Journal of Gorgan University of Medical Sciences

e-ISSN: 2008-4080 p-ISSN: 1562-4765

2025 / Vol 27 / No 1

OPEN ACCESS

Original Paper

Effect of Injectable Ketamine on Histopathological Changes in the Liver in Neonates Born to Pregnant Rats Subjected to Short-Term and Long-Term Anesthesia

Afagh Zamen Ghadirli [1], Hessamedin Babaei [1], Marzieh Goodarzi [1], Soheil Shahramirad [1], Aref Arminfar [1], Alireza Avazzadeh [1], Behrooz Yahyaei (Ph.D)*[2,3], Leila Khojasteh (Ph.D)[2]

1 Medical Student, Student Research Committee, Shahrood Branch, Islamic Azad University, Shahrood, Iran. 2 Assistant Professor, Department of Medical Sciences, Shahrood Branch, Islamic Azad University, Shahrood, Iran. 3 Assistant Professor, Biological Nanoparticles in Medicine Research Center, Shahrood Branch, Islamic Azad University, Shahrood, Iran.

Abstract

Background and Objective: Ketamine, a derivative of phencyclidine, is utilized as an anesthetic agent in surgical procedures. Like other medications, it can be associated with various adverse effects on different organs in the body. This study was conducted to determine the effect of injectable ketamine on the histopathological changes in the liver in neonates born to pregnant rats subjected to short-term and long-term anesthesia.

Methods: In this experimental study, 15 pregnant female Wistar rats were randomly divided into 3 groups of 5 each: A control group, a short-term anesthesia group (receiving an intraperitoneal injection of ketamine at a dosage of 25 mg/kg/bw), three times per week for 4 weeks), and a long-term anesthesia group (receiving an intraperitoneal injection of ketamine at a dosage of 75 mg/kg/bw, once per week for 4 weeks). Following parturition and during the lactation period, when the neonatal rats reached two weeks of age, they were initially anesthetized and sacrificed for tissue sampling via intraperitoneal injection of 7 units of ketamine and 3 units of xylazine. Tissue samples, with a thickness of 5 to 6 microns, were sectioned and examined using light microscope after fixation in formalin.

Results: In the short-term anesthesia group, dilation of the centrilobular veins and fluid accumulation were observed, with an intensity score of 2. Additionally, some hepatocytes exhibited degenerative-necrotic changes, characterized by acidophilic and dark cytoplasm, with an intensity score of 1. In the long-term anesthesia group, the liver tissue showed hyperemic changes in the portal space with a score of 1, as well as increased dilation of sinusoidal spaces and centrilobular veins of varying sizes and irregularities, also with an intensity score of 1. Fluid and blood accumulation were also noted in some of these structures. In the control group, cellular structures were maintained with complete regularity, and the intensity score of changes was determined to be zero.

Conclusion: Ketamine administration to pregnant rats can induce histopathological changes in the liver tissue of their offspring. These detrimental changes were more pronounced in the long-term group compared to both the short-term and control group.

Keywords: Ketamine, Anesthesia, Histology, Pathology, Liver, Rats

***Corresponding Author:** Behrooz Yahyaei (Ph.D), **E-mail:** behroozyahyaei@iau.ac.ir

Received 22 Apr 2024
Final Revised 7 Jul 2024
Accepted 17 Jul 2024
Published Online 16 Apr 2025

Cite this article as: Zamen Ghadirli A, Babaei H, Goodarzi M, Shahramirad S, Arminfar A, Avazzadeh A, et al. [Effect of Injectable Ketamine on Histopathological Changes in the Liver in Neonates Born to Pregnant Rats Subjected to Short-Term and Long-Term Anesthesia]. J Gorgan Univ Med Sci. 2025; 27(1): 1-8. [Article in Persian]

© The author(s)

Owned: Golestan University of Medical Sciences **Publisher:** Deputy of Research and Technology

Journal of Gorgan University of Medical Sciences

Extended Abstract

2025 / Vol 27 / No 1

Introduction

Ketamine is an analgesic agent with notable safety features, rendering it a popular induction agent for anesthesia. Given that ketamine suppresses respiration significantly less than other available anesthetic drugs, it is utilized in medicine as an anesthetic. However, due to the hallucinations it may induce, it is not typically employed as a primary anesthetic, and it serves as the first-line anesthetic choice when reliable intubation equipment is unavailable. Ketamine is frequently utilized in severely injured individuals and appears to be safe within this population. Potential adverse effects associated with ketamine administration include transient apnea, increased salivary gland secretion, laryngospasm, partial airway constriction, hypothermia, emergence phenomenon, and neurotoxicity. Ketamine can cross the placenta and reach the fetus, potentially exerting significant effects on fetal development. Ketamine has been shown to impair learning and memory capacity in neonatal rats exposed to ketamine-induced anesthesia. Furthermore, ketamine uses in neonates has been found to result in several adverse events, such as tachycardia, hypertension, and laryngospasm. Exposure to ketamine during pregnancy can also culminate in cardiomegaly or heart enlargement, disrupted myocardial tissue, and reduced cardiac contractile function in the offspring of exposed rats. Additionally, ketamine can induce widespread apoptosis and cell death of nerve cells in the brains of premature infants. These effects can disrupt normal neuronal development and alter brain structure and function. Ketamine is extensively metabolized in the liver by microsomal enzymes into metabolites I and II and is excreted through urine. In chronic use conditions, ketamine and its metabolites cause damage to hepatocytes and other liver cells. Ketamine-induced hepatotoxicity may be dependent on mitochondrial destruction. Ketamine abuse appears to culminate in dilation of the common bile duct, microscopic damage to the bile duct, and even significant hepatic fibrosis. This study was conducted to determine the effect of injected ketamine on the histopathological changes in the livers of neonates born to pregnant rats subjected to short-term and long-term anesthesia.

Methods

This experimental study was conducted on 15 female Wistar rats, with a mean weight of 200 ± 2 g, in the Exercise Physiology Laboratory at Islamic Azad University, Shahroud Branch, Iran during 2018. The rats were divided into groups of 5 animals each. Following a one-week acclimatization period, pregnancy was induced in the animals by housing two male rats within each group of 5 females. The zero day of pregnancy was determined by vaginal smears and the observation of vaginal plugs.

