

اثر بلوک گیرنده‌های N-Methyl-D-Aspartate (NMDA) گلوتامات در کورتکس پره‌فرونتال بر تمایل به

مورفین در موش صحرایی نر

صمد جوادی^۱، حجت‌اله علایی^۲، سیدابراهیم حسینی^۳، محمدامین عدالت‌منش^۴، مریم راداحمدی^۴

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: اعتیاد، اختلال مغزی همراه با تغییرات نوروبیولوژیک است. کورتکس پره‌فرونتال در حافظه، یادگیری، پاداش و اعتیاد نقش دارد. این مطالعه، با هدف بررسی اثر تزریق 2-Amino-5-phosphopentanoic acid (AP5)، آنتاگونیست گیرنده‌ی گلوتامات، در ناحیه‌ی پره‌فرونتال بر تمایل به مورفین انجام شد.

روش‌ها: در مجموع، از ۲۷ گروه موش صحرایی نر نژاد ویستار ($n = 6$) استفاده شد. بدین منظور، از ۷ گروه آزمایشی جهت تعیین دزهای مؤثر و غیر مؤثر مورفین و از ۲۰ گروه آزمایشی جهت مطالعه‌ی اثر دزهای مختلف AP5 بر تمایل به دزهای متفاوت مورفین در مراحل اکتساب و بیان آزمون رفتاری ترجیح مکانی شرطی شده (CPP یا Conditioned place preference) استفاده گردید. در نهایت، شاخص CPP مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: شاخص CPP گروه‌هایی که دزهای ۲/۵ ($P < ۰/۰۵۰$)، ۵ ($P < ۰/۰۰۱$)، ۷/۵ ($P < ۰/۰۱۰$) و ۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم مورفین را دریافت کردند، به طور معنی‌داری نسبت به گروه شاهد (سالین) افزایش نشان داد؛ در حالی که شاخص CPP در دزهای ۰/۵ و ۱/۰ میلی‌گرم/کیلوگرم معنی‌دار نبود. تزریق دزهای مختلف AP5 همراه با دز مؤثر مورفین، کاهش معنی‌داری را در مراحل اکتساب و بیان CPP در گروه‌های آزمایش نسبت به گروه سالین و مورفین نشان داد، اما همراه با دز غیر مؤثر مورفین، کاهش معنی‌دار فقط در مرحله‌ی بیان CPP گروه آزمایش در مقایسه با گروه سالین و مورفین مشاهده شد ($P < ۰/۰۰۱$).

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد تزریق AP5 در کورتکس پره‌فرونتال، باعث افت CPP شود و در نتیجه، تمایل به مورفین را کاهش دهد. احتمال می‌رود این اثر به دلیل تضعیف یادگیری و اختلال حافظه‌ی ناشی از ناکارآمدی سیستم پاداش در پاسخ به مورفین باشد.

واژگان کلیدی: مورفین، آنتاگونیست گیرنده‌ی N-methyl-D-aspartate، ترجیح مکانی شرطی شده، اعتیاد، گلوتامات، پره‌فرونتال

ارجاع: جوادی صمد، علایی حجت‌اله، حسینی سیدابراهیم، عدالت‌منش محمدامین، راداحمدی مریم. اثر بلوک گیرنده‌های N-Methyl-D-Aspartate

(NMDA) گلوتامات در کورتکس پره‌فرونتال بر تمایل به مورفین در موش صحرایی نر. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۵؛ ۳۴ (۴۰۰): ۱۱۱۴-۱۱۲۰

مقدمه

اعتیاد، یک اختلال مغزی با تغییرات نوروبیولوژیک است. طبیعی است که یافتن عوامل زمینه‌ساز و شناخت بخش‌های عصبی درگیر در فرایند اعتیاد راه را برای پیش‌گیری و درمان هموار خواهند ساخت (۱). یکی از بخش‌های مغز، کورتکس پره‌فرونتال میانی (mPFC یا Medial prefrontal cortex) است که در اعتیاد و طلب دارو نقش دارد (۲) و جزئی از سیستم پاداش، یادگیری، حافظه و مدار جستجوی دارو در طی اعتیاد محسوب می‌شود (۳).

کورتکس پره‌فرونتال، از ناحیه‌ی تگمنتوم شکمی (VTA یا Ventral tegmentum area) فیبرهای دوپامینرژیک دریافت می‌کند و رشته‌های عصبی وابران را هم به هسته‌ی اکومبسن (NAC یا Nucleus accumbens) ارسال می‌کند که در تنظیم هیجان، تصمیم‌گیری و دریافت دارو دخالت دارند (۴).

