ارزیابی رفتار شبه‌اضطرابی در موش‌های وابسته به مورفین در معرض استرس حاد و مزمن

هادی صفری[۱]
حسین میلادی گرجی[۲*]

۱- کارشناس ارشد روانشناسی بالینی، دانشکده روانشناسی و علوم تربیتی مهدیشهر، دانشگاه سمنان، سمنان، ایران.
۲- دانشگاه علوم پزشکی سمنان، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، سمنان، ایران.

*نویسنده مسئول: سمنان، دانشگاه علوم پزشکی، دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی
تلفن: ۳۳۵۴۱۷۰-۰۲۳۱
E-mail: miladi331@yahoo.com

چکیده

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۱/۰۷/۱۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۰۸/۲۱

زمینه و هدف: مطالعات قبلی نشان داده است که وابستگی به مورفین و نیز قطع آن موجب افزایش رفتارهای شبه‌اضطراب در موقعیت‌های جدید استرس‌زا می‌شود. مواجه با برخی محرک‌های استرس‌زا موجب ایجاد گستره‌ای از پاسخ‌های سازگارانه و افزایش توانایی مقابله با وضعیت‌های استرس‌آور می‌شود. هدف از این مطالعه بررسی اثر استرس مزمن بی‌حرکتی و استرس حاد غرقه‌سازی در آب بر رفتار شبه‌اضطرابی موش‌های وابسته به مورفین است.

روش بررسی: تعداد ۳۲ سر موش در یک دوره ۱۰ روزه مورفین (۱۰mg/kg، روزی دو بار) زیر جلدی در حضور یا غیاب استرس مزمن بی‌حرکتی یک ساعت در روز دریافت کردند. رفتارهای شبه‌اضطرابی در روز ۱۱ با قرار دادن حیوان در ماز به‌علاوه‌ای شکل مرتفع در حضور یا غیاب استرس حاد غرقه‌سازی در آب بررسی شد. موش‌ها به‌طور تصادفی به چهار گروه تقسیم شدند: وابسته+ بدون استرس بی‌حرکتی (کنترل)، وابسته+ استرس بی‌حرکتی، وابسته+ استرس بی‌حرکتی، استرس غرقه‌سازی در آب، وابسته+ استرس غرقه‌سازی در آب.

یافته‌ها: گروه استرس بی‌حرکتی همراه با غرقه‌سازی در آب در مقایسه با گروه کنترل تعداد ورود و مدت زمان بیش‌تری در بازوهای باز از خود نشان دادند (به‌ترتیب P=۰/۰۳۷، P=۰/۰۱۸). هم‌چنین این میزان به‌طور معنی‌داری در گروه استرس غرقه‌سازی در آب به‌تنهایی نسبت به گروه استرس بی‌حرکتی همراه با غرقه‌سازی در آب کم‌تر بود (به‌ترتیب P=۰/۰۳۱، P=۰/۰۴۹).

نتیجه‌گیری: یافته‌های ما نشان می‌دهد استرس بی‌حرکتی همراه با غرقه‌سازی در آب موجب کاهش رفتارهای شبه-اضطرابی در موش‌های وابسته به‌مورفین گردید لذا ممکن است کاربرد درمانی در اختلالات همراه با اعتیاد داشته باشد.

کلمات کلیدی: اضطراب، وابستگی به مورفین، استرس مزمن بی‌حرکتی، استرس غرقه‌سازی در آب، ماز صلیبی مرتفع.

مقدمه

اعتیاد (Addiction) از دست دادن کنترل فرد در مصرف دارو و یا جستجو و مصرف اجباری دارو علی‌رغم آثار زیان‌بار آن است که با خطر طولانی‌مدت و عود پایدار مشخص می‌گردد.[۱و۲] مواد مخدر می‌توانند مکانیسم‌های شکل‌پذیری سیناپسی را در مدارهای کلیدی مغز از جمله سیستم دوپامینی مزولیمبیک به تصاحب خود درآورند و از این طریق جنبه‌های ویژه اعتیاد از جمله اشتیاق به دارو، سیستم یادگیری، حساسیت رفتاری، حالات مختلف هیجان و پاسخ استرسی را تحت تاثیر قرار دهد. لذا جلوگیری از پیش‌رفت این تعدیلات سیناپسی ممکن است، در درمان این معضل بزرگ جامعه بشری مفید باشد.[۳] تجویز حاد و مزمن مورفین اثرات مختلفی بر فرایند اضطراب دارد. بخشی از اثر تسکین‌دهندگی مواد اپیوییدی از طریق کاهش قابل پیش‌بینانه اضطراب می‌باشد.[۴] مطالعات قبلی نشان داده است که

وابستگی به مورفین و هم‌چنین قطع آن در موش‌های وابسته موجب افزایش رفتارهای شبه‌اضطرابی در ماز مرتفع به‌علاوه‌ای شکل می‌شود.[۵]

