

## سنجر میزان تاثیر مرفین بر رشد و نمو فولیکولهای تخدمان موش سوری در مراحل مختلف رشد (۳-۱۲ هفتگی)

زهرا طوطیان<sup>۱</sup>، مریم رضائیان<sup>۲</sup>، سیمین فاضلی پور<sup>۳</sup>، محمد شادخواست<sup>۴</sup>، سعید بکایی<sup>۵</sup>

<sup>۱</sup> استادیار، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران

<sup>۲</sup> دانشیار، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران

<sup>۳</sup> استادیار، گروه آناتومی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد پزشکی تهران

<sup>۴</sup> استادیار، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد

<sup>۵</sup> دانشیار، گروه اپیدمیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران

### چکیده

**سابقه و هدف:** مرفین یکی از مهمترین آلکالوئیدهای تریاک است که اثر آن بر روی بعضی از اندامهای بدن مطالعه شده است. هدف از این مطالعه بررسی اثر مرفین بر رشد و نمو فولیکولهای تخدمان در مراحل مختلف رشد می‌باشد.

**روش بودرسی:** در این تحقیق تجربی، ۴۰ سر موش ماده از سن سه هفتگی انتخاب و پس از تعیین وزن به دو گروه تجربی (I و II) و دو گروه کنترل و شم تقسیم گردیدند. به گروههای تجربی، ۹ هفته مرفین به صورت خوراکی با غلظتها ۱/۰۰۱ و ۰/۰۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر آب آشامیدنی، به گروه کنترل تنها آب آشامیدنی و به گروه شم آب آشامیدنی و شکر خورانده شد. در خاتمه موشها را بیهوش کرده و تخدمانها را از بدن خارج و پس از انجام مراحل بافتی، فولیکولهای اولیه، ثانویه، بالغ و آرتیک شمارش و نتایج حاصله مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

**یافته‌ها:** نتایج حاصل از اثر مرفین بر فولیکولهای اولیه تخدمان در گروههای تجربی در مقایسه با گروههای کنترل اختلاف معنی‌داری را نشان نداد ولی اثر آن بر فولیکولهای ثانویه، بالغ و آرتیک در مقایسه با گروههای کنترل معنی‌دار بود ( $P < 0.001$ ).

**نتیجه‌گیری:** با توجه به مشاهدات آزمایشگاهی و نتایج آماری این مطالعه، می‌توان اظهار داشت که مرفین می‌تواند بر تخمک‌گذاری و در نتیجه بر عملکرد دستگاه تناسلی ماده اثر بگذارد.

**واژگان کلیدی:** مرفین، موش، فولیکول، تخدمان.

عملکرد دستگاه تناسلی در دوران بلوغ می‌گردد (۳). تحقیقاتی که بر روی اثر مرفین در مراحل تخمک‌گذاری موش صحرائی صورت گرفته، نشان می‌دهد که این ماده می‌تواند در مرحله پرواستروس موجب مهار تخمک‌گذاری موش صحرائی شود (۴). بررسیهای دیگری در زمینه اثر بازدارندگی مرفین بر ترشح LH (۳،۵)، قبل از زمان تخمک‌گذاری صورت گرفته است (۶). بعلاوه دانشمندان نشان داده‌اند استفاده از مرفین موجب کاهش باروری می‌شود (۶). گزارشاتی درباره اثر نیکوتین و کوتینین بر روی سلولهای احاطه‌کننده اووسیت ارائه شده است (۷). اثر بعضی از داروها بر بلوغ فولیکولهای تخدمان

### مقدمه

مرفين با فرمول شیمیائی  $C_{12}H_{19}NO_3$  مهمترین آلکالوئید تریاک است که به میزان ده درصد در آن یافت می‌شود (۱). این ماده قویتری ترین ضد درد اپیوئیدی است که استفاده از آن در سیکل استروس بی‌نظمی ایجاد می‌کند (۲). تجویز داروهای مخدر در دوره تمایز جنسی موجب اختلال در

آدرس نویسنده مسئول: تهران، خیابان آزادی، بخش دکتر محمد قریب، دانشکده دامپزشکی دانشگاه  
تهران، دکتر زهرا طوطیان (email: tootanz@vetmed.ut.ac.ir)

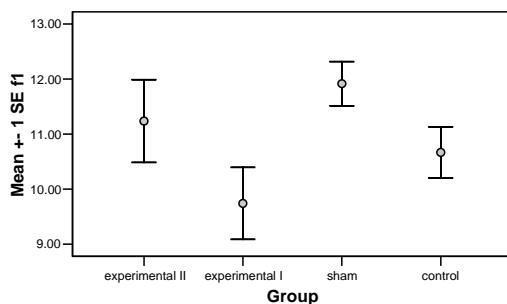
تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۵/۷/۴

