IranJPP
Iranian Journal of
Physiology and Pharmacology

مجله فیزیولوژی و فارماکولوژی ایران
دوره ۳، شماره ٤، پیاپی ۱۲، صفحه ۲۵۲-۲٤٦

مقاله پژوهشی

# وابستگی به مورفین سبب افزایش بیان ژن گیرنده نوع یک اورکسین در هسته لوکوس سرولئوس می‌شود

نیلوفر آقاجانی، حسین عزیزی، محمد جوان، سعید سمنانیان*

گروه فیزیولوژی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

دریافت: ۱۹ خرداد ۱۳۹۹ پذیرش: ۲۸ مرداد ۱۳۹۹

## چکیده

**زمینه و هدف:** تجویز مکرر آگونیست‌های اوپیاتی سبب بروز وابستگی به این مواد می‌شود و همین مسئله مصرف کلینیکی آن‌ها را محدود ساخته است. هسته لوکوس سرولئوس از جمله ساختارهای اصلی مغزی است که در وابستگی، تحمل و بیان علائم محرومیت از مورفین نقش کلیدی ایفا می‌کند. اورکسین نیز نوروپپتیدی است که در وابستگی و تحمل به اوپیات‌ها نقش دارد. گیرنده نوع یک اورکسین به میزان زیادی در هسته لوکوس سرولئوس بیان می‌شود. در این مطالعه به بررسی بیان کمی گیرنده نوع یک اورکسین در طی وابستگی به مورفین و بروز سندروم محرومیت از آن در نورون‌های هسته LC موش‌های صحرایی می‌پردازیم.

**روش‌ها:** برای ایجاد وابستگی، مورفین سولفات (ده میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم) دو بار در روز برای ده روز به صورت زیرجلدی به موش‌ها تزریق شد. برای القای سندروم محرومیت از مورفین، نالوکسان (دو میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم) به صورت زیر جلدی در روز دهم، دو ساعت بعد از آخرین تزریق مورفین، تزریق می‌شد. برای سنجش میزان بیان گیرنده نوع یک اورکسین در نورون‌های هسته لوکوس سرولئوس، از روش RT-PCR استفاده شد.

**یافته‌ها:** این مطالعه نشان داد که وابستگی به مورفین سبب افزایش بیان ژن گیرنده نوع یک اورکسین در نورون‌های هسته لوکوس سرولئوس می‌شود. همچنین مشاهده شد که سندروم محرومیت از مورفین القایی با نالوکسان سبب کاهش بیان گیرنده نوع یک اورکسین در این ناحیه از مغز می‌شود. به عبارت دیگر میزان این گیرنده‌ها به حالت قبل از وابستگی باز می‌گردد.

**نتیجه‌گیری:** با توجه به نتایج این مطالعه یعنی افزایش بیان ژن گیرنده نوع یک اورکسین در هسته لوکوس سرولئوس موش‌های صحرایی وابسته به مورفین و همچنین بازگشت این گیرنده به حالت کنترل بعد از مواجهه با نالوکسان و سندروم ترک می‌توان پیشنهاد نمود که گیرنده‌های نوع یک اورکسین در هسته لوکوس سرولئوس در پدیده وابستگی و نیز سندروم محرومیت دخیل هستند.

