42.Za'achowski, W. (2000). Pike In: M. Wyd. PWN, Warszawa,362-368 (in Polish). Freshwater fishes of Poland. (Ed.) Bryliñska,

فصلنامه علمی پژوهشی فیزیولوژی و تکوین جانوری
شماره پیاپی 29، جلد 8، شماره 2، بهار94، صفحه 23 تا 32

بررسی مقایسه‌ای اثرات مورفولین و سرم فیزیولوژیکی برپارامترهای خونی و بافت طحال درموش سفید(آلبینو) نر

نسیم نعیمی[1]، حمیدرضا عادلی[2]، کبری زارع[2]
1-عضو هیئت علمی (مربی) گروه زیست شناسی، دانشکده ی علوم، دانشگاه سیستان و بلوچستان، زاهدان. ایران.*nnaeimi@science.usb.ac.ir*
2- دانشجوی دکتری گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران. ایران.

تاریخ دریافت: 93/12/1 تاریخ پذیرش: 94/1/15

چکیده

زمینه و هدف:مورفولین ماده‌ای سمی با کاربرد فراوان در صنایع و کشاورزی است که ازطریق خوراکی، تنفسی و پوستی قابل جذب می‌باشد. این تحقیق با هدف بررسی اثرات مورفولین برپارامترهای خونی و بافت طحال درموش سفید نر6 هفته‌ای، انجام گردید.

روش کار:40 سرموش نر بالغ در4 گروه شاهد، سرم فیزیولوژیک(گروه شم)، تیمار*A* و *B* مورد مطالعه قرارگرفتند. گروه *A* تحت اثرخوراکی مورفولین(*mg/kg* 300) به مدت 15 روز، هر روز در یک نوبت به میزان0/1 میلی لیتراز محلول تهیه شده(0/09 میلی لیترمورفولین +0/91 میلی لیترآب مقطر) و گروه *B* نیز به صورت هم حجم با مورفولین و سرم فیزیولوژیکی به روش خوراکی به همان مدت تیمارشد. پس از توزین، بیهوشی و خون‌گیری، برخی پارامترهای خون و مطالعات ماکروسکوپی و میکروسکوپی طحال از طریق لام‌های تهیه شده، مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها:در گروه *A* افزایش معنی‌داری در تعداد گلبول‌های قرمز(7/6%)، هماتوکریت(21%)، چگالی پلاسما(25%) و هموگلوبین(10%)، وزن طحال(14/6%)، ضخامت دیواره شریانچه مرکزی پالپ سفید (30%) و کاهش معنی داری در ضخامت دیواره کپسول طحال و فیبری شدن آن(3/8%)، وزن موش‌ها(14/2%) نسبت به گروه شاهد و شم مشاهده شد، همه ویژگی‌های ذکر شده در گروه *B*(به جز ضخامت دیواره کپسول و وزن بدن) کاهش یافت و اختلاف معنی داری با گروه *A* داشت($p<0/05$).

نتیجه‌گیری:معنی‌داری رابطه نشان داد که مورفولین با دوزهای استفاده شده، باعث افزایش پارامترهای خونی، به هم ریختگی پارانشیم، التهاب، افزایش وزن طحال وکاهش وزن بدن موش‌ها شد و سرم فیزیولوژیکی اثرات مضر آن را کاهش می‌دهد.

واژه‌های کلیدی:مورفولین، سرم فیزیولوژیکی، فاکتورهای خونی، طحال، موش سفید نر.

مقدمه

مورفولین با فرمول شیمیایی C_4H_9NO(7)، مایعی فرار، روغنی، بدون رنگ با بویی شبیه آمونیاک است(9)که درآب و درسایر مواد مانند اتانول، متانول،استون، بنزن، کلروفرم و غیره محلول می باشد. این ماده باز قوی بوده که رطوبت هوا را جذب کرده و به سرعت درهوا تبخیر می‌شود(14). مورفولین در مواد آرایشی به عنوانافزودنی به رنگ موها، حالت دهنده‌ها و شامپوها مورد استفاده قرار می‌گیرد(19). مشتقات مورفولین با خاصیت باکتری‌کشی و علف‌کشی در کشاورزی مصارف زیادی دارد(29) و برای گندزدایی آب نیز از آن استفاده می‌گردد(18،23). درصنایع پلاستیک‌سازی(10،19)، به عنوان ضدزنگ در سیستم-های بخار(6)، واکس‌ها و جلادهنده‌ها(15)،پوشش‌های حفاظتی برای نگه‌داری میوه‌ها و سبزیجات و جلوگیری از زنگ‌زدگی قوطی‌های مواد غذایی استفاده می-شود(21). میوه‌ها، ازطریق واکس، جهت ماندگاری

