

## اثر استرس روانی و فیزیکی کنترل نشده در موش‌های ماده کوچک آزمایشگاهی نژاد NMRI باردار بر حساسیت رفتاری القاشده توسط مورفین در نسل دوم

حبیب‌ا... یاری‌بیگی<sup>۱</sup> MSc، هدایت صحرائی<sup>\*</sup> PhD، لیلا گل‌منش<sup>۲</sup> MSc

### چکیده

**اهداف.** مطالعات درباره تاثیر استرس مادر باردار بر تمایل فرزندان به مواد مخدر، نشان‌دهنده افزایش تمایل این فرزندان به مصرف مواد است. در این تحقیق، اثر استرس مادر باردار بر تغییر تمایل نسل دوم به مورفین در موش‌های کوچک نژاد NMRI بررسی شد.

**مواد و روش‌ها.** ۲۰ موش ماده باردار در دو گروه استرس و کنترل قرار گرفتند. گروه استرس به دو زیرگروه فیزیکی و روانی تقسیم شد. حیوانات تا روز بیستم بارداری هر روز به مدت یک ساعت به اتاق آزمایش منتقل شده و در "جعبه استرس" قرار گرفتند. در روزهای اول، هفتم و پانزدهم پس از القای استرس از حیوانات خون‌گیری شد تا میزان هورمون کورتیکوسترون مشخص شود. نسل دوم پس از رسیدن به وزن ۲۰ تا ۲۵ گرم وارد مطالعه شدند و حساسیت آنها به اثرات حرکتی مورفین (در سه دوز متفاوت ۵، ۵۰ و ۵۰۰ mg/kg) بررسی شد. سپس، میزان حساسیت گیرنده‌های دوپامینی، گیرنده‌های گلوتاماتی و میزان فعالیت NO بررسی شد.

**یافته‌ها.** استرس زمان بی‌اشتهایی در حیوانات گروه استرس را نسبت به گروه شاهد به صورت معنی‌داری افزایش داد. این نتایج با تغییرات غلظت هورمون کورتیکوسترون هم‌خوانی داشت. حیوانات نسل دوم که از مادران استرس دیده به وجود آمدند، نسبت به گروه کنترل پاسخ قوی‌تری به تزریق دوزهای متفاوت مورفین دادند (به خصوص در دوزهای ۵ و ۵۰ mg/kg). این پاسخ در گروه استرس روانی قوی‌تر بود. میزان فعالیت‌های دوپامینی، نیتریک‌اکساید و گلوتامات در نسل دوم کاهش یافت. **نتیجه‌گیری.** استرس نه تنها بر همان نسل، بلکه در نسل‌های بعدی نیز تمایل به مورفین را افزایش می‌دهد.

**کلیدواژه‌ها:** استرس روانی، استرس فیزیکی، مورفین، نسل دوم

## مقدمه

دلایل شروع مصرف داروهای اعتیادآور هنوز به خوبی شناخته نشده‌اند. تحقیقات مختلف اثر عوامل متعددی نظیر وراثت و محیط را در افزایش تمایل به مصرف مواد مخدر نشان داده‌اند. یکی از مهم‌ترین عوامل محیطی که نقش آن در بروز اعتیاد مورد مطالعه فراوان قرار گرفته، استرس است [۱، ۲، ۳]. تحقیقات مختلف نشان داده‌اند که استرس‌های گوناگون مانند شوک الکتریکی کف پا و نیز استرس شنای اجباری در آب سرد، می‌توانند القاکننده مصرف داروی مخدر مانند کوکائین در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی باشد [۴]. از سوی دیگر در تحقیقات زیادی نشان داده شده است که استرس می‌تواند عامل مهمی برای بازگشت به اعتیاد به هروئین و کوکائین در مدل‌های حیوانی و نیز انسان باشد [۵]. در مطالعه‌ای روی افراد ساکن در اطراف برج‌های دوقلوی تجارت جهانی در نیویورک مشخص شد که میزان مصرف الکل، سیگار و ماری‌جوانا در این افراد نسبت به زمان قبل از حوادث ۱۱ سپتامبر بیشتر شده است [۶]. همچنین تعداد زیادی از افراد ساکن در این نواحی پس از حوادث فوق به مصرف این مواد روی آورده بودند. استرس، بخشی جدایی‌ناپذیر از زندگی انسان شده که حتی می‌تواند در نسل بعد نیز تغییرات رفتاری ایجاد نماید [۶، ۷]. استرس را اصولاً به‌عنوان پاسخی که امکان بقای فرد را در شرایط تهدیدکننده زندگی افزایش دهد، تعریف کرده‌اند [۱]. این پاسخ‌ها ترکیبی از تغییرات رفتاری و پاسخ‌های اتونومیک و ترشح هورمون‌های مختلف هستند [۱]. فعال شدن محور "هیپوتالاموس-هیپوفیز-آدرنال" و سیستم "رئین-آنژیوتانسین" و نیز دستگاه عصبی خودکار نقش کلیدی در شکل‌گیری پاسخ‌های استرسی دارد [۱]. هیپوتالاموس کنترل‌کننده ترشح هورمون آدرنوکورتیکوتروپین (ACTH) از هیپوفیز قدامی است که آن هم به نوبه خود ترشح هورمون‌های گلوکوکورتیکوئید (در انسان عمدتاً کورتیزول) از قشر غده فوق کلیه را تحریک می‌کند [۸]. در هنگام بروز استرس، دامنه و فرکانس ترشح ACTH در سیستم باب هیپوفیزی به‌طور چشمگیری افزایش می‌یابد که منجر به افزایش سطح ACTH و ترشح کورتیزول یا سایر گلوکوکورتیکوئیدها می‌شود [۲]. گلوکوکورتیکوئیدها عمل‌کننده‌های نهایی محور "هیپوتالاموس-هیپوفیز-آدرنال" هستند که در کنترل هومئوستازی کل بدن و

پاسخ ارگانیزم به استرس شرکت دارند و نقش تنظیمی کلیدی در فعالیت پایه‌ی این محور و نیز خاتمه پاسخ استرس ایفا می‌کنند [۹].

