

مقاله پژوهشی

## مواجهه موش‌های صحرایی نر با مورفین در دوره‌ی نوجوانی شدت سندرم محرومیت از مورفین و بی‌زاری مکانی شرطی شده در بزرگسالی را افزایش می‌دهد

سارا سبوتی<sup>۱</sup>، سید محمد احمدی سلیمانی<sup>۲</sup>، حسین عزیزی<sup>۱\*</sup>

۱. گروه فیزیولوژی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران  
۲. گروه فیزیولوژی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تربت حیدریه، تربت حیدریه، ایران

پذیرش: ۲۶ آبان ۱۳۹۹

دریافت: ۲۹ شهریور ۱۳۹۹

### چکیده

**زمینه و هدف:** نوجوانی یک مقطع زمانی حساس رشد مغزی در نظر گرفته می‌شود که تغییرات ماندگار مغزی می‌تواند در آن رخ دهد. شواهدی وجود دارد که نشان‌دهنده افزایش چشمگیر سوء مصرف اویپات‌ها در میان نوجوانان در سال‌های اخیر است. با وجود مطالعات زیادی که در زمینه اثرات مصرف داروهای مخدر انجام شده است، اثرات بلند مدت نورویولوژیک و رفتاری مواجهه با اویپات‌ها در نوجوانی که به عنوان دوران حساس بلوغ سیستم عصبی در نظر گرفته می‌شود، به میزان زیادی ناشناخته باقی مانده است. در این مطالعه به بررسی مواجهه مزمن با مورفین در دوران نوجوانی و اثرات بلندمدت آن بر علائم فیزیکی و بی‌زاری محرومیت از مورفین القایی با نالوکسان در موش‌های صحرایی وابسته به مورفین در طی بزرگسالی می‌پردازیم.

**روش‌ها:** در این مطالعه به موش‌های صحرایی نر نوجوان (۳۱ روزه) دوز افزایشی ۵/۲ میلی‌گرم/کیلوگرم مورفین (۲۵-۲/۵ میلی‌گرم/کیلوگرم) به صورت زیر جلدی روزی دو بار به فاصله هر ۱۲ ساعت یکبار به مدت ده روز تزریق شد. سپس در دوران بزرگسالی موش‌های صحرایی (۶۰ روزه) آزمون رفتاری بی‌زاری مکان شرطی شده به دنبال ایجاد وابستگی در آن‌ها جهت بررسی جنبه‌های انگیزشی منفی سندرم محرومیت از مورفین القا شده با نالوکسان انجام گردید. همچنین در همین حیوانات پس از تزریق نالوکسان علائم رفتاری سندرم محرومیت از مورفین ثبت و بررسی شد.

**یافته‌ها:** نتایج نشان داد که مواجهه مزمن موش صحرایی نر با مورفین در نوجوانی به طور معنی‌داری سبب افزایش علائم فیزیکی و بی‌زاری ناشی از محرومیت مورفین (القایی با نالوکسون) در همین موش‌ها در بزرگسالی می‌شود.

**نتیجه‌گیری:** مواجهه مزمن با مورفین در نوجوانی که دوره مهمی در تکامل مغز محسوب می‌شود، می‌تواند سبب بروز تغییرات ماندگار رفتاری و نورویولوژیک در سیستم عصبی گردد که موجب تغییر در روند محرومیت از مورفین در بزرگسالی شود.

**واژه‌های کلیدی:** بی‌زاری مکان شرطی شده، سندرم محرومیت از مورفین، موش صحرایی، نوجوانی

### مقدمه

با مصرف غیرقانونی یا به دنبال درمان طولانی مدت درد مزمن ایجاد می‌شود [۲].  
مصرف مکرر داروها باعث ایجاد آثار نامطلوبی در بدن می‌شود که از آن جمله می‌توان تحمل، وابستگی روانی و وابستگی فیزیکی را نام برد. اعتیاد به استفاده اجباری از دارو، بدون توجه به عواقب ناخوشایند آن اطلاق می‌شود. مکانیسم‌های اعتیاد به اویپات‌ها پیچیده و وابسته به فاکتورهای بسیاری می‌باشد که مکانیسم دقیق آن شناخته نشده است.

کمتر پدیده‌ای را می‌توان یافت که همانند اعتیاد جوامع بشری را مورد تهدید قرار داده باشد. سوء مصرف مواد مخدر یکی از معضلات جهانی است که هر جامعه با توجه به ویژگی‌های خاص افراد خود به نحوی از آن رنج می‌برد. بر اساس گزارش جهانی دارو در سال ۲۰۱۷، ۲۹/۵ میلیون نفر در دنیا از مشکل سوء مصرف مواد رنج می‌برند که در بین این مواد اویپات‌ها پرخطرتر از سایر مواد هستند [۱]. اعتیاد به اویپات‌ها

انگیزشی منجر به بروز رفتارهای پرخطر مانند اعتیاد در نوجوانی می‌شود [۷].

مطالعات انسانی حاصل از تصویربرداری‌های مختلف و هم‌چنین مطالعات حیوانی بر روی تغییرات ساختاری، نوروشیمیایی و عملکرد مغز در طول تکامل باعث ایجاد یک تئوری در مورد نوجوانی شده است که به مدل تکامل ناهمگن مغز معروف است. بر اساس این نظریه، مناطق تحت قشری درگیر در پاداش و مناطق کنترلی پیش‌پیشانی در طول تکامل به طور متفاوتی تعامل برقرار می‌کنند. به طور اختصاصی‌تر می‌توان گفت که ارتباطات تحت قشری نواحی مزولیمبیک مانند هسته اکومینس و آمیگدال که در پردازش و پاسخ به محرک‌های پاداش، ناخوشایند و هیجان‌انگیز نقش دارند، زودتر از ارتباطات کنترلی پیش‌پیشانی که در کنترل شناختی و کنترل نواحی زیرقشری نقش اساسی دارند تکامل پیدا می‌کنند [۸]. در واقع روند بلوغ مغزی از نواحی خلفی به قدامی صورت می‌گیرد و نواحی کنترل انگیزش در قشر پیش‌پیشانی از آخرین نواحی است که به بلوغ می‌رسد؛ درحالی‌که نواحی مغزی مربوط به پاداش در این دوره بیش‌فعال می‌شوند [۹]. این عدم‌تعادل تکاملی باعث می‌شود که در دوران نوجوانی تکیه‌ی بیشتری بر مناطق انگیزشی تحت قشری وجود داشته باشد تا مناطق پیش‌پیشانی. این تئوری در مقایسه با دوران بزرگسالی که این سیستم‌های مغزی به طور کامل تکامل یافته‌اند و دوران کودکی که این سیستم‌ها در حال تکامل هستند، بوجود آمده است. با افزایش سن و تجربه‌ی فردی، ارتباطات بین این مناطق مغزی تقویت شده و باعث ایجاد مکانیسم‌های تعدیلی بالا به پایین<sup>۴</sup> شده که روی رفتارهای احساسی که از طرف مناطق تحت قشری ایجاد می‌شوند، عمل می‌کند. در نتیجه‌ی این وقایع، ظرفیت کنترل شخص روی خود افزایش می‌یابد [۱۰].

