Original Article

The efficacy of oral morphine self-administration to induce dependence, tolerance and hyperalgesia in rat

Akbari E[1*], Mirzaei E[2]

1- Molecular and Cellular Biology Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Mazandaran, I. R. Iran.
2- Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Mazandaran, I. R. Iran.

Received January 3, 2012; Accepted October 4, 2012

Abstract:

Background: The aim of this study was to evaluate the efficacy of chronic oral administration of morphine in physical dependence, hyperalgesia, and tolerance to analgesic effect of morphine using the formalin test.
Materials and Methods: In this study, 40 male Wistar rats received sucrose and the morphine+sucrose in drinking water for 20 days. On the 20th day, after intraperitoneal injection of naloxone, the withdrawal symptoms were assessed. Next day, the analgesic effect of morphine injection in various doses was analyzed based on behavioral responses in formalin test in both morphine+sucrose and sucrose-treated groups.
Results: Statistical analysis showed that there is a significant difference in some symptoms of the physical dependence between the two groups. Although morphine, in sucrose-treated rats, caused a dose-dependent reduction in pain score in both phases of formalin test, it did not have any significant analgesic effect on the morphine+sucrose treated rats.
Conclusion: Although the oral morphine administration induces tolerance to the analgesic effect of morphine and physical dependence, it does not develop hyperalgesia as a characteristic of addictive behaviors in clinical settings.

Keywords: Morphine, Hyperalgesia, Morphine–dependency, Rat

* **Corresponding Author.**
Email: akbari_esmaeil@yahoo.com
Tel: 0098 151 354 3081
Fax: 0098 151 354 3248

Conflict of Interests: ***No***

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences January, 2013; Vol. 16, No 6, Pages 483-492

Please cite this article as: Akbari E, Mirzaei E. The efficacy of oral morphine self-administration to induce dependence, tolerance and hyperalgesia in rat. ***Feyz*** 2013; 16(6): 483-92.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-10-24]

کارایی مدل خودمصرفی خوراکی مورفین از نظر القا وابستگی، تحمل و هیپرآلژزیا در موش صحرائی

اسماعیل اکبری[1*]، ابراهیم میرزایی[2]

خلاصه:

سابقه و هدف: هدف از انجام این مطالعه ارزیابی کارایی مصرف مزمن مورفین خوراکی بر بروز پدیده وابستگی فیزیکی، هیپرآلژزیا و تحمل به اثر ضددردی مورفین توسط آزمون فرمالین می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه از ٤٠ سر موش صحرائی نژاد ویستار استفاده شد. حیوانات تحت تیمار ٢٠ روزه با آب محتوی سوکروز و مورفین+سوکروز قرار گرفتند. در روز بیستم بعد از تزریق داخل صفاقی نالوکسان علایم مرتبط با ترک و در روز بعد اثر ضد دردی دوزهای مختلف مورفین تزریقی با توجه به پاسخ رفتاری در آزمون فرمالین در هر دو دسته حیوان (تیمار شده با سوکروز و تیمار شده با مورفین+سوکروز) بررسی شد.

نتایج: از نظر علایم مرتبط با وابستگی، آنالیز آماری نشان داد که در بعضی از علایم بین دو گروه مطالعه اختلاف معنی‌دار وجود دارد. اگر چه مورفین به‌صورت وابسته به دوز سبب کاهش نمره درد در هر دو مرحله آزمون فرمالین در حیوانات تیمار شده با سوکروز گردید، اما اثر ضد دردی قابل توجهی در موش‌های صحرائی تیمار شده با مورفین+سوکروز نداشت. به‌علاوه، بررسی آماری نمره درد در هر دو گروه مطالعه اختلاف معنی‌داری نداشت.

نتیجه‌گیری: در مجموع یافته‌های این مطالعه نشان داد که در مدل خوراکی مصرف اپیویید، اگرچه پدیده تحمل به اثر ضد دردی مورفین و وابستگی به خوبی القا می‌شود، اما هیپرآلژزیا به‌عنوان یک علامت اعتیاد در شرایط بالینی توسعه پیدا نمی‌کند.

واژگان کلیدی: مورفین، هیپرآلژزیا، وابستگی به مورفین، موش صحرائی

دو ماه‌نامه علمی– پژوهشی فیض، دوره شانزدهم، شماره ٦، بهمن و اسفند ١٣٩١، صفحات ٤٩٢-٤٨٣

مقدمه

معیارهایی برای اعتیاد به مواد مخدر در انسان تعریف شده‌اند که در مدل‌های حیوانی به‌طور دقیق قابل مشاهده و اندازه‌گیری نیستند؛ مانند مصرف مداوم مواد مخدر علی‌رغم مشکلات پایدار یا عود کننده اجتماعی و بین فردی. با این حال پدیده وابستگی به اپیویید، تحمل به اثر ضد دردی اپیویید و هیپرآلژزیای ناشی از اپیویید (عدم تحمل درد)، سه مشخصه اعتیاد به مواد مخدر هستند که می‌توان در مدل‌های استاندارد حیوانی در جوندگان القا کرد [٧-١]. از جمله روش‌های ایجاد وابستگی به مواد مخدر در جوندگان، تزریق زیر جلدی [٨] یا داخل صفاقی [٩] مقادیر افزایش یابنده مورفین طی چند روز متوالی با الگوهای مختلف، و کاشت زیر جلدی و داخل صفاق پلت مورفین [١٢-١٠] است.

[1] استادیار، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران

[2] دانشجوی داروسازی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران

* **نشانی نویسنده مسئول:**

کیلومتر ١٨ جاده خزرآباد، مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم (ص)، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی

تلفن: ٠١٥١ ٣٥٤٣٠٨١ **دورنویس:** ٠١٥١ ٣٥٤٣٢٤٨

پست الکترونیک: akbari_esmaeil@yahoo.com

تاریخ دریافت: ٩٠/١٠/١٣ **تاریخ پذیرش نهایی:** ٩١/٧/١٣

هرچند القا سریع وابستگی در مدل‌های تزریقی، سبب کاربرد وسیع آنها در مطالعات شده است، اما چند محدودیت جدی برای این مدل‌ها مطرح است؛ مرگ و میر بالا، عدم تطبیق با روند ایجاد وابستگی در انسان و وجود استرس مزمن و کاهش وزن [١٤،١٣] از جمله این محدودیت‌ها محسوب می‌شوند. به‌علاوه، معایب مذکور برای روش‌های کاشت قرص‌های اپیویدی [١٦،١٥] نیز مطرح هستند. وجود استرس در روش‌های تزریقی و کاشت زیر جلدی، ترشح کاتکول‌آمین‌ها و کورتیکوییدها را افزایش داده که این هورمون‌ها با تغییر متابولیسم آمین‌های درون‌زاد [١٧] می‌توانند سبب تغییر رفتارهای مرتبط با درد شوند. به‌علاوه، با فعال شدن مدارهای استرس، با ایجاد تغییر نوروپلاستیک در مسیرهای ضد درد درون‌زاد و مسیرهای پاداش، آستانه درد تغییر می‌کند [١٩،١٨]. دسته دیگر از مدل‌های القا وابستگی به اپیویید در جوندگان استفاده از روش‌های خوراکی [٢٥-٢٠] است که حیوان به اختیار میزان مصرف اپیویید را تعیین کرده و از این نظر بسیار شبیه به روند توسعه وابستگی و اعتیاد به مواد مخدر در انسان است. هم‌چنین، حیوان در این روش استرس خاصی را تجربه نمی‌کند. هدف از انجام این مطالعه ارزیابی کارایی مصرف مزمن مورفین خوراکی بر سه مشخصه اعتیاد به مواد مخدر، یعنی بروز پدیده

