

Research Paper

The Effect of Maternal Morphine Addiction on Neural Plasticity of Fetal Brain in Wistar Rats



Monir Hoseinian¹ , Hooria Jalali Tehrani¹ , Ghorbangol Ashabi² , Solmaz Khalifeh³ , *Afshin Kheradmand⁴ 

1. Department of Developmental Biology, Faculty of Advanced Science and Technology, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
2. Department of Physiology, Faculty of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
3. Cognitive and Neuroscience Research Center (CNRC), Tehran Medical Sciences, Amir-Almomenin Hospital, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
4. Department of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Pharmacy, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.



Citation Hoseinian M, Jalali Tehrani H, Ashabi Gh, Khalifeh S, Kheradmand A. [The Effect of Maternal Morphine Addiction on Neural Plasticity of Fetal Brain in Wistar Rats (Persian)]. *Qom University of Medical Sciences Journal*. 2022; 15(10):718-725. <https://doi.org/10.32598/qums.15.10.2516>

 <https://doi.org/10.32598/qums.15.10.2516>



Received: 07 Dec 2021

Accepted: 05 Feb 2022

Available Online: 01 Jan 2022

Keywords:

Synaptic plasticity,
Morphine, Rat,
brain-derived
Neurotrophic factor

ABSTRACT

Background and Objectives Prenatal exposure to morphine has long-lasting effects on synaptic plasticity. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) plays an important role in neuronal survival and growth, serves as a neurotransmitter modulator, and participates in neuronal plasticity, which is essential for cognition, learning and memory. Extracellular signal-regulated kinase (ERK) is one of the important downstream proteins of BDNF- tropomyosin receptor kinase B (TrkB) signaling. Exact effect of opioids on ERK expression in the neuronal cells is still unclear. The aim of this study was to evaluate the effect of prenatal morphine exposure on BDNF and ERK protein levels in the rat fetal brain.

Methods Pregnant rats (n=8) received increasing daily doses of morphine (0.1-0.4 mg/kg) in their drinking water. The brains of fetuses from both morphine-addicted and controls mothers were isolated at day 19 of gestation, and the levels of BDNF and p-ERK were measured using Western-blotting assay. The data presented as Mean±SEM and statistical analysis was performed by Unpaired T-test to compare between two groups.

Results Our data revealed that the level of BDNF and p-ERK significantly decreased in the fetus's brain of morphine addicted mothers comparing to control group.

Conclusion Chronic exposure to morphine prenatally, could affect and diminish structural plasticity in the developing rat brain. It is probable that morphine exert this effect by reduction of BDNF level that consequently attenuate ERK phosphorylation.

* Corresponding Author:

Afshin Kheradmand, PhD.

Address: Department of pharmacology and Toxicology, Faculty of Pharmacy, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Tel: +98 (21) 44606181

E-Mail: afshin1972kheradmand@yahoo.com, Kheradmand.a@iums.ac.ir

مقاله پژوهشی

بررسی تأثیر اعتیاد به مورفین در مادر بر پلاستی سیته عصبی در مغز جنین رت‌های نژاد ویستار

منیر حسینیان^۱، حورا جلالی تهرانی^۱، قربانگل اصحابی^۲، سولماز خلیفه^۳، افشین خردمند^۴

۱. گروه زیست‌شناسی تکوینی، دانشکده علوم و فناوری‌های نوین، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

۲. گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

۳. مرکز تحقیقات علوم اعصاب و شناختی، علوم پزشکی تهران، بیمارستان امیرالمؤمنین، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

۴. گروه فارماکولوژی و سم‌شناسی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران.

چکیده

تاریخ دریافت: ۱۶ آذر ۱۴۰۰

تاریخ پذیرش: ۱۶ بهمن ۱۴۰۰

تاریخ انتشار: ۱۱ دی ۱۴۰۰

زمینه و هدف: مواجهه قبل از تولد با مورفین، اثرات طولانی‌مدتی بر شکل‌پذیری سیناپسی دارد. فاکتور نوروتروفیک مشتق‌شده از مغز نقش مهمی در بقا و رشد نورون ایفا کرده و به عنوان یک تعدیل‌کننده و انتقال‌دهنده عصبی در پلاستی سیته عصبی که برای شناخت، یادگیری و حافظه ضروری است، شرکت می‌کند. کیناز تنظیم‌شده با سیگنال خارج سلولی یکی از پروتئین‌های مهم پایین‌دست مسیر سیگنالینگ فاکتور نوروتروفیک مشتق‌شده از مغز-تروپوماپسین کیناز رستور بی است. اثر دقیق اپیوئیدها بر بیان کیناز تنظیم‌شده با سیگنال خارج سلولی در سلول‌های عصبی هنوز مشخص نیست. هدف از این مطالعه، بررسی تأثیر در معرض مورفین قرار گرفتن قبل از تولد بر سطوح پروتئین فاکتور نوروتروفیک مشتق‌شده از مغز و کیناز تنظیم‌شده با سیگنال خارج سلولی در مغز جنین موش صحرایی بود.