مطالعات نشان داده‌اند که استرس دارای دو جزء روانی و فیزیکی است که از طریق مولفه‌های جدا اعمال می‌شود [۱]. تاثیر استرس بر مادر باردار تاکنون در مطالعات بسیاری بررسی شده است [۴]. اما تاثیر استرس بر نسل دوم از مادران در معرض استرس تاکنون مطالعه نشده است. به‌خصوص تاثیر اجزای مختلف استرس بر مادران باردار در نسل دوم تاکنون مقایسه نشده است. بر این اساس در این تحقیق، تاثیر استرس روانی و فیزیکی وارده به مادر باردار و نمود آن در نسل دوم بررسی شده است. در این راه، برای نخستین بار از اندیکس زمان بی‌اشتهایی استفاده شد که عبارت از مدت زمان عدم تمایل به غذا در حیوان پس از دریافت استرس است.

## مواد و روش‌ها

برای نسل‌گیری در این تحقیق از موش‌های کوچک آزمایشگاهی ماده نژاد NMRI استفاده شد. حیوانات در قفس‌های استاندارد (۳ حیوان در یک قفس) نگهداری شده و در تمام مدت آزمایش‌ها به استثنای زمان القای استرس به آب و غذای کافی دسترسی داشتند. دمای محیط نگهداری آنها نیز  $22 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد و دوره شبانه‌روزی آنها ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی بود (نور از ساعت ۷ صبح تا ۱۹). تمام حیوانات طبق دستورالعمل نگهداری و کار با حیوانات کمیته اخلاق پزشکی نگهداری شدند.

موش‌های ماده به نسبت ۱/۲ با حیوانات نر در یک قفس قرار گرفته و ۲۴ ساعت بعد، پس از حصول اطمینان از بارداری (با دیدن توپی واژنی یا تایید وجود اسپرم در واژینال اسمیر) روز صفر بارداری تعیین شد. این حیوانات سپس در دو گروه استرس و کنترل قرار گرفتند. گروه استرس طبق برنامه‌ای کاملاً تصادفی هر روز به اتاق آزمایش منتقل شده و به مدت یک ساعت در "جعبه استرس" قرار گرفتند. این جعبه دارای ۹ بخش (۱۶ طول  $\times$  ۱۶ عرض  $\times$  ۳۰ ارتفاع سانتی‌متر) است که از طریق سوراخ‌های ریزی در دیواره به هم ارتباط بویایی و شنیداری دارند. جنس دیواره شفاف است به نحوی که حیوانات

نمونه با ۰/۵ میلی لیتر محلول سیترات سدیم ۵٪ مخلوط و در ۳۰۰۰rpm به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. محلول رویی برای سنجش میزان کورتیکوسترون مورد استفاده قرار گرفت. غلظت کورتیکوسترون پلاسما با استفاده از کیت الایزای مخصوص کورتیکوسترون (Bio Activa؛ آلمان) در طول موج ۴۳۰ نانومتر خوانده شد.

**سنجش راست- یا چپ برتری حیوانات:** در ابتدا راست- یا چپ برتری نسل دوم توسط دستگاه ماز T شکل مورد سنجش قرار گرفت. این دستگاه از یک بازوی بلند به طول ۳۰ و عرض ۵ سانتی متر تشکیل شده بود که دیوارهای به بلندی ۱۰ سانتی متر آن را از محیط اطراف مجزا می کرد. در انتها، این بازو به دو بازوی کوتاه ۱۵ سانتی متری ختم می شد. سایر مشخصات بازوهای ۱۵ سانتی متری مانند بازوی بلند بود. هر حیوان برای سه بار پیاپی در انتهای بازوی بلند قرار گرفت و چرخش آن به داخل بازوی کوتاه سمت چپ یا راست ثبت شد. ملاک راست- یا چپ برتر بودن حیوان، دوبار رفتن به داخل بازوی کوتاه راست یا چپ بود.

**پاسخ گویی حیوانات نسل دوم به مورفین:** برای سنجش حساسیت حیوانات به مورفین از روش میدان باز استفاده شد. این دستگاه متشکل از یک استوانه فلزی به قطر ۳۰ سانتی متر بود که کف چوبی آن با دو خط متقاطع به چهار قسمت تقسیم شده بود. هر بار که حیوان یکی از این خطوط را قطع می کرد، یک امتیاز می گرفت. تعداد امتیازات هر حیوان در هر ۱۰ دقیقه محاسبه و به عنوان معیاری از فعالیت حرکتی ثبت شد. گروه کنترل به ۴ گروه عتایی تقسیم شد. به گروه اول ۰/۵ و ۵ و ۵۰ تزریق شد و سپس میزان فعالیت حرکتی آنها به روش میدان باز بررسی شد. گروه استرس فیزیکی به ۴ گروه ۷ تایی تقسیم شد. گروه اول سالین و سه گروه بعدی دوزهای مختلف مورفین (۰/۵، ۵ و ۵۰ mg/kg) دریافت کردند. گروه استرس روانی نیز به ۴ گروه ۷ تایی تقسیم شد. به گروه اول دوز سالین و به سه گروه بعدی دوزهای مختلف مورفین (۰/۵، ۵ و ۵۰ mg/kg) تزریق شد. مورفین سولفات مورد استفاده در این تحقیق (تماد؛ ایران) برای تزریق در سالین (با غلظت های یاد شده) حل شد.

