

The Role of Agonist of A2A Adenosine Receptors on Neurotoxicity of MDMA (Ecstasy Pill) on Rat's Hippocampus

Mohammadzadeh F., M.Sc.*, Mehdizadeh M., Ph.D, Alizadeh A., M.Sc., Farhani Pad R., Kermanian F., M.Sc., Soleimani Asl S., Ph.D, Katebi M., Ph.D, Solimani M., Ph.D,*

** P.O.Box:14496-14525, Cellular and Molecular Research Center, Medical Faculty, Tehran University, Tehran, Iran*

Received: Apr 2011 Accepted: Jun 2011

Abstract

Purpose: MDMA is a synthetic drug that is originated from Amphetamine. It is used by some people. This material induces some chemical changes in serotonergic and dopaminergic neurons in middle brain.

Materials and Methods: In this study, we used 49 Rats Sprague-Dawley, 200-250 gr. There were 7 groups and 7 Rats in each group. Rats received MDMA in the first group, in the second group CGS (A2A receptor agonist), in the third group SCH (A2A receptor Antagonist), group 4 vehicle for CGS and SCH, group 5 vehicle for ecstasy, in 6th group MDMA with CGS, in 7th group MDMA with SCH. All groups received drugs ip, daily for 7 days. Then we took out some Hippocampus samples after perfusion in order to investigate apoptosis. These samples were stained with tunnel kit, and studied by light microscope. In some other rats, we removed fresh tissue and studied the expression of BAX and BCL-2 proteins by western blotting.

Result: The results of this study showed that the usage of MDMA with CGS reduced the BAX protein expression and protected apoptosis of Hippocampus cells. The usage of MDMA with SCH increased the BAX protein expression and number of apoptotic Hippocampus cells.

Conclusion: The results of our study indicated that CGS with MDMA decreased the side effects of the usage of MDMA.

Key Words: A2A receptor, Apoptosis, Methylenedioxymethamphetamine, BCL-2, BAX

بررسی نقش آگونیست‌های گیرنده‌های آدنوزین A2A بر آثار نوروتوکسیک MDMA (قرص اکستازی) بر هیپوکامپ موش صحرایی

فرزانه محمدزاده کازرگاه M.Sc.*، مهدی مهدی‌زاده Ph.D.**، اکرم علیزاده M.Sc.***، رضا فراهانی پاد****،
فاطمه کرمانیان M.Sc.*، سارا سلیمانی اصل Ph.D.****، مجید کاتبی Ph.D.*****، منصوره سلیمانی Ph.D.**

* گروه آناتومی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران، ایران

** مرکز تحقیقات سلولی مولکولی و گروه علوم تشریح دانشگاه علوم پزشکی تهران، ایران

*** گروه مهندسی بافت دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران، ایران

**** دانشکده پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شمال، ایران

***** گروه آناتومی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی همدان، ایران

***** گروه آناتومی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان، ایران

تاریخ دریافت: فروردین ماه ۹۰، تاریخ پذیرش: خرداد ماه ۹۰

چکیده

مقدمه: اکستازی (متیلن دی آکسی متا آمفتامین) دارویی سنتتیک از مشتقات آمفتامین‌ها می باشد که توسط بعضی افراد مورد استفاده قرار می گیرد. این ماده منجر به تغییرات شیمیایی در نورون‌های سرتونژیک و دوپامینرژیک در مغز میانی می شود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه از ۴۹ سر موش صحرایی نژاد Sprague-Dawley با وزن ۲۵۰-۲۰۰ گرم استفاده شد که در ۷ گروه و هر گروه شامل ۷ سر رت بود. گروه اول اکستازی، گروه دوم CGS (آگونیست رسپتور A2A) و گروه سوم SCH (آنتاگونیست رسپتور A2A)، گروه چهارم حامل SCH و CGS، گروه پنجم گروه حامل اکستازی، گروه ششم MDMA و CGS و گروه هفتم اکستازی و SCH را دریافت نمودند. تزریق در همه گروه‌ها به صورت درون صفاقی (ip: Intraperitoneal) روزانه و به مدت ۷ روز انجام شد. در تعدادی از رت‌ها بعد از پرفیوژن، نمونه‌های هیپوکامپ خارج شد و برای بررسی آپوپتوز با کیت تانل رنگ‌آمیزی و توسط میکروسکوپ نوری مطالعه شد. در تعداد دیگری از رت‌ها بافت هیپوکامپ را به صورت تازه خارج کرده و با استفاده از وسترن بلاتینگ بیان پروتئین‌های BCL-2 و BAX بررسی شد.

