مقاله پژوهشی

ارمغان دانش، مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج
دوره ۱۷، شماره۳، مرداد و شهریور۱۳۹۱(شماره پی در پی ۶۹)

اثر حساس‌سازی به مرفین بر بیان ژن‌های کیناز وابسته به کلسیم و کالمودولین II آلفا و بتا در لوب‌های راست و چپ هیپوکامپ پشتی رت‌های نر

فائزه اسماعیلی رنجبر [۱]، مریم فرهمند فر [۲]، مهدی کدیور [۲*]

[۱] دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم دارویی تهران، دانشکده فن‌آوری‌های نوین، گروه زیست شناسی، [۲] انستیتو پاستور ایران، بخش بیوشیمی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۱۲/۱۳   تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۲/۱۵

چکیده

زمینه و هدف: حساس‌سازی به مرفین می‌تواند موجب بهبود یادگیری و تشکیل حافظه گردد. ژن‌های کیناز وابسته به کلسیم و کالمودولین II آلفا و بتا که به مقدار قابل توجهی در هیپوکامپ بیان می‌شوند، دارای نقش مهمی در یادگیری و تشکیل حافظه می‌باشند. هدف این مطالعه بررسی حساس‌سازی به مرفین و تغییرات بیان در ژن‌های کیناز وابسته به کلسیم و کالمودولین II آلفا و بتا در لوب‌های راست و چپ هیپوکامپ پشتی رت‌های نر بود.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی که بر روی ۲۴ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار انجام شد، حساس‌سازی به مرفین، با تزریق زیر جلدی مرفین به مدت ۳ روز و سپس قطع مصرف اپیوئید به مدت ۵ روز انجام شد. سپس هیپوکامپ پشتی حیوانات جدا شده و RNA آنها استخراج شد و cDNA نمونه‌ها سنتز گردید. در نهایت بیان ژن‌های مذکور به کمک Real-Time PCR بررسی شد. داده‌ها با آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و تست توکی تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که بیان ژن کیناز وابسته به کلسیم و کالمودولین II آلفا در لوب راست و چپ تحت تیمار حساس‌سازی به مرفین نسبت به گروه کنترل تغییر معنی‌داری نداشت. تحت همین تیمار بیان ژن کیناز وابسته به کلسیم و کالمودولین II بتا در لوب راست تغییر معنی‌داری نداشت، اما در لوب چپ افزایش بیان معنی‌داری مشاهده شد($p<0/05$).

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد حساس‌سازی به مرفین می‌تواند باعث تغییر در مکانیسم‌های ملکولی درگیر در حافظه و یادگیری شده و ظاهراً این تغییرات می‌تواند در لوب‌های چپ و راست مغز به گونه‌ای متفاوت اعمال شوند.

واژه‌های کلیدی: کیناز، کلسیم، کالمودولین، مرفین، هیپوکامپ، بیان ژن، حافظه

*نویسنده مسئول: دکترمهدی کدیور، تهران، انستیتو پاستور ایران، بخش بیوشیمی

Email: Kadivar@pasteur.ac.ir

مقدمه

کیناز وابسته به کلسیم و کالمودولینII[1]، یک آنزیم محلول در آب و از خانواده کینازهای چند کاربردی است که در بافت‌های عصبی به ویژه هیپوکامپ با مقدار زیاد بیان می‌شود. این آنزیم دارای چهار ایزوفرم است که به وسیله ژن‌های مختلف کد می‌شوند. این ایزوفرم‌ها شامل؛ آلفا، بتا، گاما و دلتا هستند. هر کدام از این ایزوفرم‌ها با پیرایش متناوب[2] در دومین ارتباطی کیناز وابسته به کلسیم و کالمودلین II به وجود می‌آیند(۲و۱).

پروتئین کیناز وابسته به کلسیم و کالمودلینII، به ویژه ایزوفرم‌های آلفا و بتا در عملکردهای عصبی مهمی شامل؛ سنتز نوروترانسمیترها، آزادسازی نوروترانسمیترها، تعدیل فعالیت کانال‌های یونی، انتقال سلولی، مورفولوژی سلولی، شکل‌پذیری سیناپسی و یادگیری و حافظه نقش مهمی دارند(۳).

