Quarterly Journal of Hamedan Police Science

Journal homepage: http://hamedan.jrl.police.ir/

45 Vol.7, No.26, Summer 2020

A Survey on the Effect of Morphine on Spermatogenesis, FSH, LH, Testosterone and Blood Biochemical Parameters

Navid Shahrokhi Saboor
∗ PhD in Veterinary Medicine, Tabriz School of Veterinary Medicine, Iran. (Corresponding author)
navidshahrookhi92@yahoo.com

Received: 2020/05/14
Accepted: 2020/06/16

DOI: *******************

ABSTRACT

Drug addiction is one of the major concerns of today's society. Drug use causes widespread clinical complications in users. Morphine is a very strong analgesic and narcotic drug that causes biotransformation in the liver, gastrointestinal tract and kidneys and is excreted through the kidneys. This study was performed to evaluate the effect of peritoneal morphine injection in adult male rats in an experimental format based on a completely randomized design with 30 mice in a 28-day breeding period and dividing the mice into control and experimental groups. During the first week of the experiment, all groups used the basal diet to adapt to the conditions of the breeding environment and morphine was then injected daily into the experimental group at a dose (10 mg / kg once daily) for three weeks. At the end of the fourth week, blood samples were taken from the mice after anesthesia, then the mice were killed by amputation of the cervical vertebrae, and after opening the abdominal cavity. The testes and epididymis were removed. Cholesterol, triglyceride, glucose, HDL, LDL, sex hormones (testosterone, FSH, LH) and the number and percentage of sperm survival in the laboratory were determined and the experimental data after normal testing using software SAS was statistically analyzed. The results showed that the effect of peritoneal injection of morphine significantly increased the concentrations of glucose, LDL and testosterone ($P < 0.05$). Also, HDL and triglyceride were not significant on cholesterol concentration but caused a relative increase in cholesterol and a decrease in HDL and triglyceride ($P < 0.05$). It also significantly reduced the number and progress of progress ($P < 0.05$).

Keywords: Morphine, FSH, LH, Testosterone, Blood Biochemical Parameters, Male Rat.

►**Citation (Vancouver):** Shahrokhi Saboor N. A Survey on the Effect of Morphine on Spermatogenesis, FSH, LH, Testosterone and Blood Biochemical Parameters. Quarterly J Hamedan Police Sci. Summer 2020; 7(2):45-56.

►**Citation (APA):** Shahrokhi Saboor, N. (Summer 2020). A Survey on the Effect of Morphine on Spermatogenesis, FSH, LH, Testosterone and Blood Biochemical Parameters. *Quarterly Journal of Hamedan Police Science*, *7*(2), 45-56.

بررسی اثر مادهٔ مخدر مورفین بر اسپرماتوژنز، FSH، LH، تستوسترون و فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون

نوید شاهرخی‌صبور
* دکتری دامپزشکی، دانشکدهٔ دامپزشکی تبریز، ایران.
(نویسندهٔ مسؤول)
navidshahrookhi92@yahoo.com

چکیده

اعتیاد به مواد مخدر از دغدغه‌های بزرگ جوامع امروزی است. استفاده از مواد مخدر سبب ایجاد عوارض بالینی گسترده در مصرف‌کنندگان می‌شود. مورفین نوعی داروی ضد درد و مخدر بسیار قوی است که در کبد، لوله‌های گوارش و کلیه، زیست دگرگونی ایجاد نموده و از طریق کلیه‌ها دفع می‌شود. این تحقیق به‌منظور بررسی اثر تزریق صفاقی مورفین در رت نر بالغ، در قالب آزمایشی بر پایه طرح کاملاً تصادفی با ۳۰ سر موش در یک دورهٔ پرورشی ۲۸ روزه و تقسیم موش‌ها به دو گروه شاهد و تجربی، اجرا شد و روزانه به گروه تجربی مورفین با دوز (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم یک‌بار در روز) تزریق شد. در پایان هفتهٔ چهارم، پس از بیهوشی از موش‌ها نمونهٔ خون اخذ شد. سپس، موش‌ها به روش قطع مهره‌های گردن کشته‌شده و بعد از باز کردن حفره شکمی، بیضه و اپی‌دیدیم آن‌ها خارج شد. مقادیر کلسترول، تری‌گلیسرید، گلوکز، HDL، LDL، هورمون‌های جنسی (تستوسترون، FSH، LH) و تعداد و درصد زنده‌مانی اسپرم‌ها در آزمایشگاه تعیین شد و داده‌های آزمایشی بعد از انجام آزمون نرمال با استفاده از نرم‌افزار SAS، مورد تجزیه‌وتحلیل آماری قرار گرفت. نتایج به‌دست‌آمده نشان دادند، تأثیر تزریق صفاقی مورفین، باعث افزایش معنی‌دار غلظت گلوکز، LDL و تستوسترون شد ($P < ۰/۰۵$). همچنین، بر غلظت کلسترول، HDL، تری گلیسرید معنی‌دار نبود. اما باعث افزایش نسبی کلسترول و کاهش HDL و تری گلیسرید شد ($P >۰/۰۵$). همچنین به‌طور معنی‌داری باعث کاهش تعداد و حرکت پیش‌روندگی شد ($P < ۰/۰۵$).

کلیدواژه‌ها: مورفین، FSH، LH، تستوسترون، فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون، رت نر

نوع مقاله: پژوهشی
صص: ۴۵-۵۶
تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۲/۲۵
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۳/۲۷
شناسه دیجیتال (DOI):******

◄**استناد (ونکوور):** شاهرخی‌صبور ن. بررسی اثر مادهٔ مخدر مورفین بر اسپرماتوژنز، FSH، LH، تستوسترون و فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون. فصلنامه علمی دانش انتظامی همدان. پاییز ۱۳۹۹؛ ۷(۲):۴۵-۵۶.