علی‌رغم فقدان اطلاعات و بررسی‌های جامع، شواهد جمع‌آوری شده بیان می‌کنند که مصرف مواد مخدر در دوره نوجوانی اثرات مختلفی را متفاوت از آنچه که مصرف متعاقب آن در بزرگسالی در پی دارد، ایجاد می‌کند. وقوع تغییرات تکاملی در سیستم عصبی مرکزی در نوجوانی، این دوره را به یک دوره حساس و آسیب‌پذیر در برابر اثرات ماندگار سوءمصرف مواد تبدیل می‌کند. امروزه انواع تاثیراتی که الکل یا

مصرف داروهایی که شادی، بی‌تفاوتی نسبت به محرک‌ها و آرامش به دنبال دارند، باعث پیدایش نوعی ولع روانی جهت استفاده مجدد آن‌ها می‌شود. بر این اساس، رفتار جستجوگرایانه برای دارو<sup>۱</sup> ایجاد می‌شود که این رفتار نشانه وابستگی روانی به ماده‌ای است که تحریک کننده سیستم پاداشی مغز می‌باشد. داروهایی که وابستگی روانی ایجاد می‌کنند قادرند وابستگی فیزیکی نیز ایجاد کنند. این نوع وابستگی هنگامی بروز می‌کند که محرومیت از دارو موجب ایجاد سندرم قطع، ترک یا پرهیز شود که انعکاسی از واکنش انحرافی بدن نسبت به رهایی از اثرات فارماکولوژیک حاد دارو است. مهم‌ترین علائم سندرم ترک اویپات‌ها تهوع، استفراغ، اسهال، اضطراب و پرخاشگری، تند شدن تنفس، سختی عضلانی، لرز، هیپوترمی و افزایش ضربان قلب است [۳]. سندرم محرومیت می‌تواند به علت کاهش دسترسی به دارو و یا کاهش آن در بدن ایجاد گردد؛ این نوع از سندرم را سندرم محرومیت خودبخودی<sup>۲</sup> می‌نامند. همچنین می‌توان آن را با وارد ساختن عامل ممانعت‌کننده عمل دارو (آنتاگونیست) ایجاد نمود که آنرا سندرم محرومیت القایی<sup>۳</sup> می‌نامند [۴].

بررسی‌ها نشان می‌دهند که اعتیاد به مواد مخدر فقط در بخشی از افراد مواجهه یافته ایجاد می‌شود. این مطلب حاکی از آن است که علاوه بر ویژگی‌های ماده‌ی مخدر، فاکتورهای فردی هم در شکل‌گیری اعتیاد نقش دارند. این فاکتورها شامل مواجهه قبلی با مواد مخدر، سن شروع مصرف مواد مخدر و عوامل ژنتیکی می‌باشد [۵]. بررسی‌های اخیر نشان می‌دهند که در طول دهه‌ی گذشته استفاده از مواد اعتیادآور به طور چشمگیری در بین نوجوانان افزایش یافته است.

نوجوانی دوره‌ی گذار از کودکی به بزرگسالی است که به طور تقریبی معادل ۱۲-۱۸ سالگی در انسان و ۲۸-۴۲ روزگی در موش صحرایی است. این دوره در گونه‌های مختلف پستانداران، شامل انسان‌ها و جوندگان با تغییرات رفتاری و فیزیولوژیکی مشابهی همراه است. در دوران نوجوانی و اوایل بلوغ، مغز به رشد و تکامل خود ادامه می‌دهد، به خصوص نواحی از مغز که برای تفکر و تصمیم‌گیری ضروری هستند [۶]. تغییرات دینامیک و نامتعادل ساختاری و عصبی-شیمیایی در نواحی مغزی مرتبط با فرآیند پاداش، عملکردهای شناختی و

<sup>1</sup>Drug-seeking behavior

<sup>2</sup>Spontaneous withdrawal syndrome

<sup>3</sup>Precipitated withdrawal syndrome

<sup>4</sup>Top-down modulatory mechanisms

کنترل دما در محدوده‌ی ثابت (دمای  $2 \pm 23$  درجه سانتی‌گراد) و شرایط نوری حیوانات به صورت ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی رعایت می‌شد (شروع روشنایی ساعت ۷ صبح). هم‌چنین آب و غذا به میزان کافی و به صورت آزاد در دسترس حیوانات قرار می‌گرفت. رطوبت تابع شرایط رطوبتی هوای آزاد بود. پیش از شروع آزمایشات زمان لازم برای سازش حیوانات با محیط آزمایشگاه رعایت می‌شد. کلیه آزمایش‌ها با رعایت اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی که توسط کمیته اخلاق پزشکی دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس تایید شده است (شماره IR.modares.rec.1397,108)، انجام می‌گرفت. آزمایش‌ها همیشه در ساعت معینی از صبح تا ظهر (هشت صبح تا دو بعد از ظهر) انجام می‌گرفت تا اثر ریتم‌های شبانه‌روزی بدن حیوانات بر داده‌های آزمایشی به حداقل برسد. برای مطالعه رفتاری اثر انگیزشی منفی (بیزاری) محرومیت از مورفین القا شده با نالوکسان از آزمون بیزاری مکان شرطی استفاده شد [۱۷]. بعلاوه در این آزمون علائم جسمانی سندرم محرومیت از مورفین نیز ثبت و بررسی گردید.