The pregnant rats were randomly assigned to 3 groups of 5 as follows:

- Control Group: Received no anesthetic drug.

- Experimental Group 1 (short-term Aanesthesia): Intraperitoneal injection of ketamine at a dosage of 25 mg/kg/bw, three times per week for four weeks.

- Experimental Group 2 (long-term anesthesia): Intraperitoneal injection of ketamine at a dosage of 75 mg/kg/bw, once per week for four weeks.

Following parturition and during the lactation period, when the neonatal rats reached two weeks of age, they were initially anesthetized and sacrificed for tissue sampling via intraperitoneal injection of 7 units of ketamine and 3 units of xylazine using an insulin syringe. Subsequently, their abdominal cavity was incised with a surgical blade, and the liver structure was dissected out using scissors and forceps and weighed using a digital scale. Four sections, approximately 5 micron in thickness, were taken from each of the four lobes of the liver from all neonatal rats and immediately placed in containers containing a 10% formalin solution for tissue fixation. Following a 24-hour period, the formalin solution was replaced. The collected samples were then sent to the histology laboratory for the preparation of histological sections. Afterward, the received samples underwent dehydration, clearing, embedding, and sectioning procedures for preparation. Finally, the samples were stained with hematoxylin and eosin, and the slides were examined using a light microscope (Olympus CX21, Japan) at magnifications of 100 and 400. The severity and criteria of pathological changes in the liver tissue of neonatal rats were assessed by comparing normal hepatic structures, including the centrilobular vein, sinusoidal space, hepatocyte cells, Kupffer cells, and portal space with ketamine-induced groups. The observed qualitative changes were graded from zero to 3, where grade zero indicated no observed changes, grade 1 indicated mild changes, grade 2 indicated moderate changes, and grade 3 indicated severe changes.

Results

The histological features of all sections prepared from the liver tissue of neonatal rats in the control group were completely normal. The liver structure exhibited order and integrity, with no observable changes. In the liver tissue of the control group, the centrilobular vein, sinusoidal space, and hepatocyte cells were normal. Kupffer cells, which are considered liver macrophages, were visible in the aforementioned spaces with appropriate numbers and distribution. The portal space was also well-defined around the lobules, and its components were discernible.

The histological sections prepared from the livers of all neonatal rats in the short-term dose group exhibited slight changes compared to the control group. In certain areas, the centrilobular veins showed dilation and fluid accumulation. Hyperemia was observed in the centrilobular veins and the sinusoidal spaces. Some hepatocytes displayed degenerative-necrotic changes and had acidophilic and dark cytoplasm. Kupffer cells were observed with appropriate numbers and distribution within the sinusoidal space. The portal space presented normal characteristics.

Histological sections prepared from the livers of all neonatal rats in the long-term dose group exhibited several changes, including hyperaemia in certain regions, such as the portal space, as well as increased dilation of sinusoidal spaces. The centrilobular veins also displayed varying sizes and marginal irregularities, with fluid and blood accumulation observed in some of them. Certain hepatocytes showed vacuolar and necrotic changes. Kupffer cells within the sinusoidal space were observed with appropriate number and morphology.

Conclusion

Based on the results of this study, the use of ketamine for anesthesia in pregnant rats, whether short-term and repeated or long-term, can lead to liver tissue damage in their offspring. In the long-term group, these damages were observed with greater intensity at the hepatocyte and portal levels, and in the short-term group, they were observed with greater intensity in the sinusoidal space and centrilobular vein.

In this study, the effects of ketamine administration to mothers on the liver fibrosis of their neonates were also investigated, and no apparent fibrosis was observed.

Ethical Statement

The current study was approved by the Research Ethics Committee of Islamic Azad University, Shahroud Branch (IR.IAU.SHAHROOD.REC.1397.028), and the protocol for working with laboratory animals was adhered.

Funding

This article has been extracted from Marzieh Goudarzi's Ph.D dissertation in Medicine at Islamic Azad University, Shahroud Branch.

Conflicts of Interest

No Conflicts of interest.

Ketamine administration to pregnant rats at varying dosages and durations can have an impact on the hepatic morphology of their neonates, potentially leading to liver damage.

مجله دانشگاه علوم پزشکی گرگان

بهار ۱۴۰۴ / دوره ۲۷ / شماره ۱ (پی در پی ۹۳)

دارای رتبه علمی -پژوهشی از کمیسیون نشریات علوم پزشکی کشور

e-ISSN: ۲۰۰۸-۴۰۸۰ p-ISSN: ۱۵۶۲-۴۷۶۵

با دسترسی آزاد

تحقیقی

اثر کتامین تزریقی بر تغییرات بافت‌شناسی کبد نوزادان متولد شده از موش‌های صحرایی ماده باردار تحت بیهوشی کوتاه مدت و بلند مدت

آفاق ضامن قدیرلی [۱]، حسام الدین بابایی [۱]، مرضیه گودرزی [۱]، سهیل شهرامی راد [۱]، عارف آرمین فر [۱]

علیرضا عوض زاده [۱]، دکتر بهروز یحیایی *[۲و۳]، دکتر لیلا خجسته [۲]

۱ دانشجوی پزشکی، کمیته تحقیقات دانشجویی، واحد شاهرود، دانشگاه آزاد اسلامی، شاهرود، ایران. ۲ استادیار، گروه پزشکی، واحد شاهرود، دانشگاه آزاد اسلامی، شاهرود، ایران.