◄**استناد (APA):** شاهرخی صبور، نوید. (پاییز ۱۳۹۹). بررسی اثر مادهٔ مخدر مورفین بر اسپرماتوژنز، FSH، LH، تستوسترون و فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون. *فصلنامه علمی دانش انتظامی همدان*، *۷*(۲)، ۴۵-۵۶.

مقدمه

سوءمصرف مواد یا وابستگی به مواد، یکی از مشکلات جدی دنیای کنونی است که علاوه بر تهدید ساختارهای اجتماعی، اقتصادی، فرهنگی و افزایش ناباروری، خطر بروز بیماری‌های ایدز، سل و انواع هپاتیت‌های منتقله از طریق خون در معتادان و مرگ‌ومیر آن‌ها را افزایش می‌دهد. سالیانه بیش از صدها میلیون در جهان تحت عمل جراحی قرار می‌گیرند. آپاندکتومی رایج‌ترین عمل جراحی اورژانس در کل دنیا هست. درد بعد از عمل جراحی و خصوصاً آندکتومی یکی از شایع‌ترین نارضایتی بیماران بعد از عمل جراحی است. از زمانی که جراحی به‌عنوان یک روش درمانی مطرح‌شده است، همیشه درد ناشی از آن مانع و مشکل اصلی آن بوده و درنتیجه یک اولویت پرستاری بوده است. درد ابتدایی‌ترین تجربه زندگی انسان است و شایع‌ترین شکایت در انواع بیماری هست. درد یک تجربه عاطفی و حس ناخوشایند هست و درعین‌حال یکی از مکانسیم‌های دفاعی بدن است. درمان آن از کهن‌ترین علومی است که انسان از آغاز خلقت در تحصیل و تکمیل آن کوشیده و همواره به‌عنوان مشکل بهداشتی-درمانی مطرح هست. یکی از بدترین دردهایی که انسان تجربه می‌کند، دردهای پس از جراحی است که هرقدر شدیدتر باشد پاسخ‌های همودینامیک و متابولیک نامطلوب‌تری برای بیماران ایجاد می‌کند (حشمتی و همکاران، ۲۰۰۶). مورفین نوعی داروی ضد درد و مخدر بسیار قوی است. این دارو در کبد، لوله‌های گوارش و کلیه، زیست دگرگونی ایجاد نموده و از طریق کلیه‌ها دفع می‌شود. مکانسیم تأثیر مورفین از طریق اثر بر دستگاه عصبی مرکزی هست؛ به‌گونه‌ای که احساس درد را کاهش می‌دهد و اثر ضد درد ایجاد می‌کند؛ مورفین اثرات خود را از طریق اتصال به گیرنده‌های اوپیوئیدی که در سیستم عصبی مرکزی و محیطی شناسایی‌شده‌اند، اعمال می‌نماید. این گیرنده‌ها شامل مو، دلتا و کاپا می‌باشند. نالوکسان به‌عنوان آنتاگونیست گیرنده‌های اوپیوئیدی مطرح است که با اتصال به این گیرنده‌ها قادر است اثرات مورفین را مهار کند. مطالعات در انسان و حیوانات آزمایشگاهی نشان داده‌اند که مورفین تحت تأثیر آنزیمی به نام مورفین-۶-دهیدروژناز و پس از کونژوگاسیون به مورفینون ۱۰، تبدیل و عمدتاً از طریق صفرا دفع می‌شود. داروی مورفین در سه فرم خوراکی (قرص و کپسول)، تزریقی (وریدی، زیرجلدی، عضلانی و صفاقی) و شیاف موجود است؛ گرچه مصرف آن از طریق استنشاق نیز ممکن است. تجویز مورفین در مواردی نظیر کاهش درد برای بیماران بستری، دردهای بیماران قلبی، درد ناشی از جراحی و پس از جراحی، دردهای مزمن شدید، درد ناشی از جراحت، سرطان، سنگ کلیه و کمردرد شدید توصیه‌شده است. داروی مورفین در سه فرم خوراکی (قرص و کپسول)، تزریقی (وریدی، زیر جلدی، عضلانی و صفاقی) و شیاف موجود است. گرچه مصرف آن از طریق استنشاق نیز ممکن است (وونگ، ۲۰۱۰). مورفین به‌عنوان داروی کمکی برای موارد بیهوشی، ضد سرفه و ضد اسهال تجویز می‌گردد. عوارض جانبی در بافت‌های مختلف متفاوت است. برای مثال، در دستگاه عصبی مرکزی موجب تحریک و یا مهار دستگاه عصبی می‌شود که علائمی نظیر تغییر درج حرارت بدن و خواب‌آلودگی را به دنبال دارد و یا در دستگاه قلبی و عروقی باعث کاهش فشارخون در عروق مغز و افزایش فشار مایع مغزی نخاعی می‌گردد (جیاکوئیی، ۲۰۱۱). با توجه به استفادهٔ عمدهٔ مورفین و مشتقات آن، اعمال تأثیرات این ماده بر روی هورمون‌های بدن و به‌ویژه هورمون‌های جنسی بسیار حائز اهمیت است. این ماده می‌تواند تأثیرات زیادی بر روی هورمون‌های جنسی به‌ویژه استروژن، پروژسترون و تستوسترون داشته باشد. ناباروری نگرانی بهداشت عمومی در بسیاری از کشورهای درحال‌توسعه جهان به علت شیوع بالای آن به‌ویژه به دلیل پیامدهای جدی اجتماعی آن است. ناباروری عواقب اجتماعی، اقتصادی و شخصی دارد که از بی‌فرزندی

می‌تواند فراتر رود. فاکتورهای مردانه مسؤول ۵۰٪ از موارد ناباروری است و در ۳۰ تا ۴۰ درصد از موارد علت ناباروری مردان مشخص نیست. مصرف مواد مخدر یکی از عواملی هستند که باعث ناباروری با عامل مردانه می‌شوند. ازجمله مواد مخدری که آثار مخرب آن‌ها بر روی باروری به اثبات رسیده است عبارتند از: استروئیدهای آنابولیک، ماری‌جوانا، حشیش، مخدرهای اوپیوئیدی، کوکائین و متانفتامین. مصرف اوپیوئیدهایی مانند مورفین و هروئین موجب کاهش سطح سرمی هورمون‌های محور هیپوفیز-گناد در هر دو جنس و حتی کاهش میزان باروری می‌شود (داتا و همکاران ۲۰۱۶).

