

## Effects of acute morphine administration during adolescence on locomotor activity and anxiety-like behaviors in rats

Fatemeh Khani<sup>1</sup> , Ali Pourmotabbed<sup>2</sup>, Hossein Azizi<sup>1\*</sup> 

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

2. Department of Physiology, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran

### Abstract

**Received:** 17 Dec. 2023

**Revised:** 10 Jan. 2024

**Accepted:** 18 Jan. 2024

#### Keywords


Anxiety-like behavior  
Morphine  
Acute exposure  
Adolescence

#### Corresponding author

Hossein Azizi, Department of Physiology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

**Email:** Azizih@modares.ac.ir



 doi.org/10.30514/icss.25.4.98

**Introduction:** Adolescence is a critical developmental period for neurodevelopmental processes. Exposure to opioids during adolescence can affect cognitive abilities through lasting changes in brain structure and function. The present study aimed to complete the results of previous studies, including chronic and subchronic adolescent morphine exposure by evaluating the effects of acute morphine exposure during adolescence on locomotor activity and anxiety-like behavior in rats.

**Methods:** Adolescent male Wistar rats were divided into two groups: Receiving morphine and saline. Animals in the morphine group received 2.5 mg/kg of morphine twice on the 31st postnatal day. After one week of morphine injection, open field and elevated plus maze behavioral tests were performed on the animals four times during four weeks on specific days until adulthood.

**Results:** The study revealed that animal locomotor activity was similar between the saline and morphine groups, indicating no significant difference. Additionally, acute morphine exposure in adolescence resulted in a temporary decrease in anxiety-like behaviors, with this effect dissipating within the first-week post-injection and not persisting into adulthood.

**Conclusion:** Substance abuse during adolescence can impact the development of the nervous system, potentially resulting in temporary behavioral changes. However, studies have shown that acute exposure to morphine during this critical period does not necessarily cause long-term alterations in anxiety-like behavioral characteristics into adulthood.

**Citation:** Khani F, Pourmotabbed A, Azizi H. Effects of acute morphine administration during adolescence on locomotor activity and anxiety-like behaviors in rats. *Advances in Cognitive Sciences*. 2024;25(4):98-110.

## Extended Abstract

### Introduction

Adolescence is a critical period of development, transitioning from childhood to adulthood. During this period, extensive neural plasticity occurs in the central nervous system. These changes aim to establish individual inde-

pendence and enhance cognitive capacity. Significant neurochemical changes also occur in the brain during adolescence. For example, the brain's dopaminergic system is fundamentally reorganized, possibly associated with

associative learning and motivational behaviors. In addition, dopamine receptors in both cortical and subcortical areas reach their highest levels during adolescence. Furthermore, higher cortical mechanisms do not fully control the heightened activity of the limbic system in adolescence. These distinct developmental pathways in different regions of the brain during adolescence may lead to increased risk-taking behaviors in adolescents and their engagement in addictive behaviors. Exposure to drugs at different stages of development can lead to lasting changes in the structure and function of the brain. However, it is important to note that mature brain systems can compensate for synaptic changes caused by drugs, whereas developing brain systems may incorporate these changes, leading to a stable event in cellular response. Research has explored morphine's significant opioid impact on memory and learning in adults, yet few studies have examined the effects of acute morphine exposure on anxiety-like behaviors during adolescence. In our previous studies, we have examined the effects of short-term and long-term exposure to opioids during adolescence on learning and memory with behavioral and electrophysiological approaches up to adulthood. In addition, this study intend to investigate the effects of acute morphine

exposure during adolescence on locomotor activity and anxiety-like behaviors from adolescence to adulthood.

## Methods

In this study, adult male Wistar rats were used. The animals were housed under standard conditions with a 12-hour light/dark cycle and ad libitum access to food and water at  $23\pm 2^{\circ}\text{C}$ . All experiments were conducted following ethical principles for working with laboratory animals and were approved by the Ethics Committee of the Research at Tarbiat Modares University with the ethical code (IR.Modares.REC.1398.052).

### Morphine exposure during adolescence

Adolescent male Wistar rats were assigned to the saline and morphine groups to investigate the effects of morphine exposure. In the morphine group, rats were injected subcutaneously (s.c.) with 2.5 mg/kg of morphine sulphate (Temad, Iran) on postnatal day 31. Then, behavioral studies were conducted from adolescence to adulthood, measuring the animal's locomotor activity and anxiety-like behaviors. The timeline related to this type of morphine exposure and the behavioral tests are shown in Figure 1.

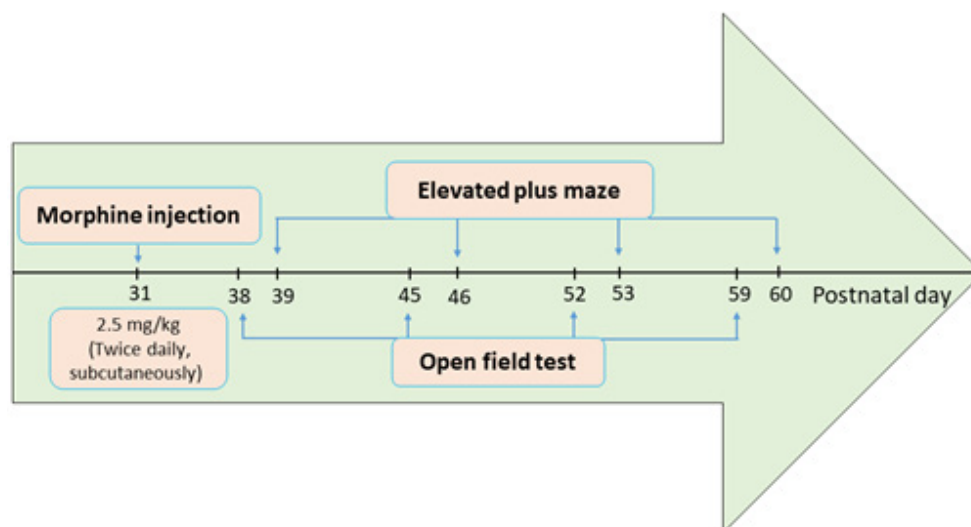


Figure 1. Timeline of behavioral experiments in the group exposed to acute morphine during adolescence

## Behavioral tests

### Open field test

The study focused on the locomotor activity of rodents using an Open Field Test (OFT). The apparatus consisted of a square enclosed area (50×50 cm) with a height of 30 cm and virtual lines marked on it. Locomotor activity was measured by evaluating the distance traveled during the 5 minutes. Additionally, the time of the animal's presence in the center of the open field was measured to indicate anxiety-like behavior.

### Elevated plus maze test

An elevated plus maze was used to evaluate the anxiety-like behavior of the animal. In this test, rats were allowed to freely explore the device, including two open arms (38×5 cm) and two closed arms (38×5×15 cm) with a central junction (5×5 cm) for 10 minutes. The time spent in open arms and the number of entries into open and closed arms were measured. The entrance was counted whenever the animal entered the arm with all four paws. An inverse relationship was observed between increased entry into open arms and time spent in open arms with

anxiety-like behavior, and vice versa.