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-10-24]

وابستگی فیزیکی توسط سنجش علایم مرتبط با قطع مصرف، هیپرآلژزیا و تحمل به اثر ضددردی مورفین توسط آزمون فرمالین می‌باشد.

مواد و روش‌ها

حیوانات

در این مطالعه تجربی از ٤٠ سر موش صحرائی نر نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۲۰-۲۰۰ گرم استفاده شد. حیوانات به‌صورت گروه‌های چهارتایی در قفس‌های پلکسی گلاس با شرایط استاندارد (چرخه نور-تاریکی دوازده ساعته و دمای ۲±۲۲ درجه سانتی‌گراد) و امکان دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری می‌شدند.

داروها

در این مطالعه از فرمالین (فرمالدئید ۳۷ درصد) (شرکت کیان کاوه آزما، ایران)، مورفین (تماد، ایران)، نالوکسان (سیگما، آمریکا) و سوکروز (مرک، آلمان) استفاده شد. مورفین تزریقی، نالوکسان و فرمالین در نرمال سالین (سدیم کلراید ۰/۹ درصد) حل شدند. برای القای وابستگی، مورفین به همراه سوکروز در آب آشامیدنی حیوانات حل می‌شد.

القای وابستگی به مورفین به روش خوراکی

برای القای وابستگی به مورفین از روش خوراکی [۲۷،۲٦] استفاده شد. در این روش، غلظت‌های فزاینده مورفین در آب آشامیدنی به‌مدت ۲۰ روز توسط حیوان مصرف می‌شود. غلظت مورفین در روزهای مختلف آزمایش بدین صورت بود: ۰/۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر (روزهای ۱ و ۲)، ۰/۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر (روزهای ۳ و ٤)، ۰/۳ میلی‌گرم در میلی‌لیتر (روزهای ٥ و ٦)، و ۰/٤ میلی‌گرم در میلی‌لیتر (روزهای ۷ تا ۲۰). برای کاهش تلخی مورفین به آب آشامیدنی سوکروز (٥ درصد) نیز اضافه می‌شد. میزان غذا و آب مصرفی به‌صورت روزانه و وزن هر حیوان نیز در روزهای ۰، ۱، ٦، ۱۱، ۱٦، ۲۰ اندازه گیری و ثبت می‌شد. برای تایید وابستگی، روز بیستم نالوکسان (۲ میلی-گرم بر کیلوگرم) به‌صورت داخل صفاقی تزریق شده و بلافاصله علائم ترک؛ پریدن (Jumping)، تکان دادن سگ مانند سر و بدن (Wet dog shakes)، به هم خوردن دندان‌ها (Teeth chattering)، جویدن (Chewing)، دل‌پیچه (Writhing)، لیسیدن آلت تناسلی (Penis licking)، بوکشیدن (Sniffing)، روی دوپا ایستادن (Rearing)، خراشیدن قفس (Scratching)، و حفاری کردن (Barrowing) [۲۰] به‌مدت ۳۰ دقیقه مشاهده و ثبت می‌شد. دفعات دفع مدفوع در مدت زمان مشاهده علائم ترک (۳۰ دقیقه) و هم‌چنین درصد کاهش وزن ۲٤ ساعته حیوان نیز اندازه‌گیری شد. پس از مشاهده و ثبت علائم ترک، موش‌ها به قفس برگرداننده شده و تا روز ۲۱ (روز آزمایش درد) دسترسی آزاد به غذا و آب محتوی مورفین یا مورفین+سوکروز داشتند.

سنجش درد درآزمون فرمالین

در روز بیست و یکم هر حیوان به‌مدت ۲۰ دقیقه در یک محفظه پلکسی گلاس (۳۰×۳۰×٤٥ سانتی‌متر) با دیواره‌های تیره قرار داده می‌شد. سپس با استفاده از سرنگ انسولین (۲٦G)، ۲٥ میکرولیتر فرمالین ۲/٥ درصد به‌صورت زیر جلدی به کف پای چپ حیوان تزریق شده و بلافاصله به محفظه برگرداننده می‌شد. به رفتارهای مرتبط با درد با توجه به معیارهای زیر هر ۱٥ ثانیه امتیاز مربوطه تخصیص داده می‌شد؛ عدد صفر= حالتی که حیوان پای خود را کاملا بر روی سطح زمین قرار می‌داد، عدد ۱= حالتی که حیوان پای خود را بر روی سطح قرار می‌داد ولی وزن خود را بر روی پای دیگر می‌انداخت، عدد ۲= حالتی که موش پای خود را کاملا جدا از سطح زمین نگه می‌داشت، عدد ۳= حالتی که موش پای خود را به شدت تکان می‌داد یا آن را می-لیسید. به‌منظور بررسی دقیق کف پای حیوان، در زیر محفظه پلکسی گلاس یک آینه با زاویه ٤٥ درجه تعبیه شده بود. هر ۱٥ ثانیه یک امتیاز برای رفتار دردناک حیوان ثبت می‌شد. بعد از ثبت نمره درد به‌مدت ٦۰ دقیقه، میانگین نمره درد در بلوک‌های ۳ دقیقه‌ای محاسبه شده و برای تجزیه و تحلیل آماری به کار گرفته می‌شد [۲۸]. بعد از تزریق فرمالین به کف پای موش، رفتارهای دردناک در دو مرحله ظاهر می‌شود؛ مرحله حاد اولیه (دقیقه‌های ۹-۰) و مرحله مزمن دیررس (دقیقه‌های٦۰-۱۸). از جنبه مکانیسمی مرحله حاد اولیه ناشی از تحریک شیمیایی مستقیم گیرنده‌های درد و مرحله مزمن دیررس ناشی از کاهش آستانه تحریک گیرنده‌های درد یا ناشی از تغییرات پلاستیک در سیناپس‌های مسیر انتقال درد در نخاع است [۳۰،۲۹]. بین دو مرحله دردناک (دقیقه‌های ۱٥-۹) بعد از تزریق فرمالین، دوره‌ی خاموشی به نام اینترفاز وجود دارد که نمره درد شدیدا کاهش می‌یابد. اینترفاز تونوسیته فعالیت مسیرهای کنترل مهاری درد درون‌زاد را نشان می‌دهد. مطالعات گزارش کرده‌اند که آزمون فرمالین مشابه‌ترین مدل درد به درد بالینی است.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-10-24]