مصرف مواد مخدر یکی از عواملی است که باعث ایجاد ناباروری با عامل مردانه می‌شوند. ازجمله مواد مخدری که آثار مخرب آن‌ها بر روی باروری به اثبات رسیده است عبارت‌اند از: استروئیدهای آنابولیک، ماری‌جوانا، حشیش، مخدرهای اوپیوئیدی، کوکائین و متانفتامین. مصرف اوپیوئیدهایی مانند مورفین و هروئین موجب کاهش سطح سرمی هورمون‌های محور هیپوفیز-گناد در هر دو جنس و حتی کاهش میزان باروری می‌شود (سیئرو، ۲۰۰۲).

مطالعاتی که در خصوص اثرات کوکائین بر روی باروری مردان انجام شد، مشخص کرد که تجویز مزمن کوکائین به مدت سه ماه به موش‌های صحرایی نابالغ باعث تحریک آپوپتوز در ۲۵ درصد از اپیتلیوم لوله‌های منی‌ساز و آسیب DNA سلول‌های اسپرماتوسیت و اسپرماتوگونی می‌شود. همچنین، در مطالعاتی که روی تزریق متانفتامین‌ها با دوزهای مختلف انجام شد، مشخص شد که موجب تحریک آپوپتوز در لوله‌های منی‌ساز می‌شود (لی. هو، ۱۹۹۹).

مطالعات نشان می‌دهد مصرف مواد مخدر می‌تواند اثرات فیزیوپاتولوژیک متعددی بر غدد جنسی، سیستم اندوکرین و گلوکز خون بگذارد. نتایج حاصل از یک تحقیق نشان می‌دهد مواد مخدری مانند مورفین، می‌تواند بر هیپوتالاموس و متعاقباً بر هیپوفیز اثر گذاشته و از این طریق بر دستگاه‌های اندوکرینی تأثیر خود را اعمال کند (صحرایی، ۱۳۸۱).

بر اساس پژوهش‌های فیزیولوژی و فارماکولوژی، گزارش‌هایی در مورد ارتباط مورفین با بی‌دردی، یادگیری، حافظه، خواب و پدیده‌های رفتاری وجود دارد. علاوه بر این نقش مورفین به‌عنوان یکی از عوامل تأثیرگذار بر سطح گلوکز خون نیز مطرح است. بااین‌حال، گزارش‌های متناقضی دال بر نقش مورفین در تغییرات گلوکز خون وجود دارد. همچنین، برخی شواهد موجود حاکی از هیپرگلیسمی[1] (افزایش گلوکز خون) می‌باشند. برعکس، گزارش‌هایی نیز دال براثر هیپوگلیسمی[2] (کاهش گلوکز خون) مورفین در اثر تزریق نخاعی مورفین در رت وجود دارد. علاوه بر این، یافته‌های پژوهش‌های قبلی نیز هیپوگلیسمی وابسته به دوز را در اثر تجویز دوره‌ای مختلف مورفین زیر جلدی نشان داد. در پژوهشی مشخص‌شده است مصرف تریاک (با مادهٔ مؤثر مورفین) می‌تواند بر کاهش گلوکز خون در بیماران دیابت قندی مؤثر باشد (جیان اینگ، ۲۰۱۱).

در زمین، تأثیر مورفین بر لیپیدهای خونی گزارش‌های متناقضی وجود دارد که در مورد آمفتامین‌ها در این مورد تحقیق‌های گسترده‌تری صورت پذیرفته است. در مطالعه‌ای تزریق آمفتامین‌ها موجب سبب افزایش سطح اسیدهای چرب خون شده از طرفی در مطالعه‌های دیگر تغییری در سطوح اسیدهای چرب آزاد سرم، تری گلسیرید و کلسترول سرم مشاهده نشد. در تحقیقی دیگر ارائهٔ آمفتامین، سبب کاهش غلظت اسیدهای چرب آزاد و تری‌گلیسریدها در سرم خون شده است. تحقیقات انجام‌شده نشان داده که در معتادین به هروئین، میزان کلسترول تام و HDL (لیپوپروتئین با دانسیته بالا) نسبت به گروه شاهد پایین بوده و از طرفی میزان تری‌گلیسرید در خون آن‌ها بالاست.

1. Hyperglycemia
2. Hypoglycemia

در برخی مطالعات تجویز مورفین به موش باعث کاهش تری‌گلیسرید شده و مقادیر سرمی تری‌گلیسرید افراد معتاد به هروئین نسبت به گروه شاهد بالاتر بوده است (کالرا و همکاران، ۲۰۰۸).

ویژگی‌های منحصربه‌فرد موش بزرگ آزمایشگاهی

ممکن است این سؤال مطرح شود که موش بزرگ آزمایشگاهی دارای چه ویژگی‌هایی است که آن را به‌عنوان یک حیوان پژوهشی، مناسب نموده است. این موش‌ها را می‌توان به‌آسانی از بنگاه‌های تجارتی و سازمان‌های پژوهشی تهیه نمود. در برخی از کشورها، پاره‌ای از مراکز در تکثیر و نگهداری نژادهای هم‌خون، دورگه و غیرهم خون، اهتمام ورزیده‌اند و آن‌ها را در اختیار متقاضیان قرار می‌دهند.

این موش‌ها به‌آسانی در محیط آزمایشگاهی قابل نگهداری بوده و اطلاعات در مورد نیازهای غذایی و شرایط مطلوب محیط‌زیست و اختصاصات زادوولد آن‌ها به‌خوبی شناخته‌شده است. این موش‌ها به‌آسانی با روش‌های پژوهشی سازگاری پیدا می‌کنند.

