Research on Medicine

Original Article

The Quarterly journal of School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences

2022 ;Vol.46; No.1

Effect of acute intraperitoneal injection of Methamphetamine on the level of pain and changes in the expression of specific genes in the lumbar spinal cord of male rats

Hatam Ahmadi [1]*, Homiera Hatami Nemati[2], Reza Shahbazi Ilekhchi[3], Hafez Hosieni[3], Faezehe Zogoulipour[3]

1. Assistant Professor of Animal Physiology, Department of Basic Sciences, Farhangian University, Tehran, Iran

2. Associate Professor of Animal Physiology, Department of Animal Biology, Faculty of Natural Sciences, Tabriz University, Tabriz, Iran.

2. MSc of animal physiology, Department of Animal Biology, Faculty of Natural Sciences, Tabriz University, Tabriz, Iran

(Received: 2020/08/06 Accepted: 2021/11/01)

Abstract

Background and Aim: *Methamphetamine is known as a nerve stimulant and addictive substance. Prerequisite for methamphetamine-induced behaviors is the effect of the drug on the relevant genes and proteins mentioned in the previous studies. Here, we made an attempt to examine the effect of intraperitoneal injection of this drug on the expression of specific genes AKT, GSK3b, BDNF, and CREB in the lumbar spinal cord.*

Methods and materials: *In the current experimental study, we examined the effect of five days of intraperitoneal injection of methamphetamine and its withdrawal on increasing the reaction time of the tail in response to the shock of burning light and shook and alterations in the expression of specific genes in comparison with the sequence relevant primers in the lumbar spinal cord of four experimental groups (each including 7 male rats). For data analysis, one-way ANOVA was run in SPSS.*

Results: *Intraperitoneal injection of 10mg/kg methamphetamine over a five-day period, by increasing the reaction time of the animal's tail to the shock of burning light from 3.17 to 6.8.8 seconds, induced analgesia (P-<0.01) and increased the expression of Protein kinase B (AKT) and cAMP response element-binding protein (CREB) genes in the lumbar spinal cord of male rats (P<0.05 and P<0.01, respectively), whereas it did not significantly alter the expression of Glycogen synthase kinase3 (GSK3b) and Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) genes in this region (P=0.2 and P=1, respectively). Also, deprivation of methamphetamine in the drug deprivation group, by reducing the tail reaction time from 6.8.8 seconds to 3.9 seconds, reduced the analgesic effect of the drug (P<0.01), but the expression of the mentioned genes in this group did not change significantly as compared with the methamphetamine group.*

Conclusions*:It seems that the intraperitoneal injection of methamphetamine dose over a short period of time has only a beneficial analgesic effect and its minimal effect on changes in gene expression is not sufficient to be interpreted as drug abuse and induce addiction.*

Keywords: *Methamphetamine; Tail Flick latency; Gene Expression*

**Corresponding author: Hatam Ahmadi*

Email: hahmadi@cfu.ac.ir

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-24]

[DOR: 20.1001.1.17355311.1401.46.1.3.5]

پژوهش در پزشکی
فصلنامه علمی پژوهشی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی
مقاله پژوهشی
دوره ٤٦، شماره ١، ١٤٠١، صفحات ٤٠ تا ٤٥

بررسی تاثیر تزریق حاد درون صفاقی متامفتامین بر میزان درد و تغییر در بیان ژن‌های اختصاصی در قطعه کمری نخاع رت‌های نر

حاتم احمدی[1*] حمیرا حاتمی نعمتی[2]، رضا شهبازی ایلخچی[3]، حافظ حسینی[3]، فائزه ذوقلی‌پور[3]

۱. استادیار فیزیولوژی جانوری، گروه علوم پایه، دانشگاه فرهنگیان، تهران، ایران
۲. دانشیار فیزیولوژی جانوری، گروه زیست‌شناسی جانوری، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
۳. کارشناسی ارشد فیزیولوژی جانوری، گروه زیست‌شناسی جانوری، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

دریافت: ۱۳۹۹/۰۵/۱۶ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۸/۱۰

چکیده:

سابقه و هدف: متامفتامین به عنوان ماده محرک عصبی و اعتیادآور شناخته شده است. لازمه بروز رفتارهای ناشی از سوء مصرف متامفتامین، اثر دارو بر ژن‌ها و پروتئین‌های مربوطه است که در مطالعه‌های پیشین به آن اشاره شده است. در این مطالعه اثر تزریق درون‌صفاقی این دارو بر بیان ژن‌های اختصاصی AKT، GSK۳b ، BDNF ، و CREB در قطعه کمری نخاع بررسی شد.

مواد و روش ها: در این مطالعه تجربی، اثر تزریق درون صفاقی ۵ روزه متامفتامین و ترک مصرف آن، بر افزایش زمان واکنش دم در پاسخ به شوک نور سوزان و نیز تغییر در میزان بیان ژن‌های اختصاصی در مقایسه با توالی پرایمرهای مربوطه در قطعه کمری نخاع چهار گروه آزمایشی هفت تایی از موش‌های صحرایی نر به کمک آزمون آنالیز واریانس یک طرفه توسط نرم‌افزار SPSS بررسی شده است.

