Archive of SID

بررسی اثر تجویز مزمن مرفین بر رفتار تغذیه ای موش های صحرایی نر

محمد صوفی آبادی[1*]، محمد حسین اسماعیلی[1]، هاشم حق دوست یزدی[1]، حسن اژدری زر مهری[1]، محمد حسین کریم فر[2]

۱) گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین

۲) گروه تشریح، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام

تاریخ دریافت:۸۸/۱۰/۲ تاریخ پذیرش:۸۹/۸/۳۰

چکیده

مقدمه: اوپیات ها در تنظیم برخی از کارکردهای بدن و تظاهرات رفتاری نقش دارند. مصرف مزمن یا حاد مرفین می تواند پاسخ های متفاوتی را به همراه داشته باشد. بنابراین، هدف مطالعه حاضر بررسی اثر تجویز حاد و مزمن مرفین بر میزان مصرف غذا در رت های نر بوده است.

مواد و روش ها: برای این منظور از ۳۰ سر موش صحرایی نر با وزن حدود ۳۰۰-۲۵۰ گرم از نژاد اسپراگ-داولی استفاده شد که به طور تصادفی در ۳ گروه کنترل، حاد و مزمن(معتاد شده) توزیع شدند. ۱۲ ساعت پس از ناشتایی، به گروه حاد یا مزمن مرفین و به گروه کنترل نرمال سالین تزریق گردید. سپس هر حیوان به قفس ویژه آزمایش که دسترسی آسان به آب و غذا داشت انتقال یافته و میزان مصرف تجمعی غذا به فاصله هر ۱۵ دقیقه طی دوره ای یک ساعته، و نیز ۴ ساعت پس از تزریق اندازه گیری شد. در تحلیل آماری داده ها، در آزمون ANOVA یک طرفه و آزمون تعقیبی دانت استفاده گردید.

یافته های پژوهش: یافته های ما نشان داد که تجویز حاد مرفین با دوز ۱۰ میلی گرم/کیلو(در موش های غیر معتاد) باعث تاخیر در شروع تغذیه و کاهش مصرف غذا در ۶۰ دقیقه نخست پس از تزریق، در مقایسه با گروه کنترل شده بود. ولی میزان مصرف غذا را در ۴ ساعت پس از تزریق افزایش داد. تجویز مرفین با دوز ۱۰ میلی گرم/کیلو به موش هایی که به طور مزمن مرفین دریافت کرده بودند(موش های معتاد) تاخیری در شروع تغذیه ایجاد نکرد و مصرف غذا را هم در ۶۰ دقیقه نخست و هم در ۴ ساعت پس از تزریق افزایش داد که این افزایش نسبت به گروه حاد(غیر معتاد) و کنترل معنی دار بود.

بحث و نتیجه گیری: براساس یافته های این مطالعه اوپیات ها می توانند رفتار تغذیه ای حیوانات را تغییر دهند و نیز این که الگوی پاسخ تغذیه ای به مرفین در موش های معتاد در مقایسه با موش های غیر وابسته متفاوت است. هم چنین اعتیاد به مرفین باعث افزایش حساسیت پاسخ تغذیه ای نسبت به میزان آن در موش های صحرایی نر می گردد.

واژه های کلیدی: مرفین، مصرف غذا، اعتیاد، موش صحرایی

***نویسنده مسئول:** گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین

Email: mohasofi @yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

کنترل تغذیه به عهده سیستم عصبی مرکزی به ویژه هیپوتالاموس است. مراکز عصبی سیگنال های عصبی یا هورمونی را دریافت می کنند که نتیجه آن احساس سیری یا گرسنگی است و هورمون ها و نوروپپتیدهایی که در مغز یا لوله گوارش تولید می شوند یکی از این عوامل به حساب می آیند.(۱،۲)

اوپیوئیدها بر بسیاری از اعمال فیزیولوژیک بدن؛ مانند ترشح هورمون ها، رهایش نروترانسمیترها، فعالیت دستگاه اتونوم و حرکات لوله گوارش اثرگذار بوده، و بنابراین می توانند در کنترل و تنظیم تغذیه نقش داشته باشند.(۳،۴،۵)

