

## تحقیقی

### اثر پیشگیری کننده افشره گریپ فروت (*Citrus Paradisi Macf.*) بر علائم وابستگی به مرفین در موش های صحرایی نر

دکتر علیرضا سرکاسی\*<sup>۱</sup>، خلیل سعدی پور<sup>۲</sup>، دکتر محمد کاظم غریب ناصری<sup>۱</sup>، دکتر محمد بدوی<sup>۳</sup>

۱- دانشیار گروه فیزیولوژی دانشکده پزشکی و مرکز تحقیقات فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز.

۲- کارشناس ارشد گروه فیزیولوژی دانشکده پزشکی یاسوج - مرکز تحقیقات فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز.

۳- استادیار گروه فیزیولوژی دانشکده پزشکی و مرکز تحقیقات فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز.

#### چکیده

زمینه و هدف: اعتیاد به مواد مخدر مانند مرفین از مهم ترین مشکلات اجتماعی می باشد. در حیوانات معتاد به مرفین مصرف آنتی اکسیدان ها مانند ویتامین C می تواند باعث کاهش علائم سندرم محرومیت از مرفین شود. هدف از این مطالعه بررسی اثر پیشگیری کننده افشره گریپ فروت بر وابستگی به مرفین در موش های صحرایی نر بود.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی که طی سال ۱۳۸۶ در مرکز تحقیقات فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز انجام شد، تعداد ۱۶ سر موش صحرایی نر جوان نژاد *Wistar* (۳۰۰-۲۵۰ گرم) به طور تصادفی به دو گروه ۸ تایی شاهد و درمان تقسیم شدند. موش های هر دو گروه با تجویز داخل صفاقی مرفین (۳ روز اول ۱۰ mg/kg، ۳ روز دوم ۲۰ mg/kg و ۳ روز آخر ۴۰ mg/kg) معتاد شدند. گروه شاهد ۲ میلی لیتر محلول نرمال سالین و گروه درمان ۲ میلی لیتر افشره تازه میوه گریپ فروت را به صورت خوراکی روزانه یک ساعت قبل از تجویز مرفین به مدت ۹ روز دریافت کردند. روز دهم ۴۵ دقیقه بعد از تجویز یک دوز اضافی مرفین (۴۰ mg/kg) برای ایجاد سندرم محرومیت مقدار ۱۰ mg/kg نالوکسان به صورت زیر جلدی به حیوانات تزریق گردید. سپس علائم سندرم محرومیت شامل دندان قروچه، لرزش شدید بدن، دفعات دفع مدفوع و دفعات لیسیدن پنیس برای مدت ۳۰ دقیقه بررسی شد.

یافته ها: نتایج این مطالعه نشان داد که مصرف افشره میوه گریپ فروت بر چهار نوع علائم وابستگی به مرفین در موش های صحرایی معتاد شامل دندان قروچه، لرزش بدن، تعداد دفع مدفوع و تعداد لیسیدن پنیس در مقایسه با گروه کنترل (سالم) اثر پیشگیری کننده داشته و آنها را به طور معنی داری کاهش داده است ( $P < 0.05$ ).

نتیجه گیری: نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که افشره گریپ فروت می تواند، علائم محرومیت از مرفین را کاهش دهد. مکانیسم دقیق اثر آن نیاز به تحقیق و بررسی بیشتری دارد.

کلید واژه ها: مرفین، افشره گریپ فروت، موش صحرایی

\* نویسنده مسؤول: دکتر علیرضا سرکاسی، پست الکترونیکی: [sarkaki\\_a@yahoo.com](mailto:sarkaki_a@yahoo.com)

نشانی: اهواز، دانشگاه علوم پزشکی اهواز، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، تلفن: ۳۳۶۱۵۴۴ - ۰۶۱۱، نامبر: ۳۷۲۸۲۴۸

وصول مقاله: ۸۵/۱۲/۲۶، اصلاح نهایی: ۸۶/۱۲/۱۱، پذیرش مقاله: ۸۷/۲/۹

## مقدمه

وابستگی به مواد مخدر از مهم‌ترین مشکلات اجتماعی می‌باشد. عدم وجود روش‌های مناسب برای پیشگیری و درمان می‌تواند ناشی از اثرات ناشناخته مرفین بر کارکردهای مختلف سیستم عصبی باشد. مصرف مکرر و طولانی مدت مرفین منجر به ایجاد تحمل و وابستگی روانی و فیزیکی گردیده که این پدیده محدودیت‌های جدی در مصرف آن به وجود آورده است (۱-۳).