همدیگر را کاملاً می بینند. کف ۵ بخش، از سیم های استیل زنگ نزن به قطر ۳ میلی متر تشکیل شده که به دستگاه الکتروشوک که توسط رایانه کنترل می شود مرتبط هستند. شدت و مدت القای الکتروشوک و نیز زمان القای آن توسط کاربر تعیین می شود. در این تحقیق، دستگاه روی ۶۰ میلی ولت و زمان ۱۰ ثانیه تنظیم شد؛ به نحوی که ۱۰ ثانیه اول هر دقیقه استرس (شوک الکتریکی) وارد شد و ۵۰ ثانیه آزاد بود؛ این فرآیند به مدت یک ساعت ادامه داشت. به این ترتیب، ۵ حیوانی که در این قسمت ها قرار داشتند، هر روز به طور تصادفی شوک الکتریکی که استرسی فیزیکی است را دریافت نمودند. در ۴ بخش دیگر دستگاه که دارای کفی از جنس پلکسی گلاس بود، حیوانات تنها شاهد استرس دیدن ۵ حیوان دیگر بودند که استرس روانی شدیدی است. این کار برای مدت ۱۵ روز ادامه یافت. طی این مدت، سه بار در روزهای اول، هفتم و پانزدهم پس از القای استرس از حیوانات خون گیری به عمل آمد تا میزان هورمون کورتیکوسترون خون به عنوان معیاری از استرس در این حیوانات سنجیده شود. حیوانات گروه کنترل فقط به اتاق آزمایش منتقل شده و به مدت یک ساعت در داخل دستگاه نگهداری شدند. از این حیوانات نیز سه بار در همان روزها خون گیری به عمل آمد و غلظت هورمون کورتیکوسترون در آنها نیز سنجیده شد. پس از وضع حمل، حیوانات به حال خود رها شدند تا بچه های خود را پرورش دهند. بچه های مادرانی که استرس فیزیکی دیده بودند با هم و بچه های مادرانی که استرس روانی دیده بودند نیز با هم پس از رسیدن به سن باروری (۲۵ گرمی) جفت شده و نسل دوم از این بچه ها به وجود آمد. این گروه استرسی دریافت نکردند. نسل دوم پس از رسیدن به وزن ۲۰ تا ۲۵ گرم وارد مطالعات شدند.

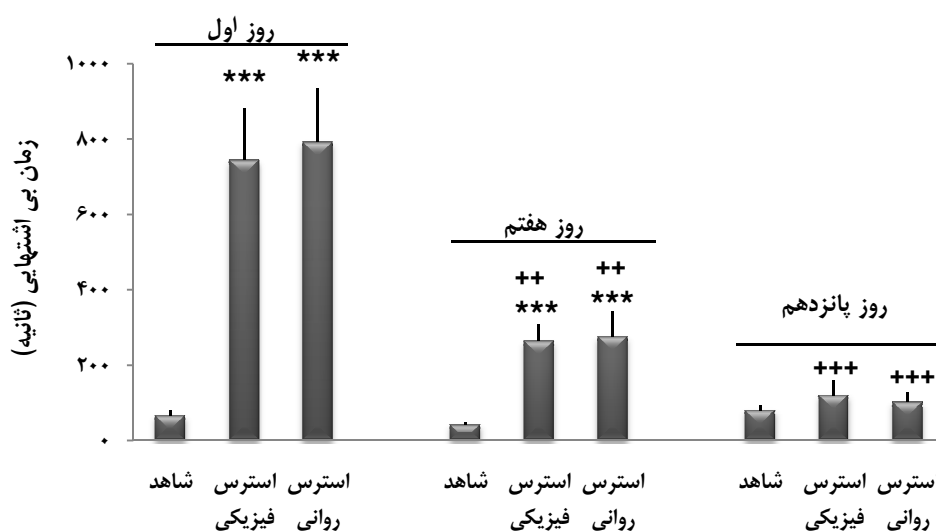
**سنجش زمان بی اشتهایی:** هر حیوان پس از پایان دوره استرس به قفس نگهداری برگشت داده شد و مدت زمانی که طول کشید تا حیوان شروع به تغذیه کند ثبت و به عنوان زمان بی اشتهایی (اندکس بی اشتهایی) محسوب شد. در مورد حیوانات گروه کنترل نیز همین زمان ثبت شد.

**سنجش میزان کورتیکوسترون پلاسما:** ابتدا از گوشه چشم هر حیوان به میزان ۰/۵ میلی لیتر خون گیری شد. این

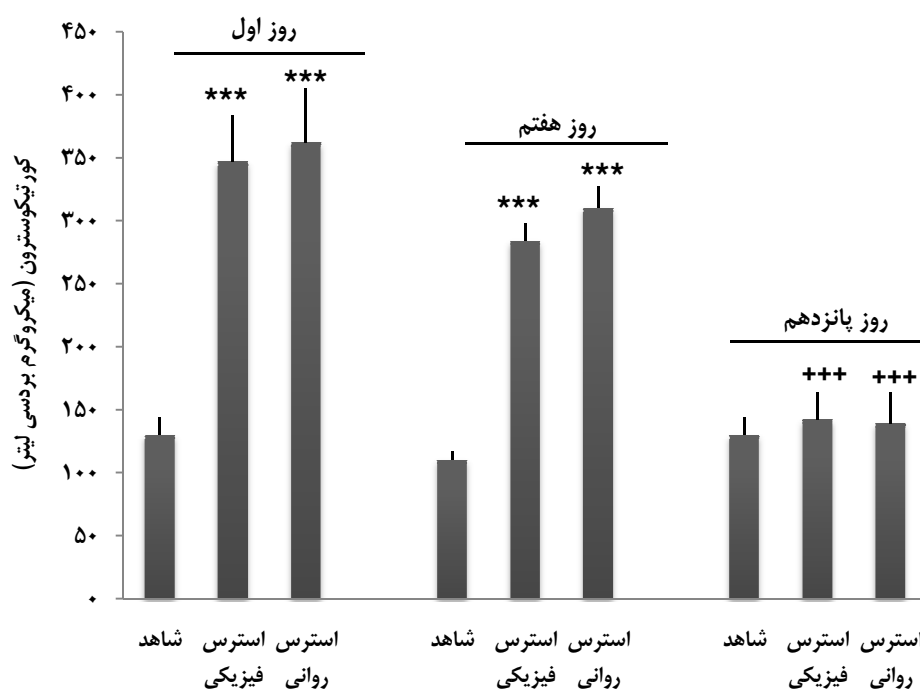
نیتریک‌اکساید سنتاز؛ ۲۰ mg/kg) ۳۰ دقیقه قبل از دوز موثر مورفین (۵۰ mg/kg) به حیوانات تزریق و سپس فعالیت حرکتی آنها بررسی شد. اطلاعات به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار استاندارد بیان شده است (به استثنای اطلاعات مربوط به راست- یا چپ برتری که به صورت درصد است). برای تجزیه و تحلیل نتایج از آزمون آنالیز واریانس یک- یا دو طرفه و آزمون تکمیلی توکی استفاده شد.  $p < 0.05$

مرز معنی‌دار بودن اختلافات در نظر گرفته شد.

