

تزریق مرفین در ناحیه تگمنتوم شکمی و نوکلئوس اکومبنس و کاهش اضطراب در رت

چکیده

غلامحسن واعظی^۱

محمدرضا زرین دست^۲

ابوالفضل سالاریان زاده^{۳*}

سهند باباپور^۲

۱. دانشگاه آزاد اسلامی دامغان

۲. دانشکده پزشکی مرکز کامپیوتر، دانشگاه علوم

پزشکی تهران

زمینه و هدف: اضطراب فرآیندی است که در برگیرنده اثرات مکرر عوامل بیولوژیک و یا فیزیولوژیک بر روی یک ساختمان بیولوژیک (مغز) می باشد. اضطراب و ترس از دیر باز از جمله مباحث مهم روانشناختی بوده اند و همواره برای کنترل اضطراب از روش ها و داروهای مختلفی استفاده به عمل آمده است. هدف از این تحقیق اثر مرفین در کاهش اضطراب می باشد. **روش بررسی:** این تحقیق با روش Elevated plus maze انجام شد، از موشهای صحرایی نر بالغ نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۰۰ تا ۲۴۰ گرم استفاده شد. پس از عمل جراحی و کانول گذاری و گذراندن دوره بهبودی پنج روزه، برای تست مورد تزریق سالین و سه دوز مختلف مرفین قرار گرفتند. تست رفتاری بین ساعات ۱۲ تا ۱۶ انجام شد و هر حیوان فقط یک بار مورد آزمایش قرار گرفت. آزمایش اول در ناحیه تگمنتوم شکمی و آزمایش دوم در ناحیه نوکلئوس اکومبنس انجام شد. **یافته ها:** دوزهای مختلف مرفین بر درصد زمانی تعداد دفعاتی که موش وارد بازوی باز شده است تاثیری نداشته ولیکن دوز ۵ $\mu\text{l/Rat}$ باعث افزایش درصد زمانی تعداد دفعاتی می شود که موش وارد بازوی باز شده است ($p < 0/05$). در آزمایش دوم که در ناحیه نوکلئوس اکومبنس انجام شد، دوز ۲/۵ $\mu\text{l/Rat}$ مرفین بر درصد زمانی که موش در بازوی باز طی کرده ($p < 0/01$) و درصد زمانی تعداد دفعاتی که موش وارد بازوی باز شده است دارای تاثیر معنی داری بود ($p < 0/01$). **نتیجه گیری:** با توجه به یافته های این مطالعه، به نظر می رسد که دوزهای مختلف مرفین در این دو ناحیه می تواند باعث کاهش اضطراب شود.

کلمات کلیدی: ناحیه تگمنتوم شکمی، نوکلئوس اکومبنس، مرفین، اضطراب، Elevated plus-maze

*نویسنده مسئول: دانشکده پزشکی، مرکز کامپیوتر (آمار و اطلاع رسانی و وب سایت) تلفن: ۶-۸۹۷۳۳۶۵
email: salarian_a@yahoo.com

مقدمه

در VTA بر روی اضطراب ناشی از تحریک الکتریکی آمیگدال تاثیر مستقیم دارند.^۱ و HA-966 که یک آگونیست نسبی سیستم NMDA می باشد خاصیت ضد اضطرابی در تزریق به VTA نشان می دهد.^۲ از سوی دیگر VTA در ابقاء حافظه وابسته به مرفین نقش دارد^۳ و نوروپپتید FF و اپیوئیدها در VTA در پاسخ رفتاری به novelty در موشها با هم تداخل عمل دارند.^۴ تحریک مغز در ناحیه نوکلئوس اکومبنس (Nucleus Accumbens) (NAC) سبب کاهش اضطراب در بیماران مبتلا به بیماری های اضطرابی و وسواس شده است^۵ و رسپتورهای اپیوئیدی μ و k در اثر ضد درد ناشی از مرفین در NAC دخیل هستند^۶ و داروهای دوپامینرژیک تزریق شده در NAC بر ترجیح مکانی ناشی از مرفین نقش دارند.^{۱۱} در مورد اثرات ضد اضطراب مرفین نیز تحقیقات و مقالات بسیار زیادی موجود است.^۱

اضطراب (Anxiety) یک پدیده پیچیده با علل و نتایج اجتماعی و روانی مهم می باشد. در واقع می توان گفت که اضطراب یک فرایند بیولوژیکی است، چرا که در برگیرنده اثرات مکرر عوامل بیولوژیک و یا فیزیولوژیک بر روی یک ساختمان بیولوژیک (مغز) می باشد. مرفین دارای خاصیت ضد اضطرابی در هنگام تزریق سیستمیک می باشد. سیستم هیستامینی به طرق مختلف در بروز اضطراب ناشی از مرفین تاثیر دارد.^۱ نالتروکسان سبب افزایش خاصیت ضد اضطرابی کلردیازپوکساید در موش می شود^۲ و نالوکسان سبب مهار اثرات ضد اضطراب نوروپپتید- Y می شود.^۳ مطالعات نشان می دهد نورون های دوپامینرژیک در تگمنتوم شکمی (Ventral Tegmental Area) (VTA) اثرات مهمی در تحریک ترس دارند.^۴ نورونهای دوپامینرژیک موجود

تصادفی مورد آزمایش قرار می‌گیرند. رت‌ها به صورت تک تک و رو به بازوی باز در روی EPM و در مربع وسط ماز قرار داده می‌شوند و به آنها اجازه داده می‌شود تا پنج دقیقه آزادانه حرکت کنند. تعداد ورودی‌های حیوان به بازوی باز، بازوی بسته و زمان سپری شده در بازوی باز و یا بازوی بسته مورد ارزیابی قرار می‌گیرند. ورود به هر بازو به ورود چهار دست و پای حیوان به بازو اطلاق می‌گردد و خروج از هر بازو نیز به خروج چهار دست و پای حیوان گفته می‌شود. درصد ورود به بازوی باز و درصد زمان سپری شده در بازوی باز توسط فرمول‌های زیر مورد محاسبه قرار می‌گیرد. % Open Arm Time (OAT) عبارت است از درصد زمانی که موش در بازوی باز طی کرده و نحوه محاسبه آن به این ترتیب می‌باشد:

$$OAT\% = \frac{OAT}{OAT + CAT} \times 100$$

Close Arm Time (CAT) عبارت است از زمان سپری شده در بازوی بسته % Open Arm Entries (OAE) عبارت است درصد زمانی تعداد دفعاتی که موش وارد بازوی باز شده است. ورود به یک بازو، ورود هر چهار دست و پا تلقی شده و خروج نیز خروج هر چهار دست و پا در نظر گرفته می‌شود و فرمول آن نیز به این صورت می‌باشد:

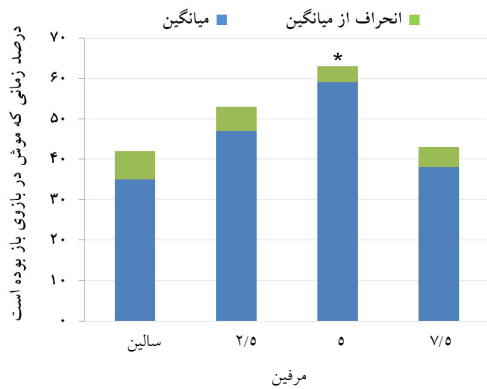
$$OAE\% = \frac{OAE}{OAE + CAE} \times 100$$

% Close Arm Entries (CAE) عبارت است دفعات ورود به بازوی بسته. تعداد کل دفعات ورود به بازوها به عنوان معیار حرکت حیوان مورد ارزیابی قرار می‌گیرد. اساس تست EPM بر دو اصل استوار است یکی حس غریزی جستجوگرانه حیوان و دیگری گزینه احتراز از محیط‌های باز و روشن. به بیان دیگر از طرفی حیوان تمایل به حرکت و جستجو در تمام بازوها را دارد و از طرف دیگر از ورود به بازوی باز می‌ترسد و همین امر سبب بروز تضاد و اضطراب در حیوان می‌گردد. به همین دلیل حیوان بیشتر وقت خود را در بازوی بسته سپری می‌کند. در این تحقیق در آزمایش اول چهار گروه هشت‌تایی از رت‌ها به ترتیب سالیان و مرفین به غلظت‌های $0.5 \mu\text{g}/\text{Rat}$ ، $1 \mu\text{g}/\text{Rat}$ ، $2 \mu\text{g}/\text{Rat}$ در VTA دریافت می‌دارند و پنج دقیقه بعد از تزریق داخل VTA به روی دستگاه EPM مورد تست قرار می‌گیرد و در آزمایش دوم چهار گروه هشتایی از رت‌ها به ترتیب سالیان و مرفین به غلظت‌های $0.5 \mu\text{g}/\text{Rat}$ ، $1 \mu\text{g}/\text{Rat}$ ، $2 \mu\text{g}/\text{Rat}$ در NAC دریافت کرده و پنج دقیقه بعد از آخرین تزریق به NAC مورد تست قرار می‌گیرند و در پایان آزمایشات تمام حیوانات گروه‌های مختلف جهت تعیین کانول