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۸۵/۱۱/۸

تفاوت روند رشد فولیکولی بود، از هر تخدمان بصورت تصادفی چهار مقطع انتخاب گردید که این انتخاب برای تمام گروههای مورد آزمایش یکسان بود. شمارش فولیکولی بصورت مارپیچ از نقطه‌ای از کورتکس در جهت عقربه‌های ساعت به سمت مدولابه عمل آمد. ارقام بدست آمده، با آزمون غیرپارامتری Kuskal-Wallis مورد بررسی و تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

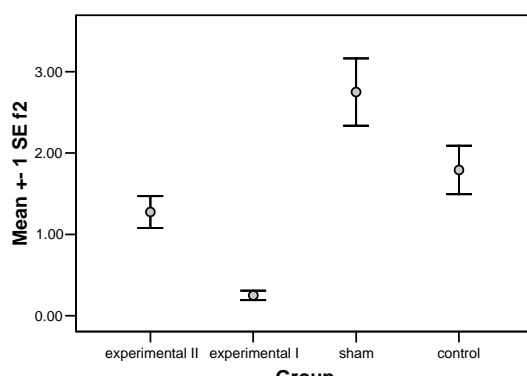
### یافته‌ها

در مقایسه اثر مرفین بر فولیکولهای اولیه تخدمان ( $F_1$ ) در هیچ یک از گروههای مورد آزمایش اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید (نمودار ۱).



نمودار ۱- مقایسه میانگین و خطای معیار فولیکولهای اولیه تخدمانهای موش سوری ۱۲ هفتۀ

در مقایسه اثر مرفین بر فولیکولهای ثانویه ( $F_2$ ) بین دو گروه تجربی با یکدیگر، گروههای تجربی با گروه شم و گروه تجربی I با گروه کنترل اختلاف معنی‌دار بود ( $P < 0.001$ ). در حالیکه در مقایسه گروه کنترل با گروه شم و گروه تجربی II با گروه کنترل اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (نمودار ۲).



نمودار ۲- مقایسه میانگین و خطای معیار فولیکولهای ثانویه تخدمانهای موش سوری ۱۲ هفتۀ

مورد مطالعه تعدادی از محققین قرار گرفته است (۸). بعلاوه نقش عملکردی آریل هیدروکربن بر رشد و نمو تخدمان نشانده‌نده تاثیر مواد مختلف بر تخدمان می‌باشد (۹). بررسیهایی در خصوص اثر بازدارندگی سیگار بر رشد و نمو فولیکولهای تخدمان انجام شده است (۱۰).

با توجه به اینکه تاکنون بررسی جامعی بر روی اثر مصرف خوارکی مرفین در طولانی مدت بر روی رشد و نمو فولیکولهای تخدمان صورت نگرفته است، مطالعه اخیر ضروری بنظر می‌رسد.

### مواد و روشها

در این مطالعه تجربی به منظور بررسی اثر مرفین بر فولیکولهای تخدمان به روش مورفومتری، ۴۰ سر موش سوری ماده نژاد Balb/C را در سن سه هفتگی از موسسه سرم سازی حصارک تهیه و پس از نشاندار کردن، ۲۰ سر آنها به دو گروه تجربی I و II و ۲۰ سر دیگر به دو گروه کنترل و شم تقسیم شدند. آب آشامیدنی مورد استفاده در گروه کنترل، فاقد مرفین و شکر، گروه شم همراه شکر (۰/۰۵ mg/kg) و گروههای تجربی همراه شکر و مرفین بود. (افزودن شکر به دلیل تلخی مزه مرفین می‌باشد). در گروههای تجربی I و II به ترتیب مرفین با دو غلظت ۰/۱ و ۰/۰۱ میلی گرم در میلی لیتر در آب آشامیدنی مورد استفاده قرار گرفت. میزان مصرف آب آشامیدنی در تمام گروهها، برای هر سر موش ۵ میلی لیتر در هر روز در نظر گرفته شد. با توجه به افزایش روز افزون نیاز معتادان به مواد مخدر، در این تحقیق مرفین مصرفی در گروههای تجربی، در روزهای اول و دوم با غلظت ۰/۱ و ۰/۰۱ میلی گرم در میلی لیتر، روزهای سوم و چهارم به دو برابر، روزهای پنجم و ششم به سه برابر و از روزهای هفتم تا سن ۱۲ هفتگی به چهار برابر روز اول به آب آشامیدنی اضافه گردید. در پایان دوره آزمایش، موشهای توسط کلروفرم بیهوده گردیدند. پس از باز کردن شکم، تخدمانها توسط سرم فیزیولوژی شستشو شده و در فرمالین ۱۰٪ قرار گرفتند. جهت مطالعه میکروسکوپی تخدمانها، مراحل آماده‌سازی بافتی انجام و برشهای طولی و وسطی (midsagittal) از تخدمانها به ضخامت ۶ میکرون تهیه و توسط هماتوکسیلین ائوزین رنگ آمیزی شدند. جهت بررسی انواع فولیکولها و شمارش آنها، ابتدا از تخدمانها برشهای سریالی تهیه و با روش مورفومتری (۱۱) تعداد کل فولیکولهای اولیه، ثانویه، بالغ و آتریک محاسبه گردید. لکن با توجه به هدف مطالعه که بررسی

هیپوتابالموس هیپوفیز تخدمان و در نتیجه کاهش تعداد فولیکولهای ثانویه باشد (۱۰، ۱۲، ۱۳). اختلاف معنی دار بین دو گروه تجربی نشان دهنده تأثیر بیشتر غلظت بالای مرفین بر تعداد فولیکولهای ثانویه است (۱۴). در بررسی اثر مرفین بر فولیکولهای بالغ تخدمان در مقایسه بین گروههای کنترل و شم با گروههای تجربی تفاوت معنی دار بود. این نتایج نشاندهنده اثر مستقیم گونادوتروپین های هیپوفیز بر رشد فولیکولهای تخدمان می باشد. مرفین و سایر مواد مخدر می توانند با تأثیر بر محور هیپوتابالموس هیپوفیز تخدمان موجب کاهش میزان اثر هیپوتابالموس بر روی هیپوفیز و در نتیجه کاهش FSH و LH و کاهش فولیکول بالغ و مهار تخمک گذاری گردد (۱۵، ۱۶، ۱۷، ۱۸).

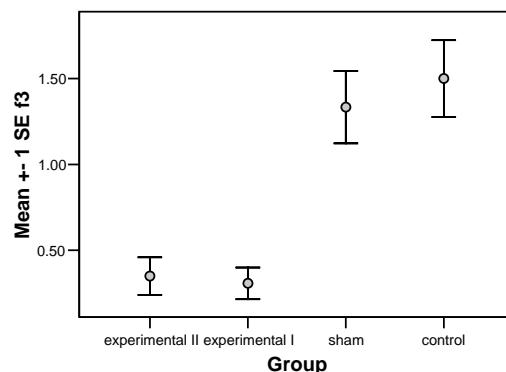
در بررسی اثر مرفین بر فولیکولهای آترتیک تخدمان در مقایسه بین گروههای کنترل و شم با گروههای تجربی اختلاف معنی دار بود. این نتیجه نشاندهنده تأثیر مرفین بر افزایش تعداد فولیکولهای آترتیک است که در طول دوران افزایش جنسی صورت می گیرد. هنگام تولد کاهش چشمگیری در تعداد فولیکولهای اولیه و تبدیل آنها به فولیکولهای آترتیک صورت گرفته که به دلیل تغییرات هورمونی زمان تولد دراثر کاهش گونادوتروپین های مادر می باشد. علاوه تشکیل فولیکولهای آترتیک در طول زندگی نیز ادامه دارد که این تبدیل با مصرف مواد مخدر افزایش معنی داری را نشان می دهد. یکی دیگر از دلایل افزایش فولیکولهای آترتیک با مصرف مواد مخدر کاهش میزان FSH و LH و در نتیجه کاهش استروژن و بالاخره کندی روند تکثیر سلولهای گرانولوزا است (۱۹، ۲۰، ۲۱).

بنابراین استفاده از مرفین می تواند موجب عدم رشد کامل فولیکولها و افزایش آترزی شدن آنها گردد. در خاتمه با توجه به اثرات مرفین بر فولیکولهای تخدمان و اختلال در تشکیل آنها پس از دوران جنینی پیشنهاد می گردد تا حد امکان مصرف داروهای مخدر به خصوص مرفین که به عنوان قویترین مسکن پس از اعمال جراحی مورد استفاده قرار می گیرد، با احتیاط صورت گیرد.

## تشکر و قدردانی

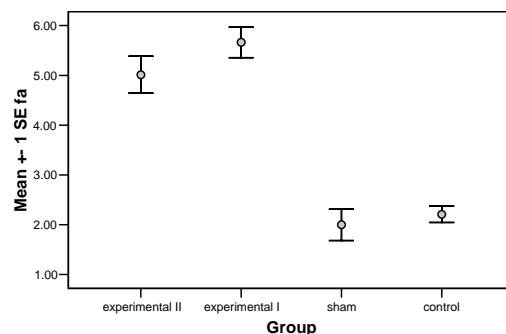
بدینوسیله مراتب قدردانی خود را از شورای پژوهشی دانشگاه تهران به دلیل تامین اعتبار این طرح ابزار می دارد و از آقایان محمدحسن صبوری، کاظم چاوشی پور و فردوس ابراهیم پور کارشناسان بخش آنatomی و بافت شناسی بخارتر کمکهای فنی ایشان در انجام پژوهه قدردانی می شود.

