

بکارگیری تکنیک استریولوژی در بررسی اثر اعتیادآور مرفین بر حجم قشر مخچه موش صحرایی نر

• فهیمه محمدقاسمی

* عبدالرحمان دزفولیان

♥ حمیدرضا محمودزاده ثاقب

♣ بهناز شوهانی

در مطالعه حاضر، اثر اعتیادآور مرفین بر روی حجم قشر مخچه، با استفاده از تکنیک استریولوژی کمی و با تخمین واقعی، مطمئن و کارآ بررسی شده است. در این تحقیق، از ۳۰ نمونه موش صحرایی نر از نژاد دان ماری، در محدوده سنی ۳ ماهگی و وزنی $109/6 \pm 3/25$ گرم، استفاده شد. حیوانات بصورت تصادفی در ۳ گروه قرار گرفتند. گروه اول هیچ دارویی دریافت نمی کردند؛ گروه دوم، نرمال سالین مصرف می کردند و گروه سوم، به مدت ۵ روز به میزان ۵-۲۵ mg بصورت افزایشی مرفین حل شده در سالین مصرف می کردند. میزان داروی گروه دوم، هم حجم با گروه سوم بود. ۱۲ ساعت پس از آخرین واحد تزریق دارو و اطمینان از حضور علائم سندرم محرومیت، حیوانات به طور عمیقی با کتامین بیهوش شدند و از طریق بطن چپ قلب پرنیوژن عروقی و متعاقب آن فیکساسیون صورت گرفت. پس از خروج مغز از جمجمه و جدا کردن مغز از مخچه، هر مخچه در محلول نرمالین ۱۰ درصد به مدت ۴۸ ساعت قرار گرفت. بدنبال آن، با استفاده از روش استریولوژی و با استفاده از اصول کاولیری حجم قشر مخچه محاسبه شد. برای اینکار، از نمونه برداری تصادفی یکسان، تهیه اسلایهای موازی و شمارش نقاط استفاده شد. سپس برای بررسی صحت، جهت برش eE محاسبه شد و جهت مقایسه تفاوت‌های آماری بین گروهها، داده‌ها با روش آماری آنالیز واریانس تجزیه شدند. هیچ گونه اختلاف معنی داری در حجم قشر مخچه در گروهها مشاهده نشد. بنابراین، اثر اعتیادآور مرفین بدنبال تزریق مرفین با واحد افزایشی، در مدت ۵ روز بر حجم قشر مخچه تأثیری ندارد.

واژه‌های کلیدی: وابستگی به مرفین؛ مخچه؛ موش صحرایی؛ استریولوژی؛ حجم؛ قشر.

• کارشناس ارشد بافت شناسی - دانشگاه علوم پزشکی اهواز

* استادیار هیات علمی دانشگاه علوم پزشکی اهواز

♥ دانشجوی دکترای بافت شناسی - دانشگاه علوم پزشکی

♣ کارشناس ارشد بافت شناسی بافت شناسی - دانشگاه علوم پزشکی اهواز

مقدمه

امروزه اعتیاد به مواد اپیوئیدی و سوء مصرف آن بصورت یک معضل اجتماعی، روانی بهداشتی، اقتصادی در آمده است و جوامع انسانی را به شدت تهدید می‌کند. روند رو به گسترش اعتیاد بنیادهای جوامع را در ابعاد گوناگون اقلاری اجتماعی، اخلاقی، فرهنگی تحت تأثیر قرار داده است و آن را دچار فساد و تباهی کرده و در نهایت به انحطاط می‌کشاند. از جمله مواد اپیوئیدی که امروزه در جوامع مختلف مصرف زیادی پیدا کرده است؛ مرفین می‌باشد. مرفین، که مهمترین ضد درد اپیوئیدی است که از تریاک بدست می‌آید (۱). علاوه بر اثرات ضد درد که بر دستگاه عصبی دارد و به صورت شلی عضلانی، خواب آلودگی، احساس مطبوع اثرات خود را اعمال می‌کند؛ بر سایر دستگاه‌های بدن از جمله دستگاه گوارش، قلبی عروقی، ادراری، رحم و... موجب اثرات مختلفی می‌شود. از آنجائیکه در بسیاری از جوامع، مرفین مورد سوء مصرف قرار می‌گیرد، استفاده بالینی از آن، محدود به زمانهایی از جمله دردهای شدید پس از عمل جراحی بیماران سرطانی و یا بیمارانی است که مراحل آخر زندگی خود را طی می‌کنند (۱). با توجه به مشکلاتی که ذکر شد، لزوم تحقیقات در زمینه‌های مختلف اعتیاد، از جمله مسایل اجتماعی، اقتصادی، بالینی و ... کاملاً ضروری می‌باشد. تاکنون در خصوص تأثیر این دارو بر دستگاه‌های مختلف بدن، تحقیقات مختلفی انجام گرفته است؛ ولی تحقیقات جامع کمی^۱ بافت‌شناسی، در مورد تأثیر این ماده بر روی دستگاه‌های مختلف بدن کمتر صورت گرفته است. علم استریولوژی در مقایسه با دیگر روش‌های کمی، که مورد استفاده بسیاری از بیولوژیست‌ها و پاتولوژیست‌ها است؛ دارای عمر کوتاهی است. این علم شاخه‌ای از ریاضیات کاربردی است (۲) و روشی ایده‌آل برای بررسی کمیتهای سه بعدی مانند حجم، مساحت سطح، طول و تعداد به حساب می‌آید (۳). به عبارت دیگر، این علم با استفاده از قوانین آمار، هندسه و ریاضی، مشاهدات دو بعدی را به اطلاعات سه بعدی تبدیل می‌کند (۴). بزرگترین ارزش استفاده از روش‌های استریولوژی دو خاصیت عدم سوءگیری^۲ و کارایی^۳ آن است که در دیگر بررسی‌های مرفومتريک، یافت نمی‌شوند (۵).