هیپوکامپ قسمتی از ساختار لیمبیک بوده که در لوب گیجگاهی قرار گرفته و در حافظه و یادگیری و نیز جهت‌یابی فضایی نقش مهمی دارد. جسم هیپوکامپ به چهار ناحیه تقسیم می‌شود که آنها را از CA۱ تا CA۴ نامگذاری کرده‌اند(٤). ناحیه پشتی هیپوکامپ(CA۱) به طور ویژه در تقویت طولانی مدت[3] و در فرآیندهای دخیل در ایجاد حافظه و یادگیری نقش مهمی ایفا می‌کند(۵). نشان داده شده است که افزایش کیناز وابسته به کلسیم و کالمودلینII در بهبود حافظه فضایی در هیپوکامپ نقش دارد(٦).

با توجه به اشتراک مکانیسم‌های مولکولی مرتبط با اعتیاد مثل تحمل و حساسیت رفتاری با مکانیسم‌های مولکولی مرتبط با یادگیری پیشنهاد شده است که ژن‌هایی مثل کیناز وابسته به کلسیم و کالمودلینII که در فرآیند یادگیری و حافظه نقش ویژه‌ای دارد، در اعتیاد و رفتارهای وابسته به آن نیز نقش دارد(۸ و۷) نکته قابل توجه دیگر این است که همه اتفاقات مشترک بین حافظه و اعتیاد در هیپوکامپ اتفاق می‌افتد(۷) و فرضیه‌ای وجود دارد که وجود حافظه لازمه اعتیاد است(۹ و۷).

علاوه بر این تحقیقات نشان داد که توانایی آنزیم کیناز وابسته به کلسیم و کالمودلینII برای فسفریله کردن خودش و واکنش با پروتئین هدف در تراکم پس سیناپسی[4]، این آنزیم را کاندیدای شکل‌پذیری سیناپتیک و تشکیل حافظه می‌کند(۱۰ و ۲)، از طرف دیگر طبق مطالعات بیان زیاد کیناز وابسته به کلسیم و کالمودلینII آلفا باعث بهبود حافظه فضایی می‌شود(۱۱) و حذف کردن ژن مربوط به کیناز وابسته به کلسیم و کالمودلینII آلفا باعث کاهش تقویت طولانی مدت و متعاقباً حافظه فضایی می‌شود(۱۲و٦).

نشان داده شده است که حساس‌سازی به مرفین می‌تواند موجب بهبود یادگیری و تشکیل حافظه گردد(۱۴و۱۳). علاوه بر این ژن‌های کیناز وابسته به کلسیم و کالمودلینII آلفا وبتا دارای نقش مهمی‌در یادگیری و تشکیل حافظه می‌باشند(۱۵و۱۱). نظر به موارد بالا، هدف این مطالعه بررسی حساس‌سازی به مرفین و تغییرات بیان در ژن‌های کیناز وابسته به کلسیم و کالمودولین II آلفا و بتا در لوب‌های راست و چپ هیپوکامپ پشتی رت‌های نر بود.

1- Ca/ Calmodulin Dependent Kinase II (CaMKII)
2-Alternative Splicing
3-Long Term Potentiation (LTP)
4-Post Synaptic Density (PSD)

روش بررسی

این مطالعه تجربی پس از تأیید کمیته اخلاق انستیتو پاستور ایران و مطابق پروتکل کار با حیوانات آزمایشگاهی انجام شد. تعداد ۲۴ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن ۲۵۰-۲۰۰ گرم تهیه شده از انستیتو پاستور ایران به طور تصادفی به ۴ گروه مساوی تقسیم شدند. در گروه اول(گروه کنترل) به مدت سه روز ۱ میلی‌لیتر بر کیلوگرم سرم فیزیولوژی به صورت زیر پوستی تزریق شد و پس از ۵ روز قطع تزریق، در روز نهم ۶۰ دقیقه قبل از بیرون آوردن هیپوکامپ سرم فیزیولوژی تزریق شد. در گروه دوم (گروه حاد) به مدت سه روز ۱ میلی‌لیتر بر کیلوگرم سرم فیزیولوژی به صورت زیر پوستی تزریق شد و پس از ۵ روز قطع تزریق در روز نهم ۶۰ دقیقه قبل از بیرون آوردن هیپوکامپ دوز رقابتی مرفین به میزان ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم تزریق شد(۱۳). در گروه سوم (گروه حساس‌سازی به مرفین) حساس‌سازی به مرفین با تزریق زیر پوستی مورفین ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت سه روز و روزی یکبار و سپس قطع تزریق به مدت ۵ روز صورت گرفت. در روز نهم، دوز رقابتی حاد مرفین ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت زیر پوستی ۶۰ دقیقه قبل از بیرون آوردن هیپوکامپ به حیوانات تزریق شد(۱۷ و۱٦، ۱۴). در گروه چهارم (گروه نالوکسان) رت‌ها تحت تیمار حساس‌سازی به مرفین همراه با نالوکسان قرار گرفتند. در طی سه روز حساس‌سازی، ۳۰ دقیقه قبل از تزریق زیر پوستی مرفین ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ، نالوکسان با دوز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت زیر پوستی به حیوانات تزریق شد و پس از ۵ روز قطع تزریق در روز نهم ۶۰ دقیقه قبل از بیرون آوردن هیپوکامپ دوز رقابتی حاد مرفین به میزان ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم تزریق شد(۱۳).