یافته‌ها: تزریق درون صفاقی دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم متامفتامین در دوره پنج روزه، با افزایش زمان واکنش دم جانور به شوک نور سوزان از ۳/۱۷ به۶/۸۸ ثانیه ، سبب القای بی-دردی (P<۰/۰۱) و افزایش بیان ژن‌های پروتئین کیناز B (AKT) و پروتئین اتصالی عنصر پاسخی (CREB) CAMP) در قطعه کمری نخاع موش‌های صحرایی نر شد (به ترتیب P<۰/۰۵ و P<۰/۰۱)، در صورتی که تغییری معنادار در بیان ژن‌های گلیکوژن سنتاز کیناز(GSK۳b) و فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز(BDNF) در این ناحیه ایجاد نکرد (به ترتیب۰/۲ =P و ۱ =P). همچنین محرومیت از مصرف متامفتامین در گروه محرومیت از دارو، با کاهش زمان واکنش دم از۶/۸۸ ثانیه به ۳/۹ ثانیه، سبب کاهش اثر ضد درد دارو شد (P<۰/۰۱)، اما در بیان ژن‌های مذکور در این گروه نسبت به گروه متامفتامین، تغییری معنادار ایجاد نشد.

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد که تزریق درون صفاقی دوز به کار رفته متامفتامین در یک دوره کوتاه‌مدت، فقط اثر مفید ضد دردی داشته و اثر حداقلی آن بر تغییرهای بیان ژن‌ها، درحدی نیست که به سوءمصرف دارو تعبیر و سبب بروز اعتیاد شود.

واژگان کلیدی: متامفتامین، تاخیر تکانه دمی، بیان ژن

مقدمه:

اعتیاد نشانه وابستگی روانی به موادی است که تحریک‌کننده مراکز پاداشی در مغز است(۱). از علل مهم اعتیاد روانی افراد به مواد مخدر، افزایش دوپامین در مراکز مغزی است(۲). متامفتامین رایج‌ترین دارو از رده آمفتامین‌ها است که مصرف آن با تحریک سیستم عصبی سبب سرخوشی و اعتیاد می‌شود(۳). با وجود آثار مفید متامفتامین در بدن، سوءمصرف این ماده می‌تواند سبب تخریب چشمگیر نورون‌های حرکتی در قشر حرکتی، ساقه مغز و نخاع و نیز بروز رفتارهای خشن، نقص ادراک، اضطراب زیاد و حتی احتمال جنون شود(۴و۵). با وجود ناشناخته ماندن کامل مکانیسم بیوشیمیایی و رفتاری سوءمصرف مزمن متامفتامین، گزارش‌هایی مبنی بر دخالت متامفتامین بر آزادسازی دوپامین در فضای سیناپسی، پایین‌آمدن سطح گیرنده‌های دوپامینی و افزایش وابستگی به این ماده آمده است(۶و۷).

مطالعه‌هی نشان داده که فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز (BDNF) در بقا و محافظت از نورون‌ها و نیز انعطاف‌پذیری سیناپسی و تعدیل فعالیت سیستم دوپامینی در مصرف داروهای اعتیادآور نقش دارد(۸و۹). استفاده حاد و مزمن از اپیات‌هایی مانند متامفتامین آثار مختلفی بر بیان ژن BDNF در مغز دارد(۱۰و۱۱). بعد از ترک اپیات‌ها، به تدریج سطح سرمی BDNF افزایش می‌یابد و منجر به رشد نورونی می‌شود(۱۲).

نویسنده مسئول: حاتم احمدی
پست الکترونیک: hahmadi@cfu.ac.ir

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-24]

[DOR: 20.1001.1.17355311.1401.46.1.3.5]

پروتئین اتصالی عنصر پاسخی CREB (CAMP) فاکتور رونویسی است که سبب بقا، محافظت و انعطاف‌پذیری نورونی از طریق تنظیم بیان ژن‌هایی مانند BDNF می-شود(۱۳).

آنزیم پروتئین کیناز بی (AKT) کیناز اختصاصی سرین-ترئونین است که دارای سوبستراهای متعددی است و از مسیرهای مختلف معروف به بقای سلولی مانع از آپوپتوز سلولی می‌شود(۱۵و۱۴).

آنزیم گلیکوژن سنتاز کیناز۳(GSK3) که به دو فرم GSK3b و GSK3a وجود دارد، نقش اصلی در غیرفعال‌کردن گلیکوژن سنتاز را دارد(۱۶). این آنزیم تحت تاثیر دوپامین قرار دارد و از طریق فاکتورهای مختلف در مهار رشد اکسونی، پیشبرد آپوپتوز سلولی و بروز بیماری‌هایی همچون دیابت نوع۲، آلزایمر، سرطان و بیماری دوقطبی نقش دارد(۱۷). ممکن است آنزیمGSK3b هدفی بالقوه در درمان اعتیاد ناشی از متامفتامین باشد. متامفتامین با فسفوریله‌کردن GSK3b در چند مسیر سلولی، می‌تواند سبب آپوپتوز و مرگ سلولی شود(۱۸). تحقیق‌های اخیر نشان داده که سیگنالینگ AKT\GSK3 در مسیر پاسخ سلولی به داروهای استفاده شده در اختلال‌های روانی و داروهای اعتیادآور (۱۹)، تعدیل فعالیت شناختی(۱۶) و نیز سوءمصرف متامفتامین در ارتباط است(۲۰). GSK3 یکی از نخستین سوبستراهای شناسایی‌شده AKT است. آنزیمAKT با فسفوریلاسیون GSK3، فعالیت آن را مهار می‌کند(۲۱).

تمرکز اولیه بیشتر مطالعه‌های مربوط به درک مکانیسم‌های عصبی داروهای اعتیادآور روی مغز است، درحالی که نخاع نیز می‌تواند آسیب های متعددی را به دلیل ارتباط آناتومیکی و عملکردی آن با مغز در سوء مصرف داروها دریافت کند(۲۲).

آسیب‌های نخاعی بیشتر منجر به اختلال در عملکرد احساس و حرکت‌ها و از بین رفتن دائمی عملکرد اسفنکترها در پایین‌تر از سطح آسیب می‌شود(۲۳). مهارکننده‌های GSK3 سبب بازسازی سلول‌ها و بهبود عملکرد در رت‌های با آسیب قطعه کمری نخاع می‌شود(۲۴).