در این علم، جهت اندازه‌گیری کمیتهای، از نمونه‌گیری^۴ تصادفی یکنواخت، تهیه برشهایی^۵ با ضخامت یکسان و انواع شبکه‌ها^۶ استفاده می‌شود (۴ و ۵). این علم، دارای روشها و قوانین مختلف است؛ از جمله این روشها می‌توان روش کاوالیری را نام برد که قادر است، حجم هوشی را با هر شکلی که باشد، تخمین بزند (۴، ۵، ۶ و ۷). لذا با در دست داشتن چنین روش ایده‌آلی، برای بررسی کمی و با توجه به اهمیت اعتیاد در جوامع لزوم بررسی اثر اعتیادآور مرفین بر دستگاه‌های مختلف بدن تأکید می‌شود از آنجائیکه این دارو، دارای گیرنده‌های زیادی در دستگاه عصبی مرکزی است؛ لذا این دستگاه، یکی از مهمترین نقاط بدن برای اثر مرفین است و از آنجائیکه مخچه بخشی از دستگاه عصبی مرکزی است، لذا بررسی اثر اعتیادآور مرفین بر مخچه با استفاده از روش استریولوژیک ضرورت می‌یابد. در این تحقیق، اثر اعتیادآور مرفین بر حجم مخچه با استفاده از روش استریولوژیک مورد مطالعه قرار گرفته است.

- 1 - quantitative
- 2 - unbiased
- 3 - efficiency
- 4 - sampling uniform random
- 5 - slices
- 6 - lattice

روش پژوهش

با انجام یک آزمایش مقدماتی بر روی شش موش صحرایی نر از نژاد دان ماری و نتایج حاصل از آن، تصمیم گرفته شد که تعداد ۳۰ نمونه حیوان جهت بررسی مهیا شود. حیوانات از دانشکده داروسازی اهواز تهیه شدند به منظور نزدیک بودن محدوده سنی و وزنی حیوانات از جنین‌هایی که در یک محدوده زمانی نزدیک بهم با اختلاف ۳-۲ هفته بدنیا آمدند؛ استفاده شد. سپس جنین‌ها با مراقبت‌های لازم در شرایط استاندارد آزمایشگاهی، ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، دمای ۲۰ + ۲۲ درجه سانتی‌گراد، در قفس‌های خود با دسترسی کافی به آب و غذا نگهداری شدند (۸). پس از اینکه به مرحله ۳ ماهگی رسیدند؛ حیوانات نر و ماده از هم جدا شدند و سپس حیوانات وزن شدند. محدوده وزنی در حد $109/6 \pm 3/25$ گرم بود و پس از آن، بصورت تصادفی تعداد ۳۰ نمونه از بین کل حیوانات نر انتخاب شدند؛ سپس حیوانات به ۳ گروه تقسیم کردیم.

الف - گروه شاهد: گروهی که هیچ دارویی دریافت نمی‌کرد.

ب - گروه شاهد مثبت: گروهی که نرمال سالین دریافت می‌کرد

ج - گروه آزمایش: گروهی که مرفین و سالین دریافت می‌کرد.

پس از تقسیم، هر گروه در قفس‌های فلزی مخصوص حیوانات نگهداری شدند. و جهت سازگاری با شرایط جدید، از حیوانات ۵ روز دیگر در شرایط استاندارد با دسترسی کافی به آب و غذا نگهداری به عمل آمد. نحوه تزریق دارو در گروه‌ها، بدین صورت بود که، گروه آزمایش به مدت ۵ روز متوالی تحت تزریق زیر جلدی مرفین با فاصله ۱۲ ساعت یکبار (۸ صبح و ۸ شب) قرار می‌گرفتند (۹). میزان مرفین $5-25 \text{ mg/kg}$ بود که بصورت افزایشی زیاد می‌شد و جهت تزریق، مرفین در محلول نرمال سالین رقیق می‌شد؛ به طوری‌که در روز اول 5 mg/kg ، در روز دوم 10 mg/kg ، روز سوم 15 mg/kg ، روز چهارم 20 mg/kg و در روز پنجم 25 mg/kg مرفین، سالین دوبار در روز تزریق می‌شود (۹).

