15/0182/44

ผลของมอร์ฟีนต่อฮอร์โมนไทรอกซินในรอบวันของหนูแรท

Effect of Morphine and Circadian Rhythm on Thyroxine Levels in Male Rats

สุจินดา มาลัยวิจิตรนนท์[1] วรากรณ์ ชีวโศภิษฐ์[1] ทากาชิ โยชิดะ[2]

Abstract : Suchinda Malaivijitnond[1], Warakorn Cheewasopit[1] and Takashi Yoshida[2]. 2001. Effect of morphine and circadian rhythm on thyroxine levels in male rats. Thai J Hlth Resch 15(1): 29-41.

The objectives are to study the influence of circadian rhythm on thyroxine (T_4) levels in rats, the nocturnal animals, and to study the effect of morphine on thyroxine levels and some physiological changes in male rats in relation to the injection time. Forty adult male rats were divided into 4 groups (10 rats per group). Morning and evening control groups were subcutaneously injected with 0.2 ml of saline at 06.00 h and at 18.00 h respectively. Morning and evening morphine groups were subcutaneously injected with 10 mg/kg body weight of morphine at 06.00 h and at 18.00 h respectively. Five hundred-microliter blood samples were taken at 0, 0.5, 2, 6, 12, 18 and 24 hours after an injection of saline or morphine. The serum was determined for T_4 levels by radioimmunoassay technique. The rats exhibited some physiological changes: tense muscle, immobility and respiratory depression within 0.5-2 hours of morphine injection. T_4 levels showed a peak at 18.00 h and a nadir at 24.00 and 06.00 h after saline injection corresponding to sleep-wake or activity cycle of the animal. There were two patterns of the effect of morphine on T_4 levels: 1) short-term stimulatory effect, the increment of T_4 levels within 0.5 hours after morphine injection in the morning morphine group, and 2) long-term stimulatory effect, the increment of T_4 levels at 18 hours after morphine injection in both morphine groups. The short-term stimulatory effect of morphine on T_4 levels was the injection time-dependent or related to the circadian rhythm of hormone, while the long-term stimulatory effect was the injection time-independent. The data interpretation of changes of hormone related to the metabolism should be considered about the influence of circadian rhythm of hormone in an experimental animal.

Key words : morphine, thyroxine, circadian rhythm, rats

[1]ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร
Department of Biology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok
[2]ศูนย์ไพรเมต-ทซึคูบา สถาบันโรคติดเชื้อแห่งชาติ ฮาชิมันได-1 ทซึคูบา ประเทศญี่ปุ่น
Tsukuba Primate Center, National Institute of Infectious Diseases, Hachimandai-1, Tsukuba, Japan

บทคัดย่อ : สุจินดา มาลัยวิจิตรนนท์ วรากรณ์ ชีวโศภิษฐ และ ทากาชิ โยชิดะ. 2544. ผลของมอร์ฟีนต่อฮอร์โมนไทรอกซินในรอบวันของหนูแรท. วารสารวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์ 15(1): 29-41.

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษารูปแบบของระดับฮอร์โมนไทรอกซิน (T_4) ในรอบวันของหนูแรท ซึ่งเป็นสัตว์ที่ออกหากินในเวลากลางคืน และศึกษาผลของมอร์ฟีนที่มีต่อระดับ T_4 และการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาบางประการที่เกี่ยวข้องในหนูแรทเพศผู้ เมื่อให้ยาในช่วงเวลาที่ต่างกัน ในการทดลองได้แบ่งหนูแรทเพศผู้ จำนวน 40 ตัว ออกเป็น 4 กลุ่ม ๆ ละ 10 ตัว คือ กลุ่มควบคุมเช้าและเย็น ให้น้ำเกลือ (0.9% NaCl) 0.2 มล. ทางใต้ผิวหนังที่เวลา 06.00 น. และเวลา 18.00 น. ตามลำดับ และกลุ่มมอร์ฟีนเช้าและเย็น ให้มอร์ฟีนขนาด 10 มก./กก. น้ำหนักตัว ทางใต้ผิวหนังที่เวลา 06.00 น. และเวลา 18.00 น. ตามลำดับ หลังจากนั้นเจาะเก็บเลือดที่เวลา 0, 0.5, 2, 6, 12, 18 และ 24 ชั่วโมงภายหลังจากฉีดน้ำเกลือหรือมอร์ฟีน นำเลือดที่ได้มาตรวจหาปริมาณ T_4 โดยวิธีเรดิโออิมมิวโนแอสเสย์ หลังจากฉีดมอร์ฟีนนานประมาณ 0.5 - 2 ชั่วโมง หนูจะมีอาการตัวแข็งเกร็ง นอนนิ่งไม่เคลื่อนไหว และหายใจช้าลง และภายหลังจากฉีดน้ำเกลือ ระดับ T_4 มีค่าสูงสุดในช่วง 18.00 น. และต่ำสุดในช่วง 24.00 และ 06.00 น. ซึ่งสอดคล้องกันกับพฤติกรรมของหนูแรท ที่มีกิจกรรมต่าง ๆ ในตอนกลางคืน มอร์ฟีนมีผลกระตุ้นระดับ T_4 สองรูปแบบคือ ผลกระตุ้นระยะสั้น (short-term stimulatory effect)ภายในครึ่งชั่วโมงหลังจากฉีดมอร์ฟีน พบเฉพาะในกลุ่มมอร์ฟีนเช้า และผลกระตุ้นระยะยาว (long-term stimulatory effect) คือ 18 ชั่วโมงหลังฉีดมอร์ฟีน พบในกลุ่มมอร์ฟีนทั้งสองกลุ่ม ผลระยะสั้นของมอร์ฟีนต่อ T_4 จะขึ้นอยู่กับช่วงเวลาที่ฉีดยา ซึ่งสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงของระดับฮอร์โมนในรอบวัน ขณะที่ผลระยะยาวของมอร์ฟีน จะไม่ขึ้นอยู่กับช่วงเวลาที่ฉีดยา ดังนั้นการทดลองใด ๆ ก็ตามที่ต้องการศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงของระดับฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมตาโบลิสม จะต้องคำนึงถึงการเปลี่ยนแปลงของฮอร์โมนดังกล่าวเป็นรอบวันในสัตว์ทดลองนั้น ๆ ด้วย