www.SID.ir

بیشتر، پوشش‌های پیچیده شده دراطراف آن‌ها و بخارات دستگاه‌ها در جریان فرآوری مواد غذایی با مورفولین در تماس قرار می‌گیرند(22). مورفولین برای موادآلی مثل رنگ، رزین، واکس و جهت استفاده در صنعت رنگ سازی حلال خوبی است(۱۰،۷).علی رغم استفاده زیاد مورفولین در صنایع مختلف و کشاورزی، این ماده خواص سمی نیز دارد و از راه‌های خوراکی، تنفسی و پوستی اثر می‌کند(8). مورفولین با محلول آبی نیتریت واکنش داده وتولید ان- نیتروزو مورفولین می‌کند. خاصیت سرطان زایی تیمار خوراکی ان- نیتروزو مورفولین در موش، هامستر و انواع ماهی ها مورد مطالعه و سرطان کبد و ریه در موش، سرطان کبد و کلیه در رت و سرطان کبد در هامسترگزارش شده است(32). درگاواژ با مورفولین پالمیتات حدود 7% مورفولین از طریق مدفوع دفع می‌گردد(۳۲،۲۲). این ماده در تمام بافت‌های بدن منتشر و اثرات مخربی را بر بافت‌ها دارد(24). خون یک نوع بافت پیوندی سست است که ماده بنیادی آن مایعی به نام پلاسما و عناصر سلولی آن گلبول‌های قرمز، گلبول‌های سفید و پلاکت‌ها می باشند(17). هموگلوبین نزدیک به 95% از پروتئین داخل سلولی گلبول قرمز را تشکیل می دهد و اسکلت سلولی موجود در گلبول قرمز، نقش مهمی درتعیین شکل آن دارد(7). شکل مقعرالطرفین گلبول قرمز، نسبت سطح به حجم آنرا افزایش داده و به تبادل گازی کمک می-نماید(11، 3،9). اما در برخی مواقع، گلبول‌های قرمز شکل طبیعی خود را از دست داده و با سطح چین دار منظم که ناشی از عدم تناسب غشاء سلول با محتوای آن می‌باشد، مشاهده می‌شوند و به آن اکی نوسیت گویند، که بیشتر در اثر افزایش اسمولالیته خون و یا کاهش آدنوزین تری فسفات در گلبول های قرمز،در کم‌خونی-های همولتیک و کارسینوم معده گزارش شده است(9). گاهی گلبول‌های قرمز به صورت رشته‌های طویل به دنبال هم قرار گرفته و یا به صورت سکه‌هایی از پهلو به هم می‌پیوندند که به آن پدیده رولو گویند که در اثر افزایش فیبرینوژن وگلوبولین‌های پلاسما درحالت‌های التهابی و عفونت‌ها مشاهده می‌شود(12). طحال یک عضو لنفاوی با خواص مخصوص از جمله تولید لنفوسیت‌ها، تخریب اریتروسیت‌ها و دفاع از موجود زنده بوده که مانند ساختمان‌های لنفاوی به غیر از شبکه بافت رتیکولر، از سلول‌های لنفاوی، ماکروفاژ و سلول‌های عرضه کننده آنتی‌ژن تشکیل شده است(12). غلافی به نام کپسول که بافت طحال را احاطه کرده؛ ترابکولاهایی به داخل می فرستد و پارانشیم یا پالپ طحالی رابه قسمت‌های ناکامل تقسیم می کند. درترابکولاها رشته ارتجاعی بیشتر از کپسول است. از اجتماع ترابکولاها و بافت رتیکولر، داربست طحالی به وجودمی آید که برروی آن پارانشیم طحالی یعنی نسج اصلی قرار دارد(13). در بافت طحال دو ساختار مهم به چشم می خورد؛ بخشی به نام پالپ قرمز که دارای ساختمان‌های طویلی به نام طناب‌های طحالی(طناب‌های بیلروت) است و بین سینوزوئیدها قرار گرفته و اندوتلیوم سینوزوئیدی از سلول‌های پهن منفذ دار تشکیل شده که اجازه ارتباط راحت بین پالپ قرمز ومحیط داخل را فراهم می‌کند(2). جدار سینوس‌های طحال درداخل پالپ قرمز از سلول‌های اندوتلیال ناپیوسته که بین آن‌ها فاصله‌هایی وجود دارد، ساخته شده است(1). بخش دیگر یعنی، پالپ سفید نیز از شریان‌های مرکزی و نودول های لنفاوی تشکیل شده، شریانچه‌های مرکزی به همراه لنفوسیت‌های B در نودول‌های اطراف آن مشاهده می شود. از خصوصیات شریانچه مرکزی این است که شبکه‌ای از بافت رتیکولر قسمت اعظم ادوانتیس آن را تشکیل می‌دهد(2). در این تحقیق تلاش بر آن بود تا اثرات سمی مورفولین همراه با سرم فیزیولوژیکی برروی فاکتورهای خونی، بافت طحال و وزن بدن در موش‌های سفید نر، بررسی شود.

Archive of SID

www.SID.ir

مواد وروش ها

این پژوهش بر روی 40 موش سفید نر نژاد *Albino NMRI*(انستیتو پاستور ایران) با وزن تقریبی 25 تا 30 گرم انجام گرفت. هر 5 موش در یک قفس و در شرایط کنترل شده از نظر دما و نور با دسترسی آزاد به آب و غذای مخصوص موش در اتاق مخصوص حیوان‌ها به مدت یک هفته پیش از آغاز آزمایش‌ها نگهداری شدند. حیوان‌ها به‌صورت تصادفی به گروه های زیر تقسیم شدند:

شاهد، سرم فیزیولوژیکی(گروه شم)، گروه *A*و *B*که به ترتیب به صورت خوراکیحلال + مورفولین، و حلال + مورفولین +سرم فیزیولوژیک دریافت کردند.در این آزمایشات به موش‌های نر 6 هفته‌ای در مدت 15 روز و هر روز به مقدار0/1میلی لیتراز محلول مورفولین (009/میلی لیترمورفولین + 091/ میلی لیتر آب مقطر) بهمیزان *mg/Kg* 300 وزن بدن خورانده شد(گروه تیمار*A*)(32،27، 22) و درموش‌های گروه مورفولین + سرم فیزیولوژیکی(گروه تیمار*B*) به‌صورت هم‌حجم با محلول مورفولین،10دقیقه پس از خورانده شدن مورفولین، سرم فیزیولوژیکیحاوی الکترولیت‌های سدیم(*m.Eq/l* 147/5)، پتاسیم(*m.Eq/l* 4)، کلسیم(*m.Eq/l* 4/5) و کلرید(*mEq/l* 156)، جهت تیمار، موش‌ها به روش خوراکی استفاده شد(۱۶،۱۴).مورفولین و سرم فیزیولوژیکیبا سرنگ انسولین و نیدل گاواژ نمره 20 خریداری شده از شرکت رازی رادایران به روش گاواژ وارد معده موش‌ها شد و گروه‌های شاهد تحت اثرهیچ ماده‌ای قرار نگرفتند و به گروه شم فقط سرم فیزیولوژیکی داده شد. در طول مدت تیمار، وزن موش‌ها هر روز اندازه‌گیری و برای بالا رفتن دقت، گاواژها در ساعت مشخصی از روز صورت گرفت.