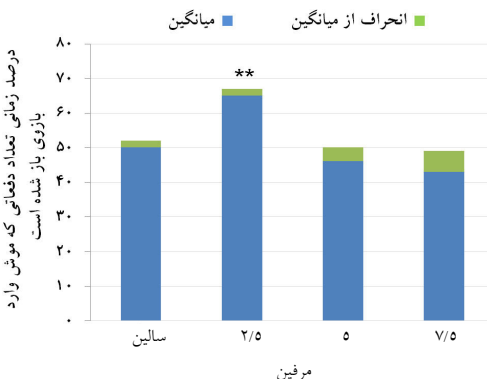
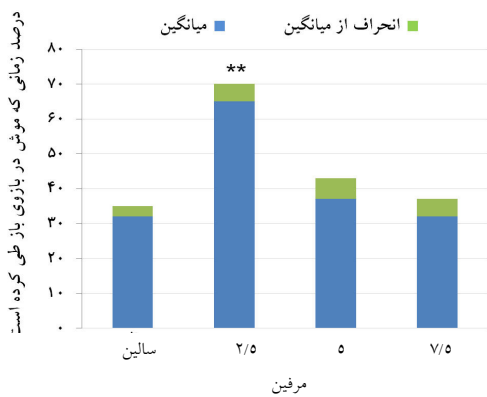
اما تاکنون مقاله‌ای در مورد اثر ضد اضطرابی مرفین بر سیستم مزولیمبیک که VTA و NAC از اجزاء آن می‌باشند موجود نیست و این امر ما را برای بررسی این مهم رهنمون ساخته است.

روش بررسی

داروی مورد استفاده در این تحقیق سولفات مرفین ساخت شرکت تماد ایران (تولید مواد اولیه داروپخش) می‌باشد. این دارو در سالیان ۰/۹ درصد استریل حل می‌شود و سپس تزریقات داخل NAC و VTA صورت می‌گیرد. در این تحقیق موش‌های صحرایی (رت) نر نژاد ویستار خریداری شده از انستیتو پاستور تهران که وزن آنها بین ۲۰۰ تا ۲۴۰ گرم می‌باشد مورد استفاده قرار گرفته‌اند. در هر قفس (جعبه) تعداد چهار رت نگهداری می‌شود و اتاق حیوانات سیکل ۱۲-۱۲ ساعته تاریکی و روشنایی دارد. دمای اتاق حیوانات 23 ± 1 درجه سانتیگراد می‌باشد. حیوانات دسترسی آزاد به آب و غذای مخصوص موشها، به جز در زمان آزمایش داشته و حداقل یک هفته قبل از جراحی نسبت به شرایط محیط آزمایشگاه سازگاری پیدا می‌کنند. دو تا سه روز قبل از تست حیوانات هر کدام به مدت سه دقیقه مورد نوازش قرار می‌گیرند. تست رفتاری بین ساعت ۱۲ تا چهار عصر صورت گرفته و هر حیوان فقط یک بار مورد تست قرار گرفته است. تست اضطراب به روش Elevated Plus Maze (EPM) می‌باشد این تست در ابتدا توسط Pellow & File در سال ۱۹۸۶ میلادی معرفی شد.^{۱۱} دستگاه EPM یک ماز چوبی به شکل بعلاوه (+) می‌باشد که از چهار بازو تشکیل شده است. دو تا از بازوها دارای هیچ دیواره‌ای نیست و اندازه آن 50×10 cm می‌باشد. دو بازوی دیگر دارای دیواره‌های جانبی و انتهایی، ولی بدون سقف می‌باشند. ارتفاع دیواره‌ها ۴۰ سانتیمتر و اندازه خود بازوهای آن 50×10 cm می‌باشد. این ماز به اندازه ۵۰ cm بالاتر از سطح زمین قرار گرفته است. در محل تلاقی چهار بازو یک مربع به اندازه 10×10 cm ایجاد می‌شود. جهت افزایش تعداد کل ورودی‌های حیوان به بازوها، هر بار قبل از تست حیوانات به مدت پنج دقیقه در یک جعبه به اندازه $50 \times 50 \times 35$ cm قرار داده می‌شوند. پنج روز بعد از جراحی، اثرات داروها در سایتهای VTA و NAC توسط این دستگاه (EPM) مورد بررسی قرار می‌گیرد. حداقل یک ساعت قبل از تست رت‌ها در اتاقی که برای تست استفاده می‌شود قرار می‌گیرند. رت‌ها به صورت



