فصلنامه

زیست شناسی تکوینی

سال اول، شماره ۲، بهار ۱۳۸۸

اثرمورفین خوراکی بر تکوین جفت در موش Rat نژاد ویستار

معصومه کاظمی*[۱]، مهناز آذرنیا[۲]، هدایت صحرایی[۳و۴]

۱-کارشناس ارشدجنین شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، گروه زیست‌شناسی

(عهده دار مکاتبات) mkazemih@ yahoo.com

۲- دانشیار جنین شناسی، دانشگاه تربیت معلم، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، گروه زیست شناسی

۳- دانشیار فیزیولوژی اعصاب، دانشگاه علوم‌پزشکی بقیه‌الله (عج)، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی و بیوفیزیک

۴- دانشگاه علوم‌پزشکی بقیه‌الله (عج)، مرکز تحقیقات علوم‌اعصاب کاربردی

چکیده

مطالعات نشان داده است که مصرف مورفین در طی بارداری می‌تواند موجب تأخیر درتکوین جفت و جنین و همچنین ایجاد نقایص جنینی گردد. این پژوهش به بررسی اثر مصرف مورفین برتکوین بخش های مادری و جنینی جفت می پردازد. موشهای بزرگ آزمایشگاهی نژاد ویستار با محدوده وزنی ۱۷۰-۲۰۰ گرم استفاده شد. گروه‌های تجربی پس از بارداری، مورفین را با دوز mg/ml ۰۵/ در آب آشامیدنی دریافت نمودندو گروه کنترل آب آشامیدنی دریافت می‌کردند.گروه های تجربی و گروه های کنترل درروز ۹ بارداری با کلروفرم بی‌هوش شده وجفت به همراه رحم طی عمل جراحی از بدن حیوان خارج و به منظور فیکس شدن به مدت بیست روز در محلول فرم آلدئید ۱۰٪ قرار گرفتند. سپس جفت های فیکس شده مراحل پردازش بافتی، برش‌گیری، رنگ‌آمیزی با روش هماتوکسیلین-ائوزین را طی کردند جفت از نظر ضخامت لایه بخش (مادری وجنینی) جفت ها و تعداد حوضچه های خونی بخش (مادری و جنینی) و تعداد سلول های بخش (جنینی و مادری) وضخامت دیواره رحمی مورد بررسی میکروسکوپی قرار گرفتند. برای تعیین تفاوت در دوگروه از نرم افزار موتیک وspss استفاده شد. **مقایسه** ضخامت بخش مادری و بخش جنینی جفت در گروه تجربی نسبت به گروه کنترول اختلاف معنی داری را نشان داد ($p<0.05$) افزایش سلول های بخش مادری وجنینی جفت همچنین کاهش تعدادحوضچه ها خونی بخش مادری درگروه آزمایش نسبت به گروه کنترول می باشد نیز ضخامت دیواره رحمی درگروه تجربی کاهش یافته است.

واژه های کلیدی: بخش جنینی جفت، بخش مادری جفت ،حوضچه های خونی. مورفین، موش صحرایی

مقدمه

اعتیادمعضل بزرگ جهان امروز است مشکلات ایجاد شده در اثر اعتیاد فقط به فرد معتاد منتهی نمیگردد،بلکه فرزندان او ر انیز در بر می گیرد که از عوارض اعتیاد به مواد مخدر محسوب می شود.

اثرات مخرب مصرف اوپیوئیدها در نمونه‌های انسانی و نیز در حیوانات آزمایشگاهی بخوبی مشخص شده است. آزمایش‌ها نشان داده‌اند که داروهای اوپیوئیدی علاوه بر فرد معتاد ممکن است در تکوین جفت و جنین مادر باردار نیز باعث بروز مشکل شوند. به عنوان مثال: مصرف مواد مخدر توسط مادران باردار موجب تأخیر در نمو جنین و ایجاد نقایص جنینی همچون اسپینابیفیدا می‌شود [2,1] علاوه بر این، علایم زیادی در نوزادان مادران معتاد به اوپیویدها گزارش شده است که بنا بر برخی تحقیقات این