موش حیوانی سازش‌پذیر است و ازآنجاکه با شرایط آزمایشگاهی گوناگون به‌خوبی سازش پیدا می‌کند، برای انجام پژوهش‌های رفتاری و فیزیولوژیکی بسیار مناسب است. شواهد نشان‌دهندهٔ این است که فیزیولوژیست‌ها از موش رت در بررسی‌ها، به‌ویژه کاوش‌های قلبی-عروقی (گردش خون)، غدد درون‌ریز (هورمون‌ها) و پژوهش‌های مربوط به تغذیه و سوخت‌وساز و تولیدمثلی و جنسی استفاده می‌کنند. از دیگر موارد استفاده موش، می‌توان کاربرد در پژوهش‌های مربوط به رفتار، دندانپزشکی، سرطان‌شناسی و ارزیابی داروها نام برد (قراگزلو و همکاران، ۱۳۸۵).

اهداف پژوهش

۱. بررسی اثر مورفین بر هورمون‌های جنسی
۲. بررسی اثر مورفین بر گلوکز، LDL، HDL، کلسترول و تری‌گلیسرید
۳. بررسی اثر مورفین بر اسپرماتوژنز

فرضیه‌های پژوهش

۱. مورفین موجب کاهش تستوسترون می‌شود و بر ترشح FSH و LH مؤثر است.
۲. مورفین باعث هیپوگلیسمی می‌شود.
۳. مورفین بر میانگین مقادیر HDL،LDL ، کلسترول و تری‌گلیسرید در سرم خون تأثیرگذار است.
۳. مورفین بر روند اسپرماتوژنز مؤثر است.

روش پژوهش

این پژوهش در قالب آزمایشی بر پایهٔ طرح کاملاً تصادفی با دو گروه شاهد و تجربی شامل، ۳۰ سر موش رت نر بالغ، با میانگین وزنی ۱۸۰-۲۲۰ گرم، در یک دورهٔ پرورشی ۲۸ روزه اجرا شد. در طول هفتهٔ اول، آزمایش کلیهٔ گروه‌ها از جیرهٔ ویژهٔ حیوانات آزمایشگاهی تغذیه شدند و در طی آزمایش، غذا و آب به اندازهٔ کافی در اختیار آن‌ها قرار داشت؛ و سپس به مدت سه هفته، روزانه به گروه تجربی، مورفین با دوز (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم یک‌بار در روز) تزریق شد.

کلیهٔ گروه‌ها در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی با دمای ۲۵ تا ۳۰ درج سانتی‌گراد و در آزمایشگاه تعیین شد و داده‌های آزمایش بعد از انجام آزمون نرمال با استفاده از نرم‌افزار SAS، مورد تجزیه‌وتحلیل آماری قرار گرفت. معنی‌دار شدن اثر تیمارها روی صفات موردمطالعه و مقایسهٔ میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد ($P<۰/۰۵$).

روش اندازه‌گیری کلسترول سرم

در اندازه‌گیری مقدار کلسترول سرم خون که توسط دستگاه اتوآنالایزر انجام گردید، واکنشی صورت می‌گیرد که به‌صورت زیر خلاصه‌شده است:

در این آزمایش، اکسیژن آزادشده از کلسترول در مجاورت آنزیم کلسترول اکسیداز موجود در کیت با ۴- آمینوآنتی‌پیرین و فنل در مجاورت آنزیم پراکسیداز موجود در کیت کینونیمین می‌دهد. مقدار کینونیمین تشکیل‌شده که به‌صورت فتومتری به وسیلهٔ دستگاه قابل‌اندازه‌گیری است، با مقدار کلسترول رابطهٔ مستقیم دارد که دستگاه اتوآنالایزر به‌صورت خودکار محاسبه کرده و از طریق چاپ اتوماتیک بر روی نوار کاغذی در اختیار کاربر قرار می‌دهد (خاکی و همکاران، ۲۰۰۹).

روش اندازه‌گیری HDL و LDL سرم

در آزمایش لیپوپروتئین‌های با چگالی کم (LDL) و لیپوپروتئین‌های با چگالی خیلی کم (VLDL) و شیلومیکرون‌ها توسط اسیدفسفوتنگستیک و کلریدمنیزیم موجود در ترکیب کیت از سرم جداشده و پس از سانتریفیوژ نمودن ته‌نشین می‌شوند. سپس، محلول فوقانی به میکروویال‌های دستگاه اتوآنالالیز منتقل شدند و به‌وسیله محلول معرف کلسترول مقدار آن‌ها تعیین گردید.

در نمونه‌های سرم، موش‌های رت مقدار ۲۰۰ میکرولیتر سرم با ۵۰۰ میکرولیتر محلول، HDL کلسترول خوب مخلوط شده و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۲۵- ۲۰ درج سانتی‌گراد قرارگرفته و سپس به مدت ۳۰ دقیقه در ۱۵۰ دور در دقیقه مورد سانتریفیوژ قرار گرفت. در مرحلهٔ بعدی آزمایش در محلول فوقانی باقیماندهٔ مقدار HDL کلسترول توسط محلول معرف آنزیماتیک کلسترول، تعیین گردید. مقادیر LDL-C را می‌توان با در اختیار داشتن غلظت کلسترول، تری‌گلیسرید و HDL-C به دست آورد (خاکی و همکاران، ۲۰۰۹).

روش اندازه‌گیری تری‌گلیسرید سرم

در این آزمایش، ابتدا گلیسرول توسط آنزیم لیپوپروتئین لیپاز که در ترکیب کیت مورداستفاده وجود دارد از اسیدهای چرب جداشده و سپس طی مراحل زیر اکسیژن آزادشده از گلیسرول با ۴- آمینوآنتی‌پیرین و فنول در مجاورت آنزیم پراکسیداز تشکیل کینونیمین می‌دهد. مقدار کینونیمین که با مقدار تری‌گلیسرید رابط مستقیم دارد به‌صورت فتومتری به‌وسیلهٔ دستگاه اتوآنالایزر بیوشیمیایی سنجیده شده و بر اساس برنامهٔ گنجانده‌شده در حافظهٔ دستگاه مقدار تری‌گلیسرید محاسبه و به کاربر ارائه می‌شود (خاکی و همکاران، ۲۰۰۹).

روش اندازه‌گیری گلوکز سرم

در این آزمایش، آب اکسیژنهٔ آزادشده از گلوکز در مجاورت آنزیم گلوکز اکسیداز، با فنول و ۴- آمینوآنتی‌پیرین، در مجاورت آنزیم پراکسیداز تشکیل کینونیمین می‌دهد. میزان کینونیمین تشکیل‌شده که به‌صورت فتومتریک قابل اندازه‌گیری است با مقدار گلوکز رابطهٔ مستقیم دارد (خاکی و همکاران، ۲۰۰۹).

تعیین غلظت هورمون‌های LH و FSH

۱-ابتدا ۵۰ لاندا نمونهٔ استاندارد و یا کنترل را در چاهک ریخته شود.

۲-در مرحلهٔ بعد ۱۰۰ لاندا از محلول کونژوگه FSH و LH به همهٔ چاهک‌ها افزوده شود.

۳-پلیت را برای ۲۰-۳۰ ثانیه به‌آرامی با دست روی سطح میز تکان می‌دهیم تا کونژوگه به‌خوبی با سرم مخلوط شود. سپس، سطح چاهک‌ها را می‌پوشانیم تا در حین انکوباسیون محتویات داخل چاهک‌ها تبخیر نشود.

۴-پلیت به مدت ۶۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شود.

۵-محتویات داخل پلیت تخلیه شود.

۶-سپس ۳۰۰ لاندا از محلول شستشوی رقیق‌شده به همهٔ چاهک‌ها اضافه شود و سپس تخلیه نموده، عمل فوق سه مرتبه تکرار می‌شود.

۷- در مرحلهٔ بعدی ۱۰۰ لاندا از محلول سوبسترای آماده (مخلوط A و B) به همهٔ چاهک‌ها اضافه گردد.

۸-پلیت به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق و در محیط تاریک انکوبه شود.

۹- سپس ۵۰ لاندا از محلول STOP را به همهٔ چاهک‌ها اضافه نموده و پلیت را برای ۱۵-۲۰ ثانیه به‌آرامی با دست، روی سطح میز تکان می‌دهیم.

۱۰-پلیت‌ها را در طول‌موج ۴۵۰ نانومتر (با طول‌موج ۶۲۰ نانومتر) خوانده، قرائت نمونه‌ها حداکثر تا ۳۰ دقیقه پس از افزودن محلول STOP صورت می‌گیرد (خاکی و همکاران، ۲۰۰۹).

تعیین غلظت هورمون تستوسترون

ابتدا ۱۰ لاندا نمونهٔ استاندارد و یا کنترل در چاهک ریخته شود. ۵۰ لاندا از محلول کونژوگه تستوسترون به همهٔ چاهک‌ها افزوده شود. پلیت را برای ۲۰ تا ۳۰ ثانیه به‌آرامی با دست روی سطح میز تکان داده تا کونژوکه به‌خوبی با سرم مخلوط شود. سپس، سطح چاهک‌ها را می‌پوشانیم تا در حین انکوباسیون محتویات داخل چاهک‌ها تبخیر نشود. ۵۰ لاندا از محلول کونژوکه BIOTIN را به همه چاهک‌ها افزوده می‌گردد. پلیت را برای ۲۰ تا ۳۰ ثانیه به‌آرامی با دست روی سطح میز تکان داده و سپس سطح چاهک‌ها را پوشانده تا در حین انکوباسیون محتویات داخل چاهک‌ها تبخیر نگردد. پلیت به مدت ۶۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه می‌شود. محتویات داخل پلیت را تخلیه می‌کنیم. ۳۰۰ لاندا از محلول شستشوی رقیق‌شده را به همه چاهک‌ها اضافه نموده و سپس تخلیه نموده و عمل فوق ۳ مرتبه می‌شود. ۱۰۰ لاندا از محلول سوبسترای آماده را به همه چاهک‌ها افزوده پلیت به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق و در محیط تاریک انکوبه می‌شود.

۵۰ لاندا از محلول STOP را به همه چاهک‌ها اضافه نموده و پلیت برای ۱۲-۲۰ ثانیه به‌آرامی با دست، روی سطح میز تکان می‌دهیم. پلیت در طول‌موج ۴۵۰ نانومتر (با طول‌موج ۶۲۰ نانومتر) خوانده می‌شود. قرائت نمونه‌ها حداکثر تا ۳۰ دقیقه پس از افزودن محلول STOP صورت می‌گیرد (خاکی و همکاران، ۲۰۰۹).

تعیین تعداد و درصد زنده‌مانی اسپرم

ابتدا بیضه را از بدن جدا کرده سپس، ناحیه انتهایی اپیدیدیم توسط قیچی در بافر سالین فسفات کاملاً قطعه‌قطعه گردیده و به مدت ۴۰ دقیقه به انکوباتور با دمای ۳۷ درجه منتقل گردید. برای مطالعهٔ تعداد اسپرم، بعد از خارج کردن نمونه از انکوباتور، قطعات خردشده اپیدیدیم را از محلول خارج و قطره‌ای از این محلول روی لام قرار داده‌شده و به‌منظور تعیین درصد تحرک، ابتدا درصد اسپرم‌های متحرک در ۵ میدان میکروسکوپی تخمین زده‌شده و سپس میانگین آن‌ها به‌عنوان درصد تحرک اسپرم‌ها ثبت شد. برای تعیین درصد زنده‌بودن اسپرم‌ها قطره‌ای از نمونه اپیدیدیم با یک قطره کوچک از رنگ حیاتی ائوزین B و نیگروزین مخلوط و سپس درصد اسپرم‌های زنده نسبت به تعداد کل اسپرم‌های موجود با بزرگنمایی ۴۰۰ × محاسبه شد (خاکی و همکاران، ۲۰۰۹).

یافته‌ها

مقایسهٔ میانگین، کلسترول، تری‌گلیسرید، گلوکز، LDL، HDL در جدول شمارهٔ ۱، نشان می‌دهد که اثر مورفین بر غلظت، گلوکز و LDL معنی‌دار بود ($P < ۰/۰۵$)؛ اما بر غلظت کلسترول و تری‌گلیسرید و HDL تأثیر معنی‌داری نداشت ($P > ۰/۰۵$). بررسی میانگین سطح LDL و گلوکز سرم خون موش‌های دریافت کنندهٔ مورفین، افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل داشته است

($P < ۰/۰۵$). کلسترول درگروهی که مورفین دریافت کرده بود، نسبت به گروه شاهد افزایش داشته است. همچنین، در بررسی میانگین HDL سرم خون گروه دریافت کنندهٔ مورفین، نسبت به گروه شاهد مشخص شد که مقادیر آن کاهش داشته است.

جدول ۱- مقایسهٔ میانگین تأثیر مورفین بر میزان فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرم خون رت نر در پایان دورهٔ آزمایشی (میلی‌گرم بر دسی لیتر)

گروه‌ها	LDL	HDL	تری‌گلیسرید	گلوکز	کلسترول
شاهد	۲۵/۸۳$_{ab}$	۶۱/۱۶	۵۳/۱۶	۹۶/۱۷$_{b}$	۸۳/۶۶
مورفین (۱۰mg/kg)	۲۹/۱$_{ab}$	۴۰/۸۷	۴۲/۹	۱۶۱$_{a}$	۱۱۷/۱۱
ارزش P	۰/۰۲	۰/۱۶۶	۰/۸۸۵	۰/۰۰۰۹	۰/۴۱۴
اشتباه معیار میانگین	۱/۳۷	۱/۹۸	۲/۸۹	۰/۱۵	۳/۹۳

a,b,... در هر ستون اعدادی که دارای حروف مشترک نیستند، اختلاف معنی‌دار دارند ($P < ۰/۰۵$)

بررسی نتایج هورمون‌ها

بررسی میانگین، سطح هورمون FSH، در سرم خون موش‌های گروه دریافت کنندهٔ مورفین و گروه شاهد اختلاف معناداری را نشان نداد، اما کاهش نسبی نسبت به گروه شاهد داشته است.

مقایسهٔ میانگین سطح هورمون LH، سرم خون موش‌های گروه دریافت کنندهٔ مورفین و گروه شاهد اختلاف معناداری را نشان نداد، اما باعث کاهش نسبی نسبت به گروه شاهد شد.

بررسی میانگین غلظت هورمون تستوسترون در سرم خون موش‌های گروه تجربی و گروه شاهد مشخص نمود که بین میانگین سطح هورمون تستوسترون در موش‌های گروه دریافت کنندهٔ مورفین در مقایسه با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری وجود دارد و میزان تستوسترون به‌صورت معنی‌داری کاهش یافته است ($P < ۰/۰۵$).

جدول ۲- مقایسهٔ میانگین تأثیر مورفین بر میزان هورمون‌های تستوسترون، LH، FSH، رت نر در پایان دورهٔ آزمایشی

گروه‌ها	تستوسترون (ng/ml)	LH(Iu/l)	FSH(Iu/l)
شاهد	۲/۶۸$_{c}$	۱/۳۳	۰/۷۳
مورفین (۱۰mg/kg)	۱/۰۵$_{a}$	۱/۰۵	۰/۲۹
ارزش p	۰/۰۴	۰/۷۲۶	۰/۲۰۶
اشتباه معیار میانگین	۰/۴۴	۰/۲۰۳	۰/۱۵

در هر ستون اعدادی که دارای حروف مشترک نیستند، اختلاف معنی‌دار دارند ($P < ۰/۰۵$).

تأثیر مورفین بر تعداد و زنده‌مانی اسپرم

بررسی نتایج حاصل از این پژوهش که در جدول شمارهٔ ۳ آمده است، نشان داد تزریق مورفین، تأثیر زیادی بر تعداد اسپرم‌ها دارد و درگروه تجربی، نسبت به گروه شاهد به‌طور معنی‌داری باعث کاهش تعداد اسپرم شد ($P < ۰/۰۵$)؛ اما تأثیر معنی‌داری بر درصد زنده‌مانی اسپرم نداشت ($P > ۰/۰۵$).

تأثیر مورفین بر درصد تحرک و پیش‌روندگی اسپرم

بررسی نتایج حاصل از این پژوهش که در جدول شمارهٔ ۴ آمده است، نشان داد که درگروه تجربی در مقایسه با گروه شاهد به‌طور معنی‌داری حرکت پیش‌روندگی اسپرم کاهش داشته است. همچنین، درصد اسپرم‌های متحرک به‌طور معنی‌داری کاهش نشان داد ($P < ۰/۰۵$).

جدول ۳- مقایسهٔ میانگین تأثیر مورفین بر تعداد و زنده‌مانی اسپرم رت نر در پایان دورهٔ آزمایشی

گروه	درصد پیش‌رونده	درصد متحرک	درصد غیرمتحرک
شاهد	۳۴/۴۹$_a$	۳۸/۸۱$_a$	۲۶/۷$_b$
مورفین (۱۰mg/kg)	۲۸/۶۵$_a$	۲۱/۶۶$_{ab}$	۴۹/۶۸$_{ab}$
ارزش p	۰/۰۱۲	۰/۰۳۹۶	۰/۰۱۰۷
اشتباه معیار میانگین	۱/۱۲	۱/۱۴	۰/۰۸

در هر ستون اعدادی که دارای حروف مشترک نیستند، اختلاف معنی‌دار دارند ($P < ۰/۰۵$).

جدول ۴- میانگین تأثیر مورفین بر تحرک اسپرم موش رت در پایان دورهٔ آزمایشی

گروه	تعداد	زنده	مرده
شاهد	۷۱۵/۳ $_{ab}$	۷۳/۳۳	۲۶/۶۷
مورفین (۱۰mg/kg)	۵۲۱/۳$_a$	۵۹/۷۹	۴۲/۲۱
ارزش p	۰/۰۰۱	۰/۱۲۹	۰/۱۲۹
اشتباه معیار میانگین	۵/۴۷	۰/۲۹۳	۰/۲۹۳

در هر ستون اعدادی که دارای حروف مشترک نیستند، اختلاف معنی‌دار دارند ($P < ۰/۰۵$).

پژوهشگاه علوم انسانی و مطالعات فرهنگی
پرتال جامع علوم انسانی

نتیجه‌گیری

در پژوهش حاضر، مقدار گلوکز و LDL در سرم خون موش‌های گروه دریافت کنندهٔ مورفین نسبت به گروه شاهد به‌صورت معنی‌داری افزایش نشان داد.

مطالعات زیادی در زمین نقش مورفین به‌عنوان یکی از عوامل تأثیرگذار بر سطح گلوکز خون انجام‌شده است. بااین‌حال، گزارش‌های متناقضی دال بر نقش مورفین در تغییرات گلوکز خون وجود دارد. برخی شواهد موجود حاکی از هیپرگلیسمی، در اثر تزریق زیر جلدی مورفین هست.

حاصل‌شده، به دلیل تحریک سیستم سمپاتوآدرنال و آزاد شدن کاتکول‌آمین‌ها و همچنین تحریک مستقیم بخش درون‌ریز پانکراس برای افزایش گلوکاگون، به ترتیب به‌عنوان سازوکارهای عصبی و هورمونی هیپرگلیسمی القاء شده توسط مورفین مطرح هستند. برعکس، گزارش‌هایی نیز دال براثر هیپوگلیسمی مورفین در اثر تزریق داخل نخاعی مورفین در رت وجود دارد. علاوه بر این، یافته‌های پژوهش‌های دیگر نیز هیپوگلیسمی وابسته به دوز را در اثر تجویز دوره‌ای مختلف مورفین زیر جلدی نشان دادند.

در پژوهشی مشخص‌شده است که مصرف تریاک (با مادهٔ مؤثر مورفین) می‌تواند بر کاهش گلوکز خون در بیماران دیابت قندی کمک کند (جیان اینگ، ۲۰۱۱).

در پژوهش حاضر، سطوح کلسترول، تری‌گلیسرید و HDL درگروهی که مورفین دریافت کرده بودند نسبت به گروه شاهد، اختلاف معنی‌داری وجود نداشت، اما میزان کلسترول، نسبت به گروه شاهد افزایش داشته است. همچنین میانگین HDL، کاهش داشته است. در افراد معتاد به هروئین نیز مقادیر HDL، نسبت به گروه کنترل پایین‌تر بوده است. پایین بودن میانگین HDL، درگروه معتاد نسبت به گروه شاهد، می‌تواند خطر ابتلای بیشتر به بیماری‌های کرونری را برای افراد معتاد مطرح نمایید. (وونگ، ۲۰۱۰).

در پژوهش حاضر، مشخص شد که تزریق صفاقی مورفین، به‌صورت نسبی باعث کاهش FSH و LH، نسبت به گروه شاهد می‌شود. همچنین، میزان هورمون تستوسترون به‌صورت معنی‌داری کاهش نشان داد. نتایج یک تحقیق که در مورد اثر هروئین بر روی تستوسترون صورت گرفت نشان داد که هروئین قادر است بر میزان ترشح هورمون تستوسترون تأثیر بگذارد. در سنجش میزان هورمون تستوسترون سرم خون در مقایسهٔ گروه تجربی با گروه شاهد تفاوت معنی‌دار بود؛ بنابراین به نظر می‌رسد مورفین مانند سایر مواد اوپیوئیدی بر محور مغز–هیپوفیز–بیضه، اثر خود را که با مهار LH، صورت می‌گیرد اعمال نموده و از این طریق موجب کاهش میزان هورمون تستوسترون خون می‌شود. مصرف مواد مخدر می‌تواند منجر به هیپوگنادیسم و کاهش میزان استرادیول، دی هیدروتستسترون، هورمون محرک جسم زرد (LH) و هورمون محرک فولیکولی (FSH) شود، میزان هورمون تستوسترون با مصرف مورفین کاهش معنی‌داری نشان می‌دهد که این کاهش با کاهش قدرت باروری همراه است. (دنیل، ۲۰۰۲).

در این پژوهش مشخص شد که تزریق مورفین درگروه تجربی، به‌طور معنی‌داری باعث کاهش تعداد اسپرم شد اما تأثیر معنی‌داری بر درصد زنده‌مانی اسپرم نداشت. همچنین، به‌طور معنی‌داری حرکت پیش‌روندگی اسپرم کاهش داشته است. تجویز مخدرها، باعث ممانعت از ترشح ضربانی هورمون آزاد کنندهٔ گنادوتروپین‌ها (GnRH) تحریک‌شده با اوپیوئید در محور هیپوتالاموس–هیپوفیز شده و متعاقب آن قطع ترشح LH، صورت می‌گیرد که منجر به کاهش سطح تستوسترون و نقص در اسپرماتوژنز می‌گردد. (داتا و همکاران، ۲۰۱۶).

البته، تاکنون مطالعات متعددی در زمین اثر اعتیاد پدر بر میزان هورمون‌های جنسی انجام‌نشده است ولی مطالعات صورت گرفته نشان دهندهٔ این است که سوءمصرف اوپیوئیدها توسط پدر اثرهای مضر متعددی بر فرزندان می‌گذارد که از جملهٔ آن‌ها می‌توان به کاهش تعداد نوزادان، کاهش وزن، افزایش مرگ‌ومیر نوزادان و افزایش نقص‌های زمان تولد اشاره کرد. مکانیسم‌های این سمیت‌های تکاملی در فرزندان پدر معتاد ناشناخته است، ولی شاید بتوان گفت تنها راه اعمال تأثیر مصرف مورفین توسط پدر بر روند تکامل جنین از راه مایع منی باشد. اخیراً چندین مکانیسم احتمالی که به وسیلهٔ آن تماس پدر با داروها ممکن است موجب اختلالاتی در فرزندان شود، بررسی‌شده است. مکانیسم‌های احتمالی شامل تغییرات ژنتیکی اسپرم، اثر سمی یا اپی‌ژنتیکی اسپرم، اثر غیرمستقیم داروها بر بیضه‌ها و اپیدیدیم هست. در مطالعاتی دیگر، تجویز مورفین به موش نر موجب کاهش میزان باروری می‌شود به‌طوری‌که درصد باروری درگروه با پدر معتاد ۳۳ درصد در مقابل ۷۴ درصد درگرو شاهد بوده است (بنتی و همکاران، ۲۰۰۳).