گروه شاهد مثبت نیز مانند گروه آزمایش به مدت ۵ روز، روزی ۲ بار بصورت زیر جلدی نرمال سالین دریافت می‌کرد. لازم به ذکر است که میزان حجم دارو در دو گروه آزمایش و شاهد مثبت، یکسان بود (۹). همچنین در طول این مدت، گروه شاهد هیچ دارویی مصرف نمی‌کرد و از آب و غذای کافی بهره‌مند بود. جهت اثبات اعتیاد در حیوان از فالوکسان که یک نوع آنتاگونیست اپیوئیدی است؛ استفاده شد. ولی از آنجایی‌که هدف از مطالعه اخیر، بررسی اعتیاد بر روی حجم مخچه است و امکان دارد داروی نالوکسان هم بتواند روی حجم مخچه تأثیر بگذارد؛ لذا با انجام آزمایش مقدماتی بر روی ۶ حیوان و گرفتن نتایج (مشاهده علائم سندرم قطع دارو) بدنبال تجویز نالوکسان و تعمیم نتایج آن در تحقیق حاضر، به حیوانات گروه آزمایش نالوکسان تجویز نشد.

لازم به ذکر است که نحوه تزریق داروی نالوکسان در آزمایش مقدماتی، بصورت داخل صفاتی و به میزان 5 mg/ky بود و این دارو، ۱۲ ساعت پس از تجویز آخرین دوز مرفین - سالین به حیوانات تزریق شد. پس از گذشت ۳۰ دقیقه، در طول مدت ۳۰ دقیقه، علائم رفتاری که حیوانات پس از تجویز نالوکسان از خود بروز می‌دادند؛ بررسی شد و نتایج ثبت گردید (۹). در این تحقیق، ۱۲ ساعت پس از دریافت آخرین واحد دارو، حیوانات جهت تشریح آماده شدند. به منظور بیهوشی از آمپول کتایس هیدروکلراید استفاده شد و بصورت داخل صفاتی به حیوان تزریق گردید. پس از اطمینان، از بیهوشی کامل، حیوان رو به پشت بر روی میز قشر مخ خوابانده شد و با استفاده از چاقوی جراحی، سریعاً قفسه سینه حیوان باز گردید. سپس اندامهای حیوان بطریق پرفیوژاسیون عروقی به ترتیب زیر فیکس شد.

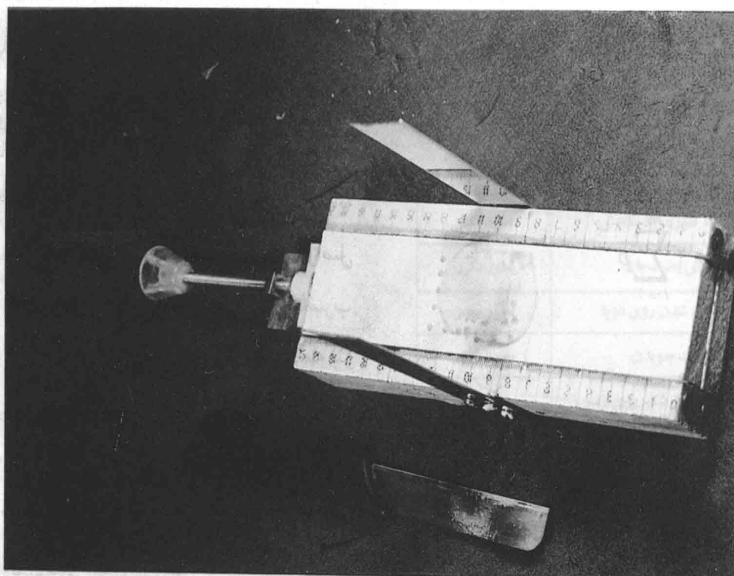
ابتدا سر سوزن متعلق به سرنگ ۵ CC که به انتهای دیگر آن است ست سرم و سرم وصل بود را وارد بطن چپ قلب کرده و محلول ۰/۹ درصد سالین به میزان ۰/۱۵ وزن حیوان از طریق بطن چپ تزریق شد در ضمن با استفاده از نوک سوزن یک سوراخ کوچک در دهلیز راست حیوان ایجاد شد. از طریق این سوراخ، مقداری از خون و مایع تزریق شده به بیرون راه می‌یافت. متعاقب خروج سالین از دهلیز راست و شستشوی عروق، از محلول فیکساتور فرمالین ۱۰ درصد و بافری شده با سدیم فسفات با PH ۷/۰۴-۷/۰۳ استفاده شد و بدین طریق، عمل فیکسسیون صورت گرفت.