Archive of SID

www.SID.ir

علایم ممکن است به دلیل تأخیر در تمایز دستگاه عصبی باشد. [2] همچنین،جفت از آنجایی که نقش مهمی در تکوین جنین دارد هر گونه اختلال درعملکرد جفت موجب اختلال در تکوین و نمو جنین خواهدشد [3] مطالعات در مدلهای حیوانی نشان داده اند که تجویز مورفین در دوران جنینی باعث بروز عقب‌ماندگی در رشد و تکامل دستگاه عصبی می‌گردد. به عنوان مثال، تزریق روزانه مورفین باعث کاهش فعالیت حرکتی در جوجه می‌شود. تجویز مورفین همچنین باعث کاهش وزن جفت و اکثر اندامها از جمله مغز، کبد و کلیه در خرگوشها می‌شود. [5,3] آزمایش‌ها نشان داده اند که مورفین می‌تواند با عبور از سد خونی-جفتی برسلولهای جنینی اثر بگذارد [5,6]

با توجه به اینکه جفت در پستانداران مهمترین بخش تبادل مواد بین خون جنین ومادر می باشد، از طرف دیگر به عنوان مهمترین منبع ترشح هورمون های مورد نیاز رشد و نمو جنین عمل میکند.

طی روز های اول بارداری سلولهای سن سی سیتو تروفوبلاست با ترشح گونادوتروپین جفتی (HCG) موجب بقای جسم زرد وترشح پروژسترون و استروژن موجب پایداری جنین در آندومتر رحم می شود [6,1]

با پیشرفت بارداری سلولهای جفت می توانند هورمون پروژسترون و استروژن و سایر هورمون های مورد نیاز رشد نمو جنین را ترشح کنند.[6]که هر گونه اختلال در عملکرد ترشحی موجب تاخیر در رشد و نمو جنین می شود [8] همچنین جفت به عنوان سدحفاظتی از ورود یا خروج بعضی مواد جلوگیری می کند سد جفتی را غالبا به عنوان یک مکانیزم حفاظتی علیه عوامل ناهنجاریزا در نظر می گیرند[9,8] هر گونه اختلال در تکوین جفت موجب عدم کفایت جفت در اعمال تبادلی وآندوکرینی و حفاظتی آن برابر جنین را سبب می شود.[8]

مواد وروشها:

در این پژوهش از موش صحرایی ماده نژاد ویستار با میانگین وزنی ۱۷۰-۲۰۰ گرم استفاده شد. موشها در قفس‌های۲ تایی و در درجه حرارت محیط (۱±۲۴درجه سانتیگراد) با دوره نوری طبیعی(۱۲ساعت روشنائی و۱۲ساعت تاریکی) نگهداری شدند. در طول دوره آزمایش آب و غذای کافی در اختیار موش‌ها قرار گرفت.