روش بررسی: موش‌های صحرایی باردار دزهای افزایشی مورفین (۰/۱ تا ۰/۴ میلی گرم بر کیلوگرم) را در آب آشامیدنی خود دریافت کردند. مغز جنین‌های مادران معتاد به مورفین و گروه کنترل در روز نوزده بارداری جدا شد و سپس سطوح فاکتور نوروتروفیک مشتق‌شده از مغز و کیناز تنظیم‌شده با سیگنال خارج سلولی فسفریله با استفاده از روش وسترن بلات اندازه‌گیری شد. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از آزمون تی تست انجام شد.

یافته‌ها: داده‌های ما نشان داد که سطح فاکتور نوروتروفیک مشتق‌شده از مغز و کیناز تنظیم‌شده با سیگنال خارج سلولی فسفریله در مغز جنین مادران معتاد به مورفین نسبت به گروه کنترل به‌طور معناداری کاهش یافته است.

نتیجه‌گیری: مواجهه مزمن با مورفین قبل از تولد می‌تواند شکل‌پذیری ساختاری مغز موش‌های صحرایی در حال رشد را تحت تأثیر قرار داده و آن را کاهش دهد. این احتمال وجود دارد که مورفین این اثر را با کاهش سطح فاکتور نوروتروفیک مشتق‌شده از مغز اعمال کند که این خود در نهایت فسفوریلاسیون کیناز تنظیم‌شده با سیگنال خارج سلولی را کاهش می‌دهد.

کلیدواژه‌ها:

شکل‌پذیری سیناپسی،
مورفین، موش صحرایی،
فاکتور نوروتروفیک
مشتق از مغز

مقدمه

به دنبال مصرف مواد اعتیادآور، برخی از نواحی مغز که موجب بروز پاداش و سبب احساس لذت می‌شوند، تحریک می‌شود [۳]. مورفین از خانواده اپیوئیدها دارای گیرنده‌های اختصاصی در غشای نورون‌های مغز است [۴]. به نظر می‌رسد برخی از نواحی مغز مانند تگمنتوم شکمی، هسته اکومپنس، قسمت قدامی و جانبی تالاموس، بخش هیپوکامپ و آمیگدال گیرنده‌های مورفینی دارند [۵].

تکوین مدارهای عصبی مغز پستانداران در دوران قبل از تولد و اوایل تولد تحت تأثیر عوامل محیطی قرار می‌گیرند و نقش مهمی در دوران نوجوانی و جوانی دارد. از این دوره به عنوان «دوره بحرانی رشد مغز» یاد می‌شود [۱]. اعتیاد^۱ یک بیماری زیست‌شناختی، روان‌شناختی و اجتماعی است که به دنبال استفاده از مواد مخدر یا دارو بدون توجه به عواقب ناخوشایند آن باعث وابستگی فرد می‌شود [۲].

1. Addiction

* نویسنده مسئول:

دکتر افشین خردمند

نشانی: تهران، دانشگاه علوم پزشکی ایران، دانشکده داروسازی، گروه فارماکولوژی و سم‌شناسی

تلفن: ۴۴۶۰۶۱۸۱ (۲۱) ۹۸+

رایانامه: afshin1972kheradmand@yahoo.com, Kheradmand.a@iums.ac.ir

تروپومایسین کیناز بی^۲ است. پروتئین کیناز فعال شونده با سیگنال‌های خارج سلولی به عنوان یکی از پروتئین‌های فرودست مسیر سیگنالینگ گیرنده تروپومایسین کیناز بی-گیرنده تروپومایسین کیناز بی از طریق فسفریله شدن فعال می‌شود. این پروتئین پس از فعال شدن مستقیماً پروتئین پروتئین باند شونده با جزء پاسخ دهنده به ای ام پی حلقوی را فعال کرده تا به عنوان یک فاکتور رونویسی منجر به شروع فرایند رونویسی از ژن‌های دخیل در پلاستیسیته سیناپسی شود. با وجود اهمیت این مسیر، نقش اوپیونیدها روی بیان کیناز فعال شونده با سیگنال‌های خارج سلولی هنوز کاملاً مشخص نیست.

به تازگی، گزارش شده که فسفوریلاسیون کیناز فعال شونده با سیگنال‌های خارج سلولی در نوکلئوس اکامینس، قشر پره‌فرونتال و تگمنتوم شکمی بعد از مورفین مزمن کاهش یافته است. با این حال، برخی مطالعات افزایش فسفوریلاسیون و فعالیت کاتالیزوری کیناز فعال شونده با سیگنال‌های خارج سلولی در تگمنتوم شکمی را پس از مورفین مزمن گزارش کرده‌اند [۱۶-۱۴].

مسیرهای درون سلولی متعاقب فعال شدن سیگنالینگ فاکتور نوروتروفیک مشتق شده از مغز-گیرنده تروپومایسین کیناز بی در رشد و بقای سلول نقش دارند. مصرف مورفین منجر به ایجاد اختلالات زیادی در این مسیرها می‌شود [۱۷].

بر اساس شواهد حاضر و اهمیت مسیر سیگنالینگ یادشده، در مطالعه حاضر تغییرات سطح پروتئین فاکتور نوروتروفیک مشتق شده از مغز و کیناز فعال شونده با سیگنال‌های خارج سلولی فسفریله را در مغز جنین مادران معتاد به مورفین بررسی کنیم.