متعاقب آن سر حیوان از بدن جدا گردید. استخوانهای سقف و قاعدهٔ جمجمه با استفاده از قیچی استخوان شکن بدقت برداشته شد. پس از قطع کردن کلیهٔ اتصالات، مغز از کاسهٔ سر خارج شد. سپس لایهٔ خارجی مننژ، از مغز جدا گردید و بعد به آرامی و با استفاده از تیغ تیز و ظریفی، مغز از مخچه جدا شد. پس از آن، با ظرافت زیاد بصل النخاع و همچنین نواحی از پل مغزی نیز از مخچه جدا گردید. سپس هر مخچه در ظرف شیشه‌ای تیره‌رنگی در محلول فیکساتور فرمالین ۱۰ درصد بافری شده برای مدت ۴۸ ساعت در درجهٔ حرارت اتاق نگهداری شد.

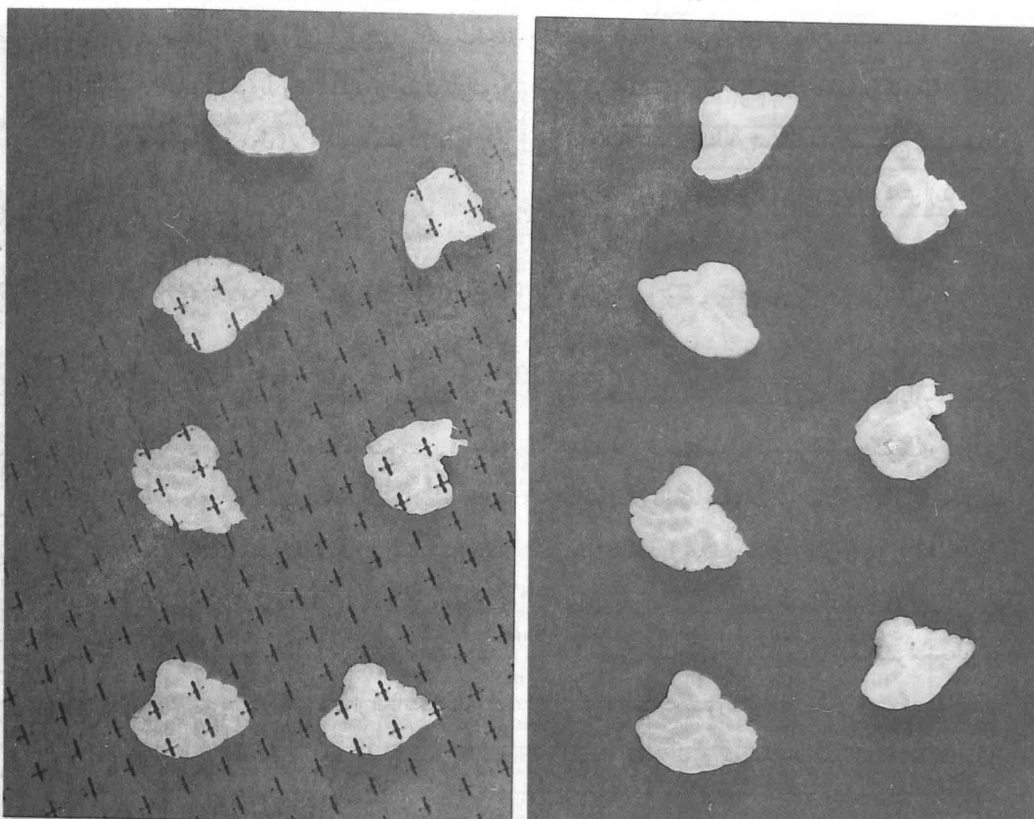
پس از گذشت ۴۸ ساعت، ابتدا هر یک از نمونه‌ها با استفاده از کولیس از محور عرضی اندازه‌گیری شدند. سپس بوسیلهٔ محلول آگار ۷ درصد، قالب‌گیری انجام شد (۵). پس از عمل قالب‌گیری، قالب جهت نصب بر روی دستگاه برش آماده شد. جهت نصب قالب بر روی دستگاه برش (ماکروتفوا) نیز از محلول آگار استفاده شد. به طوری که ابتدا مقداری از محلول آگار بر روی دستگاه برش ریخته شد. سپس قالب روی آن قرار گرفت. پس از آن دستگاه برش و قالب به هوای سرد منتقل شد. برای این منظور، از یخچال استفاده می‌گردید. پس از گذشت چند دقیقه و اطمینان از این که قالب در جای خود ثابت است و هیچ گونه حرکتی ندارد؛ قالب جهت برش آماده شد (شکل ۱).