در این مطالعه سولفات مورفین تهیه شده از شرکت تماد ایران به صورت خوراکی استفاده گردید. موشها به دو گروه تقسیم شده و هر گروه شامل شش سر موش(n=۶) بود. تعداد ۱۲ موش سالم ماده در گروه‌های دو تایی با یک موش نر بالغ جفت شدند و پس از حصول اطمینان از بارداری (با مشاهده توپی واژنی، وجود اسپرم در گسترش واژینال)، صبح روز بعد از موش‌های نر جدا شده و در همان گروه‌های دو تایی نگهداری گردیدند. از این زمان به بعد (روز صفر بارداری)، گروه‌های آزمایشی مقدار ۰/۰۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر مورفین به صورت روزانه دریافت کردند (برای ۶ موش mg ۵ مورفین در ۱۰۰۰ میلی لیتر آب شرب لوله کشی شهر). میزان مورفین مصرفی برای ۱۰ml آب به ازای هر موش محاسبه گردید اما سعی بر این بود که هر مقدار آب مورد نیاز حیوان بود در اختیار قرار داده شود. در روز ۹ بارداری موش‌ها با کلرفرم بی‌هوش شده و جفت به همراه رحم از بدن موش‌های مادر خارج و به محلول فرمالین ۱۰٪ برای مدت بیست روز انتقال یافت پس از این مرحله، جفت ها همراه آندومتر رحم در دستگاه پردازش بافتی قرار گرفته و آماده قالب‌گیری شدند. برای قالب‌گیری، داخل پارافین قرار گرفتند. سپس مراحل برش‌گیری از بلوک‌ها توسط میکروتوم (ساخت FIST آلمان) انجام شد و برش‌هایی به طورطولی (sagital) به ضخامت ۵ میکرومتر به صورت سریال تهیه گردید. این برش‌ها سپس روی لام‌ها قرار گرفته و به روش هماتوکسیلین-ائوزین(H&E) رنگ‌آمیزی شدند. پس از رنگ‌آمیزی و آماده‌سازی، لام‌ها مورد بررسی میکروسکوپی قرار گرفتند. جفت از نظرتکوین ضخامت لایه بخش (جنینی _مادری) و تعداد حوضچه های خونی بخش(مادری _جنینی) همچنین تعداد سلولهای بخش(جنینی _مادری) و ضخا مت پوسته رحمی در گروه آزمایش وگروه کنترل مقایسه و با نرم افزار موتیک اندازه‌گیری شد. دستگاه مورد استفاده شامل میکروسکوپی است که با یک رایانه و نمایشگر توسط یک نرم‌افزار ارتباط دارند. این نرم‌افزار علاوه بر این که امکان عکس‌برداری از لام‌ها را فراهم می‌آورد، توانائی اندازه‌گیری‌های مختلفی را هم دارد. تعداد سلول‌ها را در هر لایه شمارش کرده و تعداد آنها در گروه کنترل با گروه آزمایشی مورد مقایسه قرار گرفت.

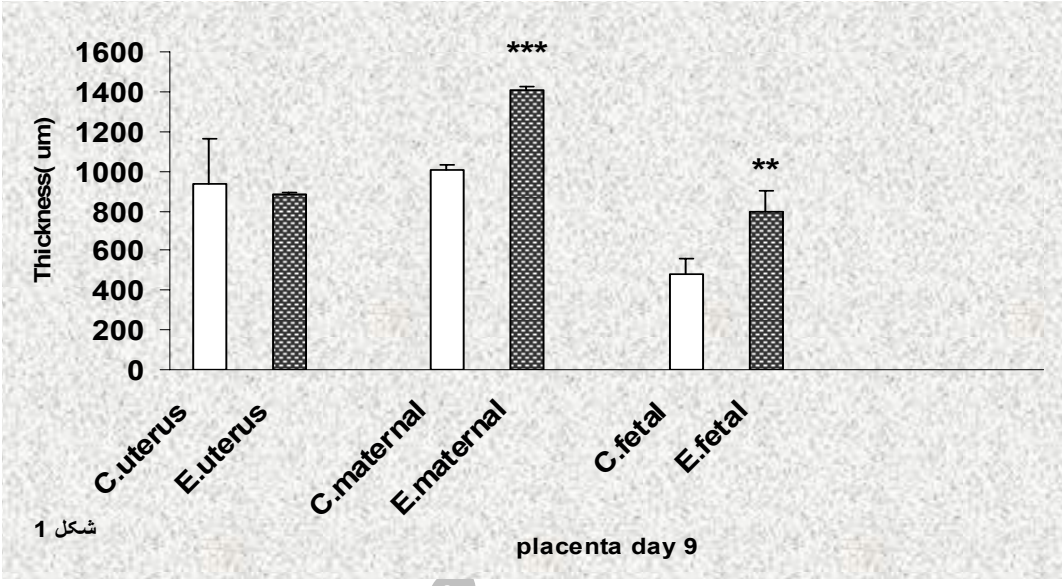
Archive of SID

www.SID.ir

نتایج:

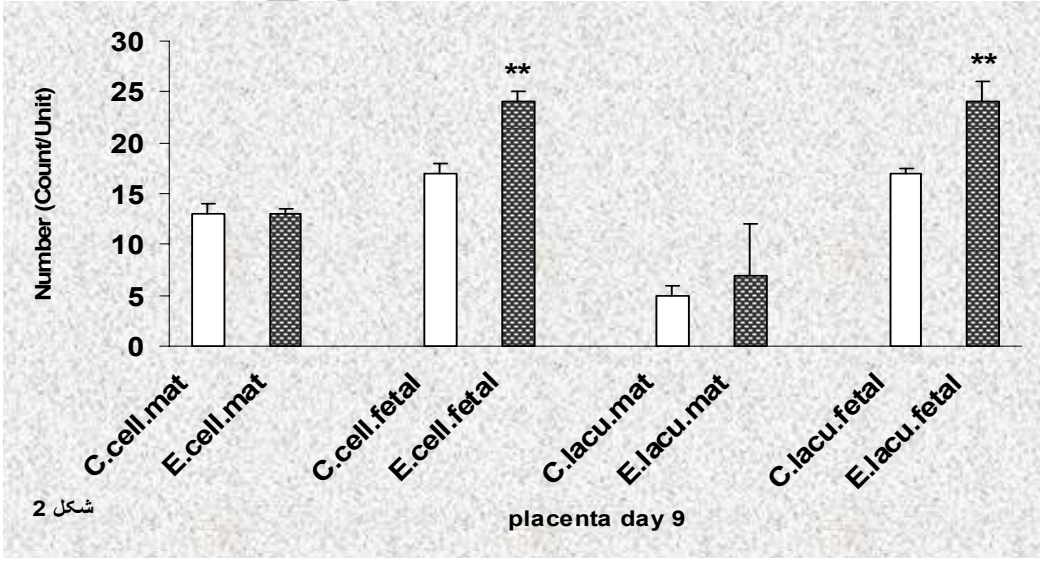
تجزیه و تحلیل آماری:اطلاعات به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شدند. نتایج حاصل توسط نرم افزار کامپیوتری (spss v11) موردتجزیه وتحلیل آماری قرار گرفت. واز آزمون آماری (**paird sample T-Test**) **استفاده شد. در تمام موارد P<۰/۰۵ به عنوان مرز معنی‌دار بودن در نظر گرفته شد.**

نمودار۱- بررسی نمودار اثرمصرف مورفین خوراکی بر تکوین جفت ۹ روزه،ومقایسه گروهای کنترل با گروهای تجربی، به ترتیب از چپ به راست، از نظر ضخامت پوسته رحمی، ضخامت بخش مادری و بخش جنینی جفت می باشد.



تعداد نمونه ها بین ۹-۶ سر بوده است. $p<0.01$, $p<0.001$***. نشانگر اختلاف معنی دار بودن (ضخامت لایه بخش مادری و بخش جنینی)جفت درگروه تجربی نسبت به گروه کنترل می باشد.**

نمودار۲- بررسی نمودار اثرمصرف مورفین خوراکی بر تکوین جفت ۹ روزه،ومقایسه آنها در گروه کنترل با گروه تجربی،از نظرتعداد سلولها ولاکوناهای بخش مادری و بخش جنینی جفت می باشد

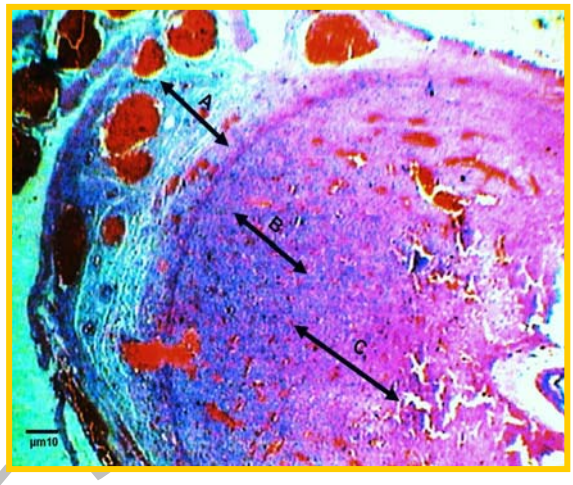


تعداد نمونه ها بین ۹-۶ سر بوده است. $p<0.01$. نشانگر اختلاف معنی دار بودن(تعداد سلولهای لایه بخش جنینی و تعداد حوضچه های خونی بخش جنینی) جفت در گروه تجربی نسبت به گروه کنترل می باشد.**