۳ استادیار، گروه پزشکی، مرکز تحقیقات نانوذرات بیولوژیک در پزشکی، واحد شاهرود، دانشگاه آزاد اسلامی، شاهرود، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: *استفاده از کتامین به عنوان یکی از مشتقات فن‌سیکلیدین‌ها به عنوان ماده بیهوشی در عمل‌های جراحی، همچون داروهای دیگر می‌تواند با عوارض متعددی بر اندام‌های مختلف بدن همراه باشد. این مطالعه به منظور تعیین اثر کتامین تزریقی بر تغییرات بافت‌شناسی کبد نوزادان متولد شده از موش‌های صحرایی ماده باردار تحت بیهوشی کوتاه مدت و بلند مدت انجام شد.*

روش بررسی: *در این مطالعه تجربی ۱۵ سر موش صحرایی ماده باردار از نژاد ویستار به صورت تصادفی به سه گروه پنج تایی شامل کنترل، بیهوشی کوتاه مدت (کتامین تزریقی ۲۵ mg/kg/bw سه بار در هفته به مدت ٤ هفته) و بیهوشی بلند مدت (کتامین تزریقی ۷۵ mg/kg/bw یک‌بار در هفته به مدت ٤ هفته) تقسیم شدند. پس از زایمان و طی دوره شیردهی هنگامی که سن نوزادان به دو هفته رسید؛ به منظور نمونه‌گیری بافتی ابتدا نوزادان موش‌های صحرایی توسط ۷ واحد کتامین و ۳ واحد زایلازین بیهوش و قربانی شدند و نمونه‌گیری بافتی انجام شد. نمونه‌های بافتی با ضخامت ۵ تا ٦ میکرون جدا شده و پس از ثابت‌سازی در فرمالین توسط میکروسکوپ نوری بررسی شدند.*

یافته‌ها: *در گروه بیهوشی کوتاه مدت در وریدهای مرکز لوبولی متسع و تجمع مایع با نمره شدت تغییرات ۲ و برخی از هپاتوسیت‌ها دارای روند دژنراتیو نکروتیک و سیتوپلاسم اسیدوفیلیک و تیره با نمره شدت تغییرات ۱ رویت شدند. در گروه بیهوشی بلند مدت بافت کبد تغییرات پرخونی در فضای پورت با نمره ۱ و نیز افزایش اتساع فضاهای سینوزوئیدی و وریدهای مرکز لوبولی دارای اندازه‌های مختلف و بی‌نظمی با شدت تغییرات ۱ مشاهده شد که در برخی از آنها تجمع مایع و خون نیز دیده شد. در گروه کنترل ساختارهای سلولی به صورت کاملاً منظم حفظ شده بود و نمره شدت تغییرات صفر تعیین شد.*

نتیجه‌گیری: *مصرف کتامین در موش‌های باردار می‌تواند سبب ایجاد تغییرات هیستوپاتولوژیک در بافت کبدی نوزادان آنها شود که در گروه بلندمدت نسبت به کوتاه‌مدت و کنترل، این تغییرات مخرب مشهودتر بود.*

واژه‌های کلیدی: *کتامین ، بیهوشی ، بافت شناسی ، آسیب شناسی ، کبد ، موش صحرایی*

* **نویسنده مسؤول:** دکتر بهروز یحیایی ، پست الکترونیکی: behroozyahyaei@iau.ac.ir

نشانی: شاهرود، بلوار دانشگاه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شاهرود، گروه پزشکی، تلفن ۲-۳۲۳۹۴۵۳۰-۰۲۳

وصول ۱۴۰۳/۲/۳ اصلاح نهایی ۱۴۰۳/۴/۱۷ پذیرش ۱۴۰۳/۴/۲۷ انتشار ۱۴۰۴/۱/۲۷

مقدمه

اولین مطالعه بالینی کتامین به عنوان داروی بیهوش کننده انسانی توسط Corssen و Domino در سال ۱۹۶۶ منتشر شد. بیماران ممکن است با حفظ رفلکس راه هوایی و محرک تنفسی بیدار به نظر برسند؛ ولی نمی‌توانند به محرک‌های حسی پاسخ دهند. کتامین علاوه بر این ضددرد فوق‌العاده‌ای با ویژگی‌های ایمنی چشمگیر است که آن را به یک عامل القای بیهوشی محبوب تبدیل کرده است.[۱] کتامین یک مشتق فن‌سیکلیدین (بیحس کننده مورد استفاده در دامپزشکی)، آنتاگونیست غیررقابتی گیرنده NMDA است. کتامین برای القای بیهوشی داخل وریدی در جهان به ویژه در شرایطی که تحریک سمپاتیک نظیر هیپوولمی و تروما مورد نیاز است؛ استفاده می‌شود. هنگامی که امکان تزریق وریدی نباشد؛ می‌توان از کتامین عضلانی برای القاء در کودکان یا بزرگسالانی که همکاری نمی‌کنند؛ استفاده کرد. کتامین را می‌توان با داروهای دیگر مانند پروپوفول یا میدازولام به صورت بولوس یا انفوزیون با دوز کم برای آرام‌بخشی در طول بلوک‌های عصبی محیطی و آندوسکوپی ترکیب کرد. دوزهایی از کتامین می‌تواند باعث توهم شود.[۲] با توجه

به اینکه کتامین تنفس را بسیار کمتر از سایر داروهای بیهوشی موجود سرکوب می‌کند؛ در پزشکی به عنوان بیحس کننده استفاده می‌شود. با این حال، به دلیل توهماتی که ممکن است ایجاد کند؛ معمولاً به عنوان بیهوش کننده اصلی مورد استفاده قرار نمی‌گیرد و در صورتی که تجهیزات اینتوباسیون قابل اطمینان در دسترس نباشد؛ انتخاب اول برای بیهوشی است. کتامین اغلب در افراد آسیب دیده شدید استفاده می‌شود و به نظر می‌رسد در این گروه بی‌خطر است.[۳] در صورت مصرف کتامین ممکن است عوارضی همچون آپنه گذرا، افزایش ترشح غدد بزاقی، اسپاسم حنجره، انقباض بخشی از مجاری هوایی، هیپوترمی، فنومن فوری و نوروتوکسیتی رخ دهد.[۴] کتامین می‌تواند از جفت عبور کرده و به جنین برسد و اثرات شدیدی بر جنین بگذارد که مطالعه Li و همکاران به بررسی و اثبات نقش مسیر سیگنالینگ CREB در موش‌های باردار و نوزادان که در معرض بیهوشی ناشی از کتامین قرار داشتند؛ پرداخت و کتامین ظرفیت یادگیری و حافظه را در نوزادان نیز مختل نمود.[۵] مصرف کتامین عوارض جانبی متعددی مانند تاکی‌کاردی، فشارخون بالا و اسپاسم حنجره را در نوزادان به‌دنبال دارد. قرار گرفتن در معرض کتامین در دوران بارداری نیز می‌تواند موجب بزرگ شدن قلب یا کاردیومگالی، بهم‌ریختگی بافت میوکارد قلب و کاهش عملکرد انقباضی قلب در فرزندان موش‌های مواجهه یافته شود.[۶] همچنین کتامین می‌تواند باعث آپوپتوزو مرگ سلولی گسترده سلول‌های عصبی در مغز نوزادان نارس شود. این اثرات می‌تواند رشد طبیعی نورون‌ها را مختل کند و ساختار و عملکرد مغز را تغییر دهد. لذا از آنجایی که کتامین می‌تواند نوروژنز سلول‌های بنیادی پیش‌ساز عصبی در مغز در حال رشد را تغییر دهد؛ توصیه می‌گردد زنان باردار از مواجهه با آن پرهیز نمایند.[۷] از نظر جایگزینی بیهوشی عمومی در عمل جراحی سزارین می‌توان از طیف گسترده‌ای از داروها نظیر پروپوفول و تیوپنتال استفاده کرد که با توجه به شرایط بیماری و خطراتی که می‌تواند داشته باشد؛ انتخاب می‌شوند. اخیراً علاقه زیادی به استفاده از غلظت‌های کم سووفلوران، دسفلوران و ایزوفلوران به عنوان مکمل‌های بیهوشی با اکسید نیتروژن وجود داشته است.[۸] کتامین در ابتدا برای استفاده به عنوان یک داروی بیهوشی تجزیه کننده سنتز شد و همچنان نیز به‌طور گسترده استفاده می‌شود. با اینحال شواهد زیادی مبنی بر استفاده تفریحی غیرپزشکی کتامین، به ویژه در افرادی که اغلب شبانه روزی مصرف می‌کنند؛ وجود دارد. میزان شیوع استفاده تفریحی کتامین در سطح جمعیت مشخص نیست؛ اما احتمال دارد مشابه مصرف سایر مواد مخدر تفریحی مانند کوکائین، MDMA و آمفتامین و یا کمی کمتر از این مواد مخدر باشد.[۹] کتامین به‌طور گسترده در کبد توسط آنزیم‌های میکروزومی به متابولیت‌های I و II متابولیزه و از طریق ادرار دفع می‌شود.[۱۰] کتامین و متابولیت‌های آن در شرایط استفاده مزمن باعث آسیب به هپاتوسیت‌ها و دیگر سلول‌های کبدی می‌شود.[۱۱] هپاتوتوکسیسیتی ناشی از کتامین ممکن است به تخریب میتوکندریال وابسته باشد.[۱۲] به‌نظر می‌رسد سوء مصرف کتامین منجر به اتساع مجرای صفراوی مشترک، آسیب میکروسکوپی مجرای صفراوی و حتی فیبروز قابل توجه کبدی می‌شود.[۱۳] مطالعات نشان داده آسیب کبدی ناشی از مصرف کتامین (به تنهایی یا با مصرف الکل) باعث سیروز می‌شود.[۱۴] بررسی‌های هیستوپاتولوژی کتامین بر ارگان‌های بدن موجودات زنده در مطالعاتی انجام شده است.[۱۵و۱۶] این مطالعه به منظور تعیین اثر کتامین تزریقی بر تغییرات بافت‌شناسی کبد نوزادان متولد شده از موش‌های صحرایی ماده باردار تحت بیهوشی کوتاه مدت و بلند مدت انجام شد.

روش بررسی

این مطالعه تجربی روی ۱۵ سر موش صحرایی ماده از نژاد ویستار با میانگین وزنی ۲±۲۰۰ گرم در آزمایشگاه فیزیولوژی تربیت بدنی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شاهرود طی سال ۱۳۹۷ انجام شد.

مطالعه مورد تایید کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه آزاد اسلامی – واحد شاهرود (IR.IAU.SHAHROOD.REC.1397.028) قرار گرفت و پروتکل کار بر روی حیوانات آزمایشگاهی رعایت شد.

مطابق با مطالعات مشابه[۲۰-۱۷] به منظور ارزیابی اثر کتامین بر موش‌های صحرایی در هر گروه ۵ سر موش قرار گرفت. پس از یک هفته سازگاری با محیط حیوانات القاء حاملگی به وسیله قرارگیری دو موش صحرایی نر در هر گروه ۵ تایی انجام شد و روز صفر حاملگی با استفاده از اسمیر واژینال و مشاهده پلاک واژنی تعیین شد.[۲۱] در دوران بارداری همه گروه‌ها از رژیم غذایی یکسانی بهره‌مند بودند.

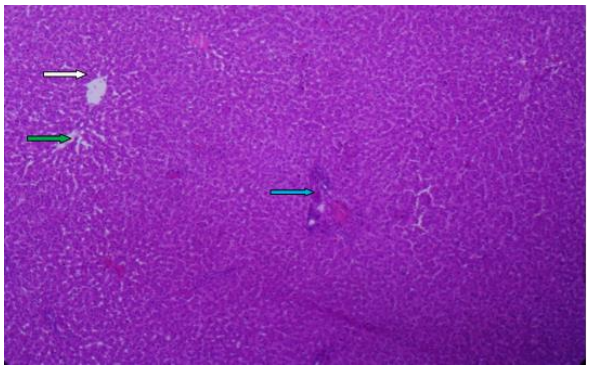
موش‌های باردار به صورت تصادفی به سه گروه پنج تایی به شرح زیر تقسیم شدند.[۲۲]

گروه کنترل: هیچ داروی بیهوشی دریافت نکرد.

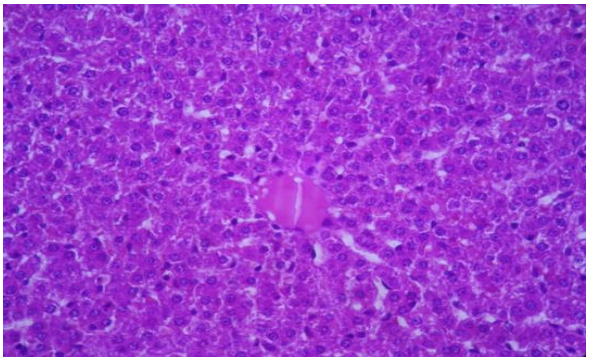
گروه تجربی اول (بیهوشی کوتاه مدت) تزریق داخل صفاقی کتامین ۲۵ mg/kg/bw سه بار در هفته به مدت چهار هفته.