توجه به ثابت بودن قالب بر روی دستگاه، از این جهت حائز اهمیت است که هرگونه جابجایی در قالب، می‌تواند بر روی جهت برش و فاصلهٔ برشها از هم مؤثر واقع شود و هرگونه جابجایی و انحراف در فاصلهٔ برشها، می‌تواند محاسبهٔ حجم را تحت تأثیر قرار دهد (۴، ۵، ۶ و ۷). با استفاده از چاقوی ظریف هیستوپاتولوژی با ضخامت ۰/۶ میلی‌متر و در حالیکه تیغه چاقو کاملاً مماس بر قالب فرود می‌آید؛ نمونه به اسلایس‌های موازی برش داده شد. موقعیت اولین برش بصورت تصادفی و در فاصلهٔ بین ۱ - ۰ میلی‌متر قرار داشت (۶، ۷). پس از هر بار برش، با استفاده از پیچ موجود بر دستگاه، قالب به میزان یک میلی‌متر جلوتر می‌رفت و سپس برش بعدی صورت می‌گرفت. بدین ترتیب، برش‌های موازی با فاصلهٔ مساوی (t) ۱ میلی‌متر ایجاد شد. در ضمن از هر نمونه (۱۱-۱۲) برش تهیه شد (شکل ۲). پس از برش، آگار اطراف هر نمونه به دقت و ظرافت با استفاده از پنس‌هایی با نوک ظریف جدا شد و سپس نمونه‌ها به ترتیب بر روی یک صفحه شفاف قرار داده شدند. سپس شبکه‌ای از نقاط (بصورت صفحه شفاف به نور) که مساحت اطراف^۱ هر نقطهٔ آن یا a(P)، ۵/۴ میلی‌متر مربع بود به طور تصادفی روی نمونه‌ها انداخته شد (۵، ۶ و ۷) (شکل ۳).

1 - Area of point



شکل ۱: دستگاه برش و قالب آگار که بر روی آن نصب شده است.



شکل ۲: برشهایی با ضخامت مساوی از مخچه موش صحرایی. شکل ۳: شبکه‌ای از نقاط که به صورت تصادفی روی برشها قرار داده شده است.

طریقه بدست آوردن مساحت اطراف هر نقطه $a(P)$ به این صورت بود که ابتدا طول هر شبکه، بوسیله خط‌کش و بر اساس سانتی متر محاسبه شد و بر تعداد فواصل موجود بین نقاط در طول شبکه تقسیم شد (X). بعد بطریقی مشابه

عرض شبکه، با خط کش محاسبه شده و بر تعداد فواصل موجود بین نقاط در عرض تقسیم گردید (Y). با حاصلضرب X و Y در یکدیگر (P) یا مساحت اطراف هر نقطه بر اساس سانتی متر مربع بدست آمد با ضرب کردن نتیجه حاصل در ۱۰۰ واحد اندازه گیری، مساحت اطراف هر نقطه به میلی متر مربع تبدیل شد. طریقه شمارش نقاط و تخمین حجم نیز بدین صورت بود که پس از قرار دادن تصادفی شبکه نقاط، بر روی برش های بدست آمده، تعداد نقاط برخورد شبکه با قشر مخچه محاسبه گردید. سپس با شمارش تمام نقاطی که بر روی کل برش های یک مخچه افتاده بود؛ P محاسبه گردید و با استفاده از اصول کاوالیری حجم قشر مخچه از فرمول زیر محاسبه شود (۵، ۶، ۷ و ۱۰).

$$\sum p * a(P) * t$$

V= حجم

مجموع نقاط برخورد شبکه قسمت مورد نظر = $\sum P$

t= ضخامت برش ها

a (P) = مساحت اطراف هر نقطه

با در دست داشتن مجموع نقاط شمارش شده و (P) که معادل ۵/۴ میلی متر بود و همچنین، با داشتن ضخامت معادل یک میلی متر، حجم طبق فرمول فوق محاسبه شد. پس از ثبت کلیه محاسبات انجام شده از آنجاییکه مساحت برش های تهیه شده از هر مخچه با یکدیگر وابستگی دارند؛ بنابراین انحراف معیار از روش معمول $\frac{(P)}{\sqrt{m}}$ (۱۰). بلکه از روش دیگری تحت عنوان ضریب خطا بدست آمد و طبق فرمول زیر محاسبه گردید (۴ و ۱۰).

$$CE_{(ESTV)} = \frac{\left[\frac{(3A + C - 4B)}{3} \right]^{\frac{1}{2}}}{\sum_{i=1}^m P}$$

$$A = \sum_{i=1}^m P^2$$

$$B = \sum_{i=1}^{m-1} p(p+1)$$

$$C = \sum_{i=1}^{m-1} P(P+2)$$

تخمین CE بصورت تجربی توسط گاندرسون، بزرگترین نظریه پرداز علم استریولوژی نوین اثبات شده است. جهت بررسی آماری از نرم افزار Spss استفاده شد و به منظور مقایسه میزان حجم قشر مخچه در گروهها از روش ANOVA استفاده شد و نتایج بصورت انحراف معیار \pm میانگین بیان می شد و ارقام کمتر از ۵ درصد معنی دار تلقی گردید.

یافته ها

تحقیق حاضر، به منظور بررسی اثر اعتیاد آور مرفین بر حجم قشر مخچه موش صحرائی انجام گرفت و بررسی نتایج نشان داد که حیوانات در اثر تزریق مرفین، به اعتیاد مبتلا شده اند. و علائم رفتاری خاص را پس از قطع دارو و تجویز نالوکسان نشان دادند (جدول شماره ۱).