### مواجهه مزمن موش صحرایی نر با مورفین طی نوجوانی

موش‌های ۳۱ روزه به صورت تصادفی برای تزریق سالین یا مورفین تقسیم می‌شدند. تزریق مورفین با دوز ۲/۵ میلی-گرم/کیلوگرم مورفین، دو بار در روز (۸ صبح و ۵ بعد از ظهر) بصورت زیرجلدی آغاز می‌شد. در روزهای متوالی بعد، دوز مورفین روزانه به میزان ۲/۵ میلی‌گرم/کیلوگرم افزایش می‌یافت تا در نهایت به دوز ۲۵ میلی‌گرم/کیلوگرم در روز دهم برسد [۱۸]. ۲۰ روز بعد از آخرین تزریق مورفین (۶۰ روزگی) آزمون رفتاری انجام می‌شد.

### آزمون بیزاری مکان شرطی شده<sup>۵</sup>

دستگاهی که در آزمون بیزاری مکان شرطی شده استفاده می‌شود از جنس پلکسی‌گلاس و شامل محفظه‌های اصلی A و B و محفظه‌ی خنثی C که رابط دو محفظه‌ی اول و دوم است، می‌باشد. دو محفظه‌ی اصلی در ابعاد  $30 \times 30 \times 40$  می‌باشد. دیوارها و کف هر محفظه دارای خصوصیات منحصر

دیگر مواد مخدر می‌توانند بر سیستم عصبی در نوجوانی القا کنند از نظر ماندگاری اثرات و تفاوت آنها با بزرگسالی، مورد توجه محققان قرار گرفته است. اطلاعات کافی در این زمینه وجود دارد که مصرف این مواد در نوجوانی تغییرات بلند مدتی را در سیستم عصبی ایجاد می‌کند که به عنوان تغییرات شناختی در نظر گرفته می‌شوند [۱۱]. شواهد اپیدمیولوژیکی از مطالعات انسانی نشان دهنده این است که نوجوانانی که از مواد مخدر استفاده می‌کنند، بیشتر در خطر سوءمصرف این مواد در بزرگسالی هستند [۱۲].

استفاده از اپیوئیدها عوارض جانبی از جمله تحمل، وابستگی، نارسایی تنفسی و یبوست در پی دارد. علاوه بر این عوارض، مصرف طولانی‌مدت این داروها باعث ایجاد وابستگی و اعتیاد در برخی افراد شده که منجر به تداوم استفاده از دوزهای افزایشی به منظور جلوگیری از بروز علائم سندرم محرومیت می‌شود [۱۳]. قطع مصرف اپیوئیدها یا تزریق نالوکسان به دنبال ایجاد وابستگی، سندرم محرومیت را به همراه دارد [۱۴]. نالوکسان که عموماً به منظور خنثی نمودن اثرات مصرف بیش از حد اپیوئیدها استفاده می‌شود، یک آنتاگونیست رقابتی بوده که بر گیرنده‌های مو عمل کرده و فعالیت‌های اپیوئیدها را در گیرنده‌های خود مسدود می‌کند و باعث بروز سندرم محرومیت می‌شود [۱۵]. سندرم محرومیت شامل علائم فیزیکی و اثرات انگیزشی منفی می‌باشد [۱۴]. این اثرات انگیزشی منفی برای فرد معتاد بسیار ناخوشایند است. مطالعات نشان می‌دهند برخلاف علائم فیزیکی محرومیت که در عرض چند روز از بین می‌روند، اثرات انگیزشی برای هفته‌ها تا ماه‌ها باقی می‌مانند و عامل مهمی در بازگشت به مصرف مواد مخدر محسوب می‌شوند [۱۶]. بنابراین با توجه به اهمیت دوره‌ی نوجوانی بر روند شکل‌گیری اعتیاد و سندرم محرومیت، با استفاده از تزریق مورفین در این دوره به موش‌های صحرایی، اثرات بلند مدت مواجهه با مورفین در نوجوانی بر علائم فیزیکی و روانی سندرم محرومیت در بزرگسالی بررسی شد.

### مواد و روش‌ها

در این مطالعه، از موش صحرایی نر نژاد ویستار و در محدوده سنی ۲۳ تا ۲۵ روزگی استفاده شد. حیوانات به تعداد چهار سر در قفس‌های پلکسی‌گلاس نگهداری می‌شدند.

<sup>5</sup>Conditioned place aversion

ساعت پس از تزریق مورفین در نوبت صبح، هر حیوان به صورت جداگانه یک حجم مشخص سالین را به صورت داخل صفاقی دریافت کرده و بلافاصله به مدت سی دقیقه در یکی از محفظه‌های دستگاه مکان شرطی، به صورت تصادفی قرارداده می‌شد. در روز دوازدهم، دو ساعت بعد از تزریق مورفین در نوبت صبح هر حیوان یک مقدار مشخص از نالوکسان (۲ میلی‌گرم/کیلوگرم) را به صورت داخل صفاقی دریافت کرده و بلافاصله به مدت سی دقیقه در محفظه‌ی مقابل با محفظه سالین، قرار داده می‌شد. تزریق نالوکسان در حیوانات وابسته به مورفین منجر به بروز علائم جسمانی سندرم محرومیت از مورفین می‌شود که مورد بررسی قرار می‌گرفت. این علائم شامل دندان‌قروچه، دفع مدفوع، پرش، روی پاها ایستادن، دل پیچه، لرزش سر، اسهال، کاهش وزن، افتادگی پلک، لرزش پاهای جلویی و جویدن می‌باشد. لازم به ذکر است که در طول دوره‌ی ۱۳ روزه‌ی تزریق مورفین، وزن روزانه‌ی حیوانات با استفاده از ترازوی واحد و در زمانی واحد ثبت می‌گردید. از وزن حیوانات بلافاصله قبل و بعد از تزریق نالوکسان نیز اندازه‌گیری به عمل می‌آمد.