**بررسی میزان عملکرد گیرنده‌های دوپامینی و نیتریک‌اکساید و گلوتامات: میزان حساسیت گیرنده‌های دوپامینی با استفاده از آنتاگونیست گیرنده دوپامینی و گیرنده‌های گلوتاماتی با استفاده از آنتاگونیست گیرنده NMDA و میزان فعالیت NO با استفاده از مهارگر نیتریک‌اکساید سنتاز که آنزیم سازنده NO است، بررسی شد. سالیسین، آنتاگونیست گیرنده‌های D2 دوپامینی (سولپیراید؛ ۵۰ mg/kg)، دکسترومتورفان (آنتاگونیست گیرنده‌های گلوتاماتی- ۲۰ mg/kg یا L-NAME (مهارکننده آنزیم**



نمودار ۱) افزایش شدید میزان اندیکس بی‌اشتهایی در روز اول که در روزهای بعد به مرور کاهش یافت ( $P < 0.001$  \*\*\* اختلاف نسبت به گروه کنترل)



نمودار ۲) افزایش معنی‌دار غلظت کورتیکوسترون در روز اول که با گذشت زمان کاهش یافت ( $P < 0.001$  \*\*\* اختلاف نسبت به گروه کنترل)

## نتایج

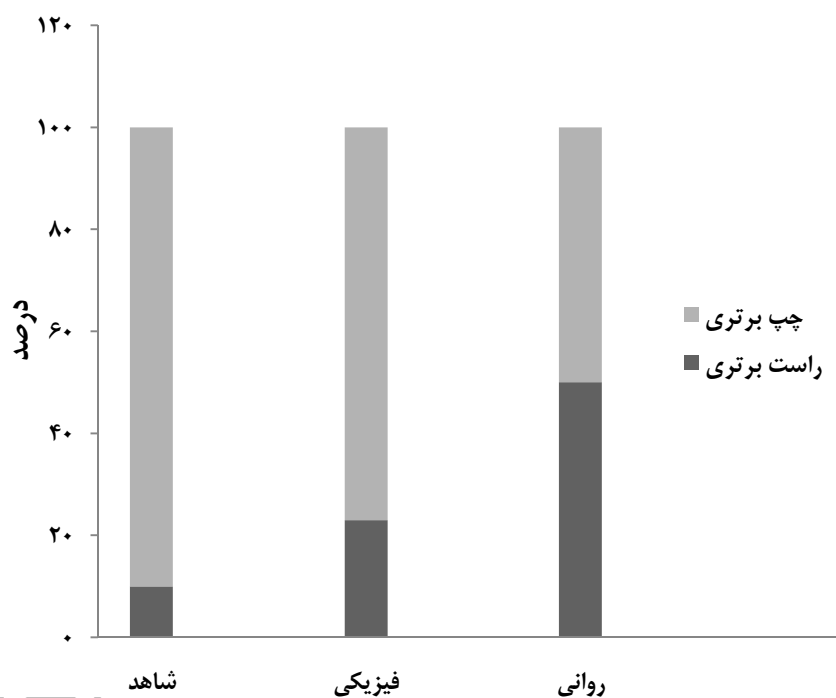
## تغییرات اندکس بی‌اشتهایی در حیوانات استرس

**دیدهب:** تغییرات زمان بی‌اشتهایی در نمودار ۱ نشان داده شده است. القای استرس (هم روانی و هم فیزیکی) باعث افزایش زمان بی‌اشتهایی در حیوانات شد و این زمان را نسبت به گروه کنترل در روزهای آغازین استرس افزایش داد. در روزهای پایانی، به هر حال نوعی تطابق با استرس حاصل شد و به همین دلیل، زمان بی‌اشتهایی در روز پنزدهم به میزان کنترل نزدیک بود ( $p < 0/001$ ). براساس نتایج آنالیز واریانس دوطرفه، زمان بی‌اشتهایی در روز پنزدهم نسبت به روزهای اول و هفتم کاهش کاملاً معنی‌داری یافت ( $p < 0/001$ ).

**میزان کورتیکوسترون پلازما:** غلظت این هورمون در خون

هر دو گروه استرس فیزیکی و روانی نسبت به گروه کنترل در طول آزمایش‌ها به‌شدت افزایش یافت ( $p < 0/001$ ). در این‌جا نیز نوعی تطابق با استرس در حیوانات پس از چندین روز القای استرس مشاهده شد که با اندکس بی‌اشتهایی هم‌خوانی خوبی داشت. براساس نتایج آنالیز واریانس دوطرفه، غلظت کورتیکوسترون پلازما در روز پنزدهم نسبت به روزهای اول و هفتم کاهش کاملاً معنی‌دار یافت ( $p < 0/001$ ; نمودار ۲).

**چپ- و راست‌برتری در حیوانات نسل دوم:** استرس روانی و فیزیکی در والدین بر چپ- یا راست‌برتری در نسل دوم بسته به نوع استرس تأثیرات متفاوتی ایجاد کرد. استرس باعث افزایش میزان راست‌برتری در نسل دوم نسبت به گروه کنترل شد. استرس روانی اثر قوی‌تری از خود نشان داد (نمودار ۳).



نمودار ۳) تغییر تمایل حیوانات گروه مورد آزمایش به چپ یا راست نسبت به گروه کنترل.

