جهت تهیه فایل ورد این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

بررسی اثر تحریک الکتریکی ناحیه تگمنتوم شکمی (VTA) بر اعتیاد به مورفین در رت

دکتر علی نسیمی*، ابوالقاسم کرمیان**، دکتر حجت اله علائی***

چکیده:

زمینه و هدف: **ناحیه تگمنتوم شکمی Ventral Tegmental Area =VTA در مزنسفال در دو طرف خط وسط و در عمق ۹ میلی متری از سطح استخوان پس سری قرار داشته و در مراحل شکل گیری اعتیاد دخالت دارد. در این مطالعه تحریک الکتریکی این ناحیه و تاثیرش بر روند اعتیاد به مورفین مورد بررسی قرار گرفته است.**

روش مطالعه: **در یک مطالعه مداخله ای، خود تزریقی داخل وریدی برای یافتن میزان اعتیاد بکار گرفته شد. ۲۴ رت ویستار به سه گروه sham یا سالین (بدون تحریک و دریافت نرمال سالین)، گروه کنترل یا مورفین (بدون تحریک و دریافت مورفین) و گروه case یا مورفین + تحریک (تحریک الکتریکی به میزان ۲۵ µA=جریان ۱۰۰ Hz=فرکانس و پریود=۰/۱۴ میلی ثانیه، پانزده دقیقه قبل از خود تزریقی مورفین و به مدت ده دقیقه) تقسیم شدند.**

نتایج: **فقط در گروه مورفین اعتیاد حاصل شد ولی میزان خود تزریقی مورفین در گروه مورفین + تحریک نسبت به گروه مورفین بسیار کمتر بود که نشان دهنده عدم اعتیاد گروه مورفین + تحریک می باشد.**

نتیجه گیری: **تحریک الکتریکی VTA از افزایش میزان پدال های زده شده جهت دریافت مورفین جلوگیری کرده و بنابراین اثرات پاداشی داشته و موجب آزاد شدن دوپامین در هسته اکومبنس شده است و می توان گفت که اثر تحریکی نرون های دوپامینی بعد از تحریک این ناحیه بیشتر بوده و غلبه بر تحریک نرون های گابا‌ارژیک مهار کننده نرون های دوپامینی و همچنین تحریک ترمینال نرون های اوران تحریکی و یا مهاری به VTA دارد.**

واژه های کلیدی: اعتیاد، VTA، مورفین.

مقدمه:

از نظر آناتومیکی هسته تگمنتوم شکمی (VTA) در مزنسفال در دو طرف خط وسط و در عمق ۹ میلی متری از سطح استخوان پس سری قرار دارد (۷) (نمودار شماره ۴). این ناحیه شامل ۷۰ درصد نرون های دوپامینرژیک و ۳۰ درصد گابا‌ارژیک می باشد که نرون های گابا‌ارژیک به صورت اینترنرون ها در VTA و یا به صورت اوران های گابا‌ارژیک می باشند که از نواحی دیگر مغز وارد آن می شوند. نرون های گابا‌ارژیک کنترل پر قدرتی را روی فعالیت نرون های دوپامینرژیک اعمال می کنند (۱). همچنین مشخص شده است که پروجکشن های نرون های دوپامینرژیک و گلوتاماترژیک از هسته VTA به هسته اکومبنس صورت می گیرد(۹،۴).

*استادیار گروه فیزیولوژی – دانشگاه های علوم پزشکی اصفهان و شهرکرد: رحمتیه – *دانشکده پزشکی – گروه فیزیولوژی- تلفن:۳۳۳۵۶۵۴، ۰۳۸۱*، (**مؤلف مسئول**).
** دانشجوی کارشناسی ارشد – دانشگاه علوم پزشکی اصفهان.
*** استادیار گروه فیزیولوژی – دانشگاه علوم پزشکی اصفهان.