گریپ‌فروت (*Citrus Paradisi Macf.*) گیاهی از تیره مرکبات (*Citrus*) و از خانواده Rutaceae می‌باشد. درختی متوسط، خاردار با برگ‌های سبز چرمی ساده و کامل با دم‌برگ بالدار بیضی شکل است. گل و شکوفه‌های آن سفید و شبیه به سایر انواع مرکبات می‌باشد. میوه آن درشت و خیلی بزرگ‌تر از پرتقال است. در شمال ایران و بیشتر در جنوب کشور کاشته می‌شود. ترکیبات گریپ‌فروت داروی بسیار موثر و شفابخش برای قلب است. در هندوستان از آب گریپ‌فروت برای افزایش مقاومت بدن در مقابل سرماخوردگی و زخم‌های عفونی استفاده می‌کنند (۴). مصرف کوتاه‌مدت افشره گریپ‌فروت تری اسیل گلیسرول پلاسمایی (TAG)، شیلومیکرون (CM) و غلظت کلسترول را به واسطه تاخیر در تخلیه معدی به طور معنی‌داری کاهش می‌دهد. اما سطح کلسترول پلازما و ترشح و متابولیسم لیوپروتئین با دانسیته خیلی کم (VLDL) را تحت تاثیر قرار نمی‌دهد. در حالی که تجویز طولانی مدت آن باعث کاهش معنی‌دار میزان VLDL پلازما و اندازه نسبی ذرات VLDL می‌شود (۵). تحقیقات نشان داده که تجویز مرفین به موش‌های صحرایی که از یک رژیم غذایی حاوی کلسترول تغذیه کرده‌اند، موجب افزایش کلسترول، LDL، VLDL و کاهش HDL پلازما می‌شود. همچنین افزایش در سطح کلسترول، LDL و VLDL پلازما نیز به دنبال تجویز مرفین در موش‌های صحرایی که از یک رژیم غذایی معمولی استفاده کرده‌اند، مشاهده شده است (۶). از آنجا که محققان در تلاشند تا با استفاده از روش‌های مناسب از اعتیاد پیشگیری یا آن را درمان نمایند، در این تحقیق نیز سعی گردید تا با توجه به اثرات درمانی متعدد گریپ‌فروت و تحقیقات انجام شده روی

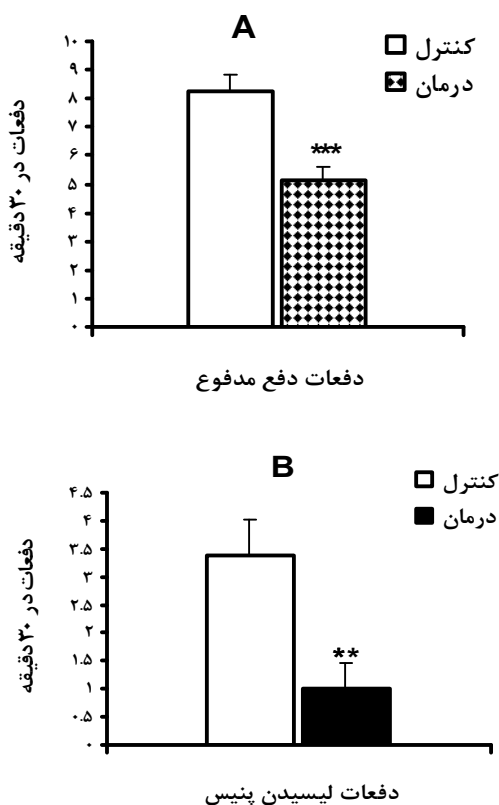
بخش‌های مختلف آن و نیز به دلیل وجود ویتامین C فراوان در افشره میوه آن، اثر پیشگیری کننده مصرف خوراکی افشره گریپ‌فروت بر علائم وابستگی به مرفین در موش‌های صحرایی جوان مورد بررسی و مطالعه قرار گیرد.