پیرو مطالعه‌های انجام شده پیشین، برای درک مکانیسم‌های سلولی درگیر در اعتیاد برای درمان آن، در این مطالعه تغییرهای میزان بیان ژن‌های AKT ،GSK3b، BDNF و CREB در اعتیاد به متامفتامین در قطعهی کمری نخاع رت‌های نر بررسی شده است. به این امید که نتایج حاصل از مطالعه کنونی اطلاعات مفید در مورد سمیت آمفتامین و مکانیسم‌های تاثیر آن بر دستگاه عصبی مرکزی در اختیار محققان قرار دهد.

مواد و روش‌ها:

در این تحقیق که از نوع مطالعه‌های تجربی است، از ۲۸رت نر نژاد ویستار در محدوده وزنی ۵۰±۲۰۰ گرم استفاده شد. برای کاهش استرس و عادت به شرایط آزمایشگاه فیزیولوژی جانوری در دانشکده طبیعی دانشگاه تبریز، جانوران به مدت دو هفته در شرایط دمای ثابت محیطی (c ° ۲±۲۲) و تنظیم نور با دوره تاریکی، روشنایی-۱۲ساعته (روشنایی از ساعت ۷صبح) نگه‌داری می‌شدند. هنگام کار با رت‌ها موازین اخلاقی کار با حیوان‌های آزمایشگاهی رعایت شد. دلیل انتخاب موش‌های نر، ساده‌تر بودن سیستم هورمونی و تداخل کمتر هورمون‌های جنسی با داروها بود.

دستگاه‌های استفاده شده در این پژوهش عبارت بودند از: گرایندر، سانتریفیوژ یخچال‌دار، حمام خشک(Dry Bath) ساخت شرکت زیگما، نانودراپ (Nano drop) ساخت شرکت Termo، ترموسایکلر(Thermal cycler) و دستگاه تکانه دمی (Tail Flick) ساخت شرکت برج صنعت. مواد مورد استفاده در پژوهش نیز عبارت بود از: کریستال متامفتامین، محلول ترایزول، کلروفرم، ایزوپروپانول، اتانول۷۰-۷۵درصد، ژل آگارز ۱درصد، (یکتا تجهیز آزما- ایران).

داروی متامفتامین به صورت درون صفاقی (i.p..) در یک دوره زمانی پنج روزه تزریق شد. الگوی حجم و مدت زمان تزریق بر اساس تحقیق‌های پیشین بوده است(۲۶و۲۵).

رت‌های با محدوده وزنی ۵۰±۲۰۰ گرم به چهار گروه آزمایشی هفت تایی تقسیم شدند. گروه کنترل که به این گروه هیچ‌گونه تیماری اعمال نشد. تزریق داروها به صورت درون صفاقی انجام شد. گروه شاهد (sham)که ۱میکرولیتر سالین را در هر نوبت یک دقیقه‌ای به مدت پنج روز دریافت کردند. گروه متامفتامین که مقدار ۱۰میلی‌گرم بر کیلوگرم داروی متامفتامین را به مدت پنج روز متوالی دریافت کردند و گروه محرومیت از دارو که ابتدا مقدار ۱۰میلی‌گرم بر کیلوگرم متامفتامین را به مدت پنج روز دریافت کردند و سپس برای بررسی سندرم محرومیت از دارو، به مدت چهار روز پس از آخرین تزریق دارو از مصرف آن محروم شدند. ۷۲-۳۶ ساعت پس از آخرین مصرف متامفتامین، علایم اولیه ترک ظاهر می‌شود که این علایم بعد از گذشت ۹۸ ساعت افزایش می‌یابد(۲۷).

بررسی اثر ضد درد متامفتامین:

آستانه دردزا بودن شوک نور سوزان با تست تکانه دمی (Tail Flick) ارزیابی شد. آستانه درد نور سوزان با استفاده از این تست بر اساس روش D'Amour و Smith انجام شد(۲۸). به طور خلاصه، یک سوم میانی دم موش‌های صحرایی در معرض نور سوزان قرار می‌گیرد و پس از تاخیر زمانی که درد را احساس کند، دمش را بر می دارد. تاخیر زمانی واکنش به نور سوزان در حیوان سالم و دست نخورده حدودچهار تا پنج ثانیه است و در زمان ۱۵ ثانیه برای جلوگیری از آسیب دیدگی احتمالی بافت، نور قطع می-شود. ۳۰ دقیقه پس از تزریق دارو، تست تکان دادن دم سه بار و با فاصله یک دقیقه برای هر جانور ثبت می‌شد که میانگین آن به عنوان آستانه درد حرارتی شناخته شد(۲۹).

سنجش تغییر بیان ژن‌ها:

بعد از معدوم کردن رت‌ها با استفاده از کلروفرم ، نمونه‌های قطعه کمری نخاع در حدفاصل ۸- ۶ میلی‌متر بالاتر و پایین‌تر از قطعه کمری جدا شد(۳۰) و در تیوب‌های استریل ۱/۵ میلی‌لیتری DEPC قرار داده شد. نمونه‌ها برای استخراج RNA به سرعت در دمای ۸۰- فریز شد. برای استخراج RNA، حدود۵۰۰ میلی‌گرم از بافت نخاع جدا شد و با ۷۰۰ میکرولیتر از محلول ترایزول در دستگاه گرانیدر هموژنیزه شد. با اضافه کردن ۲۰۰ میکرولیترکلروفرم، بافت هموژنیزه‌شده به مدت ۱۵-۱۰ دقیقه روی یخ انکوباته شد. میکروتیوپ چند بار به مدت ۱۵ دقیقه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد و در دور ۱۲۰۰۰rpm با دستگاه سانتریفیوژ یخچال‌دار سانتریفیوژ شد. در نهایت رسوب حاوی RNA با استفاده از دستگاه حمام خشک در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه قرار گرفت تا در آب حل شود. سپس غلظت نمونه با استفاده از دستگاه نانو دراپ (Nano drop) خوانده شد.