بنابراین، به نظر می‌رسد در این ناحیه در بین انواع نوروترانسمیتر، دوپامین و گلوتامات بیشترین نقش را در طی اعتیاد ایفا می‌کنند (۳). امروزه، اثبات شده است که نوروترانسمیتر تحریکی

۱- دانشجوی دکتری، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، واحد علوم و تحقیقات فارس، دانشگاه آزاد اسلامی و گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران

۲- استاد، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۳- دانشیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز، شیراز، ایران

۴- استادیار، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

Email: alaei@med.mui.ac.ir

نویسنده‌ی مسؤول: دکتر حجت‌اله علایی

بودند. منشور اخلاقی دانشکده‌ی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان در مورد استفاده از حیوانات در آزمایشگاه نیز رعایت شد. AP5 (سیگما، امریکا)، کلرال هیدرات (مرک، آلمان) و مورفین (تماد، ایران) خریداری شد. در بخش اول از ۷ گروه (n = 6) موش صحرایی نر برای تعیین دزهای مؤثر و غیر مؤثر مورفین به شرح زیر استفاده شد.

یک گروه سالیین و شش گروه دیگر به ترتیب دزهای متفاوت از مورفین ۰/۵، ۱/۰، ۲/۵، ۵/۰، ۷/۵ و ۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم را دریافت کردند و از طریق CPP مورد ارزیابی آزمایش دز- پاسخ قرار گرفتند. در بخش دوم، در مجموع، جهت بررسی اثر آنتاگونیست بر تمایل به مورفین در مراحل اکتساب و بیان CPP، ۲۰ گروه آزمایشی استفاده شد. برای هر یک از مراحل اکتساب و بیان CPP همراه با دزهای مؤثر یا غیر مؤثر مورفین، ۵ گروه (n = 6) موش صحرایی نر به شرح زیر مورد مطالعه قرار گرفتند: (۱) گروه شاهد (سالیین)، (۲) گروه مورفین که ۰/۵ یا ۵ میلی‌گرم/کیلوگرم مورفین دریافت کرد، (۳) گروه سالیین و مورفین که جراحی شد و از طریق مغز، سالیین و از طریق صفاق، مورفین دریافت کرد، (۴) گروه آزمایش ۱ که ۰/۱ میکروگرم/۰/۵ میکرولیتر آنتاگونیست را از طریق مغز و مورفین را از طریق صفاق دریافت کرد، (۵) گروه آزمایش ۲ که ۱/۰ میکروگرم/۰/۵ میکرولیتر آنتاگونیست و مورفین را شبیه گروه ۴ دریافت نمود. محلول AP5 در دزهای متفاوت ۰/۱ میکروگرم/۰/۵ میکرولیتر و ۱/۰ میکروگرم/۰/۵ میکرولیتر با سرعت ۲ میکرولیتر در دقیقه درون کورتکس پره‌فرونتال تزریق شد. لازم به ذکر است که همین تعداد گروه برای بررسی مرحله‌ی بیان CPP و همین تعداد گروه، برای هر یک از دزهای مؤثر و غیر مؤثر مورفین تکرار شد. موش‌ها با تزریق درون صفاقی دز ۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم کلرال هیدرات بیهوش شدند و با قرار گرفتن در دستگاه استریوتاکس، نقاط لامبدا، برگما و مختصات پره‌فرونتال کورتکس بر طبق اطلس Paxinos-Watson (۳/۲ میلی‌متر = AP، ۰/۸ میلی‌متر = L، ۳ میلی‌متر = DV) تعیین گردید (۱۶) و جراحی انجام شد. پس از طی دوره‌ی بهبودی، موش‌ها جهت آزمون رفتاری CPP مورد استفاده قرار گرفتند.

آزمون رفتاری CPP

مرحله‌ی پیش از شرطی‌سازی: دستگاه CPP دارای سه اتاقک به نام‌های A، B و C است. در اولین روز، دریچه‌های بین قسمت C و قسمت‌های A و B باز و حیوان به مدت ۱۵ دقیقه داخل دستگاه ترجیح مکانی قرارگرفت تا آزادانه در محیط گردش نماید. با ورود موش به هر قسمت، حسگرهای دستگاه، زمان توقف موش در هر قسمت را ثبت نمودند. اتاقکی که موش زمان کمتری را در آن سپری

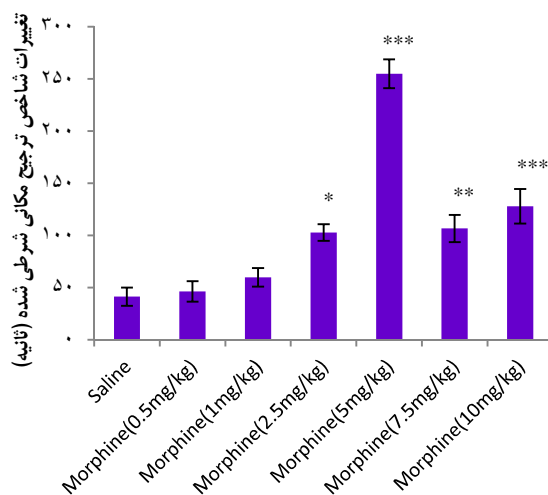
گلوتمات، یک نقش اساسی در اتیولوژی و پاتوفیزیولوژی بسیاری از اختلالات عصبی، روانی و اعتیاد دارویی بازی می‌کند (۶-۵). همچنین، مطالعات نشان داده‌اند که سلول‌های گلوتماترژیک کورتکس، از طریق گیرنده‌های گلوتمات (N-methyl-D-aspartate یا NMDA) (۷، ۳) به شکل‌گیری رفتارهای وابسته به اعتیاد کمک می‌کنند (۸، ۶).

