

مقاله پژوهشی

بررسی اثر ترامادول بر بافت طحال در موش‌های صحرایی رت نر نژاد ویستار

محسن امینیان^۱، سحر مازمی^۲، محمد افشار اردلان^۳، امیر حسین آشنایی^۴

^۱ دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارتش جمهوری اسلامی ایران، تهران، ایران
^۲ گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شاهرود، شاهرود، ایران
^۳ گروه داخلی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارتش جمهوری اسلامی ایران، تهران، ایران

*Email: saharmlzemi@yahoo.com

تاریخ دریافت: آذر ۱۳۹۹ تاریخ پذیرش: خرداد ۱۴۰۰

چکیده

ترامادول دارویی ضد درد با اثر مرکزی بوده که از دسته داروهای مسکن مخدر یا اپوئیدهای مصنوعی می‌باشد. هدف از این تحقیق بررسی اثر مصرف طولانی مدت ترامادول بر بافت طحال در موش‌های صحرایی رت نر نژاد ویستار است. در این تحقیق ۶۰ سر موش صحرایی رت نر نژاد ویستار به ۳ گروه (کنترل، تجربی ۱، ۲) تقسیم گردید، گروه کنترل که بافر سیترات را بصورت درون صفاقی دریافت کردند، گروه تجربی یک، ترامادول را با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلو گرم و گروه تجربی دوم ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بصورت روزانه تا ۳۰ روز ترامادول را دریافت کردند. بعد از پایان روز مقرر نمونه‌ها برای بررسی هیستولوژی بافت طحال و برخی پارامترهای خونی، مورد آزمایش قرار گرفتند. در گروه‌های تجربی یک و دو تراکم بافتی بسیار زیاد و فضای سینوزوئید پر از سلول‌های لنفاوی و خونی می‌باشد. میزان ذرات هموسیدرین در هر دو گروه تجربی افزایش قابل توجهی را نشان می‌دهد. این تحقیق نشان داد که مصرف خوراکی دراز مدت ترامادول باعث تغییرات بافتی طحال می‌گردد.

کلیدواژه‌ها: ترامادول، بافت طحال، موش صحرایی رت، نژاد ویستار.

مقدمه

در ماه‌های پنجم تا هشتم بارداری، طحال به عنوان یک مرکز خون ساز عمل می‌کند و گلبول‌های سفید و قرمز خون را می‌سازد. پس از تولد، با انتقال مراکز خون سازی به مغز استخوان، این فعالیت طحال خاموش می‌شود. در عین حال، قابلیت تبدیل به بافت‌های خون ساز همواره در طحال باقی می‌ماند و در برخی بیماری‌ها که با درگیرکردن مغز استخوان، باعث مهار ساختن سلول‌های خونی می‌شوند، سلول‌های

طحال عضوی از دستگاه تورینه‌ای-پوششی (دستگاه رتیکولو اندوتلیال) است که در افراد بالغ در یک چهارم فوقانی چپ شکم واقع شده‌است و از طریق لیگامان طحالی کلیوی به کلیه و توسط لیگامان طحالی معدی به معده متصل شده است [۱]. طحال در دوران مختلف زندگی وظایف کاملاً متفاوتی را بر عهده می‌گیرد. در دوران جنینی و

مواد و روش‌ها:

در این مطالعه از ۶۰ سر موش صحرایی نر بالغ، نژاد ویستار با محدوده وزنی 20 ± 200 با محدوده سنی ۴ ماهه، خریداری شده از موسسه پاستور آمل استفاده گردید. نمونه‌ها به منظور انطباق با محیط، از یک هفته قبل از شروع آزمایش، در محیط آزمایشگاه با دمای 2 ± 22 درجه سلسیوس قرار گرفته و به طور آزادانه به آب و غذا دسترسی داشتند.

موش‌ها به طور تصادفی به ۳ گروه بیست‌تایی تقسیم شدند:

۱- گروه کنترل: شامل ۲۰ سر موش که به منظور حفظ تعادل بافر سیترات را بصورت درون صفاقی دریافت کردند.

۲- گروه تجربی اول: شامل ۲۰ سر موش که به مدت ۳۰ روز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ترامادول را به صورت گاواژ دریافت کردند.

۳- گروه تجربی دوم: شامل ۲۰ سر موش که به مدت ۳۰ روز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ترامادول را به صورت گاواژ دریافت کردند.

در پایان پس از بیهوشی با مخلوط کتامین - زایلازین، نمونه‌های هستیولوژیک در فرمالین ۱۰ درصد قرار داده شد و به آزمایشگاه منتقل شد و لاشه حیوانات درجه انداخته می‌شود.