خون‌گیری ،رقیق کردن و شمارش گلبول‌ها

درخاتمه هردوره آزمایشی(15 روزه)(۲۴،۱۴)، پس از بیهوش کردن موش‌ها با اتر و تشریحجانور، با سرنگ 2 میلی‌لیتری که به ماده ضد انعقاد *EDTA*آغشته شده بود، از دهلیزراست قلب موش، خون‌گیری به‌عمل آمد. سپس یک قطره خون رقیق شده در ملانژور قرمز برروی لام نئوبار ریخته و با میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی 400× تعداد گلبول‌های قرمز مورد شمارش قرار داده شد.

اندازه‌گیری درصد حجمی گلبول‌های قرمز با روش میکروهماتوکریت

حجم کل عناصر سلولی خون موجود درحجمخاصی از خون پس ازسانتریفوژ با روش میکروهماتوکریت به‌صورت درصدحجمی گلبول‌های قرمز محاسبه شد.

اندازه گیری هموگلوبین با روش سالی

برای اندازه گیری هموگلوبین بهروش سالی(26)، با استفاده از پیپت سالی،20 میکرولیتر از خون حاوی *EDTA* به یک لوله هومترکه تا درجه 2 آن اسید کلریدریک0/1 نرمال داشت، انتقال و آن‌قدر به آن آب مقطر اضافهگردید تا رنگ محلول در لوله وسط با رنگ لوله‌های کناری تقریباً یکی شود.سپس درجه سطح محلول خوانده و مقدار هموگلوبین را بر حسب گرم در دسی‌لیتر محلول خون تعیین گردید.محلول اسید کلریدریکگلبول‌های قرمز را همولیز کرده و موجب آزاد شدن هموگلوبین‌می‌شود. هموگلوبین با اسیدکلریدریک، تولید اسید هماتینقهوه ای رنگ می‌نماید که شدت رنگ آن بستگی به غلظت هموگلوبین موجود در خون مورد آزمایش دارد(۲۰،۱۵) سپس این محلول با محلول استاندارد سالی مقایسه شد.

اندازه گیری چگالی سرم

چگالی سرم به وسیله دستگاهی به نام رفراکتومتر سنجیده شد، که اساس کار آن بر مبنای شکست نور هنگام برخورد با جامدات است. چون اعداد این ستون از 1/000 که چگالی آب است تا عدد 1/040 بر حسب گرم بر سانتی متر مکعب درجه بندی شده است و معمولاً

Archive of SID

www.SID.ir

چگالی پلاسما در گروه‌های تیمار از 1/040 بیشتر است، جهت رقیق نمودن نمونه به آن 10 میکرولیتر آب اضافه و عدد به‌دست آمده در 2 ضرب گردید.

مطالعات بافتی

روش‌های مختلفی برای تهیه‌ی مقاطع بافتی وجود دارد، ولی متداول‌ترین وآسان‌ترین روش، پاساژ به وسیله‌ی پارافین جامد است، که شامل برداشت طحال و شماره‌گذاری، فیکساسیون، آبگیری، شفاف‌سازی، آغشته‌سازی، قالب‌گیری، برش‌گیری، رنگ‌آمیزی، پارافین‌گیری، آب‌دهی و چسباندن بود(۵،۴،۳).در پایان نمونه‌های تهیه شده مورد بررسی میکروسکوپی قرار گرفتند تا تغییرات ساختاری آنها مشخص شود و از نمونه‌ها توسط میکروسکوپ و لوپ که به دوربین دیجیتال مجهز بود، عکس تهیه و با استفاده از نرم افزار موتیک بخش‌های مورد نظر بر اساس واحد میکرومتر اندازه‌گیری شد.