پس از اتمام تزریقات سر حیوانات با گیوتین جدا و مغز از جمجمۀ آنها خارج و لوب‌های راست و چپ هیپوکامپ جداسازی و در نیتروژن مایع فریز شدند. علت استفاده از گیوتین خروج سریع خون از مغز و رعایت اصول اخلاقی بود.

برای استخراج RNA از کیت استخراج RNA، RNX™PLUS (شرکت کیاژن ـ آلمان) و مطابق دستورالعمل کیت عمل شد. در ابتدا نمونه با ۱ میلی‌لیتر، RNX هموژنیزه شد و در ادامه ۲۰۰ میکرولیتر کلروفرم اضافه شد و سپس نمونه‌ها ۱۵ دقیقه در یخچال انکوبه شدند و نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در دورRPM ۱۲۰۰۰ سانتریفوژ شد. بعد از سانتریفوژ ۳۰۰ میکرولیتر از محلول رویی با سمپلر برداشته و به تیوب جدیدی منتقل شد و با حجم برابر از ایزوپروپانول سرد مخلوط گردید، سپس ۱۵ دقیقه در یخچال نگهداری شده و دوباره در سانتریفوژ یخچال دار به مدت ۱۵ دقیقه در دور RPM ۱۲۰۰۰ سانتریفیوژ شدند. محلول رویی دور ریخته شد و رسوب باقیمانده با ۱میکرولیتر اتانول ۷۵ درصد مخلوط و در دور RPM ۷۵۰۰ برای ۸ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ شد. در آخر محلول رویی دور ریخته شد و RNA استخراج شده را با ۳۵ میکرولیتر دیپس واتر (سیناژن، ایران) مخلوط شده و در فریزر ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. RNA نمونه‌ها با دستگاه نانودراپ (ایمپلن- آلمان) ارزیابی شدند.

جهت سنتز cDNA[1] از کیت Accu Power CycleScript RT PreMix استفاده و مطابق دستورالعمل این کیت عمل شد. تیوب‌های واکنش در این کیت از پیش آماده و هر تیوب حاوی آنزیم مقاوم به حرارت CycleScript Reverse Transcriptas ، dNTPها، پرایمر(هگزامرهای تصادفی و الیگومرهای داکسی تیمین)، بافر و پایدار کننده بودند. ۱ میکرولیتر از RNA و دپس واتر به تیوب‌ها اضافه شد تا حجم آن به ۲۰ میکرولیتر رسید. cDNA بر طبق سیکل دمایی زیر سنتز شد؛ ۳۰ ثانیه در۲۵ -۱۵ درجه سانتی‌گراد، ۴ دقیقه در ۴۵-۴۲ درجه سانتی‌گراد و۵۵ درجه سانتی‌گراد برای ۳۰ ثانیه و این سه مرحله ۱۲ سیکل تکرار شد و در آخر ۵ دقیقه در۹۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. در نهایت غلظت cDNA با استفاده از دستگاه نانودراپ اندازه‌گیری شد.

برای انجام واکنش Real-Time PCR، پرایمرها با استفاده از نرم افزار Gene runner طراحی و جهت تأیید یگانگی بلاست گردید. در ادامه واکنش Real- Time PCR برای همه نمونه‌ها و برای ژن‌های هدف و ژن مرجع (ژن α- Tubulin) درپلیت ۹۶ خانه‌ای ودر دستگاه Rotor gene 6000 (شرکت کوربت- استرالیا) انجام شد. در این مرحله مخلوط نهایی شامل؛ ۱۲/۵میکرولیتر سایبر گرین، ۲ میکرولیتر پرایمر مستقیم و معکوس و ۴ میکرولیتر از نمونه cDNA تهیه شد. در نهایت این مخلوط با آب دپس به حجم کلی ۲۰ میکرولیتر رسید. سپس نمونه‌ها در دستگاه گذاشته شد و سیکل دمایی ـ زمانی لازم اجرا شد.