روش‌های مختلفی برای تهیه مقاطع بافتی وجود دارد، ولی متداول‌ترین و آسان‌ترین روش، پاساژ به وسیله پارافین جامد است، که شامل برداشت طحال و شماره‌گذاری، فیکساسیون، آبگیری، شفافسازی، آغشته سازی، قالب‌گیری، برش‌گیری، رنگ‌آمیزی، پارافین‌گیری، آبدهی و چسباندن بود [۳، ۴، ۵]. 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.

طحال مجدداً شروع به فعالیت خونسازی می‌کنند [۱]. این فعالیت، معمولاً فاقد ارزش بالینی است و تنها موجب بزرگ شدن بیش از حد طحال و بروز عوارض ناشی از آن می‌شود. در دوران پس از تولد و در سنین کودکی، طحال یک منبع عمده و محل استقرار سلول‌های لنفوسیت B محسوب می‌شود و نقش مهمی را در پاسخ‌های ایمنی بدن ایفا می‌کند. لنفوسیت‌های B که در طحال استقرار یافته‌اند، در پاسخ به میکروب‌ها و عوامل خارجی، شروع به ترشح پادتن یا آنتی‌بادی می‌کنند، گاهی مصرف برخی داروها سبب تضعیف کردن سیستم ایمنی بدن و مخرب کردن بافت طحال می‌گردند [۲]. افراد بسیاری برای مصارف گوناگون چون سرخوشی لحظه‌ای و ترک اعتیاد ترامادول مصرف می‌کنند. ترامادول با اتصال ملکول اصلی دارو به گیرنده‌های مو اپیوئیدی، بازجذب نور اپی‌نفرین و سروتونین به صورت ضعیف مهار می‌شود و به‌صورت راسمیک به سرعت و تقریباً به طور کامل جذب می‌شود. ترامادول به صورت وسیع پس از مصرف خوراکی متابولیزه شده و جذب دارو سریع و تقریباً کامل است، ولی فراهمی زیستی آن ۷۵٪ می‌باشد. به طور عمده از طریق کبد متابولیزه و به وسیله کلیه (۳۰٪ تغییر نیافته و ۶۰٪ به صورت متابولیت) دفع می‌شود [۳]. مصرف دراز مدت ترامادول سبب تغییرات هستیوپاتولوژیک اصلی واکوتولیزاسیون سلول‌های توبولی در گروه مورفین و ترامادول می‌شود. یافته‌های آنها با اشاره به خطر افزایش پراکسیداسیون لیپیدی، کبدی و آسیب کلیوی به دلیل استفاده طولانی مدت از داروهای مخدر، به خصوص مورفین می‌باشد. اگر چه مخدرها در مدیریت درد موثر می‌باشند، اما اثرات سمی خود را در قسمت‌های متفاوت بدن بجا می‌گذارند از جمله عدم تحریک پذیری اسپرم و فرآیند اسپرماتوزنز، تغییرات میزان آنزیم‌های کبدی و ... می‌باشد [۴]. لذا با توجه به اینکه دارو در کبد متابولیزه می‌شود و اثرات مخربی در طحال و سایر قسمت‌های بدن دارد، بر آن شدیم که در طی پژوهشی به بررسی اثر مصرف خوراکی (دراز مدت) ترامادول بر بافت طحال در موش صحرایی نر نژاد ویستار بپردازیم.

تحلیل آماری

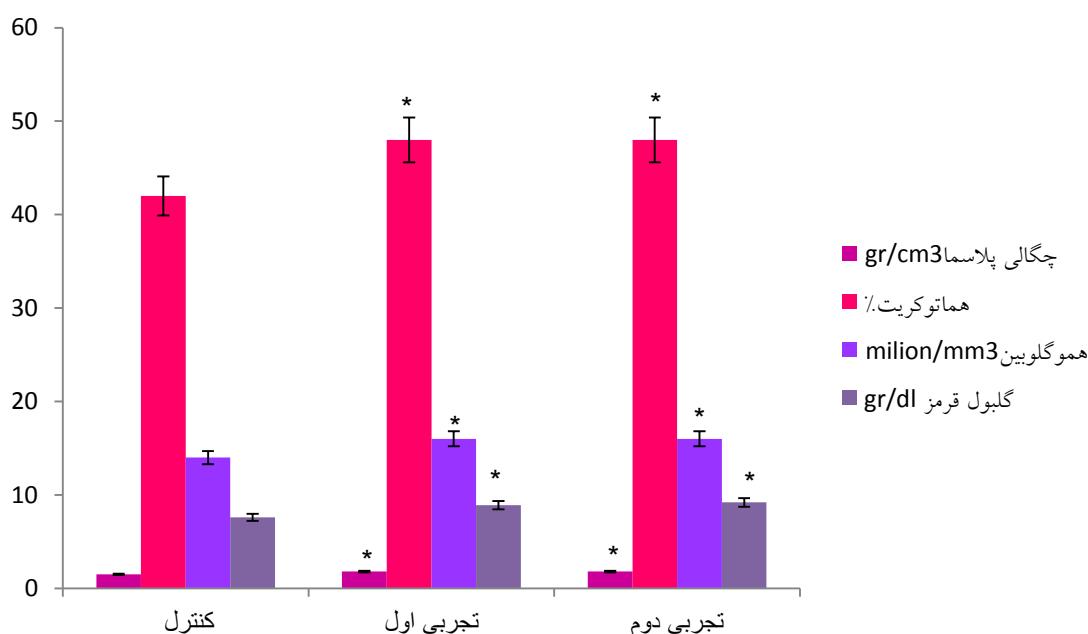
برای تحلیل آماری داده‌های حاصل از فاکتورهای خونی و بافت طحال، تجزیه واریانس یک طرفه برای مقایسه گروه‌ها و جهت بررسی تفاوت‌های درون گروهی و مقایسه میانگین‌ها از آنالیز Post hoc از نوع آزمون توکای استفاده شد. نتایج به صورت $Mean \pm SEM$ ارائه گردید و $P < 0/05$ اختلاف معنی دار در نظر گرفته شد. رسم نمودارها به کمک برنامه آماری اکسل صورت گرفت.

نتایج تغییرات پارامترهای خونی

نتایج این مطالعه نشان داد که اختلاف معنی داری بین میانگین و انحراف معیار در چگالی پلاسما، بین گروه تجربی یک و دو با گروه کنترل وجود دارد. تغییرات پارامترهای خونی، بین گروه‌های تجربی و کنترل با بافر سیترات با اختلاف همراه بود (نمودار ۱).

در بررسی هیستولوژیک موش‌های گروه کنترل هیچ تغییر معنی داری در بافت طحال مشاهده نمی‌شود. پالپ سفید و قرمز بصورت تفکیک شده و با اندازه‌های طبیعی رویت می‌شوند. سینوزوئیدها نیز نرمال هستند. در بررسی هیستولوژیک بافت طحال در موش‌های گروه تجربی یک تراکم بافتی بسیار زیاد و در فضای سینوزوئید سلول‌های لنفاوی و خونی افزایش یافته است. میزان ذرات هموسیدرین در هر دو لام افزایش قابل توجهی را نشان می‌دهد.

در بررسی هیستولوژیک بافت طحال در موش‌های گروه تجربی دو بی‌نظمی بافتی، تغییر ساختار پالپی و افزایش اتساع سینوزوئیدی دیده می‌شود و در فضای پالپ قرمز پرخونی و اتساع مشهود است.