یافته‌ها: نتایج مطالعه حاضر نشان داد که مصرف MDMA همراه با CGS میزان بیان BAX را کاهش داد و مانع از بروز آپوپتوز در سلول‌های هیپوکامپ می‌شود. مصرف MDMA با SCH میزان بیان BAX و تعداد سلول‌های آپوپتوتیک در هیپوکامپ را افزایش داد.

نتیجه‌گیری: نتایج مطالعه حاضر نشان داد که CGS با MDMA عوارض ناشی از مصرف MDMA را کاهش می‌دهد.

کلیدواژه‌ها: رسپتور A2A، آپوپتوز، متیلن دی آکسی متا آمفتامین، BAX، BCL-2

مقدمه

ماده روان گردان با گستره وسیع مصرف است که استفاده از

اکستازی یا MDMA (۳-۴-متیلن دیوکسی متامفتامین) یک

آدرس مکاتبه: تهران، اتوبان همت دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده پزشکی، مرکز

تحقیقات سلولی و مولکولی، صندوق پستی: ۱۴۴۹۶-۱۴۵۲۵

Email: mansourehsoleimani@gmail.com

آن به‌ویژه در بین جوانان رو به ازدیاد بوده و بخش زیادی از مصرف کنندگان از عوارض آن آگاهی ندارند. آثار نوروتوکسیک آن بر سیستم عصبی انسان و حیوانات آزمایشگاهی به اثبات رسیده است. اکستازی موجب از بین رفتن پایانه‌های سروتونرژیک در نواحی کورتکس، هیپوکامپ و استریاتوم می‌شود [۲۱]. آثار مصرف آن در انسان به‌صورت احساس خوشی، افزایش حساسیت به نور، کاهش اضطراب، عدم درک زمان و حواس پرتی است. مطالعات گوناگون نشان داده که آمفتامین‌ها حتی پس از یک‌بار مصرف نیز موجب تغییرات شیمیایی در نورون‌های سروتونرژیک و دوپامینرژیک مغز میانی می‌شوند. MDMA از طریق مکانیسم‌های سروتونرژیک، دوپامینرژیک و نورآدرنرژیک اثر گذاشته و بیشترین تمایل را به حامل سروتونین (SERT) و رسپتور 5-HT₂ دارد [۳]. تجویز اکستازی باعث تخلیه سریع سروتونین داخل سلولی از وزیکول‌های سیناپسی و مهار جذب مجدد آن از SERT می‌شود که این امر موجب می‌شود در چند ساعت اول پس از تجویز دارو سروتونین در بافت مغز شدیداً کاهش می‌یابد [۴]. مکانیسم عمل آمفتامین‌ها هنوز ناشناخته است؛ گرچه شواهدی مبنی بر شکل‌گیری رادیکال‌های هیدروکسیل و فعال شدن مسیرهای مرگ سلولی وجود دارد. علاوه بر کاهش سروتونین به دنبال آزاد شدن سریع و حاد آن و تولید متابولیت‌های سمی، هایپرترمی نیز به‌عنوان مکانیسم احتمالی نوروتوکسیسیته MDMA در نظر گرفته می‌شود [۵].

آپوپتوز یا مرگ برنامه‌ریزی شده سلول دارای دو مسیر داخلی و خارجی است و پروتئین‌های بسیاری در این پدیده نقش دارد. در مسیر داخلی یا میتوکندریایی آزاد شدن Bax موجب رها شدن سیتوکروم C و تشکیل اجسام آپوپتوزی می‌شود. در مسیر خارجی چند پروتئین از (TNF (tumor necrosis factor و کاسپاز ۸ نقش دارد. فعال شدن کاسپازها موجب قطعه قطعه شدن DNA و مرگ سلولی می‌شود. پروتئین‌های ضد آپوپتوز موجب

بقای سلول می‌شود؛ از جمله این پروتئین‌ها می‌توان به پروتئین‌های خانواده Bcl-2 اشاره نمود [۶].