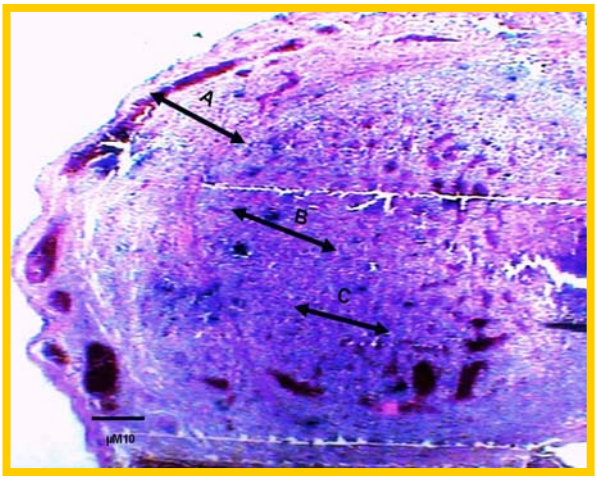
www.SID.ir

مشاهدات مورفومتریک

اندازه‌گیری مورفومتریک نشان داد که جفت‌های مربوط به مادران گروه تجربی دارای ضخامت لایه بخش جنین وبخش مادری بیشتر بوده و افزایش تعداد حوضچه های خونی بخش جنینی و افزایش تعداد سلول های بخش جنینی و کاهش ضخامت پوسته رحمی درگروه تجربی نسبت به گروه کنترل مشاهده می شود. (شکل‌های۱و۲و۳و۴) و (نمودار ۱و۲).

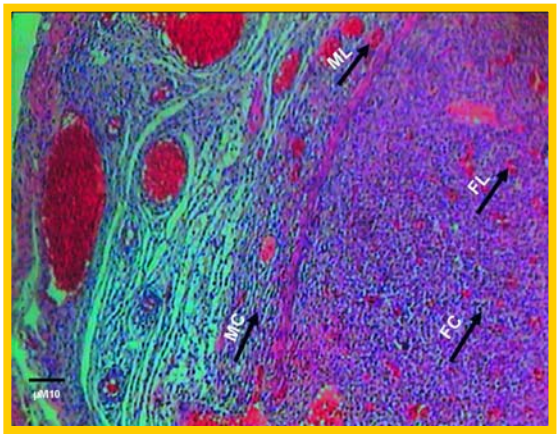


(شکل ۱)

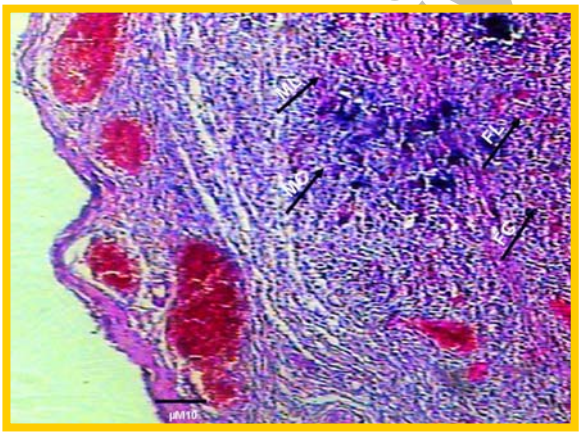


(شکل ۲)

شکل۱- تصویر میکروسکوپی گروه تجربی در جفت ۹ روزه ، با بزرگنمایی ۴۰× که نشان دهنده تغییرات ضخامت پوسته رحمی(A) ،ضخامت لایه بخش مادری (B) و ضخامت لایه بخش جنینی (C) جفت توسط پیکان دو سر می باشد.(شکل۲) تصویر میکروسکوپی گروه کنترل در جفت ۹ روزه ، با بزرگنمایی ۴۰× که نشان دهنده ضخامت پوسته رحمی(A) ،ضخامت لایه بخش مادری (B) و ضخامت لایه بخش جنینی (C) جفت توسط پیکان دو سر می باشد.



(شکل ۳)



(شکل ۴)

(شکل ۳)تصویر میکروسکوپی گروه آزمایش درجفت ۹ روزه ، با بزرگنمایی ۱۰۰×، نشان دهنده تغییر تعداد حوضچه های خونی بخش مادری(ML) و جنینی(FL) جفت همچنین تغییر تعداد سلول های بخش مادری (MC) و بخش جنینی (FC) توسط پیکان یک سرمشاهده می شود (شکل۴)تصویر میکروسکوپی گروه کنترل درجفت ۹روزه، با بزرگنمایی ۱۰۰×، نشان دهنده تعداد حوضچه های خونی بخش مادری(ML) و بخش جنینی (FL) همچنین تعداد سلوهای بخش مادری (MC) و بخش جنینی (FC) جفت توسط پیکان یک سر مشاهده می شود.

Archive of SID

www.SID.ir

بحث و نتیجه گیری:

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که مصرف مورفین در روزهای اولیه بارداری می تواند موجب تاخیر در تکوین جفت شود. نتایج این مطالعه با نتایج چندین مطالعه که نشان دهنده تاثیر تجویز اوپیوییدها در القای تاخیر در تمایز می باشد هم خوانی دارد[1,2]. اهمیت نتایج حاضر درآن است که نشان می دهند که تجویز مورفین در روزهای اولیه بارداری می تواند موجب بروز اختلال در تکوین بخش های جنینی و مادری جفت شود. امروزه مشخص شده است که در دوره های خاصی از بارداری، جنین حسساسیت بیشتری نسبت به مواد اگزوژن (نظیر مواد مخدر) از خود نشان می دهد[10,6]در پژوهش حاضر حساسیت به مورفین در مورد جفت می تواند موجب بروز اختلالات عملکردی جفت که نقش مهمی در رشد و تکوین جنین دارد منجر شود. عمل ترشحی جفت و توانایی انتقال مواد غذایی می تواند تحت تاثیرمحرک های محیط قرار گیرد جفت با تعدیل محرک ها موجب حفظ ذخیره مواد غذای جنین می شود [11,12,8] طول بارداری با عملکرد های آندوکرین و ترشحی بر متابولیسم مواد و عملکرد های پاراکرین بر انتشارساده و انتقال تسهیل و فعال مواد از جفت اثر می گزارد [4,11,8].پس جفت با عمل ترشح وانتقا ل مواد در مقابل القائ های محیط مقا بله (تعدیل) می کند اما خیلی از مواد از جمله مورفین از این سد عبور کرده وموجب ناهنجاری های مادرزادی وتاخیر در رشد جنین می شود[7,1].در تحقیق حاضر ظاهرا بیشترین تاثیر اثر مورفین در بخش جنینی جفت مشهود است .با توجه به اینکه بخش جنینی جفت دارای بیشترین عروق خونی و بیشترین سلولهای ترشحی از جمله سین سیتوتروفوبلاست می باشد پس عمل ترشح وعمل خون رسانی جنین که از مهمترین عملکرد های جفت محسوب می شود، عمده آن مربوط به بخش جنینی جفت می باشد [11,13,12]. مشاهدات مورفومتریک این مسئله را تایید می کند که ضخامت لایه جنینی وتعداد سلولها و تعداد حوضچه های خونی لایه جنینی جفت از نظر مشاهدات مورفومتریک ونیز از نظر تجزیه وتحلیل آماری معنی داراست. نتایج حاصل از این مطالعه را می توان به وجودفراوان گیرنده های اپیوییدی روی پرزهای جفتی(بخصوص فراوانی پرزهای خونی در بخش جنینی جفت)و تاثیر مورفین بر این پرزها وعروق خونی دانست که تحریک این گیرنده‌ها می‌تواند به بروز انقباض عروقی و کاهش خون رسانی به جنین منجر شود[4,9,8]. استرس های اکسیداتیو اثر زیادی بر تکثیر سلولهای تروفوبلاست و سلولهای ماهیچه صاف که تنه پرزهای سرخرگی را احاطه کرده است دارند مخصوصا در مراحل اولیه بارداری که جفت به سرعت رشد می کند [8,6]پس می تواند مورفین را هم یک ماده استرس زا در نظر گرفت که موجب القائ غیر طبیعی تکثیر سلولی در بخش جنینی وبخش مادری جفت می شود[15,8]که این امر می تواند موجب افزایش سلولی و اختلال در تنظیم عمل ترشحی سلولهای جفت می شود و نتیجه این ناهنجاریها اختلال درتکوین جنین بویژه در دستگاه عصبی همجنین اختلال در عملکرد طبیعی جفت علاوه بر تاخیر در تکوین جنین می تواند موجب سقط جنین گردد [13,14,15]. در مجموع این نتایج نشان می دهدکه مصرف مورفین خوراکی سبب تاخیر در تکوین جفت در موش صحرایی می شود که ممکن است در مورد انسان نیز صادق باشد. یعنی این که همین تاخیر شاید علت اختلالات رفتاری در نوزادان متولد شده یا منجر به سقط جنین از مادران باردار معتاد باشد.که شناخت این مسئله نیازمند مطالعات بیشتری است.

تقدیر و تشکر: این تحقیق با حمایت مالی مرکز تحقیقات علوم اعصاب کاربردی دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله (عج) انجام گرفت.بدین وسیله از زحمات و همکاری این عزیزان قدردانی می شود.

منابع

1- Behravan j Piduette-Miller M Drug transport across the placenta, role of the ABC drug efflux transporters. (Expert Opin Drug Metab Toxicol.) 2007 Dec;3(6):819-30.
2- Ornoy A, Michailevskaya V, Lukashov I. The developmental outcome of children born to heroin-dependent mothers. Raised at home or adapted. Child Abuse Negl, 1996; 20: 385-96.

Archive of SID

www.SID.ir

3- Collins LR, Hall RW, Dajani NK, Wendel PJ, Lowery CL, Kay HH. Prolonged morphine exposure in utero causes fetal and placental vasoconstriction: a case report. J Matern Fetal Neonatal Med. 2005 Jun;17(6):417-21.
4- Wilson JT, Chritie MJ, Manzoni O. Cellular and synaptic adaptations mediating opioid dependence. Physiol Rev 2001; 81: 299-343.
5- Boĭko SS, Voronina TA, Zherdev VP, Chobanov NG [The transplacental transport and effect of morphine administered in the prenatalpe priod on its level in adult rats] Eksp Klin Farmakol. 1995 Nov-Dec;58(6):42-4.
6- Leslie FM, Chen Y, Winzer-Serhan UH. Opioid receptor and peptide mRNA expression in proliferative zones of fetal central nervous system. Can J phisiol pharmacol 1998; 76: 248-93.
7- Baur R. Morphometry of the placental exchange area. Adv Anat Embryol Cell Biol 1977;53: 1-63 .
8- Fowden AL, Forhead AJ, Coan PM, Burton GJ. The placenta and intrauterine programmin J Neuroendocrinol. 2008 Apr;20(4):439-50. Epub 2008 Feb 8
9- Bancroft JD, Gamble M. Theory and practice of histological Techniques, 5th ed. London: Churchill Livingston; 2002, 125-138.
10- Seward E. MU opioid receptor mediate inhibition of the n-type calcium channel current. Proc Soc Land B, 1990; 244:129-35.
11- Fwden AL, Forhead AJ. Endocrine mechanisms of intrauterine programming Reproduction 2004; 127: 515-526.
12- Fowden AL,Ward JW,Woods FPB, Forhead Aj,Constancia M. Programming placental nutrient transport capacity. JPhysiol 2006; 572: 5-15.
13- Roloff ,D.W.,Howatt ,W.F., Kanto, WP.JR.,Borker ,RC.JR.(1975)Morphine administration to pregnant rabbits effect on fetal growth and lung development. Addict.,2(1-2),369-79.
14- Ahmed MS, Schoof T, Zhou DH, Quarles C. Kappa opioid receptors of human placental villi modulate acetylcholine release. Life sci 1989; 45: 2383-93.
15- Niknam N. Effect of maternal oral morphine consumption on cerebellum development in Wistar rats. [MSc Thesis]. Tehran: North Tehran Branch Azad Islamic University; 2004.

Archive of SID

www.SID.ir