### Investigating the effects of acute morphine exposure during adolescence on locomotor activity and anxiety-like behavior in the open field test

As shown in Figure 2a, no significant difference in the traveled distance was found between the group exposed to the acute morphine pattern and the saline group during four weeks ( $P>0.05$ ). These data showed that acute morphine consumption in adolescence did not have a significant effect on the locomotor activity of animals from adolescence to adulthood. Another parameter measured in the open field test was the duration of being in the center of the open field (Figure 2b). In the first week after the morphine injection, the time of presence in the center of the open field in the morphine group showed a significant increase ( $P=0.0499$ ) compared to the control group. However, during the following weeks, the group exposed to acute morphine compared to the control group did not have a significant difference in terms of the duration of their stay at the open field center ( $P>0.05$ ).

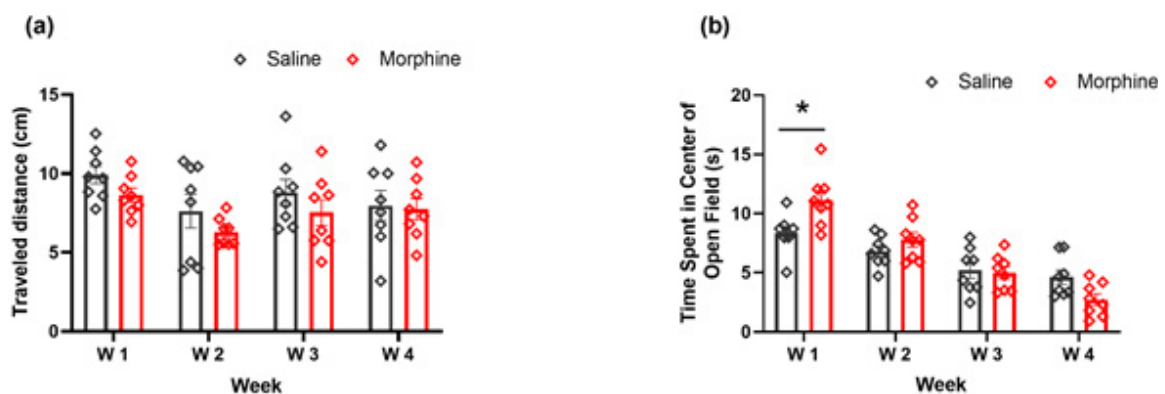


Figure 2. The effects of acute morphine exposure during adolescence on locomotor activity and anxiety-like behavior in the open field test

### Investigating the effects of morphine consumption with an acute exposure pattern during adolescence on anxiety-like behavior in the elevated plus maze test

This study analyzed three indicators of the time spent in the open arms and the number of entries into the open and closed arms as indicators of anxiety-like behavior

to measure anxiety-like behaviors in the elevated plus maze. Two indicators of the time spent in the open arms ( $P=0.0368$ ) and the number of entries to the open arms ( $P=0.0483$ ) during the first week after morphine injection were significantly higher in the morphine group compared to the saline group. Nevertheless, the two groups had no significant difference in the following weeks (Figure 3a

and b). These data showed that the group exposed to morphine with an acute pattern during adolescence had an anti-anxiety behavior pattern during the first week after morphine injection. Correspondingly, the data in Figure 3c showed no significant difference in the number of entries to the closed arms between the morphine and saline groups four weeks after receiving morphine ( $P>0.05$ ).

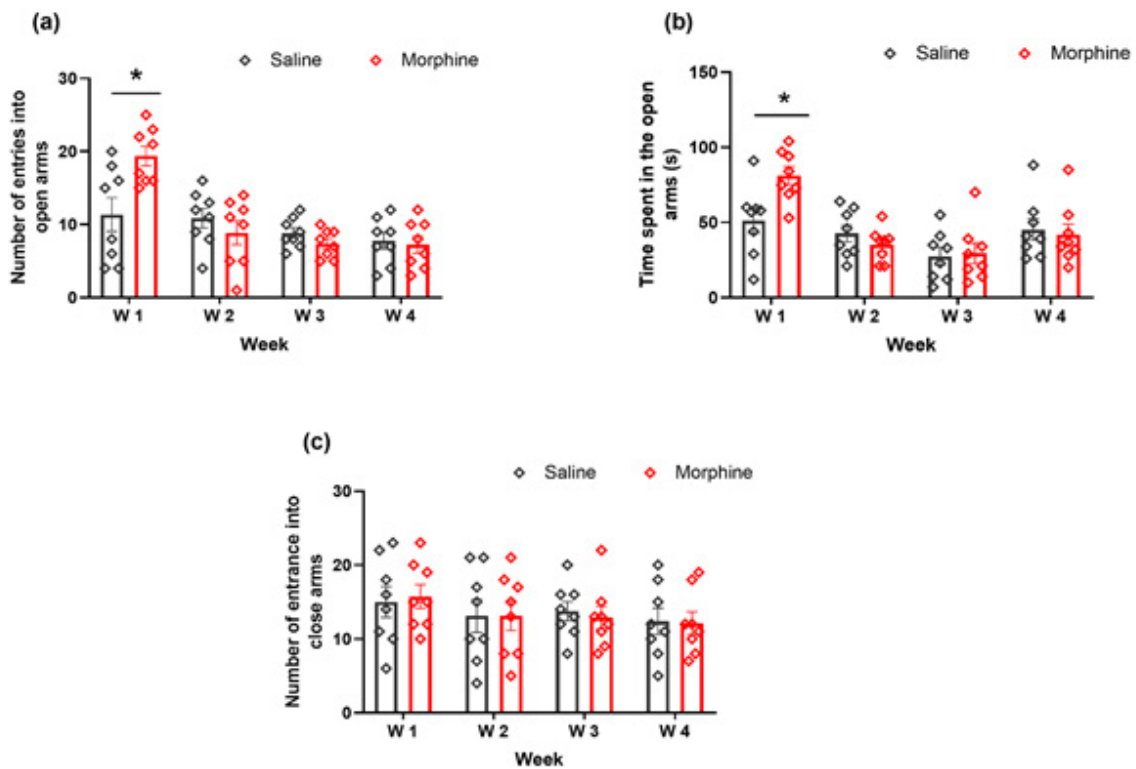


Figure 3. The effects of morphine exposure during adolescence on anxiety-like behavior in the elevated plus maze test

## Conclusion

In summary, the importance of these findings should be considered in the context of the importance of adolescence as a sensitive period of brain growth and development affected by environmental factors such as substance abuse. Finally, according to the results of the present study, future studies are needed to clarify the nature of the emotional experience of adolescents by examining receptors, signaling cascades, molecules, and brain structures involved in behavioral and cellular changes after exposure to morphine in adolescents. Ultimately, at the level of human societies, educational systems should pay

special attention to teenagers and think of appropriate management programs to meet the psychological needs of this sensitive segment of society.