پروتکل آزمایش

موش‌ها بعد از یک هفته سازش و انجام دست ورزی، به‌مدت ۲۰ روز تحت تیمار با آب محتوی سوکروز (n=۱۷) یا مورفین+سوکروز (n=۲۳) قرار گرفتند [۲۶،۲۷]. میزان آب و غذای مصرفی روزانه هر حیوان اندازه‌گیری شد. در روز بیستم برای تایید وابستگی به مورفین، رفتارهای مرتبط با علایم ترک با تزریق نالوکسان سنجش شده و سپس حیوان به قفس برگرداننده می‌شد و تا ۲٤ ساعت بعد دسترسی به سوکروز یا مورفین + سوکروز داشت. در روز بیست و یکم، نیم ساعت قبل از آزمون فرمالین حیوانات تحت تیمار با مورفین+سوکروز و نیز حیوانات تحت تیمار با سوکروز، به‌طور تصادفی در یکی از ۳ گروه مورفین (تزریق داخل صفاقی مورفین با دوزهای ۲، ۵ یا ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) یا گروه کنترل (تزریق داخل صفاقی نرمال سالین) قرار می‌گرفتند.

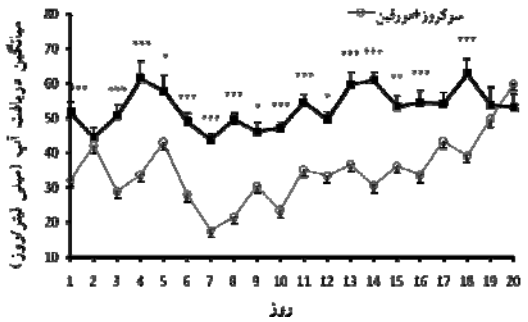
آنالیز آماری

برای مقایسه آماری میزان دریافت غذا، آب و وزن در روزهای مختلف تیمار بین موش‌های دریافت‌کننده سوکروز و مورفین+سوکروز از آنالیز واریانس دوطرفه تکرار شونده (RM-ANOVA) با پس آزمون بن‌فرونی استفاده شد. مقایسه علایم ترک بین حیوانات تیمار شده با سوکروز و مورفین+ سوکروز توسط آزمون t انجام شد. میانگین نمره درد در مرحله حاد، اینترفاز و مرحله مزمن آزمون فرمالین برای همه گروه‌ها محاسبه شده و با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه با پس آزمون توکی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. برای ارزیابی هیپرآلژزیای ناشی از مورفین، نمره درد در مراحل سه‌گانه آزمون فرمالین از آزمون t استفاده شد. $P<۰/۰۵$ به‌عنوان سطح معنی‌داری آماری در نظر گرفته شد.

نتایج

میزان دریافت آب محتوای سوکروز و مورفین+سوکروز طی دوره تیمار

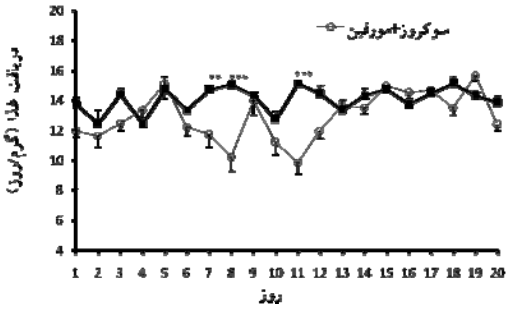
RM-ANOVA دوطرفه نشان داد که در مجموع میزان دریافت مایعات طی دوره تیمار در حیوانات تیمارشده با سوکروز بیشتر از حیوانات تیمارشده با مورفین+سوکروز بود ($P<۰/۰۰۰۱$). آنالیز بعدی با پس آزمون مشخص کرد که در همه روزها به‌جز روزهای ۲، ۱۷، ۱۹ و ۲۰ این اختلاف معنی‌دار است (شکل شماره ۱).



شکل شماره ۱- مقایسه میزان دریافت آب در حیوانات تیمارشده با سوکروز (n= ۱۷) و تیمارشده با مورفین+سوکروز (n= ۲۳) طی ۲۰ روز. (*= $P<۰/۰۵$؛ **= $P<۰/۰۱$؛ ***= $P<۰/۰۰۱$ در مقایسه با روز متناظر)

میزان دریافت غذا طی دوره تیمار

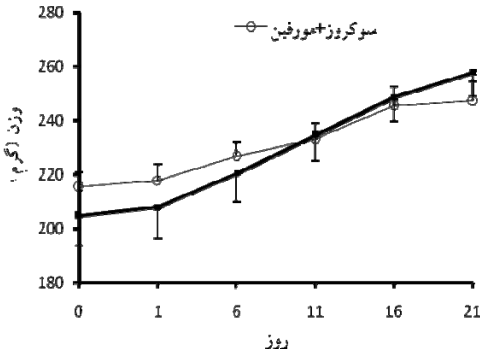
RM-ANOVA دوطرفه نشان داد که به‌طور کلی غذای مصرفی در طی دوره تیمار ۲۰ روزه در موش‌های دریافت‌کننده سوکروز بیشتر از موش‌های دریافت‌کننده مورفین+سوکروز بود ($P<۰/۰۰۰۱$) (شکل شماره ۲). البته انجام پس آزمون مشخص کرد که فقط در روزهای ۷، ۸ و ۱۱ این اختلاف از لحاظ آماری معنی‌دار است.



شکل شماره ۲- مقایسه میزان دریافت غذا در گروه‌های مطالعه. (**= $P<۰/۰۱$؛ ***= $P<۰/۰۰۱$ در مقایسه با روز متناظر)

همان‌گونه که در شکل شماره ۳ قابل مشاهده است، وزن بدن حیوانات به‌صورت یکنواختی در طی ۲۰ روز دوره تیمار افزایش نشان داده است. در موش‌های تیمارشده با سوکروز وزن حیوانات طی ۲۰ روز از ۲۰٤/۸۲±۱۱ گرم در شروع تیمار به ۲۵۷/۸۲±۸/۹ در روز آخر تیمار افزایش یافت. در موش‌های تیمار شده با مورفین+سوکروز نیز وزن حیوانات در ابتدا ۲۱۵/۵±۵/۵ بود که پس از ۲۰ روز به ۲٤۷/٤۷±۷/۱ گرم افزایش یافت. RM-ANOVA دوطرفه نشان داد که بین وزن بدن موش‌های دو گروه تیمار در روزهای متناظر اختلاف معنی‌داری وجود ندارد.

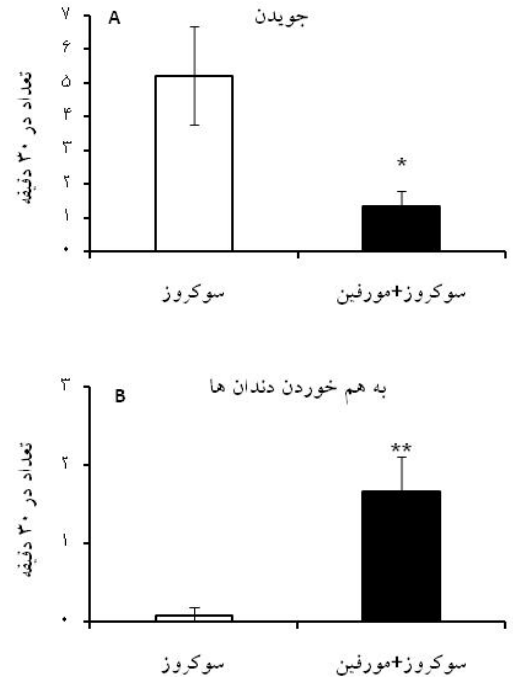
[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-10-24]

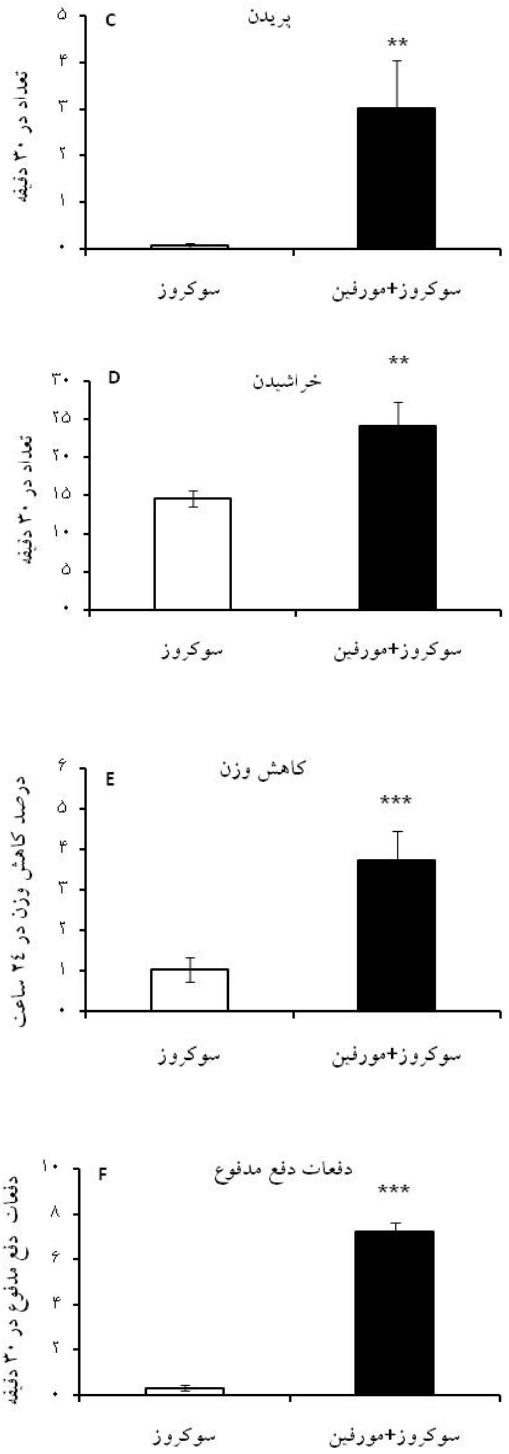


شکل شماره ۳- مقایسه وزن بدن در حیوانات هر دو گروه مطالعه طی دوره تیمار

سنجش رفتارهای وابستگی به مورفین

با تزریق داخل صفاقی نالوکسان، رفتارهای مرتبط با سندروم ترک طی ۳۰ دقیقه مشاهده و ثبت گردید. در گروه دریافت-کننده مورفین+سوکروز بروز رفتارهای جویدن، به‌هم خوردن دندان-ها، پریدن، خراشیدن قفس، دفعات دفع مدفوع و کاهش وزن ۲٤ ساعته در مقایسه با حیوانات دریافت کننده سوکروز به‌طور قابل توجهی بیشتر بود (شکل شماره ٤). اما در بروز رفتارهای بو کشیدن، لیسیدن آلت تناسلی، دل‌پیچه، حفاری کردن، تکان دادن سگ مانند سر و بدن، و روی دوپا ایستادن اختلاف معنی‌داری بین دو گروه تیمار شده مشاهده نشد (شکل شماره ٥).





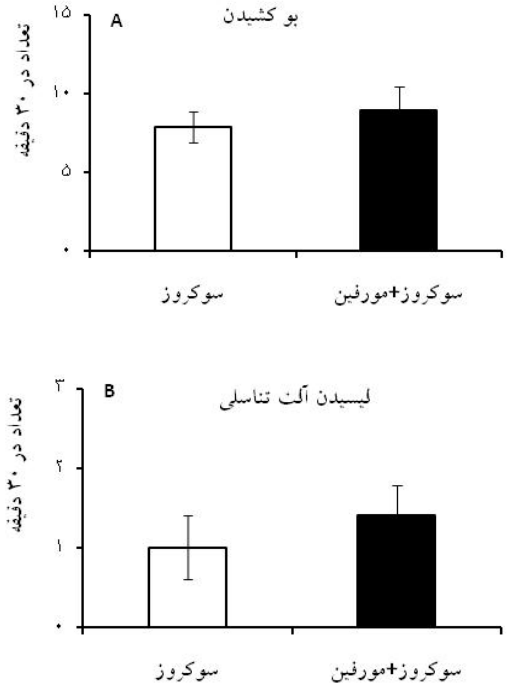
شکل شماره ٤- طی ۳۰ دقیقه بعد از تزریق نالوکسان (۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم، داخل صفاقی) بین گروه سوکروز (n=۱۷) و مورفین+سوکروز (n=۲۳)، در بروز تعداد رفتارهای جویدن (A)، به هم خوردن دندان‌ها (B)، پریدن (C)، خراشیدن قفس (D)، دفعات دفع مدفوع (E) و کاهش وزن ۲٤ ساعته (F) اختلاف معنی‌دار مشاهده شد. (*P<۰/۰۵، **P<۰/۰۱ و **P<۰/۰۰۱ در مقایسه با حیوانات تیمار شده با سوکروز).