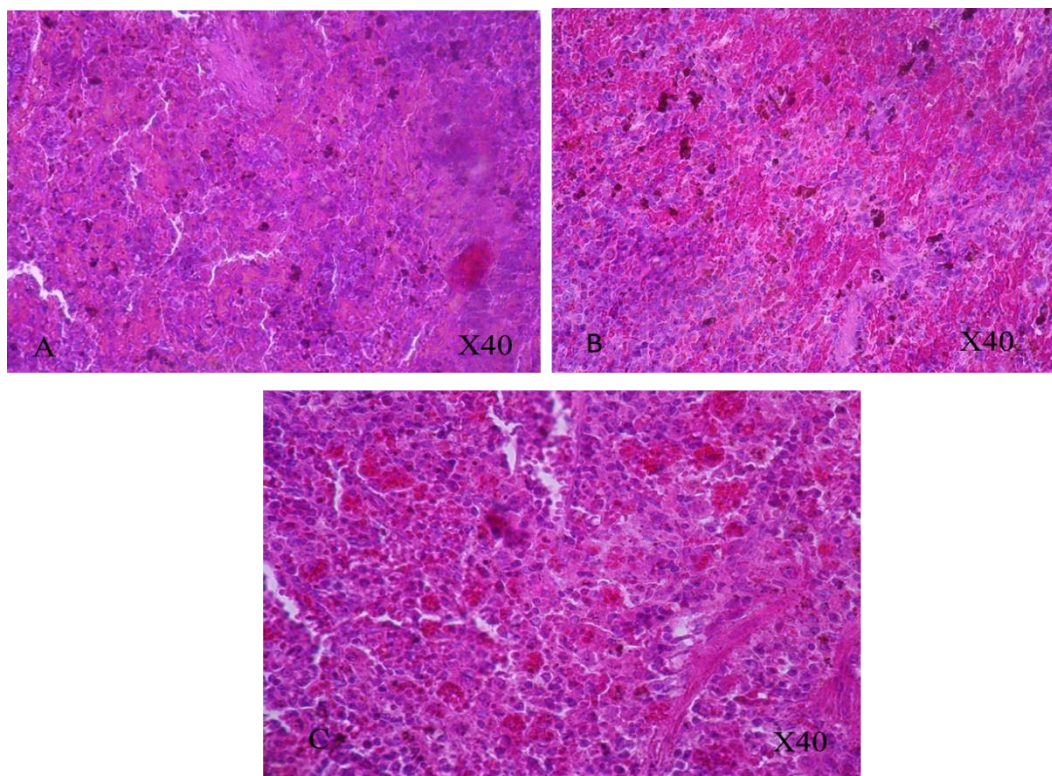


نمودار ۱: اثر ترامادول بر پارامترهای خونی در گروه‌های کنترل و تجربی

جدول ۱- اثر ترامادول و بافر سیترات بر میانگین و انحراف معیار پارامترهای اندازه‌گیری شده در بافت طحال موش‌های سفید نر نژاد ویستار در گروه‌های مختلف آزمایش

گروه تجربی دو	گروه تجربی یک	گروه کنترل	ضخامت (μm)
* $126/61 \pm 0/1$	* $123/82 \pm 0/04$	$134/02 \pm 0/06$	کیسول طحال
* $108/08 \pm 0/07$	* $105/31 \pm 0/03$	$75/92 \pm 0/02$	دیواره شریانچه مرکزی طحال

* اختلاف معنی دار در سطح $P < 0/05$ بین گروه‌های تجربی با گروه کنترل



A: گروه کنترل، B: گروه تجربی یک، C: گروه تجربی دو با بزرگنمایی X40

بحث و نتیجه‌گیری

ترامادول مانند تمامی داروهای اوپیوئیدی مسیر مکانیسم عمل آمینو ترانسفرازها را از طریق اختلال در تولید *pyridoxal phosphate enzyme* و همچنین با تولید بیش از حد اکسیژن‌های واکنشی و سوبه‌های مختلف رادیکال‌های آزاد از جمله ۸- هیدروکسی داکسی گوانوزین (8-OH-DG) و ۸- هیدروکسی آدنین، و ۷- متیل ۸- هیدروکسی گوانین، باعث آسیب به DNA، پروتئین‌ها و لیپیدها می‌شود. در مجموع آسیب‌های پروتئینی ایجاد شده توسط ROS در محیط‌های طبیعی و داخلی بدن مهم است، چرا که بر عملکرد رسپتورها، آنزیم‌ها و پروتئین‌های انتقالی اثر می‌گذارد و در تخریب‌های ثانویه دیگر بیومولکول‌ها از طریق غیرفعال کردن آنزیم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی و آنزیم‌های بازسازی کننده هم شرکت دارند [۵].

در این تحقیق ترامادول اثرات مختلفی بر فاکتورهای خونی و بافت طحال داشت. بررسی میانگین تعداد گلبول‌های قرمز در موش‌های سفید نر گروه تجربی یک

$9/2 \text{ milion/mm}^3$ و تجربی دو $8/9 \text{ milion/mm}^3$

می‌باشند که نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری دارد. افزایش معنی‌دار در گروه‌های تجربی در میزان گلبول‌های قرمز، چندان به فعالیت مراکز خونسازی مربوط نیست زیرا در جریان استرس حاصل از مصرف ترامادول، 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 [۲۰] هماتوکریت به معنی نسبت حجم گلبول‌های قرمز به حجم خون است [۵] 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 ۴۲٪ گزارش شده است. 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 پلاسما خون (هماتوکریت) افزایش قابل ملاحظه‌ای در موش‌های تیمار شده نشان داد، که افزایش حاصل از

Burton در سال ۲۰۱۵ در مقاله‌ای مروری تحت عنوان ترامادول، فارماکولوژی، عوارض جانبی، و سندرم سروتونین بیان داشتند که سندرم سروتونین با استفاده از دارو، تداخلات دارویی، و مصرف بیش از حد همراه است. با افزایش محبوبیت ترامادول، هدف از این مقاله این است که پزشکان آگاهی بیشتری در تجویز و عوارض بالقوه در ارتباط با ترامادول داشته باشند و مقاله Burton گریزی کوتاه به عوارض شایع مصرف ترامادول کوتاه مدت در بافت‌های مختلف بدن می‌باشد [۱۰].