روش بررسی

حیوانات

در این مطالعه از موش‌های صحرایی نژاد ویستار ده تا دوازده هفته و در محدوده وزنی ۲۶۰-۲۴۰ گرم استفاده شده است. این حیوانات از انیستیتو پاستور ایران تهیه شده و در دمای کنترل شده ۲۲±۲ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۵۰-۴۰ درصد و چرخه تاریکی و روشنایی دوازده ساعته در قفس‌های استاندارد نگهداری شدند و دسترسی آزادانه به آب و مواد غذایی داشتند. تمام آزمایشات در چرخه روشنایی و زمان مشابه برای همه گروه‌ها انجام شده است. مطالعات بر اساس موازین و دستورالعمل کمیته اخلاق کار با حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی آزاد انجام شد. تمام تمهیدات لازم به کار گرفته شد تا تعداد حیوانات مورد استفاده و میزان درد و رنج آن‌ها به حداقل برسد.

سازوکارهای پیشنهادی نشان می‌دهد که اوپیات‌ها به صورت حاد میزان برانگیختگی نورون‌ها را از طریق فعال کردن کانال‌های K⁺ و مهار دپلاریزاسیون آهسته کانال‌های کاتیونی غیراختصاصی را از طریق پروتئین G مهار می‌دهند [۶].

مطالعات نشان داده است که پروتئین کیناز فعال شونده با سیگنال‌های خارج سلولی^۲ در پلاستیسیته عصبی نقش مهمی دارد. از طرف دیگر، پروتئین کیناز فعال شونده با سیگنال‌های خارج سلولی تأثیر پروتئین فاکتور نوروتروفیک مشتق شده از مغز^۳ را که عامل پلاستیسیته سیناپسی است، میانجی‌گری می‌کند. فاکتور نوروتروفیک مشتق شده از مغز یکی از مهم‌ترین فاکتورهای عصبی است که به عنوان عامل پلاستیسیته سیناپسی در عملکرد شناختی و یادگیری و تشکیل حافظه نقش دارد [۱۷]. بررسی‌ها نشان داده که در صورت سوءمصرف مواد، مقدار این پروتئین در مغز، به‌خصوص آمیگدال و نوکلئوس اکامینس افزایش پیدا می‌کند [۸].

بسیاری از مطالعات نشان داده‌اند که مصرف مورفین در دوران بارداری تأثیر طولانی‌مدت بر ساختار و عملکرد مدارهای عصبی زاده‌ها دارد. قرار گرفتن در معرض مورفین در دوران جنینی، در موش‌های صحرایی نر بالغ، منجر به کاهش تراکم گیرنده‌های اوپیونیدی در ژيروس دندانه‌ای هیپوکامپ^۴، بدون تغییر تراکم این گیرنده‌ها در نواحی CA1 و CA3 هیپوکامپ می‌شود [۹]. به علاوه، نشان داده شده است که مصرف مورفین در دوران بارداری و شیردهی، منجر به کاهش گیرنده متیل آسپارتات^۵ و میزان فسفوریلاسیون پروتئین باند شونده با جزء پاسخ دهنده به ای ام پی حلقوی^۶ در مغز فرزندان موش چهارده روزه می‌شود [۱۰].

علاوه بر تأثیر بر بیان گیرنده‌ها و فاکتورهای نسخه‌برداری، قرار گرفتن در معرض مورفین مزمن باعث تغییر در قابلیت انعطاف‌پذیری سیناپسی می‌شود [۹]. شواهدی وجود دارد که مواجهه پیش از تولد با مورفین، اثرات طولانی‌مدتی بر شکل‌پذیری سیناپسی می‌گذارد [۱۱]. نتایج یک مطالعه در سال ۲۰۱۵ نشان داد که در معرض بودن جنین موش صحرایی با دُزهای مزمن مورفین منجر به کاهش مقادیر فاکتور رشد عصبی فاکتور نوروتروفیک مشتق شده از مغز در هیپوکامپ می‌شود [۱۲]. همین‌طور یک مطالعه دیگر کاهش بیان پیش‌ساز فاکتور نوروتروفیک مشتق شده از مغز را در اثر مواجهه مزمن با مورفین در دوره جنینی نشان داده است [۱۳].

اثرات فاکتور نوروتروفیک مشتق شده از مغز از طریق چندین گیرنده سلولی وساطت می‌شوند. یکی از این گیرنده‌ها، گیرنده

2. Extracellular Signal-Regulated Kinase (ERK)
3. Brain Derived Neurotrophic Factor (BDNF)
4. Dentate Gyrus (DG)
5. N-methyl-D-aspartate (NMDA)
6. cAMP-Response Element Binding Protein (CREB)

7. Tropomyosin Receptor Kinase B (TrkB)

گروه‌های آزمایشی

در مطالعه حاضر، دو گروه (تعداد حیوان در هر گروه=۸) بررسی شد. گروه کنترل فرزندان حیواناتی هستند که در طول بارداری به مدت نوزده روز آب مقطر را بدون مورفین خوراکی دریافت کرده‌اند. گروه آزمایش فرزندان حیواناتی هستند که در طول دوره بارداری مورفین خوراکی با دزهای مختلف طبق الگوی زیر به همراه ساکاروز ۳ درصد به مدت نوزده روز دریافت کرده‌اند.