برای بررسی کیفیت و غلظت RNA استخراج شده از دو روش اسپکتروفتومتری با دستگاه نانودراپ و ژل آگارز یک درصد استفاده شد. بعد از مشخص شدن غلظت و خلوص RNA های استخراج شده، اقدام به ساخت CDNA با استفاده از کیت شرکت تاکارا (TAKARA) در حجم نهایی۲۰ میکرولیتر شد(۳۱). سنتز رشته cDNA به کمک پرایمر اختصاصی ژن‌ها انجام شد که به صورت اختصاصی در نقاط مختلفی به رشته RNA اتصال می‌یابد. جفت پرایمرهای مربوط به هر ژن با استفاده از نرم‌افزار oligo۷ طراحی شده و توسط شرکت Roche سنتز شد(۳۲). در تکنیک Real time PCR برای بررسی سطح بیان ژن‌های AKT، GSK3b، BDNF و CREB و همچنین ارتباط سطح بیان این ژن‌ها با مصرف متامفتامین، ارزیابی نمونه‌های بافتی آزمایش شده با استفاده از دستگاه Light Cycler ۹۶ و رنگ syber green I تعیین شد(۳۳).

آنالیز تغییرهای پارامترهای تاخیر زمانی تکانه دمی و میزان بیان ژن‌های بررسی شده در بین گروه‌های مختلف به کمک آزمون ANOVA یک طرفه و آزمون تکمیلی Turkey و با استفاده از نرم‌افزار SPSS-۱۶ انجام گرفت. داده‌ها به صورت میانگین ± SEM و سطح معنادار در محدوده ۹۵ درصد مورد ملاک قرار گرفت. نتایج به صورت نمودارها از طریق نرم‌افزار Excel ۲۰۱۰ رسم شد.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-24]

[DOR: 20.1001.1.17355311.1401.46.1.3.5]

یافته‌ها:

بررسی آثار تزریق و محرومیت از متامفتامین بر تاخیر زمانی تکانه دمی در تست Tail Flick

تحلیل واریانس یک‌طرفه و post hoc Tukey نشان داد که تزریق درون صفاقی دوز۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم متامفتامین به مدت پنج روز متوالی سبب تاخیر در پاسخ تکانه دمی در موش‌های صحرایی نر نسبت به گروه کنترل می‌شود(نمودار ۱، P= ۰/۰۰۲). همچنین سندرم محرومیت از دارو به مدت چهار روز پس از آخرین تزریق متامفتامین، زمان پاسخ تکانه دمی را نسبت به گروه دریافت‌کننده متامفتامین کاهش داد و سبب کاهش اثر ضد درد دارو شد (نمودار۱، P= ۰/۰۱۴). نتایج مطالعه نشان دهنده اثر آنالژزیک بودن دوز درون صفاقی به کار رفته متامفتامین است.

بررسی آثار تزریق و محرومیت از متامفتامین بر بیان ژن AKT در قطعه کمری نخاع

تحلیل واریانس یک‌طرفه و post hoc Tukey نشان داد که تزریق درون صفاقی دوز۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم متامفتامین به مدت پنج روز متوالی موجب افزایش معنادار بیان ژن AKT (نمودار ۲، P= ۰/۰۴۷) در قطعه کمری نخاع رت‌ها نسبت به گروه کنترل می‌شود. همچنین سندرم محرومیت از دارو به مدت چهار روز پس از آخرین تزریق متامفتامین، میزان بیان ژن AKT را نسبت به گروه دریافت‌کننده متامفتامین تغییر نداد (نمودار۲، P= ۰/۱۹).

بررسی آثار تزریق و محرومیت از متامفتامین بر بیان ژن KSG3 در قطعه کمری نخاع

تحلیل واریانس یک‌طرفه و post hoc Tukey نشان داد که تزریق درون صفاقی دوز۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم متامفتامین به مدت پنج روز متوالی تغییری معنادار در بیان ژن GSK در قطعه کمری نخاع رت‌ها نسبت به گروه کنترل ایجاد نکرد (جدول۱، P= ۰/۲). تحقیق حاضر همچنین نشان داد که محرومیت از دارو به مدت چهار روز پس از آخرین تزریق متامفتامین، میزان بیان ژن GSK را نسبت به گروه دریافت‌کننده متامفتامین تغییر نداد (جدول۱، P= ۰/۷).

بررسی آثار تزریق و محرومیت از متامفتامین بر بیان ژن BDNF در قطعه کمری نخاع

تحلیل واریانس یک‌طرفه و post hoc Tukey نشان داد که تزریق درون صفاقی دوز۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم متامفتامین به مدت پنج روز متوالی تغییری معنادار در بیان ژن BDNF ایجاد نکرد (جدول۱، P= ۱). همچنین محرومیت از دارو به مدت چهار روز پس از آخرین تزریق متامفتامین، بیان ژن BDNF را نسبت به گروه دریافت‌کننده متامفتامین تغییر نداد(جدول۱، P= ۱).