คำสำคัญ : มอร์ฟีน ไทรอกซิน รอบวัน หนูแรท

บทนำ

มอร์ฟีนเป็นสารที่สกัดได้จากยางฝิ่น จัดเป็น exogenous opiate มีประโยชน์ทางการแพทย์ในการใช้ระงับความเจ็บปวด การออกฤทธิ์ของมอร์ฟีนจะคล้ายกับเอนดอร์ฟิน (endorphin) ซึ่งเป็นสาร endogenous opiate ที่ผลิตได้ในร่างกายของสิ่งมีชีวิต มอร์ฟีนจะไปออกฤทธิ์ที่ระบบประสาทส่วนกลางโดยจับกับ opiate receptor (Kitahata and Collins, 1982) การค้นพบ endogenous opiate ในสมอง (Stoelting, 1980) และต่อมใต้สมอง (Rossier *et al.*, 1980; Wardlaw *et al.*,1980) ทำให้มีรายงานวิจัยจำนวนมากเกี่ยวกับผลของมอร์ฟีนต่อการหลั่งฮอร์โมนจากต่อมใต้สมองหลายชนิด (Morley, 1981; Van Vugt and Meites, 1980) หนึ่งในจำนวนนั้นคือการศึกษาผลของมอร์ฟีนต่อระดับฮอร์โมนไทโรโทรฟิน (thyrotrophin ; TSH) (Muraki *et al.*, 1980; Judd and Hedge,1982; Mannisto *et al.*,1984; Ruahala *et al.*,1988) ซึ่งเป็นฮอร์โมนที่ทำหน้าที่ควบคุมการสร้างและหลั่งไทรอยด์ฮอร์โมนคือ ไทรอกซิน (thyroxine;T_4) และไทรไอโอโดไทโรนีน (triiodothyronine;T_3) จากต่อมไทรอยด์ โดยผ่าน pituitary-thyroidal axis (Greenspan, 1991) อย่างไรก็ตาม เห็นได้ว่ามีรายงานวิจัยเกี่ยวกับผลของมอร์ฟีนต่อไทรอยด์ฮอร์โมนน้อยมาก (Ho *et al.*, 1977; Bhargava *et al.*, 1989; Berglund *et al.*, 1990) และการทดลองส่วนมากจะทำในหนูแรทกับคน โดยได้ผลดังนี้

เมื่อฝังแท่งมอร์ฟีน (morphine pellet) ขนาด 75 มิลลิกรัมเข้าใต้ผิวหนังหนูแรท พบว่าระดับฮอร์โมน T_4 ลดลง ที่เวลา 12-24 ชั่วโมงภายหลังได้รับมอร์ฟีน (Berglund *et al.*, 1990) และเมื่อฝังแท่งมอร์ฟีนเข้าใต้ผิวหนัง จำนวน 4 แท่ง ๆ ละ 75 มิลลิกรัม นาน 3 วัน พบว่าระดับฮอร์โมน T_3 และ T_4 ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมที่ฝังยาหลอก (placebo) (Bhargava *et al.*, 1989) จากรายงานที่ศึกษาผลของมอร์ฟีนในคน พบว่าระดับ TSH ในกระแสเลือดจะเพิ่มสูงขึ้นหลังฉีดมอร์ฟีน (Devilla *et al.*, 1985) จึงคาดว่าระดับ T_4 น่าจะสูงขึ้นด้วย และในปี ค.ศ. 1977 Ho และคณะได้ทำการตรวจวัดระดับ T_4 ในคนที่ติดเฮโรอีนซึ่งเป็นสารอนุพันธ์ของมอร์ฟีน นานเฉลี่ย 10 ปี พบว่าระดับ T_4 ในคนที่ติดเฮโรอีนมีค่าสูงกว่าคนปกติ

จากการศึกษาข้างต้นจะเห็นได้ว่ามอร์ฟีนมีผลต่อระดับฮอร์โมนไทรอกซินตรงข้ามกัน และทำให้ไม่สามารถสรุปผลของมอร์ฟีนที่มีต่อการทำงานของต่อมไทรอยด์ได้ชัดเจน อาจเนื่องจากว่าในรายงานดังกล่าว สัตว์ทดลองที่ใช้ในการศึกษานั้น มีพฤติกรรมในการดำรงชีวิตต่างกัน หนูแรทเป็นสัตว์ที่มีกิจกรรมต่าง ๆในตอนกลางคืน (nocturnal animal) ในขณะที่คนทั่วไปมีกิจกรรมต่าง ๆ ในตอนกลางวัน (diurnal animal) และไทรอยด์ฮอร์โมนเป็นฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมตาโบลิสม ดังนั้นการมีกิจกรรมในช่วงเวลาที่ต่างกันของสัตว์ (sleep-wake or activity cycle) ย่อมจะมีผลต่อกลไกการหลั่งไทรอยด์ฮอร์โมน ทำให้มีรูปแบบของระดับฮอร์โมนเป็นรอบวัน (circadian rhythm) และทำให้การตอบสนองของไทรอยด์ฮอร์โมนต่อมอร์ฟีนต่างกันด้วย

การศึกษาครั้งนี้ต้องการหาความสัมพันธ์ของรอบวันและมอร์ฟีนต่อระดับไทรอกซินในซีรัมของหนูแรท โดยฉีดมอร์ฟีนให้หนูแรทในเวลาต่างกัน เพื่อพิสูจน์สมมติฐานที่ว่ารอบวันมีผลต่อการออกฤทธิ์ของมอร์ฟีนในการควบคุมการหลั่งไทรอกซิน

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

สัตว์ทดลอง

คัดเลือกหนูแรทเพศผู้ พันธุ์วิสตาร์ จำนวน 40 ตัว อายุ 60-90 วัน น้ำหนัก 200-300 กรัม เลี้ยงหนูแรทเหล่านี้ไว้ในเรือนเลี้ยงสัตว์ทดลอง ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ซึ่งควบคุมอุณหภูมิ (25 ± 1องศาเซลเซียส) ได้รับแสงสว่าง 14 ชั่วโมง (06.00-20.00 น.) และมืด 10 ชั่วโมง (20.00-06.00 น.) ได้รับอาหารสำเร็จรูป (บริษัทโภคภัณฑ์อาหารสัตว์, กรุงเทพฯ) และน้ำตลอดเวลา

การเจาะเก็บเลือด

เจาะเก็บเลือดจากเส้นเลือดดำที่หาง ด้วยเข็มเบอร์ 26 G X 11/2" ครั้งละประมาณ 0.5 มิลลิลิตร ที่เวลา 0, 0.5, 2, 6, 12, 18 และ 24 ชั่วโมง ภายหลังการฉีดน้ำเกลือหรือสารละลายมอร์ฟีน เลือดที่เจาะได้จะทิ้งไว้ให้แข็งตัวที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสข้ามคืน จากนั้นนำไปปั่นด้วยความเร็ว 2000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที แยกเอาส่วนของซีรัมเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -40 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำไปวิเคราะห์หาปริมาณฮอร์โมนไทรอกซินต่อไป