مخدرهایی مانند مرفین آزاد سازی دوپامین از نورون های دوپامینرژیک تگمنتوم شکمی را افزایش می دهند. این نورون ها آکسون های خود را به نواحی مختلف مغز مثل هسته آکومبنس می فرستند و تزریق مکرر مرفین به حیوان باعث افزایش فعالیت الکتریکی نرون های دوپامینرژیک این مسیر برای مدت طولانی می‌شود که این افزایش فعالیت به ایجاد وابستگی منجر می گردد. این مسیر که به مسیر مزوکورتیکولیمبیک معروف است، مسیر اصلی پاداش در مغز به حساب می آید. از آن جایی که تحریک سیستم پاداش بر مصرف غذا تاثیر دارد، تغییر در فعالیت سیستم اوپیوئیدی با تغییر در میزان رهایش دوپامین همراه بوده و بر میزان مصرف غذا اثرگذار خواهد بود،(۶،۷). بر اساس اطلاعات گزارش شده، تحریک سیستم اوپیوئیدی در بسیاری از نمونه های حیوانی مثل رت باعث افزایش مصرف غذا و بر عکس در موش سوری موجب کاهش مصرف می گردد،(۸). هم چنین تجویز آگونیست های اوپیوئیدی موجب افزایش مصرف غذا شده و آنتاگونیست های آن مصرف غذا را در رت کاهش می دهند،(۴). در مطالعه ای دیگر، قطع مرفین در موش های رت به کاهش وزن و مصرف غذا انجـــامید،(۹). گیرنده های اوپیوئیدی در بسیاری از بخش های مرتبط با تغذیه مغز وجود دارند و با توجه به گستردگی سیستم اوپیوئیدی و پراکندگی گیرنده های آن در مغز، تاثیر اوپیوئیدها بر عمل تغذیه می تواند چندگانه باشد،(۴). از طرفی دیگر، اعتیاد به تریاک و مشتقات آن مانند مرفین می تواند عملکرد فیزیولوژیک سیستم های عصبی و اندوکرین و متابولیک را مختل و در نتیجه رفتارهای تغذیه ای را دستخوش تغییر سازد،(۵). اطلاعات اندکی در مورد اثر مرفین بر تغذیه به هنگام اعتیاد به آن در دسترس است و از آن جایی که شناخت این تغییرات به شناسایی فیزیوپاتولوژی اعتیاد کمک خواهد کرد، هدف این مطالعه مقایسه اثر مرفین بر مصرف غذا در رت های نر معتاد با رت های غیر وابسته به مرفین بود.

مواد و روش ها

در این مطالعه تجربی، از تعداد ۳۰ موش صحرایی نر نژاد اسپراوگ داولی(موسسه رازی) که بین ۲۵۰ تا ۳۰۰ گرم وزن داشتند، استفاده شد. موش ها در ۶ قفس جداگانه(هر قفس ۵ عدد) در دمای اتاق(۲±۲۳ درجه سانتی گراد) با تهویه مناسب و دوره نوردهی ۱۲ ساعت تاریکی-روشنی که دسترسی آن ها به آب و غذا آزاد بود، نگهداری شدند.

گروه های آزمون

حیوانات به صورت تصادفی به ۳ گروه مساوی زیر تقسیم شدند:

۱-گروه کنترل ۲-گروه غیر معتاد(حاد) ۳- گروه معتاد(مزمن)

اعتیاد در گروه سوم با تجویز روزانه مرفین خوراکی(۰/۴ میلی گرم در هر میلی لیتر آب آشامیدنی به همراه گلوکز ۳ درصد برای کاهش طعم تلخ مرفین) به مـــدت ۴ هفته ایجـــاد و در پایان با تزریق ۲ میلی گرم/رت نالوکسان و با توجه به علایم ناشی از سندرم ترک(مانند اسهال، سیخ شدن موها، جهیدن، دندان قروچه) تایید شد. این مدل ایجاد اعتیاد در حیوان شباهت بیشتری به مدل اعتیاد در انسان دارد.