اضطراب نیز یک عامل قوی در برانگیخته شدن عود در انسان و بسیاری از مدل‌های حیوانات آزمایشگاهی اعتیاد می‌باشد.[۳] جلوگیری از استرس و اضطراب می‌تواند چه در هنگام ترک و چه بعد از آن در درمان اعتیاد بسیار مفید و سودمند باشد.[۶و۷] در حالی‌که در مطالعه‌ای نشان داده شد در معرض‌گذاری محرک‌های استرس‌زا با ایجاد تنوع وسیع از پاسخ‌های سازگارانه، تولید اثرات سلولی، ایمنی، اندوکرینی و رفتاری می‌نماید. پاسخ به استرس با بازیابی هومئوستاز باعث افزایش توانایی مقابله با وضعیت‌های استرس‌آور می‌شود.[۸] این استرس‌ها در واقع با ایجاد تغییراتی در سیستم‌های سروتونرژیک، نور آدرنرژیک، محور هیپوتالاموس- هیپوفیز- آدرنال (HPA)، ترشح اپیوییدهای درون‌زاد و القای بازتاب‌های بی‌دردی موجب ایجاد این پاسخ‌های سازگارانه می‌شوند.[۹] استرس‌های روانی (Psychologic) بر ساختار لیمبیک اثر می‌گذارد و پاسخ‌های هیجانی را فرا می‌خواند؛ نظیر شوک الکتریکی پا (Electric foot shock)، تحریک صوتی (Acoustic stimulation)، بی‌حرکتی (Restraint)، انزوای اجتماعی (Social defeat) و مواجه با محیط جدید (Novel environment).[۱۰و۱۱]

مطالعات قبلی نشان دادند که مواجهه با برخی استرس‌های حاد از جمله شوک الکتریکی[۱۲] و بی‌حرکتی[۱۳] موجب ایجاد بی‌دردی می‌شود. تفاوت در ماهیت استرس (روانی یا فیزیکی) و آزاد شدن اپیوییدهای درون‌زاد را می‌توان دلیل تفاوت اثر انواع استرس دانست.[۱۲] مطالعات دیگر نیز نشان داد استرس بی‌حرکتی حاد فعالیت حرکتی ناشی از مورفین را افزایش داده و اثر مهاری بر عملکرد مورفین در لوله گوارش و رفتار پرش دارد و این اثرات از طریق آزاد شدن کورتیکواستروییدها تعدیل می‌شود.[۱۴] هم‌چنین نشان داده شد استرس بی‌حرکتی مکرر (به‌مدت پنج روز و روزانه یک ساعت) با آزادسازی اپیوییدهای درون‌زاد بی‌دردی ناشی از مورفین را افزایش می‌دهد.[۱۵و۱۶] مطالعه دیگری نشان داد، استرس ناشی از شنا و تزریق گلوکوکورتیکوئید به‌طور قابل توجهی علایم ترک ناشی از مورفین را کاهش می‌دهد.[۱۴] هم‌چنین نشان داده شد استرس شنا (در آب ۲۰ °C به‌مدت نیم الی سه دقیقه) ۳-۲ بار در روز برای سه روز متوالی هم‌زمان با تزریق مورفین ۲۵mg/kg موجب کاهش اثر ضد دردی مورفین می‌گردد.[۱۷] در بررسی رفتارهای شبه‌اضطرابی مشخص شد یک ساعت استرس بی‌حرکتی میزان اضطراب تجربه شده در ماز مرتفع را افزایش می‌دهد و این به‌علت تغییراتی است که در آمیگدال صورت می‌گیرد.[۱۸]

در مطالعه دیگر آمده است، با در معرض‌گذاری محرک‌های استرسی مکرر، تغییرات رفتاری سازشی هم‌چون عادت یا حساسیت ممکن است رخ دهد که به‌ترتیب منجر به کاهش یا افزایش رفتارهای شبه‌اضطرابی در ماز مرتفع می‌شود.[۱۸] چون مسیر مشترک عصبی به‌وسیله داروهای سوءمصرف و استرس فعال می‌شود، به‌نظر می‌رسد پاسخ‌های ناشی از استرس بی‌حرکتی ممکن است اثرات رفتاری ناشی از اپیوییدها را تغییر دهد.[۱۹] با توجه به اثرات متناقض استرس بی‌حرکتی و شنا بر مورفین و نیز نقش اضطراب در پدیده عود، لذا در این مطالعه نقش استرس مزمن بی‌حرکتی و استرس حاد غرقه‌سازی در آب بر سطح رفتارهای شبه‌اضطرابی در موش‌های وابسته به مورفین بررسی شد.

روش بررسی

نگه‌داری حیوانات: این مطالعه تجربی روی ۳۲ سر موش سفید بزرگ آزمایشگاهی از نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۰۰-۱۸۰ گرم خریداری شده از موسسه سرم‌سازی رازی در سال ۱۳۹۰ در آزمایشگاه تجربی دانشکده روان‌شناسی مهدیشهر دانشگاه سمنان انجام شد. حیوانات در یک اتاق با درجه حرارت ثابت (۲±۲۴) و با شرایط مناسب از نظر نور (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) نگه‌داری شدند و آب و غذای کافی در اختیار آن‌ها قرار می‌گرفت.

شیوه القای وابستگی به مورفین: در این پژوهش جهت القای وابستگی به مورفین تزریق زیر جلدی مورفین (۱۰mg/kg) دو بار در روز با فاصله ۱۲ ساعته به‌مدت ۱۰ روز انجام گردید.[۲و۵] پودر مورفین سولفات قابل حل در سرم فیزیولوژی از شرکت تماد، کشور ایران (Temad Company, Iran) تهیه شد.