جدول شماره ۲، نمایانگر میزان حجم قشر مخچه در هر ۳ گروه است که بصورت خطای معیار \pm میانگین بیان شده است و همان طوری که ملاحظه می‌شود، تفاوت قابل ملاحظه‌ای بین گروهها مشاهده نمی‌شود.

جدول ۱: علائم رفتاری حیوان پس از تجویز نالوکسان

شماره	فاکتور مورد سنجش	مشاهدات
۱	پرش به طرف بالا	بطور مکرر
۲	بلند شدن روی دوپا	بطور مکرر
۳	حالت جویدن	بطور مکرر
۴	کشیدن شکم روی زمین	دیده شد
۵	افتادگی پلکها	دیده شد
۶	سیخ شدن مو	دیده شد
۷	اسهال	دیده شد

جدول ۲: میزان حجم قشر مخچه در گروهها

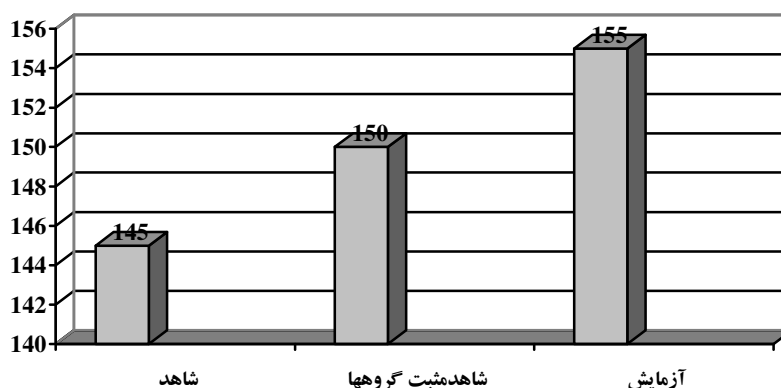
حجم قشر	حجم قشر مخچه (میلی متر مکعب)	گروهها
۱۵۲/۸۳±۹/۱۴۵		آزمایش
۱۴۴/۱۸±۱۰/۴۶		شاهد
۱۴۹/۰۴±۴/۸۳		شاهد مثبت

جدول شماره ۳ میزان حجم قشر و CE، محاسبه شده مخچه را در گروهها نشان می‌دهد که تخمین CE به جهت برش بستگی دارد. در نمونه‌های بیولوژیکی اگر CE کمتر از ۵ درصد باشد؛ جهت تخمین عالی، بین ۱۰-۵ درصد خوب، و بین ۲۰-۱۰ درصد قابل قبول است. و چنانچه CE، از ۲۰ درصد بیشتر باشد؛ باید برای نمونه‌برداری

جدول ۳: میزان حجم قشر و (CE) مربوط به هر یک از منچه‌ها، در گروه‌های شاهد، شاهد مثبت و آزمایش بر حسب میلی متر مکعب.

گروه‌ها	رت شماره (۱)	رت شماره (۲)	رت شماره (۳)	رت شماره (۴)	رت شماره (۵)	رت شماره (۶)	رت شماره (۷)	رت شماره (۸)	رت شماره (۹)	رت شماره (۱۰)
شاهد	۹۷/۲(٪۵۵۵)	۱۷۲/۸(٪۳۸۲)	۱۱۸/۸(٪۵۲۴)	۱۷۲/۸(٪۵۷۳)	۱۶۵/۶(٪۶۵۲)	۱۵۱/۲(٪۷۶۴)	۹۷/۲(٪۵۵۵)	۱۷۲/۸(٪۳۸۲)	۱۱۸/۸(٪۶۸۱)	۱۷۸(٪۵۷۳)
شاهد مثبت	۱۷۲/۸(٪۵۵۶)	۱۶۲(٪۹۴۴)	۱۴۰/۴(٪۵۴۳)	۱۳۵(٪۴۴۷)	۱۵۱/۲(٪۷۳۶)	۱۲۹/۶(٪۶۵۸)	۱۴۵/۸(٪۳۳۸)	۱۴۰/۴(٪۶۰۸)	۱۷۲/۸(٪۳۷۱)	۱۴۰/۴(٪۸۳۸)
آزمایش	۱۳۵(٪۳۴۶)	۱۵۲/۲(٪۴۳۷)	۱۰۲/۶(٪۹۴۸)	۱۵۶/۶(٪۹۱۲)	۲۱۰/۶(٪۱۸۱)	۱۲۴/۲(٪۵۸۷)	۱۵۶/۶(٪۵۱۷)	۱۷۲/۸(٪۵۳۳)	۱۶۲(٪۳۳۰)	۱۵۶/۶(٪۳۳۰)

طراحی مجدد انجام بگیرد (۴، ۱۱). با توجه به جدول شماره ۳، میانگین CE ۰/۰۵۴ یا ۵/۴ درصد است و نشان‌دهنده این است که جهت برش صحیح و تخمین حجم خوب بوده است. نمودار شماره ۱، نیز میانگین و انحراف معیار حجم قشر منچه را بر حسب میلی متر مکعب در گروه‌های مورد مطالعه نشان می‌دهد. یافته‌ها نشان داد که متوسط حجم قشر منچه در گروه‌ها با یکدیگر تفاوت قابل ملاحظه‌ای ندارند.