روز اول و دوم ۰/۱ میلی گرم بر کیلوگرم

روز سوم و چهارم ۰/۲ میلی گرم بر کیلوگرم

روز پنجم و ششم ۰/۳ میلی گرم بر کیلوگرم

روز هفتم تا نوزدهم ۰/۴ میلی گرم بر کیلوگرم

سپس در روز نوزدهم بارداری جنین‌ها از بدن مادر خارج شده و پس از گیوتینه کردن، مغز آن‌ها به سرعت استخراج و جهت آزمایشات بعدی در نیتروژن مایع قرار گرفته و سپس در فریزر ۸۰- نگهداری شد.

وسترن بلات

بافت مغز با کمک بافر لیزکننده و طبق دستورالعمل یادشده در مطالعات پیشین [۱۸]، لیز شده و عصاره سلولی استخراج شد. مغز هر یک از حیوانات درون هر ویال با بافر لیزکننده سه برابر وزن بافت مغز هموژن شد. سپس، بافت هموژن شده به مدت بیست دقیقه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد و دور rpm12000 سانتریفیوژ شد. مایع شفاف رویی حاوی پروتئین‌های حاصل و سپس غلظت پروتئین‌ها به روش بردفورد اندازه‌گیری شد [۱۹].

پس از این مرحله، مقدار برابر از پروتئین‌ها روی ژل الکتروفورز شد. در مرحله ایموبلایزینگ، باندهای پروتئینی جداشده با روش الکتروفورز ژل پلی آکریل آمید-سدیم دودسیل سولفات^۸ به غشایی از جنس پلی وینیلیدن فلوراید (PVDF) شرکت میلیپور^۹ منتقل شد و نهایتاً میزان پروتئین‌های مورد مطالعه (فاکتور نورتروفیک مشتق شده از مغز و یا p-کیناز فعال شونده با سیگنال‌های خارج سلولی شرکت سل سیگنالینگ^{۱۰}) توسط آنتی‌بادی اختصاصی شناسایی شد. سپس غشاهای در معرض آنتی‌بادی ثانویه حاوی پراکسیداز (HRP شرکت شرکت سل سیگنالینگ) قرار گرفت.

در مرحله آخر برای فرایند آشکارسازی از روش کمولومینه‌سانس با استفاده از کیت الکتروکمی لومینه‌سانس (ECL شرکت امرشام بیوساینس^{۱۱}) استفاده و باندهای روی فیلم رادیولوژی (شرکت

کدک^{۱۲}) ظاهر شد. آنتی‌بادی بتا-اکتین^{۱۳} (شرکت شرکت سل سیگنالینگ) به عنوان کنترل داخلی استفاده شد. نتایج نهایی به وسیله دانسیتومتری باندهای حاصل از وسترن بلات با کمک نرم‌افزار ایمج‌جی^{۱۴} و با تقسیم دانسیته باند فاکتور نورتروفیک مشتق شده از مغز یا کیناز تنظیم شده با سیگنال خارج سلولی فسفریله^{۱۵} بر میزان بتا-اکتین در همان گروه حاصل شد.

تجزیه و تحلیل آماری

تمام تحلیل‌های آماری با استفاده نرم‌افزار SPSS و برای بررسی معناداری بین گروه‌ها از آزمون مستقل تی تست استفاده شد. تمام داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار نشان داده شده‌اند. تفاوت بین گروه‌ها با $P < 0.05$ معنادار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

داده‌های حاصله از نتایج وسترن بلات و آنالیز آماری داده‌ها با کمک تی تست نشان داد که مواجهه مزمن با مورفین در دوره بارداری می‌تواند منجر به کاهش سطح فاکتور نورتروفیک فاکتور نورتروفیک مشتق شده از مغز در مغز جنین‌های نوزده روزه شود (میانگین $\pm$ انحراف معیار در گروه کنترل 0.49 ± 0.02 و گروه آزمایش 0.27 ± 0.05). این کاهش در مصرف مزمن مورفین به صورت معناداری در مقایسه نسبت به گروه کنترل قابل مشاهده بود ($P < 0.05$) (تصویر شماره ۱).

در ادامه میزان کیناز فعال شونده با سیگنال‌های خارج سلولی فسفریله در مغز جنین‌های نوزده روزه بررسی شد. نتایج حاصل وسترن بلات حاکی از کاهش این پروتئین فسفریله در گروه مواجهه شده با مورفین در دوران جنینی بود (میانگین $\pm$ انحراف معیار در گروه کنترل: 0.62 ± 0.15 و گروه آزمایش: 0.36 ± 0.04).

بررسی‌های تی تست نشان داد که در گروه آزمایش مقدار کیناز فعال شونده با سیگنال‌های خارج سلولی فسفریله در مغز به صورت معناداری در مقایسه با جنین‌های گروه کنترل کاهش پیدا می‌کند ($P < 0.05$) (تصویر شماره ۲).