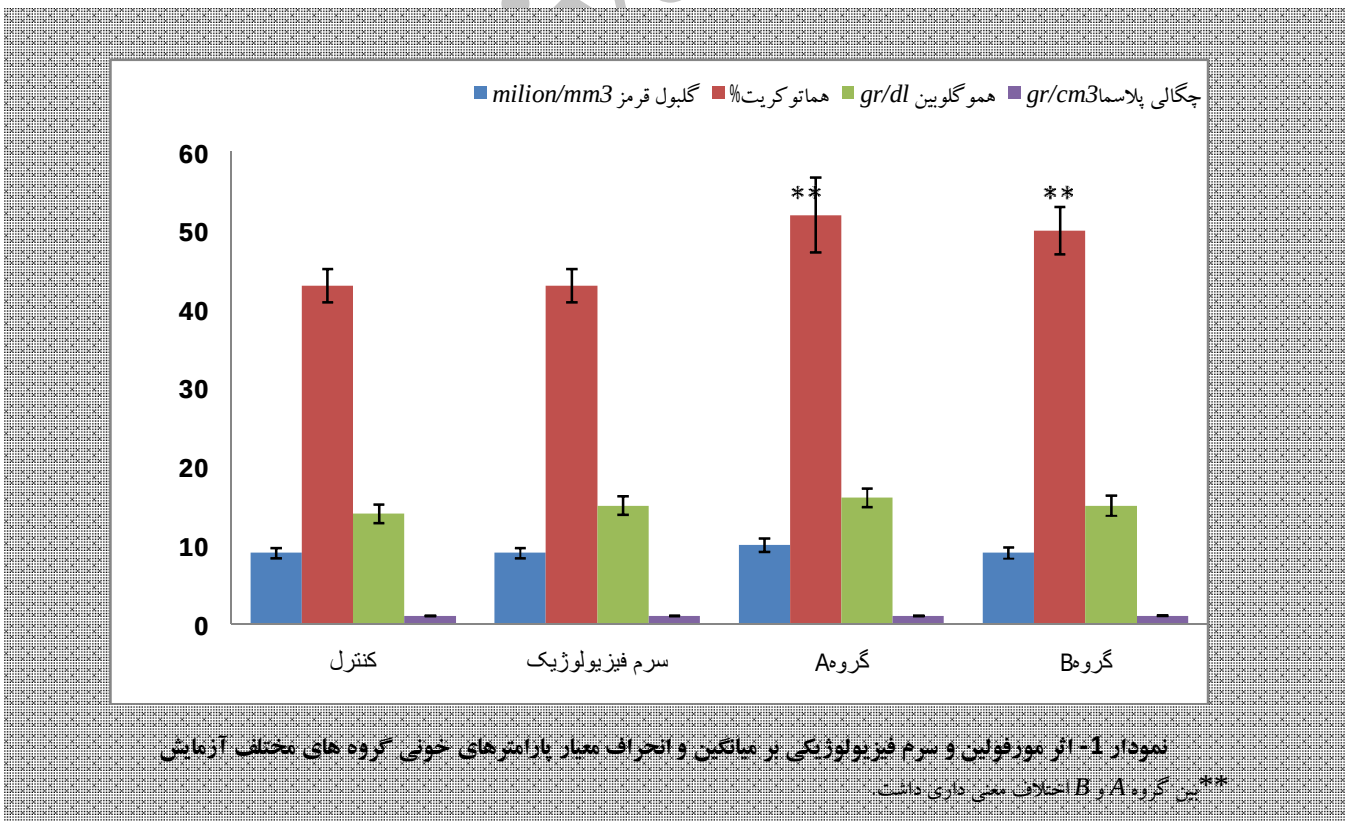
تحلیل آماری

برای تحلیل آماری داده‌هایحاصل از فاکتورهایخونیو بافت طحال، تجزیه واریانس یکطرفهبرایمقایسهگروه‌ها وجهت بررسی تفاوت‌های درون گروهی ومقایسه میانگین‌ها ازآنالیز *Post hoc* از نوع آزمون توکای استفاده شد. نتایج به صورت *Mean ± SEM* ارائه گردید و 0/05 >*P* اختلاف معنی‌داردر نظر گرفته شد.رسم نمودارها به کمک برنامه آماری اکسل صورت گرفت.

نتایج تغییرات

پارامتر های خونی

نتایج این مطالعه نشان داد که اختلاف معنی داری بین میانگین و انحراف معیار در چگالی پلاسما، بین گروه تیمار *A*، *B* با گروه کنترل و شاهد وجود دارد(*P*<0/05) (تغییرات پارامترهای خونی، بین گروه شاهد با سرم فیزیولوژیکی بسیار کم، یا بدون اختلاف بود)(نمودار 1).



نمودار 1- اثر مورفولین و سرم فیزیولوژیکی بر میانگین و انحراف معیار پارامترهای خونی گروه های مختلف آزمایش

**بین گروه *A* و *B* اختلاف معنی داری داشت.

Archive of SID

www.SID.ir

تغییرات پارامترهای طحال

مطالعات میکروسکوپی و اندازه‌گیری‌ها نشان داد که اختلاف میانگین ضخامت کپسول طحال درگروه‌هایشاهد و سرم فیزیولوژیکی بسیار ناچیز بوده ولی این مقدار در گروه تیمارA و تیمارBکاهش معنی داری را در گروهمورفولین نشان داد($P<0/05$). هم چنین کپسول طحال گروه تیمارA به نسبت گروه های دیگر فیبری‌تر شده و از بافت طحال فاصله گرفته است. بررسی‌های ضخامت دیواره شریانچه مرکزی پالپ سفید در گروه تیمارA و B افزایش معنی‌داری را نسبت به هم نشان داد($P<0/05$). اما در گروه شاهد و سرم فیزیولوژیکی ضخامت دیواره شریانچه تغییر محسوسی نداشت(جدول 1).مطالعات بافت‌شناسی و میکرسکوپی، افزایش ضخامت شریانچه مرکزی پالپ سفید، کاهش ضخامت کپسول، جداشدن از بافت طحال و فیبروز بافت کپسول و ترابکولار رادر گروه تیمار A نسبت به گروه شاهد و تیمارB نشان می‌دهد(در گروه سرم فیزیولوزیک تغییرات محسوسی مشاهده نشد)(اشکال 1 و2).

جدول 1- اثر مورفولین و سرم فیزیولوژیکی بر میانگین و انحراف معیار پارامترهای اندازه گیری شده در بافت طحال موش های سفید نر نژادآلبینودر گروه‌های مختلف آزمایش

ضخامت (μm)	گروه کنترل	سرم فیزیولوژیک	گروه A	گروه B
کپسول طحال	131/04±0/03	131/04±0/03	126/11±0/04*	130/07±0/2**
دیواره شریانچه مرکزی طحال	80/06±0/04	80/04±0/02	104/8±0/04*	90/05±0/03**

*اختلاف معنی‌دار در سطح($P< 0/05$)بین گروه Aبا گروه شاهد و شم

** اختلاف معنی‌دار در سطح($P< 0/05$)بین گروهBوA

تغییرات وزن طحال

وزن طحال در گروه تیمارA و تیمارB به طور مستقل کاهش نشان داد. میانگین وزن طحال در گروه B به ترتیب 16 و 15 گرم بود، اما با توجه به کاهش وزن بدن در گروه مورفولین نسبت وزن طحال به وزن بدن در گروه A به 18 گرم رسید و در گروه B کاهش نسبت وزن طحال نسبت به وزن بدن مشاهده شد. این رابطه بین گروه تیمار A با گروهB، شاهد وسرم فیزیولوژیکی معنی داربود($P<0/05$)(نمودار2).

تغییرات وزن بدن

در طی دوره پانزده روزه، میانگین وزن موش‌های شاهد و سرم فیزیولوژیک از 28 گرم به 33گرم رسید. در حالی‌که موش‌های گروه تیمارA کاهش وزن داشته و وزن آن‌ها به 24 گرم رسید. وزن موش‌های گروه تیمارBبه 30 گرم رسیدند. این افزایش وزن درموش‌های شاهد، سرم فیزیولوژیک، گروه تیمارB و کاهش وزن در موش‌های گروه تیمارA نسبت به وزن اولیه، در سطح $P< 0/05$ معنی دار بود(نمودار3).

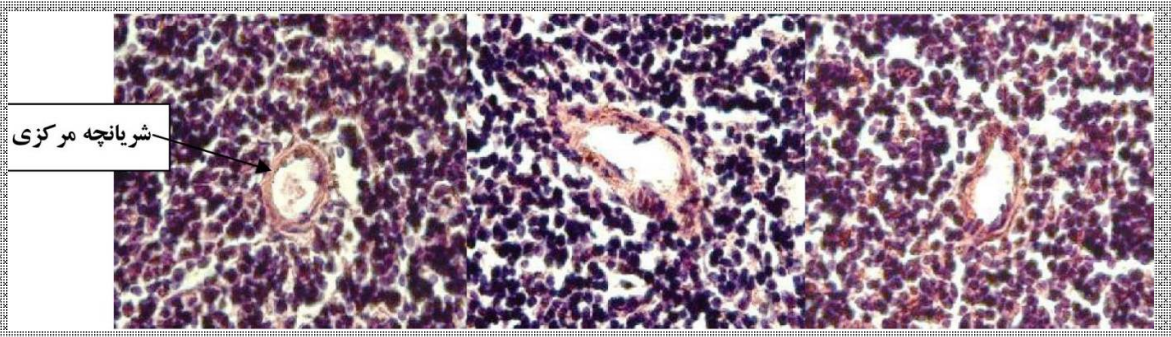
بحث و نتیجه گیری

مورفولین ترکیبی شیمیایی با کاربردهای متفاوت از طریق خوراکی، تنفسی و پوستی جذب شده و باعث آسیب بخش‌های مختلف بدن حیوانات یا انسان می-شود(7). گزارشات نشان داده که مورفولین در قسمت-های مختلف بدن موش‌هایی که اولئیک اسید مورفولین(gr/Kg 1 وزن بدن) را به صورت گاواژ در طی 5 روز متوالی دریافت نمودند، یافت شده است(24). استعمال خوراکی مورفولیندر رت‌ها به صورت gr/Kg 2 وزن بدن، باعث خون‌ریزی بینی وگوارشیگردیده(17)و دوز

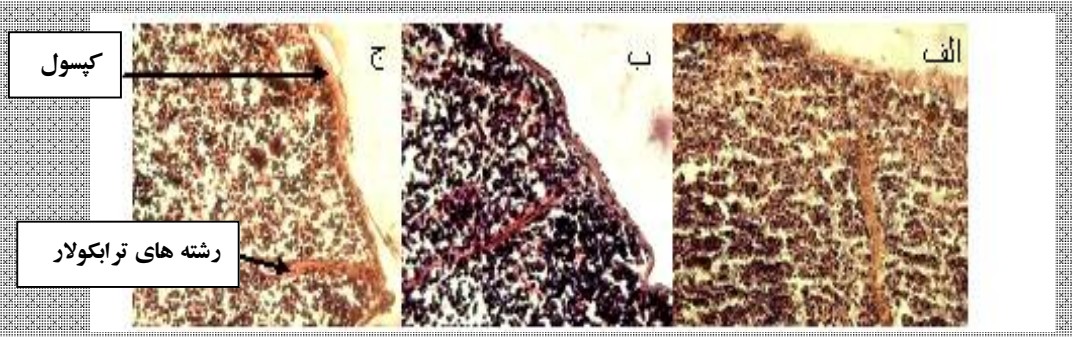
Archive of SID

www.SID.ir

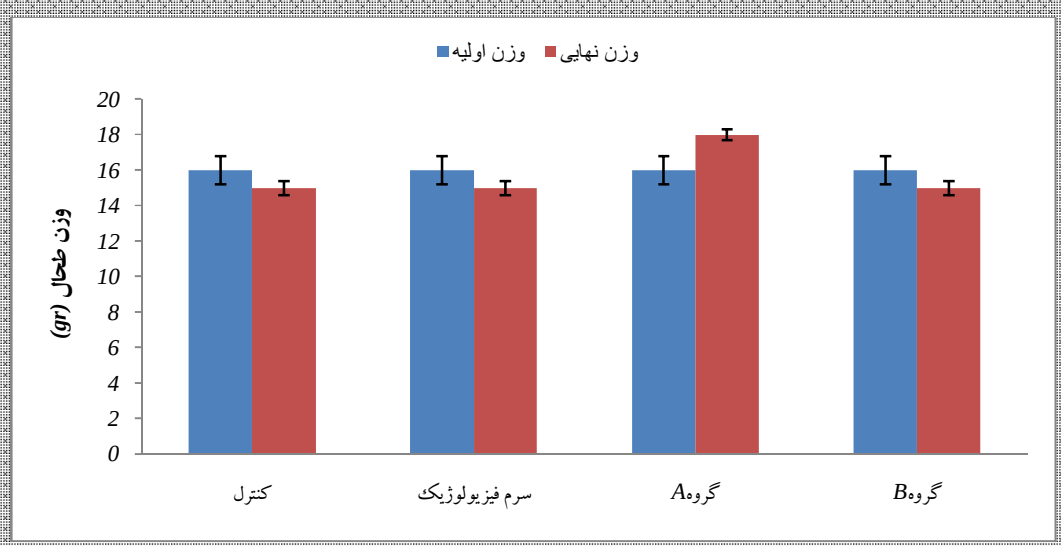
کشنده خوراکی در موش ها(LD_{50}) برای مورفولین 525 mg/Kg وزن بدن برده است(32، 27،22).