روش اجرای آزمون

۱۲ ساعت قبل از تست، حیوانات به منظور عادت کردن به شرایط محیط به محل آزمایش منتقل و در این مدت از غذا محروم شدند. تمامی آزمایشات در فاز روشنایی و مابین ساعات ۱۱-۹ صبح انجام گردید. قبل از شـــروع آزمون، هر نمونه با ترازوی دقیق توزین و آن گاه به حیوانات گروه های ۲ و ۳ مرفین با دوز ۱۰ میلی گرم/کیلو به صورت داخل صفاقی تزریق

www.SID.ir

Archive of SID

شد،(گروه کنترل سرم نمکی با حجم ۰/۵ میلی لیتر دریافت کرد).سپس، هر حیوان به درون قفسه شیشه ای مخصوص از جنس پلکسی گلاس در ابعاد ۳۰×۳۰×۳۰ جهت مشاهده بهتر که حاوی ظروف آب و غذای توزین شده بود، گذاشته شد و طی مراحل زمانی ۱۵، ۳۰، ۴۵، ۶۰ دقیقه و نیز ۴ ساعت پس از تزریق، میزان مصرف غذا از روی توزین ظرف غذا محاسبه و ثبت شد. در پایان، مدت تاخیر در شروع تغذیه و مقدار مصرف غذا طی مراحل مختلف، داده های نهایی این مطالعه بودند و قضاوت بر اساس میزان مصرف غذا در ۶۰ دقیقه اول و ۴ ساعت پس از تزریق صورت گرفت. از آزمون ANOVA یک طرفه و آزمون تعقیبی دانت، برای مقایسه آماری میزان مصرف غذا در گروه های مختلف استفاده گردید.($P<0.05$ حد معنی دار در نظر گرفته شد).

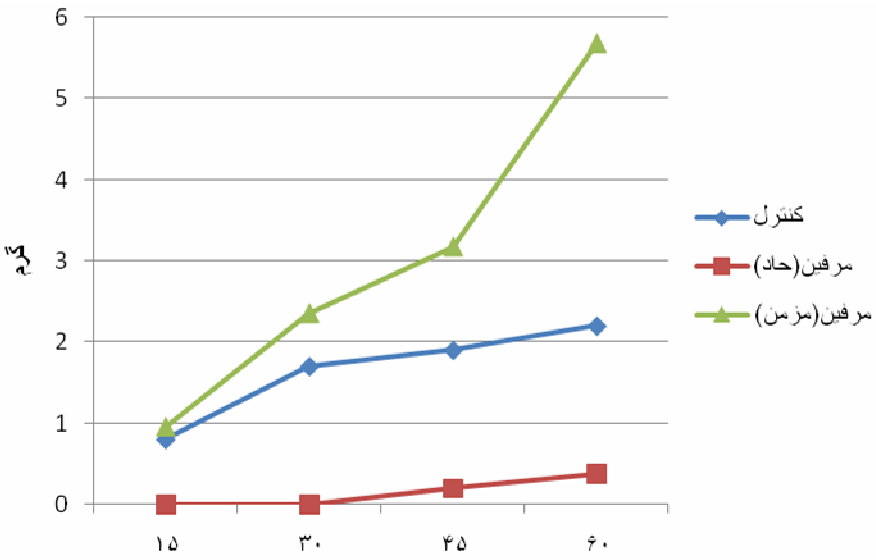
یافته های پژوهش

یافته های این مطالعه نشان داد که تجویز مرفین با دوز ۱۰ میلی گرم/کیلو باعث کاهش مصرف غذا در یک ساعت نخست آزمون در موش های غیر وابسته به مرفین در مقایسه با گروه کنترل شد،($p<0/0001$). ولی میزان مصرف را در ۴ ساعت پس از تزریق افزایش داد($p<0/01$). مرفین هم چنین باعث افزایش زمان تاخیر در شروع مصرف غذا در مقایسه با گروه کنترل شد،($p<0/0001$).