## Ethical Considerations

### Compliance with ethical guidelines

All experiments on animals complied with the ethical principles of working with laboratory animals approved by the Ethics Committee in Research of Tarbiat Modares University of Medical Sciences with a code of ethics (IR.Modares.REC.1398.052).

### Authors' contributions

Fatemeh Khani: Conducting experiments, analyzing data, and writing the manuscript. Ali Pourmotabbed: Edited the manuscript and consulted during the research. Hossein Azizi: Designed, supervised, and guided during the implementation of the research and final review of the manuscript.

### Funding

This article is financially supported by the Faculty of

Medical Sciences of Tarbiat Modares University.

### Acknowledgments

The presenters are grateful to the Faculty of Medical Sciences of Tarbiat Modares University and the Faculty of Medicine of Kermanshah University of Medical Sciences.

### Conflict of interest

The authors of this article have no conflict of interest.

## اثرات تزریق حاد مرفین در دوره نوجوانی بر فعالیت حرکتی و رفتار شبه اضطرابی در موش‌های صحرایی

فاطمه خانی<sup>۱</sup>، علی پورمتعبد<sup>۲</sup>، حسین عزیزی<sup>۱\*</sup>

۱. گروه فیزیولوژی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران  
۲. گروه فیزیولوژی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

## چکیده

**مقدمه:** نوجوانی یک دوره حساس تکاملی برای فرآیندهای رشد عصبی است. قرار گرفتن در معرض مواد افیونی در نوجوانی می‌تواند توانایی‌های شناختی را از طریق تغییرات پایدار در ساختار و عملکرد مغز تحت تاثیر قرار دهد. مطالعه حاضر به منظور تکمیل نتایج مطالعات قبلی (مواجهه مزمن و تحت مزمن با مرفین نوجوانی) با ارزیابی اثرات قرار گرفتن حاد در معرض مرفین در دوره نوجوانی بر فعالیت حرکتی و رفتار شبه اضطرابی در موش‌های صحرایی طراحی شد.

**روش کار:** موش‌های صحرایی نر نوجوان نژاد ویستار به دو گروه دریافت‌کننده مرفین و سالیین تقسیم شدند. حیوانات گروه مرفین در روز ۳۱ پس از تولد، ۲/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم مرفین دو بار دریافت کردند. بعد از یک هفته از تزریق مرفین آزمون‌های رفتاری میدان باز (Open field test) و ماز بعلاوه مرتفع (Elevated plus maze) در طی چهار هفته در روزهای مشخصی تا دوره بزرگسالی بر روی حیوانات انجام شد.

**یافته‌ها:** نتایج این مطالعه نشان داد تفاوت معناداری در فعالیت حرکتی حیوانات بین گروه‌های سالیین و مرفین وجود ندارد. همچنین مواجهه حاد با مرفین در دوره نوجوانی منجر شد تا پروفایل رفتاری ضد اضطرابی تا هفته اول بعد از تزریق مرفین مشاهده شود و این اثرات تا بزرگسالی ماندگار نبودند.

**نتیجه‌گیری:** بلوغ سیستم عصبی می‌تواند تحت تأثیر سوء مصرف مواد در دوران رشد نوجوانی قرار گیرد و این اثرات ممکن است منجر به تغییرات رفتاری کوتاه مدت شود. مواجهه حاد با مرفین در دوره نوجوانی، اثرات ماندگاری بر تغییر مشخصات رفتاری شبه اضطرابی تا بزرگسالی نداشت.

دریافت: ۱۴۰۲/۰۹/۲۶

اصلاح نهایی: ۱۴۰۲/۱۰/۲۰

پذیرش: ۱۴۰۲/۱۰/۲۸

## واژه‌های کلیدی

رفتار شبه اضطرابی  
مرفین  
مواجهه حاد  
نوجوانی

## نویسنده مسئول

حسین عزیزی، گروه فیزیولوژی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

ایمیل: Azizih@modares.ac.ir



doi.org/10.30514/ics.25.4.98

## مقدمه

یادگیری ارتباطی و رفتارهای انگیزشی مرتبط باشد (۱). علاوه بر این بیان گیرنده‌های دوپامینی در دوره نوجوانی در مناطق قشری و تحت قشری به بالاترین میزان خود می‌رسد. همچنین، فعالیت بالای سیستم لیمبیک در دوره نوجوانی به صورت کامل توسط مکانیسم‌های قشری بالاتر کنترل نمی‌شود. این مسیرهای رشد متفاوت در بلوغ نواحی مختلف مغز ممکن است منجر به افزایش رفتارهای خطرآفرین

نوجوانی دوره حساس تکاملی، در گذر از کودکی به بزرگسالی است. در این دوره پلاستیسیته نورونی دینامیک و گسترده‌ای در سیستم عصبی مرکزی اتفاق می‌افتد. این تغییرات با هدف ایجاد استقلال فردی و افزایش ظرفیت شناختی است. در دوره نوجوانی تغییرات نوروشیمیایی قابل توجهی نیز در مغز اتفاق می‌افتد. برای مثال سیستم دوپامینرژیک مغز به شکل اساسی بازسازمان‌دهی شده که ممکن است این امر با

بررسی شده است و در زمینه اثرات حاد مواجهه با مرفین در دوره نوجوانی بر رفتارهای شبه اضطرابی گزارشات زیادی وجود ندارد. ما در مطالعات قبلی خود به بررسی اثرات مواجهه کوتاه مدت و طولانی مدت با مرفین در دوره نوجوانی بر یادگیری و حافظه با رویکردهای رفتاری و الکتروفیزیولوژی تا دوره بزرگسالی پرداخته‌ایم (۸-۱۰). در این مطالعه نیز قصد داریم اثرات مصرف حاد مرفین در دوره نوجوانی را بر فعالیت حرکتی و رفتارهای شبه اضطرابی از دوره نوجوانی تا دوره بزرگسالی مورد بررسی قرار دهیم.

## روش کار

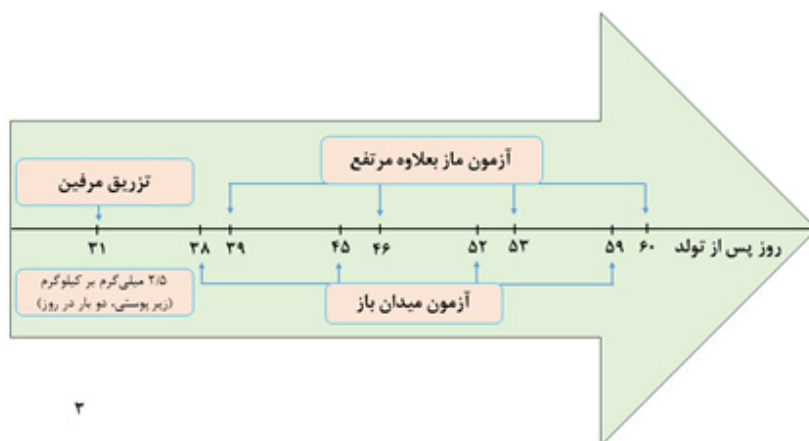
### حیوانات آزمایشگاهی

در این مطالعه از موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار استفاده شد. حیوانات در شرایط ثابت و سیکل نوری ۱۲ ساعت تاریکی، ۱۲ ساعت روشنایی و با دسترسی آزاد به آب و غذا، در دمای  $23 \pm 2^\circ\text{C}$  نگهداری شدند. همه آزمایش‌ها روی حیوانات با رعایت اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی مورد تایید کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه علوم پزشکی تربیت مدرس با کد اخلاق (IR.Modares.REC.1398.052) انجام پذیرفت.

### تزریق دارو در دوره نوجوانی

برای بررسی اثرات مصرف مرفین در دوره نوجوانی به حیوانات ۳۰ روزه بر اساس پروتکل زیر در روز ۳۱ پس از تولد (الگوی مرفین حاد) دو مرتبه دوز افزایشی مرفین سولفات با دوز  $2/5 \text{ mg/kg}$  به صورت زیر جلدی تزریق شد. سپس مطالعات رفتاری که شامل اندازه‌گیری فعالیت حرکتی حیوان و رفتار شبه اضطرابی بود از دوره نوجوانی تا دوره بزرگسالی بر روی حیوانات انجام گردید. خط زمانی مربوط به این نوع مواجهه با مرفین و آزمون‌های رفتاری مربوطه در شکل ۱ نمایش داده شده است.

در نوجوانان و مشارکت آنها در رفتارهای اعتیادآور شود (۲). به دلیل تفاوت‌های فیزیولوژیکی و رفتاری که در نوجوانان نسبت به بزرگسالان وجود دارد، احتمال شروع مصرف مواد مخدر در این دوره بیشتر می‌باشد. همچنین مطالعات گوناگونی نشان داده‌اند که مصرف مواد (حتی به مدت محدودی) در این دوره می‌تواند اثرات ماندگاری در طول زندگی فرد داشته باشد. برای مثال مطالعاتی که روی مدل‌های حیوانی انجام شده است نشان داده‌اند مواجهه با موادی چون الکل، نیکوتین، اپیوئیدها، کانابینوئیدها، کوکائین و مت‌آمفتامین می‌تواند اثرات ماندگار عصبی و رفتاری داشته باشند؛ به ویژه این اثرات ماندگار در مناطقی از مغز مثل نواحی مزولیمبیک که در دوره نوجوانی در حال تکامل هستند، بیشتر مشاهده می‌شود (۳). در نهایت می‌توان گفت که قرارگیری در معرض داروها در دوره‌های مختلف رشد می‌تواند تغییرات ماندگاری در ساختار و عملکرد مغز ایجاد نماید ولی باید توجه داشت که سیستم‌های مغزی بالغ قادر به جبران تغییرات سیناپسی ناشی از داروها می‌باشند در حالی که سیستم‌های مغزی در حال تکامل ممکن است با جمع‌آوری این تغییرات باعث ایجاد یک رخداد پایدار در پاسخ سلولی شوند (۴، ۵). تغییرات ناهنجار بالقوه ناشی از مصرف داروها در طول دوره‌های مختلف زندگی از جمله نوجوانی وابسته به دوز و نوع داروها بوده و پیامد نهایی آنها، تخریب ساختار و عملکرد طبیعی مغز است که می‌تواند تا بزرگسالی ادامه پیدا کند (۶، ۷). در انسان، تجربه استفاده نامتعارف مواد در دوره نوجوانی خطر ابتلا به اختلالات روانی و اعتیاد در بزرگسالی را افزایش می‌دهد همان‌گونه که گفته شد استفاده طولانی‌مدت از اپیوئیدها در دوره نوجوانی که مرحله تکامل سیستم عصبی است سبب بروز تغییرات طولانی‌مدت متعددی در مغز می‌شود و در زمینه اثرات طولانی‌مدت مواجهه با مرفین در دوره نوجوانی گزارش‌های محدودی وجود دارد. با توجه به این که اثرات مرفین به عنوان یک اپیوئید قوی بر حافظه و یادگیری تاکنون در دوره بزرگسالی



شکل ۱. خط زمانی آزمایش‌های رفتاری در گروه مواجهه یافته با مرفین با الگوی حاد در دوره نوجوانی

## تجزیه و تحلیل آماری

برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار GraphPad Prism نسخه ۸،۴،۲ برای ویندوز (نرم‌افزار GraphPad، ایالات متحده آمریکا) استفاده شد. تجزیه و تحلیل آماری در ابتدا با استفاده از آزمون‌های کولموگروف-اسمیرنوف برای بررسی نرمال بودن توزیع انجام شد. در ارزیابی رفتاری، تفاوت بین شاخص‌ها در هفته‌های مختلف با استفاده از آزمون آنالیز واریانس دو طرفه (Repeated Measures) و آزمون تعقیبی Tukey انجام شد و مقادیر به صورت میانگین±انحراف معیار از میانگین بیان شدند.

## یافته‌ها

## بررسی اثرات مصرف مرفین با الگوی مواجهه حاد در دوره نوجوانی

بر فعالیت حرکتی و رفتار شبه اضطرابی در آزمون میدان باز فعالیت حرکتی حیوانات در آزمون میدان باز با استفاده از آزمون تحلیل واریانس با اندازه‌گیری مکرر (Repeated Measures) و آزمون تعقیبی Tukey مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. همان‌طور که در شکل ۲الف نشان داده شده است هیچ تفاوت معناداری در میزان مسافت طی شده بین گروه مواجهه یافته با الگوی حاد مرفین و گروه سالین در طی چهار هفته وجود نداشت ( $P>0/05$ ). این داده‌ها نشان دادند که مصرف حاد مرفین در دوره نوجوانی بر میزان فعالیت حرکتی حیوانات از دوره نوجوانی تا دوره بزرگسالی اثر معنادار ندارد. پارامتر دیگری که در آزمون میدان باز اندازه‌گیری شد، مدت زمان حضور در مرکز میدان باز بود (شکل ۲ب). این شاخص نشان‌دهنده رفتار شبه اضطرابی حیوان می‌باشد که هر چه مدت زمان حضور حیوان در مرکز میدان باز بالاتر باشد نشان‌دهنده اضطراب پایین حیوان می‌باشد. در هفته اول بعد از تزریق مرفین، مدت زمان حضور در مرکز میدان باز در گروه مرفین در مقایسه با گروه کنترل افزایش معناداری ( $P=0/0499$ ) را نشان داد. ولی در طی هفته‌های بعدی گروه مواجهه یافته با مرفین با الگوی حاد در مقایسه با گروه کنترل تفاوت معناداری از نظر مدت زمان حضور در مرکز میدان باز نداشتند ( $P>0/05$ ).

الف: میزان مسافت طی شده در جعبه باز در گروه دریافت‌کننده مرفین با الگوی حاد در مقایسه با گروه سالین تفاوت معناداری را نشان نداد. ب: موش‌های صحرایی بزرگسالی که در دوره نوجوانی مواجهه حاد با مرفین داشتند مدت زمان بیشتری را در مرکز میدان باز در مقایسه با گروه سالین سپری کردند. مقادیر به صورت میانگین±انحراف معیار از میانگین بیان شدند.  $P<0/05$ \* به عنوان معناداری در مقایسه گروه حاد مرفین با گروه کنترل می‌باشد.