## روش بررسی

در این مطالعه تجربی طی سال ۱۳۸۶ در مرکز تحقیقات فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز تعداد ۱۶ سر موش صحرایی نر جوان نژاد Wistar در محدوده وزنی ۳۰۰-۲۵۰ گرم استفاده شد. حیوانات تحت شرایط دوره ۱۲ ساعته روشنایی-تاریکی، دمای  $20 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد و رطوبت حدود ۶۰-۵۵ درصد و دسترسی آزاد به آب و غذا کافی در مرکز نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز نگهداری شدند.

موش‌ها به طور تصادفی به دو گروه ۸ تایی، الف) گروه شاهد و ب) گروه درمان با افشره گریپ‌فروت تقسیم شدند. به منظور القاء اعتیاد در موش‌ها، به هر دو گروه به مدت ۹ روز، ۳ روز اول  $10 \text{ mg/kg}$ ، ۳ روز دوم  $20 \text{ mg/kg}$  و ۳ روز سوم  $40 \text{ mg/kg}$  محلول سولفات مرفین حل شده در دکستروز ۵ درصد به صورت داخل صفاقی تزریق گردید. روزانه یک ساعت قبل از تجویز مرفین به گروه شاهد ۲ میلی‌لیتر محلول نرمال سالین و به گروه درمان ۲ میلی‌لیتر افشره تازه میوه گریپ‌فروت (*Citrus Paradisi Macf.*) از تیره مرکبات (*Citrus*) و خانواده Rutaceae که میوه آن در فصل زمستان از جنوب غربی کشور (باغ‌های مرکبات دزفول) تهیه نموده بودیم، به صورت گاوآژ تجویز شد. برای سهولت انجام کار، از ۵ ساعت قبل از گاوآژ در هر دو گروه محرومیت غذایی ایجاد می‌شد. برای ایجاد سندرم محرومیت در روز دهم، ۴۵ دقیقه پس از تجویز یک دوز اضافی  $40 \text{ mg/kg}$  مرفین به موش‌ها، مقدار  $10 \text{ mg/kg}$  نالوکسان هیدروکلراید به صورت زیر جلدی تزریق گردید (۷). سپس علائم سندرم محرومیت که شامل دندان قروچه (teeth chattering)، لرزش شدید بدن (wet dog shaking)، دفعات دفع مدفوع (defecation) و دفعات لیسیدن پنیس (penis-licking) می‌شد، به صورت شمارش تعداد تکرار هر علامت به مدت ۳۰ دقیقه مورد ارزیابی قرار گرفت (۸-۱۱).

دفع مدفوع (تصویر A-۲) در گروه شاهد و درمان به ترتیب  $8/25 \pm 0/7$  و  $5/12 \pm 0/68$  بود که از لحاظ آماری معنی دار است ( $P < 0/05$ ). همچنین با توجه به تصویر B-۲ میانگین دفعات لیسیدن پنیس در گروه شاهد  $3/37 \pm 0/6$  و درمان  $1 \pm 0/34$  بود که کاهش معنی داری را نشان می دهد ( $P < 0/05$ ).



شکل ۲: نمودارهای A و B به ترتیب کاهش معنی دار علائم دفع مدفوع ( $p < 0/001$ ) و دفعات لیسیدن پنیس ( $p < 0/01$ ) در گروه دریافت کننده افشره گریپ فروت در مقایسه با شاهد را نشان می دهد.