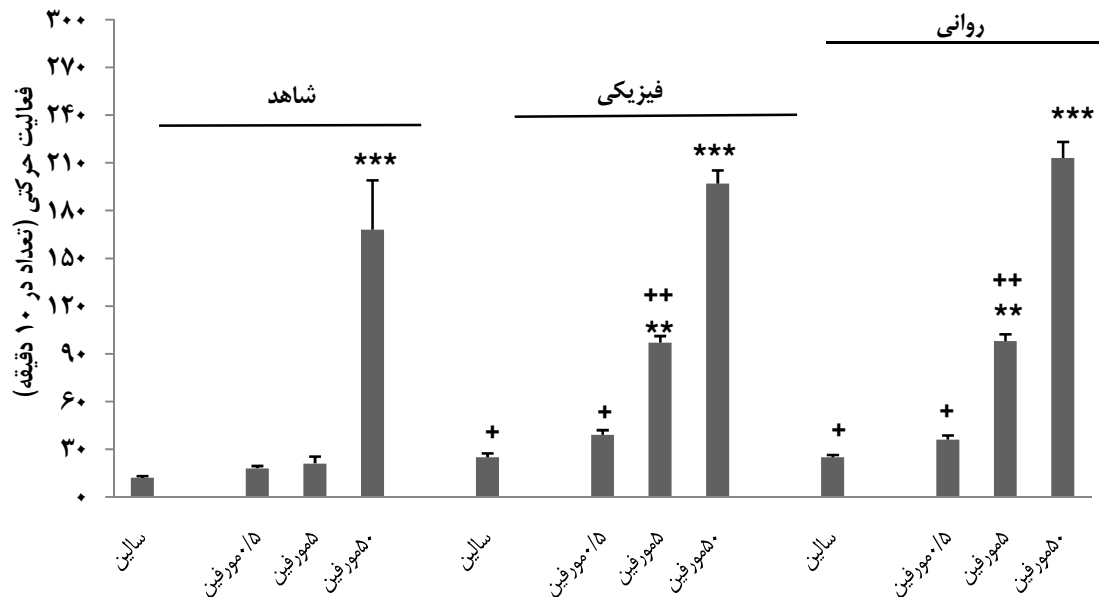
حرکت بسیار مشهود بود. در این گروه نیز افزایش حرکت نسبت به گروه کنترل دریافت‌کننده دوز مشابه بیشتر بود.

**نقش سیستم‌های دوپامینی، گلوتاماتی و نیتریک-اکساید در عملکرد مورفین در نسل دوم:** نتایج این قسمت در نمودار ۵ نمایش داده شده است. تزریق دکسترومتورفان باعث افزایش فعالیت حیوان شد. تزریق L-NAME با مهار سنتز NO و نیز تزریق سولپیراید با مهار گیرنده D2 دوپامینی باعث کاهش فعالیت حیوان گردید. در هر

**تأثیر مورفین در القای حرکت در نسل دوم:** تجویز مورفین باعث افزایش فعالیت حیوانات در دوز ۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم شد (نمودار ۴). در حیوانات گروه استرس فیزیکی نیز تزریق مورفین باعث افزایش فعالیت حرکتی شد که در دوزهای ۵ و ۵۰ mg/kg از نظر آماری کاملاً معنی‌دار بود. همچنین افزایش فعالیت حرکتی در این دسته نسبت به گروه کنترل دریافت‌کننده دوز مشابه بیشتر بود. در این حیوانات نیز تزریق مورفین باعث افزایش فعالیت حرکتی شد که مجدداً در دوزهای ۵ و ۵۰ mg/kg افزایش

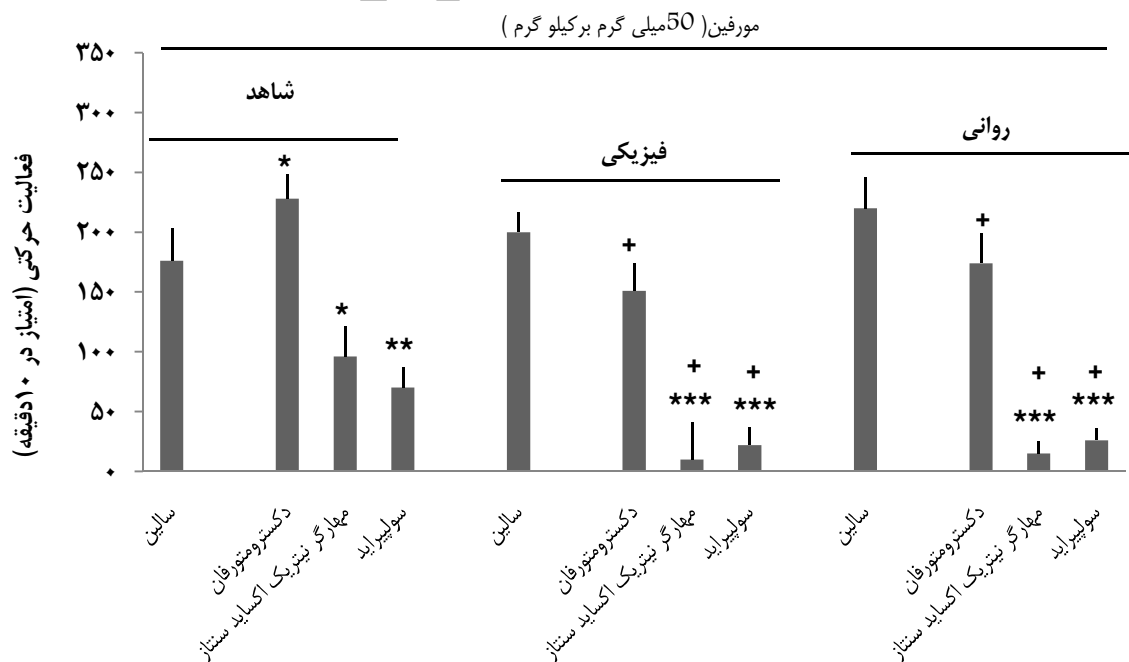
آزادسازی دوپامین و در نتیجه کاهش فعالیت گردید که البته این کاهش نسبت به گروه کنترل اختلاف معنی‌داری داشت. تزریق سولپیراید نیز اثر مشابهی داشت و کاهش معنی‌داری نسبت به کاهش در گروه کنترل داشت.

