

Research Paper

Effect of Intracerebroventricular Morphine Withdrawal on Anxiety Behavior in Male Rats Reared in Social Isolation



Ghasemali Khodabandeh¹, *Gholamhassan Vaezi¹, Vida Hojati¹, Sharam Sharafi¹

1. Department of Biology, Faculty of Basic Science, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, Iran.



Citation Khodabandeh Gh, Vaezi Gh, Hojati V, Sharafi Sh. [Effect of Intracerebroventricular Morphine Withdrawal on The Anxiety Behavior in Male Rats Reared in Social Isolation (Persian)]. Quarterly of "The Horizon of Medical Sciences". 2019; 25(4):352-363. <https://doi.org/10.32598/hms.25.4.352>

<https://doi.org/10.32598/hms.25.4.352>



Received: 25 Feb 2019

Accepted: 23 Aug 2019

Available Online: 01 Oct 2019

ABSTRACT

Aims Narcotics prescription has controversial effects on the occurrence of anxiety processes; however, its acute and chronic effects on behavioral differences in social isolation are unclear in the processes of dependence and withdrawal. The present study aimed to investigate the effects of acute and chronic intracerebroventricular morphine sulfate withdrawal on the fear and anxiety behaviors of male rats reared in social isolation.

Methods & Materials The present experimental study investigated 32 male 21-day-old male weaned Wistar rats that were divided into two groups of saline (control) and morphine receivers (test). They were then divided into acute and chronic subgroups that were reared under social isolation conditions. The rats of the acute daily consumption group received 10 µg/kg of morphine sulfate solution via intracerebroventricular injection for 10 days, but the chronic rats received it for 60 days. After the end of dependence by its withdrawal, the rats were quitted for 5 days, and their anxiety levels were measured using the Elevated Plus Maze (EPM). The obtained data were analyzed in SPSS using One-Way Analysis of Variance (ANOVA), Tukey's posthoc test and Paired Samples t-test.

Findings The research results indicated that the percentage of time and number of open arm entries in rats reared in social isolation significantly decreased during the dependence phase and 5 days after withdrawal in acute and chronic groups ($P < 0.001$). Furthermore, their anxiety rate increased compared to the control group. The findings also suggested a higher incidence of anxiety among chronic consumer groups than acute consumer groups after abstinence.

Conclusion The study findings indicated that the discontinuation of morphine consumption in social isolation could increase the incidence of anxiety behaviors in rats. Therefore, negative emotional states associated with acute and chronic morphine withdrawal could lead to anxiety-like behaviors. **Keywords:** Anxiety, Morphine, Social isolation, Rats.

Key words:

Anxiety, Morphine,
Social isolation, Rats

*** Corresponding Author:**

Gholamhassan Vaezi, PhD.

Address: Department of Biology, Faculty of Science, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, Iran.

Tel: +98 (912) 9178644

E-mail: gh.vaezi@yahoo.com

Extended Abstract

1. Introduction

Drug addiction is a type of chronic and regressive brain disease characterized by loss of control over medication use, repeated attempts in quitting or reducing drug use, drug use continuation despite negative consequences, reduced engagement in social, occupational, and social activities. They, instead, continue seeking for drug, self-prescription, and the emergence of departure or withdrawal symptoms [1, 2]. Symptoms such as muscle aches, severe muscle irritability, hostility, convulsions, diarrhea, and anxiety become so painful and intolerable that in many cases the patients resume drug use [4, 5].

Part of the soothing effect of opioids is through the predictable reduction of anxiety [6]. Previous studies have shown that morphine dependence in addicted mice causes anxiety-like behaviors [7]. Anxiety is one of the most commonly reported symptoms of quitting a variety of drugs. It is thought that termination of emotional withdrawal symptoms such as anxiety, numbness, agitation, restlessness, and fatigue are to be the drivers of resuming drug use that eventually lead to drug dependence [8, 9]. Discontinuation of opioids is associated with anxiety-like symptoms in humans and animals [9]. Animal models show similarities between drug dependence and sedation at behavioral and neurochemical levels [8].

2. Methods

For this experimental study 32 male Wistar rats that weaned aged 21 days were used. Then each rat was kept in a separate cage measuring 22×25×40 cm, in a state of social isolation. Specific water and food (pellets) were readily available, except during testing. The animals were housed in a 12 h light-dark period (seven in the morning to seven in the night) and 22±2° C without any sound or noise pollution. The experiments were carried out from 9 am to 1 pm.

Rats were randomly divided into four groups, each with eight rats. Rats were divided into control (saline) and Morphine Sulfate (Sigma-Germany) groups, each containing acute and chronic subgroups. In acute groups, the intravenous-cerebral injection was performed for 10 days and in chronic groups for 60 days [7, 19]. Five days after discontinuation of drug use, in the acute groups on days 15 and in the chronic groups on days 65, the maze tests were performed.

Morphine sulfate was injected intracerebroventricular at a dose of 10 µg/kg. All injections were performed in 100 µl volume and 0.1 ml on body weight.

3. Results

The results of this study showed that five days after discontinuation of intracerebroventricular administration of morphine, the attendance percentage in the open arm of

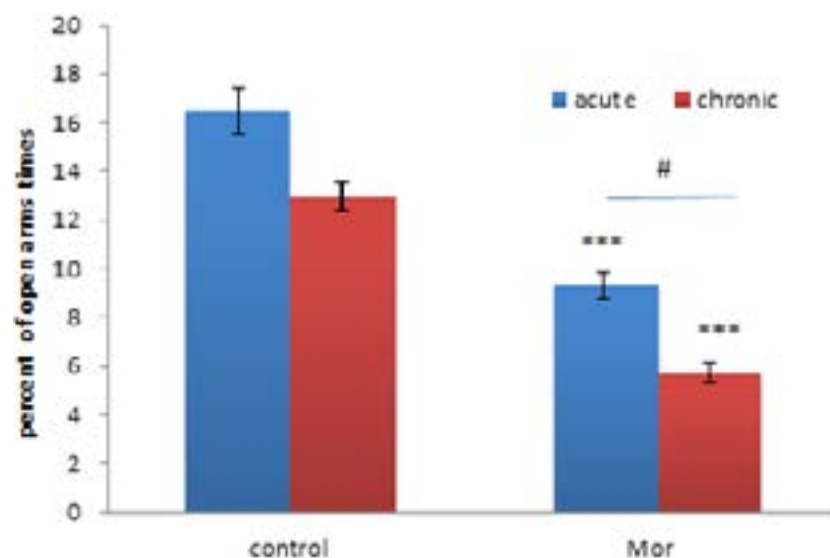
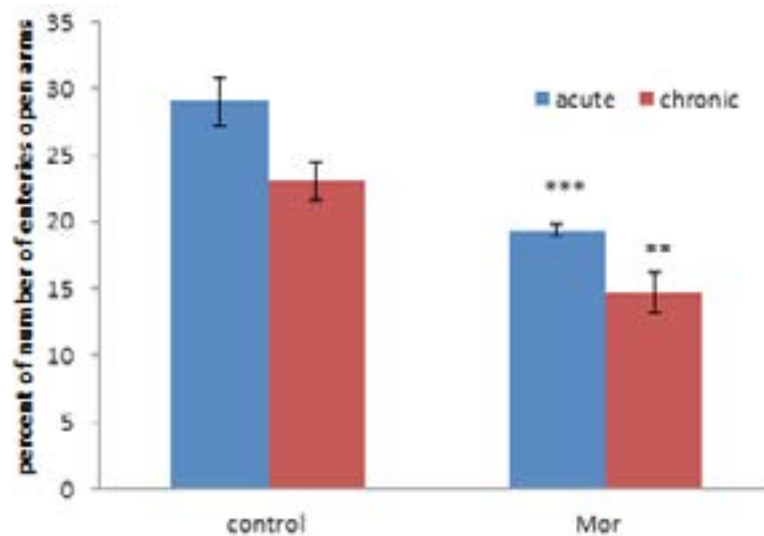