การเตรียมสารละลายมอร์ฟีน

มอร์ฟีนที่ใช้เป็นมอร์ฟีนซัลเฟต มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 168.76 โดยได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์วิจัยยาเสพติด สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ขนาดของมอร์ฟีนที่ใช้ฉีดหนูในการทดลองครั้งนี้ คือ 10 มิลลิกรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม สารละลายมอร์ฟีนที่ใช้จะเตรียมใหม่ทุก ๆ การทดลอง เตรียมโดยนำผงมอร์ฟีนที่ชั่งไว้มาละลายในน้ำที่ผ่านการกลั่น 3 ครั้ง และทำให้ปลอดเชื้อโดยการกรองผ่านแผ่นกรอง (Millipore filter) ขนาด 0.22 ไมครอน และเก็บในขวดสีชาปลอดเชื้อที่อุณหภูมิห้อง

ขั้นตอนดำเนินการทดลอง

แบ่งสัตว์ทดลองออกเป็น 4 กลุ่ม ๆ ละ 10 ตัวดังนี้

1. กลุ่มควบคุมเช้า ฉีดน้ำเกลือปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร ทางใต้ผิวหนัง ที่เวลา 06.00 น. แล้วจึงเก็บตัวอย่างเลือด

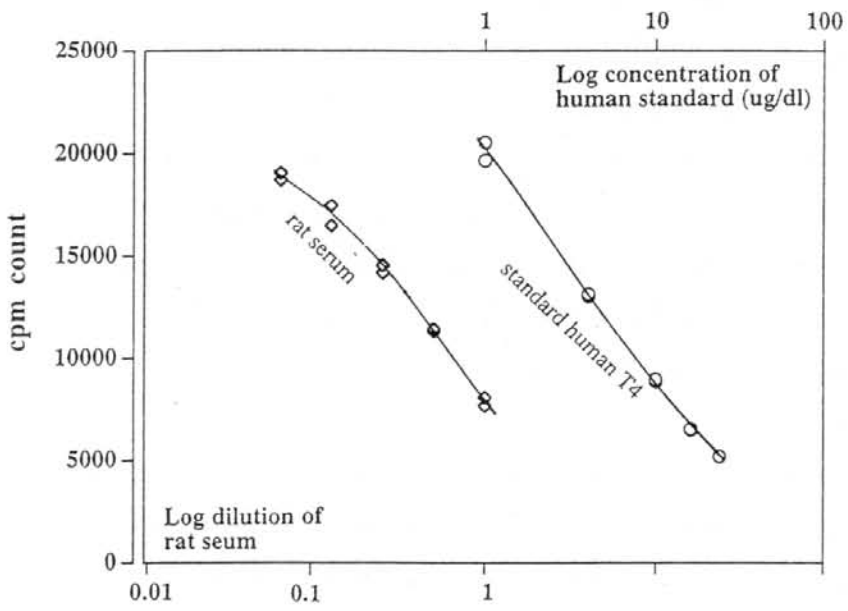
2. กลุ่มควบคุมเย็น ฉีดน้ำเกลือปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร ทางใต้ผิวหนัง ที่เวลา 18.00 น. แล้วจึงเก็บตัวอย่างเลือด
3. กลุ่มฉีดมอร์ฟีนเช้า ฉีดสารละลายมอร์ฟีนขนาด 10 มิลลิกรัม/กิโลกรัม น้ำหนักตัว ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร ทางใต้ผิวหนัง ที่เวลา 06.00 น. แล้วจึงเก็บตัวอย่างเลือด
4. กลุ่มฉีดมอร์ฟีนเย็น ฉีดสารละลายมอร์ฟีนขนาด 10 มิลลิกรัม/กิโลกรัม น้ำหนักตัว ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร ทางใต้ผิวหนัง ที่เวลา 18.00 น. แล้วจึงเก็บตัวอย่างเลือด

การวิเคราะห์หาปริมาณฮอร์โมนไทรอกซิน

วิเคราะห์หาปริมาณฮอร์โมนไทรอกซินโดยวิธีเรดิโออิมมิวโนแอสเสย์ (radioimmunoassay; RIA) โดยใช้น้ำยาสำเร็จรูปสำหรับวิเคราะห์ฮอร์โมนไทรอกซินในคน (human T_4) ของบริษัท Diagnostic Production Corporation ประเทศสหรัฐอเมริกา ก่อนนำมาใช้ได้ทดสอบความสามารถของแอนติบอดี้ต่อการทำปฏิกิริยากับฮอร์โมนไทรอกซินในหนูแรท (cross-reactivity) (รูปที่ 1)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

แสดงผลการทดลองที่ได้เป็น mean ± standard error วิเคราะห์ผลการทดลองเปรียบเทียบระดับฮอร์โมนที่เวลา 0 ชั่วโมง กับช่วงเวลาต่างๆในการทดลองเดียวกัน โดยใช้ one-way ANOVA และใช้ LSD test ทดสอบค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และเปรียบเทียบระดับฮอร์โมน ณ จุดเวลาเดียวกัน ระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มฉีดมอร์ฟีน ซึ่งให้ยาที่เวลาเดียวกันโดยใช้ unpaired t-test ทดสอบค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ด้วยโปรแกรม SPSS



รูปที่ 1 เปรียบเทียบกราฟมาตรฐานของไทรอกซินในซีรัมหนูแรทกับไทรอกซินมาตรฐานของคน

ผล

1. การเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยา

ในระหว่างเจาะเลือด หนูแรทในกลุ่มที่ฉีดมอร์ฟีนทั้งสองกลุ่มเกิดการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยา กล่าวคือ หลังจากฉีดมอร์ฟีนให้แก่หนูแรท เป็นเวลา 30 นาที หนูแรทจะมีอาการตัวแข็ง เกร็ง นอนนิ่งไม่เคลื่อนไหว และหายใจช้าลง อาการต่าง ๆเหล่านี้จะค่อย ๆหายไปและกลับสู่สภาวะปกติเมื่อเวลาผ่านไปประมาณ 2 ชั่วโมง ซึ่งสอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงของระดับฮอร์โมน T_4 ที่จะกล่าวถึงต่อไป

2. การเปลี่ยนแปลงของระดับฮอร์โมน T_4 ในแต่ละกลุ่ม (ตารางที่ 1)