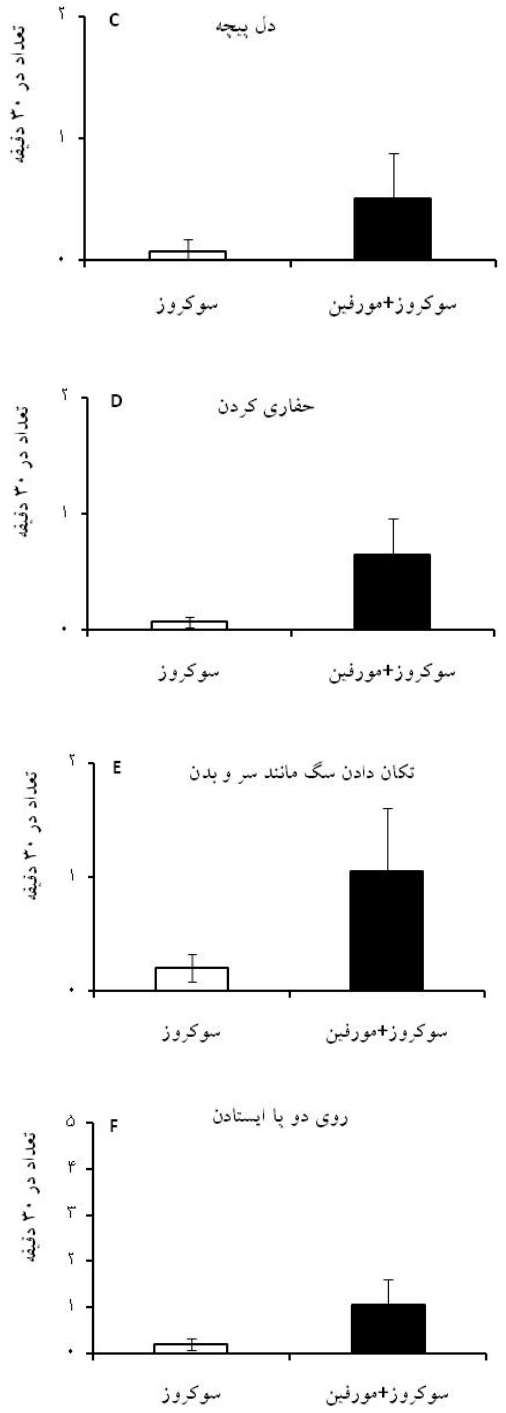
[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-10-24]

میزان دفع مدفوع پس از تزریق نالوکسان در گروه مورفین+سوکروز ۷/۲۳±/۳۹ گرم و در گروه سوکروز ۰/۳۳±/۱۲ گرم بود که از لحاظ آماری معنی‌دار می‌باشد (P<۰/۰۰۰۱). درصد کاهش وزن ۲٤ ساعته نیز در گروه مورفین+سوکروز ۳/۷۳±۰/۷ درصد و در گروه سوکروز ۱/۰۳±۰/۳ درصد بود (P<۰/۰۰۰۱).

ارزیابی تحمل به اثر ضد دردی مورفین و هایپرآلژزیای ناشی از مورفین

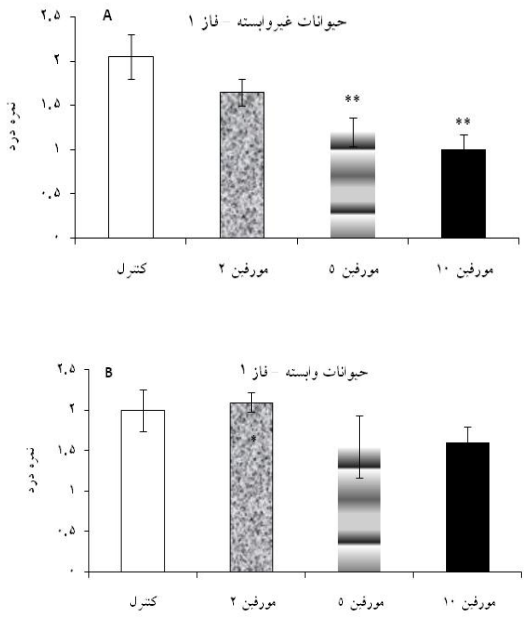
آنالیز واریانس یک طرفه نمره درد در مرحله حاد آزمون فرمالین بین گروه کنترل و گروه‌های مورفین تزریقی در حیوانات تیمارشده با مورفین+سوکروز معنی‌دار نبود [P=۱/٦۸؛ ۱/٦۸ =F(۳/۲۲)]. اما در موش‌های تیمارشده با سوکروز معنی‌دار بود [P=۰/۰۰۱٦؛ F(۳/۱٦)=۹/۲] (شکل شماره ۵). پس آزمون توکی حاکی از اختلاف قابل توجه بین دوز ۵ (P<۰/۰۱) و ۱۰ میلی‌گرم مورفین (P<۰/۰۱) با گروه کنترل بود. آنالیز واریانس یک طرفه نمره درد در مرحله مزمن آزمون فرمالین بین گروه کنترل و گروه‌های مورفین تزریقی در حیوانات تیمارشده با مورفین+سوکروز معنی‌دار نبود [P=۰/۱۷؛ F(۳/۲۲)=۷۱] اما در موش‌های تیمارشده با سوکروز معنی‌دار بود [P<۰/۰۰۰۱؛ F(۳/۱٦)] (شکل شماره ٦). پس آزمون توکی حاکی از اختلاف قابل توجه بین دوزهای ۲ (P<۰/۰۵)، ۵ (P<۰/۰۰۱) و ۱۰ میلی‌گرم مورفین (P<۰/۰۰۱) با گروه کنترل در حیوانات تیمار شده با سوکروز بود.



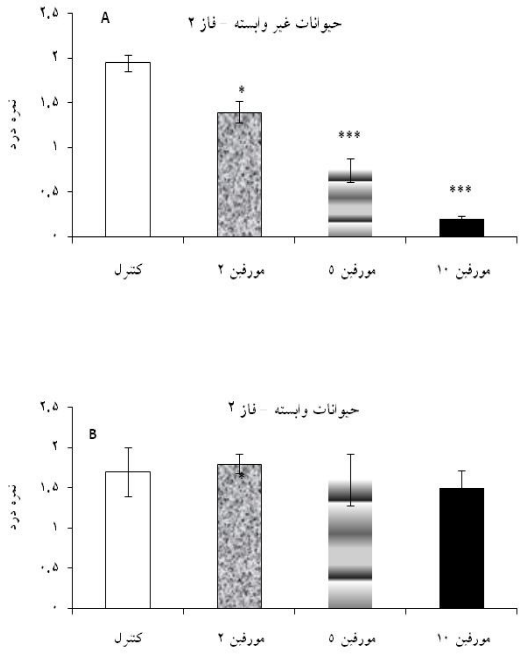


شکل شماره ۵- نمره درد در مرحله حاد آزمون فرمالین در گروه‌های غیر وابسته (A) و وابسته به مورفین (B). اطلاعات به‌صورت $\overline{X} \pm SEM$ نمایش داده شده است. (**P<۰/۰۱ در مقایسه با گروه کنترل).