دو گروه استرس فیزیکی و روانی، کاهش نسبتاً مشابهی در فعالیت حیوان ثبت شد. بدین ترتیب که تزریق دکسترومتورفان با کاهش میزان عملکرد گلوتاماتی باعث کاهش فعالیت شد. در ادامه، تزریق L-NAME با کاهش میزان NO باعث کاهش



#### غلظت ماده تزریقی (میلی گرم در کیلوگرم)

نمودار ۴) افزایش حرکت ذاتی حتی پس از تزریق سالیین و افزایش معنی‌دار حرکت نسبت به گروه نظیر در گروه کنترل پس از تزریق مورفین. ( $P < 0.001$ ),  
 $P < 0.01$  اختلاف نسبت به حیوانات دریافت‌کننده سالیین در گروه کنترل،  $P < 0.05$ ،  $P < 0.01$ ،  $P < 0.05$  اختلاف نسبت به حیوانات دریافت‌کننده سالیین در همان گروه)



نمودار ۵) تغییر عملکرد گیرنده‌های دوپامینی و گلوتاماتی و نیتریک‌اکساید. ( $P < 0.001$ ),  $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$  اختلاف نسبت به حیوانات دریافت‌کننده سالیین در همان گروه)

## بحث

هم‌خوان با نتایج گذشته، این تحقیق نیز نشان داد که تجویز مورفین باعث القای حرکات شدید در حیوان می‌شود [۷]. مدارهای نورونی دوپامینرژیک مسیر مزولیمبیک به‌خصوص قسمت مرکزی هسته آکومبوس را مهم‌ترین محل اثر مورفین در این زمینه می‌دانند [۸، ۹]. به این ترتیب که مورفین با مهار اثرات مهاری نورون‌های گابائریژیک بر نورون‌های دوپامینی موجود در ناحیه تگمنتوم شکمی، سبب افزایش رها شدن دوپامین در منطقه ختم آنها یعنی هسته آکومبوس می‌شود و دو اثر اصلی خود یعنی القای فعالیت حرکتی و سرخوشی را موجب می‌گردد [۱۰].

مطالعات قبلی بیان می‌کنند که استرس در دوران بارداری می‌تواند با افزایش غلظت هورمون‌های استرسی مانند کورتیکوسترون (در موش) و کورتیزول (در انسان) باعث افزایش روند سلول‌سازی در مغز شده و بر عکس با کاهش مهاجرت سلولی از رشد و نمو طبیعی جلوگیری کند [۱۱، ۱۲، ۱۳، ۱۴]. همچنین استرس با افزایش هورمون‌های کاتکول‌آمینی می‌تواند به کاهش خون‌رسانی به جنین و کاهش رشد آن بیانجامد. تحقیقات دیگری نیز نشان داده‌اند که استرس هم می‌تواند در حیوان استرس دیده و هم در نسل دوم آنها تمایل به مصرف داروهای اعتیادآور مانند کوکائین [۱۵]، نیکوتین و مورفین [۱۶] را بالا ببرد. از سوی دیگر در موارد انسانی نیز افزایش داروهای اعتیادآور مانند اکس، ماری‌جوانا و سیگار در افراد استرس دیده مشاهده شده است [۵].

برخی از انواع استرس، بیشتر باعث ترشح کورتیکوسترون می‌گردند که به آنها استرس با جزء روانی قوی‌تر یا اصطلاحاً استرس روانی می‌گویند. از سوی دیگر، انواع دیگر استرس می‌تواند باعث افزایش ترشح اپی‌نفرین شود که به آنها استرس با جزء فیزیکی قوی‌تر یا اصطلاحاً استرس فیزیکی می‌گویند. به‌نظر می‌رسد که با توجه به افزایش غلظت هورمون کورتیکوسترون در هر ۲ حالت، بایستی اثرات مشابهی در هر دو گروه مشاهده شود. اما به‌دلیل ترشح کمتر اپی‌نفرین در هنگام استرس روانی اثرات هورمون کورتیکوسترون در استرس روانی شدیدتر بروز می‌کند. در تحقیق حاضر، مادران بارداری در هنگام مواجهه با استرس فیزیکی و روانی دچار استرس شده و کورتیکوسترون خون آنها به‌شدت بالا رفت. اما طی روزهای پس از شروع بارداری و القای استرس به‌تدریج با گذشت زمان ترشح هورمون کورتیکوسترون

کاهش یافت. این کاهش می‌تواند نشانه جالبی از تطابق حیوان با استرس باشد. هرچند استرس در روزهای مختلف در زمان‌های متفاوت القا می‌شود، تا تطابق به حداقل برسد، اما به هر حال این تطابق دیده شد. از سوی دیگر القای استرس به حیوانات با کاهش اشتهای آنان در زمان پس از القای استرس همراه بود. ما این فاکتور را "اندیکس بی‌اشتهایی" یا زمان بی‌اشتهایی نامیدیم. این اندیکس نیز در آزمایش‌های ما با مرور زمان کاهش یافت و هم‌خوانی خوبی با تغییرات غلظت کورتیکوسترون داشت. تحقیق حاضر نشان داد که هرچند بین تغییرات غلظت کورتیکوسترون پلازما و اندیکس بی‌اشتهایی بین گروه‌های کنترل و استرس تفاوت معنی‌دار وجود دارد، اما بین دو گروه استرس روانی و فیزیکی تفاوت معنی‌دار نبود.

باید توجه داشت که دو محور اصلی ترشح CRF در مغز شناسایی شده است که این دو محور در دو کار مهم نقش دارند. محور اول که جزیی از محور HPA است، در هنگام استرس فعال شده و با تحریک ترشح ACTH باعث افزایش ترشح کورتیکوسترون از آدرنال می‌شود. این محور یکی از مهم‌ترین قسمت‌های پاسخ‌گویی به تحریکات استرسی است که فرد را در مقابل آسیب‌های ناشی از استرس در کوتاه‌مدت حفظ می‌کند. بخش دوم مجموعه CRF مغز در قسمت‌های مختلف آمیگدال مانند هسته‌های مرکزی و قاعده‌ای جانبی آمیگدال عمل می‌کند. این بخش به‌صورت عمده مسئول بروز رفتارهای تغذیه‌ای در هنگام استرس و کاهش تغذیه پس از استرس در حیوانات است. تحقیقات مختلف نشان دادند که پس از القای استرس میزان تغذیه حیوانات کاهش یافته و وزن‌گیری حیوان مختل می‌شود. این امر را در بسیاری از تحقیقات به کاهش تغذیه حیوان پس از استرس نسبت داده‌اند. در تحقیقات قبلی نشان داده‌اند که استرس باعث کاهش وزن‌گیری شده است. به‌عنوان مثال، زردوز و همکاران نشان دادند که استرس روانی می‌تواند به کاهش وزن‌گیری حیوانات منجر شده و این کاهش وزن‌گیری در طول مدت یک ماه کاملاً معنی‌دار است. همچنین مک‌اون نشان داد که میزان تغذیه حیوانات پس از استرس کاهش می‌یابد و نیز میزان وزن‌گیری آنها نسبت به گروه کنترل بسیار کمتر است. این تغییرات در مورد انسان کاملاً برعکس گزارش شده است. به این معنی که استرس‌های روانی باعث افزایش وزن‌گیری در انسان می‌شود.