بحث

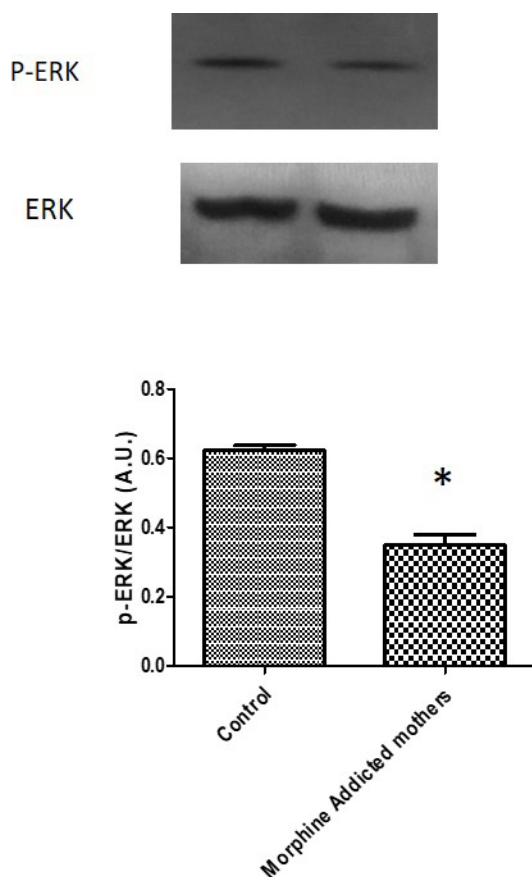
برخی مطالعات گذشته به بررسی اثر تزریق مورفین مزمن در دوران بارداری بر میزان بیان فاکتور نورتروفیک مشتق شده از مغز در مغز زاده‌ها پرداخته‌اند. با وجود این، مطالعات کمی تاکنون مکانیسم اثر مورفین مزمن در دوران جنینی و مسیر سیگنالینگ فرودست گیرنده فاکتور نورتروفیک مشتق شده از مغز درگیر در این اثرات را بررسی کرده‌اند. در اینجا ما نشان دادیم که

12. Kodak
13. β -actin
14. ImageJ
15. p-extracellular signal-regulated kinase (pERK)

8. Sodium Dodecyl Sulfate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE)
9. Millipore
10. Cell Signaling
11. Amersham Bioscience

مطالعات انجام شده بر اثرات بلندمدت مواجهه با مواد اوپیوئیدی قبل از تولد بر تکوین عصبی نوزادان کافی نیست. قرار گرفتن در معرض مواد اوپیوئیدی مانند مورفین در طی دوره بحرانی تکوین عصبی می تواند منجر به تغییرات دائمی در شکل پذیری سیناپسی و عملکرد مغز شود. به عنوان مثال، برخی از این تغییرات ساختاری و عملکردی در مغز حیوانات بالغ منجر به افزایش فعالیت حرکتی، اختلال در حافظه، یادگیری و کاهش سازگاری با شرایط استرسزا می شوند. قرار گرفتن در معرض مورفین قبل از تولد باعث افزایش میزان گیرنده های مواد اوپیوئیدی در نوکلئوس اکامبنس و در آمیگدال، یعنی ساختارهای مغزی مرتبط با سیستم پاداش دارویی می شود [۲۲].

قرار گرفتن مزمن در معرض مورفین در موش صحرایی به تنظیم نوروپلاستی سسته سیناپسی در نواحی پس سیناپسی



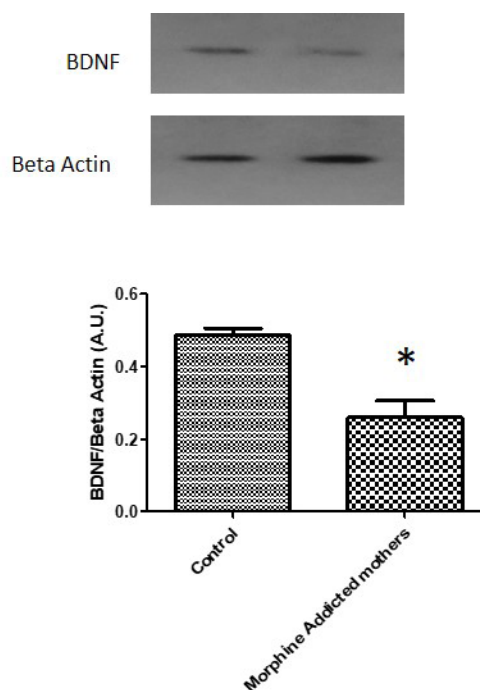
مجله
دانشگاه علوم پزشکی قم

تصویر ۲. تغییر سطح پروتئین کیناز تنظیم شده با سیگنال خارج سلولی فسفریله در مغز جنین های نوزده روزه در اثر تزریق مزمن مورفین. الف: نمونه باند کیناز تنظیم شده با سیگنال خارج سلولی فسفریله و کیناز تنظیم شده با سیگنال خارج سلولی؛ ب: آنالیز کمی داده های وسترن بلات در گروه آزمایش و کنترل. آنالیز تی تست حاکی از کاهش معنادار سطح کیناز تنظیم شده با سیگنال خارج سلولی فسفریله در گروه آزمایش در مقایسه با گروه کنترل است. مقادیر نشان داده شده معرف میانگین $\pm$ انحراف معیار، میانگین در هر گروه است. * معادل $P < 0.05$ اختلاف از گروه کنترل است.

مورفین مزمن قادر است منجر به ایجاد تغییر در سطح پروتئین در مغز جنین های نوزده روزه شده و احتمالاً از طریق کاهش سطح فاکتور نوروتروفیک مشتق شده از مغز منجر به کاهش میزان کیناز فعال شونده با سیگنال های خارج سلولی فسفریله و کاهش پلاستی سسته ساختاری در مغز در حال تکوین موش های صحرایی شود.