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-10-24]



شکل شماره ٦- نمره درد در مرحله حاد آزمون فرمالین در گروه‌های غیروابسته (A) و وابسته به مورفین (B). اطلاعات به‌صورت $\overline{X} \pm SEM$ نمایش داده شده است. (**P<۰/۰۱ در مقایسه با گروه کنترل).



شکل شماره ۷- نمره درد در مرحله مزمن آزمون فرمالین در گروه‌های غیروابسته (A) و وابسته به مورفین (B). اطلاعات به‌صورت $\overline{X} \pm SEM$ نمایش داده شده است. (*P<۰/۰۵ و ***P<۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه کنترل).

بحث

اعتیاد به مواد مخدر یکی از معضلات عمده جوامع انسانی و به‌ویژه جامعه ایرانی محسوب می‌شود. اعتیاد به‌عنوان پدیده‌ای انسانی که با مشخصه‌های مختلف فیزیولوژیکی، روانی، جسمی و رفتاری تعریف می‌شود به راحتی در مطالعات حیوانی قابل القا و ارزیابی نیست. با این حال بعضی از جنبه‌های اعتیاد به مواد مخدر مانند هیپرآلژزیا، وابستگی فیزیکی و تحمل به اثر ضد دردی اپیویید با مصرف بلند مدت اپیویید در جوندگان قابل القا و سنجش است [۷-۱]. در این مطالعه کارایی یک مدل خوراکی مصرف مزمن مورفین [۲٦] از نظر توسعه وابستگی فیزیکی، هیپرآلژزیای ناشی از مورفین و تحمل به اثر ضد دردی مورفین مورد بررسی قرار گرفت. نتایج مربوط به دریافت آب و غذا نشان می‌دهد که حیواناتی که تحت تیمار با آب محتوی سوکروز بودند میزان انرژی بیشتری دریافت کردند؛ چرا که میزان آب محتوی سوکروز و مصرف غذای آنها بیشتر بود. اگر چه به آب محتوی مورفین، برای کاهش تلخی مورفین، سوکروز اضافه شد، اما احتمالا تلخی مورفین علت اصلی مصرف کمتر آب در حیوانات این گروه در اوایل و اواسط دوره تیمار بود. در روزهای آخر دوره تیمار مصرف آب توسط حیوانات تحت تیمار با مورفین+سوکروز افزایش یافت. احتمالا استقرار وابستگی در روزهای آخر تیمار بر اشتیاق حیوان در جهت مصرف آب محتوی مورفین علی‌رغم مزه تلخ، غلبه کرد. ردیابی تغییر وزن طی دوره تیمار نشان داد که علی‌رغم دریافت انرژی بیشتر در حیوانات تحت تیمار با سوکروز، روند افزایش وزن آنها مشابه حیوانات تحت تیمار با مورفین+ سوکروز بود. این در حالی است که کاهش وزن یکی از معضلات ایجاد وابستگی در روش‌های غیر خوراکی [۱٤،۱۳] است. ما با بررسی ۱۲ علامت مرتبط با وابستگی مشاهده کردیم که در مدل خوراکی، به‌طور نسبی وابستگی فیزیکی به مورفین القا شد. در بررسی علایم ترک، رفتارهای جویدن، به‌هم خوردن دندان‌ها، پریدن، خراشیدن قفس، دفع مدفوع و کاهش وزن ۲٤ ساعته در موش‌های تیمار شده با مورفین بالاتر بود. البته در این روش دیگر علایم ترک مورد بررسی همانند رفتارهای بو کشیدن، لیسیدن آلت تناسلی، دل‌پیچه، حفاری کردن، تکان دادن سگ مانند سر و بدن و روی دوپا ایستادن در حیوانات تیمار شده با مورفین اختلاف قابل توجهی نسبت به حیوانات تیمار نشده با مورفین نداشت. اگر چه با این یافته‌ها، توجیه بروز بعضی علایم ترک و عدم بروز علایم دیگر ترک امکان پذیر نیست، اما به‌نظر می‌آید با افزایش دوره تیمار و افزایش شدت وابستگی فیزیکی احتمال بروز دیگر رفتار-

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-10-24]