جدول ۱. ویژگی‌های فردی آزمودنی‌های مطالعه شده

گروه / بیان ژن	کنترل	سالین	متامفتامین (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)	محرومیت از دارو
GSK۳	۰،۰۰۳۲۷۹	۰،۰۰۳۴۱۷	۰،۰۶۶۳۶	۰،۰۲۹۴۷
BDNF	۰،۰۱۹۳۲	۰،۰۱۱۳۲	۰،۰۳۲۵۲	۰،۰۴۰۰۹

بررسی آثار تزریق و محرومیت از متامفتامین بر بیان ژن CREB در قطعه کمری نخاع

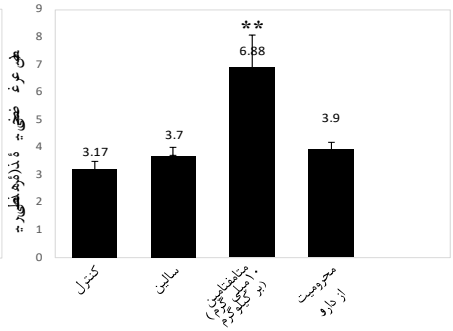
تحلیل واریانس یک‌طرفه و post hoc Tukey همچنین نشان داد که تزریق درون صفاقی دوز۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم متامفتامین به مدت پنج روز متوالی سبب تغییر معنادار در بیان ژن CREB در قطعه کمری نخاع رت‌ها نسبت به گروه کنترل شد (نمودار ۵، P= ۰/۰۰۸). همچنین محرومیت از دارو به مدت چهار روز پس از آخرین تزریق متامفتامین ، بیان ژن CREB را نسبت به گروه دریافت‌کننده متامفتامین تغییر نداد (نمودار ۵، P= ۰/۴۴).

نتایج مطالعه بیانگر آثار مفید تزریق حاد متامفتامین بر بیان ژن‌های AKT، BDNF، GSK3 و CREBدر قطعه کمری نخاع رت‌ها و همچنین مشاهده نکردن علایم مربوط به سندرم محرومیت از دارو بر بیان این ژن‌ها بود.

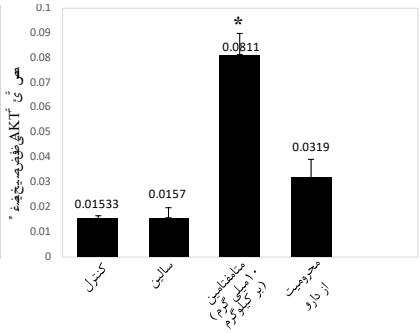
بحث :

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تزریق درون صفاقی دوز۱۰میلی‌گرم برکیلوگرم متامفتامین به مدت پنج روز متوالی سبب افزایش معنادار بیان ژن‌هایAKT و CREBدر قطعه کمری نخاع موش صحرایی نسبت به گروه کنترل و تغییر نکردن معنادار در بیان ژن GSK3 و BDNF می‌شود. به عنوان یک طرح جامع، از جمله محدودیت‌ها و نقاط ضعف مطالعه حاضر، بررسی نکردن آثار انواع روش‌های سوءمصرف این دارو بر تغییر انواع ژن‌ها، آنزیم‌ها و نوروترانسمیترهای مختلف در ساختار مرکزی پاداش دستگاه عصبی مرکزی و نیز بررسی نکردن آثار رفتاری دیگر دارو مانند رفتارهای شبه اضطرابی، حافظه و یادگیری است. از لحاظ متدولوژی، بررسی بخشی از آثار مولکولی سوءمصرف متامفتامین شامل تغییر میزان بیان ژن‌های اختصاصی در قطعه کمری نخاع و نیز بررسی آثار ضد درد آن به عنوان یکی از دلیل‌های توجیه مصرف این ماده، از وجه تمایز و قوت مطالعه حاضر است.

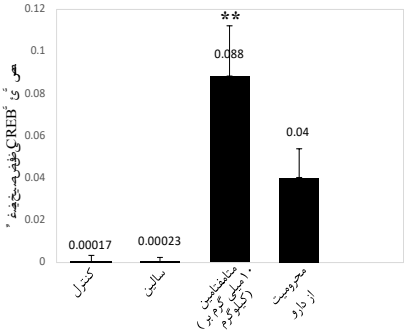
نتایج به دست آمده از این مطالعه مؤید نتایج تحقیق‌های برخی از محققان پیشین است. تفاوت در تغییر مقدار آنزیم‌های ذکر شده یا بیان ژن‌های آن‌ها می‌تواند ناشی از تفاوت در دوز مصرفی دارو و دوره مصرفی و نحوه تجویز دارو باشد. در تحقیقی مشابه مطالعه حاضر، Bai و همکاران در سال ۲۰۱۶ گزارش کردند که تزریق دوز۱۰میلی-گرم برکیلوگرم متامفتامین برای هشت روز متوالی سبب افزایش معنادار فسفوریلاسیون AKTمی‌شود(۳۴). با این حال، افزایش دوره مصرفی این دارو در تحقیقی نشان داد که تزریق درون صفاقی دوز ۱۰میلی‌گرم برکیلوگرم متامفتامین به مدت ۲۸ روز سبب



نمودار ۱. تاخیر در تکانه دمی موش‌های صحرایی نر در تست Tail Flick latency در گروه‌های مورد مطالعه. (P<۰/۰۱ ** در مقایسه با گروه کنترل و P<۰/۰۱ ## در مقایسه با گروه متامفتامین)



نمودار ۲. میزان بیان ژن AKT در ناحیه کمری نخاع در گروه‌های مطالعه شده. (P<۰/۰۵ * در مقایسه با گروه کنترل)



نمودار ۵. میزان بیان ژن CREB در ناحیه کمری نخاع در گروه‌های مطالعه شده. (P<۰/۰۱ ** در مقایسه با گروه کنترل)

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-24]

[DOR: 20.1001.1.17355311.1401.46.1.3.5]