گروه تجربی دوم (بیهوشی بلند مدت) تزریق داخل صفاقی کتامین ۷۵ mg/kg/bw یک بار در هفته به مدت چهار هفته.

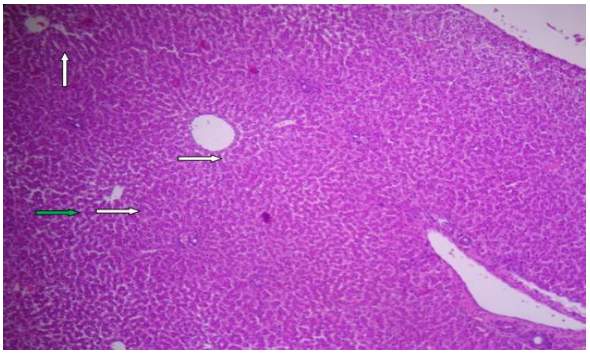
پس از زایمان و طی دوره شیردهی هنگامی که سن نوزادان به دو هفته رسید؛ به منظور نمونه‌گیری بافتی ابتدا نوزادان موش‌های صحرایی توسط ۷ واحد کتامین و ۳ واحد زایلازین با سرنگ انسولین تزریق، بیهوش و قربانی شدند. سپس با تیغ جراحی، ناحیه حفره شکمی آنها برش داده شده و ساختار کبد توسط قیچی و پنس جدا و توسط ترازوی دیجیتالی توزین گردید. تعداد چهار برش از هر چهار لوب کبد با ضخامت تقریبی ۵ میکرون از تمامی نوزادان موش‌های



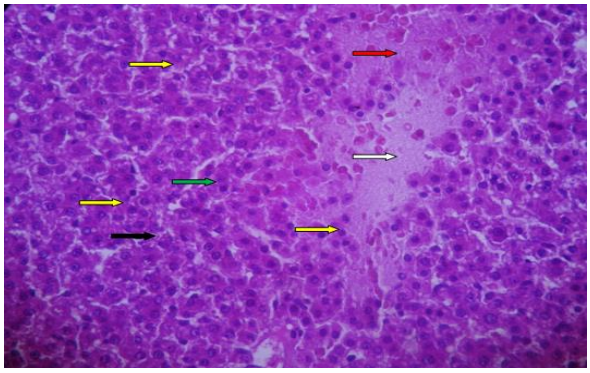
شکل ۱ : مقطع بافت‌شناسی کبد نوزاد موش صحرایی گروه کنترل
رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین، بزرگ‌نمایی ۱۰۰x



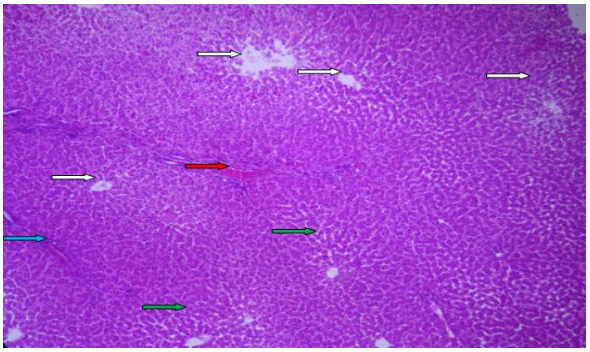
شکل ۲ : مقطع بافت‌شناسی کبد نوزاد موش صحرایی گروه کنترل
رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین، بزرگ‌نمایی ۴۰۰x



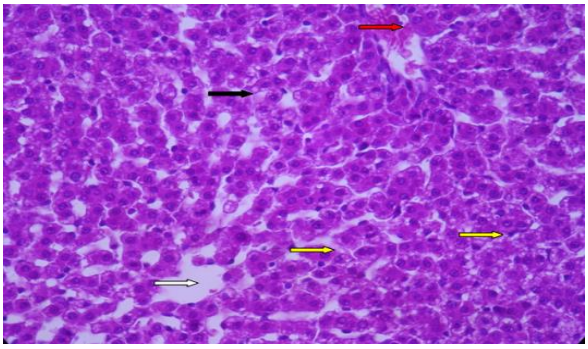
شکل ۳ : مقطع بافت‌شناسی کبد نوزاد موش صحرایی گروه دوز کوتاه مدت
رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین، بزرگ‌نمایی ۱۰۰x



شکل ۴ : مقطع بافت‌شناسی کبد نوزاد موش صحرایی گروه دوز کوتاه مدت
رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین، بزرگ‌نمایی ۴۰۰x



شکل ۵ : مقطع بافت‌شناسی کبد نوزاد موش صحرایی گروه دوز بلند مدت
رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین، بزرگ‌نمایی ۱۰۰x



شکل ۶ : مقطع بافت‌شناسی کبد نوزاد موش صحرایی گروه دوز بلند مدت
رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین، بزرگ‌نمایی ۴۰۰x

صحرایی جدا و بلافاصله درون ظروف حاوی محلول فرمالین ۱۰ درصد به منظور ثبوت بافت قرار داده شد. پس از گذشت ۲۴ ساعت محلول فرمالین تعویض شد. سپس نمونه‌های اخذ شده برای تهیه مقاطع هیستولوژیک به آزمایشگاه بافت‌شناسی ارسال گردید. سپس بر روی نمونه‌های دریافت شده برای آماده‌سازی اعمال آبگیری، شفاف‌سازی، قالب‌گیری و برش‌زدن صورت گرفت. در نهایت نمونه‌ها توسط هماتوکسیلین و ائوزین رنگ‌آمیزی شدند و لام‌ها توسط میکروسکوپ نوری (Olympus CX21 ساخت ژاپن) با بزرگ‌نمایی ۱۰۰ و ۴۰۰ مورد بررسی قرار گرفتند. شدت و معیار تغییرات پاتولوژی بافت کبد نوزادان موش‌های صحرایی به صورت مقایسه ساختارهای نرمال کبدی اعم از ورید مرکز لوبولی، فضای سینوزوئیدی، سلول‌های هپاتوسیتی، سلول‌های کوپفر، فضای پورتال با گروه‌های تحت القای کتامین انجام شد. تغییرات کیفی مشاهده شده از عدد صفر تا ۳ درجه‌بندی گردید. به طوری که درجه صفر بیانگر عدم مشاهده تغییر، درجه ۱ بیانگر تغییرات خفیف، درجه ۲ بیانگر تغییرات متوسط و درجه ۳ بیانگر تغییرات شدید بودند.[۲۳]