جهت تهیه فایل ورد این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

VTA به عنوان یکی از منابع مهم دوپامینرژیک مغز در مراحل شکل گیری اعتیاد دخالت دارد. همچنین تحریک الکتریکی این ناحیه در پردازش اطلاعات مربوط به درد و کنترل پاسخ های حرکتی مؤثر است (۸). نرون های گلوتامینرژیک در VTA دارای گیرنده هایی از نوع NMDA (N-methyle-D-Aspartate) و غیر NMDA می باشند که تحریک هر دوی آنها سرعت تخلیه دوپامین در نواحی هدف را افزایش می دهد (۵). به خاطر وجود گیرنده های اپیوئیدی mu و delta در VTA تزریق آگونیست این گیرنده ها باعث افزایش آزاد شدن دوپامین در هسته اکومبنس و نواحی دیگر می شود. در صورتی که تزریق آگونیست kapa (گیرنده اوپیوئیدی دیگر) به این هسته باعث کاهش آزاد شدن دوپامین در اکومبنس شده است (۳،۲).

بر اساس گزارشات موجود تحریک الکتریکی VTA برای مطالعه درد، کنترل پاسخ های حرکتی، ایجاد بیماری های روانی و تاثیر محرک های بینایی انجام شده است. اما اثر تحریک الکتریکی بر روند اعتیاد انجام نشده و ما در این مطالعه در صدد تحریک الکتریکی این ناحیه و یافتن تاثیرش بر روند اعتیاد به مورفین در مدل حیوانی (rat) می باشیم.

مواد و روشها:

متد خود تزریقی:

یکی از روش های بررسی اعتیاد در مدل های حیوانی است. در این روش از قفس مخصوصی که در دو دیواره مقابل هم دو پدال دارد استفاده می شود. یکی از پدال ها فعال بوده و با فشار آن مورفین از طریق کانول وارد وریدِ حیوان می شود. پدال دوم غیر فعال است یعنی با فشار دادن آن چیزی در اختیار حیوان قرار نمی گیرد.

جهت ایجاد اعتیاد در چهار روز اول آزمایش موش ها با ۱۲ ساعت گرسنگی داخل قفس قرار می گیرند و با فشار پدال فعال غذا و مورفین دریافت می کنند. در طی این چهار روز به تدریج گرسنگی کاهش و نهایتاً در روز پنجم حذف می شود و حیوانات پدال فعال را صرفاً جهت دریافت مورفین فشار می دهند. طول دوره خود تزریقی ۱۱روز بود و در هر روز هر حیوان به مدت دو ساعت در قفس خود تزریقی قرار می گرفت. آزمایشات، در شب که رت ها فعالند، انجام می گرفت. زمان و تعداد پدال های زده شده فعال و غیر فعال توسط یک برنامه کامپیوتری (که در این آزمایشگاه تهیه شده است) ثبت می شد.

جراحی:

حیوان با تزریق داخل صفاقی کتامین (۱۵۰ mg/kg) بی هوش شده و پوست جلوی گردن باز شده و در وریدِ ژوگولار سمت راست یک کانول قرار داده می شد و با نخ جراحی سیلک کانول به عضلات گردن فیکس شده و سر دیگر آن را از زیر پوست عبور داده از پشت سر خارج می شد. برای جلوگیری از ایجاد لخته، کانول از هپارین (۵ iu/ml) محلول در نرمال سالین پر بود. به علاوه جهت جلوگیری از عفونت جنتامایسین (۶ mg/kg) و سفازولین (۱۲۰ mg/kg) به صورت زیر جلدی به مدت ۴ روز تزریق می شد. در یکی از گروه ها (مورفین + تحریک الکتریکی) علاوه بر کارهای فوق یک میله باریک استیل با طول فعال ۵۰۰ µm را بوسیله دستگاه استریو تاکس با مختصات (ML =۰/۵mm, PV=۸/۳ mm, AP= ۵ mm) به داخل هسته VTA فرستاده و با اکریل دندانپزشکی فیکس می کردیم.

جهت تهیه فایل ورد این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

سپس حیوانات به مدت سه روز برای بهبودی در قفس های جدا نگهداری می شدند.

گروههای آزمایشی:

در این تحقیق از رت های نژاد ویستار ۲۷۰ گرم به بالا استفاده شد. رت ها به سه گروه ۸ تائی تقسیم شدند:

۱-گروه سالین یا Sham (جراحی، بدون تحریک و دریافت ۰/۲ ml نرمال سالین با فشار دادن هر پدال فعال).

۲-گروه مورفین یا کنترل (جراحی، بدون تحریک و دریافت ۰/۲ ml مورفین با فشار دادن هر پدال فعال).