کاهش مقدار آنزیم GSK3هیپوکامپ شده، درصورتی که میزان آنزیم AKT و نیز مقدار BDNF در این بخش از مغز را افزایش می‌دهد(۳۵). نتایج این مطالعه در برخی موارد نیز با نتایج دیگر محققان همسویی ندارد. Borumand و همکاران در سال ۲۰۱۹ گزارش کردند که تزریق درون‌صفاقی ۱۰ میلی‌گرم برکیلوگرم متامفتامین به مدت ۲۱روز سبب کاهش سطح بیان ژن و نیز مقدار پروتئین AKT شد که نتیجه آن افزایش سطح بیان ژن و مقدار پروتئین GSK3 در سلول‌های عصبی هیپوکامپ مغزی بود(۲۶). فعال‌سازی GSK3 در این‌حالت سبب برخی از وقایع عصبی مانند تخریب عصبی و اختلال‌های شناختی می‌شود(۱۶). فعال‌سازی آنزیم AKT در سلول‌های مغزی با مهار آنزیم GSK3، می‌تواند از تخریب نورونی محافظت کند(۱۶). در مطالعه-ای مشابه، گزارش شد که میزان بیان ژن GSK3 در هسته آکومبنس با تزریق ۱۰میلی‌گرم بر کیلوگرم متامفتامین به صورت معناداری افزایش پیدا می‌کند(۳۶).

از دیگر نتایج مطالعه حاضر، اثر آنالژزیک بودن متامفتامین در دوز به کار رفته در این مطالعه بود که با محرومیت از دارو به مدت چهار روز ، حساسیت به محرک دردزا در تست تاخیر تکانه دمی به حالت طبیعی خود برگشت. مطالعه‌های جدید نشان داده که متامفتامین ترکیب بسیار مؤثر ضد دردی است(۳۷). گزارش شده که اعمال متامفتامین سبب افزایش بیان ژن BDNFدر هسته اکومبنس، افزایش حافظه و بروز آثار سرخوشی و خاصیت آنالژزیک می‌شود(۱۰). در عین حال گزارش شده که مصرف هیروئین سبب کاهش سطح سرمی BDNF می‌شود(۱۲) و حتی مقدار این آنزیم در هسته اکومبنس، آمیگدال و تگمنتوم شکمی بعد از ترک کوکائین افزایش می‌یابد(۳۸).

یکی از مهم‌ترین مکانیسم‌های سلولی اثر متامفتامین، اثر آن بر تخریب پایانه‌های نورونی دوپامینرژیک و کاهش آزادسازی دوپامین از این پایانه‌ها است(۴۰و۳۹). تجویز حاد متامفتامین سبب افزایش آزادسازی دوپامین در هسته اکومبنس شده(۳۹)، درصورتی که تجویز مزمن آن سبب کاهش آزادسازی دوپامین در هسته اکومبنس می‌شود(۴۰). همچنین Kita وهمکاران مکانیسم آثار رفتاری تزریق درون صفاقی متامفتامین را مرتبط با اثر این ماده بر تغییرهای بیان mRNA و پروتئین گزارش کرده‌اند(۴۱). به نظر می‌رسد که مصرف مزمن متامفتامین با کاهش سطح BDNF و CREB و پروتئین AKT سبب تخریب نورونی، آپوپتوز سلولی و التهاب و استرس اکسیداتیو در هیپوکامپ رت‌ها می‌شود(۳۵و۲۰) با توجه به داده‌های به دست آمده، مصرف مزمن متامفتامین سبب بروز اضطراب، اختلال در فعالیت حرکتی و نیز اختلال شناختی در حیوان‌های آزمایشگاهی می‌شود(۲۰). با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه و مطالعه‌های پیشین، ممکن است تزریق حاد متامفتامین به صورت درون صفاقی و در دوره پنج روزه در رت‌های نر در این تحقیق، از طریق مسیرسیگنالینگ AKT/GSK3 ، با افزایش معنادار بیان ژنAKT و عدم تغییر در بیان ژن GSK3و فعال‌سازی گیرنده‌های دوپامینی D۱ فقط آثار ضد دردی داشته، در صورتی که مصرف مزمن آن از طریق کاهش فعالیت گیرنده‌های دوپامینی سبب آثار نامناسب در بدن و از جمله اعتیاد می-شود(۴). نتایج حاصل از دوره محرومیت از دارو هم مؤید این فرضیه است، طوری که تغییری معنادار در بیان ژن‌ها نسبت به گروه متامفتامین دیده نشد و فقط حساسیت به محرک دردزا به حالت نرمال برگشت. همچنین افزایش بیان ژن CREB در قطعه کمری نخاع رت‌ها در مطالعه حاضر نیز می‌تواند مکانیسمی دیگر برای توجیه نبود آثار نامناسب این شیوه تیمار دارو باشد. سیگنالینگ سلولی واسطه شده با BDNF با فسفریلاسیون CREB تحریک می‌شود(۴۲). در مجموع نتایج این مطالعه، با مکانیسم پیشنهادی در این زمینه توسط Keshavarzi و همکارانش در سال ۲۰۱۹ قابل توجیه است. آن‌ها توضیح دادند که مسیرهای سیگنالینگCREB/BDNF و Akt/GSK3 نقشی کلیدی در سمیت عصبی متامفتامین ایفاء می‌کند(۲۰). بنابراین نویسندگان مقاله پیشنهاد می‌کنند که ممکن است خاصیت آنالژزیک ناشی از تجویز درون صفاقی داروی متامفتامین در دوره حاد ۵روزه در رت‌های مطالعه شده، ممکن است یا ناشی از برانگیختن مکانیسم سلولی واسطه شده با BDNF ، فعال شدن PI۳Kو در نتیجه فعال شدن آنزیم AKT باشد، که این مسیر سلولی در تحقیق‌های پیشین ذکر شده است(۴۳). اگرچه افزایشی در بیان خود ژن BDNF در این تحقیق مشاهده نشد؟ از دیگر مکانیسم‌های سلولی احتمالی مرتبط با اثر ضد درد داروی مذکور در دوره مصرفی آن ، فعال‌سازی مستقیم خود آنزیم AKT در سلول‌های نخاع کمری با مهار آنزیم GSK3، می‌تواند باشد(۱۶).