است. تحقیقات قبلی نشان دادند که استرس مادر با تغییر فعالیت محور HPA باعث افزایش فعالیت سیستم مزوکورتیکولیمبیک می‌شود (که خود این سیستم به‌عنوان میانجی اصلی تأثیر اپیوئیدها در افزایش فعالیت حرکتی شناخته شده است). همچنین، داروهای مهارکننده دوپامینی توانسته‌اند اثر استرس در افزایش فعالیت سیستم مزوکورتیکولیمبیک را مهار کنند. به همین دلیل، به‌نظر می‌رسد که در تحقیق حاضر نیز این امر اتفاق افتاده است. یعنی محور HPA در این حیوانات باعث فعال‌تر شدن سیستم دوپامینی مزوکورتیکولیمبیک شده است.

اما مهم‌تر آنست که باید در نظر داشت که این حیوانات نسل دوم از مادران استرس‌دیده بودند و این امر نشان‌دهنده ماندگاری اثرات استرس در نسل‌های بعدی است. با توجه به اثر هورمون کورتیکوسترون در سلول‌ها که از طریق تغییر فعالیت ژنی صورت می‌گیرد، به‌نظر می‌رسد که استرس احتمالاً فعالیت ژنتیکی حیوان را به‌گونه‌ای پایدار تغییر داده است که خود این منجر به تغییر در پاسخ‌گویی به مورفین شده است. این اثرات با تغییر در چپ-یا راست‌برتری حیوانات گروه استرس در مقایسه با گروه کنترل هم‌خوانی دارد.

در ادامه، عملکرد سه سیستم اصلی درگیر در وابستگی دارویی یعنی سیستم‌های دوپامینی، گلوتاماتی و نیتریک‌اکساید بررسی شد تا تغییرات احتمالی شناسایی شوند. به این ترتیب که آنتاگونیست یا مهارگر هر سیستم را تزریق نموده و سپس مورفین  $50\text{ mg/kg}$  تجویز شد و میزان فعالیت حیوانات در مدل میدان باز اندازه‌گیری و با گروه کنترل مقایسه شد. علت انتخاب این سیستم‌ها آن بود که؛ دوپامین میانجی اصلی سیستم پاداش و شادی است؛ گلوتامات محرک اصلی در آزادسازی دوپامین است؛ و حدود  $30\%$  از عملکرد گلوتاماتی NMDA از طریق NO صورت می‌گیرد.

افزایش فعالیت حیوان در اثر تزریق دکسترومتورفان به‌عنوان آنتاگونیست NMDA با توجه به این که دکسترومتورفان آگونیست گیرنده  $1\alpha$  نیز هست توجیه می‌شود. کاهش فعالیت حیوان در اثر تزریق L-NAME یا سولپیراید نیز با توجه به کاهش میزان آزادسازی دوپامین قابل‌پیش‌بینی بود. در هر دو گروه استرس فیزیکی و روانی کاهش نسبتاً مشابهی در فعالیت حیوان مشاهده شد که این نشان‌دهنده وابستگی حیوان به میزان دوپامین مغز است.

دو موضوع کاملاً متفاوت، در مقالات مورد مطالعه قرار گرفته است. اول این که در هنگام القای استرس رفتار تغذیه‌ای افزایش می‌یابد. دوم این که پس از القای استرس در یک دوره زمانی مشخص رفتار تغذیه‌ای کاهش می‌یابد. با توجه به این که در این تحقیق کاهش رفتار تغذیه‌ای پس از استرس مورد بررسی قرار گرفته است و از سرگیری رفتار تغذیه‌ای در هنگام القای استرس بررسی نشده است، شاید در تحقیق ما نیز اگر در هنگام القای استرس حیوانات دسترسی به آب و غذا می‌داشتند، رفتار تغذیه‌ای در آنها تغییر می‌کرد.

در ادامه تحقیق، حیوانات نسل دوم پس از رسیدن به وزن موردنظر، در رابطه با تغییر حساسیت به مورفین مورد بررسی قرار گرفتند. تحقیقات نشان داد که این حیوانات در مقایسه با گروه کنترل (استرس‌ندیده) تفاوت‌های زیادی در مواجهه با مورفین از خود نشان می‌دهند که این امر با افزایش فعالیت حرکتی پس از تجویز مورفین در حیوانات گروه استرس‌دیده نسبت به گروه کنترل مشخص بود. تحقیقات قبلی نشان دادند که در هنگام تجویز مورفین با افزایش میزان دوپامین در مسیر مزوکورتیکولیمبیک و افزایش فعالیت این مسیر، فعالیت حرکتی حیوان نیز به‌شدت افزایش می‌یابد که این افزایش با افزایش تعداد خطوط قطع‌شده در دستگاه میدان باز در آزمایش ما مشخص گردید. از سوی دیگر تحقیقات گذشته حاکی از آنست که تنها دوزهای بالای مورفین (مثلاً  $50\text{ mg/kg}$ ) قادر به القای فعالیت حرکتی در موش‌ها هستند و دوزهای پایین (مانند  $5\text{ mg/kg}$  و  $0.5\text{ mg/kg}$ ) نه‌تنها فعالیت حرکتی را القا نمی‌کنند، بلکه در برخی تحقیقات باعث مهار فعالیت حرکتی در حیوان هستند که این امر در تحقیق حاضر به وقوع نیبوست و حیوانات گروه استرس‌ندیده نسبت به دوز  $50\text{ mg/kg}$  افزایش فعالیت داشتند، در حالی که نسبت به دوز کم مورفین کاهش فعالیت در حیوان دیده نشد.