یافته‌ها

مشخصات بافتی همه مقاطع تهیه شده از بافت کبد نوزادان موش‌های صحرایی گروه کنترل کاملاً نرمال بودند و ساختار کبد دارای نظم و انسجام و بدون هیچگونه تغییرات مشاهده شد. در بافت

جدول ۱ : تفکیک و درجه‌بندی تغییرات کیفی پدید آمده در متغیرهای مورد ارزیابی بافت کبد نوزادان موش‌های صحرایی ماده در گروه‌های مورد مطالعه

گروه‌ها	سلول هپاتوسیت	ورید مرکز لوبولی	ناحیه پورتال	فضای سینوزوئیدی
کنترل	عدم مشاهده تغییر	عدم مشاهده تغییر	عدم مشاهده تغییر	عدم مشاهده تغییر
بیهوشی کوتاه مدت (کتامین تزریقی ۲۵ mg/kg/bw سه بار در هفته به مدت ۴ هفته)	تغییرات خفیف	تغییرات متوسط	عدم مشاهده تغییر	تغییرات متوسط
بیهوشی بلند مدت (کتامین تزریقی ۷۵ mg/kg/bw یک‌بار در هفته به مدت ۴ هفته)	تغییرات متوسط	تغییرات خفیف	تغییرات خفیف	تغییرات خفیف

کبد گروه کنترل ورید مرکز لوبولی (فلش سفید)، فضای سینوزوئیدی (فلش سبز) و سلول‌های هپاتوسیتی (فلش زرد) طبیعی بودند. سلول‌های کوپفر (فلش سیاه) که ماکروفاژ کبد محسوب می‌شوند؛ با تعداد و پراکندگی مناسب در فضای مذکور قابل مشاهده بودند. فضای پورتال (فلش آبی) نیز در اطراف لوبول‌ها مشخص و اجزای آن قابل رویت بود (شکل‌های ۱ و ۲).

مقاطع بافتی تهیه شده از کبد تمام نوزادان موش‌های صحرایی گروه دوز کوتاه مدت با اندکی تغییرات نسبت به گروه کنترل دیده شد (شکل‌های ۳ و ۴). وریدهای مرکز لوبولی (فلش سفید) در برخی نواحی با اتساع و تجمع مایع همراه بودند. پرخونی (فلش قرمز) در ورید مرکز لوبولی و نیز فضای سینوزوئیدی (فلش سبز) دیده شد. برخی از هپاتوسیت‌ها (فلش زرد) دارای روند دژنراتیو نکروتیک بوده و سیتوپلاسم اسیدوفیلیک و تیره داشتند. سلول‌های کوپفر (فلش سیاه) با تعداد و پراکندگی مناسب در فضای سینوزوئیدی دیده شدند. فضای پورتال (فلش آبی) دارای مشخصات طبیعی بودند.

مقاطع بافتی تهیه شده از کبد تمام نوزادان موش‌های صحرایی گروه دوز بلند مدت با تغییرات متعددی از جمله پرخونی (فلش قرمز) در برخی نواحی مثل فضای پورت (فلش آبی) و نیز افزایش اتساع فضاهای سینوزوئیدی (فلش سبز) همراه بودند. وریدهای مرکز لوبولی نیز دارای اندازه‌های مختلف و نیز بی‌نظمی حاشیه‌ای بودند و در برخی از آنها تجمع مایع و خون (فلش سفید) مشاهده گردید. برخی هپاتوسیت‌ها (فلش زرد) دارای تغییرات واکوئولار و نکروتیک بودند. سلول‌های کوپفر (فلش سیاه) در فضای سینوزوئیدی با تعداد و شکل مناسب رویت شدند (شکل‌های ۵ و ۶). درجه‌بندی تغییرات کیفی مشاهده شده در جدول یک آمده است.

بحث

با توجه به نتایج این مطالعه، استفاده از کتامین برای بیهوشی در موش‌های صحرایی باردار، چه به صورت کوتاه مدت و مکرر و چه به صورت طولانی مدت می‌تواند سبب ایجاد آسیب بافت کبدی در نوزادان این موش‌ها شود و این آسیب‌ها در گروه طولانی مدت با شدت بیشتری در سطح هپاتوسیت‌ها و پورت و در گروه کوتاه مدت با شدت بیشتری در فضای سینوزوئیدال و ورید مرکز لوبولی رویت شد.

سوء مصرف کتامین می‌تواند باعث آسیب کبدی در معتادان بزرگسال شود؛ اما سوء مصرف کتامین در مادران باردار و اثر آن بر فرزندان آنان کمتر مورد توجه قرار گرفته است. در مطالعه Cheung و همکاران اثر تزریق ۵ روزه کتامین (۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به موش‌های باردار در اوایل بارداری یا اواسط بارداری بر فعالیت‌های اسپارتات امینوترانسفراز (AST) و الکالین فسفاتاز (ALP) مادران و فرزندان بررسی شد. درمان با کتامین در مادر ممکن است بر کبد جنین، نوزاد و موش پس از زایمان تأثیر بگذارد. تزریق کتامین بر بلوغ کبد تاثیر می‌گذارد. در فرزندان، درمان کتامین افزایش تدریجی فعالیت AST کبدی در نوزادان در طول بلوغ کبد را سرکوب کرد. با توجه به اندازه‌گیری فعالیت ALP کبدی، درمان کتامین ممکن است منجر به افزایش مرگ سلولی شود. در این مطالعه همچنین اثرات تجویز کتامین به مادران بر میزان فیبروز، تکثیر سلولی و مرگ سلولی در کبد نوزادان بررسی شد و هیچ فیبروز آشکاری مشاهده نشد. تفاوت بیوشیمیایی معنی‌داری بین گروه‌های تیمار و کنترل در مادران مشاهده نشد. بنابراین، در مطالعه Cheung و همکاران تجویز کتامین به موش‌های باردار باعث سرکوب رشد کبدی و همچنین مرگ سلول‌های کبدی فرزندان گردید[۱۵] که از جنبه بررسی بافت‌شناسی و مشاهدات حاکی از بی‌نظمی در سلول‌های کبدی با یافته‌های مطالعه حاضر که بیانگر بی‌نظمی و پرخونی بود؛ مشابهت داشت.