با بررسی میزان بیان ژن‌ها و تست رفتاری در مطالعه حاضر، نویسندگان مقاله پیشنهاد می‌کنند که به نظر می‌رسد دوز تزریقی از متامفتامین در دوره پنج روزه مصرفی، فقط آثار ضد دردی داشته، که در تست تکانه دمی دیده شد. همچنین آثار داروی متامفتامین بر تغییر در بیان ژن‌ها به صورت حداقلی و البته در راستای افزایش بیان ژن‌های مطلوبی مانند AKT و CREB است.

تشکر و قدردانی:

از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه تبریز برای تامین اعتبار لازم قدردانی می‌شود.

منابع:

1. Zarrindast M.R, Karimi M,Sepehri H,Sahraei H. Influence of nitric oxide on morphine-induced conditioned place preference in the rat centeral amygdala. Eouropean Journal of Pharmacology. 2002; 453(1):81-9.

2. Sabrini S, Russell B, Wang G, Lin J, Kirk I, Curley L. Methamphetamine induces neuronal death: Evidence from rodent studies. Neuro Toxicology. 2020; 77:20-28.

3. Šlamberová R. Review of long-term consequences of maternal methamphetamine exposure Physiological Research. 2019; 20;68(3):219-231.

4. Loftis JM, Janowsky A. Neuroimmune basis of methamphetamine toxicity. International review of neurobiology. 2014; 118:165-97.

5. Martin L J, Liu Z, Chen K, Price A.C, Pan Y, Swaby JA, et al. Motor neuron degeneration in amyotrophic lateral sclerosis mutant superoxide dismutase-1 transgenic mice: mechanisms of mitochondriopathy and cell death. The Journal of Comparative Neurology. 2007. 500: 20–46.

6. Brecht ML, O'Brien A, Mayrhauser CV, Anglin MD. Methamphetamine use behaviors and gender differences. Addictive behaviors. 2004; 29:89-106.

7. Karila L, Petit A, Cottencin O, Reynaud M. Methamphetamine dependence: Consequences and complications. Presse medicale. 2010. 39:1246-1253.

8. Carlo P Di, Punzi G, Ursini G. Brain-derived neurotrophic factor and schizophrenia. Psychiatric genetics. 2019;29(5):200-210.

9. Crist RC, Reiner BC, Berrettini WH. A review of opioid addiction genetics. Current opinion in psychology. 2019; 27:31-35.

10. Robinson TE, Kolb B. Structural plasticity associated with exposure to drugs of abuse. Neuropharmacology. 2004; 47:33-46.

11. Hilburn C, Nejtek VA, Underwood WA, Singh M, Patel G, Gangwani P, et al. Is serum brain-derived neurotrophic factor related to craving for or use of alcohol, cocaine, or methamphetamine? Neuropsychiatric Disease and Treatment. 2011; 7:

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-24]

[DOR: 20.1001.1.17355311.1401.46.1.3.5]