پ: مرحله پس از شرطی‌سازی<sup>۸</sup>

در روز سیزدهم، دو ساعت بعد از تزریق مورفین در نوبت صبح، با برداشتن درب گیوتینی به حیوان اجازه داده می‌شد تا آزادانه به مدت پانزده دقیقه به جست‌وجو در دستگاه بپردازد. اختلاف زمان سپری‌شده در محفظه‌ی دریافت نالوکسان از محفظه‌ی سالین بیانگر نمره شرطی‌شدن<sup>۹</sup> می‌باشد. تغییر مکان حیوانات به وسیله یک دوربین که یک متر بالاتر از دستگاه مکان شرطی قرار گرفته بود ثبت و به وسیله نرم‌افزار اتوویشن (version XT11) مورد آنالیز قرار می‌گرفت. در این آزمون مدت زمان حضور در هر محفظه و کل مسافت طی شده به وسیله نرم‌افزار مذکور اندازه‌گیری می‌شد. داروهای مورد استفاده در این بخش شامل مورفین سولفات (تماد) و نالوکسان (سیگما) می‌باشند. پودر مورفین و نالوکسان در سرم فیزیولوژیک حل می‌شدند. گروه‌های مورد مطالعه شامل (۱) موش‌هایی که در نوجوانی ده روز، روزی دو بار در معرض مورفین بوده و در بزرگسالی نیز ده روز، روزی دو بار مورفین دریافت کردند؛ (۲) موش‌هایی که در نوجوانی ده روز، روزی دو بار در معرض

به فردی می‌باشد. محفظه‌ی A از دیواره‌هایی به رنگ مشکی با نوارهای سفید رنگ افقی به پهنای دو سانتی‌متر و کف زبر سفید رنگ و محفظه‌ی B از دیواره‌هایی به رنگ مشکی با نوارهای سفید رنگ عمودی به پهنای دو سانتی‌متر و کف صاف مشکی رنگ تشکیل شده است. دیواره و کف محفظه‌ی C نیز در ابعاد  $15 \times 30 \times 40$  و به رنگ قرمز است. بین محفظه‌های A و B و C یک درب گیوتین مانند وجود دارد که محفظه‌ها را از هم جدا می‌کند. قبل از انجام آزمون، حیوانات به منظور عادت پیدا کردن به شرایط آزمایشگاه و کاهش استرس، به مدت سه روز، روزی یک ساعت در محیط آزمایشگاه قرار می‌گرفتند. ضمن این که تمام آزمایش‌ها توسط یک نفر انجام می‌گرفت.

برای ایجاد وابستگی به مورفین، تزریق زیر جلدی مورفین ۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم، دو بار در روز به فاصله ۱۲ ساعت طی ۱۳ روز انجام می‌شد. در هر بار تزریق، مورفین بصورت تازه توزین و در نرمال سالین حل می‌شد (۱۰ میلی‌گرم مورفین سولفات در ۲ میلی‌لیتر نرمال سالین). تزریق زیر جلدی در ناحیه پشت گردن و کتف انجام می‌گرفت. از بین روش‌های مختلف برای ایجاد وابستگی، در روش تزریقی کنترل دقیق‌تری بر میزان دریافت مورفین در حیوان وجود دارد. از روز دهم پروتکل تزریق، آزمون بیزاری مکان شرطی شده انجام می‌گرفت. برای انجام این آزمون از دستگاه مکان شرطی که در قسمت قبل به تفسیر پرداختیم استفاده شد. این آزمون در چهار روز متوالی انجام شده و شامل سه فاز مختلف شامل پیش‌شرطی‌سازی، شرطی‌سازی و پس از شرطی‌سازی است [۱۷].

الف: مرحله‌ی پیش‌شرطی‌سازی<sup>۶</sup>

در روز دهم، دو ساعت بعد از تزریق مورفین در نوبت صبح، حیوان در بخش میانی دستگاه مکان شرطی قرار گرفته و با برداشتن درب گیوتینی اجازه داده می‌شد تا به مدت پانزده دقیقه آزادانه به جست‌وجو در بخش‌های مختلف دستگاه بپردازد. مسافت طی شده و مدت زمانی که در هر محفظه سپری شده است به واسطه‌ی دوربین تعبیه شده در بالای دستگاه و برنامه‌ی اتوویشن اندازه‌گیری می‌شد.

ب: مرحله شرطی‌سازی<sup>۷</sup>

این مرحله طی دو روز انجام می‌شود. در روز یازدهم دو

<sup>۸</sup>Post-conditioning

<sup>۹</sup>Conditioning score

<sup>۶</sup>Pre-conditioning

<sup>۷</sup>Conditioning

## بحث

در مطالعه فوق میزان بی‌زاری در گروهی از موش‌های صحرایی که در نوجوانی در معرض مورفین بودند بطور معنی‌داری از گروهی که در نوجوانی سالیان دریافت کرده بودند بیشتر بود. اما فعالیت حرکتی و مقدار مسافت طی شده توسط دو گروه تفاوت معنی‌داری باهم نداشتند. در بررسی علائم فیزیکی محرومیت از مورفین القایی با نالوکسان، دیده شد علائمی مانند تیمار کردن، دندان قروچه، خاراندن و فین کردن در گروهی که در نوجوانی در معرض مورفین بودند نسبت به گروه کنترل بیشتر بود اما در سایر علائم تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.

از عدم تفاوت در فعالیت حرکتی می‌توان نتیجه گرفت که افزایش معنی‌دار در بی‌زاری محرومیت از مورفین القایی با نالوکسان در حیوانات تیمار شده با مورفین در نوجوانی ناشی از اختلالات ایجاد شده در مدارهای نورونی مرتبط با حرکت حیوان نبوده، بلکه مراکز عصبی کنترل‌کننده اثرات انگیزشی منفی در این حیوانات دستخوش تغییر شده است. به عبارت دیگر با توجه به تفاوت در بروز برخی علائم فیزیکی سندرم محرومیت از مورفین و عدم تفاوت در مسافت طی شده به نظر می‌رسد که این دو رفتار توسط مدارهای مغزی متفاوتی واسطت می‌شوند. چنین حالتی در مطالعه اخیر این گروه نیز مشاهده شده است [۱۷].