اکستازی به‌صورت وابسته به دوز موجب هایپرترمی در موش [۷]، رت [۸]، خرگوش [۹]، و خوکچه هندی [۱۰] می‌شود. هایپرترمی ایجاد شده توسط MDMA در حیوانات آزمایشگاهی یکی از محدود آثاری است که می‌توان آن را مستقیماً با انسان مقایسه کرد. مکانیسم عمل اکستازی در ایجاد هایپرترمی پیچیده و متعدد است. مطالعات انجام شده تاثیر MDMA بر فاکتورهای چون حامل و گیرنده‌های سروتونین، گیرنده‌های آدرنالین و هورمون‌های تیروئید را در ایجاد هایپرترمی دخیل می‌داند [۱].

آدنوزین درون زاد یک نورومدولاتور مهار قوی در سیستم عصبی مرکزی است و بر حالت وابستگی دارویی تاثیر دارد [۱۱]. مطالعات نشان داده که آمفتامین آثار تحریک کننده خود را از طریق سیستم دوپامین ایجاد می‌کند اما این تاثیرات می‌تواند توسط سایر سیستم‌ها نیز تحت تاثیر قرار گیرد. گیرنده‌های D₁ D₂ و دوپامین به‌صورت هتروداپمرهایی همراه با گیرنده‌های آدنوزینی A₁ و A_{2A} هستند، که تغییر دهنده میزان پاسخ دهی این رسپتورها است و این نشان می‌دهد که احتمالاً پاسخ به آمفتامین‌ها به عملکرد گیرنده‌های آدنوزینی نیز بستگی دارد [۱۲]. برای بررسی نقش گیرنده‌های آدنوزینی در سیستم عصبی از آگونیست‌ها و آنتاگونیست‌های گیرنده‌های آدنوزینی استفاده می‌شود. CGS رایج‌ترین آگونیست گیرنده آدنوزینی نوع A_{2A} است و SCH رایج‌ترین آنتاگونیست مورد استفاده در مطالعات آزمایشگاهی است. تحقیقات نشان داده که CGS فعالیت لوکوموتوری ناشی از کوکاین و آمفتامین را کاهش می‌دهد. مطالعات نشان داده که آثار قطع مصرف اوپیوئیدها به‌دنبال درمان با آگونیست‌های رسپتور آدنوزینی کاهش می‌یابد [۱۱]. گیرنده‌های آدنوزینی نوع A_{2A} مسیرهای عصبی دخیل در حساسیت ناشی از محرک‌های عصبی را تعدیل می‌کند، بنابراین بلوک دارویی

اواخر هفته دوم پس از تزریق (روز دوازدهم) پرفیوژن شده، نمونه‌های مغز برای بررسی آپوپتوز و آزمون تانل خارج شد. مغز تعدادی دیگر از حیوانات بعد از کشته شدن به صورت تازه برای بررسی پروتئین‌های دخیل در آپوپتوز خارج شده و در نیتروژن مایع گذاشته شد و در فریزر ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

آزمون تانل

ابتدا حیوانات با دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم زایلازین و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کتامین به صورت عمیق بیهوش شدند. سپس ۱۵۰-۱۰ سی سی نرمال سالین با هیپارین ۰/۱ سی سی از رأس قلب وارد شد. پس از اینکه مایع خروجی از قلب به روشنی گرایید حدود ۲۰۰-۱۵۰ سی سی تثبیت‌کننده پارافرمالیدید ۴ درصد (sigma) از همان ناحیه وارد قلب شد و بعد نمونه‌های مغز خارج شده و در همان تثبیت‌کننده به مدت ۴۸ ساعت قرار داده شد. از نمونه‌های تثبیت شده قالب پارافینی تهیه شد. سپس برش‌گیری کروئال با استفاده از دستگاه میکروتوم روتاری با ضخامت ۵-۷ میکرون روی لام‌های سیلانه انجام شد. سپس مراحل رنگ‌آمیزی تانل با استفاده از کیت تانل بر اساس پروتکل شرکت مربوط (Roch) انجام شد.