گیرنده‌های NMDA در افزایش تحریک پذیری نئوکورتکس، تغییرات ژنی به دنبال اعتیاد (۹، ۷)، انگیزه و یادگیری (۱۰) و حساسیت دارویی نقش دارند (۱) که تماس دراز مدت با اپیوئیدها باعث تغییر در عملکرد این گیرنده‌ها می‌شود (۱۱). بلوک گیرنده‌های NMDA باعث بروز علائم شیزوفرنی و اختلالات عصبی (۱۲)، ضعف حافظه و یادگیری می‌گردد (۱۳). به طور قطع، در بین مکانیسم‌های درگیر در پدیده‌ی اعتیاد سیستم نوروترانسمیتری گلوتمات، به ویژه گیرنده‌های NMDA از جایگاه مهمی برخوردارند. با توجه به این یافته‌ها، طبیعی است که نقش آنتاگونیست‌های گلوتمات در اعتیاد، یک نقش کلیدی است که نیاز به توجه جدی دارد، اما بیشتر مطالعات انجام شده، اثر آنتاگونیست‌های گلوتمات را روی هسته‌ی اکومینس (۱۴) و ناحیه‌ی تگمتموم شکمی برای داروهای نظیر آفتمامین، مت‌آفتمامین و کوکائین مورد بررسی قرار داده‌اند (۱۵).

از آن جایی که در نهایت هدف این گونه مطالعات، استفاده‌ی دارویی و درمانی خواهد بود، در این مطالعه سعی بر این بوده است که اثر 2-Amino-5-phosphopentanoic acid (AP5) در کورتکس پره‌فرونتال در جهت تمایل به مورفین مورد بررسی قرار گیرد؛ چرا که استفاده از مورفین، هم به شکل یک ماده‌ی مخدر و هم به عنوان تسکین دهنده‌ی درد در کشور ما رایج می‌باشد. دیگر این که، مطالعه‌ی حاضر با هدف بررسی اثر دزهای مختلف آنتاگونیست بر تمایل به دزهای متفاوتی از مورفین انجام شد، در حالی که تحقیقات اندکی در این خصوص انجام شده بود. به همین علت، در مطالعه‌ی حاضر، سعی بر این بود که از طریق آزمون رفتاری ترجیح مکانی شرطی شده (CPP یا Conditioned place preference) نقش گیرنده‌ی NMDA بر حافظه و یادگیری در جهت تمایل به مورفین بررسی شود.

روش‌ها

این پژوهش بر روی موش صحرایی نر نژاد ویستار با میانگین وزنی ۲۵۰-۳۰۰ گرم انجام شد. حیوانات از انستیتو پاستور تهران خریداری و در حیوان‌خانه‌ی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان نگهداری شدند. حیوانات به آب و غذای کافی دسترسی داشتند و در شرایط دمایی 22 ± 2 درجه‌ی سانتی‌گراد و دوره‌ی روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعته



شکل ۱. مقایسه‌ی شاخص ترجیح مکانی شرطی شده در گروه‌های دریافت کننده‌ی دزهای مختلف مورفین ($n = 6$) با $P < 0.001$ ، $P < 0.01$ و $P < 0.05$ * درمقایسه با گروه شاهد (سالین) (آزمون One-way ANOVA).

اثر AP5 بر مرحله‌ی اکتساب CPP

بر اساس نتایج آزمون‌های ANOVA و Tukey، گروه‌های آزمایش ۱ و ۲ که به ترتیب دزهای ۰/۱ میکروگرم/۰/۵ میکرولیتر و ۱/۰ میکروگرم/۰/۵ میکرولیتر AP5 را همراه با تزریق درون صفاقی ۵ میلی‌گرم/کیلوگرم مورفین دریافت کردند، کاهش معنی‌داری در مرحله‌ی اکتساب CPP نسبت به گروه سالین و مورفین نشان دادند ($P < 0.001$). همان‌گونه که در شکل ۲ دیده می‌شود، شاخص CPP در مرحله‌ی اکتساب، تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های آزمایش با گروه سالین و مورفین هنگام تزریق مورفین غیر مؤثر نداشت.