Figure 1. Mean±SD of the effect of discontinuation of use of intracerebroventricular morphine (10 µg/kg, Mor) in percentage of presence in open arm in plus maze in rats under social isolation compared to control. P<0.05: significant difference with control group receiving saline. # P<0.05 significant difference between acute and chronic groups



Quarterly of
The Horizon of Medical Sciences

Figure 2. Mean±SD of the effect of discontinuation of use of intracerebroventricular morphine

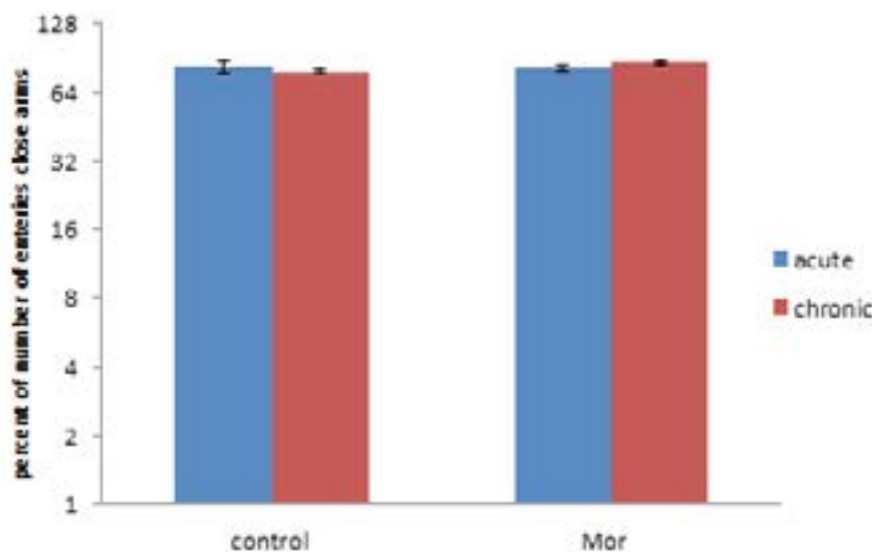
(10 µg/kg, Mor) in percentage of presence in open arm in plus maze in rats under social isolation compared to control.

*** P<0.01 **, P<0.001: Significant difference with control group receiving saline. P<0.05. #: Significant difference between acute and chronic groups

Equine Protozoal Myeloencephalitis (EPM) was significantly decreased in acute and chronic groups compared to the control group (P<0.001) (Figure 1). The percentage of the entrance to the open arm of EPM in the acute and chronic groups was significantly reduced compared to the control group (P<0.001) (Figure 2). However, there was no significant difference in the entrance percentage in the closed arm of EPM compared to the control group (Figure 3).

The comparison between acute and chronic groups showed a significant decrease in the attendance percentage in EPM in the chronic groups compared to the corresponding acute group (P<0.05) (Figure 1), but the percentage of open and closed arm entrance and the association between acute and chronic groups was not significant (Figures 2 and 3).

4. Discussion



Quarterly of
The Horizon of Medical Sciences

Figure 3. Mean±SD of the effect of discontinuation of use of intracerebroventricular morphine

(10 µg/kg, Mor) in percentage of presence in closed arm in plus maze in rats under social isolation compared to control. P<0.05: Significant difference with control group receiving saline. #: P<0.05 significant difference between acute and chronic groups

The results showed that intracerebroventricular morphine-treated groups in acute and chronic conditions in rats cultivated under social isolation, five days after quitting morphine sulfate, compared to control groups, the percentage, and the number of the entrance to open arm of EPM declined.

Compared between the acute and chronic groups, in the chronic groups, after quitting, the percentage reduction of the entrance to EPM was higher but not significant; thus, morphine dependence and also quitting it can affect the rate of the rats' anxiety.

The acute and chronic administration of morphine was significantly different between the groups receiving morphine and the control group, indicating a type of morphine dependence and addiction in mice. Our findings indicate that quitting or dependent morphine-treated rats are more anxious than the control group; this mode in chronically addicted rats is often higher than in acute-treated rats.

5. Conclusion

The results of this study showed that discontinuation of acute and chronic intracerebroventricular administration of morphine under social isolation can increase the mode of anxiety behavior in rats. The rate of anxiety behavior in rats in acute administration was lower than in chronic administration at the time of dependence and after quitting. In summary, negative affective states associated with acute and chronic morphine quitting comprised anxiety-related behavior.

Animal models of negative affective consequences of opioid quitting should be useful in outlining the neurochemical and neuro-anatomical substrates of brain circuits related to stress, affective states, and brain reward. The use of social isolation after weaning among rats is useful for creating behavioral outcomes similar to the results of unpleasant experiences of isolation in humans and is the potential to provide preclinical findings that may turn into clinical research.

Since few studies have been performed on female mice, it is suggested to investigate the effect of acute and chronic morphine sulfate quitting on fear and anxiety behavior in female rats in social and non-social contexts, according to different injection methods.

Ethical Considerations

Compliance with ethical guidelines

This study has obtained its ethical approval from the Research Ethics Committee of Islamic Azad University of Damghan Branch (code: IR. REC. 1396.1544). All experiments on animals in this study was according to the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals.

Funding

This study received no financial support from any organization.

Authors' contributions

Conceptualization, methodology, and investigation by Ghasemali khodabandeh; writing by Gholamhassan Vaezi; writing, methodology and data analysis by Vida Hojati; consulting by Sharam Sharafi.