در گروه مرفین، موش‌های صحرایی نوجوان در روز ۳۱ پس از تولد دو بار دوز افزایشی مرفین با دوز ۲/۵ mg/kg به صورت زیرجلدی دریافت کردند. بعد از یک هفته آزمون‌های رفتاری شامل آزمون میدان باز (Open field test) و ماز بعلاوه مرتفع (Elevated plus maze) چهار بار در طی چهار هفته در روزهای مشخص در شکل تا دوره بزرگسالی انجام شد.

## آزمون‌های رفتاری

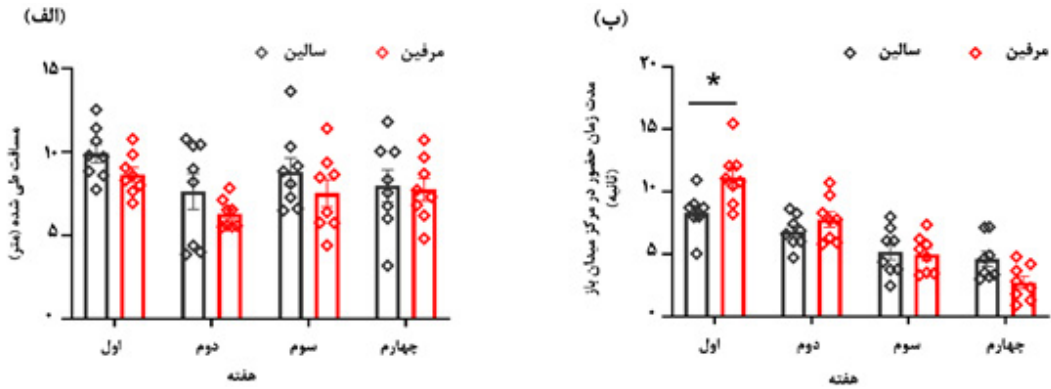
## آزمون جعبه باز

فعالیت حرکتی حیوانات توسط آزمون میدان باز (OFT) مطالعه شد (۱۱). این دستگاه از یک محوطه مربع شکل (۵۰×۵۰ سانتی‌متر) به ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر و با خطوط مجازی ساخته شده است. کف آن به ۱۳ مربع و به دو قسمت مرکزی و پیرامونی تقسیم شد. موش صحرایی در مرکز ماز قرار داده شد و آزادانه به مدت ۵ دقیقه کاوش کرد. حرکات هر موش صحرایی به طور خودکار توسط یک سیستم ردیابی ویدیویی (نرم‌افزار اتوویژن، نسخه ۹) ردیابی شد. فعالیت حرکتی با اندازه‌گیری مسافت طی شده در مدت ۵ دقیقه اندازه‌گیری شد. همچنین، مدت زمان حضور حیوان در مرکز میدان باز برای نشان دادن رفتار شبه اضطرابی اندازه‌گیری شد. بعد از هر آزمایش، محوطه جعبه باز با محلول اتانول ۷۰ درصد برای هر حیوان تمیز شد. ارزیابی فعالیت حرکتی حیوانات با آزمون میدان باز در روزهای ۳۸، ۴۵، ۵۲ و ۵۹ پس از تولد موش‌های صحرایی در ساعت ۸ صبح انجام شد.

## آزمون ماز بعلاوه مرتفع

برای ارزیابی رفتار شبه اضطرابی حیوان از ماز بعلاوه مرتفع استفاده شد. در این آزمون موش‌های صحرایی اجازه یافتند آزادانه دستگاه را که شامل دو بازوی باز (۵۰×۱۰ سانتی‌متر) و دو بازوی بسته (۴۰×۵۰×۱۰ سانتی‌متر) با یک اتصال مرکزی (۱۰×۱۰ سانتی‌متر) به مدت ۱۰ دقیقه بررسی کنند. زمان صرف شده در بازوهای باز و تعداد ورود به بازوهای باز و بسته اندازه‌گیری شد. نور مناسب به وسیله یک لامپ ۶۰ وات که از طرف یک بازوی بسته به ماز تابانده می‌شد، تأمین می‌گردید. مشابه آزمایش قبلی، حرکات هر موش به طور خودکار توسط یک سیستم ردیابی ویدیویی (نرم‌افزار اتوویژن، نسخه ۹، Noldus Information Technology، هلند) ردیابی شد. هرگاه حیوان با هر چهار پنجه وارد بازو می‌شد، ورودی درست شمارش می‌شد. رابطه معکوس بین افزایش ورود به بازوی باز و زمان سپری شده در بازوی باز با رفتاری شبه اضطرابی وجود دارد و بالعکس. این آزمون در روزهای ۳۹، ۴۶، ۵۳ و ۶۰ پس از تولد موش‌های صحرایی در ساعت ۸ صبح انجام شد.

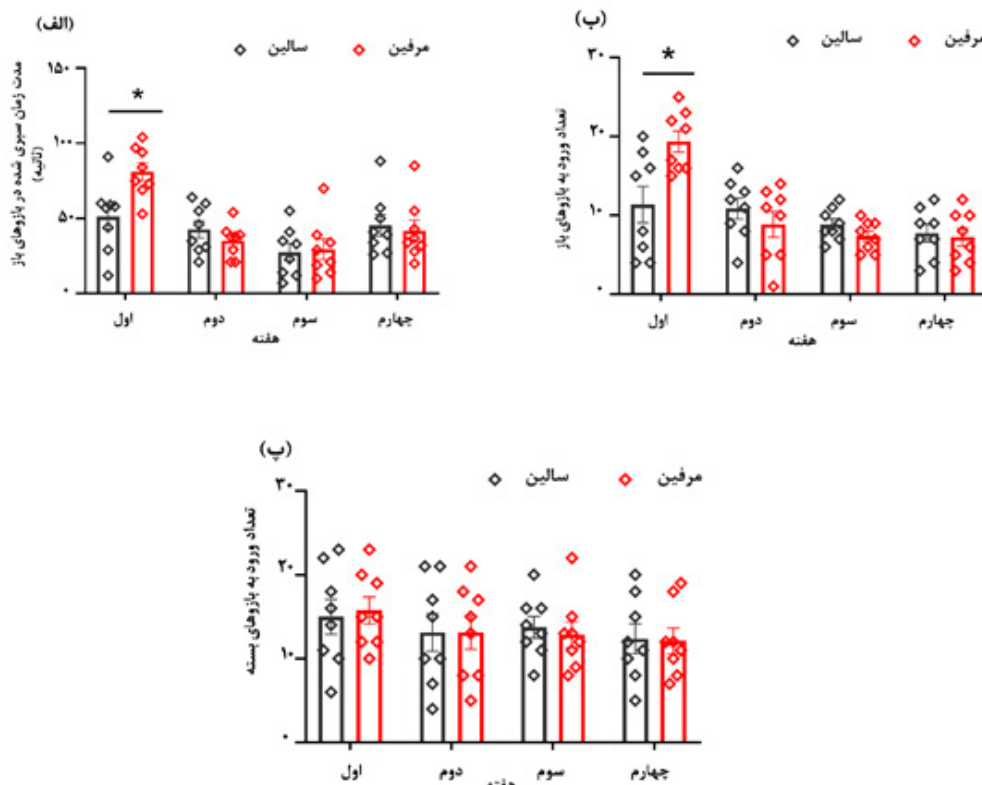




شکل ۲. اثرات مصرف مرفین با الگوی مواجهه حاد در دوره نوجوانی بر فعالیت حرکتی و رفتار کاوشگرانه در آزمون میدان باز