2.1 กลุ่มควบคุมเช้า

ระดับฮอร์โมนไทรอกซินในหนูแรทกลุ่มควบคุมเช้ามีค่าสูงสุดที่เวลา 06.30 น. (0.5 ชั่วโมงหลังฉีดน้ำเกลือ) และที่เวลา 18.00 น. ตามลำดับ และต่ำสุดที่เวลา 06.00 น. ครั้งที่ 2 เมื่อเปรียบเทียบระดับฮอร์โมนไทรอกซิน ที่ได้จากการเจาะเลือดที่เวลา 06.00 น. ในครั้งแรก หรือที่ 0 ชั่วโมงหลังจากฉีดน้ำเกลือ กับช่วงเวลาต่าง ๆ คือ 0.5, 2, 6, 12, 18 และ 24 ชั่วโมงหลังฉีดน้ำเกลือตามลำดับ พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ที่เวลาต่าง ๆ (ตารางที่ 1) แต่ระดับฮอร์โมนไทรอกซินที่ 24 ชั่วโมงหลังการฉีดน้ำเกลือหรือที่เวลา 06.00 น. ในครั้งที่ 2 มีแนวโน้มต่ำกว่าค่าที่ได้จากการเจาะเลือดที่ 0 ชั่วโมงหลังการฉีดน้ำเกลือ หรือที่เวลา 06.00 น. ในครั้งแรก ($p = 0.072$) (รูปที่ 2 ก)

2.2 กลุ่มควบคุมเย็น

ระดับฮอร์โมนไทรอกซินในหนูแรทกลุ่มควบคุมเย็นมีค่าสูงสุดที่เวลา 18.00 น. ครั้งแรก และ 18.30 น. (0.5 ชั่วโมงหลังฉีดน้ำเกลือ) ตามลำดับ และต่ำสุดที่เวลา 24.00 น. เมื่อเปรียบเทียบระดับฮอร์โมนไทรอกซินที่ได้จากการเจาะเลือดที่เวลา 18.00 น. ในครั้งแรก หรือที่ 0 ชั่วโมงหลังจากฉีดน้ำเกลือ กับช่วงเวลาต่าง ๆ คือ 0.5, 2, 6, 12, 18 และ 24 ชั่วโมง หลังฉีดน้ำเกลือ ตามลำดับ พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ที่เวลาต่าง ๆ (ตารางที่ 1) ยกเว้นที่ 6 ชั่วโมงหลังฉีดน้ำเกลือหรือที่เวลา 24.00 น. ที่มีค่าต่ำกว่า ($p = 0.047$) นอกจากนี้ยังพบว่าระดับฮอร์โมนไทรอกซินที่ 24 ชั่วโมงหลังการฉีดน้ำเกลือหรือที่เวลา 18.00 น. ในครั้งที่ 2 มีแนวโน้มต่ำกว่าค่าที่ได้จากการเจาะเลือดที่ 0 ชั่วโมงหลังการฉีดน้ำเกลือ หรือที่เวลา 18.00 น. ในครั้งแรก ($p = 0.162$) (รูปที่ 2 ข)

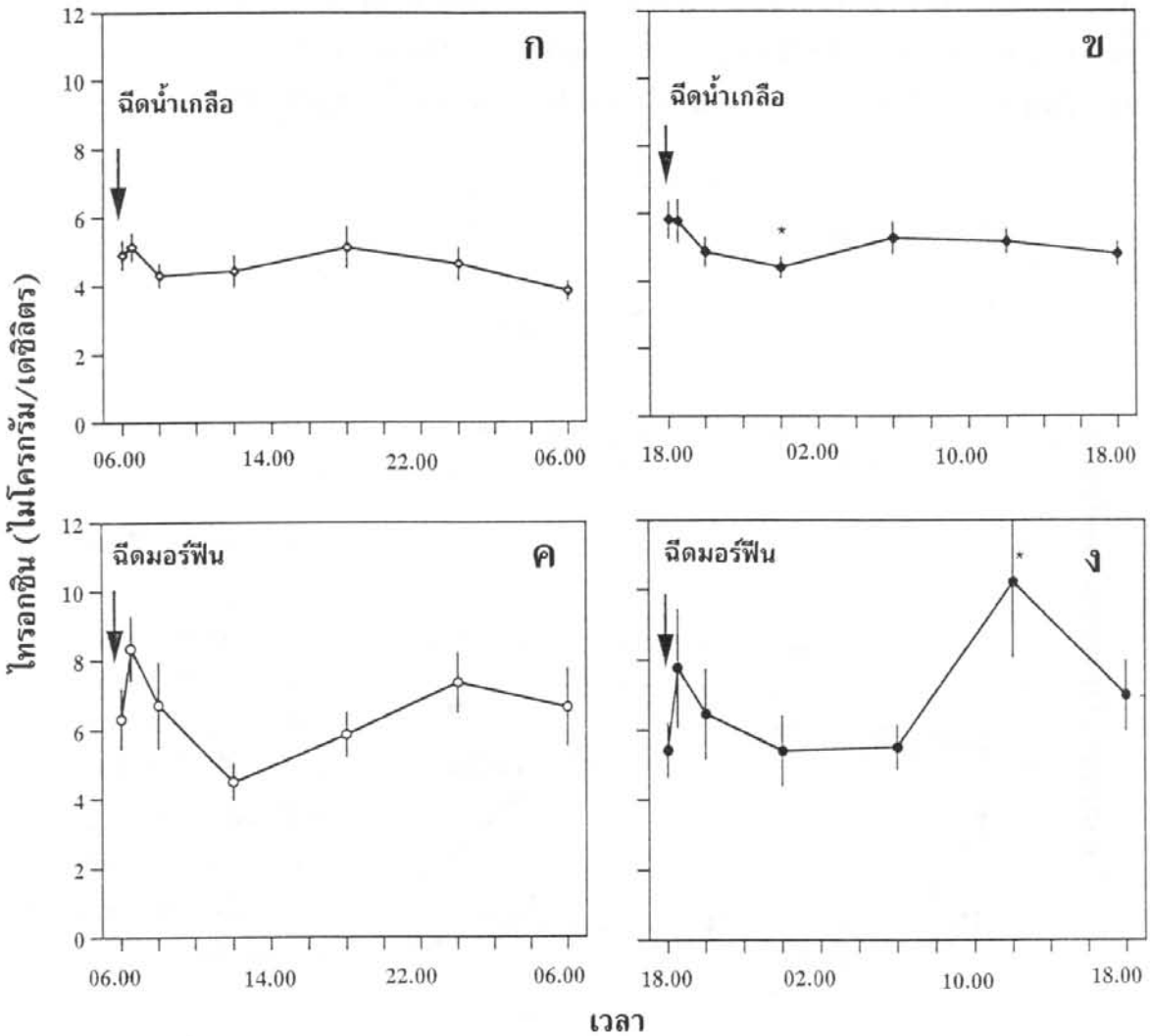
2.3 กลุ่มฉีดมอร์ฟีนเช้า

ระดับฮอร์โมนไทรอกซินในหนูแรทกลุ่มฉีดมอร์ฟีนเช้ามีค่าสูงสุดที่เวลา 06.30 น. และ 24.00 น. (0.5 และ 18 ชั่วโมงหลังจากฉีดมอร์ฟีน) ตามลำดับ และมีค่าต่ำสุดที่เวลา 12.00 น. (6 ชั่วโมงหลังฉีดมอร์ฟีน) เมื่อเปรียบเทียบระดับฮอร์โมนไทรอกซินที่ได้จากการเจาะเลือดที่เวลา 06.00 น. ในครั้งแรก หรือที่ 0 ชั่วโมงหลังจากฉีดมอร์ฟีน กับช่วงเวลาต่าง ๆ คือ 0.5, 2, 6, 12,

18 และ 24 ชั่วโมงหลังฉีดมอร์ฟีน ตามลำดับ พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ที่เวลาต่าง ๆ (ตารางที่ 1, รูปที่ 2 ค)

2.4 กลุ่มฉีดมอร์ฟีนเย็น

ระดับฮอร์โมนไทรอกซินในหนูแรทกลุ่มฉีดมอร์ฟีนเย็นมีค่าสูงสุดที่เวลา 12.00 น. (18 ชั่วโมงหลังจากฉีดมอร์ฟีน) และมีค่าต่ำสุดที่เวลา 24.00 น. (6 ชั่วโมงหลังฉีดมอร์ฟีน) เมื่อเปรียบเทียบระดับฮอร์โมนไทรอกซินที่ได้จากการเจาะเลือดที่เวลา 18.00 น. ในครั้งแรก หรือที่ 0 ชั่วโมงหลังจากฉีดมอร์ฟีน กับช่วงเวลาต่างๆ คือ 0.5, 2, 6, 12, 18 และ 24 ชั่วโมงหลังฉีดมอร์ฟีน ตามลำดับ พบว่าที่ 18 ชั่วโมงหลังฉีดมอร์ฟีนมีค่าสูงกว่าที่ 0 ชั่วโมงหลังฉีดมอร์ฟีนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.037$) (ตารางที่ 1, รูปที่ 2 ง)



รูปที่ 2 แสดงระดับฮอร์โมนไทรอกซินในหนูแรทกลุ่มควบคุมเช้า (ก) กลุ่มควบคุมเย็น (ข) กลุ่มมอร์ฟีนเช้า (ค) และกลุ่มมอร์ฟีนเย็น (ง) ภายหลังจากได้รับน้ำเกลือหรือมอร์ฟีนทางใต้ผิวหนัง ตามลำดับ (*= $p<0.05$ เมื่อเปรียบเทียบระดับฮอร์โมนไทรอกซิน ที่เวลา 0 ชั่วโมง กับที่เวลาต่างๆ ของแต่ละการทดลอง)

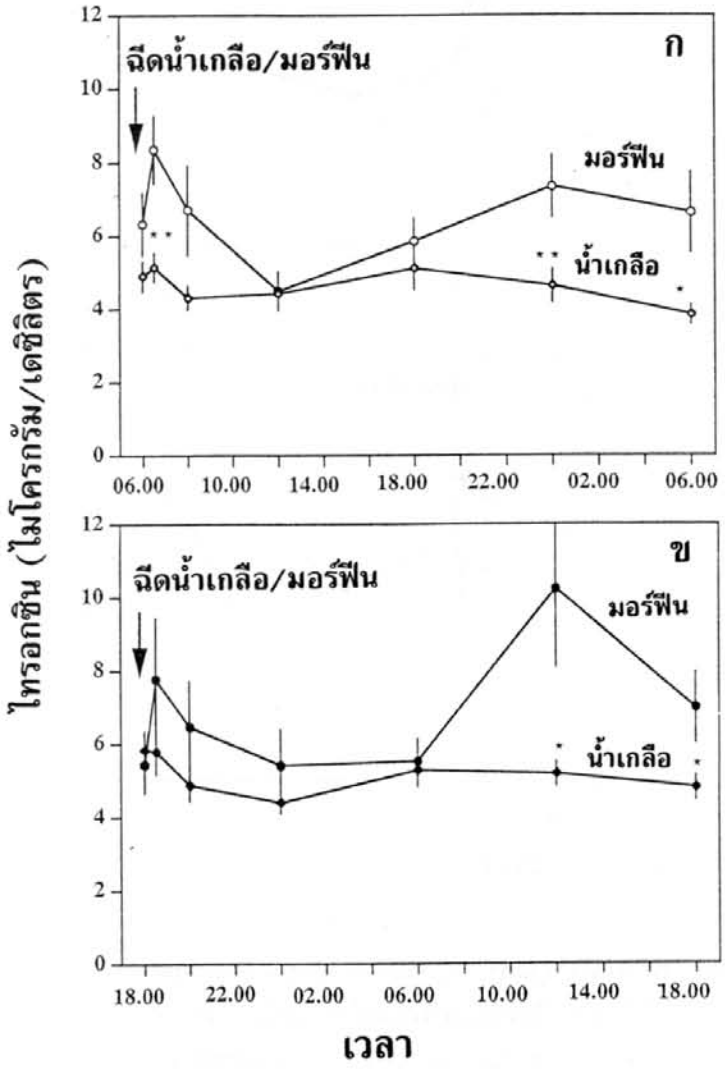
3. เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงระดับฮอร์โมนไทรอกซินระหว่างกลุ่มฉีดมอร์ฟีนและกลุ่มควบคุม

3.1 กลุ่มฉีดมอร์ฟีนเช้าและกลุ่มควบคุมเช้า

เมื่อเปรียบเทียบระดับฮอร์โมนไทรอกซินระหว่างกลุ่มฉีดมอร์ฟีนเช้าและกลุ่มควบคุมเช้า พบว่าระดับฮอร์โมนในกลุ่มฉีดมอร์ฟีนเช้ามีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุมเช้าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($0.016 \leq p \leq 0.0035$) ที่เวลา 06.30 น. (หรือที่ 30 นาทีหลังจากฉีดมอร์ฟีน) 24.00 น. (หรือที่ 18 ชั่วโมงหลังจากฉีดมอร์ฟีน) และ 06.00 น. ครั้งที่ 2 (หรือที่ 24 ชั่วโมงหลังจากฉีดมอร์ฟีน) ตามลำดับ (รูปที่ 3ก)

3.2 กลุ่มฉีดมอร์ฟีนเย็นและกลุ่มควบคุมเย็น

เมื่อเปรียบเทียบระดับฮอร์โมนไทรอกซินระหว่างกลุ่มฉีดมอร์ฟีนเย็นและกลุ่มควบคุมเย็น พบว่าระดับฮอร์โมนในกลุ่มฉีดมอร์ฟีนเย็นมีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุมเย็นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่เวลา 12.00 น. (หรือที่ 18 ชั่วโมงหลังจากฉีดมอร์ฟีน) และเวลา 18.00 น. ครั้งที่ 2 (หรือที่ 24 ชั่วโมงหลังจากฉีดมอร์ฟีน) ($p = 0.034$ และ 0.032 ตามลำดับ) (รูปที่ 3ข)



รูปที่ 3 เปรียบเทียบระดับฮอร์โมนไทรอกซินในหนูแรทระหว่างกลุ่มมอร์ฟีนเช้าและกลุ่มควบคุมเช้า (ก) และระหว่างกลุ่มมอร์ฟีนเย็นและกลุ่มควบคุมเย็น (ข) ตามลำดับ (*= $p<0.05$ และ **= $p<0.01$ เมื่อเปรียบเทียบระดับฮอร์โมนไทรอกซิน ณ จุดเวลาเดียวกัน ระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มฉีดมอร์ฟีน ซึ่งให้ยาที่เวลาเดียวกัน)

ตารางที่ 1 แสดงระดับฮอร์โมนไทรอกซินในหนูแรทกลุ่มควบคุมเช้าและเย็น ที่ได้รับน้ำเกลือ และกลุ่มมอร์ฟีนเช้าและเย็น ที่ได้รับมอร์ฟีนขนาด 10 มก./กก. ทางใต้ผิวหนังตามลำดับ

เวลาที่เจาะเลือดหลังจากฉีดน้ำเกลือหรือมอร์ฟีน (ชั่วโมง)	ระดับฮอร์โมนไทรอกซิน (ไมโครกรัม/เดซิลิตร)			
	กลุ่มควบคุมเช้า	กลุ่มควบคุมเย็น	กลุ่มมอร์ฟีนเช้า	กลุ่มมอร์ฟีนเย็น
0	4.90±0.39 (06.00 น.)	5.71±0.55 (18.00 น.)	5.71±0.83 (06.00 น.)	5.43±0.75 (18.00 น.)
0.5	5.14±0.42 (06.30 น.)	5.74±0.62 (18.30 น.)	8.35±0.91 [b] (06.30 น.)	6.28±1.07 (18.30 น.)
2	4.30±0.33 08.00 น.)	4.87±0.46 (20.00 น.)	6.71±1.28 (08.00 น.)	6.45±1.26 (20.00 น.)
6	4.43±0.44 (12.00 น.)	4.40±0.31 [*] (24.00 น.)	4.49±0.54 (12.00 น.)	5.40±0.97 (24.00 น.)
12	5.11±0.58 (18.00 น.)	5.27±0.45 (06.00 น.)	5.85±0.61 (18.00 น.)	5.51±0.61 (06.00 น.)
18	4.63±0.50 (24.00 น.)	5.17±0.34 (12.00 น.)	7.34±0.85 [b] (24.00 น.)	8.69±1.65 [*,a] (12.00 น.)
24	3.84±0.26 (06.00 น.)	4.80±0.34 (18.00 น.)	6.63±1.09 [b] (06.00 น.)	6.97±1.04 [a] (18.00 น.)

หมายเหตุ: ตัวเลขในวงเล็บแสดงถึงเวลาในรอบวันที่ทำการทดลอง

* = $p<0.05$ เมื่อเปรียบเทียบระดับฮอร์โมน T_4 ที่เวลา 0 ชั่วโมงกับที่เวลาต่าง ๆ ของแต่ละการทดลอง

a และ b = $p<0.05$ และ $p<0.01$ เมื่อเปรียบเทียบระดับฮอร์โมน T_4 ณ จุดเวลาเดียวกัน ระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มฉีดมอร์ฟีน ซึ่งให้ยาที่เวลาเดียวกัน

วิจารณ์

ในหนูแรทกลุ่มควบคุมเช้าและเย็น ฮอร์โมนไทรอกซินมีค่าสูงที่ 0.5 ชั่วโมงหลังฉีดน้ำเกลือ (ที่เวลา 06.30 น. ในกลุ่มควบคุมเช้า และที่เวลา 18.30 น. ในกลุ่มควบคุมเย็น) และค่าฮอร์โมนไทรอกซินที่ได้จากการเจาะเลือดที่จุดแรก (0 ชั่วโมงหลังจากฉีดน้ำเกลือ) สูงกว่าค่าที่ได้จากการเจาะเลือดที่เวลาเดียวกันในครั้งที่ 2 (24 ชั่วโมงหลังจากฉีดน้ำเกลือ) ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากความเครียดที่หนูแรทได้รับจากการเจาะเลือด (Herndon *et al.*, 1984) หรือฉีดน้ำเกลือ ในช่วงแรก ๆ ของการทดลอง จึงทำให้ไทรอกซินมีค่าสูง (ที่ 0 และ 0.5 ชั่วโมงหลังจากฉีดน้ำเกลือ) หลังจากนั้นหนูแรทสามารถปรับตัวต่อการทดลองได้ ทำให้ค่าของฮอร์โมนไทรอกซินลดลง (ที่ 24 ชั่วโมงหลังจากฉีดน้ำเกลือ) ซึ่งลักษณะการปรับตัวต่อความเครียดนี้ จะเห็นได้ในกรณีที่ติดตามศึกษาในสัตว์ตัวเดียวกันอย่างต่อเนื่องและเป็นเวลานาน (เช่นประมาณ 24 ชั่วโมงในการศึกษานี้) ถ้าหากศึกษา

เป็นระยะเวลาสั้น ๆ หรือไม่ได้ติดตามศึกษาในสัตว์ตัวเดียวกัน อาจจะไม่เห็นการเปลี่ยนแปลง ดังเช่นการทดลองของ Langer และคณะ (1980) ได้ตรวจวัดไทรอกซินในหนูแรทที่เวลา 0, 15 และ 60 นาที ภายหลังจากที่ฉีดน้ำเกลือเข้าช่องท้อง โดยทำการเก็บเลือดโดยวิธีตัดคอ (decapitation) พบว่าระดับฮอร์โมนไทรอกซินที่เวลาต่าง ๆ ไม่แตกต่างกัน

ค่าฮอร์โมนไทรอกซินในหนูแรทกลุ่มควบคุมเช้าและเย็น จะมีค่าสูงสุดที่เวลา 18.00 น. และต่ำสุดที่เวลา 24.00 น. และ 06.00 น. ซึ่งสอดคล้องกับพฤติกรรมของหนูแรทที่เป็นสัตว์ที่มีกิจกรรมต่าง ๆ ในตอนกลางคืน (nocturnal animal) (Ahlersova *et al.*, 1997) และสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Jordan และคณะ ในปี ค.ศ. 1980 ที่รายงานว่าฮอร์โมนไทรอกซินในหนูแรทปกติจะมีค่าสูงสุดที่เวลา 17.00 น.และมีค่าต่ำสุดที่เวลา 02.00 น. แต่ช่วงเวลาในการเปลี่ยนแปลงของระดับฮอร์โมนไทรอกซินอาจแตกต่างกันบ้างเพราะระยะห่างของเวลาที่ใช้ในการเจาะเลือดและช่วงเวลาที่ให้แสงสว่างแก่หนูแรท (dark-light period) แตกต่างกัน ในการทดลองนี้หนูแรทได้รับแสงสว่าง 14 ชั่วโมง (06.00-20.00 น.) และมืด 10 ชั่วโมง (20.00-06.00 น.) ในขณะที่การทดลองของ Jordan และคณะ (1980) หนูแรทได้รับแสงสว่าง 12 ชั่วโมง (07.00-19.00 น.) และมืด 12 ชั่วโมง (19.00-07.00 น.) ผลการศึกษาในหนูแรทครั้งนี้ตรงกันข้ามกับผลการศึกษาในคนของ Lucke และคณะ (1977) ซึ่งพบว่าคนปกติมีระดับฮอร์โมนไทรอกซินสูงสุดที่เวลา 08.00-12.00 น. และต่ำสุดที่เวลา 23.00-03.00 น. ซึ่งสอดคล้องกับพฤติกรรมของคนที่มักจะมีกิจกรรมต่าง ๆ ในตอนกลางวัน (diurnal animal)

สำหรับผลของมอร์ฟีนต่อการหลั่งฮอร์โมนไทรอกซิน เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม พบว่าระดับฮอร์โมนไทรอกซินมีการแกว่งไกวโดยมีค่าเพิ่มสูงขึ้น 2 ช่วงคือ 1) 0.5 ชั่วโมงหลังฉีดมอร์ฟีน (หรือที่เวลา 06.30 น.) ในกลุ่มฉีดมอร์ฟีนเช้า จึงจัดเป็นผลกระตุ้นระยะสั้น (short-term stimulatory effect) ของมอร์ฟีน และ 2) 18 ชั่วโมงหลังฉีดมอร์ฟีน (ที่เวลา 24.00 น. ในกลุ่มมอร์ฟีนเช้า และ เวลา 12.00 น. ในกลุ่มมอร์ฟีนเย็น) จึงจัดเป็นผลกระตุ้นระยะยาว (long-term stimulatory effect) ของมอร์ฟีน ซึ่งการเปลี่ยนแปลงของระดับฮอร์โมนไทรอกซิน ที่ 0.5 ชั่วโมงหลังจากฉีดมอร์ฟีนนั้น จะเริ่มกลับสู่สภาวะปกติที่เวลาประมาณ 2 ชั่วโมงหลังจากฉีด อย่างสอดคล้องกันกับการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของหนูแรท คือหนูแรทจะมีอาการตัวแข็งเกร็ง นอนนิ่งไม่เคลื่อนไหว หายใจช้าลง (Kitahata and Collins, 1982) และผลของมอร์ฟีนต่อการหลั่งฮอร์โมนไทรอกซิน ที่ 0.5 ชั่วโมง สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Tal และคณะ (1984) ที่ให้มอร์ฟีนในขนาด 1, 5, และ 10 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ในหนูแรท พบว่าฮอร์โมนไทรอกซินเพิ่มสูงขึ้นที่ 15 และ 30 นาที และสู่ระดับปกติที่เวลา 60 นาที Tal และคณะ สรุปว่าการเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วของไทรอกซินนี้ น่าจะเป็นผลของมอร์ฟีนต่อต่อมไทรอยด์โดยตรง (direct effect) พร้อม ๆ กับที่มีผลยับยั้งการหลั่งไทโรโทนฟิน (TSH) โดยมีผลผ่าน hypothalamic-pituitary-thyroidal axis และในปี ค.ศ. 1986 Tal และ คณะ ได้ทำการทดลองในหลอดทดลองโดยให้มอร์ฟีนขนาด 5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ต่อต่อมไทรอยด์โดยตรงนาน 2 ชั่วโมง พบว่าไทรอกซินเพิ่มสูงขึ้น สำหรับ

การเพิ่มสูงขึ้นของมอร์ฟีนที่เวลา 18 ชั่วโมงหลังฉีดมอร์ฟีน พบว่าให้ผลต่างจากการทดลองของ Berglund และคณะ (1990) ที่เมื่อฝังมอร์ฟีนขนาด 75 มิลลิกรัมใต้ผิวหนังหนูแรท พบว่าทำให้ไทรอกซินลดลงที่เวลา 12-24 ชั่วโมง ซึ่งความแตกต่างดังกล่าวอาจเนื่องมาจากวิธีการให้มอร์ฟีนต่อหนูแรทที่ต่างกัน

การเพิ่มสูงขึ้นของฮอร์โมนไทรอกซินในเวลาครึ่งชั่วโมงหลังฉีด พบค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากกลุ่มควบคุม เฉพาะในกลุ่มฉีดมอร์ฟีนเช้าเท่านั้น ในขณะที่การเพิ่มสูงขึ้นของฮอร์โมนไทรอกซินที่เวลา 18.00 ชั่วโมงหลังฉีด จะพบค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากกลุ่มควบคุม ทั้งในกลุ่มฉีดมอร์ฟีนเช้าและเย็น แสดงให้เห็นว่าการตอบสนองของไทรอกซินต่อมอร์ฟีนที่เวลาครึ่งชั่วโมงหลังฉีด ขึ้นอยู่กับการเปลี่ยนแปลงของระดับฮอร์โมนในรอบวัน ในขณะที่การตอบสนองที่ 18.00 ชั่วโมงหลังฉีด ไม่ขึ้นกับการเปลี่ยนแปลงของระดับฮอร์โมนในรอบวัน

