

تحقیقی

تأثیر مرفین بر ساختار هیستوپاتولوژیک کبد موش بالغ

دکتر حسن مفیدپور

استادیار گروه علوم تشریحی دانشگاه علوم پزشکی مشهد

دکتر سید حسن علوی

استادیار گروه علوم تشریحی دانشگاه علوم پزشکی مشهد

دکتر سید عباس طباطبائی یزدی

استادیار گروه علوم آسیب‌شناسی دانشگاه علوم پزشکی مشهد

دکتر مختار جعفرپور

استادیار گروه علوم تشریحی دانشگاه علوم پزشکی مشهد

نویسنده مسؤل: دکتر حسن مفیدپور

پست الکترونیکی: hmofidpoor@yahoo.com

نشانی: مشهد، خیابان دانشگاه، دانشکده پزشکی

گروه علوم تشریحی، بخش بافت شناسی

تلفن: ۰۵۱۱-۸۵۴۴۰۸۱-۳

نمابر: ۸۵۹۱۹۲۲

وصول مقاله: ۸۴/۲/۵

اصلاح نهایی: ۸۴/۲/۱۵

پذیرش مقاله: ۸۴/۹/۴

چکیده

زمینه و هدف: مرفین از دسته داروهای ضد درد مخدر علاوه بر خاصیت ضد درد دارای اثراتی روی ساختار بدن است. این مطالعه به منظور بررسی مرفین روی ساختار کبد موش صحرایی انجام شد.

روش بررسی: در این تحقیق تعداد ۲۰ سر موش نر نژاد Balb/C در دو گروه ده تایی کنترل و آزمایش استفاده شد. به گروه آزمایش ۱۵ mg/kg مرفین به صورت داخل صفاقی روزانه یک نوبت به مدت ۲۱ روز تزریق شد. به گروه کنترل به همان حجم روزانه نرمال سالین تزریق شد. در روز بیست و دوم کبد موش‌ها با استفاده از بیهوشی عمومی خارج و به روش معمولی هیستوپاتولوژیک لام تهیه و به طریق H&E رنگ‌آمیزی و مورد مطالعه میکروسکوپی قرار گرفت.

یافته‌ها: نکروز کانون‌های کوچک با انقباض سبب آماسی پلی‌مورف و هسته‌های نکروتیک نشان از بروز هیپاتیت مزمن فعال در گروه‌های آزمونی دیده شد. همچنین تجمع قطرات ریز چربی در سیتوپلاسم هیپاتوسیت‌ها بروز استئاتوز میکروویکولار و همچنین التهاب در اطراف عروق و فضای پورت را نشان داد. هیچ‌گونه تغییری در نمونه‌های گروه شاهد دیده نشد. نتیجه گیری: مصرف مرفین می‌تواند اختلالات ساختاری در کبد ایجاد نماید.

کلید واژه‌ها: موش - مرفین - هیپاتیت - هیپاتوسیت

مقدمه

مرفین با فرمول شیمیایی C16H19NO3 جزء موثر تریاک است که دارای اثرات داروئی مطلوب چون ایجاد بی‌دردی، آرام‌بخشی، نشاط، سرکوب رفلکس سرفه و تأثیرات مثبت بر بسیاری از اندام‌های بدن می‌باشد و از طرف دیگر مصرف بی‌رویه و غیرداروئی آن دارای اثرات نامطلوب و مخرب چون، ضعف تنفسی، تهوع، استفراغ، گرگرفتگی، تعریق، خارش، مسمومیت، تضعیف و فلج مغز و اعصاب، کبودی، اعتیاد، اغماء و مرگ می‌باشد (۱و۲). مصرف بیش از ۳ روز پیایی مصرف شود موجب اعتیاد می‌گردد (۳). گذشته از اثرات نامطلوب بر بدن و ایجاد ناهنجاری‌های جنینی به لحاظ عبور آن از جفت (۴و۵)، فاجعه‌آمیزترین اثرات مخرب مرفین ایجاد اعتیاد و زوال فیزیکی و روانی اجتماعی افراد جامعه می‌باشد. مرفین از نظر داروئی از طبقه مخدرها و از نظر درمانی یک ضد درد مخدر قوی (آنالژزیک اپیوئیدی) است. اپیوئیدها زیر گروه‌های شیمیایی متعددی دارند که مرفین از دسته فئاترین‌ها است.