در مطالعه Kalkan و همکاران میزان مصرف طولانی مدت و دوز بالای کتامین بر روی کبد ۳۰ سر موش صحرایی نر در گروه‌های کنترل (سالین) و چهار گروه درمان با تزریق داخل صفاقی کتامین به مدت دو هفته با دوزهای ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، با استفاده از روش‌های هیستولوژیک و بیوشیمیایی ارزیابی گردید. تغییرات هیستوپاتولوژیکی در گروه‌های ۸۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم کیلوگرم شدیدتر و متنوع‌تر بود و کمترین تغییر معنی‌دار در گروه‌های ۴۰ و ۶۰ میلی‌گرم کیلوگرم مشاهده شد. مهم‌ترین تغییرات فراساختاری در میتوکندری و در شبکه اندوپلاسمی خشن مشاهده شد.[۱۰] در نتیجه همانند مطالعه حاضر، تغییرات بافت‌شناسی به‌صورت هپاتوسلولار در کبد مشاهده شد که این تغییرات در گروه‌های با دوز بیشتر، شدیدتر بود.

مطالعه Abdel-Salam و همکاران به منظور تعیین اثر کتامین بر استرس اکسیداتیو و التهاب در مغز و کبد در حالت پایه و در طول

التهاب سیستمیک ناشی از تزریق لیپوپلی ساکارید داخل صفاقی انجام شد. موش‌ها با کتامین زیرجلدی (۱۵ و ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به تنهایی، LPS (۳۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم) با کتامین (۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و LPS (۳۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم)، ۴ ساعت بعد اتانازی شدند و پراکسیداسیون لیپید (MDA)، کاهش گلوتاتیون (GSH)، نیتریک اکساید (نیتریت) و فعالیت پاراکسوناز ۱ (PON1) در مغز (در استریاتوم و در قشر مغز) و کبد اندازه‌گیری و فاکتور نکروز تومور آلفا (TNF-α) در بافت مغز تعیین گردید. ارزیابی هیستوپاتولوژیک و بیان ایمونوهیستوشیمیایی مارکر اپوپتوز کاسپاز-۳ نیز انجام شد. LPS باعث افزایش استرس اکسیداتیو در هر دو بافت مغز و کبد گردید. موش‌های تحت درمان با کتامین به تنهایی غلظت MDA بالاتری را در مغز و کبد نشان دادند. در حالی که غلظت GSH و اکسید نیتریک و فعالیت‌های PON1 مغز و کبد در مقایسه با گروه کنترل سالین کاهش یافت. کتامین داده شده به موش‌های تحت درمان با LPS منجر به افزایش MDA در مقایسه با هر دو عامل به تنهایی شد. بنابراین، کتامین باعث افزایش استرس اکسیداتیو در مغز و کبد و آزادشدن TNF-α در مغز و افزایش آسیب بافت در طول التهاب سیستمیک شد.[۲۴] مشابه با یافته‌های مطالعه ما، افزایش مارکرهای التهابی و آنزیم‌ها می‌توانند حاصل تخریب ساختارهای منظم سلولی و احتقان و فیبروزه شدن باشند.

در مطالعه هاشم‌نیا و همکاران ۴۰ سر موش صحرایی نر نژاد Sprague-Dawley به‌طور تصادفی در دو گروه ۲۰ تایی کنترل (سالین) و تجربی (کتامین داخل صفاقی ۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) قرار گرفتند. در روزهای ۰، ۲۰، ۴۰ و ۶۰ پس از تزریق، ۵ موش از هر گروه کشته و آناتومیزه شدند. برخی از پارامترهای بیوشیمیایی سرم اندازه‌گیری شد و بافت‌های کبد و کلیه مورد بررسی میکروسکوپی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که کتامین باعث افزایش تعداد گلبول‌های سفید خون و سطح آنزیم‌های کبدی، غلظت کراتینین، اوره، کورتیزول و گلوکز و کاهش کل پروتئین و گلوبولین در سرم گروه کتامین نسبت به گروه کنترل شده است. در بررسی کبد، دژنراسیون واکوئلی، احتقان و اتساع سینوس‌ها، انفیلتراسیون سلول‌های تک‌هسته‌ای در اطراف ناحیه پورت و نکروز پارانشیمی مشاهده شد و دژنراسیون و نکروز سلول‌های اپیتلیال لوله‌ای، آتروفی لوله‌ای و گلومرولی و انفیلتراسیون سلول‌های تک هسته‌ای مشاهده گردید.[۱۶] مطابق با یافته‌های مطالعه ما شواهد بافت‌شناسی حاکی از احتقان (پرخونی) و اتساع سلول‌های اطراف سینوس‌ها بود.

از محدودیت‌های این مطالعه می‌توان به عدم ارزیابی تغییرات آنزیم‌های کبدی و مارکرهای التهابی اشاره نمود.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که استفاده از کتامین در موش‌های صحرایی باردار با دوز و مدت زمان مختلف می‌تواند بر مورفولوژی کبدی نوزادان اثرگذار بوده و سبب آسیب کبدی گردد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه خانم مرضیه گودرزی برای اخذ درجه دکتری حرفه‌ای در رشته پزشکی عمومی از دانشگاه آزاد اسلامی واحد شاهرود بود. بین نویسندگان تضاد منافع وجود ندارد.