نمودار-۱: تزریق سالیین و سه دوز از مرفین (به صورت دوطرفه) در هفت موش رت نر بالغ، بر درصد OAE و Locomotion در ناحیه تگمتوم شکمی تأثیری ندارد ولیکن بر OAT% مرفین با دوز پنج میکروگرم در هر موش باعث افزایش درصد OAT در مقایسه با گروه کنترل می‌شود.



نمودار-۲: اثرات حاصل از تزریق سه دوز مختلف مرفین در NAC نشان می‌دهد مرفین با دوز ۲/۵μg در هر موش باعث افزایش درصد OAT و OAE در مقایسه با گروه کنترل می‌شود، که با افزایش این دو باعث کاهش اضطراب می‌شود.

مورد بررسی قرار می‌گیرند و به این ترتیب که حیوانات با کلروفورم کشته شده و سپس با سرنگ هامپلتون متیلن بلو از طریق کانول راهنما به داخل مغز تزریق شده و بعد از خارج نمودن مغز حیوان از مجسمه، و فیکس نمودن آنها در فرمالین، با انجام پروسه بافتی صحت عمل کانول‌گذاری تأیید می‌گردد و برای آنالیز آماری با استفاده از داده‌های خام میانگین و انحراف معیار را محاسبه کردیم. بررسی آماری و آنالیز داده‌ها به روش One way ANOVA برای مقایسه بین اثر دوزهای مختلف مرفین مورد استفاده قرار می‌گیرد. در صورت وجود value معنی‌دار، تست Tukey برای مقایسه بین گروه‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد. تفاوت با $p < 0.05$ بین گروه‌ها از لحاظ آماری معنی‌دار تلقی می‌گردد. کانول راهنمای stainless steel شماره ۲۲ ساخت شرکت B-Braun آلمان به صورت دوطرفه در ناحیه تگمتوم شکمی VTA و همچنین نوکلئوس اکومبئس NAC قرار داده می‌شوند. مختصات این ناحیه‌ها از اطلس Paxinos و Watson استخراج شده است. مختصات آناتومیک برای VTA عبارت است از: ۴/۸ میلی‌متر عقب‌تر از برگما، ۸/۱ میلی‌متر به طرف شکمی و یک میلی‌متر به طرف کناری، و مختصات آناتومیک برای NAC ۱/۷ میلی‌متر عقب‌تر از برگما، ۷/۲ میلی‌متر به طرف شکمی و ۰/۹ میلی‌متر به طرف کناری می‌باشد. حیوانات در محیطی با دما و نور مناسب و آب و غذای کافی نگهداری می‌شدند، حیوانات در بیهوشی کامل تحت جراحی (کانول‌گذاری) قرار گرفتند و در هنگام تزریق سعی بر این بود که حداقل استرس بر حیوان وارد شود. این تحقیق توسط کمیته اخلاقی دانشگاه علوم پزشکی تهران مورد تأیید قرار گرفته است.