نمودار ۱: مقایسه میزان حجم قشر منچه در گروه‌ها (میلی‌متر مکعب)

بحث

بررسی و نتایج حاصل از این مطالعه، نشان می‌دهد که تجویز زیر جلدی مرفین با دوز افزایشی ۲۵-۵ mg/kg و در مدت ۵ روز در موش صحرایی و تجویز نالوکسان بدنال قطع آن می‌تواند منجر به ایجاد علائم سندرم قطع دارو گردد. این مطلب مؤید این است که تکرار تجویز مرفین منجر به ایجاد تحمل و وابستگی فیزیکی شده است و به بیان دیگر، استفاده مزم از یک داروی اپیوئیدی می‌تواند منجر به ایجاد تحمل شود. بنابراین جهت دستیابی به اثرات اولیه باید میزان دارو را افزایش داد (۱). که این نتایج با نتایج حاصل از بررسی بلاسیگ مشابهت دارد. می‌توان گفت که نالوکسان آنتاگونیست مرفین بوده و در نتیجه قطع داروی اپیوئیدی منجر به ایجاد علائم خاص در حیوان می‌شود (۱۲). ما در مطالعه خود از روش استریولوژیکی کوالیری، نمونه‌برداری تصادفی و شمارش نقطه‌ای استفاده نمودیم و در مقایسه با روش‌های دیگر روشی بدون

سوگیری و مؤثر است. نتایج حاصل از بررسی استریولوژیک اثر اعتیادآور ۵ روزه مرفین بر مخچه موش صحرایی نشان داد که حجم قشر مخچه با گروه شاهد و شبه‌دارو تفاوت قابل ملاحظه‌ای ندارد و این مطالعه با نتایج بیکر و همکارانش در سال ۱۹۹۹ مشابهت دارد. آنها با استفاده از متدهای استریولوژیک نشان دادند که بدنبال مصرف مزمن و اعتیادآور الکل در بیماران الکلی، هیچ گونه تغییری در تعداد نرونها و یا حجم ساختمانهای مختلف مخچه ایجاد نمی‌شود (۱۳). همچنین هیل و کاسلا در سالهای ۱۹۷۹ و ۱۹۹۱ با استفاده از توموگرافی کامپیوتری نشان دادند که سوء مصرف الکل و مواد اپیوئیدی روی آتروفی قشر مغز و یا اندازه بطنهای مغزی تأثیری ندارد (۱۴ و ۱۵). چنین می‌توان پیشنهاد کرد که سوء مصرف مواد به تنهایی، نمی‌تواند به بافت مخچه آسیبی برساند مگر این که با کمبود تغذیه مانند ویتامین همراه باشد (۱۳). این یافته‌ها بر خلاف یافته‌هایی است که ریتالا و پزاواز و همکارانشان در سالهای ۱۹۹۷ و ۱۹۹۸ با استفاده از روش‌های استریولوژیک بدست آوردند. آنها به این نتیجه رسیدند که مصرف الکل و همچنین مرفین و هروئین با واحد توکسیک، باعث کاهش قشر مغز و افزایشی حجم بطن‌ها می‌شود (۱۶ و ۱۷). شاید بتوان چنین گفت که سوء مصرف مواد به تنهایی، نمی‌تواند به بافت مخچه آسیبی برساند مگر این که با کمبود تغذیه همراه باشد و همچنین شاید بتوان گفت که مرفین با واحد بالا و مدت زمان طولانی، می‌تواند منجر به تغییرات در ساختمانهای مختلف مغز شود (۱۷). به عبارت دیگر، چنین می‌توان گفت که صرفاً خود مسأله اعتیاد صرف نظر از زمان مصرف دارو، بر روی حجم قشر مخچه اثری ندارد آنچه که باید ذکر شود این است که در مطالعه حاضر جهت بررسی حجم قشر مخچه از روش کوالیری استفاده شده است که روشی دقیق، ساده و کارآمد می‌باشد و با صرف وقت کوتاهی حجم قشر مخچه بدست آمد. در یک نتیجه‌گیری کلی می‌توان گفت که این مطالعه نشان داد که اعتیاد ۵ روزه موشهای صحرایی با مرفین، تأثیر قابل ملاحظه‌ای در حجم کل مخچه نگذاشته است. هر چند که در این زمینه بررسی‌های بیشتر میکروسکوپی مورد نیاز است.