اپیوئیدها به گیرنده‌های اختصاصی خود یعنی گیرنده‌های مو و کاپا (Mu-capa) در بسیاری از نواحی دستگاه عصبی مرکزی متصل شده و روندهای موثر بر ادراک و پاسخ به درد را تغییر می‌دهند. مرفین به صورت خوراکی و تزریقی (زیر جلدی، عضلانی و وریدی) مصرف می‌شود که در هنگام مصرف خوراکی قدرت آن کمتر می‌گردد، زیرا بخشی از آن در کبد دچار متابولیسم شده و تا میزان ۲۵ درصد از قدرت آن

کاسته می‌شود (۱). تنها شکل موجود مرفین در ایران به صورت آمپول تزریقی ۱۰ میلی‌گرمی سولفات مرفین در ۱ میلی‌لیتر ویال است. سولفات مرفین کمی در چربی حل شده و نیمه عمر آن ۷-۴/۵ ساعت است. بعد از جذب بخشی از آن به پروتئین‌های پلاسما متصل و در غلظت‌های بالا در اعضای چون کبد، ریه، طحال و کلیه تجمع پیدا می‌کند. عضلات اسکلتی یکی از دریافت‌کننده‌های اصلی اپیوئیدها هستند (۶). در مغز به علت وجود سدخونی مغزی اپیوئیدها غلظت کمتری دارند ولی بعضی از آنها چون کدئین و هروئین که حلالیت بیشتری در چربی دارند به راحتی از سد خونی مغزی و جفت گذشته و وارد آن می‌شوند (۱و۲و۴و۵و۷-۱۰). مصرف بی‌رویه تریاک و مشتقات آن به لحاظ وجود مرفین در ترکیبات آنها علاوه بر اعتیاد اثرات مخرب و خطرناکی بر اعضای حیاتی بدن (۳و۶و۱۱-۱۸) می‌گذارد. با توجه به این که آثار مرفین بر ساختمان بافتی کبد مورد مطالعه دقیقی قرار نگرفته است، تصمیم گرفتیم تا از این بعداثرات ماده فوق را بررسی نماییم. این مطالعه به منظور بررسی اثر مرفین روی ساختار هیستولوژیک کبد انجام شد.

روش بررسی

این مطالعه تجربی روی ۲۰ سر موش نر سه ماهه بالغ نژاد Balb/c به وزن ۳۰ گرم انجام شد. موش‌ها از حیوانات بخش فیزیولوژی فارماکولوژی بیمارستان قائم مشهد به صورت تصادفی انتخاب و تحت شرایط استاندارد (۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی با دمای ۲۴±۱ سانتی‌گراد و آب و غذای

کافی) نگهداری شدند. سپس موش‌ها به طور تصادفی به دو گروه ۱۰ تایی تجربی (آزمایشی) و شاهد (کنترلی) تقسیم گردیدند.

به گروه تجربی به مدت ۳ هفته هر روز در ساعت ۸ صبح مقدار ۱۵mg/kg مرفین به طور داخل صفاقی تزریق گردید و به گروه شاهد طی همین مدت و به اندازه حجم مشابه نرمال سالیین تزریق گردید (۱۳). برای تهیه دوز مورد نیاز مرفین ویال‌های ۱ میلی‌لیتر مرفین را که حاوی ۱۰۰۰۰ میکروگرم سولفات مرفین بودند با نرمال سالیین رقیق نموده به طوری که حجم هر ویال را به ۲۲ سی‌سی رساندیم، سپس از این محلول به میزان یک سی‌سی به موش‌ها روزانه تزریق گردید که در هر بار ۴۵۴ میکروگرم مرفین در آن وجود داشت (۱۳). برای تزریق از سرنگ انسولین استفاده گردید. پس از پایان دوره تزریق موش‌ها به آزمایشگاه میکروآناتومی دانشکده پزشکی مشهد منتقل شده و به طریقه بی‌هوشی با کلروفورم از قید حیات خارج و کبد هر دو گروه تجربی و شاهد در سرم فیزیولوژی شسته و به مدت ۴۸ ساعت در فرمالین ۱۰ درصد برای فیکس شدن قرار داده شد. سپس به منظور آنگیری نمونه از الکل‌های با درجات مختلف از کم به زیاد عبور داده شدند و مدت توقف در هر الکل به میزان ۲ ساعت محاسبه گردید. برای شفاف کردن نمونه‌ها در گزلیل گذاشته شده و برای آغشته شدن با پارافین از پارافین مذاب به مدت معین استفاده گردید تا پارافین پس از نفوذ به داخل بافت‌ها جای آب از دست رفته را بگیرد. بعد از آن قالب گیری انجام و در هر قالب یک نمونه جای گرفت و برای مرحله بعد قالب‌ها آماده برش زدن با میکروتوم گردیدند. برش‌ها به ضخامت ۵ میکرون از هر نمونه تهیه و مقاطع روی لام انتقال داده شدند. سپس لام‌ها به وسیله رنگ آمیزی هماتوکسیلین ائوزین رنگ شده و برای مطالعه با میکروسکوپ نوری آماده گردیدند (۱۹).