Conflicts of interest

The authors declare no conflict of interest related to the present manuscript.

Acknowledgements

The authors would like to thank participants and Islamic Azad University of Damghan Branch for their valuable cooperation.

This Page Intentionally Left Blank

بررسی تأثیر قطع مصرف درون‌بطنی - مغزی مرفین بر رفتار اضطراب در رت‌های نر پرورش‌یافته در شرایط انزوای اجتماعی

قاسمعلی خدابنده^۱، *غلامحسن واعظی^۱، ویدا حاجتی^۱، شهرام شرفی^۱

۱. گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران.

چکیده

تاریخ دریافت: ۰۶ اسفند ۱۳۹۷

تاریخ پذیرش: ۰۱ شهریور ۱۳۹۸

تاریخ انتشار: ۰۹ مهر ۱۳۹۸

هدف: تجویز داروهای مخدر روی بروز فرایندهای اضطرابی اثرات متناقضی دارند، ولی تأثیر حاد و مزمن آن روی تفاوت رفتاری در فرایند وابستگی و ترک در شرایط انزوای اجتماعی کاملاً آشکار نیست. این پژوهش با هدف بررسی تأثیر قطع حاد و مزمن درون‌بطنی - مغزی مرفین سولفات بر رفتار ترس و اضطراب در رت‌های نر پرورش‌یافته در شرایط انزوای اجتماعی می‌پردازد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی از ۳۲ سر موش صحرایی نر ویستار ۲۱ روزه گرفته‌شده از شیر استفاده شد که به دو گروه دریافت‌کننده سالین (کنترل) و مرفین تقسیم شدند، سپس این گروه‌ها به دو زیرگروه حاد و مزمن تقسیم شدند که در شرایط انزوای اجتماعی پرورش یافتند. موش‌های مصرف حاد، روزانه ۱۰ میکروگرم بر کیلوگرم محلول سولفات مرفین را به صورت درون‌بطنی - مغزی به مدت ۱۰ روز دریافت کردند و در موش‌های مزمن دوره تزریق ۶۰ روزه بود. موش‌ها پس از پایان دوره وابستگی با قطع مصرف به مدت پنج روز ترک داده شدند و میزان اضطراب آن‌ها توسط پلاس ماز اندازه‌گیری شد. داده‌ها با استفاده از نسخه ۱۶ نرم‌افزار آماری SPSS، آزمون آماری تحلیل واریانس یک‌طرفه و تعقیبی توکی و تی زوجی تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: نتایج این بررسی نشان می‌دهد درصد، زمان و تعداد ورود به بازوی باز در موش‌های پرورش‌یافته در شرایط انزوای اجتماعی در زمان وابستگی و پنج روز پس از ترک، در گروه‌های حاد و مزمن به طور معناداری نسبت به گروه کنترل کاهش یافته است ($P < 0/001$) و میزان اضطراب افزایش یافته است. همچنین یافته‌ها نشان می‌دهد به طور کلی میزان بروز اضطراب در گروه‌های مصرف مزمن نسبت به گروه‌های مصرف حاد پس از ترک بیشتر بوده است.

نتیجه‌گیری: یافته‌های این پژوهش نشان می‌دهد قطع مصرف مرفین در شرایط انزوای اجتماعی می‌تواند موجب افزایش بروز رفتار اضطرابی در موش‌های صحرایی شود. بنابراین حالات عاطفی منفی همراه با ترک حاد و مزمن مرفین به رفتارهای شبه‌اضطرابی منجر می‌شود.

کلیدواژه‌ها:

اضطراب، مرفین، انزوای اجتماعی، رت.

مقدمه

در صورت عدم مصرف ماده مذکور، چون این سطح تعادلی به هم می‌خورد، حالت محرومیت و یا ترک ایجاد می‌شود که با مصرف اپیوئیدها از بین می‌رود. وابستگی ایجادشده دارای علائم جسمی و روانی است [۱]. مطالعات مختلف در زمینه داروها و عواملی که بتوانند تحمل و وابستگی را کاهش دهند صورت گرفته است. به طور قطع از بین مکانیسم‌های درگیر در پدیده وابستگی به ترکیبات اپیوئید، سیستم‌های نوروترانسمیتری موجود در سیستم اعصاب مرکزی نقش مهمی را برعهده دارند [۲، ۳].

هنگام قطع مصرف مواد مخدر و در حین ترک، علائمی همچون دردهای عضلانی، تحریک‌پذیری شدید عضلانی، خصومت، تشنج، اسهال و اضطراب به قدری رنج‌آور و غیرقابل تحمل می‌شود که در بسیاری موارد، معتادین دوباره به مصرف

اعتیاد به مواد مخدر یک نوع بیماری مزمن عودکننده مغز است که مشخصه آن ازدست‌دادن کنترل بر مصرف دارو، تکرار تلاش ناموفق در ترک یا کاهش استفاده از مواد، ادامه مصرف دارو با وجود عواقب منفی، کاهش تعامل در فعالیت‌های اجتماعی، شغلی و تفریحی و به جای آن رفتار جست‌وجوی دارو یا خودتجویزی و ظهور علائم تحمل یا ترک است [۱، ۲].

وابستگی به اپیوئیدها از مشکلات مهم در مصرف مزمن این دسته از داروها در بیماران دچار دردهای مزمن یا معتادین به این ترکیبات است [۳]. وابستگی به اپیوئیدها به ایجاد یک سطح تعادلی جدید ناشی از تکرار مصرف اپیوئیدها در سیستم عصبی منجر می‌شود و

* نویسنده مسئول:

دکتر غلامحسن واعظی

نشانی: دامغان، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دانشکده علوم پایه، گروه زیست‌شناسی.

تلفن: ۹۱۷۸۶۴۴ (۹۱۲) ۹۸+

پست الکترونیکی: gh.vaezi@yahoo.com

درباره آن انجام شده است و شرایط محیطی در تغییر حساسیت به تحریکات ترس و اضطراب مؤثر است؛ بنابراین با توجه موارد فوق و مشخص نبودن تأثیر انزوای اجتماعی و قطع مصرف بر رفتار ترس و اضطراب در این راستا این پژوهش با هدف تعیین تأثیر قطع درون‌بطنی - مغزی مرفین سولفات بر رفتار ترس و اضطراب در رت‌های نر پرورش‌یافته در شرایط انزوای اجتماعی انجام شده است.