اثر AP5 بر مرحله‌ی بیان CPP

بر اساس شکل ۳، شاخص CPP در مرحله‌ی بیان مربوط به ترجیح مکانی شرطی شده بین گروه‌های آزمایش و گروه سالین و مورفین هنگام تزریق دزهای مختلف AP5 همراه با دزهای مؤثر و غیر مؤثر مورفین، کاهش معنی‌داری را نشان داد ($P < 0.001$).

همچنین، مشاهده شد که اثر AP5 بر CPP بسته به دز مورفین می‌تواند متفاوت باشد.

به طور کلی، مسدودسازی گیرنده‌های NMDA در ناحیه‌ی پره‌فرونتال کورتکس با دزهای مختلف AP5 همراه با دز مؤثر مورفین، باعث کاهش معنی‌دار مراحل اکتساب و بیان CPP نسبت به گروه سالین و مورفین گردید، در حالی که همراه با دز غیر مؤثر مورفین، تأثیر معنی‌داری بر مرحله‌ی اکتساب CPP نداشت و تنها باعث کاهش مرحله‌ی بیان گردید.

نمود، به عنوان اتاق مورفین و اتاق دیگر، جهت سالین تا آخر دوره‌ی آزمایش برای آن موش انتخاب گردید (۱۷-۱۸).

مرحله‌ی شرطی‌سازی: این مرحله، شامل روزهای دوم، سوم و چهارم بود. در این مرحله، دریچه‌های دستگاه بسته شدند و روزانه دو مرحله تزریق انجام گرفت. در صبح روز دوم، بلافاصله بعد از تزریق زیر جلدی مورفین، موش به مدت ۴۵ دقیقه داخل اتاق مورفین دستگاه قرار گرفت و در عصر همان روز، با فاصله‌ی زمانی ۶ ساعت بعد از تزریق سالین به جای مورفین، به مدت ۴۵ دقیقه در اتاق سالین جای داده شد. روز سوم نیز مانند روز دوم بود، با این تفاوت که زمان تزریق مورفین و سالین با رعایت فاصله‌ی زمانی روز دوم معکوس شد و در روز چهارم نیز تزریق‌ها بار دیگر مانند روز دوم انجام شد (۱۷-۱۸).

مرحله‌ی پس از شرطی‌سازی: در روز پنجم، دریچه‌های دستگاه دوباره باز شد و حیوان داخل قسمت C قرار گرفت تا به مدت ۱۵ دقیقه آزادانه داخل دستگاه گردش کند. زمان توقف حیوان داخل هر قسمت ثبت گردید. اختلاف زمان سپری شده بین روز آزمون و روز اول در قسمت دریافت مورفین بر حسب ثانیه محاسبه شد و به عنوان شاخص ترجیح مکانی ناشی از مورفین در نظر گرفته شد. آن‌گاه، این شاخص به عنوان معیار اکتساب و بیان جهت سنجش یادگیری و حافظه‌ی حیوان در تمایل به مورفین مورد استفاده قرار گرفت (۱۷-۱۸).

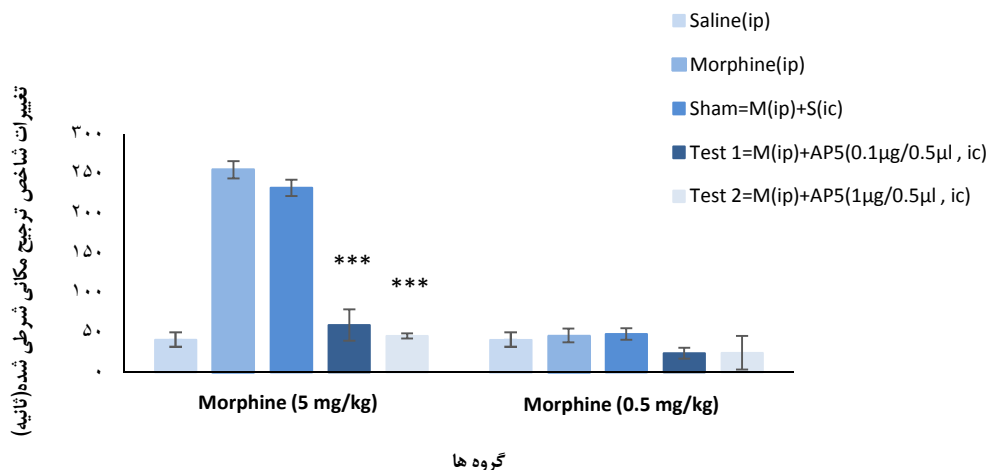
تمامی نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار ارایه گردید. جهت ارزیابی اختلاف بین گروه‌ها از آزمون One-way ANOVA و آزمون تکمیلی Tukey استفاده و $P < 0.05$ معنی‌دار تلقی شد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه‌ی ۱۹ (version 19, SPSS Inc., Chicago, IL) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها

تعیین دزهای مؤثر و غیر مؤثر مورفین

بر اساس نتایج، گروه‌هایی که دزهای ۲/۵، ۵/۰، ۷/۵ و ۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم مورفین دریافت کردند، در مقایسه با گروه شاهد تفاوت معنی‌داری را در افزایش شاخص CPP نشان دادند که بیشترین تفاوت معنی‌دار، مربوط به گروه دریافت کننده‌ی مورفین ۵/۰ میلی‌گرم/کیلوگرم بود ($P < 0.001$). از طرفی، شاخص CPP در گروه‌هایی که دزهای پایین‌تر مورفین یعنی ۰/۵ و ۱/۰ میلی‌گرم/کیلوگرم را دریافت کردند، در مقایسه با گروه شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت (شکل ۱).

بنابراین، در این مطالعه دز ۵/۰ میلی‌گرم/کیلوگرم به عنوان دز مؤثر مورفین و دز ۰/۵ میلی‌گرم/کیلوگرم به عنوان دز غیر مؤثر در نظر گرفته شد.

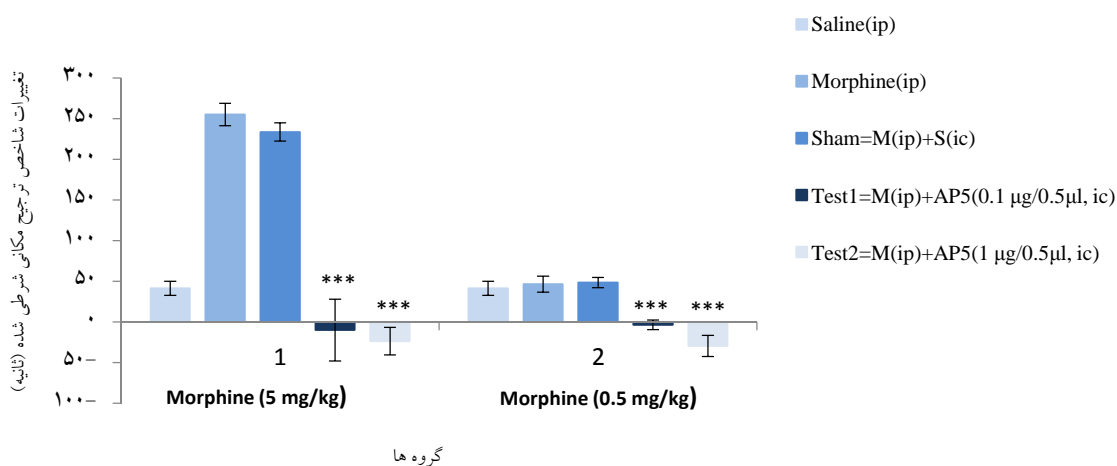


شکل ۲. مقایسه‌ی شاخص ترجیح مکانی شرطی شده بر مرحله‌ی اکتساب در گروه‌های آزمایش ($n = 6$).
 $***P < 0.001$ در مقایسه با گروه سالین و مورفین (آزمون One-way ANOVA).

رفتارهای انگیزشی تأثیرگذار است. هسته‌ی اکومبسن، VTA و mPFC از اجزای مهم سیستم پاداش محسوب می‌شوند که ارتباط نزدیکی با یکدیگر دارند. NAc از هسته‌های مزانسفالیک است و با دیگر قسمت‌های مغز از جمله آمیگدال و هیپوکامپ نیز ارتباط دارد و نقش مهمی در ایجاد پاداش و لذت ناشی از مصرف مورفین دارد. از مهم‌ترین ورودی‌هایی که به هسته‌ی اکومبسن می‌رسد، مربوط به ناحیه‌ی تگماتوم شکمی می‌باشد که به دنبال مصرف مورفین، باعث رهایی دوپامین در هسته‌ی اکومبسن می‌شود و با ایجاد ارتباطات پلی‌سیناپتیک، موجب پاسخ‌های تحریکی در نورون‌های پس‌سیناپسی این هسته می‌گردد که تأثیر مهمی بر مسیر اعتیاد به مورفین دارد.

بحث

در مطالعه‌ی حاضر، تزریق دزهای ۲/۵، ۵/۰، ۷/۵ و ۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم مورفین نسبت به گروه شاهد، باعث افزایش CPP شد. به نظر می‌رسد دزهای مؤثر مورفین از طریق گیرنده‌های اپوئیدی و دخالت نوروترانسمیترهایی مانند گابا، دوپامین و گلوتامات، باعث شکل‌گیری سیستم‌های یادگیری و حافظه‌ی وابسته به پاداش می‌شوند و شاخص CPP را در پاسخ به مورفین افزایش می‌دهند که این نتایج، هم‌راستا با یافته‌های مطالعه‌های قوی‌پنجه و همکاران (۱۷) و Dong و همکاران (۱۹) بود. مکانیسم پاداش به مورفین در مغز، سیستمی است که بر



شکل ۳. مقایسه‌ی شاخص ترجیح مکانی شرطی شده بر مرحله‌ی بیان در گروه‌های آزمایش ($n = 6$).
 $***P < 0.001$ در مقایسه با گروه سالین و مورفین (آزمون One-way ANOVA).