یافته‌ها

اثرات تزریق مرفین در ناحیه تگمتوم شکمی (VTA) مغز موشها بر رفتارهای شبه اضطرابی: ANOVA یک‌طرفه نشان می‌دهد که تزریق دوطرفه یک میکرولیتر در هر موش رت از دوزهای مختلف مرفین بر روی OAE% تأثیر نداشته ($F(3/24) = 1/896, p > 0.05$) ولی دوز پنج میکرولیتر در هر موش رت بر روی OAT% مؤثر است و با افزایش آن باعث کاهش اضطراب در حیوان می‌شود ($p < 0.05$). حیوان در هیچ‌یک از موارد مشاهده نشد. به عبارتی ($F(3/24) = 4/403, p > 0.05$). اثرات حاصل از تزریق مرفین در ناحیه نوکلئوس اکومبئس ($F(3/24) = 1/057$).

فاقد رسپتور μ می‌باشند خصوصیات و فنوتیپ‌های ضد اضطرابی نشان می‌دهند که می‌تواند بازگوکننده این امر باشد که تحریک رسپتورهای μ بر خلاف فعال شدن رسپتورهای δ سبب افزایش اضطراب می‌گردند.^{۱۹،۲۰} یکی از توجیه‌های این یافته می‌تواند از بین رفتن اثرات مهارى رسپتورهای مو بر روی نورونهای گابائوژیک سیستم لیمبیک باشد.^{۱۸،۲۱ و ۲۲} در مطالعات قبلی گزارش شده است که دوزهای بالای آنتاگونیست اوبیوئید (نالوکسان)، با اثرات ضد اضطرابی بنزودیازپین‌ها در تست‌هایی که شاخص‌های ضد اضطرابی را نشان می‌دهند، تداخل دارند این امر می‌تواند به این دلیل باشد که نالوکسان بیشتر تمایل به بلوک رسپتورهای μ و δ دارد تا رسپتور κ ، از سوی دیگر دوزهای بالای نالوکسان که بیشتر نسبت به بلوک رسپتورهای κ می‌شوند تا رسپتورهای μ و δ ، سبب کاهش اثرات ضد اضطراب بنزودیازپین‌ها می‌گردند.^{۲۳} با این حال در بسیاری از مطالعات دیگر نقش رسپتور دلتا در کاهش اثرات ضد اضطرابی بنزودیازپین‌ها پیشنهاد شده است.^{۲۴ و ۲۵} با این حال بلوک فارماکولوژیک رسپتورهای μ با خواص ضد اضطرابی در جوندگان هیچ رابطه‌ای نداشته و موشهایی که توانایی تولید بتا‌اندورفین (آگونیست اندوژن رسپتور μ) را ندارند هیچ تغییری در رفتارها و پاسخ‌های اضطرابی نشان نمی‌دهند.^{۲۵-۲۸} از طرف دیگر بر خلاف مطالعاتی که در بالا ذکر شد. سایر محققین که متدهای غیر تداخلی را جهت بررسی اضطراب استفاده نموده‌اند، مشاهده کرده‌اند که دوزهای متوسط نالوکسان و نالتروکسان (بلوک‌کننده رسپتور μ)، اثرات ضد اضطراب بنزودیازپین‌ها را افزایش می‌دهند.^{۲۳ و ۲۷، ۲۹} این مطالعه نشان می‌دهد در تزریق دوطرفه دوزهای مختلف مرفین در ناحیه تگمنتوم شکمی (VTA)، بیانگر آن است که حداکثر تاثیر در کاهش اضطراب در دوز پنج میکروگرم در هر موش مشاهده شد که باعث افزایش درصد OAE شده و از این طریق در کاهش اضطراب نقش دارد ولیکن در دوز بیشتر (هفت میکروگرم در هر موش) میزان اثر دارو پایین می‌آید که در این حالت با افزایش دوز دارو اثر آن افزایش پیدا نمی‌کند که این حالت می‌تواند به علت درگیر شدن رسپتورهای مختلف اوبیوئیدی باشد. دومین ناحیه‌ای که مورد بررسی قرار گرفت ناحیه نوکلئوس اکومبیس (NAC) می‌باشد. در این ناحیه دوز کمتر مرفین ۲/۵ میکروگرم در هر موش دارای بیشترین اثر بوده و باعث افزایش مقدار درصد OAT شده و از این طریق و به مقدار بیشتری از

