیت القایی با نالوکسان، میزان گلوتامات خارج سلولی در این هسته افزایش می یابد [۱،۲۸] و این افزایش رهایش گلوتامات حدود ۳۰ دقیقه ماندگار است [۲۵]. تزریق نالوکسان یا گلوتامات به داخل هسته LC در موش های وابسته به مرفین سبب ایجاد علائم فیزیکی محرومیت می شود [۲۵].

اخیراً نشان داده شده است که پپتید کشف شده در دهه اخیر، اورکسین یا هیپوکرتین در وابستگی به دارو نقش ایفا می کند [۵]. پپتیدهای اورکسینی شامل اورکسین A و اورکسین B هستند که در ابتدا با نقش تحریکی بر غذا خوردن معرفی شدند [۲۰]. این پپتیدها از طریق دو گیرنده متصل به پروتئین G عمل میکنند، گیرنده نوع ۱ (OXR1) و گیرنده نوع ۲(OXR2) اورکسین [۱۳،۲۰]. نورون های حاوی اورکسین تعداد محدودی از نورون ها را در ناحیه هیپوتالاموس جانبی (LH) تشکیل می دهند [۱۵،۲۰]. علی رغم تعداد کم این نورون ها، توزیع وسیع استطاله های آنها در مغز نمایانگر اهمیت و عملکرد گسترده آن ها می باشد [۱۵]. هسته لوکوس سرولئوس (LC) حاوی متراکم ترین استطاله های اورکسینرژیک می باشد [۱۵]. شواهد متعددی نشان می دهند که اورکسین به عنوان بازیکنی مهم در وابستگی فیزیکی به مورفین و بروز علائم محرومیت ایفای نقش می کند؛ الف. کاهش چشمگیر علائم فیزیکی سندرم محرومیت در موش های فاقد اورکسین [۸]. ب. کاهش بارز علائم فیزیکی محرومیت از مورفین با تزریق داخل صفاقی آنتاگونیست گیرنده نوع ۱ اورکسین قبل از تزریق نالوکسان [۲۱]. ج. افزایش بیان cFos در نورون های اورکسینرژیک با القاء سندرم محرومیت از مورفین توسط نالوکسان [۲۱].

سندرم محرومیت با افزایش فعالیت نورون های هسته LC مرتبط است. این افزایش فعالیت القایی با محرومیت در محیط in vitro اتفاق نمی افتد. از آنجا که فعالیت نورون های اورکسینرژیک هنگام القاء سندرم محرومیت افزایش می یابد این سؤال مطرح می شود که آیا این فعالیت افزایش یافته فیبرهای اورکسینرژیک به هسته LC می تواند سبب تشدید فعالیت نورون های این هسته و سپس بروز رفتارهای محرومیت در موش های صحرایی وابسته به مورفین شود. برای پاسخ به این پرسش نوروپپتید اورکسین A را به هسته LC حیوانات وابسته به مورفین تزریق می نماییم.

مواد و روش ها

در این پژوهش موش های صحرائی نر بالغ نژاد ویستار (۳۰۰-۲۵۰ گرمی) تهیه شده از موسسه رازی کرج مورد استفاده قرار گرفتند. حیوانات در شرایط ۱۲ساعت تاریکی و۱۲ ساعت روشنایی با دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند و کار با حیوانات بر اساس مصوبه کمیته اخلاق دانشگاه تربیت مدرس انجام گرفت. برای تزریق داروها، ابتدا کانول‌گذاری بر اساس اطلس پاکسینوس انجام می‌شد. حیوان با تزریق داخل صفاقی ترکیبی از کتامین (100 mg/kg) و زایلوزین (10 mg/kg)، بیهوش می‌گردید و در دستگاه استریوتاکسی قرار می‌گرفت. بعد از ثابت کردن سر حیوان پوست ناحیه سر در خط وسط با تیغ جراحی به حداقل میزان برش داده می‌شد و براساس مختصات ذکر شده در اطلس پاکسینوس ناحیه مربوط به هسته LC در سطح جمجمه مشخص می‌گردید (۹/۸- میلی‌متر از برگما و ۱/۳ میلی‌متر از خط وسط) بعد از علامت-

گذاری ناحیه مذکور، با استفاده از مته‌های دندانپزشکی در محل مشخص شده منفذی به اندازه قطر کانول راهنما، ایجاد شده و کانول راهنما که از سر سوزن نمره ۲۳ دندانپزشکی ساخته می‌شد، ۱ میلی‌متر بالاتر از عمق ذکر شده در اطلس برای هسته LC (۷/۲ میلی‌متر شکمی نسبت به سطح جمجمه) درون مغز مستقر می‌گردید و به وسیله سیمان دندانپزشکی روی جمجمه ثابت می‌گردید. منفذ کانول راهنما در بیرون جمجمه توسط درپوشی از سر سوزن نمره ۳۰ دندانپزشکی که طول آن برابر طول کانول راهنما بود، مسدود می‌گردید.