۳-گروه مورفین + تحریک یا Case (جراحی، تحریک الکتریکی VTA و دریافت ۰/۲ ml مورفین با فشار دادن هر پدال فعال). در این گروه تحریک الکتریکی (۲۵ µA=جریان، ۱۰۰ Hz =فرکانس و پریود=۰/۱۴ میلی ثانیه) پانزده دقیقه قبل از خود تزریقی و به مدت ده دقیقه اعمال می شد که در این ده دقیقه به ازای هر ۴ ثانیه یک ثانیه تحریک وارد می شد.

بافت شناسی:

بعد از اتمام آزمایش با پرفیوژن داخل قلبی نرمال سالین و سپس ۱۰۰ میلی لیتر فرمالین، مغز حیوان را فیکس کرده و پس از درآوردن، آن را به مدت ۳-۲ روز در محلول فرمالین و سپس به مدت یک روز در محلول فرمالین و سوکروز قرار می دادیم. سپس با میکروتوم برش های انجمادی از آن تهیه و با کرزیل ویولت رنگ آمیزی کرده و زیر میکروسکوپ مشاهده می شد و با مقایسه با اطلس Paxinos (۷) محل الکترود مشخص می شد و چنانچه خارج از VTA بود داده های آن، مورد استفاده قرار می گرفت.

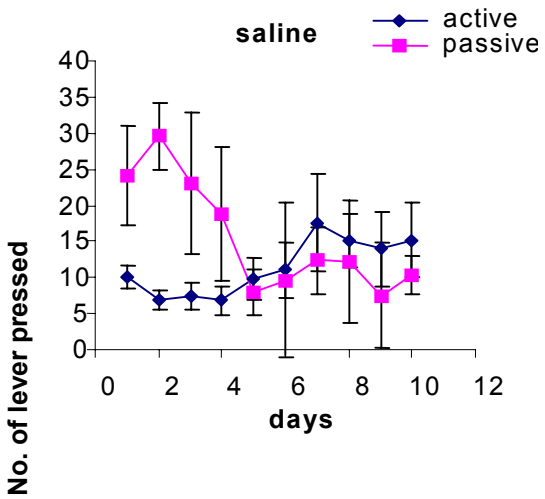
آنالیز داده ها:

از تعداد پدال های زده شده در هر روز و در هر گروه، میانگین و انحراف معیار محاسبه و بر حسب زمان رسم شد. تعداد پدال های فعال و غیر فعال روزهای پنجم تا یازدهم در هر گروه و بین گروهها با استفاده از repeated measures ANOVA مورد مقایسه قرار گرفت. داده های روزهای ۴-۱ چون غذا هم دریافت می کردند ارزش علمی ندارند.

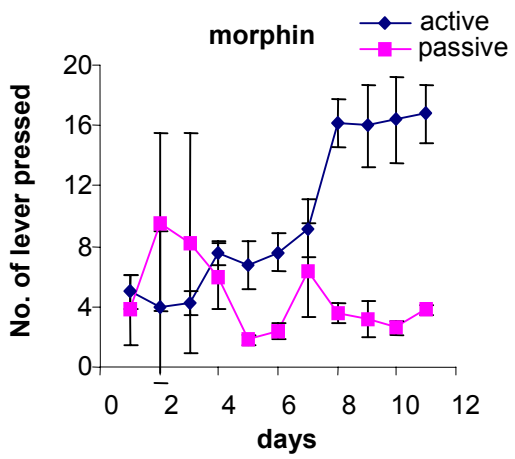
نتایج:

مقایسه میانگین تعداد پدال های فعال و غیر فعال در گروه سالین نشان می دهد که تفاوت معنی داری بین آنها وجود ندارد (نمودار شماره ۱).

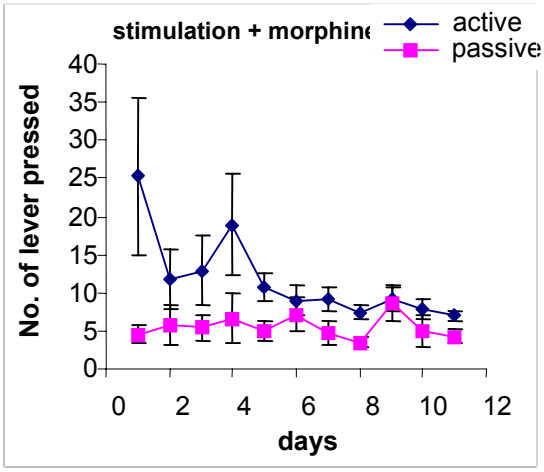
با توجه به این که در این گروه عمل جراحی کانول گذاری در ورید انجام شده و با زدن پدال فعال، نرمال سالین دریافت می کردند. بنابراین نتیجه فوق بیانگر این است که صرف انجام عمل جراحی یا قرار دادن کانول در ورید ژوگولار و همچنین دریافت