از طرفی دیگر، تجویز مرفین با دوز ۱۰ میلی گرم/کیلو به رت های معتاد باعث افزایش مصرف غذا حتی در یک ساعت نخست آزمون در مقایسه با گروه کنترل شد،($p<0/05$). هم چنین میزان مصرف غذا در گروه معتاد بیشتر از گروه غیر معتاد بود؛($p<0/04$)، نمودارهای(۱،۲).

به علاوه این که، وابستگی به مرفین زمان شروع مصرف غذا را کاهش داد، که این اثر عکس گروه غیر معتاد و نسبت به آن معنی دار بود،($p<0/0001$)، ولی تفاوت معنی داری با گروه کنترل نداشت.

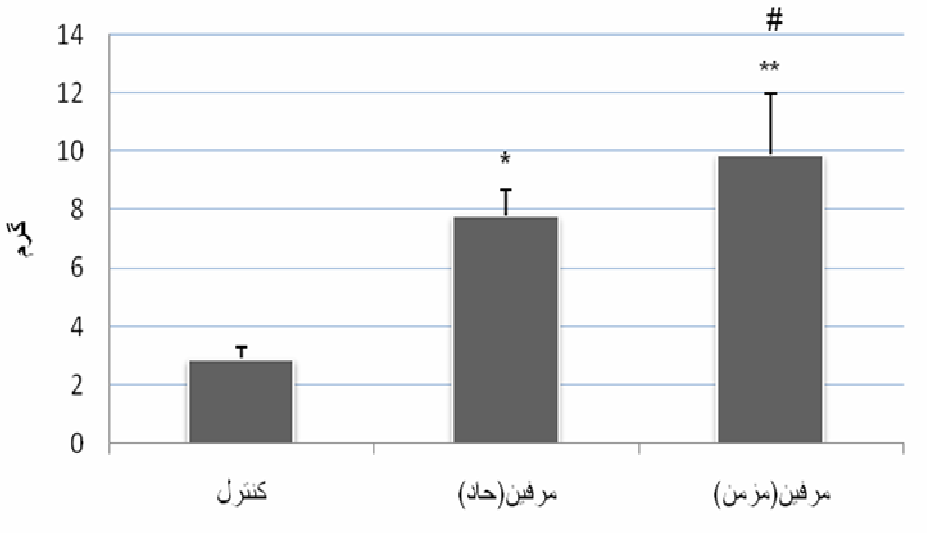
نمودار ۱. مقایسه میزان مصرف غذا در ساعت نخست پس از تزریق مرفین در گروه های آزمون؛ هر ستون بیانگر Mean ±SEM می باشد.



www.SID.ir

Archive of SID

نمودار ۲ . مقایسه میزان مصرف غذا در ٤ ساعت انتهایی آزمون در گروه های مختلف؛ هر ستون بیانگر Mean ±SEM می باشد.



بحث و نتیجه گیری

نتایج به دست آمده نشان داد که تزریق مرفین به گروه غیرمعتاد باعث کاهش مصرف غذا در یک ساعت نخست پس از تزریق در مقایسه با گروه کنترل شد، ولی میزان مصرف آن را در ۴ ساعت پس از تزریق افزایش داد. به نظر می رسد علت کاهش مصرف در ساعت ابتدایی آزمون، بروز سدیشن در حیوانات باشد که به تدریج با کاهش شدت آن اثر تحریکی مرفین ظاهر و در نتیجه در ساعات بعدی آزمون، مصرف غذا تدریجا افزایش یافت. از سوی دیگر، این احتمال هم مطرح است که کاهش مصرف غذا در یک ساعت نخست و تاخیر در شروع تغذیه حیوانات غیر معتاد پس از تزریق مرفین، ناشی از اثـر مهاری آن بر مراکز تغذیه ای باشد.(۱۰)

تزریق مرفین در گروه معتاد به مرفین باعث افزایش مصرف غذا حتی در ساعت نخست پس از تزریق آن شد، یعنی مرفیـن فـاقد الگوی دو مرحله ای(ابتدا کاهش و سپس افزایش تغذیه) بود. که این امر می تواند به علت ایجاد تحمل به اثر تسکینی مرفین در مصرف مزمن آن باشد. تسکین اعصاب میزان تحرک حیوان و جستجو برای یافتن غذا را کم می کند، به علاوه این که تزریق مرفین به گروه معتاد(مزمن) میزان مصرف را در ۴ ساعت پس از تزریق نیز افزایش داد که ممکن است علت آن حسـاس تر شدن پاسخ و تقویت این اثر مرفین متعاقب تکرار تجویز آن باشد.(۱۲،۱۱،۵)