پس از طی یک هفته دوره بهبودی حیوانات با تزریق زیر جلدی مورفین (10 mg/kg ,1 ml/kg) دو بار در روز با فاصله ۱۲ ساعته به‌مدت ۹ روز به مورفین وابسته می‌شدند [۷]. تزریق زیر جلدی در ناحیه پشت گردن و کتف انجام می‌گرفت.

در گروه‌های مورد مطالعه بعد از انجام تیمارها، علایم فیزیکی سندرم محرومیت در یک دوره زمانی ۲۵ دقیقه‌ای در حالی که حیوان در یک استوانه شفاف از جنس پلکسی‌گلاس با ابعاد ۳۰ سانتی‌متر قطر و ۵۰ سانتی‌متر ارتفاع و بستری از براده‌های چوب قرار می‌گرفت، شمارش می‌شدند. قبل از شروع ثبت علائم رفتاری، به منظور عادت کردن به شرایط محیط، حیوان به مدت یک ساعت در محفظه آزمایش قرار می‌گرفت. علائم بررسی شامل جویدن (Chewing)، خاراندن (Scratching)، روی دو پا ایستادن (Rearing)، دندان‌قروچه (Teeth chattering)، سگ‌لرزه (Wet-dog shake) و لرزش اندام جلویی (Paw tremor) بود. داروهای مورد استفاده در این بخش شامل مورفین سولفات (تماد)، SB-334867 (آنتاگونیست انتخابی گیرنده نوع۱ اورکسین) (Tocris)، اورکسین A (Sigma) می‌باشند. پودر مورفین در سرم فیزیولوژیک حل می‌شد. اورکسین A در ACSF با غلظت ۱۰۰ میکرومولار تهیه می‌شد و SB-33467 در 100% DMSO با غلظت ۱۰ میلی‌مولار حل می‌شد و سپس با کمک ACSF به ۱۰۰ میکرومولار رسانده می‌شد (DMSO 1%).

تزریق داخل هسته‌ای LC به حیوان هوشیار و در حالیکه آزادانه در قفس حرکت می‌کرد انجام می‌شد. به منظور تزریق از سر سوزن نمره ۳۰ که به اندازه ۱ میلی‌متر بلندتر از کانول راهنما تهیه شده بود و به یک لوله نازک پلی‌اتیلن (PE-20) متصل بود استفاده می‌گردید. انتهای دیگر لوله پلی‌اتیلن به سرنگ هامیلتون ۱ میکرولیتری وصل بود. تزریق‌ها به داخل هسته LC با مقدار ۲۰۰ نانولیتر در مدت زمان ۶۰ ثانیه انجام می‌گرفت. برای اطمینان از حجم تزریق شده، حرکت حباب هوایی که حین کشیدن دارو در لوله پلی‌اتیلن (PE-20) ایجاد می‌شد مد نظر قرار می‌گرفت. برای جلوگیری از جریان معکوس داروها به سمت کانول راهنما، کانول تزریق ۶۰ ثانیه بعد از پایان تزریق در محل خود باقی می‌ماند. پس از انجام هر آزمایش، مغز خارج می‌شد و با کمک اطلس پاکسینوس درستی محل تزریق بررسی می‌گردید. در صورتی که تزریق در محدوده هسته LC قرار می‌گرفت، داده‌های آن حیوان مورد ارزیابی واقع می‌شد. گروه‌های مورد مطالعه شامل (تیمارها در روز دهم ۲ ساعت پس از تزریق مورفین انجام می‌گرفت):

گروه ۱: در موش‌های وابسته به مورفین اورکسین A (100 μM, 200 nl) درون هسته LC تزریق می‌شد (n=6).

گروه ۲: در موش‌های وابسته به مورفین حلال اورکسین A (200 nl) درون هسته LC تزریق می‌شد (n=6).