در بررسی مکانیسم‌های احتمالی نتایج فوق، شاید بتوان بیشترین احتمال را برای پدیده‌ی حساس‌سازی<sup>۱۰</sup> به مورفین مطرح نمود. به عبارت دیگر ممکن است مواجهه مزمن با مورفین در طی نوجوانی، که در آن مغز استعداد بالایی برای تغییرات سیناپسی دارد، منجر به تغییراتی در سطح گیرنده‌های مورفین و نیز مسیرهای پیام‌رسان داخل سلولی ایجاد کرده باشد که نتیجه‌ی آن وابستگی شدیدتر و متعاقباً بروز علائم محرومیت شدیدتر در حیوان است. البته باید توجه داشت که سازوکارهای سلولی وابستگی، تحمل و حساس‌سازی به مورفین تا حد زیادی مستقل از یکدیگر عمل می‌کنند و به نظر می‌رسد به موازات کاهش پاسخ‌دهی گیرنده‌ها به آگونیست‌های اوپیوئیدی، مسیرهای پیش‌برنده‌ی درد می‌توانند از طرق مختلف نظیر تقویت گیرنده‌های NMDA<sup>۱۱</sup> در پیش سیناپس فعال

مورفین بوده و در بزرگسالی ده روز، روزی دو بار سالیان دریافت کردند؛ (۳) موش‌هایی که در نوجوانی ده روز، روزی دو بار سالیان و در بزرگسالی ده روز، روزی دو بار مورفین دریافت کردند؛ (۴) موش‌هایی که در نوجوانی ده روز، روزی دو بار سالیان و در بزرگسالی نیز ده روز، روزی دو بار سالیان دریافت کردند، می‌باشند. تمام گروه‌ها در صبح روز دوازدهم آزمون بی‌زاری مکان شرطی شده، یک‌بار دوز ۲ میلی‌گرم/کیلوگرم نالوکسان را دریافت کردند.

برای آنالیز داده‌ها از آزمون واریانس دو طرفه استفاده شد. نتایج به صورت میانگین  $\pm$  خطای استاندارد از میانگین نشان داده شده است.

## یافته‌ها

بی‌زاری مکان شرطی شده مدل مناسبی جهت بررسی اثرات انگیزشی منفی محرومیت از مواد مخدر در حیوان وابسته می‌باشد. براساس مطالعات، سندرم محرومیت از مورفین القایی با نالوکسان شامل مجموعه‌ای از اثرات انگیزشی منفی (بی‌زاری) و علائم فیزیکی می‌باشد. در این مطالعه، اثر مواجهه مزمن موش صحرایی نر با مورفین در نوجوانی بر بی‌زاری و علائم فیزیکی محرومیت از مورفین در حیوانات وابسته به مورفین در بزرگسالی مورد بررسی قرار گرفت.

نتیجه این مطالعه نشان داد بی‌زاری مکان شرطی شده در حیوانات وابسته‌ای که در نوجوانی در معرض مورفین قرار گرفته بودند نسبت به گروه کنترل افزایش یافته است. مقدار P و F بین گروه‌های مورفین-مورفین و سالیان-مورفین ۰/۰۰۵۲ و ۱۰/۱۳، بین گروه‌های سالیان-مورفین و سالیان-سالیان ۰/۰۲۱۲ و ۶/۳۷۲ و بین گروه‌های مورفین-مورفین و مورفین-سالیان ۰/۰۰۰۷ و ۱۶/۴۳ می‌باشد (نمودار ۱).

بعلاوه همان‌گونه که در نمودار ۲ دیده می‌شود، بروز برخی علائم فیزیکی محرومیت از مورفین شامل تیمار کردن، دندان قروچه، خاراندن و فین کردن در گروهی که در نوجوانی در معرض مورفین بودند بیشتر بود. مقدار P و F بین گروه‌های مورفین-مورفین و سالیان-مورفین در علائم تیمار کردن، دندان قروچه، خاراندن و فین کردن به ترتیب ۰/۰۰۱۱ و ۱۴، ۰/۰۰۰۱ و ۴۳/۹۶، ۰/۰۰۰۴ و ۱۷/۸۱، ۰/۰۰۵۱ و ۱۲/۱۵ می‌باشد. در بررسی مسافت طی شده توسط حیوانات، فعالیت حرکتی دو گروه تفاوت معنی‌داری باهم نداشت.

<sup>10</sup>Sensitization

<sup>11</sup>N-methyl-D-aspartate

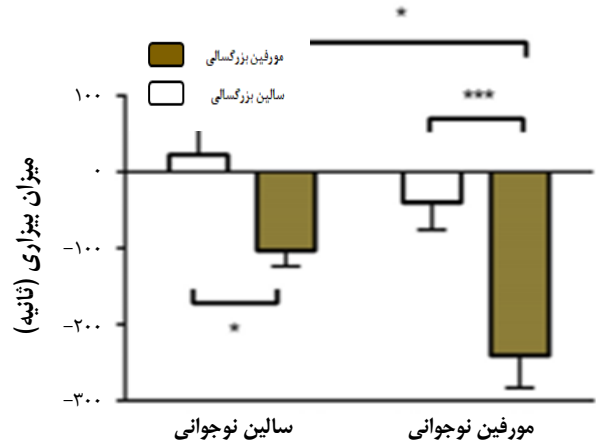
ممکن است مواجهه مزمن موش صحرایی نر با مورفین در نوجوانی، با افزایش فعالیت میکروگلیای مغزی از طریق اثرات بلند مدت خود در افزایش بیان گیرنده‌های TLR4 در میکروگلیاها یا پروتئین‌های دخیل در مسیر سیگنالینگ آن‌ها، بخشی از اثرات خود را در بزرگسالی اعمال کند.

به دنبال قطع مصرف اوپیات‌ها، نورون‌های نورآدرنژیک مرکزی، فعالیت بیش از حدی پیدا می‌کنند و نوراپی‌نفرین به میزان زیادی آزاد می‌شود که در ایجاد پاسخ‌های فیزیکی مختلف سندرم محرومیت نقش دارد. علاوه بر سیستم نورآدرنژیک، نواحی مغزی مرتبط با فاکتور آزادکننده‌ی کورتیکوتروپین نیز فعال می‌شوند. مطالعات نشان می‌دهند که فاکتور آزادکننده‌ی کورتیکوتروپین در پاسخ‌های رفتاری به عوامل استرس‌زا نقش دارد به طوری که تزریق داخل بطنی فاکتور آزادکننده‌ی کورتیکوتروپین، سبب افزایش بیزاری مکان شرطی‌شده ناشی از سندرم محرومیت و افزایش آستانه‌ی پاداش در مغز می‌گردد.