نتایج برخی از مطالعات اخیر هم در راستای مطالعه ما بوده است. برای مثال کالیگنانو مشاهده کرد که تزریق حـاد مرفین با دوز ۲/۵ میلی گرم/کیلو به موش های غیر معتاد باعث افزایش فعالیت حرکتی و مصرف غذا طی ۱۲۰ دقیقه اول پـس از تـزریق می شود،(۱۳). در همین زمینه بارسون نیز گزارش کرده است که با تزریق مرفین یا DAMGO به هسته آکومبنس(که در انگیزش و وابستگی به مواد مخدر نقش مهمی دارد) مصرف غذا افزایش می یابد.(۱۴)

لی و همکارانش نیز با تزریق مرکزی اوپیات ها و کنترل مقدار مصرف غذا دریافتند که در موش ها فقط با تزریق مرفین مصرف غذا افزایش می یـابد و اوپیات های دیگر تاثیری در این زمینه ندارند.(۱۵)

در مطالعه ای دیگری که روی موش های معتاد به مرفین انجام گردید، مشخص شد که قطع تجویز مرفین باعث کـاهش وزن و مصرف غذا در آن ها می شود،(۹). در این زمینه، گزارشات متناقضی هم ارایه شده است. برای مثال، راویندر با تزریق تکراری مرفین به درون بطن مغز موش های آزمایشگاهی گزارش کرد که وزن حیوانات و مصرف آب و حتی غذا در آن ها کم می گردد،(۱۰). در مطالعه ما، تزریق مرفین مصرف غذا

www.SID.ir

Archive of SID

را (به جز در ساعت اول آزمون در موش های غیر معتاد) افزایش داد. که علت این تفاوت نتایج می تواند حاصل از نحوه و دوز تزریقی مرفین و مدت زمان سنجش مصرف و گونه حیوان باشد. مطالعات متعددی نشان داده اند که این گونه تفاوت ها، پاسخ های گوناگون و گاهی متضاد در پی داشته است. مثلا، مرفین در دوز کم اثر ضد تشنجی و در دوز زیاد اثر تشنج زا دارد.(۴،۸،۱۶)

یکی از مکانیسم های اصلی اثر مرفین بر بعضی از رفتارهای حیوانات، تاثیر آن بر سیستم دوپامینرژیک مغز است. دلایل زیادی وجود دارد که مرفین چرخه زیستی دوپامین را در نقاط متعددی از مغز مانند جسم مخطط، هسته اکومبنس و هسته دمی افزایش می دهد و تجویز ال-دوپا(پیش ساز دوپامین) به موش ها باعث افزایش تحرک و مصرف غذا در آن ها می شود. بنابراین، حساس شدن به مرفین فعالیت این سیستم را تقویت می‌کند،(۱۷). هم چنین هنگامی که آگونیست های گیرنده μ و δ مثل مرفین به هسته PVN هیپوتالاموس تزریق می شوند، تعادل دوپامین را در هسته اکومبنس تغییر و ریلیز آن را ۴۲ درصد افزایش و موجب تحریک اشتها برای مصرف غذا و اتانول می شود.(۱۸)

مکانیسم احتمالی دیگر، دخالت مسیر گلوتامینرژیک در این زمینه است. گزارشات متعددی از افزایش بیان و فعال شدن گیرنده NMDA، پروتئین کینازهای مختلف و نیتریک اکساید سنتاز به دنبال مصرف مرفین وجود دارد،(۱۱،۱۹،۲۰،۲۱). مطالعات جدید نشان داده است که اعتیاد موجب تغییر در نواحی مرتبط با تغذیه مانند هسته های قوسی، دور بطنی و شکمی-میانی در هیپوتالاموس جانبی شده و بیان NPY تشدید می یابد. هم چنین، با مصرف مزمن مرفین سیکل سیرکادین تغذیه موش متاثر می گردد، به طوری که مصرف غذا در شب کم و مدت تغذیه دوره روشنایی افزایش می یابد.(۲۲)