اکومبیس (NAC) مغز موشها بر رفتار شبه اضطرابی، ANOVA یک‌طرفه نشان می‌دهد مرفین ۲/۵ میکروگرم در هر موش بر روی OAT% بیشترین اثر را دارد و باعث می‌شود آن را افزایش می‌دهد، ($F(۳/۲۴) = ۷/۷۲۴$ ، $p < ۰/۰۰۱$) و همچنین دوز ۲/۵ میکروگرم در هر موش بر روی OAE% اثر بیشتری گذاشته و باعث افزایش آن می‌شود، ($F(۳/۲۴) = ۶/۴۴۳$ ، $p < ۰/۰۱$) که در این حالت دارای تاثیر معنی‌داری بوده و آن را افزایش داده است که این دو حالت باعث کاهش اضطراب می‌شود ولیکن در این حالت و در همه دوزهای تزریقی تغییر معنی‌داری در فعالیت حرکتی حیوان (Locomotion) دیده نشده است ($F(۳/۲۴) = ۱/۰۱۰$ ، $p > ۰/۰۵$).

بحث

در این مطالعه سعی بر این است تا اثرات مرفین بر اضطراب را در ناحیه‌های VTA و NAC از طریق تست رفتاری پلاسمیز مورد بررسی قرار گیرد. داروهای اوبیوئیدی مثل مرفین از طریق رسپتورهای μ ، δ و κ اثر خود را اعمال می‌کنند که لیگاند‌های آندوژن آنها به ترتیب به بتا‌اندورفین/ اندو مرفین، انکفالین و پپتید وابسته به دینورفین می‌باشند. رسپتور μ ، δ و κ هر سه دارای اثرات مهارى بر فعالیت نورونی می‌باشند که این عمل به ترتیب توسط مهار جریان Ca^{2+} و افزایش جریان K^{+} به درون سلول و نیز از طریق فعال کردن سیستم آدنیلیل سیکلاز صورت می‌گیرد.^{۱۳ و ۱۴} برخی مطالعات نشان می‌دهند که اوبیوئیدها اثرات اضطراب‌زایی دارند و در هنگام بروز واکنش‌های اضطرابی پپتیدهای اوبیوئیدی در مراکز کورتیکولیمبیک مغز رها می‌شوند، علاوه بر این رسپتورهای اوبیوئیدی نیز در تمام ساختارهای کورتیکولیمبیک پراکنده شده‌اند. این رسپتورها اثرات مختلف و گاهی اوقات متضاد در کنترل خلق داشته و دارای تداخل عمل با شبکه‌های منوآمینرژیک و گابائوژیک می‌باشند. از این جمله می‌توان به اثر مهارى آن روی سیستم گابائوژیک موجود در هیپوکامپ، آمیگدال و ماده خاکستری دور مجرا اشاره نمود.^{۱۳-۱۸} رسپتورهای اوبیوئیدی گاهی دارای اثرات متفاوت و حتی متضاد در اضطراب می‌باشند. به‌عنوان مثال در موش‌هایی که فاقد رسپتور کاپا می‌باشند هیچ تغییر فنوتیپی در رفتار اضطرابی مشاهده نمی‌شود. از طرفی موش‌هایی که فاقد رسپتور دلتا اوبیوئید و یا انکفالین می‌باشند، افزایش شاخص‌های اضطرابی را نشان می‌دهند.^{۱۹ و ۲۰} مطالعات نشان می‌دهد موش‌هایی که

مرفین در هسته سیتوم جانبی در مقاله Le Merrer J. اشاره کرد.^{۳۰} این هسته غنی از رسپتورهای μ بوده و بیشتر دارای نورونهای گابائریک می‌باشد. تزریق مرفین در این محل دارای اثرات اضطراب زا می‌باشد، که به نوعی فرضیه مطرح شده ما را تأیید می‌کند. در نهایت می‌توان نتیجه گرفت که مرفین دارای اثرات ضد اضطراب بوده و احتمالاً در تداخل با سیستم گابائریک است.