هم‌چنین براساس مطالعات، بین نوراپی‌نفرین و فاکتور آزادکننده‌ی کورتیکوتروپین نوعی اثر تقویتی بر ترشح و عملکرد وجود دارد. به طوری که نوراپی‌نفرین باعث افزایش رهاش فاکتور آزادکننده‌ی کورتیکوتروپین می‌شود و فاکتور آزادکننده‌ی کورتیکوتروپین هم عملکرد نوراپی‌نفرین در پل مغزی را تقویت می‌کند [۲۲]. با توجه به شواهد مذکور و نتایج این مطالعه مبنی بر افزایش اثرات انگیزشی منفی و علائم فیزیکی محرومیت از مورفین در گروهی که در نوجوانی در معرض مورفین قرار داشتند، این امکان وجود دارد که مواجهه مزمن موش صحرایی نر با مورفین در نوجوانی سبب افزایش بیان فاکتور آزادکننده‌ی کورتیکوتروپین، نوراپی‌نفرین و گیرنده‌های آن‌ها در بزرگسالی شود که مطالعات بیشتری برای روشن شدن این مطلب نیاز است.

گیرنده‌های اوپیاتی کاپا رفتارهای انگیزشی را تنظیم می‌کنند و در میزان آسیب‌پذیری به اعتیاد نقش دارند. این گیرنده‌ها به صورت پیش‌سیناپسی در نورون‌های دوپامینرژیک، سروتونرژیک و گلوتاماترژیک که به هسته‌ی آکومبیس وارد می‌شوند و به‌صورت پس‌سیناپسی بر روی دندریت‌های اغلب نورون‌های خاردار متوسط هسته‌ی آکومبیس قرار دارند.

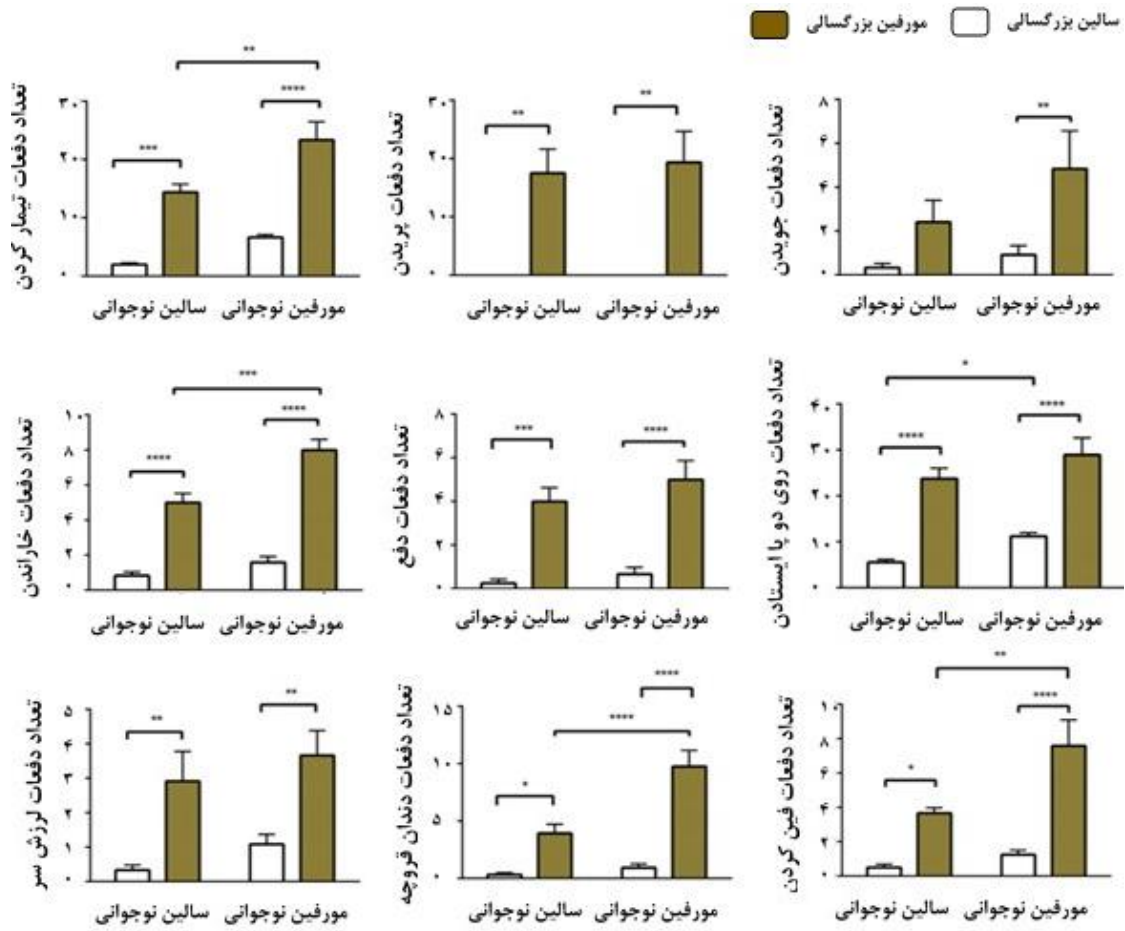
نورون‌های دینورفینی در هسته‌ی آکومبیس به‌میزان فراوانی وجود دارند. در این هسته، دینورفین توسط



**نمودار ۱-** اثر مواجهه مزمن موش صحرایی نر با مورفین در نوجوانی بر بیزاری مکان شرطی شده ناشی از سندرم محرومیت مورفین القایی با نالوکسان در حیوانات وابسته به مورفین طی بزرگسالی. مصرف مزمن مورفین در موش‌های صحرایی نر طی نوجوانی سبب افزایش معنی‌دار اثرات انگیزشی منفی محرومیت از مورفین در بزرگسالی نسبت به گروه کنترل شد. داده‌ها به‌صورت میانگین  $\pm$  خطای استاندارد از میانگین نشان داده شده‌اند. برای ارزیابی داده‌ها از آنالیز واریانس دوطرفه استفاده شد ( $p < 0.05$  و  $p < 0.001$ ).