در مجموع، این مطالعه نشان می دهد که سیستم اوپیوئیدی اثر مهمی بر رفتار تغذیه ای حیوانات دارد و وابستگی به مرفین تاثیر آن را بر تغذیه موش ها تقویت می کند. اعتیاد و حساس شدن به مرفین در پاسخ تغذیه ای مرفین تغییراتی را به وجود می آورد که ممکن است از سطح گیرنده تا مکانیسم های داخل سلولی مختلف و سیستم های واسطه ای آن را درگیر ساخته باشد؛ مانند، ۱-کاهش یا افزایش میزان پیک های ثانویه ۲-تغییر در تولید و آزادسازی نوروترانسمیترها ۳-افزایش تاثیرپذیری سیستم های نوروترانسمیتری مغز، به ویژه سیستم دوپامینی و گلوتامینرژیک،(۳،۴،۲۳). البته برای کشف دقیق این مکانیسم ها مطالعات بیشتری باید صورت گیرد.

سپاس گزاری

از حمایت مالی مرکز تحقیقات سلولی ملکولی علوم پایه دانشکده پزشکی قزوین در اجرای این تحقیقات قدردانی می شود.

References

1-Koeppen BM. Principle of medical physiology. 14rd ed. New York: Elsevier Mosby; 2006. P. 612-4.
2-Norton P, Falcigila G, Gist D. Physiologic control of food intake by neural and chemical mechanisms. J Am Diet Assoc 1993; 93:450-4.
3-Yeomans MR, Gray RW. Opioid peptides and the control of human ingestive behaviour. Neurosci Biobehav Rev 2002; 26:713-28.
4-Glass MJ, Billington CJ. Opioides and food intake: distributed functional neuronal pathways .Neuropeptides 1999; 33: 389-95.
5-Stills TL, Vacarrino FJ. Individual differences in the feeding and loco motor stimulatory: effects of acute and repeated morphine treatment. Pharmacology Biochemistry and Behavior 1998; 60: 293–303.
6-Watanbe C, Okuda K. Evidance that NO-glutamate cascade modulates spinal antinociceptive effect of morphine. Brain Res 2003; 14:77-86.
7-Chiara D. Nucleus accumbens shell and core dopamine: differential role in behavior and addiction. Behav Brain Res 2002; 137: 75–114.