**واژه‌های کلیدی:** اوپیات، گیرنده نوع یک اورکسین، موش صحرایی، هسته لوکوس سرولئوس

## مقدمه

مورفین قوی‌ترین داروی ضد درد برای درد مزمن است اما علاوه بر اثرات ضد دردی، استفاده مزمن از آن می‌تواند باعث تحمل، وابستگی و حتی اعتیاد شود. اعتیاد به مواد افیونی نوعی اختلال سلامت روانی مزمن و عود کننده است. احتمالاً سازش‌های مولکولی نیز در مدارهای عصبی خاصی و فعال‌شدن برخی از مکانیسم‌های خاص در مغز در پاسخ به در معرض قرارگیری مکرر مواد، برای وابستگی به مواد وجود دارد . سندروم ترک اپیوییدها نیز با علایم فیزیولوژیک، رفتاری و مولکولی خاص همراه است [۱]. فهم پایه سلولی و مولکولی اعتیاد منجر به تغییر در نگرش به اعتیاد و درمان آن خواهد شد [۲]. به طور شگفت‌انگیزی، در مغز ما پاسخ‌دهی به انواع محرک‌ها و تصمیم‌گیری در مورد آنچه که توجه ما را می‌طلبد به وسیله یکی از کوچکترین هسته‌های آن، یعنی هسته لوکوس سرولئوس تنظیم می‌شود [۳]. این هسته پاسخ‌های مولکولی شدیدی به مصرف مزمن اوپیات‌ها و محرومیت از اوپیات‌ها نشان می‌دهد [۴]. نوروپپتید اورکسین، در سال ۱۹۹۸ کشف

* نویسنده مسئول مکاتبات: ssemnan@modares.ac.ir (ORCID ID: 0000-0002-8987-3291)

[ Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-17 ]

شد، و از آن زمان، نقش آن در بسیاری از اعمال حیاتی و فیزیولوژیک بدن و سیستم عصبی از جمله پاداش/اعتیاد، بررسی شده است [۵]. نشان داده شده است که اشتیاق برای مصرف و نیز ترک مصرف مورفین به سیگنال گیرنده نوع یک اورکسین مرتبط است [۶] و در هسته لوکوس سرولئوس نیز فقط گیرنده نوع یک اورکسین بیان می‌شود [۷]. مصرف مزمن برخی مواد بر روی سیستم اورکسین از طریق تغییر فعالیت نورون‌های اورکسین، سطح بیان ژن اورکسین و حتی سطح گیرنده آنها اثرات متفاوت می‌گذارد برای مثال دیده شده که مصرف مزمن نیکوتین بیان ژن پره پرو اورکسین را در هیپوتالاموس جانبی افزایش می‌دهد اما مواجهه مزمن با مورفین تاثیری بر روی میزان بیان ژن اورکسین در نورون‌های اورکسینرژیکی هیپوتالاموس جانبی نداشته است [۸]. همچنین دیده شده که در هنگام بروز ترک، میزان بیان ژن اورکسین در هیپوتالاموس جانبی افزایش یافته‌است [۹]. با توجه به تمام موارد گفته شده و شواهد موجود، در این مطالعه سعی شده بررسی شود که آیا بیان گیرنده نوع یک اورکسین طی وابستگی به مورفین و همچنین در حین سندرم ترک دستخوش تغییر می‌شود.

## مواد و روش‌ها

### حیوانات مورد آزمایش

در این پژوهش از موش‌های صحرایی سفید نر، نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۵۰ تا ۳۰۰ گرم استفاده شد. حیوانات به تعداد چهار سر در قفس‌های متوسط پلکسی گلاس نگهداری می‌شدند. کنترل دما در محدوده‌ی ثابت و شرایط نوری حیوانات به صورت ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی رعایت می‌شد (شروع روشنایی ساعت هفت صبح). آب و غذای کافی برای حیوانات به طور آزاد وجود داشت. این مطالعه دارای کد اخلاق به شماره IR.modares.REC.1397.106 از دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس می‌باشد.

گروه‌های مورد آزمایش در مطالعه مولکولی شامل ۱- گروه سالین با دریافت نالوکسون؛ ۲- گروه سالین بدون دریافت نالوکسون؛ ۳- گروه وابسته به موفین و ۴- گروه دچار سندرم محرومیت که در هر گروه شش سر موش صحرایی مورد بررسی قرار گرفت. همه گروه‌های مورد مطالعه تحت یک دوره تیمار ده روزه قرار گرفتند. دو گروه اول در این ده روز، روزی دو بار (هفت صبح و هفت عصر) سالین و دو گروه دیگر روزی دو بار مورفین با دوز ده میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم به صورت زیرجلدی تزریق شد.