دوره جنینی و زمان نزدیک به تولد تغییرات سریعی در اندام های جنین شکل می گیرد که مغز نیز از این قاعده مستثنا نیست. در این دوره جنین حساسیت بالایی نسبت به تأثیر عوامل محیطی و شکل دهنده دارد. در این دوره، محرک یا آسیب وارده موجب اثرات طولانی مدت یا دائمی شده و می تواند باعث تغییرات رفتاری و اجتماعی فرد در دوران بزرگسالی شود. البته این اثرات و نتایج آن به زمان مواجهه و مراحل تکوین وابستگی زیادی دارد. از این اثر به عنوان برنامه ریزی^{۱۶} یاد شده و حمایت های زیادی از فرضیه برنامه ریزی جنینی در جهت کنترل کیفیت سلامت در بزرگسالی وجود دارد [۲۰، ۲۱].

16. Programming



مجله
دانشگاه علوم پزشکی قم

تصویر ۱. تغییر سطح فاکتور نوروتروفیک مشتق شده از مغز جنین های نوزده روزه در اثر تزریق مزمن مورفین. الف: نمونه باند فاکتور نوروتروفیک مشتق شده از مغز و بتا اکتین؛ ب: آنالیز کمی داده ها وسترن بلات در گروه آزمایش و کنترل. آنالیز تی تست حاکی از کاهش معنادار سطح پروتئین فاکتور نوروتروفیک مشتق شده از مغز در گروه آزمایش در مقایسه با گروه کنترل است. مقادیر نشان داده شده معرف میانگین $\pm$ انحراف معیار، میانگین در هر گروه است. * معادل $P < 0.05$ اختلاف از گروه کنترل است.

بررسی ما نیز حاکی از کاهش عملکرد و نقش مسیر فاکتور نوروتروفیک مشتق شده از مغز-کیناز فعال شونده با سیگنال های خارج سلولی در پلاستی سیتی ساختاری در نورون های در حال تکوین در جنین های موش های صحرایی مواجه شده با مورفین و اثر احتمالی مورفین پیش از تولد بر کاهش شکل پذیری نورونی است. برای تعیین درستی این یافته های ناسازگار، مطالعات بیشتری لازم است.

نتیجه گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که مواجهه مزمن با مورفین قبل از تولد می تواند شکل پذیری ساختاری مغز موش های صحرایی در حال رشد را تحت تأثیر قرار داده و آن را کاهش دهد. این احتمال وجود دارد که مورفین این اثر را با کاهش سطح فاکتور نوروتروفیک مشتق شده از مغز اعمال کند که این، در نهایت فسفوریلاسیون کیناز فعال شونده با سیگنال های خارج سلولی را کاهش می دهد.

ملاحظات اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق پژوهش

این مطالعه دارای مصوبه کمیته اخلاق دانشکده داروسازی و علوم دارویی دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی تهران با کد IR.IAU.PS.REC.1398.119 است.

حامی مالی

این تحقیق هیچ کمک مالی از سازمان های مالی در بخش های عمومی، تجاری یا غیر انتفاعی دریافت نکرد.

مشارکت نویسندگان

تمام نویسندگان در طراحی، اجرا و نگارش همه بخش های پژوهش حاضر مشارکت داشته اند.

تعارض منافع

نویسندگان این مقاله تعارض در منافع ندارند.

تشکر و قدردانی

این پژوهش با مساعدت جناب آقای دکتر محمد ناصحی و امکانات آزمایشگاهی ایشان صورت پذیرفته است که از تمامی کمک هایشان تشکر و قدردانی میشود.

سیستم لیمبیک منجر می شود که باعث ایجاد اثرات مداوم بر سازماندهی مجدد اتصالات سیناپسی در مناطقی می شود که ارتباط مستقیمی با انگیزش، پاداش و یادگیری در بزرگسالی دارند. این تغییرات دائمی بوده و حتی پس از قطع مواجهه با مورفین باقی می ماند. به علاوه، قرار گرفتن در معرض مورفین مزمن در دوره های قبل از تولد و اوایل زایمان باعث کاهش چشمگیر در حجم مغز، تراکم نورونی و رشد دندریتی می شود.

در حال حاضر، اطلاعات کاملی از نحوه تغییرات ساختاری القاشده توسط اوبیوئیدها در دسترس نیست، اما با توجه به نقش حیاتی سیگنالینگ مسیر پروتئین های فرودست مسیر سیگنالینگ گیرنده تروپوماکسین کیناز بی-گیرنده تروپوماکسین کیناز بی از طریق فسفریله در میانجیگری اثرات گیرنده نوع ۳ دوپامین [۲۳، ۲۴] و با توجه به نقش این مسیر سیگنالینگ سلولی در بروز شکل پذیری سیناپسی، به نظر می رسد که احتمالاً استفاده مزمن مورفین پیش از تولد، از این طریق منجر به کاهش شکل پذیری سیناپسی در نورون ها در مراحل اولیه تکوین سیستم عصبی می شود. شاهد این مدعی کاهش سطح فاکتور نوروتروفیک مشتق شده از مغز در مغز جنین ها درست قبل از تولد است.