مواجهه‌یافته با مرفین با الگوی حاد دو شاخص مدت زمان سپری شده در بازوهای باز ( $P=0/0368$ ) و تعداد ورود به بازوهای باز ( $P=0/0483$ ) در طی هفته اول بعد از تزریق دارو در مقایسه با گروه کنترل به صورت معنادار بالا بود ولی در طی هفته‌های بعدی تفاوت معناداری از این نظر بین دو گروه وجود نداشت. (شکل ۳ الف و ب). این داده‌ها نشان دادند که گروه مواجهه یافته با مرفین با الگوی حاد در دوره نوجوانی طی هفته اول بعد از تزریق دارو یک الگوی رفتاری ضد اضطرابی را داشته‌اند. همچنین داده‌های شکل ۳ پ نشان داد تفاوت معناداری در تعداد ورود به بازوهای بسته در بین دو گروه مرفین و سالیین در طی چهار هفته بعد از دریافت مرفین وجود ندارد ( $P>0/05$ ).

بررسی اثرات مصرف مرفین با الگوی مواجهه حاد در دوره نوجوانی بر رفتار شبه اضطرابی در آزمون ماز بعلاوه مرتفع در این مطالعه جهت سنجش رفتارهای شبه اضطرابی در آزمون ماز بعلاوه مرتفع، سه شاخص مدت زمان سپری شده در بازوهای باز و تعداد ورود به بازوهای باز و بسته به عنوان شاخص‌های رفتار شبه اضطرابی در نظر گرفته شده و با استفاده از آزمون تحلیل واریانس با اندازه‌گیری مکرر (Repeated Measures) و آزمون تعقیبی Tukey مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. ما با استفاده از این آزمون رفتاری اثرات مصرف مرفین با الگوی حاد در موش‌های صحرایی نوجوان را بر رفتارهای شبه اضطرابی از دوره نوجوانی تا دوره بزرگسالی بررسی کردیم. پس از بررسی معیارهای رفتار شبه اضطرابی در گروه



شکل ۳. اثرات طولانی‌مدت مواجهه حاد با مرفین در دوره نوجوانی بر رفتار شبه اضطرابی در آزمون ماز بعلاوه مرتفع

متناقض طولانی مدتی بر پروفایل‌های رفتاری و عاطفی دارد. به عنوان مثال، برخی از مطالعاتی که اثرات کانابینوئیدها را بر رفتارهای شبه اضطرابی مورد بررسی قرار دادند، نتایج متناقضی را به همراه داشتند. پژوهشگران در سال ۲۰۰۳ نشان دادند که موش‌های بالغی که در دوره نوجوانی در معرض آگونیست‌های گیرنده کانابینوئیدی قرار گرفتند، رفتاری شبه اضطرابی در آزمایش ماز بعلاوه مرتفع از خود نشان دادند. در مطالعه دیگری، پاسخ‌های ضد اضطرابی در حیوانات بالغ با الگوی مواجهه با کانابینوئید در دوره نوجوانی در آزمایش میدان باز مشاهده شد (۱۲). Sullivan و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند که قرار گرفتن در معرض کوکائین در نوجوانان رفتارهای اضطراب‌مانند را در دوره بزرگسالی کاهش می‌دهد (۱۳). مطابق با مطالعه ما، تجویز مت‌آفتمین در موش‌های صحرایی نوجوان نیز علائم رفتاری اضطراب‌مانند را در بزرگسالی کاهش داد (۱۴). مطابق با این مطالعات، نتایج ما نشان داد که مواجهه حاد با مرفین در نوجوانی منجر به اثرات ضد اضطرابی کوتاه مدت می‌شود.

برخلاف یافته‌های ما، چندین مطالعه گزارش کرده‌اند که مصرف تتراهیدروکانابینول به عنوان آگونیست گیرنده کانابینوئیدی در دوره نوجوانی منجر به افزایش رفتارهای اضطراب‌مانند در بزرگسالی می‌شود که با آزمون میدان باز، آزمون ماز بعلاوه مرتفع و آزمون جعبه روشن-تاریک اندازه‌گیری شده است. علاوه بر این، رفتارهای شبه اضطرابی در موش‌های بالغی که در معرض دوزهای بالای آگونیست گیرنده کانابینوئیدی در دوره نوجوانی بودند، بالا بود. همچنین نشان داده شده است که مصرف کوکائین در دوره نوجوانی باعث افزایش ناامیدی و رفتارهای شبه اضطرابی در موش‌های بالغ می‌شود (۱۵).

ساختارهای مغزی و مکانیسم‌های مولکولی که زمینه‌ساز این تغییرات عصبی رفتاری پایدار در نتیجه مواجهه با مرفین در دوره نوجوانی است، به طور کامل شناخته نشده است. بر اساس شواهد موجود، برخی از نواحی مغز مانند آمیگدال و قشر جلوی مغز (PFC) که در کنترل اضطراب نقش مهمی دارند، ممکن است در ایجاد رفتارهای عاطفی دخیل باشند (۱۶). طبق مطالعه‌ای در این زمینه، اثرات طولانی مدت مصرف کوکائین در نوجوانی بر رفتارهای احساسی ممکن است با تغییرات گذرا در بیان ژن‌هایی که دندریت‌ها و تشکیل سیناپس را در آمیگدال تنظیم می‌کنند توضیح داده شود (۱۳). علاوه بر این، مصرف مزمن آفتمین در دوره نوجوانی، انتقالات گاباژیک را کاهش می‌دهد، که به نوبه خود باعث تغییرات طولانی مدت در عملکرد قشر جلوی مغز می‌شود (۱۷). همچنین سیستم دوپامینرژیک در طول تکامل دچار تغییراتی می‌شود و به طور مستقیم و غیرمستقیم تحت تأثیر مصرف

الف و ب: مدت زمان حضور در بازوهای باز و تعداد ورود به بازوهای باز در ماز بعلاوه مرتفع در گروه دریافت‌کننده مرفین با الگوی حاد در مقایسه با گروه سالین افزایش معناداری را در طی هفته اول بعد از تزریق دارو نشان داد. پ: تعداد ورود به بازوهای بسته در ماز بعلاوه مرتفع در دو گروه مرفین و سالین تفاوت معناداری با هم نداشتند. مقادیر به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار از میانگین بیان شدند.  $P < 0.05$ \* به عنوان معناداری در مقایسه گروه حاد مرفین با گروه کنترل می‌باشد.