### روش انجام تحقیق

در این پژوهش برای بررسی میزان بیان ژن، از تکنیک مولکولی واکنش زنجیره‌ای رونویسی پلیمراز معکوس[1] استفاده کردیم. برای این منظور، پس از بیهوشی با یورتان (۱/۲ گرم به ازای هر کیلوگرم، زیر پوستی)، بلافاصله سر حیوان با گیوتین بریده شد. مغز به سرعت برداشته شده و در مایع مغزی نخاعی مصنوعی[2] استاندارد سرد و کربوژنه غوطه‌ور می‌گردید. تمام نمونه‌گیری‌ها از تمام گروه‌ها در فصل پاییز و پیش از ظهر یعنی در حدود ساعت ۱۲-۱۱ انجام شدند.

پس از آماده‌سازی نمونه، قطعه مغزی حاوی هسته لوکوس سرولئوس بریده شده و روی صفحه ویبروتوم طوری چسبانده می‌شد که بخش پشتی آن به سمت بالا قرارگیرد. در داخل ویبروتوم در ACSF استاندارد سرد و کربوژنه، برش‌گیری آغاز شده و به محض مشاهده هسته‌های لوکوس سرولئوس در بخش جانبی بطن چهارم، یک برش مغزی افقی با ضخامت یک میلی متر تهیه می‌گردید. آن گاه در برش مورد نظر هر دو هسته لوکوس سرولئوس جدا شده و بلافاصله در نیتروژن مایع قرار گرفته و به فریزر ۸۰- منتقل می‌شد. سپس RNA تام آن با استفاده از کیت RiboEx Total RNA طبق دستورالعمل جدا شد. متعاقبا با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر، نسبت جذب نوری در طول موج‌های ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر محاسبه شد. نسبت (A260/A280) بین ۱/۸ تا ۲ نشان‌دهنده‌ی خلوص قابل قبول برای RNA استخراج شده بود. با استفاده از RNA به دست آمده در مرحله قبل و با استفاده از آنزیم RT-premix (Pars tous) و پرایمر Oligo (dT)، از روی mRNA، cDNA با پروتکل ساخته شد.

به منظور تکثیر قطعه‌ای از cDNA مربوط به ژن گیرنده نوع یک اورکسین از PCR استفاده می‌شد. فرآیند PCR به کمک آنزیم Taq پلیمراز و پرایمرهای اختصاصی پیشرو و معکوس انجام می‌گرفت. پرایمرهای مورد استفاده برای بررسی

[1] Reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR)
[2] Artificial cerebrospinal fluid (ACSF)



[ Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-17 ]

**جدول ۱**– مشخصات ژن و پرایمرهای استفاده شده در مطالعه مولکولی

| ژن مورد نظر | توالی پرایمر پیشرو | توالی پرایمر معکوس |
|---|---|---|
| OX1R | 5´-TGGGCTGTGTCGCTGGCTG-3´ | 5´-GTTGGGGCTCTGTACACAGG-3´ |
| GAPDH | 5´-CAATGACCCCTTCATTGACC-3´ | 5´-TGGAAGATGGTGATGGGATT-3´ |

بیان ژن گیرنده نوع یک اورکسین (جدول ۱) از مقاله معتبر انتخاب و سپس با استفاده از پایگاه داده NCBI، صحت این توالی‌ها چک گردید [۱۰]. بعد از آن این توالی‌ها جهت ساخت، به شرکت سینا ژن سفارش داده شدند. در ادامه جهت استانداردسازی بررسی بیان، میزان بیان ژن مورد نظر نسبت به ژن GAPDH که یک ژن خانه‌دار[3] است، سنجیده شد.

**Real Time RT-PCR**

پس از روشن کردن دستگاه Real Time PCR، میکروتیوب‌ها (حاوی ۲ میکرولیتر cDNA، ۱ میکرولیتر پرایمر پیشرو و ۱ میکرولیتر پرایمر معکوس) را در داخل Rotor قرار دادیم. سپس در نرم افزار Rotor Gene Q Series Software نوع روتور، نام اپراتور، حجم واکنش، دمای شروع، زمان، تعداد سیکل‌ها و نوع رنگ مورد استفاده (معمولاً Cyber green) را مشخص کرده و در انتها فرآیند را آغاز کردیم.