گروه ۳: در موش‌های وابسته به مورفین، دو دقیقه قبل از تزریق داخل هسته‌ای اورکسین A، SB (100 μM, 200 nl) درون هسته LC تزریق می‌شد (n=6).

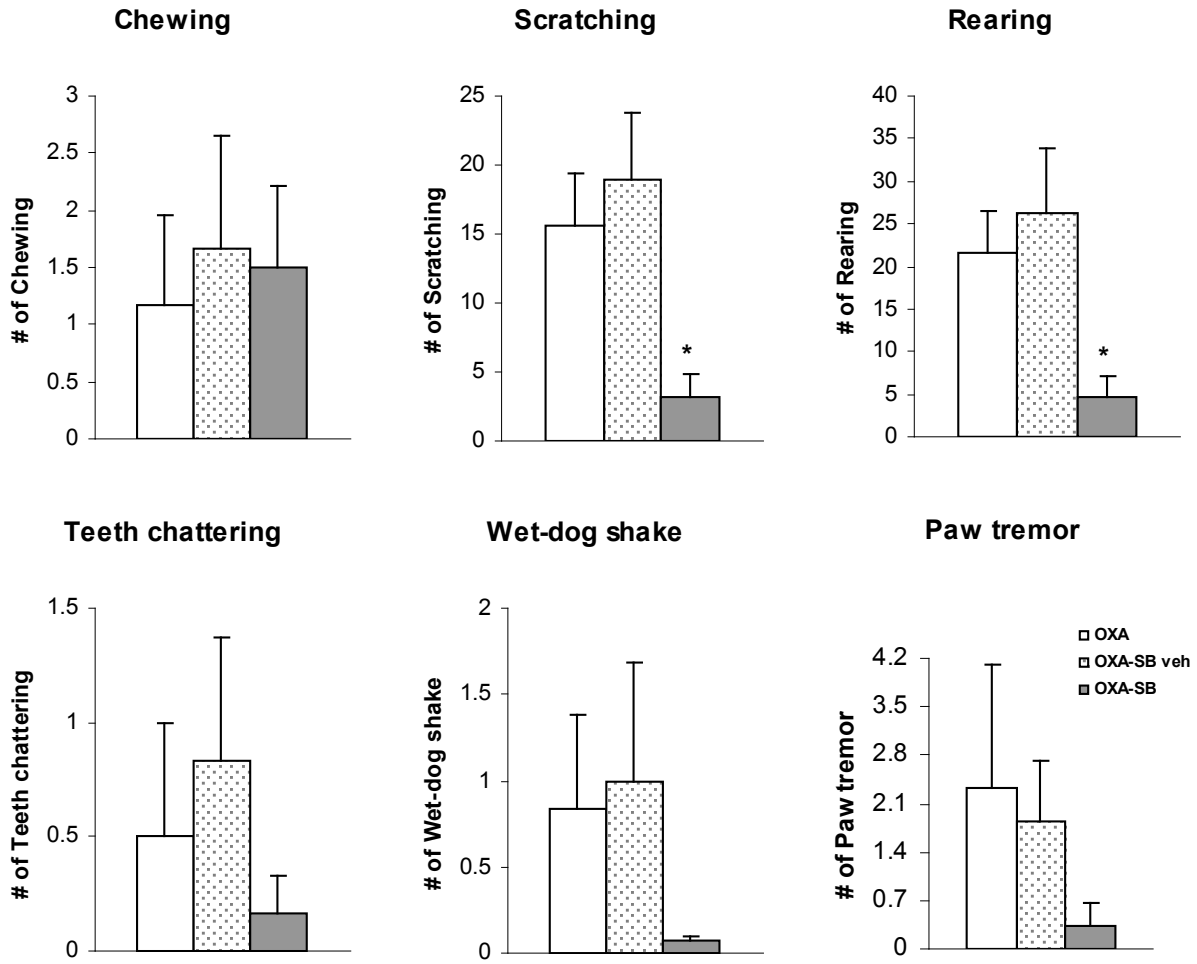
گروه ۴: در موش‌های وابسته به مورفین دو دقیقه قبل از تزریق داخل هسته‌ای اورکسین A، حلال SB (200 nl) درون هسته LC تزریق می‌شد (n=6). در بخش آنالیز داده‌ها در مواردی که توزیع نرمال وجود داشت از آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه (One Way ANOVA) و برای تعیین گروه‌های دارای اختلاف از آزمون Student-Newman-Keuls استفاده شد. گروه‌هایی که توزیع نرمال نداشتند با آزمون Kruskal-Wallis Test بررسی شدند و برای تعیین گروه‌های دارای اختلاف از Dunn's test استفاده شد. در مواردی که وجود یا عدم وجود یک علامت مد نظر بود از Chi-square test استفاده‌شد. $P<0.05$ ملاک معنی‌دار بودن اختلاف بین گروه‌های آزمایش در نظر گرفته شد.