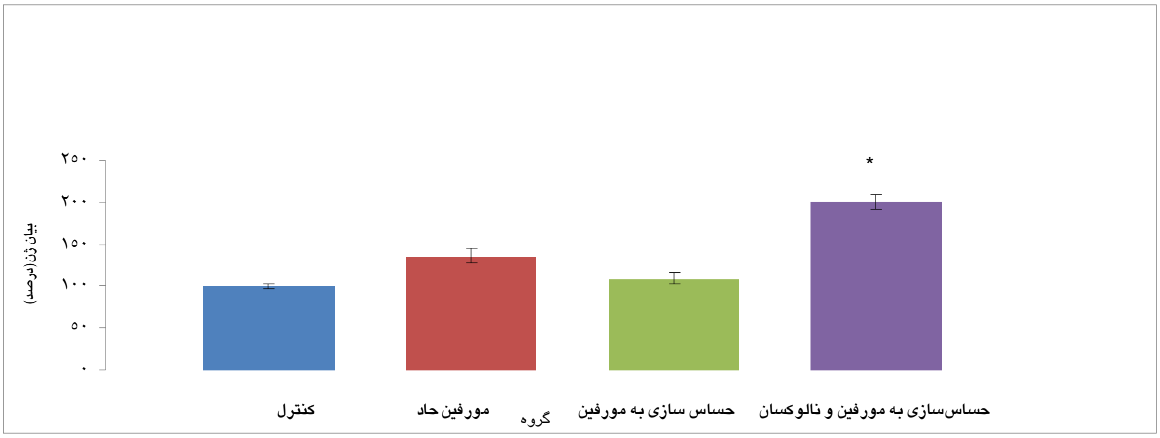
برای آنالیز بیان ژن در Real- Time PCR از روش ΔΔCT استفاده شد که در آن ΔCT اختلاف CT ژن هدف و ژن مرجع برای نمونه طبیعی و نمونه مورد آزمایش است. در ادامه برای به دست آوردن نسبت از فرمول $2^{-\Delta\Delta Ct}$ استفاده شد.

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS[2] و آزمون‌های آماری آنالیز واریانیس یک طرفه[3] و تست توکی[4] تجزیه و تحلیل شدند.

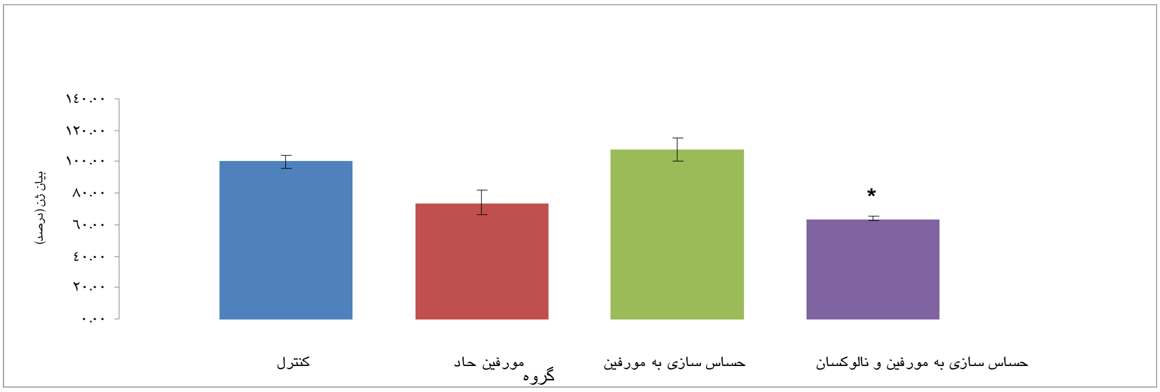
یافته‌ها

بر اساس نتایج حاصله، بیان ژن کیناز وابسته به کلسیم و کالمودلینII آلفا تحت تیمار مرفین حاد در لوب راست و لوب چپ هیپوکامپ پشتی رت به نسبت نمونه‌های کنترل تغییر معنی‌داری نشان نداد($p>0/05$). در رت‌هایی که تحت تأثیر حساس‌سازی به مرفین قرار گرفتند بیان این ژن در مقایسه با گروه کنترل تغییر نکرد($p>0/05$). حساس‌سازی به مرفین و نالوکسان بیان ژن فوق را در لوب راست هیپوکامپ پشتی افزایش داد و نسبت به گروه کنترل تقریباً دو برابر شد ($p<0/01$) و در لوب چپ کاهش پیدا کرد ($p<0/05$) (نمودارهای ۱ و ۲). بیان ژن کیناز وابسته به کلسیم و کالمودلینII بتا در لوب راست هیپوکامپ پشتی تحت تیمار مرفین حاد درمقایسه با گروه کنترل بدون تیمار افزایش معنی‌داری یافت و ۲/۷ برابر شد ($p<0/001$)، ولی در لوب چپ تغییر نکرد($p>0/05$). این تیمار باعث افزایش بیان این ژن در لوب چپ شد($p<0/05$)، ولی در لوب راست تغییر نکرد($p>0/05$). بیان ژن فوق در لوب راست تحت تأثیر حساس‌سازی به مرفین در مقایسه با گروه بدون تیمار تغییر نکرد($p>0/05$)، ولی در لوب چپ بیان این ژن افزایش معنی داری یافت($p>0/05$)(نمودارهای ۳ و ۴).