یکی از مسیرهای سیگنالینگ مهم فعال شونده در اثر عملکرد فاکتور نوروتروفیک مشتق شده از مغز در مغز، مسیر فسفوریلاسیون پروتئین های واسط مانند کیناز فعال شونده با سیگنال های خارج سلولی است. سیگنالینگ کیناز فعال شونده با سیگنال های خارج سلولی در هر دو نوع گیرنده گیرنده متیل آسپاراتات و AMPA^{۱۷} نقش ایفا می کند [۲۵] و به این دلیل می تواند در تقویت طولانی مدت^{۱۸} و پلاستی سیتی سیناپسی فعال شونده توسط فاکتور نوروتروفیک مشتق شده از مغز نقش داشته باشد. برخی مطالعات قبل نشان داده اند که مورفین قادر است از طریق فعال کردن پروتئین کیناز C منجر به فسفریله و فعال شدن کیناز فعال شونده با سیگنال های خارج سلولی شده و از این طریق نورون را در مغز مهار کند [۲۶].

از طرف دیگر، به تازگی گزارش شده که فسفوریلاسیون کیناز فعال شونده با سیگنال های خارج سلولی در هسته اکومبنس [۱۴]، کورتکس پریفرونال و ناحیه تگمنتوم شکمی بعد از مورفین مزمن کاهش یافته است [۲۷]. این مشاهده تأیید کننده نتایج حاصل از آزمایش ما و در تطابق با اثر کاهش شاخه های عصبی القاشده توسط مورفین در این مناطق در حیوانات وابسته به مورفین است. با این حال، برخی مطالعات افزایش فسفوریلاسیون و فعالیت کاتالیزوری کیناز فعال شونده با سیگنال های خارج سلولی، در ناحیه تگمنتوم شکمی پس از مورفین مزمن را گزارش کرده اند [۱۶، ۲۸].

17. α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid (AMPA)
18. Long-Term Potentiation (LTP)