یافته ها

مطالعه حاضر نشان داد که تزریق داخل هسته‌ای اورکسین A در حیوانات وابسته به مورفین می‌تواند سبب بروز رفتارهای

جدول ۱- القاء علائم سندرم محرومیت در موش‌های وابسته به مورفین با تزریق اورکسین A به هسته LC. تزریق داخل هسته‌ای اورکسین A (100 µM, 200 nl) و یا حلال اورکسین A به داخل هسته LC در روز دهم، ۲ ساعت پس از تزریق مورفین انجام شده‌است. مخرج کسرها تعداد کل حیوانات و صورت آن‌ها تعداد حیواناتی که علامت مذکور را نشان داده‌اند را نمایش می‌دهند (Chi-square test, *P<0.05, **P<0.01 n=6).

Withdrawal signs	Orexin-A vehicle	Orexin-A
Chewing	0/6	5/6*
Scratching	0/6	6/6**
Rearing	1/6	6/6*
Teeth chattering	0/6	2/6
Wet-dog shake	0/6	3/6
Paw tremor	0/6	2/6



شکل ۱- اثر تزریق یک طرفه SB به داخل هسته LC بر بروز علائم محرومیت از مورفین القایی با تزریق اورکسین A به داخل هسته LC در موش‌های وابسته به مورفین. تزریق SB (100 µM, 200 nl) به داخل هسته LC قبل از تزریق اورکسین A (100 µM, 200 nl) به داخل هسته LC انجام گرفت. گروه‌های تزریق داخل هسته‌ای اورکسین A (OXA)، پیش تیمار با حلال SB (OXA-SB veh) و پیش تیمار با SB (OXA-SB) با هم مقایسه شدند. داده‌ها به صورت میانگین ± خطای معیار نشان داده شده‌اند (*P<0.05, n=6).

جویدن (Chewing)، خاراندن (Scratching)، روی پاها ایستادن (Rearing)، دندان‌قروچه (Teeth chattering)، سگ‌لرزه (Wet-dog shake) و لرزش اندام جلویی (Paw tremor)، شود. در گروهی که حلال اورکسین A دریافت کرده بودند علایم سندرم محرومیت از مورفین مشابه گروه قبل مشاهده نشد (جدول ۱). در گروهی که قبل از تزریق اورکسینA، SB (آنتاگونیست انتخابی گیرنده نوع ۱ اورکسین) را دریافت کرده بودند کاهش چشمگیری در علائم رفتاری القایی با تزریق داخل هسته‌ای اورکسین A مشاهده شد. حلال SB سبب کاهش علائم القایی با اورکسین A نشد (شکل ۱)، هر چند که فقط کاهش دو علامت خاراندن (Scratching) و روی پاها ایستادن (Rearing) از نظر آماری معنی‌دار بود ($P<0.05$). این مسئله احتمالاً به دلیل پراکندگی زیاد داده‌های علائم رفتاری است که ممکن است با افزایش تعداد نمونه کاهش آنها نیز معنی‌دار شود.

بحث

میزان قابل توجهی از گیرنده‌های نوع ۱ اورکسین در هسته LC بیان می‌شود [۲۶]. از آنجا که میل اتصالی اورکسین A برای این گیرنده ۱۰۰ تا ۱۰۰۰ برابر بیشتر از اورکسین B است؛ به همین دلیل برای مطالعه اثر اورکسین در هسته LC از اورکسین A استفاده شد. غلظت اورکسین A و SB بر اساس مطالعاتی که این داروها را به‌صورت تزریق به داخل هسته LC استفاده کرده بودند انتخاب گردید [۴،۱۰].