1- Complementory DNA (c DNA)
2-Statistical Package for Social Sciences
3-One-Way Analysis of Variance
4-Tukey test

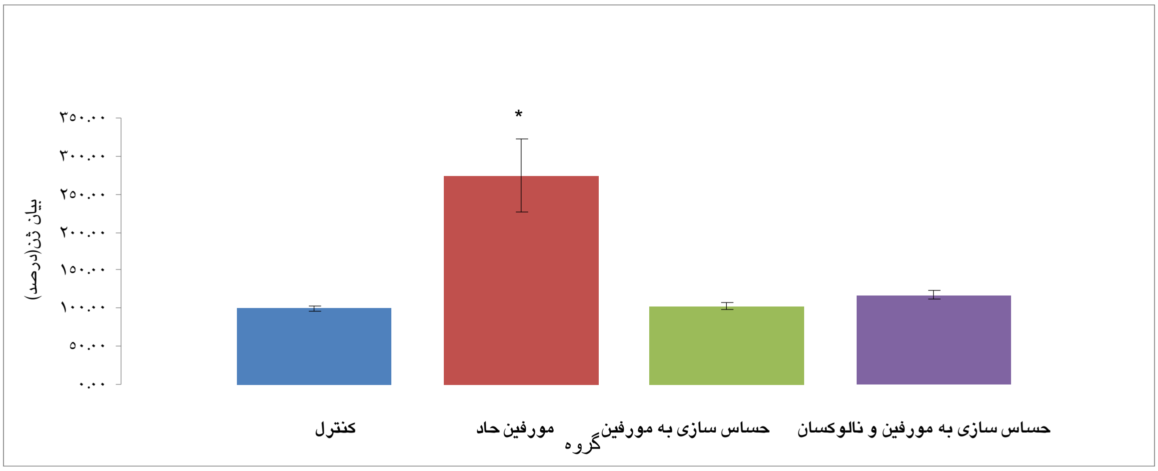


نمودار۱:مقایسه درصد بیان ژن کیناز وابسته به کلسیم و کالمودلینII آلفا در لوب راست هیپوکامپ پشتی در گروه‌های مورد مطالعه
*** اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل(p<۰/۰۱)**



نمودار۲:مقایسه درصد بیان ژن کیناز وابسته به کلسیم و کالمودلینII آلفا در لوب چپ هیپوکامپ پشتی در گروه‌های مورد مطالعه
*** اختلاف معنی‌دار با گروه‌های حساس‌سازی به مرفین و کنترل(p<۰/۰۱)**

نمودار۳:مقایسه درصد بیان ژن کیناز وابسته به کلسیم و کالمودلینII بتا در لوب راست هیپوکامپ پشتی در گروه‌های مورد مطالعه
*** اختلاف معنی‌دار با گروه‌های مرفین حاد و کنترل(p<۰/۰۱)**



نمودار۴:مقایسه درصد بیان ژن کیناز وابسته به کلسیم و کالمودلین II بتا در لوب چپ هیپوکامپ پشتی در گروه‌های مورد مطالعه
*** اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل(p<۰/۰۵)**

بحث

تغییرات بیان برخی از ژن‌های مؤثر در حافظه و یادگیری از جمله ایزوفرم‌های ژن کیناز وابسته به کلسیم و کالمودلین II می‌تواند در اعتیاد و رفتارهای مرتبط با آن نقش داشته باشد. میزان کلسیم، کالمودولین و کیناز وابسته به کلسیم و کالمودلین II داخل سلولی می‌تواند از طریق اپیوئیدها تنظیم شود. برهمکنش آگونیست‌ها با رسپتور اپیوئیدی سبب افزایش کلسیم داخل سلولی و فعال شدن کیناز وابسته به کلسیم و کالمودلین II می‌شود(۱۸). هدف این مطالعه بررسی حساس‌سازی به مرفین و تغییرات بیان در ژن‌های کیناز وابسته به کلسیم و کالمودولین II آلفا و بتا در لوب‌های راست و چپ هیپوکامپ پشتی رت‌های نر بود.