شکل 1-اثر افزایشی مورفولین بر ضخامت شریانچه مرکزی پالپ سفید طحال موش های سفیدنر نژاد آلبینو در گروه‌های مختلف آزمایش الف)شاهد، ب) تیمارA، ج) تیمارB(1000×)



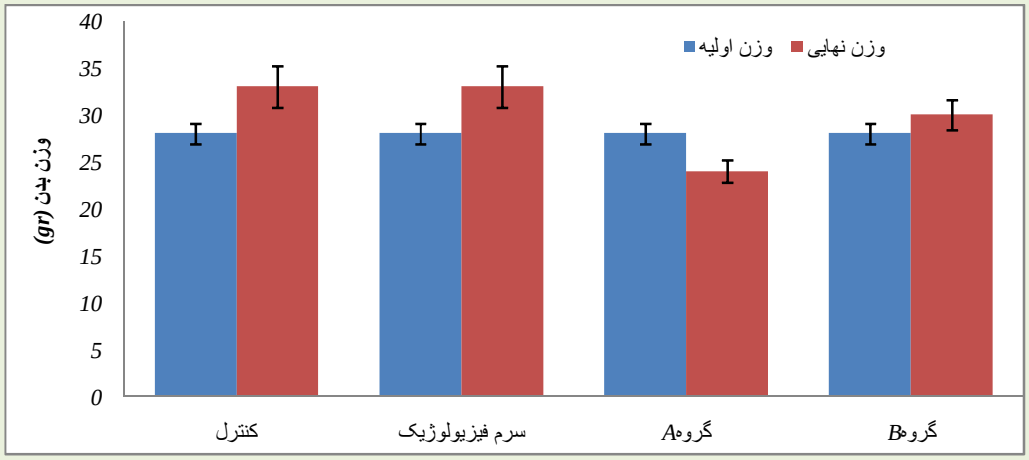
شکل 2- اثر کاهشی مورفولین بر اندازه کپسول و فیبری شدن رشته های ترابکولار پالپ سفید و قرمز طحال موش های سفیدنردر گروه‌های مختلف آزمایش الف)شاهد، ب) تیمارA، ج) تیمارB(400×)



ن

نمودار2- اثر مورفولین و سرم فیزیولوژیکی بر میانگین و انحراف معیار وزن طحال نسبت به وزن بدن موش در گروه‌های آزمایش

www.SID.ir



نمودار3-اثر مورفولین و سرم فیزیولوژیکی بر میانگین و انحراف معیار وزن بدن موش گروه‌های آزمایش

وان و همکارانش، به 6 گروه خرگوش نیوزلندینر 5 میلی‌مول مورفولین نشان‌دار با کربن14 به میزان *mmol/kg* 435 به صورت وریدی تزریق نمودند و بررسی پراکنش فعالیت رادیواکتیو بعد از 30 دقیقه نشان داد که بالاترین غلظت‌ها درقشر کلیوی *36mmol/kg*، ریه‌ها *1/5mmol/kg* و کبد *7/4 mmol/kg* وخون *mmol/litre* 3/2 بود و مورفولین با پروتئین‌های پلاسما اتصال برقرار نکرد(31).در این تحقیق نیز مورفولین اثرات مختلفی بر فاکتورهای خونی و بافت طحال داشت. بررسی میانگین تعداد گلبول‌های قرمز در موش‌های سفید نر گروه تیمار *A*(تیمار مورفولین) *10/13 milion/mm*^{3} بود که افزایشی در حدود 7/6% را نسبت به کنترل نشان دادکه این افزایش در نمونه‌های گروه تیمار *B*(مورفولین همراه با سرم فیزیولوژیکی) با میانگین *9/62 milion/mm*^{3} در حدود 2/03 % بود. افزایش معنی‌دار($P<0/05$) در این دو گروه، چندان به فعالیت مراکز خون‌سازی مربوط نیست زیرا در جریان استرس حاصل از مورفولین، اریتروسیتوز کاذب به وجود آمده و خون بخشی از مراکز خون‌ساز وارد خون محیطی شده است، البته ترشح کورتیزول نیز می‌تواند باعث افزایش نسبی گلبول‌های قرمز شود(20).حجم کلی خون در یک موش بالغ با وزن تقریبی 22 گرم، 5/5 الی 8 درصد وزن بدن و یا به طور متوسط 2 سانتی‌متر مکعب است. نسبت وزن خون به وزن بدن نیز تقریباً 1 به 12 است(10). هماتوکریت به معنی نسبت حجم گلبول‌های قرمز به حجم خون است(2) و به طور کلی وقتی تعداد گلبول‌های قرمز و هموگلوبین کاهش پیدا کند هماتوکریت نیز پایین می‌آید. مقدار هماتوکریت در نژادهای مختلف موش در حدود 42% گزارش شده است(26) و تغییر شکل گلبول‌های قرمز و افزایش حجم آن‌ها می‌تواند در افزایش هماتوکریت موثر باشد.در این تحقیق، میانگین درصد حجمی گلبول‌های خونی نسبت به کل پلاسمای خون(هماتوکریت) افزایش قابل ملاحظه‌ای در موش‌های تیمار شده نشان داد،که از 43/04% در گروه شاهد به ترتیب به52/1% و 50/07% در گروه‌های تیمار*A* و *B* رسید و در گروه سرم فیزیولوژیکی تغییری ایجاد نشد. این افزایش در مورد گروه تیمار *A*(21%)و تیمار*B*(16%) و نسبت به هم معنی-دار بود($P< 0/05$)که می تواند ناشی از اضافه شدن تعداد گلبول‌های قرمز و نیز کاهش آب خون باشد(20). ضمن این‌که معنی‌داری ارتباط گروه شاهد با گروه تیمار *A* نیز می‌تواند به همین علت باشد. بنابراین با افزایش گلبول قرمز، به همان نسبت هماتوکریت نیز افزایش یافت، که مطابق با پژوهش‌های گذشته بود.در بررسی چگالی پلاسما با میانگین *1/05 gr/cm*^{3} افزایشی در حدود 25% در موش‌های گروه*A*و 20% در موش‌های گروه*B*با میانگین *1/04 gr/cm*^{3} مشاهده شد،که معنی‌داری گروه

Archive of SID

www.SID.ir

شاهد با گروه A و این گروه با گروه B می‌تواند ناشی از کاهش آب بدن و آزاد شدن اجزای بافتی و املاح حاصله از آن در خون باشد.هموگلوبین موجود درگلبول‌های قرمزمی‌تواند، حداکثرتا 34 گرم به ازای صدمیلی‌لیتر سلول تغلیظ(3)و میزان هموگلوبین خون موش g/dl 16/3 - 10/9شود(26).