یافته‌های این قسمت از مطالعه رفتاری ما نشان داد که با تزریق اورکسین A به داخل هسته LC می‌توان علائم رفتاری شبه محرومیت از مورفین را به‌وجود آورد. در حیوانات وابسته به مورفین تزریق داخل هسته‌ای اورکسین A سبب بروز رفتارهای جویدن (Chewing)، خاراندن (Scratching)، روی دو پا ایستادن (Rearing)، دندان‌قروچه (Teeth chattering)، سگ‌لرزه (Wet-dog shake) و لرزش اندام جلویی (Paw tremor) شد. از آنجا که تزریق حلال اورکسین A به داخل هسته LC سبب بروز چنین علائمی نشد، می‌توان نتیجه گرفت که احتمالاً این اثر به دلیل اثر فارماکولوژیک اورکسین A بوده‌است و ناشی دست‌کاری هسته LC نبوده است. در حیواناتی که محل تزریق اورکسین A در داخل هسته LC نبود، اورکسین A نتوانست سبب بروز علائم رفتاری سندرم محرومیت شود. بنابراین اثر ظاهر شده مربوط به تأثیر دارو در این هسته، و نه در نواحی خارج از آن، می‌باشد.

در هنگام بروز سندرم محرومیت افزایش بارزی در شلیک نورونی هسته LC دیده می‌شود [۱۹،۲۶] که از نظر زمانی، افزایش شلیک نورونی آن با رفتارهای محرومیت مطابقت دارد [۲۶]. هسته LC حاوی متراکم‌ترین فیبرهای اورکسینرژیک در بسیاری از گونه‌ها به ویژه موش صحرایی است [۱۴]. اورکسین A با اثر مستقیم بر نورون‌های هسته LC سبب افزایش شلیک خودبخودی آن‌ها می‌شود [۱۷]. دلایل قوی وجود دارد که افزایش شلیک نورونی هسته LC با رفتارهای محرومیت ارتباط دارد [۲۶]. یافته‌های ما نیز با این داده‌ها مطابقت دارد.

مکانیسم یا مکانیسم‌هایی که به‌واسطه آن اورکسین A سبب بروز علائم رفتاری شبه محرومیت از مورفین در موش-های صحرایی وابسته به مورفین می‌شود مشخص نیست. هر چند که تغییر در فعالیت گیرنده‌های گلوتامات ممکن است در این روند نقش ایفا کنند. گلوتامات که گیرنده‌های NMDA را فعال می‌کند، ورودی تحریکی اصلی نورون‌های هسته LC را تشکیل می‌دهد [۱۸]. شواهد متعدد دیگری نشان می‌دهند که ممکن است افزایش رهایش گلوتامات القا کننده بروز سندرم محرومیت اوپیاتی باشد [۱]. از طرف دیگر اورکسین A سبب تقویت افزایش کلسیم داخل سلولی ناشی از NMDA و نیز افزایش گیرنده‌های NMDA می‌شود [۶]. اورکسین A حتی در غلظتی که اثر قابل اندازه‌گیری ایجاد نمی‌کند، سبب افزایش ۳۰-۴۳٪ اثر NMDA می‌شود. همچنین اعمال اورکسین A در برش‌های مغزی حاوی هیپوتالاموس، باعث افزایش رهایش گلوتامات از این برش‌ها می‌شود [۲۷]. لذا با توجه به داده‌های ما در این بخش شاید بتوان گفت که احتمالاً اورکسین A علاوه بر اثر مستقیم خود بر نورون‌های هسته LC، به صورت غیر مستقیم با تقویت اثر گلوتامات در این هسته سبب افزایش شلیک نورون‌های هسته LC می‌شود و احتمالاً این افزایش شلیک است که با بروز رفتارهای سندرم محرومیت ارتباط پیدا می‌کند. شایان ذکر است که برای نتیجه‌گیری دقیق‌تر در این زمینه نیاز به پژوهش‌های بیشتری است.