## مطالعه رفتاری

در گروه‌های اول و چهارم از آزمایش یعنی موش‌های کنترل و موش‌هایی که دچار سندرم ترک شده بودند، قبل از انجام تکنیک مولکولی بررسی رفتاری انجام دادیم. به این صورت که حدود دو ساعت بعد از تزریق آخرین دوز مورفین به‌صورت داخل صفاقی به آنها نالوکسون با دوز ۲ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم تزریق کردیم و پس از آن علایم سندرم محرومیت را در هر موش به طور جداگانه برای یک ساعت بررسی کردیم و یک ساعت بعد از این بررسی نمونه برداری را انجام دادیم [۱۱]. این بررسی رفتاری برای اطمینان ما به این موضوع بود که هم موش‌ها به مورفین وابسته شده‌اند و هم در مرحله سندرم محرومیت از مورفین قرار دارند.

## آنالیز داده‌ها

برای آنالیز داده‌های آماری مولکولی از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه[4] و آزمون دقیق احتمالی فیشر[5] استفاده شد. $p < 0.05$ ملاک معنی‌دار بودن اختلاف بین گروه‌های آزمایش در نظر گرفته شد. مقادیر به‌دست آمده به صورت میانگین ± خطای استاندارد[6] گزارش شده‌اند.

## یافته‌ها

در این بخش از مطالعات، به منظور بررسی تغییرات مولکولی مهم در شرایط وابستگی به مورفین در نورون‌های هسته LC، از روش RT-PCR استفاده شد. فاکتور مورد بررسی در این مطالعه، بررسی تغییرات میزان بیان ژن گیرنده نوع یک اورکسین در نورون‌های هسته LC، ۲۴ سر موش صحرایی (در چهار گروه شش تایی) بود که مورد مطالعه قرار گرفتند. همانطور که گفته شد در گروه‌های اول و سوم به پایش علائم ترک پرداختیم [۱۲]. در جدول ۲ برخی علایم دیده شده در موش‌های سالم و وابسته به مورفین بعد از تزریق نالوکسون نشان داده شده است.

پس از آن به منظور بررسی میزان بیان ژن گیرنده نوع یک اورکسین از روش Real Time PCR استفاده شد. همانطور که در نمودار ۱ قابل‌مشاهده است، دیده شد که درموش‌های وابسته به مورفین در مقایسه با موش‌های گروه کنترل افزایش معناداری در بیان گیرنده نوع یک اورکسین وجود دارد.

همچنین در این مطالعه از ژن گلیسرالدهید سه فسفات دهیدروژناز[7] به عنوان کنترل داخلی استفاده شد. از آنجایی که این ژن جزو ژنهایی است که بیان دایمی در سلول دارند، لذا هدف مناسبی جهت بررسی به عنوان کنترل داخلی به حساب می‌آید. بعد از انجام واکنش RT-PCR برای اطمینان از انجام صحیح واکنش محصول آن بر روی ژل آگارز جداسازی و الکتروفورز گردید. مشاهده قطعه محصول PCR، انجام صحیح واکنش را تایید نمود (شکل ۱).

[3] Housekeeping genes

[4] One-Way ANOVA
[5] Fisher's exact probability test
[6] Mean ± SEM
[7] GAPDH



[ Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-17 ]