خصوص این که امروزه معلوم شده است که فعالیت پایانه‌های دوپامینرژیک که از VTA به NAc وارد می‌شوند، برای یادگیری، اعتیاد و رفتارهای وابسته به پاداش به خصوص اعتیاد ضروری است (۲۳).

بنابراین، به نظر می‌رسد تزریق AP5 در کورتکس پره‌فرونتال باعث بلوک فعالیت گلوتاماترژیک PFC روی VTA می‌شود که حاصل آن، کاهش رهایی دوپامین در NAc و تضعیف سیستم پاداش و در نتیجه کاهش تمایل به مورفین خواهد بود. از طرفی، نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که تزریق آنتاگونیست با دز غیر مؤثر مورفین، مرحله‌ی اکتساب CPP را تغییر نمی‌دهد. بر اساس شواهد موجود، به نظر می‌رسد تغییر در همئوستازی گلوتامات (۲۴)، پلاستی سیتی عصبی (۲۲) و بازآرایی نورونی در شبکه‌ی عصبی (۷)، مانع از تغییر مرحله‌ی اکتساب CPP در گروه‌هایی شده است که آنتاگونیست همراه با دز غیر مؤثر مورفین دریافت کرده‌اند.

در مقابل، به نظر می‌رسد تزریق همین دز از مورفین به همراه آنتاگونیست، به دلیل به کارگیری مراکز پاداش دیگر مغز (۱۹) یا فعال شدن راه‌های عصبی جدید (۹)، توانسته است مرحله‌ی بیان CPP را در گروه‌های آزمایش نسبت به گروه سالین و مورفین کاهش دهد. بنابراین، سیستم گلوتاماترژیک کورتکس پره‌فرونتال، از طریق تأثیر در سیستم پاداش، یادگیری و حافظه، نقش بارزی را در اعتیاد و وابستگی به مورفین ایفا می‌کند که البته بررسی نقش نوروترانسمیترهای دیگر و همچنین، مراکز عصبی درگیر در این فرایند امری ضروری به نظر می‌رسد. در نهایت، نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان می‌دهند که تزریق دزهای مختلف AP5 موجب کاهش شاخص CPP و در نتیجه، کاهش تمایل به مورفین می‌شود که احتمال می‌رود مکانیسم آن را می‌توان تغییر عملکرد سیستم گلوتاماترژیک، ضعف یادگیری و اختلال حافظه‌ی وابسته به پاداش دانست.

تشکر و قدردانی

این مقاله بخشی از پایان‌نامه‌ی دکتری فیزیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی است که نویسندگان مقاله از زحمات بی‌دریغ دکتر پرهام رئیسی و دکتر محمدرضا شریفی در گروه فیزیولوژی دانشکده‌ی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان کمال تشکر و قدردانی را دارند.

همچنین، از VTA و ابران‌های گلوتاماترژیک به هیپوکامپ و PFC وارد می‌شود که در حافظه، یادگیری و شناخت و انگیزش نقش دارند. البته، پره‌فرونتال انشعابات گلوتاماترژیک نیز از آمیگدال دریافت می‌کند و ابران‌های گلوتاماترژیک خود را هم به VTA گسیل می‌کند که بر فعالیت این ناحیه و در نتیجه، تحریک NAc در جهت شکل‌گیری اعتیاد وابسته به پاداش دخالت به‌سزایی دارند (۲۰). همچنین، در بخش دیگری از آزمایش‌ها، تحلیل آماری نتایج نشان داد که تزریق AP5، آنتاگونیست گلوتامات، در کورتکس پره‌فرونتال همراه با دز مؤثر مورفین باعث کاهش معنی‌دار مراحل اکتساب و بیان CPP شد و در نتیجه، وابستگی و تمایل به مورفین را کاهش داد. قابل توجه این که در تأیید یافته‌های مطالعه‌ی حاضر، مطالعات نشان داده‌اند که مهار گیرنده‌های NMDA باعث سرکوب CPP و کاهش وابستگی به مورفین می‌گردد (۲۱). این مطالعات اختلال یادگیری، حافظه و القای فراموشی بر اثر تزریق AP5 را دلیل افت CPP عنوان کرده‌اند (۲۲). همین‌طور دیده شده است که استفاده از آنتاگونیست‌های NMDA به طور موضعی در بخش مرکزی NAc رفتار جستجوی هروئین را کاهش می‌دهد (۶). از آن جایی که mPFC بخشی از مدار اعتیاد و جستجوی دارو به شمار می‌رود، احتمال دارد بلوک گیرنده‌های NMDA در این ناحیه، باعث تغییر در ساختار و سازمان‌دهی سیستم پاداش VTA (۳) و در نتیجه، تغییر در رفتار وابسته به اعتیاد شود.