در مقایسه اثر مرفین بر فولیکولهای بالغ (F3)، بین گروههای کنترل و شم با گروههای تجربی اختلاف معنی دار بود ( $P < 0.001$ ) ولی در مقایسه گروههای کنترل با یکدیگر و گروههای تجربی با هم اختلاف معنی داری وجود نداشت. (نمودار ۳)



نمودار ۳- مقایسه میانگین و خطای معیار فولیکولهای بالغ تخدمانهای موش سوری ۱۲ هفته

در مقایسه اثر مرفین بر فولیکولهای آترتیک (FA)، بین گروههای تجربی با گروههای کنترل و شم اختلاف معنی دار بود ( $P < 0.001$ ) ولی بین گروههای تجربی I و II و گروههای کنترل و شم با یکدیگر اختلاف معنی داری دیده نشد. (نمودار ۴)



نمودار ۴- مقایسه میانگین و خطای معیار فولیکولهای آترتیک تخدمانهای موش سوری ۱۲ هفته

## بحث

این مطالعه نشان داد مرفین بر فولیکولهای اولیه تخدمان بدلیل تشکیل آنها در دوران جنینی بی اثر است (۲۲). در بررسی اثر مرفین بر فولیکولهای ثانویه در مقایسه بین گروههای کنترل و شم با گروههای تجربی اختلاف معنی دار بود که می تواند بدلیل اثر تدریجی و مزمن مرفین بر محور

## REFERENCES

- REFERENCES**

  - Katzung BC, editor. Basic and clinical pharmacology. 5<sup>th</sup> edition. New York, Lippincott, William and Wilkins, 1989; p:65-100, 342-47.
  - Kalra SP. Neural loci involved in naloxone-induced luteinizing hormone release: Effect of a norepinephrine-synthesis inhibitor. *Endocrinol* 1981; 109: 1805-10.
  - Lakhman SS, Singh R, Kaur G. Morphine-induced inhibition of ovulation in normally cycling rats: Neural site of action. *Physiol Behav* 1989; 46: 467-71.
  - Yilmaz B. Influence of chronic morphine exposure on serum LH, FSH, testosterone levels and body and testicular weights in the developing male rat. *Physiology* 1999; 43:189-96.
  - Kalra SP. Opioid-adrenergic-steroid connection in regulation of luteinizing hormone secretion in the rat. *Neuroendocrinol* 1989; 38: 418-26.
  - Sanders SR, Cuneo SP, Turzillo AM. Effect of nicotine and cotinine on bovine interna and granulosa cells. *Reprod Toxicol* 2002; 16: 795-800.
  - Heimler I, Trewin AL, Chaffin CL, Rawlins RG, Hutz RJ. Modulation of ovarian follicle maturation and effect on apoptotic cell death in Holtzman rats exposed to 2,3,7,8 tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) in utero and lactationally. *Reprod Toxicol* 1998; 12(1): 69-73.
  - Benedic JC, Lin TM, Loeffler IK, Peterson RE, Flaws JA. Physiological role of aryl hydrocarbon receptor in mouse ovary development. *Toxicol Sci* 2000; 56: 382-88.
  - Bordel R, Laschke MW, Menger MD, Vollmar B. Nicotine does not affect vascularization but inhibits growth of freely transplanted ovarian follicles by inducing granulosa cell apoptosis. *Hum Reprod* 2006; 21(3): 610-17.
  - Vizzeto LM, Vigilio FF. Morphometric study of the human neonatal ovary. *Anatomical Record* 1991; 237: 201-5.
  - Ieiri T, Campbell GA, Meites J. Effects of naloxone and morphine on proestrus surge of prolactin and gonadotropin in the rat. *Endocrinology* 1980; 106: 158.
  - Casteloot ID, Montel V, Croix D, Laborie C, Camp GV. Activities of the pituitary-adrenal and gonadal axes during the estrous cycle in adult female rats prenatally exposed to morphine. *Brain Res* 2001; 902: 66-73.
  - Slamberova R, Vathy I. Gonadal hormone-induced changes in adult male and female rats exposed to early postnatal handling are not altered by prenatal morphine exposure. *Pharmacol Biochem Behav* 2002; 72: 221-27.
  - Akabori A, Barraclough CA. Effect of morphine on luteinizing hormone secretion and catecholamine turnover in hypothalamus of estrogen treated rats. *Brain Res* 1986; 362: 221-26.
  - Fichtenberg DC. Study of experimental habituation of morphine. *ODCCP- Bulletin on Narcotics* 1951; 3, 4.
  - Adler BE, Crowley WR. Modulation of luteinizing hormone release and catecholamine activity by opiates in the female rat. *Neuroendocrinology* 1984; 38: 248-53.