357–364.
12. Angelucci F, Ricci V, Pomponi M. Chronic heroin and cocaine abuse is associated with decreased serum concentrations of the nerve growth factor and brain-derived neurotrophic factor. Journal of Psychopharmacology. 2007; 21: 820-825.
13. Charna D, Ueli S, Urs A. The Mammalian Circadian Timing System: Organization and Coordination of Central and Peripheral Clocks. Annual review of physiology. 2010; 72 (1): 517-549.
14. Song G, Ouyang G, Bao S. The activation of Akt/PKB signaling pathway and cell survival. Journal of cellular and molecular. 2005; 9(1): 59-71.
15. Ahmadi J, Razeghian Jahromi L. Comparing the effect of buprenorphine and methadone in the reduction of methamphetamine craving: a randomized clinical trial. Journal of Molecular Histology. 2017;18(1):1-8.
16. Endo H, Nito C, Kamada H, Yu F, Chan PH. Akt/GSK3beta survival signaling is involved
in acute brain injury after subarachnoid hemorrhage in rats. Stroke. 2006; 37:2140-46.
17. Motaghinejad M, Motevalian M, Fatima S, Beiranvand T, Mozaffari S. Topiramate via NMDA, AMPA/kainate, GABAA and Alpha2 receptors and by modulation of CREB/BDNF and Akt/ GSK3 signaling pathway exerts neuroprotective effects against methylphenidate-induced neurotoxicity in rats. Journal of Neural Transmission. 2017; 124:1369-1387.
18. Jin E, Nosaka K, Sano M. NGF-dependent formation of ruffles in PC12D cells required a different pathway from that for neurite outgrowth. Neurochemistry International. 2007;51(2-4):216–226.
19. Miller JS, Barr JL, Harper LJ, Poole RL, Gould TJ, Unterwald EM. The GSK3 signaling pathway is activated by cocaine and is critical for cocaine conditioned reward in mice. Plos One. 2014;9: 10-26.
20. Keshavarzi S, Kermanshahi S, Karami L, Motaghinejad M, Motevalian M, Sadr S. Protective role of metformin against methamphetamine induced anxiety, depression, cognition impairment and neurodegeneration in rat: The role of CREB/BDNF and Akt/GSK3 signaling pathways. Neurotoxicology.2019; 72:74-84.
21. Hermida M.A, Dinesh Kumar J, Leslie Nick R. GSK3 and its interactions with the PI3K/AKT/mTOR signalling network. Advances in Biological Regulation. 2017; 65: 5-15.
22. Asser A, Taba P. Psychostimulants and movement disorders. Frontiers in neurology. 2015; 6:75.
23. Ohtake Y, Li S. Molecular mechanisms of scar-sourced axon growth inhibitors. Brain Research. 2015; 1619:22–35.
24. Lei F, He W, Tian X , Zhou O, Zheng L, Kang J, Song Y, Feng D. GSK-3 Inhibitor Promotes Neuronal Cell Regeneration and Functional Recovery in a Rat Model of Spinal Cord Injury. Biomed Research International. 2019; 4:1-9.
25. Gihson AE, Doran CM, Bell JR. Ryan A. Lintzeris N. A Comparison of buprenorphine treatment in clinic and primarycare Settings: a randomized trial. Medical Journal of Australia. 2003; 179 (10): 558
26. Borumand MR, Motaghinejad M, Motevalian M, Gholami M. Duloxetine by Modulating the Akt/GSK3 Signaling Pathways Has Neuroprotective Effects against Methamphetamine-Induced Neurodegeneration and Cognition Impairment in Rats. Iranian Journal of Medical Science. 2019; 44(2):146-154.
27. Tracy L Hellem TL. A Review of Methamphetamine Dependence and Withdrawal Treatment: A Focus on Anxiety Outcomes. Journal of Subst Abuse Treat. 2016; 71:16-22.
28. D'Amour FE, Smith DL. A method for determining loss of pain sensation. Journal of Pharmacology. 1941; 72(1): 74-8.
29. Fereidoni M, Javan M, Semnanian S,Ahmadiani A. Hypothalamus Pituitary -Adrenal axis and stimulatory G proteins signaling role in nociceptive changes induced by forced swim stress. Physiology and Pharmacology. 2007; 10(4): 291-302.
30. Ferrucci M, Pasquali L, Paparelli A, Ruggieri S, Fornai F. Pathways of Methamphetamine Toxicity. Annals of The New York Academy of Science. 2008; 1139:177-85.
31. Kuba Y, Kyan H, Arakaki E, Takara T, Kato T, Okano S, et al. Molecular Epidemiological Study of Mumps Epidemics of 2015 in Okinawa, Japanese Journal of Infectious Diseases. 2017;70(3):329-332.
32. Nolan T, Hands R.E, Bustin S.A. Quantification of mRNA using real-time RT-PCR. Nature Protocols. 2006;1: 1559-1582.
33. Safdar M, Junejo Y. Development and validation of fast duplex real-time PCR assays based on SYBER Green florescence for detection of bovine and poultry origins in feedstuffs. Food Chemistry. 2015;15; 173:660-4.
34. Bai Y, Zhang Y, Hua J, Yang X, Zhang X, Duan M, Zhu X, Huang W, Chao J, Zhou R, Hu G, Yao H. Silencing microRNA-143 protects the integrity of the blood-brain barrier: implications for methamphetamine abuse. Sci Rep. 2016 ;6:35-42.
35. Mehrafza S, Kermanshahi S, Mostafidi S, Motaghinejad M, Motevalian M, Fatima S. Pharmacological evidence for lithium-induced neuroprotection against methamphetamine-induced neurodegeneration via Akt-1/GSK3 and CREB-BDNF signaling pathways. Iranian Journal of Basic Medical Sciences. 2019; 22:856-865.
36. Xu C, wang J, Wu P, Xue Y, Zhu W, Li Q. glycogen synthase kinase 3 b in the nucleous accumbens core is critical for methamphetamine-induced behavioral sensitiziation. Journal of Neurochemistry. 2011; 118 (1): 126-39.
37. Etaee F, Rezvani-Kamran A, Taheri M, Omidi G, Hasanein P, Komaki A. Comparing the Antinociceptive Effects of Methamphetamine, Buprenorphine, or Both After Chronic Treatment and Withdrawal in Male Rats. Basic and Clinical Neuroscience. 2019; 10(4), 313-322.
38. Grimm J W, Lu L, Hayashi T, Hope B T, Su T P, Shaham Y. Time dependent increases in brain-derived neurotrophic factor protein levels within the mesolimbic dopamine system after withdrawal from cocaine: implications for incubation of cocaine craving. Journal of Neuroscience. 2003;23: 742–747.
39. Yorgason JT, Hedges DM, Obray JD, Jang EY, Bills KB, Woodbury M, et al. Methamphetamine increases dopamine release in the nucleus accumbens through calcium-dependent processes. Psychopharmacoly. 2020; 237. 1317-1330.
40. Yokoo H, Yamada S, Yoshida M, Tanaka M, Nishi S. Attenuation of the inhibitory effect of dynorphin on dopamine release in the rat nucleus accumbens by repeated treatment with methamphetamine. European Journal of Pharmacology. 1999; 222:43-47.
41. Kita T, Wagner G.C, Nakashima T. Current research on methamphetamine- induced neurotoxicity: animal models of monoamine disruption. J. Pharmacol. Sci. 2003; 92:178–195.
42. Réus G.Z, Stringari R B, Ribeiro K.F, Ferraro A.K, Vitto M.F, Cesconetto P, et al. Ketamine plus imipramine treatment induces antidepressant-like behavior and increases CREB and BDNF protein levels and PKA and PKC phosphorylation in rat brain. Behavioural brain. 2011; 221:166–171.
43. Beaulieu J. M, Gainetdinov R.R, The Physiology, Signaling, and Pharmacology of Dopamine Receptors. Pharmacological Reviews. 2011; 63(1): 182-217.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-24]

[DOR: 20.1001.1.17355311.1401.46.1.3.5]