در این تحقیق، دو نکته جالب در مورد پاسخ حیوان به مورفین مشاهده شد. دوزهای  $0.5\text{ mg/kg}$  و  $5\text{ mg/kg}$  مورفین در موش‌های استرس‌ندیده اثری بر عملکرد حرکتی حیوان نداشتند و در موش‌های استرس‌دیده باعث افزایش فعالیت حیوان شدند. این افزایش در گروه استرس‌روانی بیشتر بود، هرچند تفاوت معنی‌دار نبود. از سوی دیگر هر دو گروه استرس‌روانی و فیزیکی پاسخ قوی‌تری به دوز  $50\text{ mg/kg}$  دادند که این خود نکته قابل‌توجهی



addictive and depressive-like behavior induced by prenatal chronic stress. *Brain Res.* 2006;1125(1):132-7.

7- McFarlane A, Clark CR, Bryant RA, Williams LM, Niaura R, Paul RH, et al. The impact of early life stress on psychophysiological, personality and behavioral measures in 740 non-clinical subjects. *J Integr Neurosci.* 2005;4(1):27-40.

8- Goldenstein RZ, Volkow ND. Drug addiction and its underlying neurobiological basis: Neuroimaging evidence for involvement of the frontal cortex. *Am J Psychiatry.* 2002;159:1624-52.

9- Mandal MK, Bhushan B, Kumar A, Gupta R. Side-bias in alcohol and heroin addicts. *Alcohol Alcohol.* 2000;35(4):381-3.

10- Carrasco GA, Kar LD. Neuroendocrine pharmacology of stress. *Eur J Pharmacol.* 2003;463(1):235-72.

11- Mulder EJH, Medina PG, Huizink AC, Bergh BRH, Buitelaar JK, Visser GHA. Prenatal maternal stress: Effects on pregnancy and the (unborn) child. *Early Hum Dev.* 2002;70(1-2):3-14.

12- Weinstock M. Alterations induced by gestational stress in brain morphology and behavior of the offspring. *Prog Neurobiol.* 2001;65(5):427-51.

13- Miller DB, O'Callaghan JP. Neuroendocrine aspects of the response to stress. *Metabolism.* 2002;51(6):5-10.

14- Thadani P. The intersection of stress, drug abuse and development. *Psychoneuroendocrinology.* 2002;27(1-2):221-30.

15- Marinelli M, Piazza PV. Interaction between glucocorticoid hormones, stress and psychostimulant drugs. *Eur J Neurosci.* 2002;16(3):387-94.

16- Piazza PV, Le Moal M. The role of stress in drug self-administration. *Trends Pharmacol Sci.* 1998;19(2):67-74.

## نتیجه گیری

حیوانات از نسل مادر بزرگ‌های تحت استرس شدید روانی یا فیزیکی (نسل دوم)، اولاً تحرک ذاتی بیشتر و ثانیاً وابستگی بیشتری به میزان دوپامین سیستم مزو کورتیکولیمبیک دارند و به دوزهای مختلف مورفین (محرک آزادسازی دوپامین) پاسخ قوی‌تری نسبت به افراد عادی می‌دهند.

## منابع

- 1- Ellenbroek BA, Kam EL, Elst MCJ, Cools AR. Individual differences in drug dependence in rats: The role of genetic factors and life events. *Eur J Pharmacol.* 2005;526(1-3):251-8.
- 2- Moffett MC, Harley J, Francis D, Sanghani SD, Davis WI, Kuhar MJ. Maternal separation and handling affects cocaine self-administration in both the treated pups as adults and the dams. *JPET.* 2006;317(3):1210-8.
- 3- Enoch MA. Genetic and environmental influences on the development of alcoholism. *Ann Acad Sci.* 2006;1094:193-201.
- 4- Der-Avakian A, Bland ST, Rozeske RR, Tamblyn JP, Hutchinson MR, Watkins LR, et al. The effects of a single exposure to uncontrollable stress on the subsequent conditioned place preference responses to oxycodone, cocaine and ethanol in rats. *Psychopharmacology.* 2007;191(4):909-17.
- 5- Vlahov D, Galea S, Resnick H, Ahern J, Boscarino JA, Bucuvalas M, et al. Increased use of cigarettes, alcohol and marijuana among Manhattan, New York residents after the September 11<sup>th</sup> terrorist attacks. *Am J Epidemiol.* 2002;155(11):988-96.
- 6- Yanga J, Lia W, Liub X, Lia Z, Lib H, Yangb G, et al. Enriched environment treatment counteracts enhanced

## Effect of un-controlled psychological and physical stress in small pregnant female NMRI mice on behavioral sensitization induced by morphine in second generation

Yaribeigi H.<sup>1</sup> MSc, Sahraei H.\* PhD, Golmanesh L.<sup>2</sup> MSc

### Abstract

**Aims.** Researches about the effect of pregnant mothers stress on their children addiction to narcotics showed their increasing tendency to its abuse. In this research, the effect of pregnant females' stress on changes of second generation tendency to morphine was studied in small NMRI mice.

**Materials & Methods.** 20 pregnant female NMRI mice were placed in two stress and control group. Stress group itself divided to two physical and psychological subgroups. To the 20<sup>th</sup> day of pregnancy, all mice were put in "stress box" for an hour a day. In first, 7<sup>th</sup> and 15<sup>th</sup> days the level of corticosterone hormone in their blood were tested. After reaching to 20-25 grams, F2 generation offsprings entered to study and the effects of 3 different doses of morphine on behavioral sensitization were studied. The functions of dopamine activity, glutamate activity and NO activity were investigated.

**Results.** Stress, increased the time of anorexia in stress group comparing to control group significantly. This results were consonant with the corticosterone hormone concentration changes. Second generation mice that were born from stressed mothers responded stronger to different morphine injections comparing to control group (especially to 5 and 50 mg/kg). This was stronger in psychological stress group. Dopamine activity, NO activity and Glutamate activity decreased in second generation offsprings.

**Conclusion.** Stress, not only increases the tendency to morphine in parents but also increases it in second generation offsprings.

**Keywords:** Psychological Stress, Physical Stress, Morphine, Second Generation

---

Submission Date: 17/2/2009, Acceptation Date: 12/7/2009

\* Correspondence address: "Research Center of Applied Neuroscience" & "Department of Physiology & Biophysics, Faculty of Medicine", Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

h.sahraei@bmsu.ac.ir

1 "Research Center of Applied Neuroscience" & "Department of Physiology & Biophysics, Faculty of Medicine", Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

2 Cell & Molecular Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran