مطالعه اثرات تزریق مرفین بر ساختمان میکروسکوپیک جفت در موش

علیرضا محمودیان[1]- مختار جعفرپور[2]- سیدحسن علوی[1]
حسن مفیدپور[2]- علیرضا ابراهیم‌زاده[3]

چکیده

زمینه و هدف: مصرف مواد مخدر در دوران بارداری احتمال سقط جنین را افزایش می‌دهد؛ اما این که مواد مخدر با چه مکانسیمی باعث افزایش سقط جنین می‌شود، هنوز به صورت یک سؤال باقی است. یکی از مکانیسم‌های احتمالی، افزایش سقط جنین، تغییرات ساختاری جفت به دنبال مصرف مواد مخدر می‌باشد. این پژوهش با هدف تعیین تغییرات هیستولوژیک جفت به دنبال مصرف مرفین انجام شد.

روش تحقیق: به منظور انجام این پژوهش ۴۰ سر موش ماده دو ماهه نژاد Balb/c با وزن تقریبی ۳۵-۳۰ گرم تحت شرایط استاندارد اتاق حیوانات به طور تصادفی به چهار گروه ده تایی، شامل دو گروه تجربی و دو گروه شاهد تقسیم شدند. با قرار دادن این موش‌ها در معرض موش‌های نر و رویت واژینال پلاک روز صفر حاملگی مشخص گردید. گروه تجربی ۱، به مدت ده روز و گروه تجربی ۲ به مدت پانزده روز، روزانه به میزان ۱۰ میلی گرم مرفین به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت داخل صفاقی دریافت نمودند. گروههای شاهد، مطابق الگوی فوق، سرم فیزیولوژی به جای محلول مرفین دریافت نمودند. بعد از طی مدتهای فوق، موش‌های گروه شاهد و گروه تجربی بیهوش و جفت آنها از رحم خارج گردید و پس از ثبوت و پاساژ بافتی، برشهایی به ضخامت ۵ میکرون تهیه گردید و با هماتوکسیلین - ائوزین (H&E) رنگ‌آمیزی شدند؛ سپس نمونه‌ها با میکروسکوپ نوری مورد مطالعه و بررسی قرارگرفتند و از موارد انتخابی تصویر تهیه گردید.

یافته‌ها: در گروه تجربی ۱، تعداد ۲ سر موش در حین بارداری تلف شدند و ۱ مورد سقط جنین مشاهده گردید. در گروه تجربی ۲، تعداد ۴ سر موش در حین بارداری تلف شدند و تعداد سقطها نیز ۲ مورد بود. در گروههای شاهد، مرگ و میر مادری و سقط جنین مشاهده نگردید. مقایسه میزان مرگ و میر مادری و سقط جنین در گروههای مورد تحقیق، اختلاف معنی‌داری را نشان داد ($P<0/05$). دربررسی میکروسکوپیک نمونه‌های گروه تجربی ۱، بی‌نظمی پرزهای جفت قابل توجه بود و تغییرات بافتی به صورت تکثیر فیبروبلاستی در جفت مشاهده گردید. در گروه تجربی ۲، فیبروز شدید بافتی در جفت قابل ملاحظه بود.

نتیجه‌گیری: بر اساس نتایج این تحقیق، مصرف مرفین می‌تواند موجب سقط جنین، مرگ مادری و تغییرات ساختاری در ساختمان میکروسکپیک جفت شود؛ همچنین این تغییرات ساختمانی جفتی می‌تواند موجب سقط جنین و یا عقب‌ماندگی رشد داخل رحمی گردد.

کلید واژه‌ها: جفت؛ موش؛ مرفین؛ تغییرات ساختاری

افق‌دانش؛ مجله دانشکده علوم‌پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی گناباد (دوره ۱۳؛ شماره ۴؛ زمستان سال ۱۳۸۶)

دریافت: ۱۳۸۶/۱۰/۲ اصلاح نهایی: ۱۳۸۷/۳/۱۰ پذیرش: ۱۳۸۷/۳/۲۱

۱- استادیار گروه آموزشی علوم تشریحی و ژنتیک، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد
۲- دانشیار گروه آموزشی علوم تشریحی و ژنتیک، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد
۳- نویسنده مسؤول؛ استادیار گروه آموزشی علوم پایه، دانشکده علوم پزشکی گناباد
آدرس: گناباد- حاشیه جاده آسیایی- دانشکده علوم پزشکی گناباد- گروه علوم پایه
تلفن: ۰۵۳۵-۷۲۲۳۰۲۸ نمابر: ۰۵۳۵-۷۲۲۳۴۰۱ پست الکترونیکی: ebrahimzadeh43@yahoo.com

مقدمه

شیوع اعتیاد به مواد مخدر در جوامع امروزی و بویژه نسل جوان رو به افزایش می‌باشد و آثار مخرب جسمی، روانی و اجتماعی آن گریبان‌گیر بسیاری از جوامع بشری است (۱).

اثرات سوء مصرف مرفین بر عملکرد طبیعی بسیاری از اعضای بدن از جمله جفت گزارش شده است (۵-۲). تحقیقات نشان می‌دهد که مصرف مرفین باعث اختلال در فرایند تکامل جفت می‌گردد (۶)؛ همچنین برخی محققین، اختلالات ترشحی هورمون‌های جفت را به مصرف مرفین نسبت داده‌اند (۷).

گزارشهای متفاوتی در مورد عوارض ناشی از مصرف مرفین بر روی جفت وجود دارد؛ به طوری که اظهار نظر قطعی در این خصوص نیاز به بررسی بیشتری دارد؛ بنابراین باید عوارض حاصل از مصرف مرفین را با مطالعات تجربی بررسی نمود و نیز تغییرات ساختاری ارگان‌های مختلف دخیل در فرایند تولید مثل از جمله جفت را از نظر هیستولوژیکی به دقت مورد مطالعه قرار داد. از طرفی چون مصرف مرفین در برخی جوامع رایج می‌باشد و سقط جنین نیز در این جوامع بطور نگران‌کننده‌ای افزایش یافته است، این احتمال وجود دارد که رابطه‌ای بین میزان مصرف مرفین و افزایش سقط جنین وجود داشته باشد. این واقعیت ما را بر آن داشت تا با استفاده از موشهای آزمایشگاهی، تغییرات احتمالی ساختمان هیستولوژیکی جفت را در پی مصرف مرفین، که تاکنون به طور تجربی و دقیق، کمتر مورد مطالعه قرار گرفته است، بررسی نماییم.

روش تحقیق

در این مطالعه تجربی، تعداد ۴۰ سر موش ماده دو ماهه از نژاد Balb/c با وزن تقریبی ۳۵-۳۰ گرم از بخش حیوانات بیمارستان قائم (عج) وابسته دانشگاه علوم پزشکی مشهد انتخاب شدند و از آنها در شرایط استاندارد (۱۲ساعت نور و ۱۲ساعت تاریکی با دمای محیطی حدود ۲۴ درجه سانتیگراد و آب و غذای کافی) در همان بخش نگهداری شد.

موش‌های ماده در قفسهای سه تایی در معرض موش‌های نر (در هر قفس سه تایی یک موش نر) قرار داده شدند و روز بعد با مشاهده پلاک واژینال روز صفر حاملگی تعیین گردید.

سپس موش‌های حامله به طور تصادفی به دو گروه تقسیم شدند؛ به نحوی که ۲۰ موش در گروه تجربی و ۲۰ موش در گروه شاهد قرار گرفتند.

گروه تجربی خود به دو دسته ده تایی تقسیم شدند که به ده تای اول ۱۰روز و به ده تای دوم ۱۵روز تزریق داخل صفاقی مرفین به میزان روزانه ۱۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن انجام شد (۸). گروه شاهد نیز مشابه گروه تجربی به دو زیرگروه ۱۰ تایی تقسیم شدند و تزریق سرم فیزیولوژی به جای مرفین به همان صورت روش گروه تجربی انجام شد.

برای تهیه دوز مورد نیاز مرفین، ویال‌های ۱ میلی‌لیتر مرفین که حاوی ۱۰۰۰۰ میکروگرم سولفات مرفین بودند با نرمال سالین رقیق گردید؛ به طوری که حجم هر ویال به ۲۲ سی‌سی رسید. از این محلول به میزان ۱ سی‌سی برای تزریق روزانه هر موش برداشته و با استفاده از سرنگ انسولین تزریق انجام گردید.

همان‌طور که ذکر شد موش‌های گروه تجربی ۱ و گروه شاهد ۱ در پایان ده روز تزریق به ترتیب مرفین و سرم فیزیولوژی و گروه تجربی ۲ و گروه شاهد ۲ در پایان پانزده روز تزریق به آزمایشگاه تحقیقاتی گروه علوم تشریحی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مشهد منتقل شدند و تحت بیهوشی با کلرفرم قرار گرفتند؛ سپس جفت‌های آنها خارج گردید و به مدت ۴۸ ساعت در فرمالین ۱۰٪ ثابت شدند؛ سپس به منظور آبگیری نمونه‌ها از الکل‌های مختلف با درجات صعودی عبور داده شدند و پس از قرار گرفتن نمونه‌ها در گزیلل، در مرحله بعدی با استفاده ازپارافین قالب گیری شدند. در هر قالب یک نمونه جای داده شد؛ سپس با استفاده ازمیکروتوم برشهایی به ضخامت ۵ میکرون از هر نمونه تهیه و به روی لام منتقل گردید. نمونه‌ها به روش هماتوکسیلین-ائوزین(H&E) رنگ‌آمیزی شدند و برای مطالعه با میکروسکوپ نوری آماده گردیدند.

با استفاده از میکروسکوپ آموزشی چند نفره در آزمایشگاه تحقیقاتی گروه علوم تشریحی بررسی دقیق نمونه‌ها انجام شد و از موارد انتخابی تصویربرداری گردید.

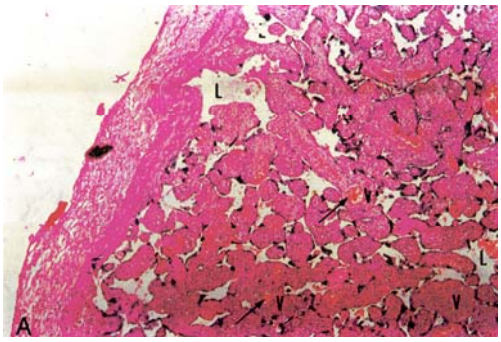
یافته‌ها

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که در موش‌های گروه تجربی ۱، تعداد ۲ سر موش باردار به همراه جنین‌های مربوطه در حین بارداری که مرفین دریافت نمودند، تلف شدند و نیز در

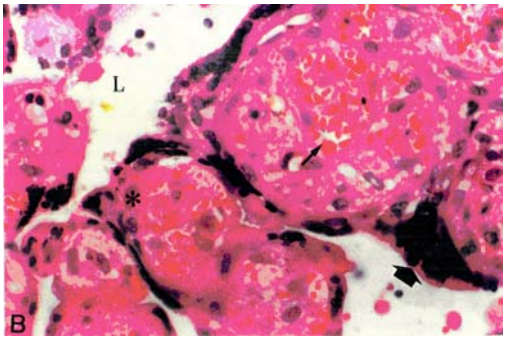
یک مورد از موش‌های گروه تجربی، ۱ سقط جنین مشاهده گردید. در گروه تجربی ۲، تعداد تلفات ۴ و تعداد سقط‌ها، ۲ سر بودند؛ در حالی که در گروههای شاهد هیچ تلفاتی مشاهده نگردید. مقایسه میزان مرگ و میر مادران بین گروههای تجربی و شاهد اختلاف معنی‌داری را نشان داد؛ همچنین مقایسه تعداد جنین‌های سقط شده بین گروههای تجربی و شاهد معنی‌دار بود.

بررسی نمونه‌های میکروسکوپی تهیه شده از جفت موش‌های گروههای تجربی و شاهد، نشان داد که در گروههای شاهد جفتها نمایی کاملاً طبیعی و سالم داشتند (شکل ۱ و ۲)؛ در حالی که در گروههای تجربی چیزی که بیشتر از همه قابل مشاهده بود، از هم گسیختگی پرزهای جفتی و افزایش سلول‌های فیبروبلاست و در نتیجه رشد بافت پیوندی بود؛ به نحوی که درجاتی از متاپلازی و تبدیل آن به بافت فیبروزه قابل مشاهده بود (شکل ۳ و ۴).

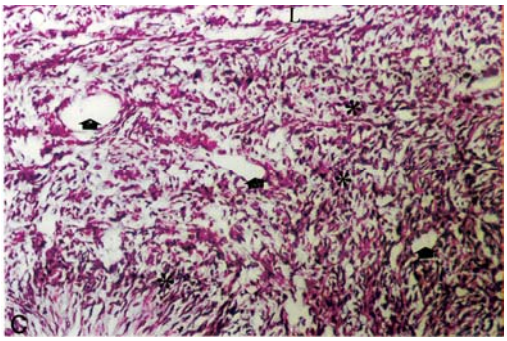
مقایسه نمونه‌های بافتی نشان داد که تغییرات بافتی حاصل از مصرف مورفین وابسته به مدت مصرف بوده است؛ به طوری که در جفتهای گروه تجربی ۱، پرزها از هم گسیخته شده و تغییرات بافتی به صورت تکثیر فیبروبلاستی تقریباً تمام جفت را در برگرفته بود؛ در حالی که در جفتهای گروه تجربی ۲ از هم‌گسیختگی کامل بافت جفت و نیز فیبروز شدید قابل مشاهده بود و این تغییرات متاپلازیک به حدّی بود که در دو مورد از جفتهای گروه تجربی ۲ نکروز به طور منتشر در بافت جفت قابل تشخیص بود؛ همچنین لاکوناها تقریباً از بافت پیوندی پر شده و عروق خونی نمای طبیعی خود را از دست داده بودند (شکل ۴)؛ به نحوی که شرائین بسیار کم به چشم می‌خورد و برخی عروق که ظاهر وریدی داشتند، بیش از حدّ معمول ظاهر شده بودند (شکل ۳ و ۴).



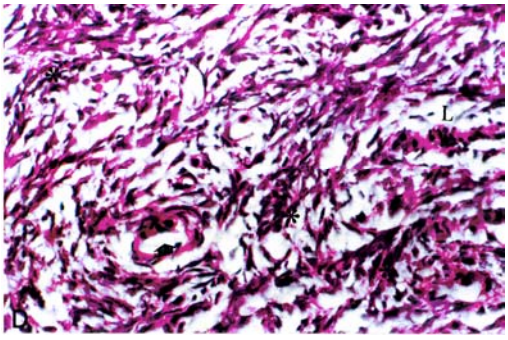
شکل ۱- مقطع میکروسکوپی جفت مربوط به موش‌های گروه شاهد که به مدت ۱۰ روز نرمال سالین دریافت نمودند، با رنگ‌آمیزی H&E و بزرگنمایی ۴۰ × (V= پرز؛ فلش= رگ خونی؛ L = لاکونا)



شکل ۲- مقطع میکروسکوپی جفت مربوط به موش‌های گروه شاهد که به مدت ۱۵ روز نرمال سالین دریافت نمودند، با رنگ‌آمیزی H&E و بزرگنمایی ۴۰۰ × (فلش کوچک= رگ خونی؛ ستاره= سیتوتروفوبلاست؛ L = لاکونا؛ فلش بزرگ= سن سیتوتروفوبلاست)



شکل ۳- مقطع میکروسکوپی جفت مربوط به موش‌های گروه تجربی۱ که به مدت ۱۰ روز مرفین دریافت نمودند، با رنگ‌آمیزی H&E و بزرگنمایی ۱۰۰× (فلش= لاکونا؛ ستاره= تجمع فیبروبلاستی در محور پرزها)



شکل ۴- مقطع میکروسکوپی جفت مربوط به موش‌های گروه تجربی۲ که به مدت ۱۵ روز مرفین دریافت نمودند، با رنگ آمیزیH&E و بزرگنمایی ۲۰۰ برابر (ستاره= تجمع سلول‌های فیبروبلاستی؛ L= لاکونا؛ فلش= پرزهای تخریب شده)

بحث

در مورد آثار سوء مصرف مرفین بر روند بارداری از جمله سقط جنین، گزارشات مختلفی توسط محققین ارائه گردیده است اما دلایل قطعی در مورد تراتوژن بودن آن وجود ندارد؛ از طرف دیگر امکان مطالعه اثرات آنها در مورد انسان خیلی مشکل است. با این وجود مطالعات بر روی حیوانات آزمایشگاهی نشان می‌دهد که نوزادان متولد شده از مادران معتاد، بیشتر از نوزادان متولد شده از مادران غیر معتاد دچار مرگ و میر دوره نوزادی می‌شوند (۵-۲).

در مطالعه حاضر با توجه به ارقامی که در نتایج ذکر گردید، سقط جنین در مادران بارداری که از مرفین به عنوان یک ماده مخدر، استفاده می‌کردند، به طور معنی‌داری افزایش یافته است؛ بنابراین یافته‌های این تحقیق با مطالعات قبلی دراین زمینه همخوانی دارد (۵-۲).

با توجه به نمونه‌های بافتی که از جفتها، به دنبال سقط جنین تهیه گردید و تغییرات بافتی شدیدی که قابل ملاحظه بود (شکل ۳ و ۴)، به نظر می‌رسد یکی از دلایل سقط جنین در مادران معتاد، تغییرات ساختار در جفت باشد. با توجه به این که تغذیه جنین از طریق جفت صورت می‌گیرد و افزایش بافت پیوندی در اطراف پرزها و نکروزی که در بافت جفت به دنبال مصرف مورفین صورت می‌گیرد، موجب افزایش ضخامت سدّ خونی- جفتی می‌شود و در نتیجه تغذیه جنین دچار اختلال شده، مرگ و سقط جنین در پی آن رخ می‌دهد.

تحقیقات نشان می‌دهد که در حیوانات آزمایشگاهی که در دوران بارداری مرفین دریافت نمودند زمان بارداری کاهش یافته و موجب سقط جنین و یا زایمان زودرس می‌شود. در این مطالعه نیز زمان بارداری در گروههای تجربی، در مقایسه با گروه شاهد به طور معنی‌داری کاهش یافت که این یافته نیز با نتایج سایر تحقیقات انجام شده در این زمینه مطابقت دارد (۵-۲). به نظر می‌رسد کوتاهی زمان بارداری احتمالاً با تغییرات بافتی جفت ارتباط داشته باشد.

مکانیسم دیگری که می‌توان برای بیان ارتباط پدیده افزایش سقط جنین و تغییرات بافتی جفت که در نمونه‌ها قابل مشاهده بود، بیان کرد این است که به علت افزایش بافت همبندی که در بافت جفت رخ می‌دهد، علاوه بر این که ضخامت سدّ خونی- جفتی را افزایش می‌دهد و تغذیه جنین را دچار مشکل می‌نماید، موجب سستی پیوند جفت با رحم شده، بتدریج جفت نکروتیک و از جدار رحم جدا می‌گردد؛ بدین ترتیب جفت غیرطبیعی زودتر از معمول عملکرد طبیعی خود را ازدست داده و با ایجاد نقص در تغذیه و تنفس جنینی و جداشدن جفت از جدار رحم سقط صورت می‌گیرد.

نتایج تحقیقات انجام شده بر روی حیوانات آزمایشگاهی نشان می‌دهد که مصرف مرفین در حیوانات باردار موجب کوچک شدن تدریجی لاکوناها می‌شود (۹,۱۰). در تحقیق حاضر نیز اندازه لاکوناهای جفت موش‌های گروههای تجربی در مقایسه با گروه شاهد بشدت تقلیل یافته و کوچک شد که در نتیجه موجب کاهش تدریجی جریان خون و عدم تکثیر طبیعی سلول‌های تروفوبلاستی شد و موجبات تکثیر شدید سلول‌های بافت پیوندی را فراهم آورد که این خود عامل کوچک شدن لاکوناها می‌گردد.

نتایج تحقیقات نشان می‌دهد که میزان مرگ و میر نوزادان مادران معتاد در مقایسه با مادران غیر معتاد به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد (۱۴-۱۱). نتایج تحقیق حاضر نیز نشان می‌دهد که میزان مرگ و میر نوزادی در گروههای تجربی در مقایسه با گروههای شاهد به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد. این پدیده احتمالاً به علت آثار سوء مصرف مرفین بر بافتهای بدن نوزاد از جمله مغز و عدم توانایی در خوردن شیر مادر بروز می‌کند. در مواردی نیز نقص سیستم عصبی در نوزادان متولد شده از مادران معتاد گزارش شده است (۱۵)؛ بنابراین یکی از علل مرگ جنین‌ها و نوزادان مادران معتاد احتمالاً اشکال در سیستم عصبی و برخی سیستم‌های دیگر بدن می‌باشد.

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج این تحقیق، مصرف مرفین می‌تواند موجب سقط جنین، مرگ مادری و تغییرات ساختاری در ساختمان میکروسکپیک جفت شود؛ همچنین این تغییرات ساختمانی جفتی می‌تواند موجب سقط جنین و یا عقب‌ماندگی رشد داخل رحمی شود.

References:

1- Cooper J, Jauniaux E, Gulbis B, Quick D, Bromley L. Placental transfer of fentanyl in early human pregnancy and its detection in fetal brain. Br J Anaesth. 1999; 82 (6): 929-31.

2- Kanhai HH, Keirse MJ. Low-dose sulprostone for pregnancy termination in cases of fetal abnormality. Prenat Diagn. 1993; 13 (2): 117-21.

3- Bazzani C, Arletti R, Bertolini A. Pain threshold and morphine activity in Vitamin D- deficient rat: Life Sci. 1984; 34 (5): 461-66.

4- Kovács L, Herczeg J, Szabó L. Premedication and pain relief with Nubain during second trimester therapeutic pregnancy terminations. Int J Gynaecol Obstet. 1993; 40 (1): 51-58.

5- Hubbell KC. Opiates and narcotics, In: Haddad LM, Winchester JF. Clinical management of poisoning and drug overdose. 2nd ed. Philadelphia: WB. Saunders; 1990: 711-14.

6- Corpening JW, Doerr JC, Kristal MB. Ingested placenta blocks the effect of morphine on gut transit in long- evans rats. Brain Res. 2004; 1016 (2): 217-221.

7- Corpening TW, Doerr JW, Kristal JC. Ingested bovine amniotic fluid enhances morphine antinociception in rats. Physiol Behav. 2000; 70 (1-2): 15-18.

8- Ernest A. Kopecky, Carmine Simone, Brenda Knie, Gideon Koren. Transfer of morphine across the human placenta and its interaction with naloxone. Life Sciences. 1999; 65 (22): 2359-71.

9- Largeaud M, El Guindi W, Perotti F, Montoya Y, Carles G, Seve B. Medical termination of pregnancy at 9-14 weeks gestation. Prospective study of 105 cases in Saint-Laurent-du-Maroni (French Guyana) J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris). 2004; 33 (2): 119-24.

10- Abbott P, Thompson AC, Ferguson EJ, Doerr JC, Tarapacki JA, Kostyniak PJ, et al. Placental opioid-enhancing factor (POEF): Generalizability of effects. Physiol Behav. 1991; 50: 933-40.

11- Zagon IS, Zagon E, McLaughlin PJ. Opioids and the developing organism: A comprehensive bibliography, Neuroscience & Biobehavioral Reviews. 1989; 13 (4): 207-235.

12- Tarapacki JA, Piech M, Kristal MB. Ingestion of Amniotic fluid by postpartum rats enhances morphine antinocicption without liability to maternal behavior. Physiol Beha, 1995; 57 (2): 209-212.

13- Robinson TM, Vanderwerf D, Dipirro JM, Caggiula AR, Kristal MB. The analgesia- enhancing component of ingested amniotic fluid does not affect nicotine- induced antiociception in naltrexone treated rats. Pharmacol Biochem Behavior. 1997; 58 (1): 147-51.

14- Kristal MB, Thompson AC, Heller SB, Barry R, Komisaruk BR. Placenta ingestion enhances analgesia produced by vagional. Cervical stimulation in rats. Physiol Behav. 1986; 36 (6): 1017-20.

15- Kristal MB, Abbott P, Thompson AC. Dose-dependent enhancement of morphine-induced analgesia by ingestion of amniotic fluid and placenta. Pharmacol Biochem Behavior. 1988; 31 (2): 351-56.