مواد و روش‌ها

برای انجام این تحقیق تجربی از ۳۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار و گرفته‌شده از شیر با سن ۲۱ روز استفاده شد. سپس هر موش صحرایی در قفسی جداگانه به ابعاد ۲۲×۲۵×۴۰ سانتی‌متر در شرایط انزوای اجتماعی نگهداری شد. آب و غذای مخصوص (پلت) به میزان کافی، به جزء هنگام آزمایش در دسترس آن‌ها قرار می‌گرفت. محل نگهداری حیوانات از نظر شرایط فیزیکی دارای دوره روشنایی تاریکی ۱۲ ساعته (هفت صبح تا هفت شب) و دمای ۲۲±۲ درجه سانتی‌گراد و بدون هرگونه سروصدا و آلودگی صوتی بود. آزمایشات مدنظر از ساعت ۹ تا ۱۳ انجام می‌گرفت. موش‌های صحرایی به طور تصادفی در چهار گروه و هر گروه با هشت سر موش جایگزین شده‌اند. رت‌ها به گروه‌های شاهد (دریافت‌کننده سالیین) و دریافت‌کننده مرفین سولفات (سیگما؛ آلمان) که هرکدام شامل زیرگروه‌های حاد و مزمن هستند، تقسیم شدند. در گروه‌های حاد تزریق به مدت ۱۰ روز و در گروه‌های مزمن تزریق به مدت ۶۰ روز به صورت درون‌بطنی - مغزی انجام شد [۱۹، ۷]. پنج روز پس از قطع مصرف دارو در گروه‌های حاد در روزهای ۱۵ و در گروه‌های مزمن در روزهای ۶۵ آزمون ماز انجام شد. مرفین سولفات به صورت درون‌بطنی - مغزی در دُز ۱۰ میکروگرم بر کیلوگرم تزریق شده است. تمام تزریقات در حجم ۱۰۰ gr و ۰/۱ ml و وزن بدن انجام شده است.

اندازه‌گیری اضطراب

آزمون پلاس ماز^۱

برای اندازه‌گیری رفتارهای اضطرابی و بررسی فعالیت حرکتی عمومی موش‌های صحرایی از روش آزمون ماز به‌علاوه‌ای بهره برده شد.

ماز از دو بازوی باز ۵۰×۱۰ سانتی‌متر و دو بازو هم‌اندازه بسته با دیواره‌های ۴۰ سانتی‌متر و سقف باز تشکیل شده که در ارتفاع ۵۰ سانتی‌متر از کف قرار دارد [۲۰]. بازوهای باز در جهت خلاف یکدیگر قرار گرفته و نرده پلکسی‌گلاس شفاف یک سانتی‌متری در پیرامون بازوی باز دارد. موش‌های صحرایی اجازه دارند که ماز را طی دوره زمانی پنج‌دقیقه‌ای آزادانه جست‌وجو کنند؛ طی

مواد روی می‌آورند [۵، ۴]. بخشی از اثر تسکین‌دهندگی مواد اپیوئیدی از طریق کاهش قابل‌پیش‌بینانه اضطراب است [۶]. مطالعات قبلی نشان داده است وابستگی به مرفین در موش‌های وابسته، موجب رفتارهای شبه‌اضطرابی می‌شود [۷].

اضطراب یکی از معمول‌ترین علائم گزارش‌شده از قطع مصرف چندین گروه از مواد مخدر است و تصور می‌شود پایان دادن به علائم عاطفی قطع مصرف مانند اضطراب، بی‌حسی، تهییج، بی‌قراری و کسالت به عنوان محرکی برای ادامه مصرف مواد است و در نهایت به وابستگی به مواد منجر می‌شود [۹، ۸]. قطع مصرف اپیوئیدها با علائمی شبه‌اضطرابی در انسان و حیوان همراه است [۹]. مدل‌های حیوانی شباهت‌هایی بین وابستگی به مواد مخدر و مواد آرام‌بخش در سطوح رفتاری و نوروشیمیایی نشان می‌دهند [۸].

عوامل محیطی یکی از عواملی هستند که پاسخ به محرک‌ها را تغییر می‌دهد [۱۰]. میانجی‌گری‌های محیطی در مدل‌های گوناگون حیوانی، ارزیابی و تغییرات محیطی شامل انزوا و اجتماعی‌شدن بررسی شده است [۱۱]؛ بر اساس مطالعات قبلی انزوای اجتماعی باعث کاهش عملکرد مغز می‌شود و اجتماعی‌شدن عملکرد شناختی را بهبود می‌بخشد [۱۲، ۱۳].

در مطالعات، تغییرات عملکرد مغز همراه با نروژنز بررسی شده است؛ به طوری که در موش‌های جداشده و موش‌های تحت درمان مرفین جداشده در مقایسه با موش‌های اجتماعی و اجتماعی تحت درمان با مرفین، تعداد سلول‌های جدید ایجادشده کاهش یافته است. حساسیت به محرک‌های درد در موش‌های صحرایی تحت درمان با مرفین و تحت انزوای اجتماعی در مقایسه با موش‌های صحرایی اجتماعی تحت درمان با مرفین کاهش یافته است؛ بنابراین کاهش نروژنز، به کاهش محرک درد در گروه‌های جداشده وابسته، و انزوای اجتماعی ممکن است درد را کاهش دهد و موجب تسکین شود [۱۴]. مطالعات نشان می‌دهد اجتماعی‌شدن، حساسیت به درد را افزایش و کاهش نروژنز باعث کاهش حساسیت به درد می‌شود. مرفین و انزوا دو عامل مهم در کاهش حساسیت به درد و کاهش نروژنز هستند [۱۵].

تأثیر انزوای زود هنگام بر گیرنده‌های اپیوئیدی بررسی شده است؛ به طوری که باعث افزایش گیرنده‌های مو در هسته‌های جانبی آمیگدال و هسته قرمز می‌شود و تأثیری روی گیرنده‌های سیگما ندارد و همچنین درمان با مرفین تأثیری بر گیرنده کاپا نداشته است [۱۶]. انزوای اجتماعی باعث افزایش غلظت گیرنده‌های اپیوئیدی می‌شود و وابستگی اپیوئیدی تعاملات اجتماعی را افزایش می‌دهد [۱۷]. تحقیقی روی رت‌ها نشان داده است انزوای اجتماعی باعث نقص در حافظه، کاهش تعداد سلول‌های عصبی، اختلالات ساختاری در هیپوکمپ و اختلالات شناختی می‌شود [۱۸].

رفع ترس و اضطراب یکی از مسائلی است که تلاش‌های زیادی

1. Elevated Plus-Maze Test (EPM)

با مقایسه بین گروه‌های حاد و مزمن مشخص شد درصد زمان حضور در بازوی باز در گروه‌های مزمن در مقایسه با گروه حاد متناظر، به طور معنی‌داری کاهش یافته (تصویر شماره ۱، $P < 0/05$) ولی درصد تعداد ورود به بازوی باز و بسته مابین گروه‌های حاد و مزمن، معنادار نبوده است (تصویر شماره ۲ و ۳).