لام‌های رنگ شده به روش تانل توسط میکروسکوپ Olympus، AX70 با بزرگنمایی ۴۰ برابر عکس گرفته شد.

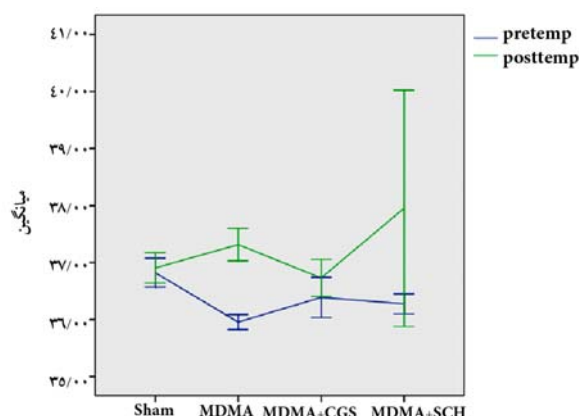
برای تهیه نمونه تازه بعد از بیهوش کردن حیوان، سرش از بدن جدا و سپس جمجمه باز شد. پس از آن نیم‌کره‌های مغز را پس از شستشو در PBS (فسفات بافر سالین) با نیتروژن مایع فریز و تا انجام آزمایش‌ها به فریز ۷۰- درجه سانتی‌گراد منتقل شد. برای استخراج پروتئین از RIPA buffer ۱۰۰۰ سی سی سی (sigma) و Cocktail protein inhibitor به میزان ۲۰۰ میکرولیتر استفاده شد. برای تعیین غلظت پروتئین از (Bio-Rad) protein assay buffer و دستگاه اسپکتروفتومتر

گیرنده‌های آدنوزینی نوع A₂ حساسیت نسبت به آمفتامین‌ها را کاهش می‌دهد [۱۳]. همچنین گزارش شده که آگونیست رسپتور A_{2A} یعنی CGS 21680 آثار متامفتامین را کاهش می‌دهد [۱۴].

مواد و روش‌ها

در مطالعه حاضر از ۷۹ سر رت نژاد Sprague-Dawley با وزن ۲۰۰-۵۰۰ گرم استفاده شد که تحت شرایط استاندارد با دوره روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعته و دمای ۲۱±۳ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. حیوانات به آب آشامیدنی و غذای کافی دسترسی داشتند. حیوانات به طور تصادفی به ۷ گروه تقسیم شدند:

- ۱- گروه شاهد یا حامل Sham به تعداد ۷ سر رت که نرمال سالین با دوز ۱ سی سی بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی روزانه به مدت ۷ روز دریافت کردند.
 - ۲- گروه ۱ MDMA را با دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت ip روزانه به مدت ۷ روز دریافت کردند.
 - ۳- گروه ۲ CGS را با دوز ۰/۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت ip روزانه به مدت ۷ روز دریافت کردند.
 - ۴- گروه ۳ SCHS را با دوز ۰/۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت ip روزانه به مدت ۷ روز دریافت کردند.
 - ۵- گروه حامل SCH و CGS را با دوز ۱ سی سی بر کیلوگرم به صورت ip روزانه به مدت ۷ روز دریافت کردند.
 - ۶- گروه ۶ MDMA و CGS را به ترتیب با دوزهای ۱۰ و ۰/۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت ip روزانه به مدت ۷ روز دریافت کردند.
 - ۷- گروه ۷ MDMA و SCH را به ترتیب با دوزهای ۱۰ و ۰/۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت ip روزانه به مدت ۷ روز دریافت کردند.
- دمای بدن رت‌ها یک ساعت قبل و یک ساعت پس از گرفتن دارو اندازه گیری و ثبت شد. تعدادی از حیوانات در



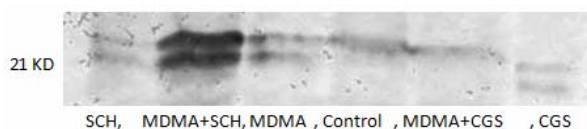
شکل ۱. تغییرات دمای بدن رت‌ها قبل و بعد از استفاده از اکستازی، آگونیست و آنتاگونیست رسپتور A2A، کاهش معنی‌دار دما به دنبال تجویز آگونیست رسپتور A2A همراه با اکستازی ($p < 0.05$)

نتایج به‌دست آمده از رنگ‌آمیزی با کیت تانل

نتایج حاصل نشان می‌دهد که در نمونه سلول‌های تانل مثبت نسبت به گروه کنترل افزایش یافته است. در گروه CGS کاهش تعداد سلول‌های آپوپتوز نسبت به گروه MDMA دیده می‌شود و در گروه SCH افزایش تعداد سلول‌های تانل مثبت نسبت به گروه MDMA قابل مشاهده است.