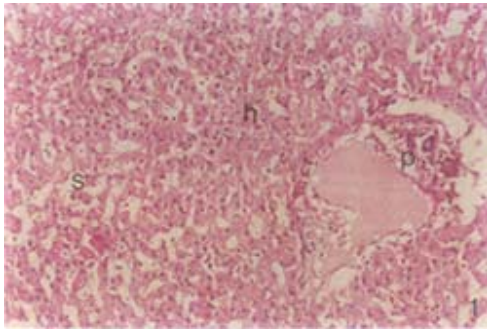
از میان لام‌های تهیه شده که متجاوز از ۱۰۰ عدد بودند تعداد ۲۰ عدد از گروه تجربی و شاهد انتخاب و به وسیله میکروسکوپ نوری استاد و دانشجو مدل Nikon labophet-2 به دقت مورد بررسی و جستجو قرار گرفتند و تعدادی از آنها برای تصویربرداری انتخاب شدند.

یافته‌ها

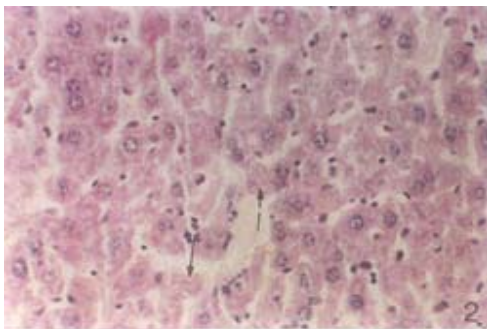
در مقاطع بررسی شده نتایج زیر مشاهده گردید:
الف) در بررسی لام‌های گروه کنترلی که نرمال سالیین دریافت کرده بودند، تغییراتی مشاهده نگردید و طرح کلی بافت کبد طبیعی به نظر می‌رسیدند (تصویر ۱).

ب) در بررسی لام‌های گروه تجربی تغییر چربی (Fatty change) به صورت واکوئول‌های چربی ریز یعنی بروز

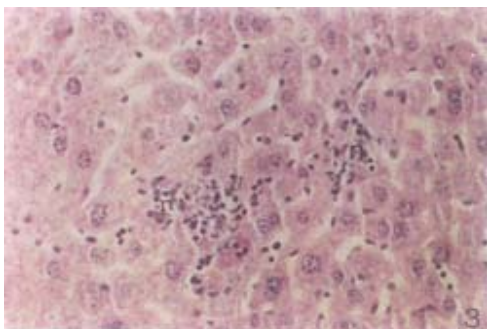
استناوز (تجمع چربی در داخل سیتوپلاسم سلول‌های کبدی) از نوع میکروویکولار (Microvesicular steatosis) مشاهده گردید (تصویر ۲).



تصویر ۱: طرح کلی بافت طبیعی کبد که فقط نرمال سالیین دریافت کرده بود. P فضای پورت، S سینوزوئید، h سلول کبدی (رنگ آمیزی H&E، بزرگ‌نمایی ۱۰۰)



تصویر ۲: در این تصویر تغییر چربی (Fatty change) در اثر تزریق مرفین به صورت واکوئول‌های چربی ریز یعنی بروز استناوز میکروویکولار (تجمع چربی در داخل سلول‌های کبد) که با پیکان‌ها نشان داده شده‌اند (رنگ آمیزی H&E، بزرگ‌نمایی ۴۰۰)



تصویر ۳: در این تصویر تغییرات به شکل کانونی و موضعی در سلول‌های کبدی همراه با انفیلتراسیون منتشر سلول‌های آماسی شامل لنفوسیت، نوتروفیل و کمی ماکروفاژ همراه با نکروز کانونی (مرگ سلولی) سلول‌های کبدی و کلاستاز دیده می‌شود که در اثر تزریق مرفین به وجود آمده است. n نکروز (رنگ آمیزی H&E، بزرگ‌نمایی ۴۰۰)

این تغییرات به شکل کانونی و موضعی در سلول‌های کبدی همراه با انفیلتراسیون پراکنده سلول‌های آماسی شامل