**جدول ۲**- علایم دیده شده در موش‌های سالم و وابسته به مورفین بعد از تزریق نالوکسون

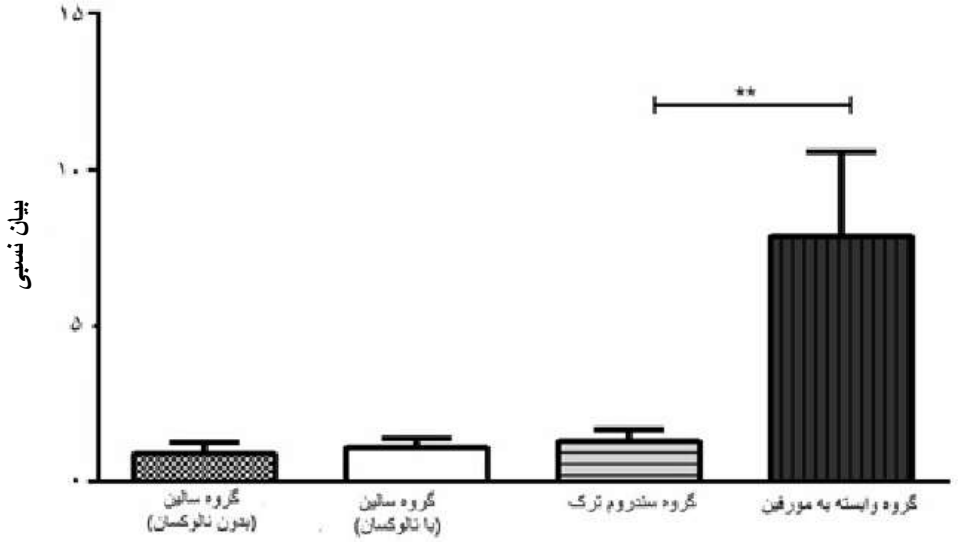
| علامت | گروه کنترل + تزریق نالوکسون | گروه محرومیت ازمورفین |
|---|---|---|
| لرزش سر | ۱/۶ | *۵/۶ |
| تکان دادن پا | ۰/۶ | *۵/۶ |
| غلت زدن | ۳/۶ | ۵/۶ |
| کش دادن خود | ۱/۶ | *۴/۶ |
| پریدن | ۰/۶ | *۴/۶ |
| دندان غروچه | ۰/۶ | *۵/۶ |

علایم با آزمون دقیق احتمالی فیشر بررسی شدند (تعداد موش در هر گروه ۶ سر بود). *: $p < 0.05$ در مقایسه با گروه کنترل+ تزریق نالوکسون.

## بحث

یافته‌های این تحقیق نشان می‌دهد که میزان بیان ژن گیرنده نوع یک اورکسین در هسته‌ی LC در موش‌های وابسته به مورفین نسبت به موش‌های گروه کنترل که تنها سالین دریافت کرده بودند، افزایش معنی‌داری پیدا کرده اند. همانطور که گفته شد هسته لوکوس سرولئوس از متراکم‌ترین مراکز حاوی گیرنده‌های اورکسین می‌باشد [۱۳] بنابراین این هسته از نواحی مهم سیستم اورکسینرژیک به حساب می‌آید و این سیستم نیز از سیستم‌های مهم دخیل در روند وابستگی و همچنین بروز سندروم ترک می‌باشد. دلایل زیادی وجود دارد که نشان می‌دهد فعالیت گیرنده نوع یک اورکسین در هسته لوکوس سرولئوس در وابستگی به مورفین نقش مهمی دارد که از جمله این شواهد میتوان به مواردی مثل این موضوع که اورکسین در هسته لوکوس سرولئوس از طریق گیرنده نوع یک خود اثر تحریکی دارد [۱۴] یا اینکه پایانه‌های نورونی حاوی اورکسین به طور مستقیم با نورون‌های لوکوس سرولئوس ارتباط برقرار می‌کنند [۱۵] و یا دانسیته نسبتاً بالایی از گیرنده نوع یک اورکسین در هسته لوکوس سرولئوس وجود دارد [۱۶] اشاره کرد.

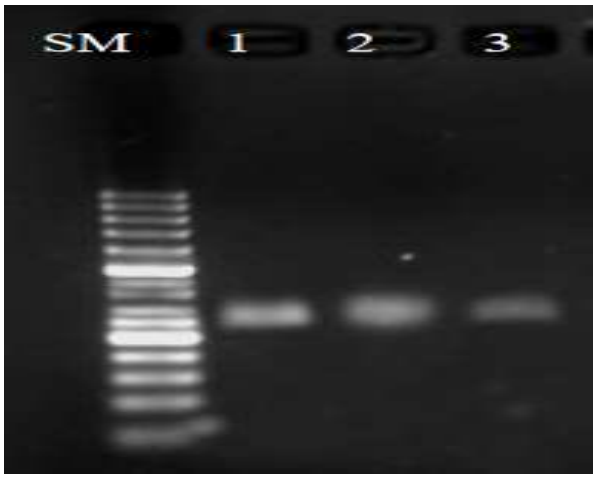
باتوجه‌به این موضوع که اورکسین در وابستگی به اوپیوییدها نقش دارد و این نقش را نیز از طریق گیرنده نوع یک خود در هسته لوکوس سرولئوس اعمال می‌کند، تغییر میزان بیان گیرنده نوع یک اورکسین در وابستگی به اوپیوییدها در هسته لوکوس سرولئوس دور از تصور نیست. همچنین مطالعات قبلی نیز نشان داده سوء مصرف مواد مخدر چه به‌صورت حاد و چه بصورت مزمن بر روی سیستم اورکسین اثر