نتایج وسترن بلاتینگ

میزان بیان پروتئین Bcl2 در گروه CGS نسبت به گروه MDMA افزایش داشته و میزان بیان پروتئین BAX در گروه SCH نسبت به گروه MDMA افزایش داشته است. (شکل‌های ۲-۵ و ($p < 0.02$))



شکل ۲. بیان پروتئین BAX در گروه‌های دریافت کننده اکستازی، آگونیست و آنتاگونیست رسپتور A2A، کاهش بیان پروتئین BAX در گروه تجویز آگونیست رسپتور A2A همراه با اکستازی

استفاده شد. نمونه‌ها برای Load شدن با 6x Loading buffer مخلوط و به مدت ۵ دقیقه در حرارت ۹۵ درجه سانتی‌گراد جوشانده شد. در این مطالعه از ژل ۱۲ درصد و شیشه‌های ۱ میلی‌متر استفاده شد. ۵ میکرولیتر از پروتئین نشانگر در چاهک اول و در بقیه چاهک‌ها نمونه‌های مورد آزمایش ریخته شد. بعد از الکتروفورز نمونه‌ها روی غشای نیتروسلولز منتقل و بعد از آن ایمونوبلاتینگ انجام شد؛ به این ترتیب که بعد از استفاده از بافر بلاکینگ از آنتی‌بادی اولیه Bcl2 و BAX (sigma) به نسبت ۱:۱۰۰۰ استفاده شد و بعد با آنتی‌بادی ثانویه ضد آنتی‌بادی موش به نسبت ۱:۱۰۰۰۰ روی ممبرن پوشانده شد. در نهایت با اضافه کردن BCIP یک قرص در ۱۰ ml باند‌ها نمایان شد. غشای نیتروسلولز را اسکن کرده و آنالیز با نرم افزار UVILEC (Version 12.6) انجام شد. نتایج به‌دست آمده، پس از تعیین $\text{Mean} \pm \text{SEM}$ داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۱/۵ و به کمک آزمون Tukey One-Way ANOVA تجزیه و تحلیل شد.

یافته‌ها

در این بخش بررسی تغییرات دمای بدن با استفاده از دماسنج، بررسی آپوپتوز با استفاده از کیت تانل و بررسی میزان پروتئین Bcl2 و BAX در ناحیه هیپوکامپ با روش وسترن بلاتینگ نشان داده شد.

نتایج بررسی تغییرات دمای بدن حیوانات

نتایج به‌دست آمده در هفت روز تزریق و اندازه‌گیری دما قبل و یک ساعت بعد از تزریق تغییرات معنی‌داری در افزایش دمای بدن حیوانات تیمار شده با MDMA نسبت به گروه شم داشت. در گروه تیمار شده با CGS (آگونیست A2A رسپتور)، کاهش معنی‌داری در دمای بدن نسبت به گروه MDMA مشاهده شد. در گروه تیمار شده با SCH افزایش معنی‌دار دمای بدن نسبت به گروه MDMA مشاهده شد. ($p < 0.05$) (شکل ۱)

مشخصات آپوپتوزیس را دارد [۱۷-۱۹]. مرگ سلولی در نواحی وسیعی از مغز شامل نواحی کورتکس (فرونتال، پریتال و پریفورم)، *indusium griseum*، استراتوم، هسته‌های هابونالار داخلی و هیپوکامپ روی می‌دهد [۱۹].

بررسی‌های انجام شده نشان دادند که مصرف MDMA باعث واکنش‌های سلول با سلول یا سلول با ماتریکس و تغییرات طولانی مدت نورونی می‌شود [۲۰].