پیشنهادها

۱– با توجه به تأثیر اوپیوئیدهایی مانند مورفین در کاهش سطح هورمون‌های محور هیپوفیز–گناد در هر دو جنس و کاهش میزان باروری، پیشنهاد می‌شود در مورد تأثیر آن‌ها بر تخمدان‌ها و هورمون‌های استروژن و پروژسترون و تولید اووسیت‌ها تحقیقات بیشتری صورت بگیرد.

۲-با توجه به افزایش کلسترول و کاهش HDL در مصرف‌کنندگان مورفین و افزایش ریسک بیماری‌های قلبی-عروقی، پیشنهاد می‌شود در مورد سازوکارهای این موارد پژوهش‌های بیشتری انجام شود.

منابع

۱. صحرایی، کاکا؛ قشونی، حسن. (۱۳۸۱). اثر تجویز خوراکی مورفین بر باروری موش‌های سوری. *فصلنامهٔ باروری و ناباروری*، صفحات ۴-۱۰.

2. Yu, H., Wen, D., Ma, C., Meng, Y., Li, S., Ni, Z., & Cong, B. (2012). Effects of exogenous cholecystokinin octapeptide on acquisition of naloxone precipitated withdrawal induced conditioned place aversion in rats. *Plos one*, *7*(7), e41860.
3. Bennett, L., & Ratka, A. (2003). Delta opioid receptors are involved in morphine-induced inhibition of luteinizing hormone releasing hormone in SK-N-SH cells. *Neuropeptides*, *37*(5), 264-270.
4. Bhaskar, J. J., Chilkunda, N. D., & Salimath, P. V. (2012). Banana (Musa sp. var. elakki bale) flower and pseudostem: dietary fiber and associated antioxidant capacity. *Journal of agricultural and food chemistry*, *60*(1), 427-432.
5. Ajayi, A. F., & Akhigbe, R. E. (2020). Assessment of sexual behaviour and fertility indices in male rabbits following chronic codeine use. *Andrology*, *8*(2), 509-515.
6. Coutton, C., Fissore, R. A., Palermo, G. D., Stouffs, K., & Touré, A. (2016). Male infertility: genetics, mechanism, and therapies.
7. Datta, J., Palmer, M. J., Tanton, C., Gibson, L. J., Jones, K. G., Macdowall, W., ... & Wellings, K. (2016). Prevalence of infertility and help seeking among 15 000 women and men. *Human reproduction*, *31*(9), 2108-2118.
8. Daniell, H. W. (2002). Hypogonadism in men consuming sustained-action oral opioids. *The Journal of Pain*, *3*(5), 377-384.
9. del Valle-Soto, M. E., Iglesias, L., Calzada, B., Vega, J. A., Hernandez, L. C., & Perez-Casas, A. (1991). Effects of morphine on the pituitary-thyroid axis: morphological and analytical studies. *Functional and developmental morphology*, *1*(4), 3-6.
10. Daniell, H. W. (2002). Hypogonadism in men consuming sustained-action oral opioids. *The Journal of Pain*, *3*(5), 377-384.
11. Ghowsi, M., & Yousofvand, N. (2015). Impact of morphine dependency and detoxification by methadone on male's rat reproductive system. *Iranian journal of reproductive medicine*, *13*(5), 275.
12. Moghaddam, M. H. G., Khalili, M., Maleki, M., & Abadi, M. E. A. (2013). The effect of oral feeding of Tribulus terrestris L. on sex hormone and gonadotropin levels in addicted male rats. *International journal of fertility & sterility*, *7*(1), 57.
13. Cui, J., Wang, Y., Dong, Q., Wu, S., Xiao, X., Hu, J., & Zhang, Y. (2011). Morphine protects against intracellular amyloid toxicity by inducing estradiol release and upregulation of Hsp70. *Journal of Neuroscience*, *31*(45), 16227-16240.
14. Khaki, A., Fathiazad, F., Nouri, M., Khaki, A. A., Khamenehi, H. J., & Hamadeh, M. (2009). Evaluation of androgenic activity of allium cepa on spermatogenesis in the rat. *Folia morphologica*, *68*(1), 45-51.
15. Lee, E. H., Yeom, H. J., Ha, M. S., & Bae, D. H. (2010). Development of banana peel jelly and its antioxidant and textural properties. *Food Science and Biotechnology*, *19*(2), 449-455.
16. LI, H., JIANG, Y., RAJPURKAR, A., DUNBAR, J. C., & Dhabuwala, C. B. (1999). Cocaine induced apoptosis in rat testes. *The Journal of urology*, *162*(1), 213-216.

17. Ahmadizadeh, M., Sarkaki, A., Farboud, Y., Mohamadian, B., & Rahim, F. (2012). Effect of exercise on morphine-induced toxicity in rat liver and kidney.
18. Golalipour, M. J., & Ghafari, S. (2012). Purkinje cells loss in off spring due to maternal morphine sulfate exposure: a morphometric study. *Anatomy & cell biology*, *45*(2), 121.
19. Vuong, C., Van Uum, S. H., O'Dell, L. E., Lutfy, K., & Friedman, T. C. (2010). The effects of opioids and opioid analogs on animal and human endocrine systems. *Endocrine reviews*, *31*(1), 98-132.

پژوهشگاه علوم انسانی و مطالعات فرهنگی
پرتال جامع علوم انسانی