References

1. Li L, Vlisides PE. Ketamine: 50 Years of Modulating the Mind. Front Hum Neurosci. 2016 Nov;10:612. doi: 10.3389/fnhum.2016.00612.
2. Wiryana M, Sinardja IK, Budiarta IG, Senapathi TGA, Widnyana M, Aryabiantara IW, et al. Low dose ketamin. Bali J Anesthesiol. 2017;1(1):13-19. doi: 10.15562/bjoa.v1i1.4.
3. Radvansky BM, Shah K, Parikh A, Sifonios AN, Le V, Eloy JD. Role of ketamine in acute postoperative pain management: a narrative review. Biomed Res Int. 2015;2015:749837. doi: 10.1155/2015/749837.
4. Kokane SS, Lin Q. Impact of Early Life Ketamine Exposure on the Developing Brain and Cognitive Sequelae: A Discussion of Apoptotic Neurodegeneration Mechanisms. In: Preedy VR. Neuropathology of Drug Addictions and Substance Misuse. Academic Press. 2016; pp: 581-92. doi: 10.1016/B978-0-12-800212-4.00054-6.
5. Li X, Guo C, Li Y, Li L, Wang Y, Zhang Y, et al. Ketamine administered pregnant rats impair learning and memory in offspring via the CREB pathway. Oncotarget. 2017 May;8(20):32433-49. doi: 10.18632/oncotarget.15405.
6. Yu Y, Quan J, Zou M, Zhao W, Su Y, Xu Y. Effects of ketamine-induced H3K9 hypoacetylation during pregnancy on cardiogenesis of mouse offspring. Birth Defects Res. 2023 Apr;115(7):770-81. doi: 10.1002/bdr2.2168.
7. Dong C, Anand KJ. Developmental neurotoxicity of ketamine in pediatric clinical use. Toxicol Lett. 2013 Jun 20;220(1):53-60. doi: 10.1016/j.toxlet.2013.03.030.
8. Erol DD, Aytac I. Current anesthesia for Cesarean Section. Clin J Obstet Gynecol. 2018; 1: 061-066. doi: 10.29328/journal.cjog.1001011.
9. Kalsi SS, Wood DM, Dargan PI. The epidemiology and patterns of acute and chronic toxicity associated with recreational ketamine use. Emerg Health Threats J. 2011 Apr;4:7107. doi: 10.3402/ehtj.v4i0.7107.
10. Kalkan Y, Tomak Y, Altuner D, Tumkaya L, Bostan H, Yilmaz A, et al. Hepatic effects of ketamine administration for 2 weeks in rats. Hum Exp Toxicol. 2014 Jan;33(1):32-40. doi: 10.1177/0960327112472990.
11. Wahdan RAM, Ahmed SMA, Ali MS, Ibrahim MM, Mohamed HE. Abstract PR421: The Acute Effect of Ketamine On the Liver of Adult Male Albino Rats. Anesth Analg. 2016 Sep;123(3S):533-34. doi: 10.1213/01.ane.0000492808.31200.91.
12. Venâncio C, Antunes L, Félix L, Rodrigues P, Summavielle T, Peixoto F. Chronic ketamine administration impairs mitochondrial complex I in the rat liver. Life Sci. 2013 Oct;93(12-14):464-70. doi: 10.1016/j.lfs.2013.08.001.
13. Wong GL, Tam YH, Ng CF, Chan AW, Choi PC, Chu WC, et al. Liver injury is common among chronic abusers of ketamine.

Clin Gastroenterol Hepatol. 2014 Oct;12(10):1759-62.e1. doi: 10.1016/j.cgh.2014.01.041.

14. Wai MS, Chan WM, Zhang AQ, Wu Y, Yew DT. Long-term ketamine and ketamine plus alcohol treatments produced damages in liver and kidney. Hum Exp Toxicol. 2012 Sep;31(9):877-86. doi: 10.1177/0960327112436404.

15. Cheung HM, Chow TCH, Yew DTW. How Ketamine Affects Livers of Pregnant Mice and Developing Mice? Int J Mol Sci. 2017 May;18(5):1098. doi: 10.3390/ijms18051098.

16. Hashemnia M, Javedani M, Nikoosafat Z, Abdoli Jamoor S. [Study of Hematological, Biochemical and Histopathological Changes Due to Long-Term Administration of Ketamine in Rat]. JRUMS. 2018;17(7):639-56. [Article in Persian]

17. Shin J. Anesthetic Management of the Pregnant Patient: Part 2. Anesth Prog. 2021 Jun;68(2):119-27. doi: 10.2344/anpr-68-02-12.

18. Mendes PF, Simon KA, Hueza IM. Toxic and immunotoxic evaluation of ketamine and/or ethanol in rats during 28 days. Int J Pharm Pharm Sci. 2017;9(9):205-14. doi: 10.22159/ijpps.2017v9i9.20582.

19. Kartal S, Kip G, Küçük A, Aşçı SS, Erdem Ö, Arslan M, et al. The Effects of Dexmedetomidine and Ketamine on Oxidative Injuries and Histological Changes Following Blunt Chest Trauma. Drug Des Devel Ther. 2020 Jul;14:2937-43. doi: 10.2147/DDDT.S258921.

20. Finbarrs-Bello E, Ojo OP. Effect of Subanaesthetic Dose of Ketamine on Lungs Histology of Wistar Rat. IJRSB. 2018,6(6):1-4. doi: 10.20431/2349-0365.0606001.

21. Suckow MA, Stevens KA, Wilson RP. The laboratory rabbit, guinea pig, hamster, and other rodents. 1st ed. New York: Academic Press. 2012; pp: 593-611.

22. Yahyaei B, Babaei H, Khojasteh L, Arminfar A, Jorjani A, Jannati Toupkanloo K, et al. [Histopathological Study of the Kidney Tissue of Neonatal Rats Born From Mothers Receiving Short-term and Long-term Ketamine Injections]. JGUMS. 2024;32(4):308-17. doi: 10.32598/JGUMS.32.4.2089.1.

23. Veteläinen RL, Bennink RJ, de Bruin K, van Vliet A, van Gulik TM. Hepatobiliary function assessed by 99mTc-mebrofenin cholescintigraphy in the evaluation of severity of steatosis in a rat model. Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2006 Oct;33(10):1107-14. doi: 10.1007/s00259-006-0125-3.

24. Abdel-Salam OM, Youness ER, Mohammed NA, Abd-Elmoniem M, Omara E, Sleem AA. Neuroprotective and hepatoprotective effects of micronized purified flavonoid fraction (Daflon®) in lipopolysaccharide-treated rats. Drug Discov Ther. 2012 Dec;6(6):306-14.