که مقدار کمی هم از راه صفرا و مدفوع دفع می‌گردد. چون راه اصلی دفع متابولیت‌های مرفین از کلیه می‌باشد، بنابراین نارسائی‌های کلیه می‌تواند اثرات سمی شدیدی در بدن به جای گذارد (۲۱ و ۲۲). در اثر مصرف مواد مخدر غلظت سرمی آمیلاز و هیدروکسی بوتیلیک اسید دهیدروژناز افزایش پیدا کرده که ناشی از اسپاسم اسفنکتر اودی می‌باشد. علاوه بر این ثابت گردیده که ترکیبات مخدر موجب افزایش غلظت سرمی لاکتییک دهیدروژناز با منشاء کبدی به علت افزایش فشار داخل صفراوی (intrabiliary) می‌گردد. این عمل پس از مصرف حدود ۱۰ میلی‌گرم مرفین بعد از ۱۵-۱۰ دقیقه اسفنکتر اودی را منقبض و باعث افزایش فشار داخلی مجاری صفراوی می‌شود، تغییرات حاصل منجر به ایجاد Fatty change و از نوع میکروویکولار می‌گردد. اینفیلتراسیون آماسی به طور قطع مقابله سیستم ایمنی و ایجاد پاسخ‌های ایمنی هومورال و سلولار در مقابل یک عامل تحریکی که در اینجا مرفین است می‌باشد و در نتیجه آن تجمع سلول‌های لنفوپلاسموسیت‌تر در نواحی مختلف کبد است (۱۰ و ۱۷ و ۱۸ و ۲۲). اگرچه مقادیر درمانی مرفین و سایر اوپئوئیدها اثرات تخریبی غیرقابل برگشتی روی سلول‌های کبدی ندارند، اما با مصرف مقادیر بالا و پیاپی در جریان فاز تحمل یا اعتیاد اثر سمیت آن بر کبد به علت فعالیت متابولیک آن آشکار می‌گردد.

نتیجه‌گیری

در تحقیق انجام شده با دوز مصرفی تغییرات مهمی از جمله بروز هپاتیت مزمن فعال، استئاتوز میکروویکولار و نکروز هپاتوسیت‌ها که اهم آنها را تشکیل می‌داد، مشاهده گردید. لذا در بیمارانی که مجبور به استفاده از دوزهای بالای مرفین هستند احتمال ایجاد عوارض خطرناک بیش از پیش بوده و نیاز به بررسی و مراقبت‌های بیشتر پزشکی دارند.

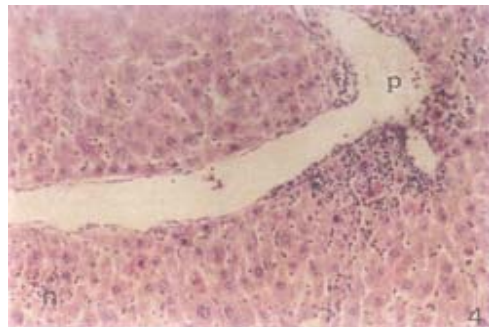
تشکر و قدردانی

نویسندگان بر خود لازم می‌دانند از همکاری خانم‌ها متجدد تکسین آزمایشگاه بافت‌شناسی و میرزائی و ربانی کارشناسان آزمایشگاه ژنتیک در تصویربرداری تشکر و قدردانی نمایند.

References

- 1) Goodman & Gilman's. The Pharmacological Basis of Therapeutics 10th ed New York MC Gram Hill. 2001. pp: 558-589.
- 2) Katzung BG. Basis & Clinical Pharmacology 8th ed. Philadelphia: Apleton & Lange. 1998. pp: 460-477.
- 3) Jaume M, Jacquet S, Cavailles P, Mace G, Stephan L, Blanpied C, et al. Opioid receptor blockade reduces Fas-induced hepatitis in mice. Hepatology. 2004;40(5):1136-43.
- 4) Moore KL. The development Human clinically oriented embryology 7th ed. Philadelphia: Elsevier science. 2003. pp: 259-

انواع لنفوسیت، نوتروفیل و کمی ماکروفاژ همراه با نکروز کانونی (مرگ سلولی) سلول‌های کبدی و کلستاز مشاهده گردید (تصویر ۳) که مجموعه علائم فوق بروز هپاتیت مزمن فعال در اثر تزریق مرفین را تأیید می‌نماید. علاوه بر این التهاب در فضای پورت و نکروز دندان موشی در پارانشیم کبد و کانون‌های نکروزی کوچک با انفیلتراسیون آماسی پلی‌مورف و دبری هسته‌های نکروز در این نواحی مشاهده گردیدند (تصویر ۴).