**نمودار ۱**- مقایسه بیان ژن گیرنده نوع یک اورکسین در هسته LC میان گروه‌های کنترل، وابسته به مورفین و سندرم ترک. همان طور که در شکل قابل مشاهده است بیان این ژن در گروه وابسته به مورفین به طور معناداری افزایش یافته است. داده‌ها به صورت میانگین ± خطای استاندارد نمایش داده شده‌است (آنالیز واریانس یک طرفه، **: $p < 0.01$). تعداد موش در هر گروه ۶ سر بود.



[ Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-17 ]




**شکل ۱**– محصول PCR ژن GAPDH برای نمونه‌ها. ستون سمت چپ بیانگر اندازه مارکر می‌باشد.

مستقیم دارد که این اثرات ممکن است از طریق تغییر فعالیت نورون‌های اورکسین، تغییر سطح بیان ژن اورکسین و حتی تغییر میزان سطح گیرنده آن‌ها اثرگذار باشد [۱۷]. در مطالعاتی دیگر نشان داده‌اند که تجویز مزمن مورفین اثری بر سطح بیان ژن و میزان بیان c-Fos در نورون‌های اورکسینرژیک ندارد، در صورتی که محرومیت القایی با نالوکسون سبب القای بیشتر بیان c-Fos در این نورون‌ها می‌شود [۱۸]. در مطالعه‌ای در سال ۲۰۰۳ دیده شده که مصرف مزمن مورفین هم سبب افزایش فعالیت سیستم اورکسینرژیک و هم سبب افزایش بیان ژن گیرنده‌های اورکسین در هیپوتالاموس جانبی می‌شود [۱۹]. پس با توجه به این مطالعات احتمال افزایش بیان ژن گیرنده‌ها در هسته LC موش‌های وابسته به مورفین وجود داشت و یافته‌های ما در مطالعه مولکولی نیز در همین راستا بود.

بعلاوه دیده شده است که در هنگام بروز سندرم ترک نیز ممکن است سیستم اورکسینرژیک متحمل تغییراتی شود و یا حتی دیده شده که دستکاری سیستم اورکسین باعث بروز تغییرات رفتاری در سندروم ترک شده است، برای مثال حذف اورکسین باعث کاهش علائم ترک شده است. در یک بررسی دیده شد که مسدود کردن گیرنده‌های نوع یک اورکسین در هسته آکومبنس علائم فیزیکی سندرم محرومیت از مورفین و در راستای آن فعالیت سلولی هسته را نیز کم می‌کند. برای مثال دیده شده که در هنگام بروز سندرم ترک میزان بیان ژن اورکسین در هیپوتالاموس جانبی افزایش پیدا می‌کند [۲۰]. در مطالعه‌ای دیده شده که تجویز نالوکسون در موش‌هایی که وابستگی به مورفین دارند سبب افزایش فعالیت CRE شده است. بعلاوه میزان بیان ژن اورکسین در هیپوتالاموس جانبی افزایش داشته است. البته در مطالعه ما دیده شد که سطح گیرنده نوع یک اورکسین در موش‌هایی که سندرم محرومیت از مورفین را تجربه کرده‌اند شباهت بیشتری به موش‌های گروه کنترل داشته و کاهش یافته است. این نتیجه گیری این چنین نشان می‌دهد که در هسته LC موش‌های وابسته به مورفین گیرنده نوع یک اورکسین دچار افزایش معنادار شده اما در موش‌های وابسته ای که نالوکسون دریافت کرده‌اند و دچار سندرم محرومیت از مورفین شده‌اند سطح بیان ژن این گیرنده‌ها به حالت اولیه خود بازگشته اند و یا به عبارت صحیح‌تر کاهش یافته‌اند.