Abstract

Application of the Stereology Technique in Evaluating the Addictive Effects of Morphine on the Cerebellar Cortex Volume in Male Rat

The addictive effect of morphine on the cortex volume of the cerebellum is evaluated in this study using unbiased, robust and efficient quantitative stereological methods. 30 male rats of N-Mary race, aging 3 months and weighing 109+ 3.5 gr., were randomly selected and assigned into three groups, the first group receiving no treatment. The second group received normal-Saline, and the third group received an increasing dose of morphine-saline, 5-25 mg. for 5 days. Doses of treatment were the same for the second and third groups. The animals were deeply anaesthetized with an injection of Ketamin 12 hours after the last dose of the treatment and after seeing the withdrawal symptoms, via the left ventricle of the heart, they were perfused with a 0.9% saline and fixation was done. Then, the Cortex volume of the Cerebellum was determined using stereology and cavalier principles. For this purpose, uniform random sampling, parallel slices and counting lattice points were adopted. The ANOVA was used to compare the statistical differences of the study groups. There was no significant differences noticed in the estimated cortex volumes of the animals of the two groups. Therefore, the increasing dose of morphine injection for five days had no addictive effect on the cortex volume of the cerebellum in the subjects of this study.

Key Words : Morphine-Dependence ; the Cerebellum ; Rat ; Stereology ; Cortex Volume

منابع

- 1 - Katzung , Bl . Basic & elinical Pharmacology : Appleten & Longcaliforniao 1998 .
- 2 - Vesterby , A . "Star volume in bone research , A histomorphometric analysis of trabe cular bone Structure using vertical sections" . Anatomy eec . 1993 . PP 235 - 334 .
- 3 - Roberts , NoBarbosa , c . Blamhardt , LD . Kawoski , RD . and Edwards , Rt . "Steveologieal estimation of the total volume of mr Visible brain lesions in Patients with multiple sclerosis". Magmas . 1994 . pp 375 - 78.
- 4 - Gunderson , Hje . & jensen , EB . " The efficiency of systematic Sampling in stereology and it's Prediction " . journal of microscopy . 147 . 1987 . pp 229 - 63.
- 5 - Gunderson , Hja . Bagyer , P . Bend tsen , TF . Evans , Sm . Korbo , L , Nyen gaard , jr . Pakuenberg , B Vesterby , A . West , mj " The new stereological tools : disector , Fractionator , nacleator , and Point sampled intercepts and their use in Pathological research and diagnosis " . Apmis . 96 . 1988 . pp 857 - 81 .
- 6 - Mayhew , Tmo " A reveiw of recent advances in Stereology for quantifying neural structure " . Journal Neurocytology . 21 . 1992 . PP 313 - 18 .
- 7 - Mayhew , Tm . & olsen , OR . " inagnetic resonance imaging (mri) and nodel free estinates of brain volume determined using the cavalieri Principle " . Journal anatomy . 178 . 1991 . PP 133 - 44 .
- 8 - Burllet , A . Grouiman , MN Frenette , B . Nicolas , Jp . Burllet , co"the immunological impairment of acru neuropeptide y by ricin a chain Produced Persistent decreased of food intake and body weighy " . Neuroscience . 1 . 1995 . PP 151 - 59 .
- 9 - Windh , RT . Little , Pj . kubn , Cm . " The ontogeny of mu opiate tolerance and dependence in the rat : antinociceptive and biochemical studies " . Journal pharmacology experimental thereapeutics . 273 (3) . 1995 . Jun . PP 1361 - 74 .
- 10 - Michel , Kp . orive - cruze , Lm . " Application of the cavalieri princrple and vertical sections method to lung . Estination of volume and pleural surface area. Journal of microscopy . 15 . (Pt 2) . 1988 may - pp 117- 36 .
- 11 - Howard , ev . Reid , s . Baddeley , Ay . "unbiased estimation of particle density in the tandem scanning reflected light microscope". Journal of microscopy . 138 . 1985 , PP 203 - 12 .
- 12 - Blasig , j . Herz , A . Reinhold , K . " Deve iopment of phy sical dependence on morphine inrespect to time and dosage and quantification of the precipited withdrawal syndrome in rats " . Psyehopharmacology . 33 . 1973 . PP 133 - 39 .
- 13 - Baker , KG . Harding , AG . Halliday , G . M . Krill , j . Harper , GG" . Neuronal Loss in Functional zones of the cerebellum of chronic alchoholics with and without wernicke's encephalopathy " . Neuyoseience . 91 (2). 1999 . PP 429 - 38 .
- 14 - Hill , sy . Mikhael , MA . " Computerized transaxial lomographic and neuro Psychological evaluations in chronic alcoholics and heroin abusers " . 136 . 1979 . PP 598 - 02 .
- 15 - Cascell , NG . Pearlson , G wong , DF . Broassolle , E . Maryolin , Ra . "effects of Substance abuse. on ventricular and sulcal measures ass essed by computerised tomography " . journal Psychiatr. 159 . 1991 - pp 217 - 21 .
- 16 - Rintala . J . Jaatinen . P . Saruiharju , M . " effects of liflong ethanol consumption on cerebellar layers volumes in An and Ana ratso " Alcohol clinical experiental research . 21 (2) 1997 Apr . PP 311-17 .
- 17 - Pezawas , Lm . Fisher , G . Diamant , K . Schoeider , c . schinder , Sd . "Cerebral ct Findings in male opioid - dependent patients : Stereological , planimetric and linear measure ments" . 83 (3) . 1998 sep 28 . PP 139 - 47 .