بحث

نتایج این تحقیق نشان داده است در گروه‌های دریافت‌کننده مرفین به صورت درون‌بطنی - مغزی در شرایط حاد و مزمن در رت‌های پرورش‌یافته در شرایط انزوای اجتماعی، پنج روز پس از ترک مصرف مرفین سولفات، نسبت به گروه‌های کنترل درصد و تعداد ورود به بازوی باز EPM کاهش یافته است. در مقایسه بین گروه‌های حاد و مزمن، در گروه‌های مزمن، پس از ترک، میزان کاهش در درصد و میزان ورود به بازوی باز EPM بیشتر بوده، ولی معنی‌دار نبوده است؛ بنابراین وابستگی به مرفین و نیز ترک آن می‌تواند بر میزان اضطراب موش‌های صحرایی مؤثر باشد.

تجویز حاد و مزمن مرفین بین گروه‌های دریافت‌کننده مرفین و کنترل، تفاوت معنی‌داری داشت که نشان‌دهنده نوعی وابستگی و اعتیاد به مرفین در موش‌هاست. یافته‌های ما نشان می‌دهند موش‌های صحرایی تحت تیمار در حال ترک یا وابسته به مرفین در مقایسه با گروه کنترل، رفتارهای اضطرابی بیشتری را بروز می‌دهند و این میزان بروز در موش‌های با اعتیاد مزمن اغلب از موش‌های با تیمار حاد بیشتر بوده است.

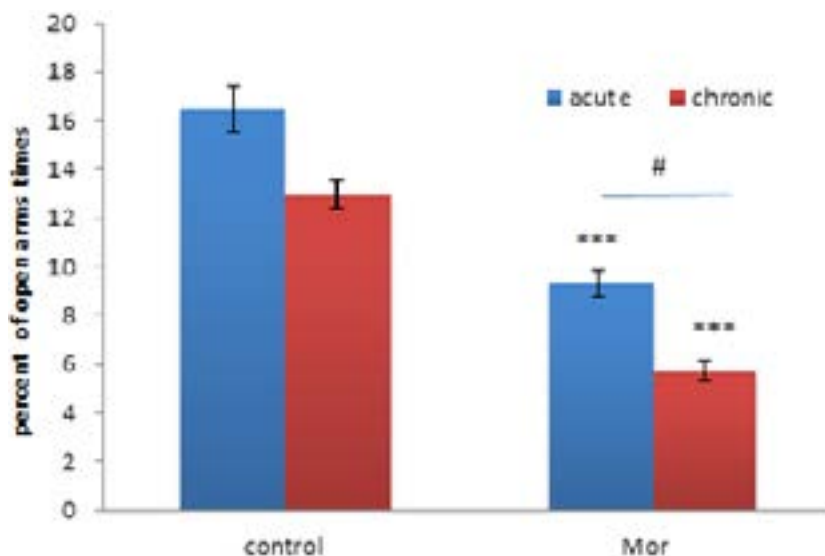
در این مطالعه نشان داده شد پس از ترک نیز حیوانات تحت تیمار حاد و مزمن رفتارهای اضطرابی را بروز می‌دهند.

این زمان، تعداد کل ورودها به بازوهای باز و بسته و نیز زمان گذرانده‌شده در بازوهای باز و بسته ثبت و ضبط می‌شود. قبل از آزمایش، در روز آزمون هر موش صحرایی به طور جداگانه به مدت پنج دقیقه در جعبه‌ای با دیواره‌های پلکسی‌گلاس سیاه $30 \times 40 \times 10$ cm قرار گرفت تا فعالیت جست‌وجوگرانه آن افزایش یابد. برای تعیین مقدار فعالیت حرکتی، تعداد ورودها به بازوی باز و بسته اندازه‌گیری شدند [۲۱].

داده‌ها با استفاده از نسخه ۱۶ نرم‌افزار آماری SPSS نسخه تجزیه و تحلیل شد. همه مقادیر به صورت میانگین \pm انحراف معیار ارائه شدند. با توجه به اینکه نتایج به‌دست‌آمده کمی است، ابتدا فرض نرمال بودن داده‌ها توسط آزمون کولموگروف-اسمیرنوف برقرار شد. برای مقایسه میانگین بین گروه‌های موردآزمایش، تحلیل واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی و برای مقایسه متغیرها در داخل گروه‌ها، آزمون آماری تی زوجی استفاده شد. مقدار $P < 0/05$ از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

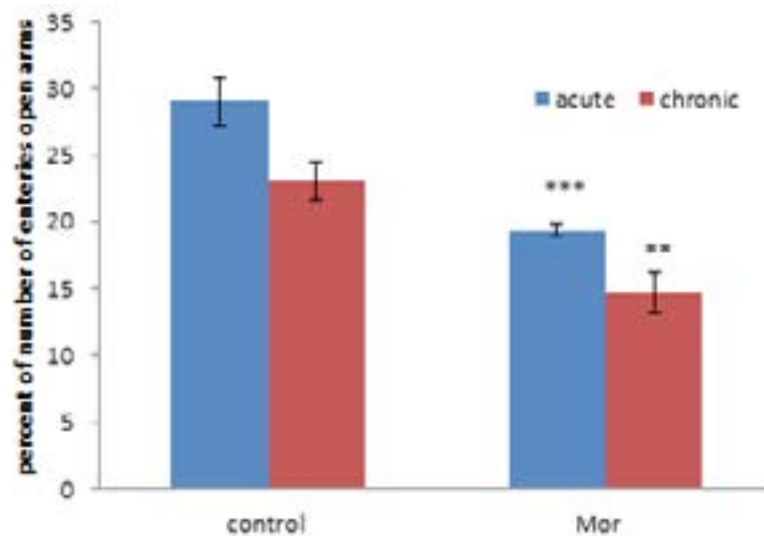
یافته‌ها

نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد پنج روز پس از قطع مصرف درون‌بطنی - مغزی مرفین، درصد زمان حضور در بازوی باز EPM نسبت به گروه کنترل مربوطه، در گروه‌های حاد و مزمن به طور معنی‌داری کاهش یافته است (تصویر شماره ۱، $P < 0/001$). همچنین درصد تعداد ورود به بازوی باز EPM نسبت به گروه کنترل در گروه‌های حاد و مزمن به طور معنی‌داری کاهش یافته است (تصویر شماره ۲، $P < 0/001$) و درصد تعداد ورود به بازوی بسته در مقایسه با گروه کنترل اختلاف معنی‌داری نداشته است (تصویر شماره ۳).