نتایج ایین مطالعه نشان داد، بیان ژن کیناز وابسته به کلسیم و کالمودلین II آلفا در لوب‌های راست و چپ هیپوکامپ بعد از حساس‌سازی به مورفین تغیری نداشت، ولی بیان ژن کیناز وابسته به کلسیم و کالمودلین II بتا در لوب چپ هیپوکامپ افزایش داشت.

در مطالعه‌ای که به وسیله لیانگ و همکاران[1] (۲۰۰۴) انجام شد نشان داده شده که بیان ژن کیناز وابسته به کلسیم و کالمودلین II آلفا تحت تیمار مرفین مزمن در روز ششم بعد از تیمار با مرفین مزمن ۲/۴ برابر شد(۳). در مطالعه‌ای دیگر نشان داده شد که mRNA آنزیم کیناز وابسته به کلسیم و کالمودلین II آلفا در مناطق CA1، CA2، CA3 و DG تحت تیمار مرفین مزمن افزایش یافت. مرفین مزمن باعث افزایش mRNA آنزیم کیناز وابسته به کلسیم و کالمودلین II آلفا در هیپوکامپ و کورتکس جلویی شد، اما در آمیگدال و پری فورم تغییری ایجاد نکرد و این نشان دهنده ویژگی مکانی بیان ژن کیناز وابسته به کلسیم و کالمودلین II- آلفا است. همچنین در مطالعه مذکور بیان ژن کیناز وابسته به کلسیم و کالمودلین II آلفا تحت تیمار مرفین حاد تغییر نکرد که در این مورد با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد(۱۹).

1-Liang et al

در مطالعه‌ای که به طور کلی و بدون افتراق لوب راست و چپ هیپوکامپ به وسیله ناربتا و همکاران[1](۲۰۰۴) صورت پذیرفت، نشان داده شد که تیمار مرفین حاد تغییری در بیان ژن کیناز وابسته به کلسیم و کالمودلینII در هیپوکامپ موش ایجاد نکرد(۲۰). در این راستا لو و همکاران[2](۱۹۹۹) نشان دادند که مرفین حاد تا دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تأثیر یکسانی بر بیان ایزوفرم‌های آلفا و بتا دارد و تحت تأثیر دوزهای بیشتر بیان ایزوفرم بتا ژن کیناز وابسته به کلسیم و کالمودلینII افزایش می‌یابد و بیان ایزوفرم آلفا کاهش می‌یابد(۲۱). نتایج تحقیق حاضر با نتایج مطالعه مذبور سازگار است.

از طرفی در مطالعه حاضر بیان ژن کیناز وابسته به کلسیم و کالمودلینII بتا در لوب چپ تحت تیمار مرفین حاد در مقایسه با گروه کنترل تغییری نیافت، ولی در لوب راست بیان همین ژن در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی‌داری افزایش یافت و ۲/۷ برابر شد. یکی ازدلایل تفاوت در بیان این دو ژن تحت تیمارهای مشابه می‌تواند به علت مکانیسم تنظیمی متفاوت ژن‌های کیناز وابسته به کلسیم و کالمودلینII آلفا و کیناز وابسته به کلسیم و کالمودلینII بتا باشد. در این مطالعه برای اولین بار بیان ژن‌های کیناز وابسته به کلسیم و کالمودلینII آلفا و کیناز وابسته به کلسیم و کالمودلینII- بتا را در لوب راست و چپ به صورت افتراقی بررسی شد. نتایج این بررسی حاکی از تفاوت در بیان ژن کیناز وابسته به کلسیم و کالمودلینII بتا در لوب راست و چپ هیپوکامپ بود. علت این تفاوت ویژگی مکانی بیان این ژن در لوب چپ و راست هیپو کامپ پشتی و یا شرایط فیزیولوژیک لوب چپ و راست می‌باشد.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که حساس‌سازی به مرفین سبب افزایش معنی‌داری در بیان ژن کیناز وابسته به کلسیم و کالمودلینII بتا در لوب چپ می‌شود. نظر به معکوس بودن مکانیزم‌های حساس‌سازی و تحمل (تیمار مزمن) نتایج در این زمینه نیز سازگار با نتایج مطالعه لو و همکاران (۱۹۹۹)می‌باشد(۲۱). هم‌چنین نتایج مطالعه حاضر نشان داد که به کارگیری تیمار حساس‌سازی به مرفین و نالوکسان اثر مرفین روی کیناز وابسته به کلسیم و کالمودلینII- بتا را برمی‌گرداند، ولی تأثیر مشخصی روی کیناز وابسته به کلسیم و کالمودلینII آلفا ندارد. در این مورد نیز لو و همکاران(۱۹۹۹) نتایج مشابهی را گزارش کرده‌اند. به نظر می‌رسد این امر می‌تواند ناشی از این واقعیت باشد که ایزوفرم اصلی پاسخ دهنده به تیمار مرفین کیناز وابسته به کلسیم و کالمودلینII بتا است که البته اثبات این مطلب نیاز به مطالعات تکمیلی دارد و همین‌طور نتایج این مطالعه معکوس بودن فرآیند تحمل و حساس سازی را تأیید می‌کند(۲۱).