البته باید توجه داشت که نمونه‌برداری بافتی برای کار مولکولی در این مطالعه این ضعف را داشت که در هنگام نمونه‌برداری این امکان وجود داشت که علاوه بر سلول‌های هدف مورد مطالعه، مقداری از بافت‌های اطراف نیز برداشته شده باشد، بنابراین ممکن است با اعمال برخی تغییرات در روش کار، نظیر استفاده از تکنیک ایمونوهیستوشیمی به منظور بررسی بیان گیرنده نوع یک اورکسین در سطح پروتئین، بتوان دقت کار را افزایش داد.

## نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج این مطالعه می‌توان پیشنهاد نمود که گیرنده‌های نوع یک اورکسین در هسته لوکوس سرولئوس در پدیده وابستگی و سندروم محرومیت از اپیات‌ها دخیل هستند.

## سپاسگزاری

این مقاله قسمتی از پایان نامه مصوب دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس می‌باشد و با حمایت مالی دانشگاه تربیت مدرس و ستاد توسعه علوم و فن‌آوری‌های شناختی صورت پذیرفته است. بدین وسیله مجریان از حمایت مراکز فوق کمال تشکر را ابراز می‌دارند.

## ملاحظات مالی

این مطالعه با حمایت مالی دانشگاه تربیت مدرس و ستاد توسعه علوم و فن‌آوری‌های شناختی صورت پذیرفته است.



[ Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-17 ]

## تعارض در منافع

نویسندگان این مقاله تعارض در منافع ندارند.

## نقش نویسندگان

ن.آ: انجام مطالعه و جمع‌آوری و آنالیز داده‌ها، نگارش مقاله؛ س.س: طراحی مطالعه و اصلاح مقاله؛ م.ج: مشاوره و راهنمایی و نظارت در انجام مطالعه؛ ح.ع: طراحی مطالعه، نظارت بر اجرای مطالعه، اصلاح مقاله.

## فهرست منابع


[1] Gilron I, Gabapentin blocks and reverses antinociceptive morphine tolerance in the rat paw-pressure and tail-flick tests. ***Anesthesiology*** **5** (2003) 1288–1292.

[2] McNaull B, Inhibition of tolerance to spinal morphine antinociception by low doses of opioid receptor antagonists. ***Eur J Pharmacol*** 10 (2007) 132–141.

[3] Schwarz LA, Luo L, Organization of the locus coeruleus-norepinephrine system. ***Curr Biol*** 25 (2015) R1051-R1056.

[4] Rasmussen K, Opiate withdrawal and the rat locus coeruleus: behavioral, electrophysiological, and biochemical correlates***. J Neurosci*** 10 (1990) 2308–2317.

[5] Peyron C, Mapping the hypocretin/orexin neuronal system: An unexpectedly productive journey. ***J Neurosci*** 37 (2017) 2268–2272.

[6] Harris GC, Lateral hypothalamic orexin neurons are critically involved in learning to associate an environment with morphine reward. ***Behav Brain Res*** **183** (2007) 43–51.

[7] Hervieu GJ, Gene expression and protein distribution of the orexin-1 receptor in the rat brain and spinal cord. ***Neuroscience*** **103** (2001) 777–797.

[8] Harris GC, Arousal and reward: a dichotomy in orexin function. ***Trends Neurosci*** **10** (2006) 571–577.

[9] Estabrooke IV, Fos expression in orexin neurons varies with behavioral state. ***J Neurosci*** **21** (2001) 1656–1562.

[10] Zhou Y, Effects of cocaine place conditioning, chronic escalating-dose “binge” pattern cocaine administration and acute withdrawal on orexin/hypocretin and preprodynorphin gene expressions in lateral hypothalamus of Fischer and Sprague-Dawley rats. ***Neuroscience*** 153 (2008) 1225–1234.