نمودار شماره ۱: مقایسه میانگین تعداد فشار دادن پدال های فعال و غیر فعال. در طول مدت ده روز در *گروه سالین دریافت سالین و عدم تحریکی الکتریکی اختلاف معنی دار نیست.*



نمودار شـــماره ۲: گـروه مورفیـن(دریـافت مورفیـن وبدون تحریک الکتریکی): اختلاف میانگین تعداد فشار دادن پدال های فعال و غیر فعال در طول مـــدت ۵ تـا ۱۱ روز معنی دار است (P<۰/۰۰۱).



نمودار شماره ۳: مقایســه میـانگین تعـداد فشـار دادن پدال های فعال و غیر فعال در طول مدت یـازده روز در گـروه مورفیـن + تحریـک (دریـافت مورفیـــن و تحریک الکتریکی).

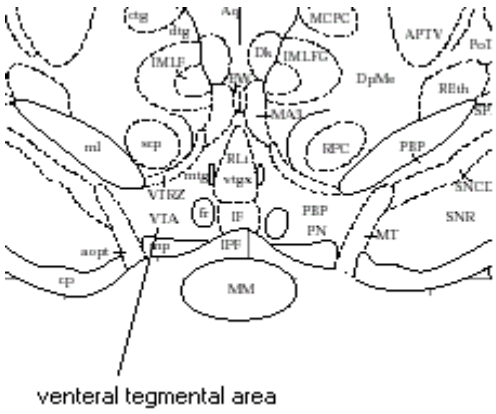
نرمال سالین منجر به تفـاوت در تعـداد پـدال هـای زده شده فعال و غیر فعال نمی شود.

در گروه مورفین (نمـودار شـماره ۲) فشـار دادن پدال فعال همراه با دریافت مورفین بود و نمودار مقایسه میانگین تعداد پدال های فعال و غیر فعال در ایـن گـروه افزایش تدریجی تعداد پدال های فعال از روز پنجـم بـه بعد را نشان می دهد. این افزایش تعداد پدال های فعـال تا روز هشتم ادامه داشته و از آن بـه بعـد تغییـر چندانـی نمی کند و تعداد پدال ها در روزهای آخر آزمـایش بـه یک حالت کفه می رسد. این روند نشانگر معتـاد شـدن رت هاست. اختـلاف میـانگین پـدال هـای فعـال و غـیر فعـال و همچنیـــن افزایـــش یـــافتن پـــدال هـــای فعـــال معنی دار بود (P<۰/۰۰۱).

چنانچه در نمودار شماره ۳ مشاهده مـی شـود، در گروه مورفین + تحریک تعداد پـدال هـای فعـال رونـد کاهشی دارد که بر خلاف گروه مورفین است. همچنین تعـداد پـــدال هـــای فعـــال و غـــیر فعـــال تفـــاوت معنی داری نداشتند که این هم مخـالف گـروه مورفیـن است. این دو یافته نشانگر عـدم اعتیـاد رت هـای گـروه مورفین + تحریک است. در نمـودار شـماره ۴ موقعیـت VTA در برش بافتی مغز میانی مشاهده می شود.

بحث:

در ایـن تحقیـق اثـر تحریـک الکـــتریکی ناحیـــه تگمنتـوم شـکمی (VTA) بـر رونـد اعتیـاد بـه مورفیـن



نمودار شماره ۴: نمودار ناحیه مورد تحریک (VTA)

مورد بررسی قرار گرفت. در گروه سالین که جراحی و کانول گذاری انجام گرفته بود و حیوان با فشردن پدال فعال سالین دریافت می کرد تفاوت معنی داری بین پدال های فعال و غیر فعال دیده نشد (نمودار شماره ۱). این امر، عدم تأثیر جراحی و تزریق را بر پدال زدن تایید می کند.