افق دانش

تصویر ۱. اثر قطع مصرف میانگین \pm انحراف معیار درون‌بطنی - مغزی مرفین (۱۰ میکروگرم بر کیلوگرم، MOR) بر درصد زمان حضور بازوی باز در پلاس ماز در رت‌های پرورش‌یافته در شرایط انزوای اجتماعی در مقایسه با گروه کنترل. $P < 0/001$ ***: اختلاف معنی‌داری با گروه کنترل دریافت‌کننده سالین، $P < 0/05$ #. اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های حاد و مزمن در تصویر مشخص شده است.



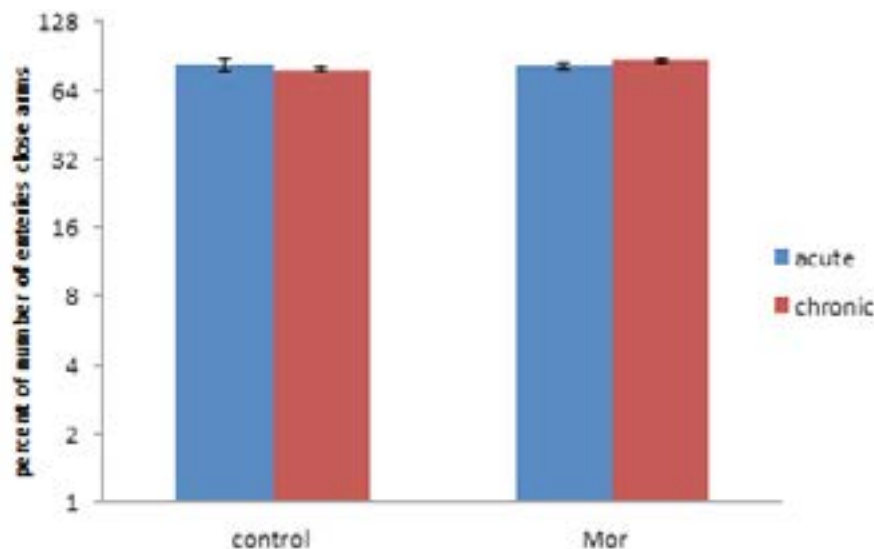
افتخ دانش

تصویر ۲. اثر قطع مصرف میانگین \pm انحراف معیار درون بطنی - مغزی مرفین (۱۰ میکروگرم بر کیلوگرم، Mor) بر درصد تعداد حضور در بازوی باز پلاس ماز در رت‌های پرورش یافته در شرایط انزوای اجتماعی در مقایسه با گروه کنترل. $P < 0.001$ ؛ $P < 0.01$ ؛ اختلاف معنی داری با گروه کنترل دریافت کننده سالین. $P < 0.05$. # اختلاف معنی داری بین گروه‌های حاد و مزمن.

در موش آزمایشگاهی ایجاد کند [۲۴]. نتایج این پژوهش نشان می‌دهد به طور کلی سطح اضطراب در موش‌های پرورش یافته در شرایط انزوای اجتماعی بالاتر بوده است.

امیری و همکاران نشان دادند انزوای اجتماعی می‌تواند موجب بروز همزمان افسردگی و اضطراب در موش‌ها شود [۲۵]. در پژوهشی دیگر، نشان داده شده است که پرورش در شرایط انزوای

کاستیلو و همکاران نیز نتایج مشابهی را گزارش کردند و بروز نشانگان رفتار شبه اضطرابی در موش‌های تحت ترک مرفین را به حساس شدن قشر خاکستری نسبت دادند [۲۲]. از طرفی محیط غنی شده می‌تواند نمایه اضطرابی موش‌های صحرایی جوانی که در دوره جنینی در معرض مرفین مزمن بوده‌اند، بهبود دهد [۲۳]. همچنین مشخص شده است پرورش در شرایط انزوای اجتماعی می‌تواند ناهنجاری‌های رفتاری متعددی، از جمله اضطراب را



افتخ دانش

تصویر ۳. اثر قطع مصرف میانگین \pm انحراف معیار درون بطنی - مغزی مرفین (۱۰ میکروگرم بر کیلوگرم، Mor) بر درصد تعداد حضور بازوی بسته در پلاس ماز در رت‌های پرورش یافته در شرایط انزوای اجتماعی در مقایسه با گروه کنترل. $P < 0.05$ ؛ اختلاف معنی داری با گروه کنترل دریافت کننده سالین. $P < 0.05$. # اختلاف معنی داری بین گروه‌های حاد و مزمن.

عاطفی منفی همراه با ترک حاد و مزمن مورفین شامل رفتار شبه‌اضطرابی است. مدل‌های حیوانی پیامدهای عاطفی منفی ترک مواد افیونی باید در ترسیم بسترهای عصبی‌شیمیایی و عصبی‌آناتومی مدارهای مغزی مربوط به استرس، حالات عاطفی و پاداش مغز مفید واقع شوند.

کاربرد جداسازی اجتماعی پس از گرفتن از شیر، در بین موش‌ها، برای تولید نتایج رفتاری مشابه با نتایج تجارب ناخوشایند انزوا در انسان‌ها مفید است و از پتانسیل تأمین یافته‌های پیش‌بالیینی که ممکن است به تحقیق بالینی تبدیل شوند برخوردار است.

با توجه به اینکه تحقیقات کمی در این زمینه روی موش‌های ماده انجام شده است، پیشنهاد می‌شود تأثیر قطع مصرف حاد و مزمن مورفین سولفات بر رفتار ترس و اضطراب در رت‌های ماده پرورش‌یافته در شرایط اجتماعی و غیراجتماعی با توجه به روش‌های مختلف تزریق، بررسی شود.

ملاحظات اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق پژوهش

تمامی مراحل آزمایش بر اساس پروتکل تأییدشده کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان با کد IR.REC.1396.1544 اجرا شد. رعایت حقوق حیوانات آزمایشگاهی در پژوهش برای استفاده انسانی مبتنی بر دستورالعمل‌های بین‌المللی مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی بوده است.

حامی مالی

این مقاله حامی مالی ندارد.

مشارکت نویسندگان

پژوهشگر اصلی: قاسمعلی خداپنده (۴۰ درصد)؛ نگارنده بحث: غلامحسین واعظی (۲۵ درصد)؛ نگارنده مقدمه، روش‌شناسی و تحلیلگر آماری: ویدا حجتی (۲۵ درصد)؛ پژوهشگر کمکی: شهرام شرفی (۱۰ درصد).

تعارض منافع

بنابر اظهار نویسندگان این مقاله تعارض منافع ندارد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله نویسندگان مقاله از دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان سپاسگزاری و قدردانی می‌کنند.