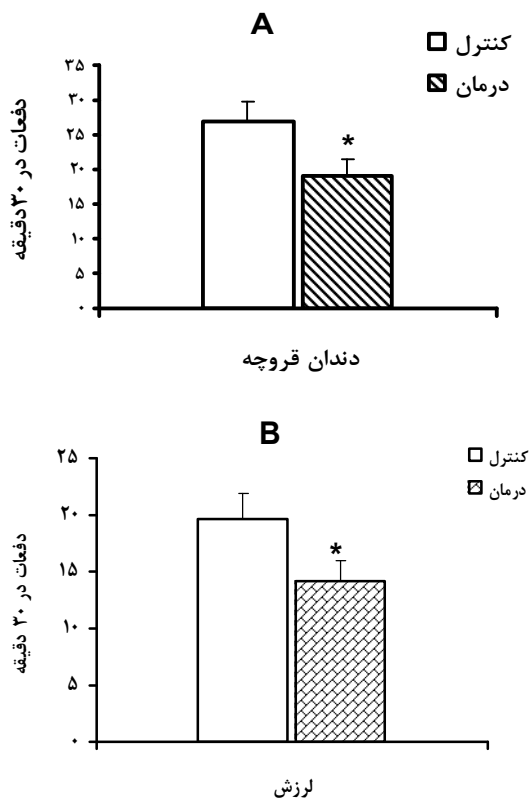
### بحث

تجویز خوراکی افشره گریپ فروت موجب کاهش معنی دار علائم محرومیت از مرفین در موش های صحرایی نر جوان گردید. این یافته ها نشان می دهد که مصرف افشره گریپ فروت می تواند علائم وابستگی به مرفین را به طور معنی داری کاهش دهد. لذا استفاده از افشره گریپ فروت مانند بخش های مختلف سایر گیاهان نظیر کدوی سبز هندی (Beniccasa hispida) (۱۲)، نخل هندی (Areca catechu) (۱۳)، پنیر بند خواب آور (Withania somnifer) (۱۴) و الکیل کوهی (Rosmarinus officinalis) (۱۱) توان پیشگیری

به منظور مقایسه تکرار علایم سندرم محرومیت مرفین در گروه های درمان و شاهد از آزمون تی استودنت استفاده شد و در تمامی موارد با مقدار  $p < 0/05$  تفاوت بین گروه ها معنی دار تلقی گردید.

### یافته ها

مصرف افشره گریپ فروت چهار نوع علائم وابستگی به مرفین را در موش های صحرایی کاهش داد. همان طوری که در تصویر A-۱ نشان داده شده، تعداد دندان قروچه در گروه شاهد (حیواناتی که نرمال سالیین دریافت کردند) به طور متوسط  $27 \pm 2/5$  بار در ۳۰ دقیقه بود. در حالی که در گروه درمان (حیواناتی که افشره دریافت نمودند) به  $19/12 \pm 2$  کاهش یافت ( $P < 0/05$ ).



شکل ۱: نمودارهای A و B به ترتیب نشان دهنده کاهش معنی دار علائم دندان قروچه ( $p < 0/05$ ) و لرزش شدید بدن ( $p < 0/05$ ) در گروه دریافت کننده افشره گریپ فروت در مقایسه با شاهد می باشد.

مطابق تصویر B-۱ میانگین لرزش در گروه شاهد  $19/63 \pm 2/1$  و در گروه درمان  $14/12 \pm 1/68$  می باشد که کاهش معنی داری را نشان می دهد ( $P < 0/05$ ). متوسط دفعات

کند و از این طریق سطح اندورفین را افزایش دهد. همچنین مشخص گردیده که تجویز دوز بالای اسیداسکورییک به صورت خوراکی موجب کاهش علائم محرومیت از هروئین (ترکیب متیله مرفین) در انسان‌های معتاد می‌گردد (۲۲). اگرچه مکانیسم دقیق اثر افشره میوه گریپ‌فروت در جلوگیری از ایجاد وابستگی به مرفین ناشناخته است، اما احتمال دارد که با اثر آنتی‌اکسیدانی و از طریق تاثیر بر نواحی مغزی که در ایجاد وابستگی به اویپات‌ها (مرفین) مانند ناحیه تگمنتوم شکمی (VTA) و هسته آکومینس (NAC) دخیل هستند، از افزایش رهایش دوپامین در هنگام مصرف مرفین جلوگیری کند که این امر موجب پیشگیری از وابستگی به مرفین می‌شود (۱۵ و ۲۲-۱۷).

### نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که مصرف افشره گریپ‌فروت قبل از مصرف مرفین در موش‌های صحرایی بر ایجاد علائم محرومیت از مرفین اثر پیشگیری کننده داشته و علائم دندان قروچه، لرزش بدن، تعداد دفع مدفوع و تعداد لیسیدن پنیس را در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی‌داری کاهش داده است.

### تشکر و قدردانی

این مقاله با هزینه شخصی نویسنده مسئول و استفاده از امکانات فیزیکی مرکز تحقیقات فیزیولوژی اهواز انجام شده است. بدین وسیله از همه همکاران مرکز تحقیقات فیزیولوژی و نیز کارکنان زحمتکش مرکز حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز به خاطر همکاری در انجام این تحقیق صمیمانه قدردانی و سپاسگزاری می‌گردد.

## References

- 1) McNamara RK, Skelton RW. Pretraining morphine impairs acquisition and performance in the Morris water maze: motivation reduction rather than amnesia. *Psychol*. 1999; 19: 313-22.
- 2) Maldonado R. Participation of noradrenergic pathways in the expression of opiate withdrawal: biochemical and pharmacology evidence. *Neurosci Biobehav Res*. 1997; 21: 91-104.
- 3) Zarrindast MR, Zarghi A. Morphine stimulates locomotor activity by an indirect dopaminergic mechanism: possible D-1 and D-2 receptor involvement. *Gen-Pharmacol*. 1992; 23(6): 1221-5.
- 4) Mir Heidary H. Botanic educations. First Ed. Vol 2. Tehran. Islamic cultural press center. 1993; pp: 177-178.
- 5) Daher CF, Abou-Khalil J, Baroody GM. Effect of acute and chronic grapefruit, orange, and pineapple juice intake on blood

از ایجاد وابستگی به مرفین را دارا می‌باشد. افشره میوه گریپ‌فروت دارای اسید اسکورییک فراوان و دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی می‌باشد و می‌تواند میزان متابولیت دوپامین را در هسته آکومینس که متعاقب مصرف مرفین بالا می‌رود، بکاهد (۱۶ و ۱۵). تحقیقات نشان داده که اسید اسکورییک تحمل و وابستگی به مرفین را در جوندگان و نیز در انسان‌ها کاهش می‌دهد. تحمل به مرفین نتیجه افزایش اکسیداسیون اسیداسکورییک در ناحیه limbic forebrain مغز است (۱۷). در طی اعتیاد و وابستگی به مرفین فعالیت نورون‌های دوپامینرژیک مغز افزایش می‌یابد (۲۰-۱۸). اسید اسکورییک یک ویتامین آنتی‌اکسیدان است که از نورون‌های گلوتامینرژیک آزاد گشته و فعالیت سیناپسی نورون‌های دوپامینرژیک و گلوتامینرژیک در نواحی مغزی که در روند ایجاد اعتیاد درگیر می‌شوند را تنظیم می‌نماید. به طوری که تجویز داخل صفاقی اسید اسکورییک (۵۰۰ mg/kg) نیم‌ساعت قبل از خود تجویزی مرفین موجب کاهش معنی‌داری در تعداد دفعات خود تجویزی مرفین در موش‌های صحرایی می‌گردد (۱۶). تحقیق دیگری نشان داده که تجویز طولانی مدت اسید اسکورییک در خوکیه هندی علائم محرومیت از مرفین متعاقب تجویز نالوکسان را به طور معنی‌داری کاهش می‌دهد. همچنین تجویز طولانی مدت (نه کوتاه مدت) اسید اسکورییک می‌تواند موجب مهار علائم محرومیت از مرفین گردد (۲۱). تحقیقات نشان داده که مصرف آنتی‌اکسیدان‌ها نظیر ویتامین C در غلظت‌های بالا ممکن است، تجزیه متالوآنزیم‌های اویوئیدی درون‌زا را مهار

lipid profile in normolipidemic rat. *Med Sci Monit*. 2005; 11(12): BR465-72.