در گروه مورفین، زدن پدال های فعال و طبعاً دریافت مورفین روند افزایشی داشته که نشانگر افزایش نیاز و وابستگی به مورفین است. به بیان دیگر حیوان معتاد شده است.البته در مدل های حیوانی اعتیاد به سطح ماکزیموم که رسید ثابت می ماند (نمودار شماره ۲). اثرات پاداشی و لذت آور مورفین موجب تقویت نیاز به مورفین تا حد اعتیاد کامل می شود (۸) و باعث می شود حیوان پدال فعال را که همراه با دریافت مورفین بوده بیشتر از پدال غیر فعال فشار دهد.

در گروه سوم تحریک الکتریکی VTA قبل از قرار گرفتن در قفس خودتزریقی، باعث شده که تعداد پدال های زده شده جهت خود تزریقی مورفین در طی یازده روز آزمایش تفاوت معنی داری با گروه شاهد نداشته باشد. یعنی از اعتیاد حیوان جلوگیری کرده است (نمودار شماره ۳).

با توجه به نتایج فوق سؤال مهم این است که چرا تحریک الکتریکی VTA از اعتیاد جلوگیری کرده است. آیا تحریک الکتریکی و آزاد شدن دوپامین ناشی از آن را می توان معادل مصرف مورفین به حساب آورد. اساساً آزاد شدن دوپامین در ترمینال نرون های دوپامینرژیک مزولیمبیک یک پروسه وابسته به ایمپالس های عصبی می باشد. تحریک VTA چه بصورت الکتریکی و یا بوسیله دارو باعث افزایش آزاد شدن دوپامین در هسته اکومبنس (NAC) شده و اثرات پاداشی به همراه دارد (۵) و احتمالاً همین اثرات پاداشی باعث می شد که در حین تحریک الکتریکی رت ها آرام باشند. بنابر این ایجاد لذت کافی توسط تحریک موجب شده که حیوان نیازی به لذت بیشتر از مورفین نداشته باشد.

با توجه به تنوع نرونی از نظر پروجکشن های آوران و وابران و همچنین نوع نوروترانسمیتر، مشخص شدن اینکه کدام نرون ها و به چه نسبتی در تحریک الکتریکی VTA تحریک می شوند کمک زیادی به توجیه مکانیسم اثر این تحریک در افزایش آزاد شدن دوپامین و اثرات پاداشی ناشی از آن و نهایتاً کاهش تعداد فشار دادن پدال فعال خواهد کرد. آوران های گلوتاماترژیک به ناحیه تگمنتوم شکمی عمدتاً از Prefrontal cortex منشاء گرفته و موجب افزایش فعالیت نرون های دوپامینی در VTA شده و نهایتاً منجر به آزاد شدن دوپامین در هسته اکومبنس می شوند (۷). گلوتامات آزاد شده در VTA از طریق رسپتورهای NMDA و غیر NMDA فرکانس تخلیه نرون های دوپامینی را در این ناحیه افزایش می دهند (۱۱). در تحریک الکتریکی VTA اگر ترمینال نرون های گلوتاماترژیک تحریک شوند، گلوتامات آزاد می شود و این گلوتامات منجر به تحریک نرون های دوپامینی شده و با آزاد شدن دوپامین در NAC (Nucleus accombence)، اثرات پاداشی ایجاد می شود. اما بیشترین آوران های گلوتاماترژیک به VTA روی نرون های غیر دوپامینی (احتمالاً گاباارژیک) سیناپس می دهند (۱۰) و این گاباارژیک ها به هسته اکومبنس پروجکشن داده و با اینترنرون های کولینرژیک در این ناحیه سیناپس می دهند و آنها را مهار می کنند و باعث برداشته شدن اثر تحریکی استیل کولین از روی نرون های با اندازه متوسط در این ناحیه می شوند (۱۰). این توالی وقایع احتمال اینکه تحریک الکتریکی این ناحیه

از طریق رلیز گلوتامات اثرات پاداشی را اعمال کند زیر سؤال می برد.