## بحث

در این مطالعه، تأثیر مواجهه حاد با مرفین در دوره حساس نوجوانی بر نیمرخ فعالیت حرکتی و رفتار شبه اضطرابی مورد بررسی قرار گرفت. مطالعه حاضر نشان داد که مواجهه حاد با مرفین در پنجره زمانی نوجوانی می‌تواند منجر به بروز رفتارهای ضد اضطرابی در کوتاه مدت در حیوان شود و این اثرات ضد اضطرابی به مرور زمان از بین رفته و تأثیر ماندگاری بر حفظ این رفتار تا بزرگسالی ندارد. داده‌های آزمون میدان باز نشان داد که استفاده از الگوی مصرفی حاد مرفین در طول دوره رشد نوجوانی بر فعالیت حرکتی حیوان تا بزرگسالی تأثیری نداشت. بنابراین مصرف حاد مرفین در دوره نوجوانی منجر به تغییر در فعالیت حرکتی حیوان تا دوره بزرگسالی نشد. پارامتر دیگری که در آزمون میدان باز اندازه‌گیری شد، مدت زمان حضور در مرکز میدان باز بود که به عنوان شاخصی از رفتار شبه اضطرابی بود. با افزایش مدت زمان حضور حیوان در مرکز میدان باز در گروه مواجهه یافته با الگوی حاد مرفین در طی هفته اول بعد از مواجهه با دارو می‌توان نتیجه گرفت که اضطراب به دنبال مواجهه حاد با مرفین در موش‌های صحرایی نوجوان کاهش داشت ولی این اثر در بروز رفتار ضد اضطرابی با گذشت زمان کاهش یافت. علاوه بر این، از آزمون ماز بعلاوه مرتفع نیز برای ارزیابی رفتار شبه اضطرابی استفاده شد. نتایج نشان داد که مدت زمان سپری شده در بازوهای باز و تعداد ورود به این بازوها در گروه مواجهه یافته با مرفین با الگوی مصرف حاد در طی هفته اول بعد از مواجهه با دارو افزایش یافته است. این نتایج، کاهش قابل توجهی در پروفایل‌های رفتاری شبه اضطرابی را در کوتاه مدت بعد از مواجهه با دارو را ارائه می‌دهد. همچنین این افزایش در رفتارهای ضد اضطرابی به دنبال مواجهه حاد با مرفین در دوره نوجوانی به صورت یک الگوی پایدار تا بزرگسالی حفظ نشد.

چندین مطالعه قبلی اثرات طولانی مدت قرار گرفتن در معرض داروهای مختلف بر رفتارهای احساسی را بررسی کرده‌اند. نشان داده شده است که قرار گرفتن در معرض انواع مواد مخدر در نوجوانی اثرات

دوره نوجوانی می‌گذارند، باشد. تغییرات ناهنجار بالقوه ناشی از مصرف داروها در طول دوره‌های مختلف زندگی از جمله نوجوانی وابسته به دوز و نوع داروها بوده و پیامد نهایی آنها، تخریب ساختار و عملکرد طبیعی مغز است که می‌تواند تا بزرگسالی ادامه پیدا کند.

### نتیجه‌گیری

به طور خلاصه، اهمیت این یافته‌ها را باید در زمینه اهمیت دوره نوجوانی به عنوان یک دوره حساس رشد و تکامل مغز که تحت تأثیر عوامل محیطی مانند سوءمصرف مواد قرار می‌گیرد، مورد توجه قرار داد. این مطالعه نشان داد مواجهه حاد با مرفین در دوره نوجوانی اثرات کوتاه مدتی در بروز رفتارهای ضد اضطرابی دارد. بنابراین مواد مخدر در دوره نوجوانی می‌تواند تأثیر بالقوه‌ای بر شبکه‌های عصبی و ارتباطات آنها داشته باشد و منجر به تغییر در عملکرد مغز و بروز حالت‌های هیجانی مختلف مانند رفتارهای اضطرابی و ضد اضطرابی شود. به طور کلی می‌توان بیان نمود که نظام‌های آموزشی جوامع بشری باید به نوجوانان توجه ویژه‌ای داشته باشند و برای رفع نیازهای روانی این قشر حساس جامعه برنامه‌های مدیریتی مناسبی اندیشیده شود.

### ملاحظات اخلاقی

#### پیروی از اصول اخلاق در پژوهش

همه آزمایش‌ها روی حیوانات با رعایت اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی مورد تایید کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه تربیت مدرس با کد اخلاق (IR.Modares.REC.1398.052) انجام پذیرفت.

### مشارکت نویسندگان

فاطمه خانی: انجام آزمایش‌ها، تحلیل داده‌ها و نگارش مقاله. علی پورمتعبد: ویرایش مقاله و مشاوره حین اجرای پژوهش. حسین عزیزی: طراحی، نظارت و راهنمایی حین اجرای پژوهش و بررسی و بازبینی نهایی مقاله

### منابع مالی

این مقاله با حمایت مالی دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس صورت پذیرفته است.

### تشکر و قدردانی

مجربان از دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس و دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه کمال تشکر را دارند.

مواد مخدر قرار می‌گیرد. فعالیت این سیستم در دوره نوجوانی بالا می‌باشد. همچنین برخی مطالعات نشان داده‌اند که تزریق سیستمیک مرفین دارای اثرات ضد اضطرابی است (۱۸، ۱۹). در مطالعه ما، مصرف مرفین با الگوی حاد در دوره حساس نوجوانی اثرات ضد اضطرابی را تا هفته اول بعد از مواجهه با دارو حفظ کرد.

مطالعات دیگر نشان داده‌اند که دو محور مهم بدن، شامل محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-غدد جنسی (HPG) و محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-آدرنال (HPA) ممکن است به دنبال مصرف مواد افیونی تغییر کنند. در نتیجه تغییرات در این محورها، شکل‌پذیری عصبی طولانی‌مدت و پایداری در نواحی مختلف مغزی می‌تواند رخ دهد. با توجه به این که تنظیمات مجدد اساسی در هر دو محور HPA و HPG در دوره نوجوانی ایجاد می‌شود (۲۰)، قرار گرفتن در معرض مرفین در این دوره بحرانی ممکن است منجر به اثرات متفاوتی بر پروفایل‌های رفتاری عاطفی مانند اضطراب شود که بر اساس نوع مواجهه با دارو و مدت زمان مواجهه نتایج متفاوتی نیز خواهد داشت.