نتیجه‌گیری

در مجموع از این مطالعه نتیجه گرفته شد که حساس‌سازی به مورفین باعث تغیر در مکانیسم‌های

1-Narita et al
2-Lou et al

ملکولی یادگیری و حافظه می‌شود و این تغییرات در لوب‌های چپ و راست مغز می‌توانند به گونه‌ای متفاوت اعمال شوند. با توجه به نتایج این تحقیق و تحقیقات مشابه قبلی پیشنهاد می‌شود، اثر تزریق درون هیپوکامپی مرفین بر بیان ژن‌های کیناز وابسته به کلسیم و کالمودلینII آلفا و کیناز وابسته به کلسیم و کالمودلینII بتا بررسی شود. در ضمن بررسی اثر مورفین در دوز های بالاتر بر بیان ایزوفرم های آلفا و بتا پیشنهاد می‌گردد. هم‌چنین بررسی اثر نالوکسان بر بیان ژن‌های کیناز وابسته به کلسیم و کالمودلینII آلفا و کیناز وابسته به کلسیم و کالمودلینII بتا در هیپوکامپ می‌تواند در جمع‌بندی نتایج حاضر مفید باشد.

تقدیر و تشکر

این مطالعه با حمایت مالی انستیتو پاستور ایران انجام شد. نویسندگان لازم می‌دانند مراتب قدردانی و تشکر خود را از کلیه پرسنل بخش بیوشیمی‌انستیتو پاستور اعلام دارند.