القای استرس بی‌حرکتی: به‌منظور القای استرس بی‌حرکتی از یک محدودکننده از جنس پلکسی‌گلاس به‌نام محدودکننده (Restrainer) استفاده شد. حیوانات هم‌زمان با القای وابستگی ۱۰ روزه (دو ساعت بعد از تزریق مورفین روزانه در صبح) روزی یک ساعت تحت

استرس بی‌حرکتی قرار گرفتند.[۱۴]

القای استرس حاد غرقه‌سازی در آب (Acute water immersion stress): موش‌ها به‌مدت ده ثانیه در یک ظرف استوانه‌ای شکل به ارتفاع یک متر و عرض ۳۰ سانتی‌متر با دمای بین ۲۶-۲۳ °C در زیر آب نگه داشته شدند.[۲۰] پس از آن با حوله خشک شده و مورد ارزیابی قرار گرفتند.

روش ارزیابی اضطراب: برای ارزیابی میزان اضطراب از دستگاهی به‌نام ماز به‌علاوه‌ای شکل مرتفع (EPM, Elevated Plus Maze)، که مدل استاندارد برای ارزیابی سطح اضطراب در جوندگان است، استفاده شد. این دستگاه از چوب ساخته شده و شامل دو بازوی باز (هر یک ۱۰×۵۰ سانتی‌متر همراه با یک لبه پنج میلی‌متری) و دو بازوی بسته (هر یک ۴۰×۱۰×۵۰ سانتی‌متر) و یک کفه مرکزی (۱۰×۱۰ سانتی‌متر) می‌باشد، به‌طوری که بازوهای باز روبه‌روی هم و بازوهای بسته هم روبه‌روی یک‌دیگر قرار دارند و حدود ۷۰ سانتی‌متر از کف اطاق بالاتر قرار می‌گیرد. این مدل تجربی سنجش اضطراب غیرشرطی بوده و نیازی به آموزش و یادگیری حیوان ندارد.

هر موش پنج دقیقه قبل از تست به‌طور جداگانه، در جعبه‌ای به ابعاد ۱۰×۴۰×۳۰ سانتی‌متر قرار گرفتند تا فعالیت جستجوگرانه (Explorative activity) حیوان افزایش یابد. آن‌گاه به مدت پنج دقیقه در ماز (قسمت کفه و رو به بازوی باز) قرار داده شده و شاخص‌های استاندارد ارزیابی اضطراب از طریق مشاهده آن‌ها بررسی و فعالیت‌های جستجوگرانه ثبت شد که شامل:

۱- زمانی که هر حیوان در بازوهای بسته و یا باز سپری کرده و تبدیل به درصد زمان سپری شده گردید. ۲- تعداد ورود به بازوهای باز و بسته. ۳- مجموع ورود به بازوها که به‌عنوان شاخصی از فعالیت عمومی حیوان در نظر گرفته شد.

افزایش ورود به بازوهای باز و افزایش مدت زمان سپری شده در بازوی باز شاخص کاهش اضطراب در موش تلقی شد. هم‌چنین قضاوت در مورد اختلاف معنی‌دار سطح اضطراب بدین‌صورت در نظر گرفته شد که اگر هم‌زمان هر دو شاخص (ورود به بازوی باز و مدت سپری‌شده در آن‌ها) در یک راستا کاهش و یا افزایش یابد و حداقل یکی از آن‌ها تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل داشته باشد، به‌عنوان تغییر معنی‌دار سطح اضطراب تلقی شد پس از اتمام زمان مورد نظر ماز تمیز شد و برای حیوان بعدی آماده شد.[۲۱و۵]

گروه‌های آزمایشی و زمان‌بندی: ۱- کنترل: این گروه به‌مدت ۱۰ روز و روزانه دو نوبت صبح و عصر تحت تزریق زیر جلدی مورفین قرار گرفتند، سپس در روز یازدهم دو ساعت بعد از تزریق مورفین، مورد ارزیابی سطح اضطراب قرار گرفتند.

۲- استرس بی‌حرکتی: در این گروه تزریق مورفین در دو نوبت صبح و عصر به‌مدت ۱۰روز انجام شد و دو ساعت پس از تزریق مورفین در نوبت صبح موش‌ها به‌مدت یک ساعت تحت استرس بی‌حرکتی قرار گرفتند. در روز یازدهم یک ساعت بعد از تزریق مورفین صبح، حیوانات تحت استرس بی‌حرکتی یک ساعته قرار گرفته و مورد ارزیابی سطح اضطراب قرار گرفتند.

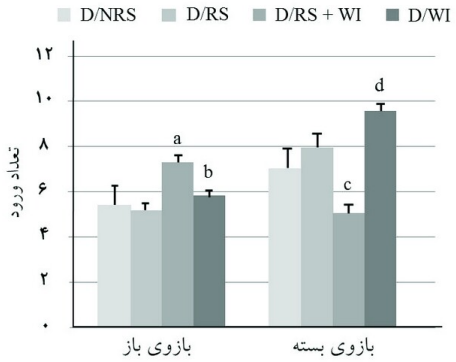
۳- گروه استرس بی‌حرکتی+ استرس حاد غرقه‌سازی در آب: در این گروه تزریق مورفین در دو نوبت صبح و عصر به‌مدت ۱۰ روز انجام شد و دو ساعت پس از تزریق مورفین در نوبت صبح، موش‌ها به‌مدت یک ساعت تحت استرس بی‌حرکتی قرار گرفتند. در روز یازدهم، یک ساعت بعد از تزریق مورفین صبح، حیوانات تحت استرس بی‌حرکتی یک ساعته قرار گرفتند، سپس به‌دنبال آن ۱۰ ثانیه در زیر آب نگه داشته شدند (القای استرس حاد غرقه‌سازی در آب) و سپس با حوله خشک گردیدند و مورد ارزیابی سطح اضطراب قرار گرفتند.