گردند. این که فرایندهای سلولی مذکور به چه میزان و چگونه با هم در پیشبرد تظاهرات رفتاری عمل می‌کنند هنوز نیازمند مطالعات بیشتری است. علاوه بر یک مطالعه نشان داده شده است وقایعی که در طول نمو در سیستم عصبی صورت می‌گیرد می‌تواند بر تکامل و عملکرد طولانی مدت سلول‌های گلیا اثر بگذارد [۱۹، ۲۰]. مواجهه با مورفین در دوره‌ی نوجوانی، تکامل میکروگلیاهای مغزی را مختل می‌کند، در نتیجه رفتارهایی که به طور مستقیم تحت تاثیر عملکرد میکروگلیاها هستند از جمله اعتیاد دست‌خوش تغییر می‌شوند [۱۹]. مصرف مورفین در نوجوانی منجر به افزایش بیان گیرنده‌های TLR4<sup>12</sup> در سطح میکروگلیاها می‌شود، در این حالت در مواجهه مجدد با مورفین، میکروگلیاها بسیار فعال گشته و عوامل پیش‌التهابی آزاد می‌کنند [۱۲]. این عوامل پیش‌التهابی منجر به افزایش ایجاد وابستگی و بروز سندرم محرومیت، هم‌چنین بازگشت به مصرف مواد می‌شود [۲۱]. برای مثال در یک مطالعه دیده شده است حیواناتی که در مواجهه با مورفین در نوجوانی قرار داشته‌اند، این مواجهه سبب افزایش بازگشت و استفاده مجدد از مواد مخدر در بزرگسالی آن‌ها می‌گردد. بنابراین به نظر می‌رسد،

<sup>12</sup>Toll-like receptor 4



**نمودار ۲-** اثر مواجهه مزمن موش صحرایی نر با مورفین در نوجوانی بر علائم محرومیت از مورفین القا می‌شود با نالوکسان در حیوانات وابسته به مورفین طی بزرگسالی. داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  خطای استاندارد از میانگین نشان داده شده‌اند.  $p < 0.05$  و  $p < 0.001$  و  $p < 0.0001$  و  $p < 0.0001$  برای ارزیابی داده‌ها از آنالیز واریانس دوطرفه استفاده گردید (تعداد ۱۲ حیوان در هر گروه).

اوپیاتی دینورفین یا گیرنده‌های اوپیاتی کاپا در هسته‌ی آکومبسن حیواناتی که در نوجوانی در مواجهه مزمن با مورفین بوده‌اند وجود دارد.

### نتیجه‌گیری

در نتیجه با توجه به نتایج این مطالعه که نشان‌دهنده تأثیر طولانی مدت مواجهه با اپیوئیدها در نوجوانی بر جنبه‌های انگیزشی منفی سندرم محرومیت از مورفین در بزرگسالی بود و همچنین با توجه به افزایش مصرف مواد مخدر در میان نوجوانان، بررسی اثرات طولانی مدت مواجهه با این مواد در دوران نوجوانی می‌تواند بستری را برای درک روشن‌تری از عوارض و مشکلات این مصرف فراهم کرده و در جهت پیدا کردن راه‌های احتمالی برطرف نمودن این معضل جهانی، گامی مثبت بردارد.

نورون‌های خردار متوسطی که گیرنده‌های نوع یک دوپامینی بیان می‌کنند، تولید می‌شود. البته این اوپیات درون‌زاد توسط آوران‌هایی از نواحی دیگر مغزی نیز به هسته‌ی آکومبسن آزاد می‌شود [۲۳]. دینورفین در ناحیه‌ی شکمی هسته‌ی آکومبسن، از طریق گیرنده‌های اپیوئیدی کاپا در ایجاد بیزاری نقش دارد. مواجهه با مورفین و محرومیت از آن منجر به افزایش پپتیدهای شبه دینورفینی و مشتقات آن در این هسته می‌شود. این پپتیدهای شبه دینورفینی با تحریک گیرنده‌های اوپیاتی کاپا منجر به افزایش تحمل و کاهش اثرات پاداش ماده‌ی مخدر، افزایش علائم فیزیکی و انگیزشی سندرم محرومیت و نیز افزایش اضطراب می‌شوند [۲۴]. بنابراین با توجه به شواهد مذکور و نتایج مطالعه حاضر مبنی بر افزایش بیزاری و علائم فیزیکی سندرم محرومیت از مورفین در گروهی که در نوجوانی مورفین دریافت کرده بودند، احتمال افزایش بیان پپتیدهای شبه

## سپاسگزاری

این مقاله قسمتی از پایان‌نامه کارشناسی ارشد مصوب دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس می‌باشد.

## تعارض در منافع

نویسندگان این مقاله تعارض در منافع ندارند.

## ملاحظات مالی

این مطالعه با حمایت مالی دانشگاه تربیت مدرس صورت پذیرفته است.

## نقش نویسندگان

س.س: انجام مطالعه، جمع‌آوری و آنالیز داده‌ها، نگارش مقاله؛ م.ا: مشاوره و راهنمایی حین اجرای پژوهش و اصلاح مقاله؛ ح.ع: طراحی مطالعه، نظارت بر اجرای پژوهش و اصلاح مقاله.