در راستای این یافته‌ها، گزارش‌ها نشان می‌دهند که تجویز آنتاگونیست‌های NMDA به دلیل این که عملکرد نورون‌های ورودی به mPFC را تغییر می‌دهند، باعث تغییر فعالیت قشر پره‌فرونتال می‌شوند و به این ترتیب، پتانسیل قدرتمندی را در جهت تعدیل اثرات سیستم پاداش در طی تزریق مورفین سازمان‌دهی می‌کنند. حاصل عملکرد این مکانیسم، تغییر شکل سیستم پاداش و به دنبال آن ضعف یادگیری و حافظه خواهد بود که باعث کاهش شاخص CPP در گروه‌های مورد مطالعه در مقایسه با گروه سالین و مورفین می‌شود (۳). همچنین، ابران‌هایی که از پره‌فرونتال کورتکس به سوی NAc می‌روند و در عود اعتیاد نقش دارند، با تزریق آنتاگونیست دچار تغییر می‌شوند (۶) و به طور طبیعی، عملکرد NAc، رهایی دوپامین و سیستم پاداش را در جهت کاهش اعتیاد تحت تأثیر قرار می‌دهند. به

References

- Alaei H, Huotari M, Piepponen PT, Ahtee L, Hanninen O, Mannisto PT. Morphine releases glutamate through AMPA receptors in the ventral tegmental area: A microdialysis study in conscious rats. *Med J I R Iran* 2003; 17(3): 225-31.
- Van den Oever MC, Spijker S, Smit AB, De Vries TJ. Prefrontal cortex plasticity mechanisms in drug seeking and relapse. *Neurosci Biobehav Rev* 2010; 35(2): 276-84.
- Bishop SF, Lauzon NM, Bechard M, Gholizadeh S, Laviolette SR. NMDA receptor hypofunction in the prefrontal cortex increases sensitivity to the rewarding

- properties of opiates via dopaminergic and amygdalar substrates. *Cereb Cortex* 2011; 21(1): 68-80.
- Brenhouse HC, Sonntag KC, Andersen SL. Transient D1 dopamine receptor expression on prefrontal cortex projection neurons: relationship to enhanced motivational salience of drug cues in adolescence. *J Neurosci* 2008; 28(10): 2375-82.
 - Olive MF. Metabotropic glutamate receptor ligands as potential therapeutics for addiction. *Curr Drug Abuse Rev* 2009; 2(1): 83-98.
 - Peters J, De Vries TJ. Glutamate mechanisms underlying opiate memories. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2012; 2(9): a012088.
 - Kelley AE. Memory and addiction: shared neural circuitry and molecular mechanisms. *Neuron* 2004; 44(1): 161-79.
 - Kalivas PW, McFarland K, Bowers S, Szumlinski K, Xi ZX, Baker D. Glutamate transmission and addiction to cocaine. *Ann N Y Acad Sci* 2003; 1003: 169-75.
 - Carlezon WA, Jr., Todtenkopf MS, McPhie DL, Pimentel P, Pliakas AM, Stellar JR, et al. Repeated exposure to rewarding brain stimulation downregulates GluR1 expression in the ventral tegmental area. *Neuropsychopharmacology* 2001; 25(2): 234-41.
 - Kelley AE, Berridge KC. The neuroscience of natural rewards: relevance to addictive drugs. *J Neurosci* 2002; 22(9): 3306-11.
 - De Jaeger X, Bishop SF, Ahmad T, Lyons D, Ng GA, Laviolette SR. The effects of AMPA receptor blockade in the prelimbic cortex on systemic and ventral tegmental area opiate reward sensitivity. *Psychopharmacology (Berl)* 2013; 225(3): 687-95.
 - Hu JL, Liu G, Li YC, Gao WJ, Huang YQ. Dopamine D1 receptor-mediated NMDA receptor insertion depends on Fyn but not Src kinase pathway in prefrontal cortical neurons. *Mol Brain* 2010; 3: 20.
 - Khakpai F, Zarrindast MR, Nasehi M, Haeri-Rohani A, Eidi A. The role of glutamatergic pathway between septum and hippocampus in the memory formation. *EXCLI J* 2013; 12: 41-51.
 - Richard JM, Berridge KC. Prefrontal cortex modulates desire and dread generated by nucleus accumbens glutamate disruption. *Biol Psychiatry* 2013; 73(4): 360-70.
 - Carmack SA, Kim JS, Sage JR, Thomas AW, Skillicorn KN, Anagnostaras SG. The competitive NMDA receptor antagonist CPP disrupts cocaine-induced conditioned place preference, but spares behavioral sensitization. *Behav Brain Res* 2013; 239: 155-63.
 - Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. 6th ed. San Diego, CA: Academic Press; 2006.
 - Ghavipankeh GR, Pourshanzari AA, Alaei H, Karimi S, Nejad MA. Effects of temporary inactivation and electrical stimulation of the dorsal raphe nucleus on morphine-induced conditioned place preference. *Malays J Med Sci* 2015; 22(2): 33-40.
 - Kargari A, Ramshini E, Alaei H, Sedighi M, Oryan S. Different current intensities electrical stimulation of prelimbic cortex of mPFC produces different effects on morphine-induced conditioned place preference in rats. *Behav Brain Res* 2012; 231(1): 187-92.
 - Dong Z, Han H, Wang M, Xu L, Hao W, Cao J. Morphine conditioned place preference depends on glucocorticoid receptors in both hippocampus and nucleus accumbens. *Hippocampus* 2006; 16(10): 809-13.
 - Alaei H, Esmaeili M, Pourshanzari AA, Ramshini E, Rafati A, Shams F, et al. Neurophysiology of addiction. Isfahan, Iran: Isfahan University of Medical Sciences; 2011. p. 32-50. [In Persian].
 - Imenshahidi M, Qaredashi R, Hashemzaei M, Hosseinzadeh H. Inhibitory effect of *Berberis vulgaris* aqueous extract on acquisition and reinstatement effects of morphine in conditioned place preferences (CPP) in mice. *Jundishapur J Nat Pharm Prod* 2014; 9(3): e16145.
 - Gass JT, Chandler LJ. The Plasticity of extinction: contribution of the prefrontal cortex in treating addiction through inhibitory learning. *Front Psychiatry* 2013; 4: 46.
 - Stuber GD, Hopf FW, Tye KM, Chen BT, Bonci A. Neuroplastic alterations in the limbic system following cocaine or alcohol exposure. *Curr Top Behav Neurosci* 2010; 3: 3-27.
 - Kalivas PW. The glutamate homeostasis hypothesis of addiction. *Nat Rev Neurosci* 2009; 10(8): 561-72.