معمولاً افزایش تعداد گلبول‌های قرمز و هماتوکریت با افزایش هموگلوبین خون درگلبول‌های قرمز نیز همراه است. در این تحقیق نیز میانگین هموگلوبین در گروه شاهد، A و B به ترتیب gr/dl14/81، 16/31و 15/11 بود که این افزایش در موش‌های گروه تیمار A در حدود 10% و در گروه تیمارB 2% و معنی داری آن در گروه-های شاهد با گروهA و گروه‌های A، B باهم مربوط به تغلیظ هموگلوبین و کاهش آب بدن می‌باشد(20). حضور کم و بیش گلبول‌های قرمز اکی‌نوسیت و گلبول-های قرمز رولو در گسترش خونی در این بررسی قابل ملاحظه بود. سرم فیزیولوژیکی می‌تواند به عنوان ماده‌ای که اثرات سمی مورفولین رادر بدن ضعیف کند، مورد استفاده قرار گیرد(16). در طی دوره تیمار وزن موش‌های گروه‌های A و B، به علت اثرات سمی مورفولین دربافت خون و طحال، کاهش تغذیه و در نتیجه کاهش جذب مواد غذایی متغیر بود. در گروه Aکاهش 14/2%، ولی در گروهB افزایش وزنی به میزان8/9% به وجود آمد، و موش‌های شاهد و سرم فیزیولوژیکی حدود17/8% افزایش وزن داشتند. اثرات کاهش وزن مورفولین در مطالعات دیگر نیز شبیه به نتایج مطالعه حاضر بود. درمطالعه *Tombropoulos* و همکارانش استعمال مورفولین($0/7g/Kg$) به صورت خوراکی باعث کاهش وزن بدن وهیپرپلازی اپیتلیوم معده شده است(30).در مطالعه دیگری، تیمار اولئیک اسید مورفولین با غلظت-های0/25% و 1% به آب آشامیدنی موش‌ها در طی 672 روز، باعث کاهش وزن بدن در تیمار1% در هر دو جنسو با غلظت 0/25% اولئیک اسید مورفولین درجنس ماده گردید(25)، که با نتایج تحقیق ما هم‌خوانی داشت.بررسی بافت طحالدر گروهتیمار A به هم ریختگی نسبی درپارانشیم پالپ سفید و قرمز را نشان داد. التهاب حاصله ناشی ازافزایش قطررگ‌های خونی وتوسعه شبکه مویرگی بود. بر اساس مطالعات بافتی ضخامتکپسول طحال در تیمارهای گروه A کاهش نسبی در حدود 3/8% نشان دادودنباله کپسول طحال که به صورت ترابکولار در ساختار درونی طحال نفوذ می‌کند ساختار فیبری پیدا نموده و دراغلب نقاط دیواره، کپسول ازطحال جداشده وفاصله گرفته بود، ولی این کاهش در گروه B قابل ملاحظه نبود.انشعابات رگ‌های خونی به صورت سینوزوئید درپالپ قرمز گروهA نسبت به نمونه شاهد گسترده‌تروفراخ‌ترشده بود. همراه با افزایش قطر شریانچه مرکزی درون پالپ سفید، دیواره آن نیز ضخیم شد، به طوریکه در گروه A افزایش 30% و درگروه B، 12/5%بود.با بررسی وزن طحال، قبل و بعد از تیمار، کاهش در وزن طحال‌های گروه‌های تیمار A و B مشاهده شدکه این امر می تواند نشانه‌ای از تحلیل یا تخریب نسبی ساختار طحالی باشد. اما به دلیل کاهش وزن بدن در گروه تیمارA، نسبت وزن طحال به وزن بدن در حدود 14/6% افزایش نشان داد که در گروه تیمار B نسبت وزن طحال به وزن بدن 3/8% کاهش یافت. مورفولین(و متابولیت‌های حاصل از آن) ماده‌ای است که در زندگی روزمره ناخواسته با آن سروکار داشته و با توجه به نتایج به دست آمده، این ماده با افزایش تعدادگلبول‌های قرمز، هماتوکریت، چگالی سرم، هموگلوبین خون باعث برهم خوردن تعادل فاکتورهای خون شده و با به‌هم‌ریختگی بافت پارانشیمی، التهاب و کاهش وزن طحال و وزن بدن در موش‌های سفید نراختلالات زیادی ایجاد می‌نماید، که اگر این عوارض به 28انسان تعمیم داده شود برای سلامت بسیار مضر بوده

Archive of SID

www.SID.ir

و عامل تحریکی برای ایجاد بیماری‌ها و مشکلات دیگر می‌باشد، البته استفاده از سرم فیزیولوژیکی تمامی این عوارض را کاهش داده و می‌توان به عنوان ماده ای مفید در کنار مورفولین از آن استفاده کرد. بنابراین باید صنایع و بخش های استفاده کننده از مورفولین و مشتقاتش از طریق مراکز مرتبط با سلامت و واحدهای نظاره‌گر بهداشتی، نسبت به استفاده مجاز این ماده، اطلاع‌رسانی کنند و درپی یافتن ماده‌ای جایگزین و بی‌ضرر مانند سرم فیزیولوژیکی که کاهنده عوارض مورفولین است، تحقیقات واقدامات لازم انجام گردد.

منابع

1-بهادری، م. 1376. بافت شناسی پایه. انتشارات ارجمند. ص360-353.

2-شمس لاهیجانی،م. 1385. بافت شناسی جانوری.انتشارات پیام نور. ص 108- 103.

3-مشفقی. م.، حسینی. ا.، وحدتی. ا.، مشفقی، ز. 1393. بررسی اثرات دگزامتازون در دوران بارداری بر تکوین و عملکرد بافت تخمدان فرزندان بالغ نسل اول موش‌های صحرایی، فصلنامه فیزیولوژی و تکوین جانوری زنجان. جلد 7 شماره2:ص30-23.