REFERENCES

1.Kevin E, Schulman H. The role of Ca^{2+}/Calmodulin dependent kinase with in the nucleu. Cell calcium 1998; 23 (2- 3): 103- 14.
2.Bingol B, Wang CH, Arnott D, Peng J, Sheng M. Autophosphorilated CaMKII-α acts as a scaffold to recruit proteasomes to dendritic spins. Cell 2010; 140 (4): 567-78.
3.Liang D, Li X, Clark D. Increased expression of ca^{2+}/ calmodulin-dependent kinase IIα during chronic morphine exposure. Neuroscience 2004; 123(3): 769- 75.
4.Andrews JS. Possible confounding influence of strain, age and gender on cognitive performance in rats. Cognitive Brain Research 1996; 3(3-4): 251- 61.
5.Bannerman DM. Regional dissociations within the hippocampus-memory and anxiety. Neuroscience and Behavioral 2004; 28(3): 273- 83.
6.Poulsen DJ. Over expression of CaMKII improves spatial memory. Journal of Neuroscience Research 2007; 85(4): 735-9.
7.Klitenick MA, Wittep DE, Kalivas PW. Regulation of somatodendritic dopamine release in the ventral tegmental area by opiods and GABA: an invivo microdyalysis study. Nourosci 1992; 12(7): 2623- 32.
8.Rezayof A, Razavi S, Haeri-rohani A, Rassouliy, Zarrindast MR. GABA(A) receptors of hippocampal CA1 regions are involved in the acquisition and expression of morphine-induced place preference. Eur Neuropsychopharmacol 2007; 17(1): 24- 31.
9.Biala G. Memory processes and addiction:involvement of calcineurin signaling pathway. Postepy High Med DOSW 1996; 61(9): 199- 203.
10.Michael J, Byrne M, Neal W, Kubota Y. The impact of geometry and binding on CaMKII diffusion and retention in dendritic spins, J Comput Neurosci 2010; 31(1): 1-12.
11.Nishioka N, Shiojiri M, Kodota M, Morinaga H, Kuwahara j, Arkawa T, et al. Gene of rat calcium/calmodulin-dependent protein kinaseII α isoform-its cloning and whole structure. FEBES letters 1996; 396(2- 3): 333- 6.
12.Fukunaga K, Muller M, Myamoto E. CaMKII in long term potentiation. Neurochem 1996; 28(6): 343- 58.
13.Farahmandfar M, Karimian M, Naghdi N, Zarrindast MR, Kadivar M. Morphine induced of spatial memory impairment acquisition reversed by morphine sensitization in rats. Behavioral Brain Research 2010; 211(2): 156- 63.
14.Zarrindast MR, Farahmandfar M, Rostami P, Rezayof A. Inhibition of morphine-induced amnesia in morphine-sensitized mice: involvement of dorsal hippocampal GABAergic receptors. Neuropharmacology 2008; 54(3): 569–76.
15.Lucchesi W, Mizuno K, Giese K. Novel insights into CaMKII function and regulation during memory formation. Brain Research Bulletin 2011; 85(1-2): 2-8.
16.Zarrindast MR, Farahmandfar M, Rostami P, Rezayof A. The influence of central administration of dopaminergic and cholinergic agents on morphineinducedamnesia in morphine-sensitized mice. J Psychopharmacol 2006; 20 (1): 59-66.
17.Zarrindast MR, Rezayof A. Morphine state- dependent learning: sensitization and interactions with dopamine receptors. Eur J Pharmacol 2004; 497(2): 197– 204.
18.Trujillo KA. Are NMDA receptors involved in opiate-induced neural and behavioral plasticity A review of preclinical studies. Psychopharmacology (Berl) 2000; 151(2- 3): 121–41.
19.Chen Y, Jiang Y, Yue W, Zhou Y, Lu L, Ma L. Chronic. but not acute morphine treatment, up-regulates α-ca2+/ calmodulin dependent protein kinase ii gene expression in rat brain. Neurochem Res 2008; 33(10): 2092-8.
20.Narita M, Matsumura Y, Ozaki S, Ise Y, Yajima Y, Suzuki T. Role the calcium/ calmodulin-dependent kinase II (CaMKII) in the morphine induced pharmacological effect in the mouse. Neuroscience 2004; 126(2): 415- 21.
21.Lou L, Zhou T, Wang P, Pe G. Modulation of Ca^{2+}/ Calmodulin- Dependent Protein Kinase II activity by Acute and Chronic Morphine Administration in Rat Hippocampus: Differential Regulation of a and b Isoforms, molecular. Pharmacology 1999; 55(3): 557-63.

Armaghane-danesh, Yasuj University of
Medical Sciences Journal (YUMSJ)

Original Article

The Effect of Morphine Sensitization on A-Camkii and B- Camkii Gene Expression in Right and Left Lobes of Dorsal Hippocampus of Male Rats

Esmaeili Ranjbar F[1], Farahmandfar M[2], Kadivar M[2*]

[1]Department of Biology, Pharmaceutical Science Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran,
[2]Biochemistry department, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran.

Received: 03 Mar 2012 Accepted: 04 May 2012

Abstract

Background &aim: Morphine sensitization can improve learning and memory formation. α-CaMKII and β-CaMKII genes which are highly expressed in the hippocampus, have an important role in learning and memory formation. This study was performed to investigate the morphine sensitization and changes in gene expression of α- CaMKII and β- CaMKII in right and left lobes of dorsal hippocampus of male rats.

Methods: In this experimental study which was performed on 24 male Wistar rats, morphine sensitization was obtained by subcutaneous injection of morphine, once daily for 3 days followed by 5 days free of the opioid. Then the dorsal hippocampus was removed and RNA was extracted and cDNA was synthesized. Finally α- CaMKII and β- CaMKII genes expression was quantified using Real-Time RT-PCR. Data were analyzed using One-Way analysis of Variance and Tukey's test.

Results: The results showed that expression of α- CaMKII gene in the right and left lobe of hippocampus in morphine sensitized rats had no significant changes in comparison with the control group. Similarly under the same treatment, there was no significant changes in the right lobe of hippocampus for β-CaMKII but a significant gene expression increase was observed in the left lobe. ($P<0.05$).

Conclusion: It seems that morphine sensitization can lead to changes in molecular mechanisms and apparently these changes can be seen differently in right and left lobes of hippocampus

Key words: α- CaMKII, β- CaMKII, Morphine, Hippocampus, Gene expression, Memory

***Corresponding Author: Kadivar M,** Biochemistry department, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran
Email: Kadivar@pasteur.ac.ir