## فهرست منابع

- [1] World Drug Report. United Nations Office on Drugs and Crime. 2017.
- [2] Laxmaiah M, Bert F, Hary A, Vidyasagar P, Therapeutic use, abuse, and nonmedical use of opioids: a ten-year perspective. *Pain Physician* 13 (2010) 401-435.
- [3] Katzung BG, Basic & Clinical Pharmacology. 14th Ed. McGraw-Hill education, 2018.
- [4] Georgescu D, Zachariou V, Barrot M, Mieda M, Willie JT, Eisch AJ, Yanagisawa M, Nestler EJ, DiLeone RJ, Involvement of the lateral hypothalamic peptide orexin in morphine dependence and withdrawal. *J Neurosci* 17 (2003) 3106-3111.
- [5] Kendler KS, Jacobson KC, Prescott CA, Neale MC, Specificity of genetic and environmental risk factors for use and abuse/dependence of cannabis, cocaine, hallucinogens, sedatives, stimulants, and opiates in male twins. *Psychiatry* 160 (2003) 687-695.
- [6] Spear LP, The adolescent brain and age-related behavioral manifestations. *Neurosci Biobehav Rev* 24 (2000) 417-463.
- [7] Yuan M, Cross SJ, Loughlin SE, Leslie FM, Nicotine and the adolescent brain. *J Physiol* 593 (2015) 3397-3412.
- [8] Somerville LH, Casey BJ, Developmental neurobiology of cognitive control and motivational systems. *Curr Opin Neurobiol* 20 (2010) 236-241.
- [9] James E, Kelly L, Steven B, Kerstin A, Daniel S, Michela M, Dopamine neurons in the ventral tegmental area fire faster in adolescent rats than in adults. *J Neurophysiol* 108 (2012) 1620-1630.
- [10] Casey B, Caudle K, The Teenage Brain: Self Control. *Psychol Sci* 22 (2013) 82-87.
- [11] Smith RF, Animal models of periadolescent substance abuse. *Neurotoxicol Teratol* 25 (2003) 291-301.
- [12] Schwarz JM, Bilbo SD, Adolescent morphine exposure affects long-term microglial function and later-life relapse liability in a model of addiction. *J Neurosci* 33 (2013) 961-971.
- [13] Waldhoer M, Bartlett SE, Whistler J, Opioid receptors. *Ann Rev Biochem* 73 (2004) 953-990.
- [14] Schulteis G, Markou A, Gold LH, Stinus L, Koob GF, Relative sensitivity to naloxone of multiple indices of opiate withdrawal: a quantitative dose-response analysis. *Pharmacol Exp Ther* 271 (1994) 1391-1398.
- [15] Megan E, Aversion No MOR: Mu-opioid receptors in habenular  $\beta_4$  neurons are key for naloxone aversion. *Neuropsychopharmacology* 45 (2019) 243-244
- [16] Stinus L, Caille S, Koob GF, Opiate withdrawal-induced place aversion lasts for up to 16 weeks. *Psychopharmacology* 149 (2000) 115-120.
- [17] Maryam A, Heinrich S, Hossein A, Paternal exposure to morphine during adolescence potentiates morphine withdrawal in male offspring: Involvement of the lateral paraventricular nucleus. *Psychopharmacology* 34 (2020) 1289-1299.
- [18] John J, Jessica A, Victoria F, Elizabeth M, Adolescent opioid exposure in female rats: transgenerational effects on morphine analgesia and anxiety-like behavior in adult offspring. *Behav Brain Res* 218 (2010) 200-205.
- [19] Bilbo SD, Tsang V, Enduring consequences of maternal obesity for brain inflammation and behavior of offspring. *FASEB J* 24 (2010) 2104-2115.
- [20] Williamson LL, Sholar PW, Mistry RS, Smith SH, Bilbo SD, Microglia and memory: Modulation by early-Life infection. *J Neurosci* 31 (2011) 15511-15521.
- [21] Schwarz JM, Hutchinson MR, Bilbo SD, Early-life experience decreases drug-induced reinstatement of morphine CPP in adulthood via microglial-specific epigenetic programming of anti-inflammatory IL-10 expression. *J Neurosci* 31 (2011) 17835-17847.
- [22] Koob GF, Corticotropin-releasing factor, norepinephrine, and stress. *Biol Psychiatr* 46 (1999) 1167-1180.
- [23] Al-Hasani R, McCall JG, Shin G, Gomez AM, Schmitz GP, Bernardi JM, Pyo CO, Park SI, Marcinkiewicz CM, Crowley NA, Krashes MJ, Lowell BB, Kash TL, Rogers JA, Bruchas MR, Distinct subpopulations of nucleus accumbens dynorphin neurons drive aversion and reward. *Neuron* 87 (2015) 1063-1077.
- [24] John E, Allison M, Kathryn C, The kappa-opioid receptor antagonist, nor-binaltorphimine (nor-BNI), decreases morphine withdrawal and the consequent conditioned place aversion in rats. *Behav Brain Res* 283 (2015) 16-21.



## Research paper

**Adolescent morphine exposure increases the intensity of withdrawal syndrome and conditioned place aversion in adulthood**Sara Sabuee<sup>1</sup>, Seyed Mohammad Ahmadi Soleimani<sup>2</sup>, Hosein Azizi<sup>1,\*</sup>

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

2. Department of Physiology, School of Paramedical Sciences, Torbat Heydariyeh University of Medical Sciences, Torbat Heydariyeh, Iran

Received: 1 September 2020

Accepted: 30 October 2020

**Abstract**

**Background and aims:** Adolescence is considered as a critical developmental period during which long-lasting changes occur in the brain. Accumulating evidence support the growing non-medical use of morphine during adolescence. However, the long-term neurobiological and behavioral effects of opiate exposure during this stage are still remained largely unexplored. The present study examined the long term effects of adolescent morphine exposure on withdrawal signs and the negative motivational aspects of morphine withdrawal syndrome induced by naloxone in adult morphine dependent rats.

**Methods:** Adolescent male Wistar rats (30 days old) were administered increasing doses of morphine (from 2.5 to 25 mg/kg, s.c.) every 12 h, for 10days. Control rats received saline with the same protocol. Thereafter, during adulthood (65 days old), they were rendered dependent on morphine and tested for opioid withdrawal-induced conditioned place aversion to investigate the negative motivational aspects of withdrawal syndrome induced by naloxone.

**Results:** Results showed that adolescent morphine treatment significantly increases the expression of morphine withdrawal signs and potentiates naloxone-induced conditioned place aversion in adult morphine dependent rats.

**Conclusion:** It can be concluded that chronic morphine treatment during adolescence in rats causes prolonged behavioral (and most probably neurobiological) changes in the central nervous system, which results in alteration of morphine withdrawal in adulthood.

**Keywords:** Conditioned place aversion, Morphine withdrawal syndrome, Rat, Adolescence

**Please cite this article as follows:**

Sabuee S, Ahmadi Soleimani SM, Azizi H, Adolescent morphine exposure increases the intensity of withdrawal syndrome and conditioned place aversion in adulthood. *Iran J Physiol Pharmacol* 4 (2020) 19-27.

\*Corresponding author: azizih@modares.ac.ir (ORCID ID: 0000-0001-8489-0861)