اجتماعی و تنش ناشی از آن پاسخگویی گیرنده اپیوئید کاپا را افزایش داده و در نتیجه تنظیم منفی سیستم دوپامین روی می‌دهد که منتهی به تمایل به مصرف الکل می‌شود [۲۶]. نتایج مشابهی در پژوهش حاضر در مورد بروز اضطراب در موش‌های صحرایی پرورش‌یافته در انزوای اجتماعی دیده شده است.

در این پژوهش نیز مشاهده شد موش‌های پرورش‌یافته در انزوای اجتماعی میزان بالایی از اضطراب را بروز می‌دهند. بروز اضطراب می‌تواند یکی از دلایل عمده برای رجوع به مصرف مجدد داروی مخدر باشد. از این رو کاهش اضطراب از طریق پرورش در شرایط اجتماعی می‌تواند از میزان اضطراب ناشی از مصرف و ترک کاسته و به ترک موفقیت‌آمیز کمک کند. غنی‌سازی محیطی و اجتماعی می‌تواند به تغییرات عملکردی در تعداد گیرنده‌های اپیوئیدی منجر شود [۲۷].

از آنجا که انزوای اجتماعی باعث کاهش عملکرد مغز، کاهش نوروزن و تعداد سلول‌های عصبی، اختلالات ساختاری در هیپوکامپ و اختلالات شناختی و محرومیت از بازی می‌شود، احتمالاً به این دلایل اضطراب در گروه‌های پرورش‌یافته در شرایط انزوای اجتماعی افزایش یافته است [۲۹، ۲۸، ۱۲].

جایگاه اثرات مهم اپیوئیدها در آمیگدال است؛ به طوری که فعالیت سیستم اپیوئید در هسته مرکزی آمیگدال میزان پاسخ‌های شبه‌ترس را در رت کاهش می‌دهد و تحریک گیرنده μ باعث کاهش میزان ترس می‌شود [۳۰، ۳۱]. پیتیدهای شبه‌اپیوئیدی باعث کاهش سطح نورآدرنالین می‌شوند و پاسخ‌های هیجانی را کاهش می‌دهند و اپیوئیدها به طور پیش‌سیناپسی باعث کاهش ترشح نورآدرنالین می‌شوند و دلایلی وجود دارد که اپیوئیدها بیان ترس را کاهش می‌دهد [۳۲، ۳۳]. تزریق آگونیست گیرنده مو مورفین به درون آمیگدال بیان ترس را کاهش می‌دهد [۳۴]. بنابراین پس از قطع مصرف مورفین احتمالاً گیرنده‌های مو کمتر تحریک شده و همچنین از طریق افزایش سطح نورآدرنالین میزان ترس و اضطراب افزایش یافته است.

از طرف دیگر یکی از پیامدهای مصرف مورفین، کاهش اپیوئیدهای درون‌زا از جمله آنکفالین است که هنگام قطع مصرف مورفین و تزریق نالوکسان، خود را به صورت پردردی نشان می‌دهد و احتمالاً یکی از دلایل افزایش اضطراب در گروه‌های دریافت‌کننده مزمن مورفین پس از قطع مصرف است [۱۶].

نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان داد قطع تجویز درون‌بطنی - مغزی حاد و مزمن مورفین در شرایط انزوای اجتماعی می‌تواند موجب افزایش بروز رفتار اضطرابی در موش‌های صحرایی شود. میزان بروز رفتار اضطرابی در موش‌ها در تجویز حاد به نسبت تجویز مزمن در زمان وابستگی و پس از ترک کمتر بوده است. به طور خلاصه، حالات