تصویر ۴: در این تصویر التهاب در فضای پورت P و در پارانشیم کبدی n کانون‌های کوچک نکروتیک دیده می‌شود (رنگ‌آمیزی H&E، بزرگ‌نمایی ۱۰۰)

بحث

این مطالعه نشان داد که تزریق مرفین به صورت داخلی صفاقی به میزان ۱۰ mg/kg در موش صحرائی سبب تغییرات ساختار بافتی کبد به صورت موضعی و کانونی می‌گردد. در این پژوهش قصد ما تغییرات به وجود آمده احتمالی پارانشیم کبد بعد از مصرف ماده موثر تریاک یعنی مرفین است. زیرا کبد اولین محل تغییر شکل مرفین و سایر اوپئوئیدهاست (۲ و ۳ و ۲۰). متابولیسم مرفین در کبد موجب کاهش گلوکوتایون کبدی می‌شود (۱۴). مرفین در کبد با کونژوگ شدن به اسید گلوکورونیک متابولیزه می‌شود و متابولیت آن دوبار از مرفین قوی‌تر است و بخشی از خاصیت ضددردی مرفین مربوط به متابولیت آن است. متابولیت‌های مرفین بیشتر از طریق فیلتراسیون گلومرولی به وسیله کلیه و از طریق ادرار دفع می‌شوند که حدود ۹۰ درصد آن را تشکیل می‌دهد در حالی

263.

- 5) Sadler T.W. Langman's Medical Embryology 8th ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins. 2000. pp: 283-285.
- 6) Tegeer I, Lotsch J, Geisslinger G. Pharmacokinetics of opioids in liver disease. Clin Pharmacokinet. 1999;37(1):17-40.
- 7) Guyton, AC, Hall JE. Textbook of Medical Physiology 9th ed Philadelphia. W.B. Saunders. 1996. pp: 883-886.
- 8) Richard C.D. et al. The 5 minute toxicology text & Atlas. 10th ed. New York Lange medical Book. 2003. pp: 332-344.

- 9) Tortora GJ, Grabowski RS. Introduction to the human body 5th ed. New york, John wiley & sous. 2001. pp: 469-471.
- 10) Zhang YT, Zheng QS, Pan J, Zheng RL. *Oxidative damage of biomolecules in mouse liver induced by morphine and protected by antioxidants*. Basic Clin Pharmacol Toxicol. 2004;95(2):53-8.
- 11) Bisceglie BD, 1999, Liver Disease. Philadelphia. P. 362, 369.
- 12) Haddad LM, Shannon MW. Clinical Management of Poisoning and drug overdose. Philadelphia: W.B. Saunders. 1998; pp:505-521.
- 13) Wyman J, Bultman S. *Postmortem distribution of heroin metabolites in femoral blood, liver, cerebrospinal fluid, and vitreous humor*. J Anal Toxicol. 2004; 28(4):260-3.
- 14) Jairaj M, Watson DG, Grant MH, Skellern GG. *The toxicity of opiates and their metabolites in HepG2 cells*. Chem Biol Interact. 2003;146(2):121-9.
- 15) Snell, RS. Clinical Anatomy 7th ed. Pensilvania: Lippincot Williams & wilkins. 2004. pp: 256-267.
- 16) Spring Field T. Poisoning Toxicology 5th ed. Baltimore: Elsevier science P. 1998. pp: 807-810.
- 17) Sumathy T, Subramanian S, Govindasamy S, Balakrishna K, Veluchamy G. *Protective role of Bacopa monniera on morphine induced hepatotoxicity in rats*. Phytother Res. 2001;15(7):643-5.
- 18) Tegeder I, Lotsch J, Geisslinger G. *Pharmacokinetics of opioids in liver disease*. Clin Pharmacokinet. 1999;37(1):17-40.
- 19) Bancroft J.D, Stevens A. Theory and Practice of histological technique 2nd ed. London churchil Livingston. 1982. pp: 20-61.
- 20) Comar V. Cotron RS, Robbins SL. Robbins Basic Pathology 7nd ed. Philadelphia: Saunders. 2002. pp:592-593, 612.
- 21) Bhaskaran M, Reddy K, Sharma S, Singh J, Radhakrishnan N, Kapasi A, et al. *Morphine-induced degradation of the host defense barrier: role of macrophage injury*. J Infect Dis. 2001;184(12):1524-31.
- 22) Rentsch KM, Kullak-Ublick GA, Reichel C, Meier PJ, Fattinger K. *Arterial and venous pharmacokinetics of intravenous heroin in subjects who are addicted to narcotics*. Clin Pharmacol Ther. 2001;70(3):237-46.