در بخش دیگری از این مطالعه، قبل از تزریق اورکسین A به داخل هسته LC، آنتاگونیست انتخابی گیرنده نوع ۱ اورکسین (SB) به داخل هسته LC تزریق شد. پیش تیمار با SB به‌طور چشمگیری علائم رفتاری القایی با تزریق داخل هسته‌ای اورکسین A را کاهش داد. در هسته LC اورکسین توسط گیرنده نوع ۱ خود سبب فعال کردن نورون‌ها می‌شود [۹]. از آنجا که SB یکی از آنتاگونیست‌های شناخته شده و انتخابی این گیرنده است؛ لذا دور از انتظار نیست که SB بتواند مانع اثر اورکسین A بر نورون‌های این هسته شود. نتیجه ما در این بخش با دیگر نتایج که نشان می‌دهند اورکسین A در حضور SB نمی‌تواند اثر خود را اعمال کند [۱۷] هم‌خوانی دارد. در مطالعه دیگری که اخیراً انجام شده است، نشان داده‌اند که تزریق آنتاگونیست انتخابی گیرنده نوع ۱ اورکسین (SB) به داخل هسته LC قبل از تزریق نالوکسان در موش‌های وابسته به مورفین سبب کاهش علائم رفتاری محرومیت القایی با نالوکسان می‌شود. این یافته اخیر نیز با مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد و نشان می‌دهد که اورکسین ممکن است یکی از فاکتورهای خارج از هسته LC باشد که در افزایش فعالیت نورون‌های این هسته و ایجاد علائم رفتاری سندرم محرومیت نقش ایفا کند.

سپاسگزاری

این تحقیق مستخرج از رساله دکتری رشته فیزیولوژی و با حمایت مالی در دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس انجام شده است. نویسندگان این مقاله از دانشگاه تربیت مدرس و صندوق حمایت از پژوهشگران که حمایت مالی این طرح را به عهده داشتند سپاسگزاری می نمایند.

References

[1] Aghajanian GK, Kogan JH, Moghaddam B. Opiate withdrawal increases glutamate and aspartate efflux in the locus coeruleus: an in vivo microdialysis study. ***Brain Res*** 636 (1994) 126-130.

[2] Aghajanian GK. Tolerance of locus coeruleus neurones to morphine and suppression of withdrawal response by clonidine. ***Nature*** 276 (1978) 186-188.

[3] Akaoka H, Aston-Jones G. Opiate withdrawal-induced hyperactivity of locus coeruleus neurons is substantially mediated by augmented excitatory amino acid input. ***J Neurosci*** 11 (1991) 3830-3839.

[4] Azizi H, Mirnajafi-Zadeh J, Rohampour K, Semnanian S. Antagonism of orexin type 1 receptors in the locus coeruleus attenuates signs of naloxone-precipitated morphine withdrawal in rats. ***Neurosci Lett*** 482 (2010) 255-9.

[5] Carr D, Kalivas PW. Orexin: a gatekeeper of addiction. ***Nat Med*** 12 (2006) 274-276.

[6] Chen XW, Mu Y, Huang HP, Guo N, Zhang B, Fan SY, Xiong JX, Wang SR, Xiong W, Huang W, Liu T, Zheng LH, Zhang CX, Li LH, Yu ZP, Hu ZA, Zhou Z. Hypocretin-1 potentiates NMDA receptor-mediated somatodendritic secretion from locus ceruleus neurons. ***J Neurosci*** 28 (2008) 3202-3208.

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

[8] Georgescu D, Zachariou V, Barrot M, Mieda M, Willie JT, Eisch AJ, Yanagisawa M, Nestler EJ, DiLeone RJ. Involvement of the lateral hypothalamic peptide orexin in morphine dependence and withdrawal. ***J Neurosci*** 23 (2003) 3106-3111.

[9] Hagan JJ, Leslie RA, Patel S, Evans ML, Wattam TA, Holmes S, Benham CD, Taylor SG, Routledge C, Hemmati P, Munton RP, Ashmeade TE, Shah AS, Hatcher JP, Hatcher PD, Jones DN, Smith MI, Piper DC, Hunter AJ, Porter RA, Upton N. Orexin A activates locus coeruleus cell firing and increases arousal in the rat. Proc ***Natl Acad Sci*** 96 (1999) 10911-10916.

[10] Kiyashchenko LI, Mileykovskiy BY, Lai YY, Siegel JM. Increased and decreased muscle tone with orexin (hypocretin) microinjections in the locus coeruleus and pontine inhibitory area. ***J Neurophysiol*** 85 (2001) 2008-16.

[11] Maldonado R, Koob GF. Destruction of the locus coeruleus decreases physical signs of opiate withdrawal. ***Brain Res*** 605 (1993) 128-138.

[12] Maldonado R, Stinus L, Gold LH, Koob GF. Role of different brain structures in the expression of the physical morphine withdrawal syndrome. ***J Pharmacol Exp Ther*** 261 (1992) 669-677.