سوءمصرف مواد در دوره نوجوانی بلوغ مغز را تحت تأثیر قرار می‌دهد و باعث تغییرات رفتاری طولانی‌مدت می‌شود (۲۱). می‌توان استدلال کرد که مدارهای مغزی مرتبط با جنبه‌های شناختی مانند یادگیری و حافظه، توجه و انگیزه به دلیل قرار گرفتن در معرض مواد مخدر دچار تغییرات طولانی‌مدت می‌شوند. تاکنون مطالعات کمی در مورد تکامل و سطح عملکرد سیستم افیونی در دوره نوجوانی صورت گرفته است. گزارش شده است که سیستم اپیوئیدی در دوره نوجوانی به طور کامل توسعه نیافته است. مطالعات نشان داده‌اند که گیرنده‌های اپیوئیدی در دوره نوجوانی بیان شده و به سطوح عملکردی قابل قبولی می‌رسند. علاوه بر این، سیستم اپیوئیدی در این دوره حساس دستخوش تغییراتی در موقعیت سلولی و پردازش عملکردی می‌شود. همچنین گزارش شده است که مصرف مرفین مزمن در دوره بلوغ منجر به تغییرات طولانی‌مدت در گیرنده‌های مواد افیونی مو و کاپا می‌شود (۲۲). در مطالعات قبلی به بررسی اثرات مواجهه مزمن با مرفین در نوجوانی بر رفتار شبه اضطرابی تا دوره بزرگسالی پرداخته شد. یافته‌های این مطالعه نشان داد که مواجهه مزمن با مرفین منجر بروز رفتار ضد اضطرابی ماندگار تا بزرگسالی می‌گردد (۹). در حالی که بر اساس یافته‌های مطالعه حاضر این رفتار ضد اضطرابی به دنبال مواجهه حاد با مرفین در دوره نوجوانی اثرات کوتاه مدت داشته و این رفتار ضد اضطرابی تا بزرگسالی حفظ نمی‌شود. بنابراین، یکی از توضیحات برای این نوع الگوهای رفتاری مشاهده شده در این مطالعه، دوز مرفین و مدت زمان مواجهه با مرفین در دوره نوجوانی و اثرات تعدیلی که بر بیان گیرنده‌های مواد افیونی در

## References

1. Wahlstrom D, Collins P, White T, Luciana M. Developmental changes in dopamine neurotransmission in adolescence: Behavioral implications and issues in assessment. *Brain and Cognition*. 2010;72(1):146-159.
2. Salmanzadeh H, Ahmadi-Soleimani SM, Pachenari N, Azadi M, Halliwell RF, Rubino T, et al. Adolescent drug exposure: A review of evidence for the development of persistent changes in brain function. *Brain Research Bulletin*. 2020;156:105-117.
3. Spear LP. Consequences of adolescent use of alcohol and other drugs: Studies using rodent models. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 2016;70:228-243.
4. Andersen SL. Trajectories of brain development: Point of vulnerability or window of opportunity?. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 2003;27(1-2):3-18.
5. Khani F, Radahmadi M, Alaei H. The protective effects of crocin on input-output functions and long-term potentiation of hippocampal CA1 area in rats exposed to chronic social isolated stress. *Basic and Clinical Neuroscience*. 2022;13(2):165-174.
6. Stanwood GD, Levitt P. Drug exposure early in life: Functional repercussions of changing neuropharmacology during sensitive periods of brain development. *Current Opinion in Pharmacology*. 2004;4(1):65-71.
7. Khani F, Pourmotabbed A, Hosseinmardi N, Alaei E, Fathollahi Y, Azizi H. Acute adolescent morphine exposure improves dark avoidance memory and enhances long-term potentiation of ventral hippocampal CA1 during adulthood in rats. *Addiction Biology*. 2023;28(8):e13308.
8. Khani F, Pourmotabbed A, Hosseinmardi N, Nedaei SE, Fathollahi Y, Azizi H. Impairment of spatial memory and dorsal hippocampal synaptic plasticity in adulthood due to adolescent morphine exposure. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*. 2022;116:110532.
9. Khani F, Pourmotabbed A, Hosseinmardi N, Nedaei SE, Fathollahi Y, Azizi H. Development of anxiety-like behaviors during adolescence: Persistent effects of adolescent morphine exposure in male rats. *Developmental Psychobiology*. 2022;64(7):e22315.
10. Khani F, Pourmotabbed A, Veisi M, Hosseinmardi N, Fathollahi Y, Azizi H. Adolescent morphine exposure impairs dark avoidance memory and synaptic potentiation of ventral hippocampal CA1 during adulthood in rats. *Life Sciences*. 2022:121344.
11. Radahmadi M, Alaei H. The impact of crocin and chronic isolation stress on passive avoidance memory and brain electrical activity in male rats. *Physiology and Pharmacology*. 2022;26(4):412-423.
12. Wegener N, Koch M. Behavioural disturbances and altered Fos protein expression in adult rats after chronic pubertal cannabinoid treatment. *Brain Research*. 2009;1253:81-91.
13. Sullivan SE, Black YD, Naydenov AV, Vassoler FR, Hanlin RP, Konradi C. Binge cocaine administration in adolescent rats affects amygdalar gene expression patterns and alters anxiety-related behavior in adulthood. *Biological Psychiatry*. 2011;70(6):583-592.
14. Buck JM, Morris AS, Weber SJ, Raber J, Siegel JA. Effects of adolescent methamphetamine and nicotine exposure on behavioral performance and MAP-2 immunoreactivity in the nucleus accumbens of adolescent mice. *Behavioural Brain Research*. 2017;323:78-85.
15. Zhu W, Mao Z, Zhu C, Li M, Cao C, Guan Y, et al. Adolescent exposure to cocaine increases anxiety-like behavior and induces morphologic and neurochemical changes in the hippocampus of adult rats. *Neuroscience*. 2016;313:174-183.
16. Akwa Y, Purdy RH, Koob GF, Britton KT. The amygdala

la mediates the anxiolytic-like effect of the neurosteroid allopregnanolone in rat. *Behavioural Brain Research*. 1999;106(1-2):119-125.

17. Kang S, Paul K, Hankosky E, Cox C, Gulley J. D1 receptor-mediated inhibition of medial prefrontal cortex neurons is disrupted in adult rats exposed to amphetamine in adolescence. *Neuroscience*. 2016;324:40-49.

18. Zarrindast MR, Rostami P, Zarei M, Roohbakhsh A. Intracerebroventricular effects of histaminergic agents on morphine-induced anxiolysis in the elevated plus-maze in rats. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*. 2005;97(5):276-281.

19. Koks S, Soosaar A, Voikar V, Bourin M, Vasar E. BOC-CCK-4, CCKB receptor agonist, antagonizes anxiolytic-like action of morphine in elevated plus-maze. *Neuropeptides*.

1999;33(1):63-69.

20. Vassoler FM, Johnson-Collins NL, Carini LM, Byrnes EM. Next generation effects of female adolescent morphine exposure: Sex-specific alterations in response to acute morphine emerge before puberty. *Behavioural Pharmacology*. 2014;25(2):173-181.

21. Schwarz JM, Bilbo SD. Adolescent morphine exposure affects long-term microglial function and later-life relapse liability in a model of addiction. *Journal of Neuroscience*. 2013;33(3):961-971.

22. Byrnes EM. Chronic morphine exposure during puberty induces long-lasting changes in opioid-related mRNA expression in the mediobasal hypothalamus. *Brain Research*. 2008;1190:186-192.