۴- گروه استرس حاد غرقه‌سازی در آب: در گروه چهارم مانند دیگر گروه‌ها تزریق زیرجلدی مورفین در دو نوبت صبح و عصر به‌مدت ۱۰ روز انجام شد، سپس در صبح روز یازدهم دو ساعت پس از تزریق مورفین القای استرس حاد غرقه‌سازی در آب به‌صورت نگه داشتن به‌مدت ۱۰ ثانیه زیر آب انجام شد و سپس موش‌ها با حوله خشک گردیدند و مورد ارزیابی سطح اضطراب قرار گرفتند.

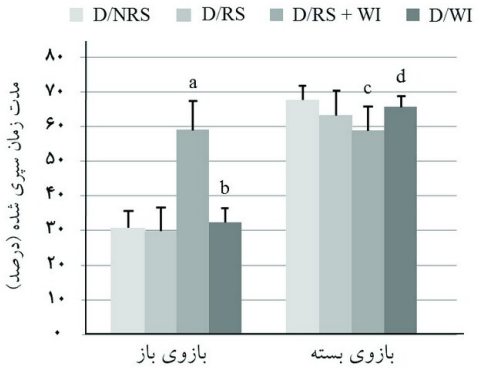
روش‌های تجزیه و تحلیل داده‌ها: با نرم‌افزار SPSS ویراست ۱۶ و روش آماری ANOVA یک‌طرفه و از آزمون Tukey برای مقایسه دو به دو گروه‌ها برای تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده شد. داده‌ها به‌صورت میانگین± میانگین خطای معیار برای هر گروه ارایه شده و سطح معنی‌دار P<۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

نمودار ۱ نشان می‌دهد تعداد ورود به بازوی باز و بسته در گروه



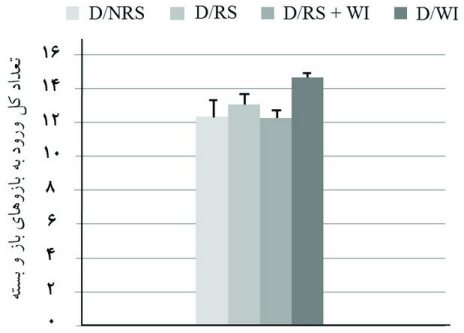
نمودار ۱: اثر استرس بی‌حرکتی و استرس حاد غرقه‌سازی در آب بر تعداد ورود به بازوی باز و بسته در موش‌های وابسته به مورفین در EPM D/NRS: گروه وابسته به مورفین بدون استرس بی‌حرکتی، D/RS: گروه وابسته به مورفین تحت استرس بی‌حرکتی، D/RS+WI: گروه وابسته به مورفین تحت استرس بی‌حرکتی با استرس حاد غرقه‌سازی در آب، D/WI: گروه وابسته به مورفین تحت استرس حاد غرقه‌سازی در آب. a: مقایسه بین گروه استرس بی‌حرکتی (D/RS)+ غرقه‌سازی در آب و کنترل (D/NRS) (P=۰/۰۱۸). b: مقایسه بین گروه استرس حاد غرقه‌سازی در آب (D/WI) و گروه استرس بی‌حرکتی+ غرقه‌سازی در آب (D/RS+WI) (P=۰/۰۳۷). c: مقایسه دو گروه استرس بی‌حرکتی+ غرقه‌سازی در آب (D/RS+WI) و کنترل (D/NRS) (P=۰/۰۳۱). d: مقایسه بین گروه استرس حاد غرقه‌سازی در آب (D/WI) و گروه استرس بی‌حرکتی+ غرقه‌سازی در آب (D/RS+WI) (P=۰/۰۴۱).



نمودار ۲: اثر استرس بی‌حرکتی و استرس حاد غرقه‌سازی در آب بر مدت زمان ماندن در بازوی باز و بسته در موش‌های وابسته به مورفین در EPM

D/NRS: گروه وابسته به مورفین بدون استرس بی‌حرکتی، D/RS: گروه وابسته به مورفین تحت استرس بی‌حرکتی، D/RS+WI: گروه وابسته به مورفین تحت استرس بی‌حرکتی همراه با استرس حاد غرقه‌سازی در آب، D/WI: گروه وابسته به مورفین تحت استرس حاد غرقه‌سازی در آب.

a: مقایسه بین گروه استرس بی‌حرکتی (D/RS)+ استرس حاد غرقه‌سازی در آب و کنترل (D/NRS) (P=۰/۰۲۸). b: مقایسه بین گروه استرس حاد غرقه‌سازی در آب (D/WI) و گروه استرس بی‌حرکتی+ استرس حاد غرقه‌سازی در آب (D/RS+WI) (P=۰/۰۲۱). c: مقایسه بین گروه استرس بی‌حرکتی+ استرس حاد غرقه‌سازی در آب (D/RS+WI) و کنترل (D/NRS) (P=۰/۰۴۹). d: مقایسه بین گروه استرس حاد غرقه‌سازی در آب (D/WI) و گروه استرس بی‌حرکتی+ استرس حاد غرقه‌سازی در آب (D/RS+WI) (P=۰/۰۳۱).



نمودار ۳: اثر استرس بی‌حرکتی و همراه با استرس حاد غرقه‌سازی در آب بر تعداد کل ورود به بازوی باز و بسته در موش‌های وابسته به مورفین در EPM

D/NRS: گروه وابسته به مورفین بدون استرس بی‌حرکتی، D/RS: گروه وابسته به مورفین تحت استرس بی‌حرکتی، D/RS+WI: گروه وابسته به مورفین تحت استرس بی‌حرکتی همراه با استرس حاد غرقه‌سازی در آب، D/WI: گروه وابسته به مورفین تحت استرس حاد غرقه‌سازی در آب.

وابسته به مورفین که تحت استرس بی‌حرکتی همراه استرس حاد غرقه‌سازی در آب قرار گرفتند به‌ترتیب بیش‌تر و کم‌تر از گروه کنترل (به‌ترتیب P=۰/۰۳۱، P=۰/۰۳۱) و نیز گروه استرس بی‌حرکتی (به‌ترتیب P=۰/۰۴۱، P=۰/۰۳۷) بود. در حالی‌که استرس بی‌حرکتی به‌تنهایی در مقایسه با گروه کنترل تاثیری بر تعداد ورود به دو بازو نداشت. گروه وابسته به مورفین در معرض استرس حاد غرقه‌سازی در آب، تعداد ورود بیش‌تری را در بازوی بسته نسبت به استرس بی‌حرکتی همراه با استرس حاد غرقه‌سازی در آب داشتند (P=۰/۰۰۰). استرس بی‌حرکتی به‌تنهایی در مقایسه با گروه کنترل تاثیری بر تعداد ورود به دو بازو نداشت.

نمودار ۲ نشان می‌دهد درصد مدت زمان ماندن در بازوی باز و بسته در گروه وابسته به مورفین که تحت استرس بی‌حرکتی همراه با استرس حاد غرقه‌سازی در آب قرار گرفتند به‌ترتیب بیش‌تر و کم‌تر از گروه کنترل (به‌ترتیب، P=۰/۰۴۹ و P=۰/۰۲۸) و نیز گروه استرس بی‌حرکتی (به‌ترتیب، P=۰/۰۳۱ و P=۰/۰۲۱) بود، در حالی‌که استرس بی‌حرکتی به‌تنهایی در مقایسه با گروه کنترل تاثیری بر مدت زمان ماندن در دو بازو نداشت. گروه وابسته به مورفین در معرض استرس حاد غرقه‌سازی در آب، درصد مدت زمان ماندن در بازوی بسته بیش‌تری را نسبت به استرس بی‌حرکتی همراه با همراه با استرس حاد غرقه‌سازی در آب داشتند (P=۰/۰۵). استرس بی‌حرکتی به‌تنهایی در

مقایسه با گروه کنترل تاثیری بر مدت زمان ماندن در دو بازو نداشت. نمودار ۳، نشان می‌دهد تعداد کل ورود در بازوهای باز و بسته در ماز به‌علاوه‌ای شکل مرتفع در بین گروه‌ها اختلاف معنی‌داری نداشتند. تفاوت معنی‌داری در بین گروه‌ها در تعداد کل ورودی‌های باز و بسته ماز مرتفع مشاهده نشد ($F_{۳,۲۸}$=۲/۹ ،P=۰/۰۶۳).

بحث

مهم‌ترین یافته‌های مطالعه حاضر عبارتند از: استرس بی‌حرکتی در طول دوره وابستگی به مورفین تاثیری بر رفتارهای شبه‌اضطرابی نداشت. در تایید یافته حاضر نشان داده شد استرس مکرر روزانه (۱۰-۹ روز و روزی یک ساعت) نه منجر به پاسخ‌های شبه‌اضطرابی می‌شود و نه پاسخ‌های گلوکوکورتیکوییید را نشان می‌دهد.[۱۸] در مطالعات مشخص شد که در واقع نوعی پیش‌تنظیمی در نوروپپتید Y (NPY) در آمیگدال می‌تواند این سازگاری را ایجاد کند و این می‌تواند به‌عنوان فرایندی انطباقی جهت مواجه شدن با استرس مکرر تلقی شود. هم‌چنین استرس مکرر ۱۰ روزه موجب افزایش ۲۰٪ میزان نوروپپتید Y در آمیگدال و نه در کورتکس و هیپوتالاموس می‌شود. بیان نوروپپتید Y در آمیگدال عملکرد ضد اضطرابی داشته، لذا تضعیف شدن بیان این نوروپپتید ممکن است بخشی از اثر اضطراب‌زایی به‌دنبال استرس بی‌حرکتی یک ساعته حاد باشد.[۱۸] هم‌چنین نشان داده شد استرس بی‌حرکتی مکرر اثرات استرس حاد بی‌حرکتی را در آزادسازی mRNA پروتیین متصل شونده به هورمون رها کننده کورتیکوتروپین (CRH-BP mRNA) خنثی می‌کند. سطوح CRH-BP mRNA همبستگی معکوسی با میزان هورمون رها کننده کورتیکوتروپین (CRH) دارد و از افزایش آن و به تبع آن از افزایش هورمون محرک قشر آدرنال (ACTH) در هیپوفیز قدامی جلوگیری می‌کند.[۲۲]

در حالی‌که برخی تحقیقات نشان می‌دهد که استرس و فعال شدن محور هیپوتالاموسی- هیپوفیزی- آدرنال (HPA) و ACTH از افزایش تحمل به اثرات ضد دردی مورفین جلوگیری می‌کند.[۲۳] مطالعات قبلی بر این امر دلالت دارند که در معرض‌گذاری با استرس مکرر در رت‌ها می‌تواند منجر به ایجاد تغییراتی در نحوه‌ی پاسخ‌دهی به مونوآمین‌ها از جمله در جایگاه‌های پیش سیناپسی دوپامین و آلفا دو آدرنرژیک می‌شود که در استرس حاد دیده نمی‌شود.[۹] بنابراین استرس مکرر و یک ساعت در روز به‌مدت ۱۰ روز در موش‌های وابسته مورفین احتمالا نمی‌تواند موجب افزایش زیاد فعال شدن محور HPA، ACTH، NPY و در نتیجه عمل ضد اضطرابی گردد.

استرس حاد غرقه‌سازی در آب بلافاصله بعد از استرس بی‌حرکتی در موش‌های وابسته به مورفین با افزایش تعداد ورود و مدت زمان ماندن در بازوی باز موجب کاهش رفتارهای شبه‌اضطرابی گردید.

در تایید یافته حاضر در مطالعه‌ای نشان داده شد که در معرض‌گذاری انواع مختلف محرک‌های استرس روانی یا فیزیکی و استرس‌های غیر قابل کنترل (هم‌چون استرس شنا) به‌صورت حاد موجب افزایش غلظت خارج سلولی سروتونین در نواحی متعدد مغز از جمله هیپوکامپ[۲۴] و هسته رافه می‌شود.[۲۵] در حالی‌که استرس‌های طولانی‌مدت جریان سروتونین را در برخی ساختمان‌های مغزی که به‌دنبال استرس فعال می‌شوند از جمله آمیگدال و سپتوم جانبی کاهش می‌دهد.[۲۶] سروتونین نیز در کاهش اضطراب و علاقه به مورفین نقش دارد.[۷]

در مطالعه حاضر مشاهده شد که استرس بی‌حرکتی مزمن تاثیری بر رفتارهای شبه‌اضطرابی نداشت ولی استرس حاد غرقه‌سازی در آب بلافاصله بعد از استرس بی‌حرکتی در روز یازدهم در موش‌های وابسته به مورفین که به‌مدت ده روز مکرر تحت استرس بی‌حرکتی بودند موجب کاهش رفتار شبه‌اضطرابی گردید. در بررسی اثر استرس شنا و تزریق گلوکوکورتیکوییید در کاهش علایم ترک مشخص شده است که استرس ناشی از شنا و تزریق گلوکوکورتیکوییید به‌طور قابل توجهی علایم ترک را کاهش می‌دهد.[۱۴] برخی تحقیقات نشان می‌دهد که استرس و فعال شدن محور HPA و افزایش ACTH از افزایش تحمل به اثرات ضد دردی مورفین جلوگیری می‌کند ولی نه در موش‌هایی که غده آدرنال آن‌ها برداشته شده است شده‌اند.[۲۳]

استرس شنای اجباری در مطالعه‌ای نشان داد که موجب افزایش میزان ACTH پلاسما می‌شود، در حالی‌که تاثیری بر mRNA- CRF در هیپوتالاموس نداشت.[۲۷] بنابراین احتمالا استرس حاد غرقه‌سازی در آب به‌دنبال استرس بی‌حرکتی موجب فعال شدن بیش‌تر محور HPA و افزایش اپی‌نفرین و در نتیجه کاهش نشانه‌های رفتاری اضطراب می‌شود. در این راستا نشان داده شد که در واقع نوعی پیش‌تنظیمی در

محور HPA و نوروپپتید Y در آمیگدال می‌تواند این سازگاری را ایجاد کند و این می‌تواند به‌عنوان فرآیندی انطباقی جهت مواجهه با استرس مکرر تلقی شود. نوروپپتید برون‌زاد Y در مدل‌های حیوانی اضطراب تجربه شده را کاهش می‌دهد.[۱۸] در مطالعه دیگر نشان داده شد برخی استرس‌های حاد از جمله استرس شوک الکتریکی[۱۲] و استرس شنای اجباری[۱۷] از طریق آزاد شدن اپیوییدهای درون‌زاد موجب ایجاد بی‌دردی می‌شوند.

لذا استرس حاد غرقه‌سازی در آب احتمالا در تعامل با استرس بی‌حرکتی مزمن و وابستگی به مورفین تغییراتی را در پیش‌تنظیمی mRNA NPY داشته و موجب افزایش زیاد نوروپپتید Y، میزان ACTH، سروتونین و اپیوییدهای درون‌زاد در موش‌های وابسته به مورفین می‌شود و در نتیجه موجب کاهش رفتارهای شبه‌اضطرابی می‌شود. در این مطالعه هم‌چنین نشان داده شد که استرس حاد غرقه‌سازی در آب به‌تنهایی موجب افزایش رفتارهای شبه‌اضطرابی در موش‌های وابسته به مورفین می‌شود. بنابراین استرس حاد غرقه‌سازی در آب در موش‌های وابسته مورفین احتمالا با افزایش CRH بیش از حد و در نتیجه کورتیکواسترون و نیز با اختلال در عملکرد سیستم سروتونرژیک و اپیوییدهای درون‌زاد موجب افزایش رفتارهای شبه‌اضطرابی می‌شود. استرس بی‌حرکتی و استرس حاد غرقه‌سازی در آب در طول دوره وابستگی به مورفین اختلالی بر فعالیت حرکتی حیوان ایجاد نکردند، در تایید یافته حاضر مشخص گردید که استرس بی‌حرکتی حاد[۲۸و۱۵] و مزمن[۲۸و۱۴] موجب تقویت فعالیت‌های حرکتی ناشی از مورفین می‌شود. استرس حاد شنای اجباری تاثیری بر رفتارهای حرکتی در تست میدان باز نداشت.[۲۷] شواهدی در مورد درگیر بودن نوراپی نفرین در فعالیت‌های حرکتی موش‌های وابسته به مورفین وجود دارد.[۲۹] چنان‌که فعالیت‌های حرکتی ناشی از مورفین، با تزریق فنوکسی‌بنزامین (یک آنتاگونیست غیراختصاصی آدرنرژیک) تضعیف می‌شود.[۳۰] بنابراین با در معرض‌گذاری استرس بی‌حرکتی مکرر در موش‌های وابسته به مورفین، تغییرات رفتاری سازشی ممکن است رخ دهد که تاثیری بر فعالیت حرکتی حیوان ندارد. این یافته نشان می‌دهد که عدم تاثیر استرس بی‌حرکتی بر سطح اضطراب و یا عمل اضطراب‌زایی استرس حاد غرقه‌سازی در آب به‌تنهایی و یا عمل ضد اضطرابی آن همراه با استرس بی‌حرکتی در موش‌های وابسته به مورفین نمی‌تواند ناشی از فعالیت حرکتی حیوان باشد.

جلوگیری از رفتارهای شبه‌اضطرابی ناشی از مورفین ممکن است در درمان عود بعد از ترک مفید باشد. لذا یافته‌های ما نشان می‌دهد استرس حاد غرقه‌سازی در آب به‌دنبال استرس مزمن بی‌حرکتی با کاهش رفتارهای شبه‌اضطرابی ممکن است کاربرد درمانی در اختلالات همراه با اعتیاد داشته باشد.

سپاسگزاری: این مقاله حاصل بخشی از پایان‌نامه دانشجوی کارشناسی ارشد روان‌شناسی بالینی آقای هادی صفری می‌باشد. در اینجا لازم می‌داند از آقای دکتر شاهرخ مکوند حسینی ریاست محترم دانشکده روان‌شناسی و علوم تربیتی سمنان و آقای فیروزجایی سپاسگزاری به‌عمل آید.

References

1. Nestler EJ. Molecular basis of long-term plasticity underlying addiction. *Nat Rev Neurosci* 2001;2(2):119-28.
2. Pu L, Bao GB, Xu NJ, Ma L, Pei G. Hippocampal long-term potentiation is reduced by chronic opiate treatment and can be restored by re-exposure to opiates. *J Neurosci* 2002;22(5):1914-21.
3. Kauer JA, Malenka RC. Synaptic plasticity and addiction. *Nat Rev Neurosci* 2007;8(11):844-58.
4. Bartoletti M, Gaiardi M, Gubellini C, Bacchi A, Babbini M. Morphine attenuation of a conditioned emotional response in post-dependent rats. *Eur J Pharmacol* 1990;185(2-3):163-7.
5. Miladi-Gorji H, Rashidy-Pour A, Fathollahi Y. Anxiety profile in morphine-dependent and withdrawn rats: effect of voluntary exercise. *Physiol Behav* 2012;105(2):195-202.
6. Deroche V, Piazza PV, Casolini P, Maccari S, Le Moal M, Simon H. Stress-induced sensitization to amphetamine and morphine psychomotor effects depend on stress-induced corticosterone secretion. *Brain Res* 1992;598(1-2):343-8.
7. Harris GC, Aston-Jones G. Augmented accumbal serotonin levels decrease the preference for a morphine associated environment during withdrawal. *Neuropsychopharmacology* 2001;24(1):75-85.
8. Herman JP, Cullinan WE. Neurocircuitry of stress: central control of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis. *Trends Neurosci* 1997;20(2):78-84.
9. del Rosario CN, Pacchioni AM, Cancela LM. Influence of acute or repeated restraint stress on morphine-induced locomotion: involvement of dopamine, opioid and glutamate receptors. *Behav Brain Res* 2002;134(1-2):229-38.
10. King CD, Devine DP, Vierck CJ, Rodgers J, Yezierski RP. Differential effects of stress on escape and reflex responses to

nociceptive thermal stimuli in the rat. *Brain Res* 2003;987(2):214-22.