[13] Marcus JN, Aschkenasi CJ, Lee CE, Chemelli RM, Saper CB, Yanagisawa M, Elmquist JK. Differential expression of orexin receptors 1 and 2 in the rat brain. ***J Comp Neurol*** 6 (2001) 425-435.

[14] Nixon JP, Smale L. A comparative analysis of the distribution of immunoreactive orexin A and B in the brains of nocturnal and diurnal rodents. ***Behav Brain Funct*** 3 (2007) 28.

[15] Peyron C, Tighe DK, van den Pol AN, de Lecea L, Heller HC, Sutcliffe JG, Kilduff TS. Neurons containing hypocretin (orexin) project to multiple neuronal systems. ***J Neurosci*** 18 (1998) 9996-10015.

[16] Rasmussen K, Aghajanian GK. Withdrawal-induced activation of locus coeruleus neurons in opiate-dependent rats: attenuation by lesions of the nucleus paragigantocellularis. ***Brain Res*** 505 (1989) 346-350.

[17] Rasmussen K, Beitner-Johnson DB, Krystal JH, Aghajanian JK, Nestler EJ. Opiate withdrawal and the rat locus coeruleus: behavioral, electrophysiological, and biochemical correlates. ***J Neurosci*** 10 (1990) 2308-2317.

[18] Rasmussen K. The role of the locus coeruleus and N-methyl-D-aspartic acid (NMDA) and AMPA receptors in opiate withdrawal. ***Neuropsychopharmacology*** 13 (1995) 295-300.

[19] Redmond Jr DE, Huang YH. The primate locus coeruleus and effects of clonidine on opiate withdrawal. ***J Clin Psychiatry*** 43 (1982) 25-29.

[20] Sakurai T, Amemiya A, Ishii M, Matsuzaki I, Chemelli RM, Tanaka H, Williams SC, Richardson JA, Kozlowski JP, Wilson S, Arch JR, Buckingham RE, Haynes AC, Carr SA, Annan RS, McNulty DE, Liu WS, Terrett JA, Elshourbagy NA, Bergsma DJ, Yanagisawa M. Orexins and orexin receptors: a family of hypothalamic neuropeptides and G protein-coupled receptors that regulate feeding behavior. ***Cell*** 92 (1998) 573-585.

[21] Sharf R, Sarhan M, DiLeone RJ. Orexin mediates the expression of precipitated morphine withdrawal and concurrent activation of the nucleus accumbens shell. ***Biol Psychiatry*** 64 (2008) 175-183.

[22] Taylor JR, Elsworth JD, Garcia EJ, Grant SJ, Roth RH, Redmond Jr DE. Clonidine infusions into the locus coeruleus attenuate behavioral and neurochemical changes associated with naloxone-precipitated withdrawal. ***Psychopharmacology*** 96 (1998) 121-134.

[23] Taylor JR, Punch LJ, Elsworth JD. A comparison of the effects of clonidine and CNQX infusion into the locus coeruleus and the amygdala on naloxone-precipitated opiate withdrawal in the rat. ***Psychopharmacology*** 138 (1998) 133-142.

[24] Tempel A, Zukin RS. Neuroanatomical patterns of the mu, delta, and kappa opioid receptors of rat brain as determined by quantitative in vitro autoradiography. ***Proc Natl Acad Sci*** 84 (1987) 4308-4312.

[25] Tokuyama S, Zhu H, Oh S, Ho IK, Yamamoto T. Further evidence for a role of NMDA receptors in the locus coeruleus in the expression of withdrawal syndrome from opioids. ***Neurochem Int*** 39 (2001) 103-109.

[26] Trivedi P, Yu H, MacNeil DJ, Van der Ploeg LH, Guan XM. Distribution of orexin receptor mRNA in the rat brain. ***FEBS Lett*** 438 (1998) 71-75.

[27] Walling SG, Nutt DJ, Lalies MD, Harley CW. Orexin-A infusion in the locus ceruleus triggers norepinephrine (NE) release and NE-induced long-term potentiation in the dentate gyrus. ***J Neurosci*** 24 (2004) 7421-7426.

[28] Zhang T, Feng Y, Rockhold RW, Ho IK. Naloxone-precipitated morphine withdrawal increases pontine glutamate levels in the rat. ***Life Sci*** 55 (1994) PL25-PL31.