References

- [1] Volkow ND, Morales M. The brain on drugs: From reward to addiction. *Cell*. 2015; 162(4):712-25. [DOI:10.1016/j.cell.2015.07.046] [PMID]
- [2] Nestler EJ. Molecular basis of long-term plasticity underlying addiction. *Nat Rev Neurosci*. 2001; 2(2):119-28. [DOI:10.1038/35053570] [PMID]
- [3] Ruffle JK. Molecular neurobiology of addiction: What's all the (Δ) FosB about? *Am J Drug Alcohol Abuse*. 2014; 40(6):428-37. [DOI:10.3109/00952990.2014.933840] [PMID]
- [4] Snyder SH. Opiate receptors in the brain. *N Engl J Med*. 1977; 296(5):266-71. [DOI:10.1056/NEJM197702032960511] [PMID]
- [5] Zarrindast M-R, Rezayof A, Sahraei H, Haeri-Rohani A, Rassouli Y. Involvement of dopamine D1 receptors of the central amygdala on the acquisition and expression of morphine-induced place preference in rat. *Brain Res*. 2003; 965(1-2):212-21. [DOI:10.1016/S0006-8993(02)04201-4]
- [6] Bardo MT. Neuropharmacological mechanisms of drug reward: Beyond dopamine in the nucleus accumbens. *Crit Rev Neurobiol*. 1998; 12(1-2):37-67. [DOI:10.1615/CritRevNeurobiol.v12.i1-2.30] [PMID]
- [7] Velíšek L, Šlamberová R, Vathy I. Prenatal morphine exposure suppresses mineralocorticoid receptor-dependent basal synaptic transmission and synaptic plasticity in the lateral perforant path in adult male rats. *Brain Res Bull*. 2003; 61(6):571-6. [DOI:10.1016/S0361-9230(03)00194-1]
- [8] Gholami A, Haeri-Rohani A, Sahraei H, Zarrindast M-R. Nitric oxide mediation of morphine-induced place preference in the nucleus accumbens of rat. *Eur J Pharmacol*. 2002; 449(3):269-77. [DOI:10.1016/S0014-2999(02)02038-1]
- [9] Yang SN, Liu CA, Chung MY, Huang HC, Yeh GC, Wong CS, et al. Alterations of postsynaptic density proteins in the hippocampus of rat offspring from the morphine-addicted mother: Beneficial effect of dextromethorphan. *Hippocampus*. 2006; 16(6):521-30. [DOI:10.1002/hipo.20179] [PMID]
- [10] Yang SN, Huang LT, Wang CL, Chen WF, Yang CH, Lin SZ, et al. Prenatal administration of morphine decreases CREB Serine-133 phosphorylation and synaptic plasticity range mediated by glutamatergic transmission in the hippocampal CA1 area of cognitive-deficient rat offspring. *Hippocampus*. 2003; 13(8):915-21. [DOI:10.1002/hipo.10137] [PMID]
- [11] Ito Y, Tabata K, Makimura M, Fukuda H. Acute and chronic intracerebroventricular morphine infusions affect long-term potentiation differently in the lateral perforant path. *Pharmacol Biochem Behav*. 2001; 70(2-3):353-8. [DOI:10.1016/S0091-3057(01)00618-9]
- [12] Ahmadalipour A, Sadeghzadeh J, Vafaei AA, Bandegi AR, Mohammadkhani R, Rashidy-Pour A. Effects of environmental enrichment on behavioral deficits and alterations in hippocampal BDNF induced by prenatal exposure to morphine in juvenile rats. *Neuroscience*. 2015; 305:372-83. [DOI:10.1016/j.neuroscience.2015.08.015] [PMID]
- [13] Nasiraei-Moghadam S, Sherafat MA, Safari M-S, Moradi F, Ahmadiani A, Dargahi L. Reversal of prenatal morphine exposure-induced memory deficit in male but not female rats. *J Mol Neurosci*. 2013; 50(1):58-69. [DOI:10.1007/s12031-012-9860-z] [PMID]
- [14] Muller DL, Unterwald EM. *In vivo* regulation of extracellular signal-regulated protein kinase (ERK) and protein kinase B (Akt) phosphorylation by acute and chronic morphine. *J Pharmacol Exp Ther*. 2004; 310(2):774-82. [DOI:10.1124/jpet.104.066548] [PMID]
- [15] García-Fuster M-J, Miralles A, García-Sevilla JA. Effects of opiate drugs on Fas-associated protein with death domain (FADD) and effector caspases in the rat brain: Regulation by the ERK1/2 MAP kinase pathway. *Neuropsychopharmacology*. 2007; 32(2):399-411. [DOI:10.1038/sj.npp.1301040] [PMID]
- [16] Liu Y, Wang Y, Jiang Z, Wan C, Zhou W, Wang Z. The extracellular signal-regulated kinase signaling pathway is involved in the modulation of morphine-induced reward by mPer1. *Neuroscience*. 2007; 146(1):265-71. [DOI:10.1016/j.neuroscience.2007.01.009] [PMID]
- [17] Russo SJ, Bolanos CA, Theobald DE, DeCarolis NA, Renthal W, Kumar A, et al. IRS2-Akt pathway in midbrain dopamine neurons regulates behavioral and cellular responses to opiates. *Nature neuroscience*. 2007; 10(1):93. [DOI:10.1038/nn1812] [PMID]
- [18] Rostami F, Oryan S, Ahmadiani A, Dargahi L. Morphine pre-conditioning protects against LPS-induced neuroinflammation and memory deficit. *Journal of Molecular Neuroscience*. 2012; 48(1):22-34. [DOI:10.1007/s12031-012-9726-4] [PMID]
- [19] Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*. 1976; 72(1-2):248-54. [DOI:10.1016/0003-2697(76)90527-3]
- [20] Mercadante S, Arcuri E, Santoni A. Opioid-induced tolerance and hyperalgesia. *CNS Drugs*. 2019; 33(10):943-55. [DOI:10.1007/s40263-019-00660-0] [PMID]
- [21] Davis EP, Sandman CA. The timing of prenatal exposure to maternal cortisol and psychosocial stress is associated with human infant cognitive development. *Child Development*. 2010; 81(1):131-48. [DOI:10.1111/j.1467-8624.2009.01385.x] [PMID] [PMCID]
- [22] Chiang Y-C, Hung T-W, Lee CW-S, Yan J-Y, Ho K. Enhancement of tolerance development to morphine in rats prenatally exposed to morphine, methadone, and buprenorphine. *J Biomed Sci*. 2010; 17(1):1-10. [DOI:10.1186/1423-0127-17-46] [PMID] [PMCID]
- [23] Schneider JS, Marshall CA, Keibel L, Snyder NW, Hill MP, Brothie JM, et al. A novel dopamine D3R agonist SK609 with norepinephrine transporter inhibition promotes improvement in cognitive task performance in rodent and non-human primate models of Parkinson's disease. *Exp Neurol*. 2021; 335:113514. [DOI:10.1016/j.expneurol.2020.113514] [PMID] [PMCID]
- [24] Guillin O, Griffon N, Bezard E, Leriche L, Diaz J, Gross C, et al. Brain-derived neurotrophic factor controls dopamine D3 receptor expression: Therapeutic implications in Parkinson's disease. *Eur J Pharmacol*. 2003; 480(1-3):89-95. [DOI:10.1016/j.ejphar.2003.08.096] [PMID]



- [25] Cunha C, Brambilla R, Thomas KL. A simple role for BDNF in learning and memory? *Front Mol Neurosci*. 2010; 3:1. [DOI:10.3389/neuro.02.001.2010] [PMID] [PMCID]
- [26] Kibaly C, Xu C, Cahill CM, Evans CJ, Law P-Y. Non-nociceptive roles of opioids in the CNS: Opioids' effects on neurogenesis, learning, memory and affect. *Nat Rev Neurosci*. 2019; 20(1):5-18. [DOI:10.1038/s41583-018-0092-2] [PMID] [PMCID]
- [27] Ferrer-Alcón M, J. García-Fuster M, La Harpe R, García-Sevilla J. Long-term regulation of signalling components of adenylyl cyclase and mitogen-activated protein kinase in the pre-frontal cortex of human opiate addicts. *J Neurochem*. 2004; 90(1):220-30. [DOI:10.1111/j.1471-4159.2004.02473.x] [PMID]
- [28] Berhow MT, Hiroi N, Nestler EJ. Regulation of ERK (extracellular signal regulated kinase), part of the neurotrophin signal transduction cascade, in the rat mesolimbic dopamine system by chronic exposure to morphine or cocaine. *J Neurosci*. 1996; 16(15):4707-15. [DOI:10.1523/JNEUROSCI.16-15-04707.1996] [PMID] [PMCID]