مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی گرگان / تابستان ۱۳۸۷ / دوره ۱۰ / شماره ۲ (پی‌درپی ۲۶) / صفحات ۵ تا ۱۰

تحقیقی

نقش وابستگی به مرفین بر سطح اضطراب در موش صحرائی آزمایشگاهی

حسین میلادی گرجی*[۱]، دکتر علی رشیدی پور[۲]، دکتر یعقوب فتح الهی[۳]، دکتر عباسعلی وفایی[۴]، دکتر عباسعلی طاهریان[۵]

۱- دانشجوی دکتری فیزیولوژی ، مرکز تحقیقات فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی سمنان. ۲- استاد فیزیولوژی ، مرکز تحقیقات فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی سمنان. ۳- استاد فیزیولوژی ، گروه فیزیولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه تربیت مدرس. ۴- دانشیار فیزیولوژی ، مرکز تحقیقات فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی سمنان. ۵- پزشک عمومی ، عضو هیأت علمی ، مرکز تحقیقات فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی سمنان.

چکیده

زمینه و هدف : *تجویز داروهای مخدر به صورت حاد و مزمن روی فرآیند اضطراب اثرات متناقضی برجای می‌گذارد. این مطالعه به منظور بررسی نقش وابستگی به مرفین بر سطح اضطراب در موش صحرائی صورت گرفت.*

روش بررسی: *در این مطالعه تجربی از ۲۰ سر موش صحرائی نر نژاد ویستار با وزن ۳۰۰-۲۵۰ گرم استفاده شد که با تجویز مزمن مرفین در آب آشامیدنی به مدت ۲۱ روز وابسته شدند. موش‌های صحرائی گروه کنترل فقط سوکروز در آب آشامیدنی دریافت کردند. از مدل ماز به‌علاوه‌ای شکل مرتفع (EPM) برای ارزیابی رفتار شبه‌اضطرابی در موش‌های صحرائی استفاده شد و به مدت ۵ دقیقه متغیرهای تعداد ورود به بازوهای باز، مدت زمان ماندن در بازوهای باز ، Stretched-attend posture (SAP) و تعداد دفع مدفوع ارزیابی و ثبت گردید. بعد از آزمون اضطراب فعالیت حرکتی حیوان با استفاده از یک سیستم مونیتورینگ مورد بررسی قرار گرفت. در تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها از آزمون تی مستقل و آنالیز واریانس دو طرفه (ANOVA) استفاده شد.*

یافته‌ها : *مدت زمان ماندن در بازوی باز و تعداد ورود به بازوی باز در گروه وابسته به مرفین به طور معنی‌داری کوتاه‌تر از گروه کنترل بود (P<۰/۰۵). همچنین تعداد Stretched attend posture (SAP) و تعداد دفع مدفوع در گروه مرفینی به صورت معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل بود (P<۰/۰۵)، در حالی که فعالیت حرکتی کل ثبت شده در بین دو گروه اختلاف معنی‌داری نداشت.*

نتیجه‌گیری: *این مطالعه نشان داد که استعداد بروز اثرات شبه‌اضطرابی در شرایط پراسترس در موش‌های صحرائی وابسته به مرفین ممکن است سریع‌تر رخ دهد، بدون این که بر فعالیت حرکتی آنها تاثیری داشته باشد.*

کلید واژه‌ها: *وابستگی به مرفین ، اضطراب ، موش*

---

* *نویسنده مسؤول : حسین میلادی گرجی ، پست الکترونیکی :* ***miladi331@yahoo.com***

نشانی : سمنان ، کیلومتر ۵ جاده دامغان ، دانشکده پزشکی ، گروه فیزیولوژی ، تلفن: ۸۲ و ۳۳۳۲۰۸۰ (۰۲۳۱) ، نمابر : ۳۳۵۴۱۶۱