های مرتبط با ترک افزایش می‌یابد. این در حالی است که مطالعات دیگری که روش استعمال خوراکی را برای القا وابستگی به مورفین مورد استفاده قرار داده‌اند، تنها تعداد معدودی از علایم مرتبط با ترک را مورد بررسی قرار داده‌اند [۲۰،۲۶،۲۷]. به این ترتیب مطالعه ما تصویر دقیق‌تری از مدل خوراکی ایجاد وابستگی از نظر علایم وابستگی فیزیکی ارائه کرده است. بروز مهمترین مشکل روش خوراکی طعم تلخ آن و در نتیجه امتناع حیوان از خوردن محلول مورفین به اندازه مناسب است [۲۳،۲۴،۳۱]. یکی از راه‌حل‌ها برای این مشکل پوشاندن طعم مورفین با افزودن سوکروز به آب محتوی مورفین است [۲۳،۲۶]. اگر چه سوکروز می‌تواند باعث افزایش تمایل به مصرف مورفین در موش صحرائی شود که این امر سبب تسریع بروز وابستگی می‌شود [۲۵،۲۶]، اما در ضمن می‌تواند با فعال‌سازی سیستم اپیوییدی درون‌زاد، باعث تغییر در علایم ترک و احتمالا عدم بروز تعدادی از علایم ترک شود [۳۲]. تحمل در فارماکولوژی به معنای کاهش اثر دارو به‌دنبال مصرف مزمن است [۳۳]؛ به‌طوری‌که برای دست‌یابی به اثر موثر لازم است مقدار دارو افزایش داده شود. یکی از نمودهای تحمل به مورفین را می‌توان در کاهش پاسخ حیوان به دوزهای مورفین مشاهده کرد. این امر در ابتدا توسط Cochin و Kornetsky [۳٤] و سپس توسط Fernandes و همکاران [۳۵] نشان داده شد. در این مطالعه تزریق مورفین با دوزهای ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در فاز یک و دوزهای ۲ و ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در فاز دو آزمون فرمالین باعث کاهش معنی‌دار درد در حیوانات تیمار شده با سوکروز شد. در حیوانات تیمار شده با مورفین+سوکروز در آب آشامیدنی به‌مدت ۲۰ روز، کاهش معنی‌دار اثر ضد دردی مورفین مشاهده شد که این امر نشان می‌دهد تحمل به مورفین در این مدل به‌خوبی ایجاد شده است. هم‌راستا با یافته ما مبنی بر القا تحمل به مورفین در مدل خوراکی مصرف مورفین، یافته‌های مشابهی توسط Badawy و همکاران [۲۰] و نیز Binsack و همکاران [۲۱] گزارش شده است. وجه تمایز مطالعه ما نسبت به دو مطالعه فوق از نظر روش‌شناسی است؛ به‌طوری‌که ما از آزمون فرمالین برای سنجش تحمل به مورفین استفاده کردیم، ولی آن‌ها روش غوطه‌ور-سازی دم را به‌کار گرفتند. در مجموع یافته‌های ما در موافقت با مطالعات دیگر، تاییدی بر کارا بودن مدل خوراکی مصرف مورفین در القا تحمل موثر است. به‌علاوه Borg و Taylor [۲۲] و Fuentes و همکاران [۲۳] اگر چه روش خوراکی را در ایجاد وابستگی به مورفین برگزیدند، اما بروز تحمل به اثر ضد دردی مورفین را مورد سنجش قرار نداده‌اند. در مصرف مزمن اپیویید به اثر ضددردی آن تحمل ایجاد می‌شود که اهمیت بالینی زیادی از نظر مصرف ضد دردهای اپیوییدی در بیماران با سوء مصرف مواد مخدر دارد [۱،۳،۵،٦]. یافته‌های این مطالعه نشان داد که مدل خوراکی مصرف مورفین قادر به توسعه تحمل به اثر ضد دردی مورفین در مراحل حاد اولیه و مزمن دیررس آزمون فرمالین است. به این ترتیب، مدل خوراکی مصرف مزمن مورفین در مطالعاتی که به‌دنبال بررسی نوروبیولوژی درد و تغییرات نوروپلاستیک مربوطه در افراد معتاد به مواد مخدر هستند، مدل مناسبی محسوب می‌شود. برای ایجاد وابستگی، روش تجویز دارو (خوراکی، داخل صفاقی، زیر جلدی، و کاشت قرص یا ریزپمپ‌های اسموتیک) یکی از مهم‌ترین متغیرها است [۳۶،۳۷]. اگرچه در مطالعاتی که بر روی ویژگی‌های فارماکولوژیکی تحمل انجام می‌شود، بیشتر روش تزریق متناوب روزانه (زیر جلدی یا داخل صفاقی)، و در مطالعاتی که بر روی پیامدهای بیوشیمیای مصرف مزمن مورفین انجام می‌شود، بیشتر روش تجویز ممتد دارو (کاشت قرص) استفاده می‌شود، ولی باید توجه داشت که این روش‌ها برای حیوان پر تنش هستند و ممکن است با آزادسازی کاتکول‌آمین‌ها و گلوکوکورتیکوییدها و یا اپیوئیدهای درون‌زاد باعث تغییر پیامدهای بیوشیمیایی شوند [۳۸]. اگرچه هیپرآلژزیای ناشی از قطع مصرف مورفین یکی از ویژگی‌های اعتیاد در شرایط انسانی [۳۹] و وابستگی به اپیویید در حیوانات آزمایشگاهی [۲،٤،۷،۲۵] است، اما بخشی از یافته‌های این مطالعه نشان داد که در موش‌های تیمار شده با مورفین به‌مدت ۲۰ روز، هیپرآلژزیا بروز نکرد. به‌نظر می‌آید چون حیوانات حتی تا ۳۰ دقیقه قبل از انجام آزمون درد دسترسی آزاد به آب محتوی مورفین داشتند پدیده هیپرآلژزیا بروز نکرده است. مدل خوراکی مصرف مورفین در تعدادی از مطالعات با اهداف دیگری به‌جز بررسی وابستگی، تحمل و هیپرآلژزیا مورد استفاده قرار گرفته است. برای مثال، Binsack و همکاران [۲۱] بعد از مصرف مزمن مورفین، حیوان را از دریافت مورفین محروم کردند، سپس رفتار ترجیحی حیوان را در انتخاب آب محتوی مورفین یا آب محتوی سوکروز مورد بررسی قرار دادند و هدف-شان بررسی مدل خوراکی مورفین در گرایش به مصرف مجدد مورفین بود. به‌علاوه، Borg و Taylor [۲۲] در مدل خوراکی مصرف مزمن مورفین، اثر داروهای هالوپریدل و اوندانسترون را در کاهش رفتار ترجیحی حیوان به نوشیدن آب محتوی مورفین را به-دنبال قطع مصرف مورد بررسی قرار داده‌اند. مطالعه دیگری که از مدل خوراکی مصرف مورفین استفاده کرده، اما هدف متفاوتی را دنبال می‌کرد توسط Gellert و Holtzman [۲٤] انجام شد. هدف این مطالعه یافتن شروع علایم وابستگی فیزیکی به مورفین طی مصرف خوراکی بود. در این مطالعه نشان داده شد که علایم

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-10-24]

وابستگی از روز ۱۰ شروع می‌شود و در حد فاصل روزهای ۱٤-۱۸ به حدکثر (کفه) می‌رسد. به عبارت دیگر مباحث مورد بحث مطالعه ما یعنی هیپرآلژزیا و تحمل به مورفین در مطالعه فوق مد نظر نبوده است.

نتیجه‌گیری

در مجموع یافته‌های این مطالعه نشان می‌دهد که مصرف مزمن خوراکی مورفین در آب آشامیدنی، هر چند باعث توسعه‌ی تحمل به اثر ضد دردی مورفین می‌شود، اما به‌طور نسبی وابستگی فیزیکی ایجاد می‌کند. به‌علاوه، هیپرآلژزیا که یک ویژگی اعتیاد به مواد مخدر و از معضلات کنترل درد در بیماران معتاد محسوب می‌شود، در مدل مورد نظر به خوبی القا نمی‌گردد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از همکاری صمیمانه‌ی رئیس مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی مولکولی و معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مازندران کمال تشکر و قدردانی را ابراز می‌دارند.

References:

[1] Akbari E. The role of cyclo-oxygenase inhibitors in attenuating opioid-induced tolerance, hyperalgesia, and dependence. ***Med Hypotheses*** 2012; 78(1): 102-6.

[2] Kreek MJ, Koob GF. Drug dependence: stress and dysregulation of brain reward pathways. ***Drug Alcohol Depend*** 1998; 51(1-2): 23-47.

[3] Mao J. NMDA and opioid receptors: their interactions in antinociception, tolerance and neuroplasticity. ***Brain Res Brain Res Rev*** 1999; 30(3): 289-304.

[4] Nestler EJ. Molecular mechanisms of drug addiction. ***J Neurosci*** 1992; 12(7): 2439-50.

[5] Nestler EJ. Molecular mechanisms of opiate and cocaine addiction. ***Curr Opin Neurobiol*** 1997; 7(5): 713-9.

[6] Ueda H, Ueda M. Mechanisms underlying morphine analgesic tolerance and dependence. ***Front Biosci*** 2009; 14: 5260-72.

[7] Wang ZJ, Wang LX. Phosphorylation: a molecular switch in opioid tolerance. ***Life Sci*** 2006; 79(18): 1681-91.

[8] Chen L, Zhai H, Lu L, Chen S, Ning Y, Wang W. Effects of polyinosinic-polycytidylic acid (Poly I:C) on naloxone-precipitatedwithdrawal in morphine-dependent mice. ***Neurosci Lett*** 2011; 487(3): 341-4.