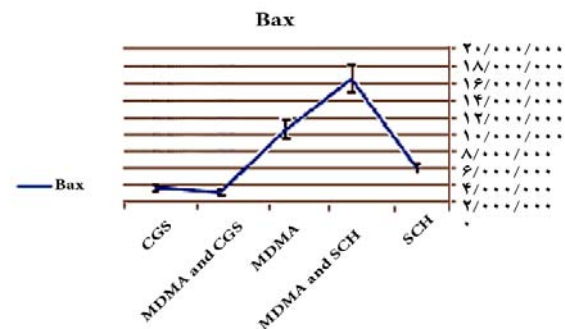
به نظر می‌رسد که اختلالات القا شده توسط آمفتامین‌ها در ارتباط با تولید رادیکال‌های آزاد و سوپراکسیدها است [۲۱]. در مدل‌های حیوانی، MDMA باعث هایپرترمی و هایپرکینزی و افزایش فعالیت لوکوموتور می‌شود [۲۲]. این آثار حاد MDMA به خاطر آزاد شدن حاد سروتونین است [۲۳]. جایانثی (Jayanthi) و همکارانش نشان دادند که مصرف متامفتامین سبب تغییر بیان ژن‌های BCL-2 در مغز رت می‌شود که خود را با افزایش بیان پروتئین BAX، BAD و BID و کاهش بیان BCL-2 و BCL-XL نشان می‌دهد [۲۴].

در مطالعات قبلی نشان داده شده که A2A رسپتورها، مسیرهای عصبی دخیل در حساسیت ناشی از محرک‌های عصبی را تعدیل می‌کند. علاوه بر این فعال‌سازی گیرنده‌های A2A منجر به رها سازی چندین نوروترانسمیتر مغزی شامل دوپامین و گلوتامین هم می‌شود که در تکامل رفتارهای ناشی از محرک‌های عصبی مؤثر هستند [۲۵]. مطالعات دارویی اخیر شواهد مستقیمی از نقش مهم گیرنده‌های A2A در پاسخ‌های تطبیقی طولانی مدت نسبت به محرک‌های دوپامینرژیک رت و میمون را نشان داده است [۲۶]. حساسیت نسبت به متامفتامین با آگونیست A2A رسپتور یعنی CGS21680 کاهش یافته است [۲۷]. تحقیقات نشان داده که CGS استریوتایپی ناشی از آمفتامین در رت را کاهش داده است [۲۸]. نقش محافظتی A2A رسپتور در کاهش ضایعات نورونی ناشی از ایسکمی به اثبات رسیده که نتایج حاصل نشان دهنده کاهش آپوپتوز پس از استفاده از آگونیست رسپتور A2A از طریق تغییر میزان بیان ژن‌های BAX و BCL-2 بوده است [۲۵].

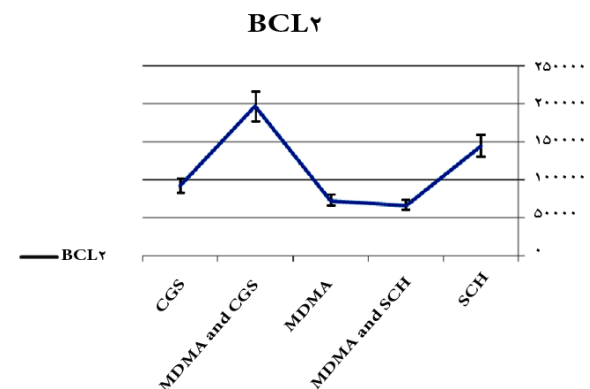
نتایج بررسی حاضر در مورد افزایش آپوپتوز در سلول‌های ناحیه CA1 هیپوکامپ در گروه‌های مصرف کننده MDMA مطابق



شکل ۳. بیان پروتئین BCL-2 در گروه‌های دریافت کننده اکستازی، آگونیست و آنتاگونیست رسپتور A2A، افزایش بیان پروتئین BCL-2 در گروه تجویز آگونیست رسپتور A2A همراه با اکستازی



شکل ۴. تغییرات بیان پروتئین BAX در گروه‌های دریافت کننده اکستازی، آگونیست و آنتاگونیست رسپتور A2A، کاهش بیان پروتئین BAX در گروه تجویز آگونیست رسپتور A2A همراه با اکستازی ($p < 0.02$)