4-مقدسی، غ.1390. هیستوتکنیک در آزمایشگاه.مجله آموزش (آزمایشگاه)، دوره24، شماره 3:ص5-1.

5.*Bancroft, J.K., Gamble, M. (2002). Theory and practiceof histological techniques. 5th Ed. Churchil LivingStone, London, 4; 152-155.*

6.*Brown, A.R. (1966). Morpholine: itsproperties and uses. Manuf, Chem, Aerosol, News, Dec, 50-52.*

7.*Fleck, C., Karge, E., Loy, S., Wennek-Klose, J., Listing, M., Oelschläger, H. (2003). Local anaesthetic effects and toxicity of seven new diethanolamine and morpholine derivatives of fomocaine. Testing in rats compared with procaine and tetracaine. Arzneimittelforschung, 53(3); 221-8.*

8.*Grant, W.M. (1974). Morpholine. in: toxicology of the eye. 2nd ed. Sringfield Illinois Charles C, Thomas, l(2); 722-723.*

9.*Harper, H.A., Murray, R.K., Granner, DK., Mayes, P.A., Rodwell, V.W. (2000). Harper's Biochemistry, 44-60.*

10.*Heilen,G., Mercker, H.J., Frank, D., Reck, R.A., Jäckh, R. (1989). Amines,aliphatic. In: Ullmann's encyclopedia of industrial chemistry. 5th ed. Weinheim, VCH Verlagsgesellschaft A2, 1-36.*

11.*IARC. (1999). Morpholine. in: some organic solvents, resin monomers and related compounds, pigments and occupational exposures in paint manufacture and painting. Lyon, International Agency for Research on Cancer, 199-213.*

12.*Junquira, L.C., Carneiro, J., Kelley, R. O. (1995). Basic histology. Appleton and Lange New York, 245-289.*

13.*Junquira, L. C., Carneiro, J., Kelley, R. O. (2002). Basic histology. Appleton and Lange, New York8, 112-137.*

14.*Lupp, A., Karge, E., Wange, J., Eisentraut, C., Zwenizner, T. (2006). In vitro interactions with the cytochrome p450 system, toxicity, and local anaesthetic effects of fomocaine alkyl morpholine derivatives in rats. Arzneimittelforschung, 56(6); 369-76.*

15.*Lupp, A., Wange, J., Oelschläger, H., Fleck, C. (2006). Pharmacological and toxicological testing of the enantiomers of two chiral fomocaine alkylmorpholine derivatives in comparison to their in vitro interactions on drug metabolism in rats. Arzneimittelforschung, 56(1); 1-11.*

16.*Marion, N., Gleason, D., Robert, E., Harold, C. (1957). Clinical toxicology of commercial products. Acute Poisoning Home and Farm, 245-264.*

17.*Martini, F. (2001). Fundamental of anatomy and physiology. Prentice-Hall, London, 87-102.*

18.*Mercer, EI. (1991). Morpholine antifungals and their mode of action. Biochem. Soc. Trans., 19; 788-793.*

19.*Mjos, K. (1978). Cyclic amines. In: kirk-othmer encyclopedia of chemical technology 3rd ed. New York, John Wiley and Sons., 2; 295-308.*

20.*Mlekusch,W., Truppe, W. (1975). The effect of hunger on free fatty acids and corticostrone plasma levels in rats. Experience, 15; 1135-7.*

21.*NIOSH. (1999). Manual of analytical methods, 2nd ed. Cincinnati, Ohio, National*

Archive of SID

www.SID.ir

Institute for Occupational Safety and Health 3, S150/1-S150/9.

22.*Ohnishi, T. (1984). Morpholine. Studies on mutagenicity of the food additive morpholine fatty acid salt. Nippon Eiseigaku Zasski, 39; 729-745.*

23.*Rekka, E., Retsas, S., Demopoulos, VJ., Kourounakis, PN. (1990). Lipophilicity of some substituted morpholine derivatives synthesized as potential antinociceptive agents. Arch Pharmacol, 323; 53-56.*

24.*Sander, J., Bürkle, G. (1969). Induction of malignant tumours in rats by simultaneous feeding of nitrite and secondary amines. Z. Krebsforsch, 73; 54-66*

25.*Shibata, M-A., Kurata ,Y., Ogiso, T., Tamano, S., Fukushima, S., Ito, N. (1987). Combined chronic toxicity and carcinogenicity studies of morpholine oleic acid salt in B6C3F$_1$ mice. Food Chem Toxicol, 25; 569-574.*

26.*Suckow, M. A., Danneman, P., Brayton, C. (2001). The laboratory mouse. CRC., London, 45-52.*

27.*Symth, HFJr., Carpenter, CP., Weil,CS., Pozzani, UC.(1954).Range – finding toxicity data. Arch. Ind. Hyg. Occup. Med., 10; 61–68.*

28.*Tanaka, A., Tokieda, T., Nambaru, S., Osawa ,M., Yamaha ,T. (1978). Excretion and distribution of morpholine salts in rats. J Food Hyg Soc, 19: 329-334.*

29.*Texaco. (1986) .Texaco product brochure - morpholine. Austin, Texas, Texaco Chemical Company, Research and Technical Services, 29.*

30.*Tombropoulos, EG., Koo, JO., Gibson, W., Hook, GER. (1983). Induction by morpholine of lysosomal alpha-mannosidase and acid phosphatase in rabbit Alveolar macrophagesin vivoand in vitro. Toxicol. Appl. Pharmacol., 70; 1-6.*

31.*Traut-Johnstone. T., Kriel, F., Hewer, R. D., Bradley, G. W. (2014). 4-3-Azaniumylpropyl morpholin-4-ium chloride hydrogen oxalate: an unusual example of a dication with different counter-anions. Acta. Crystallogr. C. Struct. Chem., 6;70(Pt 12);1121-4.*

32.*Van Stee, EW., Wynns, PC., Moorman, MP. (1981). Distribution and disposition of morpholine in the rabbit. Toxicology, 20; 53-60.*

Archive of SID

www.SID.ir