The Effect of the Blockage of the Receptors of Glutamate N-Methyl-D-Aspartate (NMDA) in Prefrontal Cortex on Morphine Tendency in Male Rat

Samad Javadi¹, Hojjatallah Alaei², Seyeid Ebrahim Hosseini³,
Mohammad Amin Edalatmanesh³, Maryam Radahmadi⁴

Original Article

Abstract

Background: Addiction is a brain disorder associated with neurobiologic changes. Medial prefrontal cortex (mPFC) plays an important role in learning, memory, reward system and addiction processes. Present study investigated the effect of 2-amino-5-phosphopentanoic acid (AP5), glutamate receptor antagonist, on morphine tendency.

Methods: We used 27 groups (n = 6) of male Wistar rats; 7 groups were used for determining the effective and ineffective doses of morphine and 20 experimental groups also were used for studying the effect of various doses of AP5 on morphine tendency in acquisition and expression phases of conditioned place preference (CPP) paradigm; then, CPP index was calculated.

Findings: Doses of 2.5, 5, 7.5 and 10 mg/kg of morphine significantly increased CPP index in morphine groups compared to saline group (P < 0.050, P < 0.001, P < 0.010 and P < 0.001, respectively) but, in doses of 0.5 and 1 mg/kg of morphine, the changes were not significant. Microinjection of different doses of AP5 into the prefrontal cortex with injection of the effective dose of morphine significantly reduced the acquisition and the expression phases of CPP in test groups compared to the sham group, while the ineffective dose of morphine reduced the expression phase of CPP paradigm (P < 0.001) and did not have significant effect on the acquisition phase of CPP.

Conclusion: It seems that microinjection of AP5 into the prefrontal cortex reduces CPP index and consequently morphine tendency; these may be due to the impairment of learning and dysfunction of reward-related memory in response to morphine.

Keywords: Morphine, N-Methyl-D-Aspartate (NMDA)-antagonist receptor, Conditioned place preference, Addiction, Glutamate, Prefrontal cortex

Citation: Javadi S, Alaei H, Hosseini SE, Edalatmanesh MA, Radahmadi M. **The Effect of the Blockage of the Receptors of Glutamate N-Methyl-D-Aspartate (NMDA) in Prefrontal Cortex on Morphine Tendency in Male Rat.** J Isfahan Med Sch 2016; 34(400): 1114-20.

1- PhD Student, Department of Biology, School of Science, Fars Science and Research Branch, Islamic Azad University AND PhD Student, Department of Biology, School of Science, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran

2- Professor, Department of Physiology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

3- Associate Professor, Department of Biology, School of Science, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran

4- Assistant Professor, Department of Physiology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

Corresponding Author: Hojjatallah Alaei, Email: alaei@med.mui.ac.ir