شکل ۵. تغییرات بیان پروتئین BCL-2 در گروه‌های دریافت کننده اکستازی، آگونیست و آنتاگونیست رسپتور A2A، افزایش بیان پروتئین BCL-2 در گروه تجویز آگونیست رسپتور A2A همراه با اکستازی ($p < 0.02$)

بحث

در مطالعات انجام شده، تجویز متامفتامین‌ها ۱۵ میلی‌گرم به ازای وزن، پنج روز بعد از تجویز منجر به مرگ سلولی در ناحیه هیپوکامپ می‌شود [۱۵]. در مطالعه دیگر، مصرف این دارو با دوز ۴ میلی‌گرم و ۴ بار در روز نیز سبب مرگ سلولی شده است [۱۶]. مطالعات نشان می‌دهد که مرگ سلولی به دنبال آمفتامین

سبب ایجاد مرگ سلولی در ناحیه هیپوکامپ و افزایش بیان پروتئین BAX و کاهش بیان پروتئین BCL-2 شد که می‌تواند ناشی از اثر حفاظتی آگونیست گیرنده آدنوزینی نوع A2A و اثر حساسیت آفرینی آنتاگونیست گیرنده آدنوزینی نوع A2A باشد. استفاده از آگونیست رسپتور A2A در ترکیبات قرص‌های اکستازی باعث کاهش عوارض ناشی از مصرف این قرص خواهد شد.

تقدیر و تشکر

این مطالعه بخشی از یافته‌های طرح تحقیقاتی مصوب مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی تهران با کد ۳۴۴/م ت ۱۴۱۳۳۷ است. بدین وسیله از مدیریت محترم آن مرکز و پرسنل آن و پرسنل محترم آزمایشگاه اعصاب گروه آناتومی دانشکده پزشکی واحد همت سپاسگزاری می‌شود.

References

1. **Capela JP, Carmo H, Remiao F, Bastos ML, Meisel A, Carvalho F.** Molecular and cellular mechanisms of Ecstasy-induced neurotoxicity. *Mol Neurobiol* 2009; 39:210-71.
2. **Riezzo I, Cerretani D, Fiore C, Bello S, Centini F, D'Errico S, et al.** Enzymatic-nonenzymatic cellular antioxidant defense systems response and immunohistochemical detection of MDMA, VMAT2, HSP70, and apoptosis as biomarkers for MDMA (Ecstasy) neurotoxicity. *J Neurosci Res* 2010 Mar; 88: 905-16.
3. **Simantov R, Tauber M.** The abused drug MDMA (Ecstasy) induces programmed death of human serotonergic cells. *FASEB J* 1997; 11: 141-6.
4. **Green AR, Mehan AO, Elliott JM, O'Shea E, Colado MI.** The pharmacology and clinical pharmacology of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA, "ecstasy"). *Pharmacol Rev* 2003; 55: 463-508.
5. **Shankaran M, Yamamoto BK, Gudelsky GA.** Involvement of the serotonin transporter in the formation of hydroxyl radicals induced by 3, 4-methylenedioxymethamphetamine. *Eur J Pharmacol* 1999; 385: 103-10.
6. **Sheikh S, Huang Y.** Death receptor activation complexes. *Cell Cycle* 2003; 2: 550-552.
7. **Johnson EA, O'Callaghan JP, Miller DB.** Brain concentrations of d-MDMA are increased after stress. *Psychopharmacology* 2004; 173: 278-86.
8. **Broening HW, Bowyer JF, Slikker W Jr.** Age dependent sensitivity of rats to the long term effects of the serotonergic neurotoxicant (+/-) 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) correlates with the magnitude of the MDMA-induced thermal response. *J Pharmacol Exp Ther* 1995; 275: 325-33.
9. **Blessing WW, Seaman B.** 5-hydroxytryptamine 2a receptors regulate sympathetic nerve constricting the cutaneous vascular bed in rabbits and rats. *Neuroscience* 2003; 117: 939-48.