[11] Fakhari M, Central antagonism of orexin type-1 receptors attenuates the development of morphine dependence in rat locus coeruleus neurons. ***Neuroscience 5*** (2017) 1–10.

[12] Azizi H, Antagonism of orexin type 1 receptors in the locus coeruleus attenuates signs of naloxone-precipitated morphine withdrawal in rats. ***Neurosci Lett*** 482 (2010) 255–259.

[13] Soffin EM, SB-334867-A antagonises orexin mediated excitation in the locus coeruleus. ***Neuropharmacology*** **42 (**2002) 127–133.

[14] Dayas CV, Stimuli linked to ethanol availability activate hypothalamic CART and orexin neurons in a reinstatement model of relapse. ***Biol Psychiatry*** **63** (2008) 152–157.

[15] Srinivasan S, The dual orexin/hypocretin receptor antagonist, almorexant, in the ventral tegmental area attenuates ethanol self-administration. ***PloS One*** 7 (2012) e44726.

[16] Kiyashchenko LI, Increased and decreased muscle tone with orexin (hypocretin) microinjections in the locus coeruleus and pontine inhibitory area**.** ***J Neurophysiol*** **85** (2001) 2008–2016.

[17] Kauer JA, Synaptic plasticity and addiction. ***Nat Rev Neurosci*** **8 (**2007) 844–58.

[18] Johnson AD, Opioid circuits originating from the nucleus paragigantocellularis and their potential role in opiate withdrawal. ***Brain Res*** **955**(2002) 72–84.

[19] Carr D, Kalivas PW, Orexin: a gatekeeper of addiction. ***Nat Med*** **12** (2006) 274–276.

[20] Sharf R, Role of orexin/hypocretin in dependence and addiction. ***Brain Res*** 16 (2010) 130–138.




[ Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-17 ]

Research paper

# Morphine dependence increases gene expression of orexin type one receptors in locus coeruleus nucleus

Niloofar Aghajani, Hossein Azizi, Mohammad Javan, Saeed Semnanian*

*Department of Physiology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran*

Received: 16 June 2020 Accepted: 28 July 2020

## Abstract

**Background and aims:** Repetitive administration of opioid agonists induced dependency to these substances and thus limits their clinical usage. The locus coeruleus (LC) is a key brain structure implicated in dependency tolerance and the expression of somatic signs of morphine withdrawal syndrome. Orexin is a neuropeptide that involve in morphine tolerance and dependence, as well. OX1R has been detected in LC nucleus. In this study we examined the expression of OX1R during dependency and also in the withdrawal syndrome in neurons of LC nucleus in rats.

**Methods:** To incite dependency, morphine sulfate (10 mg/kg) was injected intraperitoneally twice a day for 10 days in male Wistar rats. For induction of withdrawal syndrome, naloxone was injected (2 mg/kg) subcutaneously in day 10, two hours after the last injection of morphine. In order to measure the expression of OX1R, RT-PCR was used.

**Results:** This study shows that morphine dependency leads to increase expression of OX1R in neurons of LC nucleus. We also observed that morphine withdrawal syndrome with naloxone induced decreasing of OX1R expression in this region. In another word, amounts of this receptors back to normal level before dependency.

**Conclusion:** Due to results obtained from this study, we observed an increase in the expression of OX1R in neurons of LC nucleus and also return in the level of this receptors to baseline after exposure to naloxone and withdrawal syndrome. Hence we could suggest that OX1Rs in LC nucleus are involved in dependency and withdrawal syndrome.

**Keywords**: Opiates, Orexin type one receptor, Rat, locus coeruleus nucleus

**Please cite this article as follows:**

Aghajani N, Azizi H, Javan M, Semnanian S, Morphine dependence increases gene expression of orexin type one receptors in locus coeruleus nucleus. ***Iran J Physiol Pharmacol*** 3 (2019) 246-252.

*Corresponding author: ssemnan@modares.ac.ir (ORCID ID: 0000-0002-8987-3291)

[ Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-17 ]