

Analysis of long-term treatment of Mu opioid receptors agonists effect on *Dnm1L* and *Rab22a* expression in HEK293 Flp-In MOP YFP

Sheyda Ilkhanizadeh¹, Roohollah Nakhaei Sistani², Majid Sadeghizadeh³, Ghasem Ahangari^{4*}

1- Ph.D. Candidate, Department of Genetics, Faculty of Biological Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

2- Assistant Professor, Department of Genetics, Kashan University, Kashan, Iran

3- Professor, Department of Genetics, Faculty of Biological Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

4- Professor, Department of Medical Genetics, National Institute of Genetic Engineering and Biotechnology (NIGEB), Tehran, Iran

*Corresponding Address: Postal Code: 1437716316, Department of Medical Genetics, National Institute of Genetic Engineering and Biotechnology (NIGEB), Tehran, Iran
Email: ghah@nigeb.ac.ir

Received: 01/Aug/2017, Accepted: 04/Oct/2017

Abstract

Objective: Morphine and its derivatives are well-known for their strong analgesic effects in medicine. However, their medical long-term administration is severely restricted because of tolerance and dependence. Morphine fails to induce endocytosis of Mu opioid receptors whereas other encephalin analogues such as DAMGO induce rapid endocytosis of these receptors. Repeated use of opioid drugs alters gene expressions. In current study, we analyze the effects of long-term opioid treatment on *Dnm1L* and *Rab22a* genes.

Methods: HEK293 cell lines that expressed MOP receptors were treated separately with morphine, methadone, and DAMGO. mRNAs were extracted from the cell suspension and we amplified the cDNA. Next, we analyzed *Dnm1L* and *Rab22a* gene expressions compared to control samples by qRT-PCR. Results were statistically validated by Graph Pad software.

Results: Amplification graphs from qRT-PCR showed that *Dnm1L* gene expression was induced by 2.37-fold, whereas *Rab22a* gene expression decreased by 0.39-fold in response to long-term treatment of cells with morphine compared to control samples. *Dnm1L* gene expression was not significantly affected by treatment with methadone and DAMGO. *Rab22a* gene expression decreased by 0.41-fold with methadone treatment and by 0.45-fold in response to DAMGO treatment.

Conclusion: The *Dnm1L* gene could be involved in cellular pathways of morphine-induced tolerance which would indicate the difference between morphine and other similar Mu opioid receptor agonists.

Keywords: Morphine, *Dnm1L*, *Rab22a*, Tolerance, Dependence

Pathobiology Research, Vol. 20 (2017-2018), No.4, Pages: 21-35

بررسی اثر تیمار طولانی مدت آگونیست‌های گیرنده افیونی مو (Mu) بر بیان ژن‌های *Rab22a* و *Dnm1L*

مقاله اصیل
 پژوهش‌های آسیب شناسی زیستی، دوره ۲۰، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۶، صفحات ۲۱-۲۵
 Email: ghah@nigeb.ac.ir

Rab22a Dnm1L Mu

هدف: مرفین و مشتقات آن به دلیل ویژگی‌های قوی ضد دردشان در مصارف پزشکی بسیار شناخته شده هستند. اما استفاده پزشکی از آن‌ها به دلیل ایجاد مقاومت و واپتگی پس از استفاده طولانی به شدت محدود است. گیرنده‌های افیونی مو در سلول‌ها بر اثر مرفین دچار اندوستیوز نمی‌شوند اما مشابه‌های انکفالین مانند DAMGO باعث اندوستیوز سریع گیرنده‌ها می‌شوند. استفاده مکرر از داروهای مخدر باعث تغییر بیان ژن‌ها می‌شود. مطالعه کنونی به بررسی اثر تیمار طولانی مدت افیون‌ها بر میزان بیان ژن‌های *Rab22a* و *Dnm1L* پرداخته است.

نتیجه: سلول‌های HEK293 که گیرنده افیونی Mu را بیان می‌نمایند، با مرفین، DAMGO و متادون به طور جداگانه و طولانی مدت تیمار شد. mRNA از عصاره سلولی استخراج شد و پس از ساخت cDNA، میزان بیان ژن‌های *Rab22a* و *Dnm1L* نسبت به نمونه کنترل به روش Q-RT-PCR مقایسه شد. نتایج با نرم‌افزار Graph Pad تجزیه و تحلیل آماری شد.

نتیجه: بررسی منحنی‌های به دست آمده از Q-RT-PCR نشان داد در اثر تیمار طولانی مدت با مرفین در مقایسه با نمونه کنترل بیان ژن *Dnm1L* ۲۳۷ برابر افزایش یافته و بیان ژن *Rab22a* ۰/۳۹ برابر کاهش یافته است. در حالی که میزان بیان *Dnm1L* در اثر تیمار با متادون و DAMGO تغییر معنی‌داری نشان نداده است، بیان ژن *Rab22a* به ترتیب ۰/۴۱ و ۰/۴۵ درصد کاهش نشان داده است.

نتیجه: *Dnm1L* می‌تواند در مسیرهای مقاومت سلولی ایجاد شده در اثر مرفین که باعث تفاوت آن نسبت به سایر آگونیست‌ها می‌شود دخالت داشته باشد.

۰% *Dnm1L*, مقاومت، واپتگی *Rab22a*

پژوهش‌های آسیب شناسی زیستی، دوره ۲۰، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۶، صفحات ۲۱-۲۵

شبه افیون‌ها موادی هستند که با تأثیر روی گیرنده‌های افیونی (Opioid receptors) تأثیرات شبه مرفینی اعمال می‌کنند و

پژوهش‌های آسیب شناسی زیستی، دوره ۲۰، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۶

۲۲