وصول مقاله : ۸۶/۵/۲۳ ، اصلاح نهایی : ۸۶/۱۱/۲۷ ، پذیرش مقاله : ۸۷/۱/۲۷

مقدمه

وجود اوپیوییدهای آندوژن و توزیع گسترده گیرنده‌های متنوع آنها در قسمت‌های مختلف بدن به خصوص سیستم عصبی مرکزی، بر پیچیدگی‌های عملکرد آنها افزوده است. مواد مخدر می‌توانند مکانیسم‌های شکل‌پذیری سیناپسی را در مدارهای کلیدی مغز از جمله سیستم دوپامینی مزولیمبیک به تصاحب خود در آورند و از این طریق جنبه‌های ویژه اعتیاد از جمله اشتیاق به دارو، سیستم یادگیری، حساسیت رفتاری، حالات مختلف هیجان و پاسخ استرسی را تحت تاثیر قرار دهد. لذا جلوگیری از پیشرفت این تعدیلات سیناپسی ممکن است، در درمان این معضل بزرگ جامعه بشری مفید باشد. استرس یک عامل قوی پدیده بازگشت (عودمجدد) در انسان و مدل‌های جانوری اعتیاد است (۱). اضطراب هم یک عامل قوی در تمایل به دریافت دارو در افراد معتاد به هروئین می‌باشد (۲).

تجویز حاد و مزمن مرفین اثرات مختلفی بر فرآیند اضطراب دارد. بخشی از اثر تسکین‌دهندگی مواد اوپیوییدی از طریق کاهش قابل پیش‌بینانه اضطراب می‌باشد (۳). تزریق دوز واحدی از مرفین به داخل صفاق و هسته مرکزی آمیگدال موجب افزایش معنی‌داری بر فعالیت جستجوگرانه موش‌های صحرائی در ماز به‌علاوه‌ای شکل مرتفع می‌گردد. به عبارتی دیگر اثر ضداضطرابی بالقوه‌ای را در موش صحرائی ایجاد می‌کند (۴و۵). این عمل ممکن است از طریق کاهش در آزاد سازی نورآدرنالین در نواحی متعدد مغزی از جمله هسته مرکزی آمیگدال باشد (۶). مطالعات دیگر نشان داد که به دنبال تجویز مزمن مرفین و کوکائین به خصوص در زمان قطع مرفین، عامل آزادکننده کورتیکوتروپین در آمیگدال به طور قوی فعال می‌گردد که ممکن است مسؤول اضطراب وابسته به سندرم قطع باشد (۱۰-۷). در گزارشی دیگر آمده است که به دنبال قطع مرفین و نیز تجویز نالتروکسون در انسان و موش‌های صحرائی وابسته اضطراب ایجاد گردید (۱۱).

کوکائین که از دسته اوپیات‌ها می‌باشد، یک تقویت کننده قوی سیستم پاداشی مغز است که در انسان ایجاد اضطراب و در جانوران آزمایشگاهی نیز در مدل ماز به‌علاوه‌ای شکل مرتفع ایجاد رفتار شبه‌اضطرابی می‌کند و احتمالاً از طریق محور هیپوتالاموسی- هیپوفیزی-آدرنال (HPA) تعدیل می‌گردد (۸و۱۲). بنابراین مواد مخدر ممکن است زمینه‌ساز بیشتر اثرات اضطراب‌زایی در موجود زنده باشد. با توجه به این که روی اثرات تجویز مزمن مرفین بر روی سطح اضطراب در زمان وابستگی نه در زمان قطع، کمتر مطالعه شده است، لذا این مطالعه به منظور بررسی اثرات اضطراب‌زایی مرفین در موش‌های صحرائی وابسته در مدل جانوری ماز به‌علاوه‌ای شکل مرتفع انجام شد.

روش بررسی

حیوانات و القاء وابستگی به مرفین

این مطالعه تجربی روی ۲۰ سر موش صحرائی نر نژاد ویستار با وزن ۳۰۰-۲۵۰گرم و سن تقریبی ۳ ماهه در مرکز تحقیقات فیزیولوژی سمنان طی سال ۱۳۸۶ انجام شد. کلیه آزمایشات انجام شده بر روی حیوانات براساس رعایت اصول اخلاقی صورت گرفت. موش‌ها به تعداد ۵ سر در هر قفس و در تحت شرایط محیطی و درجه حرارت مطلوب تقریباً ۲۲درجه سانتی‌گراد و با یک برنامه ۱۲ساعته روشنایی- تاریکی نگهداری شدند. موش‌های صحرائی دسترسی آزاد به محلول مرفین به عنوان تنها منبع مایع و غذا داشتند. برای از بین بردن طعم تلخ مرفین سولفات، سوکروز(۳درصد وزنی حجمی) به محلول مرفین افزوده می‌شد. پودر مرفین سولفات از معاونت داروی وزارت بهداشت و درمان تهیه شد.

موش‌های صحرائی با تجویز مزمن مرفین با دوزهای ۰/۱ ، ۰/۲ و ۰/۳ میلی‌گرم در میلی‌لیتر هرکدام به مدت ۴۸ ساعت و ۰/۴ میلی‌گرم در میلی‌لیتر در روزهای بعدی به مدت ۲۱ روز وابسته شدند. موش‌های صحرائی گروه کنترل فقط سوکروز در آبشان دریافت می‌کردند.

در این تجربه مقدار متوسط دریافت آب و نیز داروی دریافتی (مرفین) در طی تجویز بالاترین دوز (۰/۴ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) اندازه‌گیری شد که به ترتیب ۳۴۲ میلی‌لیتر به ازای هر کیلوگرم و ۱۳۷ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در روز بود. این روش تجویز مرفین حداقل ۲۱ روز تا برقراری کامل وابستگی به مرفین ادامه داشت.

این روش تجویز مرفین در آب آشامیدنی بسیار شبیه وابستگی و اعتیاد در انسان می‌باشد. چون حیوان مقدار دریافت

دارو را در طول دوران تحمل و وابستگی تنظیم می‌نماید (۱۳).

علائم سندرم قطع که در اثر تجویز نالوکسان به حیوانات وابسته به‌وجود می‌آید، به عنوان شاخصی از وابستگی به مرفین مدنظر قرار گرفت. در پایان ارزیابی اضطراب هیدروکلراید نالوکسان ۲ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی به گروه کنترل و وابسته به مرفین تزریق شد. بلافاصله بعد از تجویز نالوکسان متغیرهای رفتاری اسهال، در هم پیچیدن، انزال، جویدن، لرزش پنجه، روی دوپا ایستادن، خود را تمیز کردن و کاهش وزن در ۲۴ ساعت پس از تزریق نالوکسان به مدت ۳۰ دقیقه مورد نظر و ثبت گردید.

روش ارزیابی اضطراب

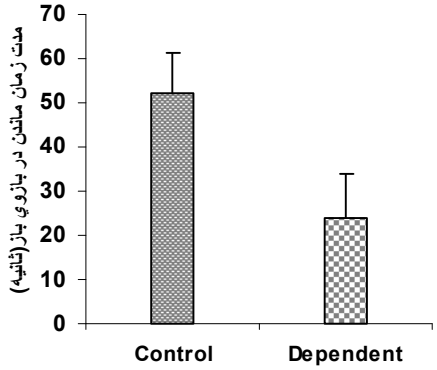
برای ارزیابی میزان اضطراب از دستگاهی به نام ماز به‌علاوه‌ای شکل مرتفع (Elevated Plus Maze،EPM) که مدل استاندارد برای ارزیابی سطح اضطراب در جوندگان است، استفاده شد. این دستگاه از چوب ساخته شده و شامل دو بازوی باز (هر یک ۱۰×۵۰ سانتی‌متر همراه با یک لبه ۵میلی‌متری) و دو بازوی بسته (هر یک ۴۰×۱۰×۵۰ سانتی‌متر) و یک کفه مرکزی (۱۰×۱۰ سانتی‌متر) می‌باشد، به طوری که بازوهای باز روبروی هم و بازوهای بسته هم روبروی یکدیگر قرار دارند و حدود ۷۰ سانتی‌متر از کف اطاق بالاتر قرار می‌گیرد. این مدل تجربی سنجش اضطراب غیرشرطی بوده و نیازی به آموزش و یادگیری حیوان ندارد (۱۶-۱۴).

در صبح روز آزمون هر موش به طور جداگانه، ۵ دقیقه قبل از آزمایش در جعبه‌ای با دیواره‌های مشکی از جنس پلکسی‌گلاس به ابعاد ۱۰×۴۰×۳۰ سانتی‌متر قرار می‌گرفت تا فعالیت جستجوگرانه (Explorative activity) حیوان افزایش یابد (۱۴). سپس برای سنجش سطح اضطراب، حیوان در ماز به‌علاوه‌ای مرتفع (در قسمت کفه و رو به بازوی باز) قرار داده شد و به مدت ۵ دقیقه متغیرهای اصلی تعداد ورود به بازوهای باز ، مدت زمان ماندن در بازوهای باز ، (SAP) stretched-attend posture (۱۶-۱۴) و تعداد دفع مدفوع (۱۷) ارزیابی و ثبت گردید. بلافاصله بعد از آزمون اضطراب فعالیت حرکتی حیوان بررسی شد. بدین ترتیب که هر موش به داخل قفس مورد نظر که به یک سیستم مونیتورینگ مادون قرمز متصل به کامپیوتر مجهز بود، گذاشته می‌شد. فعالیت حرکتی هر حیوان در ۶ فاصله ۲دقیقه‌ای (مجموع ۱۲دقیقه) ثبت گردید (۱۸).

در تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها از آزمون تی مستقل برای مقایسه دو گروه استفاده شد. برای آنالیز فعالیت حرکتی از آزمون آنالیز واریانس دو طرفه (ANOVA) همراه با repeated measures استفاده گردید. اختلاف $P<0/05$ بین گروه‌های مورد آزمایش از نظر آماری معنی‌دار درنظر گرفته شد.

یافته‌ها

در ارزیابی وابستگی به مرفین تمامی علائم سندرم قطع در گروه وابسته مشاهده شد. شایع‌ترین علامت مربوط به اسهال و درهم پیچیدن و کاهش وزن ۲۴ ساعته بود. ولی گروه کنترل در همان مدت زمان هیچ علائم مشخصه ترک را نشان ندادند.



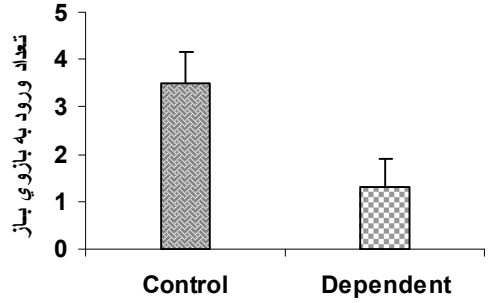
نمودار ۱ : تاثیر وابستگی به مرفین بر مدت زمان ماندن در بازوی باز در EPM
مدت زمان ماندن در بازوی باز در گروه وابسته به مرفین به طور معنی‌داری کوتاه‌تر ازگروه کنترل می‌باشد ($P<0/05$).
زمان به ثانیه می‌باشد. نتایج به‌صورت میانگین±میانگین خطای معیار برای ۱۰ سر موش در هر گروه بیان شده است.

مدت زمان ماندن در بازوی باز در گروه وابسته به مرفین به طور معنی‌داری کوتاه‌تر از گروه کنترل بود ($P<0/05$) (نمودار۱). به عبارتی دیگر موش‌های وابسته زمان کمتری را داخل بازوی سپری کردند.

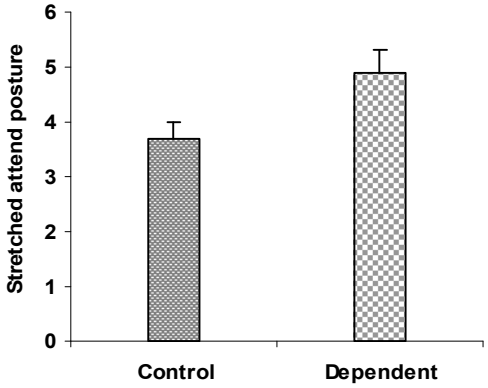
تعداد ورود به بازوی باز در گروه وابسته به صورت معنی‌داری کمتر از گروه کنترل بود ($P<0/05$) (نمودار ۲).

تعداد SAP (Stretched attend posture) در گروه مرفینی به صورت معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل بود ($P<0/05$) (نمودار ۳). به عبارتی دیگر گروه وابسته پرهیز از جستجو

کردن در بازوی باز را دارند و مدت زمان زیادی را در صفحه مرکزی ماز سپری کردند.



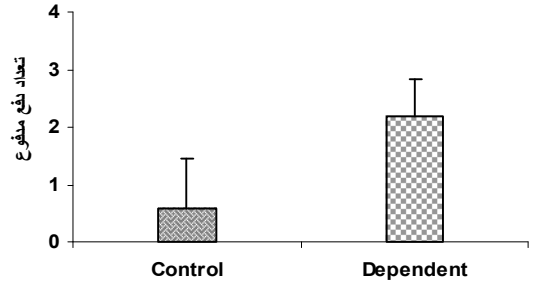
نمودار ۲ : تاثیر وابستگی به مرفین بر تعداد ورود به بازوی باز در EPM
تعداد ورود به بازوی باز در دو گروه اختلاف معنی‌داری دارد (P<۰/۰۵). نتایج به صورت میانگین±میانگین خطای معیار برای ۱۰ سر موش در هر گروه بیان شده است.



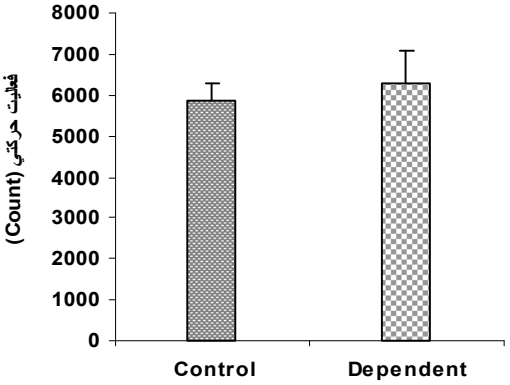
نمودار ۳ : تاثیر وابستگی به مرفین بر تعداد SAP در EPM
تعداد SAP در گروه مرفینی به صورت معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل می‌باشد (P<۰/۰۵). نتایج به صورت میانگین±میانگین خطای معیار برای ۱۰ سر موش در هر گروه بیان شده است.

تعداد دفع مدفوع در گروه وابسته به طور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل بود (P<۰/۰۵) (نمودار ۴).

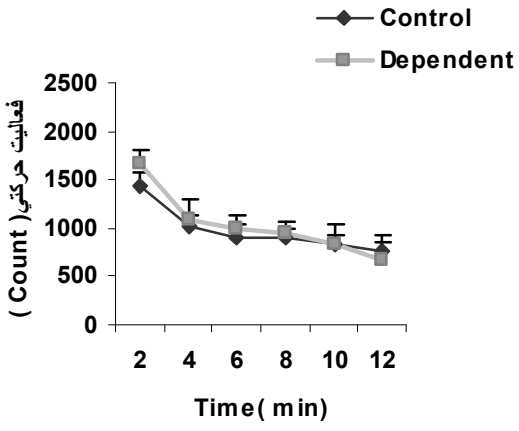
نمودار ۵ – الف نشان می‌دهد که فعالیت حرکتی کل ثبت شده در ۱۲ دقیقه بین دو گروه اختلاف معنی‌داری ندارد. آنالیز آماری در هر دو دقیقه از فعالیت حرکتی ثبت شده (نمودار ۵–ب) نشان داد که اختلاف معنی‌داری در گروه‌ها وجود ندارد (P=۰/۴۸۶ ، $F_{۱و۱۲}$=۰/۴۸۹). ولی از نظر زمانی در هر دو گروه اختلاف معنی‌داری وجود دارد (P<۰/۰۵ ، $F_{۵و۱۰۸}$=۷/۷۹۶) که در هر دو گروه با گذشت زمان کاهش نشان می‌دهد. همچنین اثر متقابل معنی‌داری بین گروه‌ها و زمان مشاهده نشد (P=۰/۹۵۶ ، $F_{۵و۱۰۸}$=۰/۲۱۴).



نمودار ۴ : تاثیر وابستگی به مرفین بر تعداد دفع مدفوع در EPM
تعداد دفع مدفوع در گروه وابسته به صورت معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل می‌باشد (P<۰/۰۵). نتایج به صورت میانگین±میانگین خطای معیار برای ۱۰ سر موش در هر گروه بیان شده است.



۵–الف



۵–ب

نمودار ۵–الف و ۵–ب : تاثیر وابستگی به مرفین بر فعالیت حرکتی. نتایج به صورت میانگین±میانگین خطای معیار برای ۱۰ سر موش در هر گروه بیان شده است.
۵–الف) : فعالیت حرکتی کل ثبت شده در ۱۲ دقیقه بین دو گروه اختلاف معنی‌داری ندارد.
۵–ب) : میانگین فعالیت حرکتی در هر دو دقیقه از فعالیت حرکتی ثبت شده با گذشت زمان کاهش معنی‌داری را نشان داد ($F_{۵و۱۰۸}$ =۷/ ۷۹۶، P<۰/۰۵).

بحث

در نتایج این مطالعه مشاهده شد که گروه وابسته به مرفین با جستجوی کمتر در داخل بازوی باز ماز اثرات شبه اضطرابی را در ماز به‌علاوه‌ای شکل مرتفع نشان می‌دهد که ممکن است وابسته به خصوصیات اضطراب‌زایی مرفین مزمن باشد.

تعداد ورود به داخل بازوی باز ماز نشانه فعالیت عمومی حیوان می‌باشد (۱۴و۱۶). هرچند در این مطالعه اختلاف معنی‌داری بین دو گروه در فعالیت حرکتی حیوانات مشاهده نشد. به عبارتی دیگر مرفین بی‌حرکتی (Immobility) را در موش‌های صحرائی وابسته کاهش داد.

تعداد Stretched attend posture (SAP) ممکن است به رفتار تصمیم‌گیری برگردد (۱۴و۱۶). یعنی زمانی که حیوان تصمیم به رفتن بداخل بازوی باز ماز را می‌گیرد. لذا با توجه به این که این تعداد SAP در موش‌های صحرائی وابسته به مرفین بیشتر است، نشان‌دهنده پرهیز حیوان از جستجوی داخل بازوی باز می‌باشد. به عبارتی دیگر این یافته نیز به اثرات اضطراب‌زایی مرفین مزمن برمیگردد.

بنابراین دو نکته مهم در این یافته‌ها به چشم می‌خورد. اول این که در مقایسه با گروه کنترل، موش‌های صحرائی وابسته به مرفین سریع‌تر رفتار شبه‌اضطرابی را در شرایط پراسترس(مثل ماز به‌علاوه‌ای شکل مرتفع) بروز می‌دهند و دوم این که تغییری در فعالیت حرکتی موش‌های صحرائی وابسته مشاهده نشد و رفتار جستجوگری در محیط جدید را کاهش داد. در تایید این یافته‌ها در مطالعات دیگر آمده است که محور HPA در تعدیل این عمل داروهای مخدر (کوکایین، مرفین و هروئین) دخالت دارد. بنابراین قابل انتظار است که با افرایش آزادسازی کورتیکوسترون استعداد بروز پاسخ اضطراب‌زایی در موش‌های صحرائی وابسته در مدل ماز به‌علاوه‌ای شکل بیشتر شود (۱۰-۸ و۱۲).

اضطراب تمایل به دریافت دارو را در افراد معتاد بیشتر می‌کند. بنابراین ممکن است، در افزایش ترجیحی موش‌های صحرائی وابسته در مکان‌های مرفینی در آزمون ترجیح مکان شرطی شده (CPP) نقش داشته باشد (۲). لذا با درمان اضطراب ممکن است، علاقه به مرفین در حیوانات وابسته کمتر شود.

در تحقیقی دیگرکه موش‌های صحرائی ماده بزرگسال را در دوره پره‌ناتال در معرض مرفین مزمن گذاشتند، مشاهده شد که فرزندان نر و ماده آنها (از طریق انتقال ژنی) در دوره بزرگسالی فعالیت جستجوگری کمتر و نیز مدت زمان کمتری را در بازوی باز ماز سپری کردند و همچنین حساسیت زیادی را به مرفین نشان می‌دادند (۱۹).

در پژوهشی دیده شد که اضطراب موجب اشتیاق به مرفین و عوامل وابسته به دارو در موش‌های صحرائی می‌گردد و داروی فلوکستین (مهار کننده انتخابی بازجذب سروتونین) موجب کاهش اضطراب و علاقه به مرفین می‌گردد. این نتایج نشان داد که عوامل افزایش‌دهنده انتقال سروتونرژیک ممکن است، درمان نویدبخشی برای افراد وابسته به مرفین باشد (۲).

در مطالعه‌ای که در ارزیابی حافظه درازمدت موش‌های صحرائی وابسته به مرفین در مدل ماز آبی موریس انجام شد، دیده شد که موش‌های صحرائی وابسته به مرفین بدون هیچ اختلالی در فعالیت حرکتی تمایل به شنا کردن با سرعت زیاد دارند (۲۰). احتمال دارد که استرس شنا در آب موجب ایجاد اضطراب و به دنبال آن سرعت زیاد شود.

در مطالعه حاضر همچنین نشان داده شد که تعداد دفع مدفوع (نه به صورت اسهال) در گروه وابسته به مرفین به صورت معنی‌داری بیشتر است. دفع مدفوع در این مرحله با دفع اسهالی مربوط به سندرم قطع متفاوت به نظر می‌رسد. در تایید این یافته گزارش گردید که Emotional defecation نشانه افزایش سطح اضطراب است. این یافته ممکن است پایه تکاملی مدل جانوری در سندرم اضطراب‌نارکولپسی‌باشد(۱۷).

نتیجه‌گیری

مطالعه حاضر نشان داد که تجویز مزمن مرفین موجب افزایش بیان اثرات شبه‌اضطرابی در شرایط استرس‌زا در موش صحرائی می‌گردد. بدون این که بر فعالیت حرکتی آنها تاثیری گذاشته و یا آنها را بی‌حرکت نماید.

تشکر و قدردانی

این کار بخشی از طرح مشترک دانشگاه تربیت مدرس و دانشگاه علوم پزشکی سمنان بود که با حمایت مالی دانشگاه تربیت مدرس انجام گرفت. بدین‌وسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه تربیت مدرس قدردانی می‌نماییم.

References

1) Kauer JA, Malenka RC. Synaptic plasticity and addiction. Nat Rev Neurosci. 2007; 8(11):844-58.

2) Harris GC, Aston-Jones G. Augmented accumbal serotonin levels decrease the preference for a morphine associated environment during withdrawal. Neuropsychopharmacology. 2001; 4(1): 75-85.

3) Bartoletti M, Gaiardi M, Gubellini C, Bacchi A, Babbini M. Morphine attenuation of a conditioned emotional response in post-dependent rats. Eur J Pharmacol. 1990; 185(2-3):163-7.

4) File SE, Rodgers RJ. Partial anxiolytic action of morphine sulphate following microinjection into the central nucleus of the amygdala in rats. Pharmacol Biochem Behav. 1979;11(3):313-8.

5) Kõks S, Soosaar A, Võikar V, Bourin M, Vasar E. BOC-CCK-4, CCK(B)receptor agonist, antagonizes anxiolytic-like action of morphine in elevated plus-maze. Neuropeptides. 1999; 33(1):63-9.

6) Tanaka M, Yoshida M, Emoto H, Ishii H. Noradrenaline systems in the hypothalamus, amygdala and locus coeruleus are involved in the provocation of anxiety: basic studies. Eur J Pharmacol. 2000;405(1-3):397-406.

7) Watanabe T, Nakagawa T, Yamamoto R, Maeda A, Minami M, Satoh M. Involvement of glutamate receptors within the central nucleus of the amygdala in naloxone-precipitated morphine withdrawal-induced conditioned place aversion in rats. Jpn J Pharmacol. 2002;88(4):399-406.

8) DeVries AC, Pert A. Conditioned increases in anxiogenic-like behavior following exposure to contextual stimuli associated with cocaine are mediated by corticotropin-releasing factor. Psychopharmacology (Berl). 1998; 137(4):333-40.

9) Maj M, Turchan J, Smiałowska M, Przewłocka B. Morphine and cocaine influence on CRF biosynthesis in the rat central nucleus of amygdala. Neuropeptides. 2003; 37(2):105-10.

10) Iredale PA, Alvaro JD, Lee Y, Terwilliger R, Chen YL, Duman RS. Role of corticotropin-releasing factor receptor-1 in opiate withdrawal. J Neurochem. 2000; 74(1):199-208.

11) Zhang HT. Regulation of the central opioidergic nervous system on the emotional state of anxiety and its possible mechanisms. Sheng Li Ke Xue Jin Zhan. 1997;28(1):41-4.

12) DeVries AC, Taymans SE, Sundstrom JM, Pert A. Conditioned release of corticosterone by contextual stimuli associated with cocaine is mediated by corticotropin-releasing factor. Brain Res. 1998; 786(1-2):39-46.

13) Salmanzadeh F, Fathollahi Y, Semnanian S, Shafizadeh M, Kazemnejad A. Dependence on morphine leads to a prominent sharing among the different mechanisms of long-term potentiation in the CA1 region of rat hippocampus. Brain Res. 2003; 963(1-2):93-100.

14) Clément Y, Joubert C, Kopp C, Lepicard EM, Venault P, Misslin R, et al. Anxiety in mice: a principal component analysis study. Neural Plast. 2007; 2007:35457.

15) Ookawa K, Mochizuki K, Shida E, Suzuki T, Suzuki T, Ooba T, et al. Anti-anxiety effect of ovary lipid extracted from Skipjack tuna (Katsuwonus pelamis) in rats. J Vet Med Sci. 2007; 69(6):633-6.

16) Pinheiro SH, Zangrossi H Jr, Del-Ben CM, Graeff FG. Elevated mazes as animal models of anxiety: effects of serotonergic agents. An Acad Bras Cienc. 2007; 79(1):71-85.

17) Russell KH, Hagenmeyer-Houser SH, Sanberg PR. Haloperidol-induced emotional defecation: a possible model for neuroleptic anxiety syndrome. Psychopharmacology (Berl). 1987; 91(1):45-9.

18) Pakdel R, Rashidy-Pour A. Glucocorticoid-induced impairment of long-term memory retrieval in rats: an interaction with dopamine D2 receptors. Neurobiol Learn Mem. 2006; 85(3):300-6.

19) Byrnes EM. Transgenerational consequences of adolescent morphine exposure in female rats: effects on anxiety-like behaviors and morphine sensitization in adult offspring. Psychopharmacology (Berl). 2005; 182(4):537-44.

20) Miladi Gorji H, Rashidy-Pour A, Fathollahi Y. Effects of morphine dependence on the performance of rats in reference and working versions of the water maze. Physiol Behav. 2008; 93(3):622-7.