www.SID.ir

Archive of SID

8-Marrazzi MA, Mc Quarters A, Barnes C. Male/female comparison of morphine effect on food intake--relation to anorexia nervosa. Pharmacol Biochem Behav 1996; 53:433-5.
9-Langerman L, Piscoun B. Quantifiable dose-dependent withdrawal after morphine discontinuation in a rat model. Pharmacol Biochem Behav 2001; 68:1-6.
10-Ravinder KD, Anil KR , Harjit K. Effect of chronic intracerebroventricular morphine to feeding responses in male rats. Physiol Behav 1988; 43:553-7.
11-Shippenberg TS, Heidbreder C, Lefevour A. Sensitization to the conditioned regarding effects of morphine: pharmacology and temporal characteristics. Eur J Pharmacol 1996; 229:33-9.
12-Fabian G, Tombor B, Németh I, Kicsi EG, Szikszay M, Horvath G, et al. Up regulation of mu Opioid receptors by voluntary morphine administration in drinking water. Acta Biol Hung 2003; 54:157-66.
13-Calignano A, Persico P, Mancuso F, Sorrentino L. Endogenous nitric oxide modulates morphine-induced changes in locomotion and food intake in mice. Eur J Pharmacol 1993; 231:415-9.
14-Barson JR, Carr AJ, Soun JE, Sobhani NC, Leibowitz SF, Hoebel BG . Opioids in the nucleus accumbens stimulate ethanol intake. Physiol Behav 2009; 98:453-9.
15-Li D, Olszewski PK, Shi Q, Grace MK, Billington CJ, Kotz CM, et al. Effect of opioid receptor ligands injected into the rostral lateral hypothalamus on c-fos and feeding behavior. Brain Res 2006; 1096:120-4.
16-Roshanpour M, Ghasemi M, Riazi K, Rafiei-Tabatabaei N, Ghahremani MH, Dehpour AR. Tolerance to the anticonvulsant effect of morphine in mice: blockage by ultra-low dose naltrexone. Epilepsy Res 2009; 83:261-4.
17-Bailer UF, Kaye WH. A review of neuropeptide and neuroendocrine dysregulation in anorexia and bulimia nervosa. Curr Drug Target Cns Neurol Disord 2003; 2:53-9.
18-Rada P, Barson JR, Leibowitz SF, Hoebel BG.Brain Res. Opioid in the hypothalamus control dopamine and acetylcholine levels in the nucleus accumbens. Brain Res 2010; 1312:1-9.
19-Bichoy HG, Afify AE, Tahia TD, Mohamed S. The role of the NO/NMDA pathways in the development of morphine withdrawal induced by naloxone in vitro. Pharmacological Research 2005; 51: 319-27.
20-Sahraei H, Zarei F, Eidi A, Oryan S, Shams J, Khoshbaten A, et al. The role of nitric oxide within the nucleus accumbens on the acquisition and expression of morphine-induced place preference in morphine sensitized rats. Eur J Pharmacol 2007; 556:99-106.
21-Ahmed OA, Moustafa MH, Saida AA, Randa HA, Samy AR. Attenuation of morphine tolerance and dependence by aminoguanidine in mice. European J of Pharmacology 2007; 556: 99-110.
22-Firenze S, Nunez C, Pintér-Kübler B, Folds A, Martin F, Vera L, et al. Changes in metabolic-related variables during chronic morphine treatment Neurochemistry International 2010; 57:323-30.
23-Saboory E, Derchansky M, Ismaili M, Jahromi SS, Brull R, Carlen PL, et al. Mechanisms of morphine enhancement of spontaneous seizure activity. Anesth Analg 2007; 105:1729-35.

www.SID.ir

Archive of SID

Effect of Chronic Administration of Morphine on Male Rats' Feeding Behavior

Sofiabadi M[*1], *Esmaeili MH*[1], *Haghdost Yazdy H*[1], *Ajdari Zarmehri H*[1], *Karimfar MH*[2]

(Received: 23 Dec. 2009 Accepted: 21 Nov. 2010)

Abstract

Introduction: Opiates regulate some body functions and behaviors. Chronic or acute abuses of morphine may have different body responses. Therefore, the aim of this study was to examine the acute and choronic effects of morphine administration on food consumpsion in male rats.

Materials & Methods: 30 male sprauguedawley rats with 250-300 g weight were randomly assigned in 3: control, acute and chronic (already addicted) groups. 12 h after fasting, morphine was injected for the acute and chronic, while the control group received normal saline. Then, each animal was put in test cages with water and food. Then, libitum and food consumption were measured at 15min intervals, until one hour, and also the amount of food intake 4 h after the injection.

Findings: We found that administration of morphine (10 mg/ kg/ i.p) to acute (non-addicted group), caused a delay in feeding and decreased food intake in the first 60 minutes, but food intake increased at 4 h compared to control group. Conversely, administration of morphine (10 mg/ kg/ i.p) to chronic (addicted) male rats didn't cause a delay in food intake and increased food intake during the first 60 minutes. Moreover, at 4 h after the injection, the amount of food intake increased. This difference was significant in comparison to acute (non-addicted) and control groups.

Discussion & Conclusion: Our study showed that opiates can alter feeding behaviors and the pattern of feeding responses to morphine differs in addicted rats from non-dependent rats. Morphine addiction also increases body sensitivity to its nutritional response in male rats.

Keywords: morphine, food intake, addiction, rat

1. Dept of Physiology, Faculty of Medicine, Qazvin University of Medical Science, Qazvin, Iran
2. Dept of Anatomy, Faculty of Paramedicine, Ilam University of Medical Sciences, Ilam, Iran
** (corresponding author)*

www.SID.ir