10. **Saadat KS, Elliott JM, Colado MI, Green AR.**Hyperthermic and neurotoxic effect of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) in guinea pigs. *Psychopharmacology* 2004; 173: 452-3.
11. **Kaplan GB, Bharmal NH , Leite-Morris KA, Adams Wr.**Role of adenosine A1 and A2A receptors in the alcohol withdrawal syndrome. *Alcohol* 1999;19: 157-62.
12. **Listos J , Talarek S , Fidecka S.**Involvement of adenosine receptor agonists on the development of hypersensitivity to acute dose of morphine during morphine withdrawal period. *Pharmacological Rep* 2008; 60: 679-85.
13. **Rosin DL, Hettinger BD , Lee A, Linden J.**Anatomy of adenosine A2A receptors in brain: morphological substrates for integration of striatal function. *Neurology* 2003; 61: s12-8.
14. **Shimazoe T, Yoshimatsu A, Kawashimo A, Watanabe S.**Roles of adenosine A(1) and A(2A) receptors in the expression and development of methamphetamine-induced sensitization. *Eur J Pharmacol* 2000; 388: 249-54.
15. **Schmued LC, Bowyer JF.**Methamphetamine exposure can produce neuronal degeneration in mouse hippocampal remnants. *Brain Res* 1997; 759: 135-40.
16. **Eisch AJ. Marshal JF.**Methamphetamine neurotoxicity: dissociation of striatal dopamine terminal damage from parietal cortical cell body injury. *Synapse* 1998; 30: 433-45.
17. **Deng X, Cadet JL.**Methamphetamine – induced apoptosis is attenuated in the striata of copper- zinc superoxide dismutase transgenic mice. *Brain Res Mol Brain Res* 2000; 83: 121-4.
18. **Deng X , Jayanthi S , Ladenheim B , Krasnova IN , Cadet JL.**Mice with partial deficiency of C-jun show attenuation of Methamphetamine - induced neuronal apoptosis. *Mol Pharmacol* 2002; 62: 993-1000.
19. **Deng X, Wang Y, Chou J, Cadet JL.**Methamphetamine causes widespread apoptosis in the mouse brain: evidence from using an improved TUNEL histochemical method. *Mol Brain Res* 2001; 93: 64-9.
20. **Thiriet N, Ladenheim B, McCoy MT, Cadet JL.**Analysis of ecstasy (MDMA)- induced transcriptional responses in the rat cortex. *FASEB J* 2002; 16: 1887-94.
21. **Schmued LC, Bowyer JF.**Methamphetamine exposure can produce neuronal degeneration in mouse hippocampal remnants. *Brain Res* 1997; 759 135-40.
22. **Dafters RI.**Effect of ambient temperature on hyperthermia and hyperkinesia induced by 3,4-Methylenedioxy Methamphetamine (MDMA or "ecstasy") in rats. *Psychopharmacology* 1994; 114: 505-08
23. **Liechti ME, Baumann C, Gamma A, Vollenweider FX.**Acute psychological effects of 3,4- Methylenedioxy Methamphetamine (MDMA or "ecstasy") are attenuated by the serotonin uptake inhibitor citalopram. *Neuropsychopharmacology* 2000; 22: 513-21.
24. **Jayanthi S, Deng X, Bordelon M, McCoy MT, Cadet JL.**Methamphetamine causes differential regulation of pro- death BCL-2 genes in the mouse neocortex. *FASEB J* 2001; 15: 1745-52.
25. **Rosin DL, Hettinger BD, Lee A, Linden J.**Anatomy of adenosine A2A receptors in brain; morphological substrates for integration of striatal function. *Neurology* 2003; 61: s12-8.
26. **Bibbiani F, Oh JD, Petzer JP, Castagnoli N Jr, Chen JF, Schwarzschild MA, et al.**A2A antagonist prevents dopamine agonist-induced motor complications in animal models of Parkinson's disease. *Exp Neural* 2003; 184: 285-94.
27. **Shimazoe T, Yoshimatsu A, Kawashimo A, Watanabe S.**Roles of adenosine A(1) and A(2A) receptors in the expression and development of methamphetamine-induced sensitization. *Eur J Pharmacol* 2000 ; 388: 249-54.
28. **Poleszak E, Malec D.**Influence of adenosine receptor agonists and antagonists on amphetamine-induced stereotypy in rats. *Pol J Pharmacol* 2000;52:423-9.