References

- [1] Webster R, editor. Neurotransmitters, drugs and brain function. Hoboken: John Wiley & Sons; 2001. [DOI:10.1002/0470846577]
- [2] Volkow ND, Koob GF, McLellan AT. Neurobiologic advances from the brain disease model of addiction. *New England Journal of Medicine*. 2016; 374(4):363-71. [DOI:10.1056/NEJMra1511480] [PMID] [PMCID]
- [3] Katzung BG. Basic and clinical pharmacology. New York: McGraw-hill; 2009.
- [4] Kest B, Palmese CA, Hopkins E, Adler M, Juni A. Assessment of acute and chronic morphine dependence in male and female mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 2001; 70(1):149-56. [DOI:10.1016/S0091-3057(01)00600-1]
- [5] Mamiya T, Noda Y, Ren X, Hamdy M, Furukawa S, Kameyama T, et al. Involvement of cyclic AMP systems in morphine physical dependence in mice: Prevention of development of morphine dependence by rolipram, a phosphodiesterase 4 inhibitor. *British Journal of Pharmacology*. 2001; 132(5):1111-7. [DOI:10.1038/sj.bjp.0703912] [PMID] [PMCID]
- [6] Bartoletti M, Gaiardi M, Gubellini C, Bacchi A, Babbini M. Morphine attenuation of a conditioned emotional response in post-dependent rats. *European Journal of Pharmacology*. 1990; 185(2-3):163-7. [DOI:10.1016/0014-2999(90)90636-K]
- [7] Miladi-Gorji H, Rashidy-Pour A, Fathollahi Y. Anxiety profile in morphine-dependent and withdrawn rats: Effect of voluntary exercise. *Physiology & Behavior*. 2012; 105(2):195-202. [DOI:10.1016/j.physbeh.2011.08.010] [PMID]
- [8] Grasing K, Wang A, Schlussman S. Behavioral measures of anxiety during opiate withdrawal. *Behavioural Brain Research*. 1996; 80(1-2):195-201. [DOI:10.1016/0166-4328(96)00035-6]
- [9] Harris AC, Gewirtz JC. Elevated startle during withdrawal from acute morphine: A model of opiate withdrawal and anxiety. *Psychopharmacology*. 2004; 171(2):140-7. [DOI:10.1007/s00213-003-1573-0] [PMID]
- [10] Vachon P, Millecamps M, Low L, Thompsosn SJ, Pailleux F, Beaudry F, et al. Alleviation of chronic neuropathic pain by environmental enrichment in mice well after the establishment of chronic pain. *Behavioral and Brain Functions*. 2013; 9(1):22. [DOI:10.1186/1744-9081-9-22] [PMID] [PMCID]
- [11] Han X, Wang W, Xue X, Shao F, Li N. Brief social isolation in early adolescence affects reversal learning and forebrain BDNF expression in adult rats. *Brain Research Bulletin*. 2011; 86(3-4):173-8. [DOI:10.1016/j.brainresbull.2011.07.008] [PMID]
- [12] Beard RL, O'Connor MK. Listening to Alzheimer's: The role of social isolation in illness narratives. Pennsylvania: IGI Global; 2015.
- [13] Famitafreshi HR, Karimian M. Reduction of neurogenesis with social isolation decreases pain sensitivity in tail flick test in male rats. *World Journal of Neuroscience*. 2017; 7(2):223-31. [DOI:10.4236/wjns.2017.72018]
- [14] Van den Berg CL, Kitchen I, Gerrits MA, Spruijt BM, Van Ree JM. Morphine treatment during juvenile isolation increases social activity and opioid peptides release in the adult rat. *Brain Research*. 1999; 830(1):16-23. [DOI:10.1016/S0006-8993(99)01330-X]
- [15] Van den Berg CL, Van Ree JM, Spruijt BM, Kitchen I. Effects of juvenile isolation and morphine treatment on social interactions and opioid receptors in adult rats: Behavioural and autoradiographic studies. *European Journal of Neuroscience*. 1999; 11(9):3023-32. [DOI:10.1046/j.1460-9568.1999.00717.x] [PMID]
- [16] Gupta RK, Bruehl S, Burns JW, Buvanendran A, Chont M, Schuster E, et al. Relationship between endogenous opioid function and opioid analgesic adverse effects. *Regional Anesthesia & Pain Medicine*. 2014; 39(3):219-24. [DOI:10.1097/AAP.0000000000000083] [PMID] [PMCID]
- [17] Vanderschuren LJ, Stein EA, Wiegant VM, Van Ree JM. Social isolation and social interaction alter regional brain opioid receptor binding in rats. *European Neuropsychopharmacology*. 1995; 5(2):119-27. [DOI:10.1016/0924-977X(95)00010-M]
- [18] Bianchi M, Fone KF, Azmi N, Heidbreder CA, Hagan JJ, Marsden CA. Isolation rearing induces recognition memory deficits accompanied by cytoskeletal alterations in rat hippocampus. *European Journal of Neuroscience*. 2006; 24(10):2894-902. [DOI:10.1111/j.1460-9568.2006.05170.x] [PMID]
- [19] Tzschentke TM, Kögel BY, Frosch S, Linz K. Limited potential of cebranopadol to produce opioid-type physical dependence in rodents. *Addiction Biology*. 2018; 23(5):1010-9. [DOI:10.1111/adb.12550] [PMID]
- [20] Pellow S, Chopin P, File SE, Briley M. Validation of open: Closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *Journal of Neuroscience Methods*. 1985; 14(3):149-67. [DOI:10.1016/0165-0270(85)90031-7]
- [21] Ookawa K, Mochizuki K, Shida E, Suzuki T, Ooba T, Matumoto T, et al. Anti-anxiety effect of ovary lipid extracted from skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*) in rats. *Journal of Veterinary Medical Science*. 2007; 69(6):633-6. [DOI:10.1292/jvms.69.633] [PMID]
- [22] Castilho VM, Borelli KG, Brandao ML, Nobre MJ. Anxiety-like symptoms induced by morphine withdrawal may be due to the sensitization of the dorsal periaqueductal grey. *Physiology & Behavior*. 2008; 94(4):552-62. [DOI:10.1016/j.physbeh.2008.03.014] [PMID]
- [23] Ahmadalipour A, Sadeghzadeh J, Vafaei AA, Bandegi AR, Mohammadkhani R, Rashidy-Pour A. Effects of environmental enrichment on behavioral deficits and alterations in hippocampal BDNF induced by prenatal exposure to morphine in juvenile rats. *Neuroscience*. 2015; 305:372-83. [DOI:10.1016/j.neuroscience.2015.08.015] [PMID]
- [24] Koike H, Ibi D, Mizoguchi H, Nagai T, Nitta A, Takuma K, et al. Behavioral abnormality and pharmacologic response in social isolation-reared mice. *Behavioural Brain Research*. 2009; 202(1):114-21. [DOI:10.1016/j.bbr.2009.03.028] [PMID]
- [25] Amiri S, Haj-Mirzaian A, Rahimi-Balaei M, Razmi A, Kordjazy N, Shirzadian A, et al. Co-occurrence of anxiety and depressive-like behaviors following adolescent social isolation in male mice; possible role of nitrenergic system. *Physiology & Behavior*. 2015; 145:38-44. [DOI:10.1016/j.physbeh.2015.03.032] [PMID]
- [26] Karkhanis AN, Rose JH, Weiner JL, Jones SR. Early-life social isolation stress increases kappa opioid receptor responsiveness and down-regulates the dopamine system. *Neuropsychopharmacology*. 2016; 41(9):2263-74. [DOI:10.1038/npp.2016.21] [PMID] [PMCID]
- [27] Smith MA, Chisholm KA, Bryant PA, Greene JL, McClean JM, Stoops WW, et al. Social and environmental influences on opioid sensitivity in rats: Importance of an opioid's relative efficacy at the mu-receptor. *Psychopharmacology*. 2005; 181(1):27-37. [DOI:10.1007/s00213-005-2218-2] [PMID]
- [28] Porkess MV. The impact of social isolation on rat behaviour [PhD dissertation]. Nottingham: University of Nottingham; 2008.
- [29] Coudereau JP, Stain F, Drion N, Sandouk P, Monier C, Debray M, et al. Effect of social isolation on the metabolism of morphine and its passage through the blood-brain barrier and on consumption of sucrose solutions. *Psychopharmacology*. 1999; 144(3):198-204. [DOI:10.1007/s002130050994] [PMID]

- [30] McNally GP, Pigg M, Weidemann G. Opioid receptors in the midbrain periaqueductal gray regulate extinction of pavlovian fear conditioning. *Journal of Neuroscience*. 2004; 24(31):6912-9. [DOI:10.1523/JNEUROSCI.1828-04.2004] [PMID] [PMCID]
- [31] Barke KE, Hough LB. Morphine-induced increases of extracellular histamine levels in the periaqueductal grey in vivo: A microdialysis study. *Brain Research*. 1992; 572(1-2):146-53. [DOI:10.1016/0006-8993(92)90463-J]
- [32] Sanders MJ, Kieffer BL, Fanselow MS. Deletion of the mu opioid receptor results in impaired acquisition of Pavlovian context fear. *Neurobiology of Learning and Memory*. 2005; 84(1):33-41. [DOI:10.1016/j.nlm.2005.03.001] [PMID]
- [33] Heidbreder CA, Weiss IC, Domeney AM, Pryce C, Homberg J, Hedou G, et al. Behavioral, neurochemical and endocrinological characterization of the early social isolation syndrome. *Neuroscience*. 2000; 100(4):749-68. [DOI:10.1016/S0306-4522(00)00336-5]