11. Ballard KA, Pellegrino TC, Alonzo NC, Nugent AL, Bayer BM. Enhanced immune sensitivity to stress following chronic morphine exposure. *J Neuroimmune Pharmacol* 2006;1(1):106-15.
12. Gameiro GH, Gameiro PH, Andrade Ada S, Pereira LF, Arthuri MT, Marcondes FK, et al. Nociception- and anxiety-like behavior in rats submitted to different periods of restraint stress. *Physiol Behav* 2006;87(4):643-9.
13. Dymshitz J, Amir S. Opposite effects of restraint on morphine analgesia and naloxone-induced jumping. *Pharmacol Biochem Behav* 1988;30(4):905-10.
14. Poormotaabed A, Azizhkany F, Tohydy A. The effect retraint stress on morphine dependency withdrawal in mice. *Physiol Pharmacol* 2004;8(1):23-30. [Persian]
15. da Silva Torres IL, Cucco SN, Bassani M, Duarte MS, Silveira PP, Vasconcellos AP, et al. Long-lasting delayed hyperalgesia after chronic restraint stress in rats-effect of morphine administration. *Neurosci Res* 2003;45(3):277-83.
16. Calcagnetti DJ, Holtzman SG. Potentiation of morphine analgesia in rats given a single exposure to restraint stress immobilization. *Pharmacol Biochem Behav* 1992;41(2):449-53.
17. Fazlytabatabaey S, Yahyavy H, Farhoudy A, Ebrahimy P, Nikanjam N, Zarindast M. effect of swim stress on morphine tolorance in mice. *Physiol Pharmacol* 2004;3(2):109-14. [Persian]
18. Thorsell A, Carlsson K, Ekman R, Heilig M. Behavioral and endocrine adaptation, and up-regulation of NPY expression in rat amygdala following repeated restraint stress. *Neuroreport* 1999;10 (14):3003-7.
19. Kalivas PW, Stewart J. Dopamine transmission in the initiation and expression of drug- and stress-induced sensitization of motor activity. *Brain Res Brain Res Rev* 1991;16(3):223-44.
20. Cohen H, Zohar J, Matar MA, Zeev K, Loewenthal U, Richter-Levin G. Setting apart the affected: the use of behavioral criteria in animal models of post traumatic stress disorder. *Neuropsychopharmacology* 2004;29(11):1962-70.
21. Pinheiro SH, Zangrossi H Jr, Del-Ben CM, Graeff FG. Elevated mazes as animal models of anxiety: effects of serotonergic agents. *An Acad Bras Cienc* 2007;79(1):71-85.
22. Lombardo KA, Herringa RJ, Balachandran JS, Hsu DT, Bakshi VP, Roseboom PH, et al. Effects of acute and repeated restraint stress on corticotropin-releasing hormone binding protein mRNA in rat amygdala and dorsal hippocampus. *Neurosci Lett* 2001;302(2-3): 81-4.
23. Satarian L, Javan M, Fathollahi Y. Epinephrine inhibits analgesic tolerance to intrathecal administrated morphine and increases the expression of calcium-calmodulin-dependent protein kinase IIalpha. *Neurosci Lett* 2008;430(3):213-7.
24. Ryan BK, Anwyl R, Rowan MJ. 5-HT2 receptor-mediated reversal of the inhibition of hippocampal long-term potentiation by acute inescapable stress. *Neuropharmacology* 2008;55(2):175-82.
25. Adell A, Casanovas JM, Artigas F. Comparative study in the rat of the actions of different types of stress on the release of 5-HT in raphe nuclei and forebrain areas. *Neuropharmacology* 1997;36(4-5):735-41.
26. Kirby LG, Allen AR, Lucki I. Regional differences in the effects of forced swimming on extracellular levels of 5-hydroxytryptamine and 5-hydroxyindoleacetic acid. *Brain Res* 1995;682(1-2):189-96.
27. Calvez J, Fromentin G, Nadkarni N, Darcel N, Even P, Tomé D, et al. Inhibition of food intake induced by acute stress in rats is due to satiation effects. *Physiol Behav* 2011;104(5):675-83
28. del Rosario CN, Pacchioni AM, Cancela LM. Influence of acute or repeated restraint stress on morphine-induced locomotion: involvement of dopamine, opioid and glutamate receptors. *Behav Brain Res* 2002;134(1-2):229-38.
29. Goodman A. Neurobiology of addiction. An integrative review. *Biochem Pharmacol* 2008;75(1):266-322.
30. Ayhan IH, Randrup A. Behavioural and pharmacological studies on morphine-induced excitation of rats. Possible relation to brain catecholamines. *Psychopharmacologia* 1973;29(4):317-28.

TUMJ monthly Tehran University Medical Journal

Tehran University Medical Journal, February 2013; Vol. 70, No. 11: 709-716 *Original Article*

Anxiety-like behavior profile in morphine dependent rats exposed to acute and chronic stress

Hadi Safari M.Sc.[1]
Hossein Miladi Gorji Ph.D.[2*]

1- M.Sc. in Clinical Psychology, Faculty of Psychology and Educational Sciences, University of Semnan, Semnan, Iran.
2- Research Center and Department of Physiology, School of Medicine, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran.

[*] Corresponding author: Research Center and Dept. of Physiology, School of Medicine, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran.
Tel: +98-231-3354170-3
E-mail: miladi331@yahoo.com

Abstract

Received: October 09, 2012 Accepted: November 11, 2012

Background: Previous studies indicate that morphine dependent and withdrawal from chronic opiates enhanced anxiety-related behaviours in novel and stressful conditions in rats. Recent studies have shown that exposure to a stressor generates a wide variety of adaptive responses, while enhancing abilities to adopt with the stressor. Therefore, the aim of this study was to examine the effect of chronic restraint stress and acute water immersion (WI) stress on the anxiety profile in morphine-dependent rats.

Methods: Thirty two rats were injected with twice daily doses (10 mg/kg, subcutaneous, at 12 hour intervals) of morphine over a period of 10 days in the presence or absence chronic restraint stress (1 hour/day). On day 11, two hour after morphine injection, anxiety-like behaviours were tested in the elevated plus-maze model in the presence or absence acute water immersion stress. Rats were divided into four groups: dependent- No restraint stress (D/NRS), dependent- restraint stress (D/RS), dependent- restraint stress+ water immersion stress (D/RS+WI), dependent- water immersion stress (D/WI).

Results: Finding have shown that D/RS+WI rats exhibited an increase in the elevated plus-maze open arm entries and time as compared with the control groups (P=0.018 and P=0.037, respectively). Also, this measure was significantly lower in the WI rats than the D/RS+WI rats (P=0.049 and P=0.031, respectively).

Conclusion: Our findings indicate that chronic restraint stress followed by acute water immersion stress decreases the severity of the anxiogenic-like behaviours in morphine dependent rats; thus it may have a therapeutic application in the treatment of the associated disorders in addiction.

Keywords: acute water immersion stress, anxiety, chronic restraint stress, elevated plus-maze, morphine dependence.