จากการทดลองนี้สามารถสรุปได้ว่า

1. การให้น้ำเกลือมีแนวโน้มที่จะทำให้ไทรอกซินเพิ่มสูงขึ้นภายในครึ่งชั่วโมงหลังฉีดแต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในการทดลองนี้
2. เมื่อเปรียบเทียบภายในกลุ่มควบคุมที่ให้น้ำเกลือ พบว่า ณ เวลาเดียวกันในการเจาะเลือด คือ 06.00 น. ในกลุ่มควบคุมเช้า และ 18.00 น. ในกลุ่มควบคุมเย็น ระดับฮอร์โมนไทรอกซินที่วัดได้จากการเจาะเลือดครั้งสุดท้ายมีแนวโน้มต่ำกว่าในครั้งแรก ซึ่งแสดงว่าสัตว์มีการปรับตัวในการตอบสนองต่อการทดลอง
3. ในกลุ่มควบคุมที่ให้น้ำเกลือ ฮอร์โมนไทรอกซินมีค่าสูงสุดที่เวลา 18.00 น. และต่ำสุดที่เวลา 24.00 น. และ 06.00 น. ซึ่งสอดคล้องกับพฤติกรรมของหนูแรทที่เป็นสัตว์ที่มีกิจกรรมต่าง ๆ ในตอนกลางคืน
4. มอร์ฟีนมีผลเพิ่มระดับฮอร์โมนไทรอกซิน ในเวลาครึ่งชั่วโมงหลังฉีด (short-term stimulatory effect) เมื่อให้มอร์ฟีนในช่วงเช้าเท่านั้น หรือกล่าวอีกนัยหนึ่งก็คือ ผลระยะสั้นของมอร์ฟีนต่อไทรอกซินจะขึ้นอยู่กับการเปลี่ยนแปลงของระดับฮอร์โมนไทรอกซินในรอบวัน
5. มอร์ฟีนมีผลเพิ่มระดับฮอร์โมนไทรอกซิน ที่ 18 ชั่วโมงหลังฉีด (long-term stimulatory effect) โดยไม่ขึ้นกับการเปลี่ยนแปลงของระดับฮอร์โมนไทรอกซินในรอบวัน

ดังนั้นในการทดลองใด ๆ ที่ต้องการศึกษาผลของมอร์ฟีนต่อการเปลี่ยนแปลงของฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมตาโบลิสม เช่น ไทรอกซิน การแปลผลหรือออกแบบการทดลองจะต้องคำนึงถึงผลกระทบจากความเครียดที่สัตว์ทดลองได้รับในขณะทดลอง และการแกว่งไกวของฮอร์โมนภายในหนึ่งรอบวัน (circadian rhythm) ของสัตว์ทดลองนั้น ๆ ที่อาจมีผลกระทบต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับฮอร์โมนในการทดลองนั้น ๆ ด้วยเช่นกัน

เอกสารอ้างอิง

Alhlersova E., Ahler I., Kassayova M. and Smajda B. 1997. Circadian oscillations of serum thyroid hormones in the laboratory rat: the effect of photoperiods. Physiol Res 46:443-449.

Bhargava HN., Das S., Bansinath M., Prasad R. 1989. The binding of 3H-(3-MeHis2) thyrotropin releasing hormone to brain and pituitary membranes of morphine tolerant-dependent and abstinent rats. Pharmacol Biochem Behav 34:7-12.

Berglund LA., Millard WJ., Gabriel SM. and Simpkins JW. 1990. Opiate-thyroid hormone interactions in the regulation of thyrotropin secretion in the rat. Neuroendocr 52:303-308.

Devilla V., Pende A., Morganno A., Giusti M., Musso NR. and Lotti G. 1985. Morphine-induced TSH release in normal and hypothyroid subjects. Endocrinology. 40: 303-308.

Greenspan FS. 1991. Basic and Clinical Endocrinology (3rd). Prentice-Hall International Inc., London.

Herndon JG., Turner TT., Perachio AA., Blank MS. and Collins DC. 1984. Endocrine changes induced by venipuncture in rhesus monkeys. Physiol Behav 34:673-676.

Ho WKK., Wen HL., Fung KP., Ng YH., Au KK. and Ma L. 1977. Comparison of plasma hormonal levels between heroin-addicted and normal subjects. Clinica Chimica Acta 75: 415-419.

Jordan D., Rousset B., Perrin E., Fournier M. and Orgiazzi J. 1980. Evidence for circadian variation in serum thyrotropin, 3,5,3'-triiodothyronine, and thyroxine in rat. Endocrinology 170:1245-1248.

Judd AM., Hedge GA. 1982. The roles of the opioid peptides in controlling thyroid stimulating hormone release. Life Sci 31: 2529-2536.

Kitahata LM., Collins JG. 1982. *Narcotic Analgesics in Anesthesiology*. Williams & Wilkins, London.

Langer P., Foldes O., Brozmanova H. and Gschwendtova K. 1980. Studies on the effect of pentobarbiturate, ether and heparin on plasma thyroxine level in rats. Endokrinologie 76:309-14

Lucke C., Hehrmann R., von Mayerbach K. and von Zur Muhlen A. 1977. Study on circadian variations plasma TSH, thyroxine and triiodothyronine in man. Acta Endocrinol 86:81-88.

Mannisto PT., Rauhala P., Tuominen R. and Mattila J. 1984. Dual action of morphine on cold-stimulated thyrotropin secretion in male rats. Life Sci 35: 1101-1107.

Morley JE. 1981. The endocrinology of the opiates and opioid peptides. Metabolism 30: 195-209.

Muraki T., Nakadate T., Tokunaka Y. and Kato R. 1980. Effect of morphine on the release of thyroid-stimulating hormone stimulated by exposure to cold, thyroidectomy and the administration of thyrotrophin releasing hormone in male rats. J Endocr 86: 357-362.

Rauhala P., Mannisto PT. and Touminen RK. 1988. Effect of chronic morphine treatment on thyrotropin and prolactin levels and acute hormone responses in the rat. J Pharm Exp Ther 246: 649-654.

Rossier J., Pittman Q., Bloom F. and Guillemin R. 1980. Distribution of opioid peptides in the pituitary: a new hypothalamic-pars nervosa enkephalinergic pathway. Fed Proc 39: 2555-2560.

Stoelting RK. 1980. Opiate receptors and endorphins: their role in anesthesiology. Anesthesia and Analgesia. 59: 874-880.

Tal E., Koranyi L., Kovacs Z. and Endroczi E. 1984. Short-term effect of morphine on the thyroid gland in male rats. Acta Endocrinol 105:511-514.

Tal E., Kovacs Z., Koranyi L. and Endroczi E. 1986. Morphine induced thyroxine release from rat thyroid gland in vitro. Horm Metab Res 18:238-240.

Van Vugt DA. and Meite J. 1980. Influence of endogenous opiates on anterior pituitary function. Fed Proc 39: 25333-2538.

Wardlaw SL., Wehrenberg WB., Ferin M., Carmel PW. and Frantz AG. 1980. High levels of β-endorphin in hypophyseal portal blood. Endocrinology 106: 1323-1326.