[9] Ledent C, Valverde O, Cossu G, Petitet F, Aubert JF, Beslot F, et al. Unresponsiveness to cannabinoids and reduced addictive effects of opiates in CB1 receptor knockout mice. ***Science*** 1999; 283(5400): 401-4.

[10] Cicero TJ, Meyer ER. Morphine pellet implantation in rats: quantitative assessment of tolerance and dependence. ***J Pharmacol Exp Ther*** 1973; 184(2): 404.

[11] Lange DG, Roerig SC, Fujimoto JM, Busse LW. Withdrawal tolerance and unidirectional non-cross-tolerance in narcotic pellet-implanted mice. ***J Pharmacol Exp Ther*** 1983; 224(1): 13-20.

[12] Laschka E, Herz A, Bläsig J. Sites of action of morphine involved in the development of physical dependence in rats. I. Comparison of precipitated morphine withdrawal after intraperitoneal and intraventricular injection of morphine antagonists. ***Psychopharmacologia*** 1976; 46(2): 133-9.

[13] Lin JA, Chen JH, Lee YW, Lin CS, Hsieh MH, Chang CC, et al. Biphasic effect of curcumin on morphine tolerance: a preliminary evidence from cytokine/chemokine protein array analysis. ***Evid Based Complement Alternat Med*** 2011; 2011: 452153.

[14] Zissen MH, Zhang G, McKelvy A, Propst JT, Kendig JJ, Sweitzer SM. Tolerance, opioid-induced allodynia and withdrawal associated allodynia in infant and young rats. ***Neuroscience*** 2007; 144(1): 247-62.

[15] Dighe SV, Madia PA, Sirohi S, Yoburn BC. Continuous morphine produces more tolerance than intermittent or acute treatment. ***Pharmacol Biochem Behav*** 2009; 92(3): 537-42.

[16] Hui KS, Roberts MB. An improved implantation pellet for rapid induction of morphine dependence in mice. ***J Pharm Pharmacol*** 1975; 27(8): 569-73.

[17] Thierry AM, Fekete M, Glowinski J. Effects of stress on the metabolism of noradrenaline, dopamine and serotonin (5HT) in the central nervous system of the rat. (II). Modifications of serotonin metabolism. ***Eur J Pharmacol*** 1968; 4(4): 384-9.

[18] Floresco SB, Ghods-Sharifi S. Amygdala-prefrontal cortical circuitry regulates effort-based decision making. ***Cereb Cortex*** 2007; 17(2): 251–60.

[19] Jones S, Bonci A. Synaptic plasticity and drug addiction. ***Curr Opin Pharmacol*** 2005; 5(1): 20-5.

[20] Badawy AA, Evans CM, Evans M. Production of tolerance and physical dependence in the rat by simple administration of morphine in drinking water. ***Br J Pharmacol*** 1982; 75(3): 485.

[21] Binsack R, Zheng ML, Zhang ZS, Yang L, Zhu YP. Chronic morphine drinking establishes morphine tolerance, but not addiction in Wistar rats. ***J Zhejiang Univ Sci B*** 2006; 7(11): 892-8.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-10-24]

[22] Borg PJ, Taylor DA. Voluntary oral morphine self-administration in rats: effects of haloperidol or ondansetron. ***Pharmacol Biochem Behav*** 1994; 47(3): 633-46.
[23] Fuentes VO, Hunt WB, Crossland J. The production of morphine tolerance and physical dependence by the oral route in the rat. ***Psychopharmacology (Berl)*** 1978; 59(1): 65-9.
[24] Gellert VF, Holtzman SG. Development and maintenance of morphine tolerance and dependence in the rat by scheduled access to morphine drinking solutions. ***J Pharmacol Exp Ther*** 1978; 205(3): 536-46.
[25] Khavari KA, Risner ME. Concentration-ingestion relations of morphine-adulterated food and morphine solution. ***Psychopharmacologia*** 1973; 30(1): 45-60.
[26] Leung CM, Ogle CW, Dai S. Production of physical dependence in rats by drinking a morphine solution. ***Pharmacol Biochem Behav*** 1986; 25(5): 1001-6.
[27] Moini Zanjani T, Sabetkasaei M. Study of the intraplantar injection of lidocaine and morphine on pain perception and the influence of morphine dependence and withdrawal on lidocaine-induced analgesia in rats. ***Iran Biomed J*** 2010; 14(4): 164-70.
[28] Gaumond I, Arsenault P, Marchand S. The role of sex hormones on formalin-induced nociceptive responses. ***Brain Res*** 2002; 958(1): 139-45.
[29] Abbott FV, Franklin KB, Westbrook RF. The formalin test: scoring properties of the first and second phases of the pain response in rats. ***Pain*** 1995; 60(1): 91-102.
[30] Dubuisson D, Dennis SG. The formalin test: a quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine, and brain stem stimulation in rats and cats. ***Pain*** 1977; 4(2): 161-74.
[31] McMillan DE, Leander JD, Wilson TW, Wallace SC, Fix T, Redding S, et al. Oral ingestion of narcotic analgesics by rats. ***J Pharmacol Exp Ther*** 1976; 196(2): 269-79.
[32] Jain R, Mukherjee K, Singh R. Influence of sweet tasting solutions on opioid withdrawal. ***Brain Res Bull*** 2004; 64(4): 319-22.
[33] Smith FL, Javed RR, Elzey MJ, Dewey WL. The expression of a high level of morphine antinociceptive tolerance in mice involves both PKC and PKA. ***Brain Res*** 2003; 985(1): 78-88.
[34] Cochin J, Kornetsky C. Development and loss of tolerance to morphine in the rat after single and multiple injections. ***J Pharmacol Exp Ther*** 1964; 145: 1-10.
[35] Fernandes M, Kluwe S, Coper H. Quantitative assessment of tolerance to and dependence on morphine in mice. ***Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*** 1977: 297(1): 53-60.
[36] Craft RM, Stratmann JA, Bartok RE, Walpole TI, King SJ. Sex differences in development of morphine tolerance and dependence in the rat. ***Psychopharmacology (Berl)*** 1999; 143(1): 1-7.
[37] Du X, Skopp G, Aderjan R. The influence of the route of administration: a comparative study at steady state of oral sustained release morphine and morphine sulfate suppositories. ***Ther Drug Monit*** 1999; 21(2): 208-214.
[38] Cao JL, Ding HL, He JH, Zhang LC, Duan SM, Zeng YM. The spinal nitric oxide involved in the inhibitory effect of midazolam on morphine-induced analgesia tolerance. ***Pharmacol Biochem Behav*** 2005; 80(3): 493-503.
[39] Chu LF, Angst MS, Clark D. Opioid-induced hyperalgesia in humans: molecular mechanisms and clinical considerations. ***Clin J Pain*** 2008; 24(6): 479–96.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-10-24]