ناحیه تگماتوم شکمی در کاهش اضطراب نقش دارد، همچنین دوز کمتر مرفین $2/5\mu\text{g/Rat}$ با اثر گذاشتن بر روی درصد OAE و افزایش دادن آن باعث کاهش اضطراب در حیوان می‌شود که در این قسمت نیز تأثیر بیشتری نسبت به آزمایش اول دارد. در تأیید این فرضیه که رسپتورهای μ دارای اثرات اضطراب‌زا و دیگر رسپتورهای اویوئیدی دارای اثرات ضد اضطراب هستند می‌توان به بررسی اثرات تزریق

References

- 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 Clin Pharmacol Toxicol* 2005; 97: 276-81.
- Silva RH, Frussa-Filho R. Naltrexone potentiates both amnesic and anxiolytic effects of chlordiazepoxide in mice. *Life Sci* 2002; 72: 721-30.
- Britton KT, Southerland S. Naloxone blocks 'anxiolytic' effects of neuropeptide Y. *Peptides* 2001; 22: 607-12.
- Gifkins A, Greba Q, Kokkinidis L. Ventral tegmental area dopamine neurons mediate the shock sensitization of acoustic startle: a potential site of action for benzodiazepine anxiolytics. *Behav Neurosci* 2002; 116: 785-94.
- Gelowitz DL, Kokkinidis L. Enhanced amygdala kindling after electrical stimulation of the ventral tegmental area: implications for fear and anxiety. *J Neurosci* 1999; 19.
- Morrow BA, Elsworth JD, Zito C, Roth RH. Biochemical and behavioral anxiolytic-like effects of R (+) HA-966 at the level of the ventral tegmental area in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 1999; 143: 227-34.
- Zarrindast MR, Farajzadeh Z, Rostami P, Rezayof A, Nourjah P. Involvement of the ventral tegmental area (VTA) in morphine-induced memory retention in morphine-sensitized rats. *Behav Brain Res* 2005; 163: 100-6.
- Cador M, Marco N, Stinus L, Simonnet G. Interaction between neuropeptide FF and opioids in the ventral tegmental area in the behavioral response to novelty. *Neuroscience* 2002; 110: 309-18.
- Sturm V, Lenart D, Koulousakis A, Treuer H, Herholz K, Klein JC, et al. The nucleus accumbens: a target for deep brain stimulation in obsessive-compulsive-and anxiety-disorders. *J Chem Neuroanat* 2003; 26: 293-9.
- Xiong W, Yu LC. Involvements of mu- and kappa-opioid receptors in morphine-induced antinociception in the nucleus accumbens of rats. *Neurosci Lett* 2006; 399: 167-70.
- Zarrindast MR, Azami BN, Rostami P, Rezayof A. Repeated administration of dopaminergic agents in the nucleus accumbens and morphine-induced place preference. *Behav Brain Res* 2006; 169: 248-55.
- Pelolow S, File SE. Anxiolytic and anxiogenic drug effects on exploratory activity in an elevated plus-maze: a novel test of anxiety in the rat. *Pharmacol Biochem Behav* 1986; 24: 525-9.
- Lewis ME, Khachaturian H, Schäfer MK, Watson SJ. Anatomy of the CNS opioid systems. *Trends Neurosci* 1985; 8: 111-9.
- Herz A, Akil, H, Simon EJ. The Opioids. Handbook of Experimental Pharmacology. Vol. 104/11. Berlin: Springer-Verlag; 1992.
- Millan MJ, Brocco M. The Vogel conflict test: procedural aspects, gamma-aminobutyric acid, glutamate and monoamines. *Eur J Pharmacol* 2003; 463: 67-96.
- Millan MJ. Kappa-opioid receptors and analgesia. *Trends Pharmacol Sci* 1990; 11: 70-6.
- Millan MJ. Multiple opioid systems and pain. *Pain* 1986; 27: 303-47.
- Cohen GA, Doze VA, Madison DV. Opioid inhibition of GABA release from presynaptic terminals of rat hippocampal interneurons. *Neuron* 1992; 9: 325-35.
- Fillioli D, Ghozland S, Chluba J, Martin M, Matthes HW, Simonin F, et al. Mice deficient for delta- and mu-opioid receptors exhibit opposing alterations of emotional responses. *Nat Genet* 2000; 25: 195-200.
- Konig M, Zimmer AM, Steiner H, Holmes PV, Crawley JN, Brownstein MJ, et al. Pain responses, anxiety and aggression in mice deficient in pre-proenkephalin. *Nature* 1996; 383: 535-8.
- Sugita S, North RA. Opioid actions on neurons of rat lateral amygdala in vitro. *Brain Res* 1993; 612: 151-5.
- Millan MJ. Descending control of pain. *Prog. Neurobiology*. 2002; 66, 355-474.
- Tsuda M, Suzuki T, Misawa M, Nagase H. Involvement of the opioid system in the anxiolytic effect of diazepam in mice. *Eur. J. Pharmacology*. 996; 307, 7-14.
- Duka T, Millan M.J, Ulsamer B, Doenicke A. Naloxone attenuates the anxiolytic action of diazepam in man. *Life Sci*. 1982; 31, 1833-1836.
- Millan M.J, Duka T. Anxiolytic properties of opiates and endogenous opioid peptides and their relationship to the actions of benzodiazepines. *Mod. Probl. Pharmacopsychiatry*. 1981; 17, 123-141.
- Sante A.B, Nobre M.J, Brandao M.L. Place aversion induced by blockade of mu or activation of kappa opioid receptors in the dorsal periaqueductal gray matter. *Behav. Pharmacology*. 2000; 11, 583-589.
- Nobre M.J, Ribeiro dos Santos N, Aguiar M.S, Brandao M.L. Blockade of μ - and activation of κ -opioid receptors in the dorsal periaqueductal gray matter produce defensive behavior in rats in the elevated plus-maze. *Eur. J. Pharmacology*. 2000; 404, 145-151.
- Kieffer B.L, Gavériaux-Ruff C. Exploring the opioid system by gene knock-out. *Prog. Neurobiology*. 2002; 66, 285-306.
- Agmo A, Galvan A, Heredia A, Morales M. Naloxone blocks the antianxiety but not the motor effects of benzodiazepines and pentobarbital: experimental studies and literature review. *Psychopharmacology*. 1995; 120, 186-194.
- Le Merrer J, Cagniard B, Cazala P. Modulation of anxiety by mu-opioid receptors of the lateral septal region in mice. *Pharmacol Biochem Behav*. 2006 Mar; 83(3):465-79. Epub 2006 Apr 19.