6) Bryant HU, Story JA, Yim GK. Morphine-induced alterations in plasma and tissue cholesterol levels. *Life Sci*. 1987; 41(5):545-54.

7) Alaei H, Borjeian L, Azizi M, Orian S, Pourshanzari A, Hanninen O. Treadmill running reverses retention deficit induced by morphine. *Eur J Pharmacol*. 2006;536(1-2):138-41.

8) Hao Y, Yang JY, Guo M, Wu CF, Wu MF. Morphine decreases extracellular levels of glutamate in the anterior cingulate cortex: an in vivo microdialysis study in freely moving rats. *Brain Res*. 2005; 1040 (1-2):191-6.

9) Mirzaei Dizgah I, Karimian M, Zarrindast MR, Sohanaki H. The effects of intra-Locus Coeruleus injection of Dopamine D1

- receptor agents on Naloxone-induced withdrawal signs. *Physiology & Pharmacology Journal*. 2005; 2(9): 172-167.
- 10) Smith MA, Yancey DL. Sensitivity to the effects of opioids in rats with free access to exercise wheels:  $\mu$ -opioid tolerance and physical dependence. *Psychopharmacologia*. 2003; 168(4):426-434.
- 11) Hosseinzadeh H, Nourbakhsh M. Effect of *Rosmarinus officinalis* L. aerial parts extract on morphine withdrawal syndrome in mice. *Phytother Res*. 2003; 17(8):938-41.
- 12) Grover JK, Rathi SS, Vats V. Preliminary study of fresh juice of *Benincasa hispida* on morphine addiction in mice. *Fitoterapia*. 2000; 71(6):707-9.
- 13) Kumarnsit E, Keawpradub N, Vongvatchanon U, Sawangjaroen K, Govitrapong P. Suppressive effects of dichloromethane fraction from the *Areca catechu* nut on naloxone-precipitated morphine withdrawal in mice. *Fitoterapia*. 2005; 76(6):534-539.
- 14) Kulkarni SK, Ninan I. Inhibition of morphine tolerance and dependence by *Withania somnifera* in mice. *J Ethnopharmacol*. 1997; 57(3):213-7.
- 15) Rajaei Z, Alaei H, Nasimi A, Amini H, Ahmadiani A. Ascorbate reduces morphine-induced extracellular DOPAC level in the nucleus accumbens: A microdialysis study in rats. *Brain Res*. 2005; 1053(1-2):62-6.
- 16) Alaei H, Esmaeili M, Nasimi A, Pourshanazari A. Ascorbic acid decreases morphine self-administration and withdrawal symptoms in rats. *Pathophysiology*. 2005; 12(2):103-7.
- 17) Desole MS, Esposito G, Fresu L, Migheli R, Enrico P, Mura MA, et al. Effects of morphine treatment and withdrawal on striatal and limbic monoaminergic activity and ascorbic acid oxidation in the rat. *Brain Res*. 1996; 723(1-2):154-61.
- 18) Giamperi L, Fraternali D, Bucchini A, Rocco D. Antioxidant activity of *Citrus paradise* seeds glyceric extract. *Fitoterapia*. 2004; 75(20): 221-24.
- 19) 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(1):100-6.
- 20) Zheng J, Yang Y, Tian S, Chen J, Wilson FA, Ma Y. The dynamics of hippocampal sensory gating during the development of morphine dependence and withdrawal in rats. *Neurosci Lett*. 2005; 382(1-2):164-8.
- 21) Johnston PA, Chahl LA. Chronic treatment with ascorbic acid inhibits the morphine withdrawal response in guinea-pigs. *Neurosci Lett*. 1992; 135(1):23-7.
- 22) Evangelou A, Kalfakakou V, Georgakas P, Koutras V, Vezyraki P, Iliopoulou L, et al. Ascorbic acid (vitamin C) effects on withdrawal syndrome of heroin abusers. *In Vivo*. 2000; 14(2):363-6.