در تحریک الکتریکی VTA احتمالاً هر دو نوع نرون های دوپامینرژیک و گاباارژیک تحریک می شوند اما به احتمال زیاد تحریک نرون های دوپامینرژیک مزولیمبیک برتری دارد نسبت به تحریک انواع دیگر نرون ها زیرا: اولاً تعداد نرون های گاباارژیک تقریباً یک سوم نرون های دوپامینیژیک می باشد. ثانیاً از آنجایی که در صورت تحریک نرون های گاباارژیک، نروترانسمیتر مهاری گابا ترشح شده و نرون های دوپامینی را مهار می کند و باعث کاهش رلیز دوپامین در ترمینال این نرون ها در NAC می شود که این بر خلاف اثرات پاداشی ناشی از رلیز دوپامین می باشد. بنابراین احتمال اینکه تحریک الکتریکی نرون های گاباارژیک در VTA اثرات پاداشی بدنبال داشته و باعث کاهش در تعداد پدال ها شود نیز منتفی می شود. تقریباً دو سوم نرون های موجود در VTA دوپامینی بوده و بیشترین پروجکشن های دوپامینی از VTA به NAC می روند (۶) و این مسیرهای دوپامینرژیک نقش اصلی را در اثر تقویت کنندگی ناشی از تحریک الکتریکی دارند.

بنابراین تحریک الکتریکی VTA آزاد شدن دوپامین را همانند تحریک ناشی از مصرف مورفین در NAC افزایش می دهد. چون تحریکات وارده قبل از عمل خود تزریقی صورت گرفته است بنابر این اثرات پاداشی ناشی از افزایش دوپامین در NAC متعاقب تحریک الکتریکی در VTA نیاز به مورفین را برای ایجاد همین اثرات کاهش می دهد. در نتیجه حیوان تمایلی برای زدن پدال و دریافت مورفین از خود نشان نمی دهد.

بنابراین به احتمال قوی مکانیسم اصلی که تحریک الکتریکی VTA از افزایش میزان پدال های زده شده جهت دریافت مورفین جلوگیری کرده و بنابراین اثرات پاداشی داشته است آزاد شدن دوپامین در هسته اکومبنس می باشد و می توان گفت که اثر تحریکی نرون های دوپامینی بر اثرات ناشی از تحریک پایانه های گلوتامینرژیک و تحریک نورون های گایاارژیک غلبه دارد.

یک نتیجه کاربردی احتمالی این تحقیق این است که نشاط، می تواند موجب کاهش اعتیاد شود. چون VTA یک هسته پاداشی (نشاط آور) است و تحریک آن از اعتیاد جلوگیری کرده است.

تشکر و قدردانی:

از زحمات کادر مجله کمال تشکر را دارد.

References:

1. Akli H. Endogenous opioid: biology and function. Neurosci, 7: 223-55, 1984.
2. Bozarth M.; Wise R. Anatomically distinct opiate receptor fields mediate reward and physical dependence. Science, 224: 516-17, 1984.
3. Devin DP.; Leone P. Diffrential involvement of venteral tegmental mu, delta and kapa opioid receptors in modulation of basal mesolimbic dopamin release. J Pharmachol Exp Ther, 266: 1236-46, 1993.

4. Grunetal Gmb H. Pharmacology and behavioral pharmacology of the mesocortical dopamin systems. Porg Neurobiol, 63: 230-41, 2001.

5. Huibert D. Long- term potentiation of exitatory inputs to brain reward areas by nicotin. Neuron, 27: 349–435, 2000.

6. Paul A.; Melissa A.; Darren M. Dissociation of dopamine release in the nucleus accumbens from intracranial self-stimulation. Nature, 67-72, 1999.

7. Paxinos G.; Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates: From Accademic Press. NewYork: USA, 28-31, 1998.

8. Robert A.; Magali D. Effects of bidirectional interactin between ventral tegmental rewarding and hindbrain aversive stimulation in the rat. Brain Res, 688: 15–20, 1999.

9. Roy A.; Wise R. Drug-activation of the brain reward pathways. Drug Alcohol Depend, 51: 13–22, 1998.

10. Sesack SR.; Pickel VM. Prefrontal cortical efferents in the rat synapse on unlabeled neuronal targets of catecholamine terminals in the nucleus accumbens septi and on dopamine neurons in the ventral tegmental area. J Comp Neurol, 320(2): 145-60, 1992.

11. Suaud-Chagny MF.; Chergui K.; Chouvet G.; Gonon F. Relationship between dopamine release in the rat nucleus accumbens and the discharge activity of dopaminergic neurons during local *in vivo* application of amino acids in the ventral tegmental area. Neurosci, 49(1): 63-72, 1992.