Morphine injection in the ventral tegmental area and nucleus accumbens and decreasing anxiety in rat

Vaezi Gh.¹
Zarrindast M r.²
Salarian A.^{*2}

1- Azad University of Damghan
2- Department of Pharmacology,
Tehran University of Medical
Sciences

* Corresponding author: School of
Medicine, Tehran University of
Medical Sciences, 14155-6447,
Tehran. Tel: +98-21-88973665-6
email: salarian_a@yahoo.com

Abstract

Background: Anxiety is a complex phenomenon with important results. In fact anxiety is a biologic process that has repetitive biological and physiological effect on the biological structure of brain. From long time ago anxiety and fear has been one of the important psychological issues and for the control of anxiety different drugs with different mechanisms have been presented and understanding mechanisms that are involved lead us to newer drugs discovery. In this research the effect of morphine on the anxiety in the adult Male rats in the Ventral Tegmental area (VTA) and Nucleus Accumbens (NAc) was studied.

Methods: The elevated plus maze was used in combination with the percentage of time spent in the open arms of the maze (OAT %) and the percentage of entries into the open arms (OAE %) to measure anxiety. Increases in the OAT% and OAE% indicate an anxiolytic effect (reduction in anxiety), whereas decreases in the OAE% and OAT% indicate an anxiogenic effect. Adult male rats, weighing 200-240 grams, underwent surgery. After five days, the rats were injected with saline and three different doses of morphine (2.5, 5, and 7.5 μ l/rat). Experiment one included the injections into the VTA. In the second experiment, these injections were in the NAc. Behavioral tests were conducted between 12 pm and 4 pm and each animal was used once for each experiment.

Results: In the first experiment, although these doses of morphine injected into the VTA had no effect on the OAE%, a dose of 5 μ l/rat increased the OAT%, showing a decrease in the animals' anxiety. In the second experiment, doses of 2.5 μ l/rat injected into the NAc induced a significant increase in the OAT% and OAE%, thereby displaying decreased anxiety in the animal. However, no significant change in the activity of the animals was observed.

Conclusion: As a Result of these experiments, it seems that different doses of morphine can decrease anxiety, probably through interaction with gabaergic system.

Keywords: Ventral tegmental area, nucleus accumbens, morphine, anxiety, elevated plus maze.