ملزومی و همکارانش در سال ۱۳۹۵ در مقاله‌ای تحت عنوان بررسی اثر ترامادول بر دو آنزیم کبدی SGOT, SGPT بیان داشتند که مصرف طولانی مدت ترامادول سبب افزایش آنزیم‌های کبدی می‌گردد و به احتمال زیاد بدن‌آل آن آسیب‌های بافتی در کبد نیز ایجاد می‌کند که از نظر تخریب بافتی با مطالعه حاضر همخوانی داشت [۱۱].

مطالعه اخیر دارای چند محدودیت می‌باشد، از جمله تفاوت موجود در بین مداخلات انجام شده در میزان بررسی‌ها بافتی گروه‌ها و تلفات حاصل از گاوآژ ترامادول در موش‌های رت در گروه تجربی دوم ۴ سر موش رت نر نژاد ویستار بوده است که بدلیل افزایش دوز دارو می‌باشد.

همچنین مطالعه حاضر نیز دارای نقاط قوت نیز بوده است. انجام متاآنالیز بر روی کار نمونه‌های حیوانی، با توجه به اینکه مناسب ترین نوع مطالعه برای نشان دادن رابطه علت و معلولی، مطالعات کار آزمایشی حیوانی می‌باشد و انجام متا آنالیز بر روی نتایج حاصل از آن‌ها منجر به نتیجه‌گیری کامل‌تر در زمینه بررسی تاثیر ترامادول بر بافت طحال گردید.

بنابراین با توجه به یافته‌های پژوهش حاضر، دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ترامادول طی مصرف مکرر در ۳۰ روز می‌تواند آسیب‌های بافتی جدی بر طحال ایجاد کند.

منابع

[1] N1, Adeli HR2* , Zare K, Study of Toluene Effect on Blood Parameters and Spleen Tissue in NMRI Albino Male Mice, Journal of North Khorasan University of Medical sciences 2016; 8(3): 481-495.

افزایش گلبول‌های قرمز و کاهش آب خون باشد [۶]. بنابراین با افزایش گلبول قرمز، به همان نسبت هماتوکریت نیز افزایش یافت، که مطابق با پژوهش‌های گذشته بود. ترامادول از خانواده دارویی ضد درد اویپوئیدی است. با توجه به مزایای این دارو از قبیل فقدان عوارض جانبی، عدم وجود عوارض مربوط به داروهای ضد التهاب غیر استروئیدی، کاربرد برای مدیریت درد قبل از جراحی و کاربرد به صورت اپی‌دورال در اعمال ارتوپدی و دیگر موارد، مصرف آن در انسان و مدل‌های حیوانی توصیه شده است [۷ و ۸]. هدف از این مطالعه بررسی اثر طولانی مدت و مکرر ترامادول بر بافت طحال در موش‌های رت نر نژاد ویستار بود.

مکانیسم عملکرد ترامادول به دو گونه است. اول اینکه مثل دیگر داروهای اویپوئید (مشتقات تریاک) آگونیست گیرنده‌های مو (μ) است. البته خاصیت چسبندگی ترامادول به گیرنده‌های «مو» بسیار ضعیف است. ماده متابولیزه شده او-دسمتیل‌ترامادول نسبت به‌عنصر مادر خاصیت چسبندگی بیشتری به گیرنده‌های مو دارد و خاصیت مخدردی قویتری از خود به‌جا می‌گذارد. به همین دلیل خاصیت تسکین درد در ترامادول حدود ۱۰ برابر ضعیف‌تر از مرفین است [۹].

در وهله دوم باعث جلوگیری از بازجذب نورآدرنالین و سروتونین می‌شود و غلظت این دو ماده را در سیناپس بالا می‌برد، این امر باعث ایجاد نوعی خاصیت، مانند داروهای ضدافسردگی و همچنین هوشیاری می‌شود و برعکس مرفین فرد مصرف‌کننده را فعال‌تر می‌کند، حتی در برخی از مصرف‌کنندگان حالات ضعیفی مانند *MDMA (XTC)* مشاهده شده، احتمال گرفتگی عضلانی نیز کاهش می‌یابد. با خوردن ۱۰۰ میلی‌گرم ترامادول سطح خونی دارو در دو ساعت به حداکثر می‌رسد. حدود ۲۰ درصد ترامادول به پروتئین خون بسته می‌شود. ۳۰ درصد ترامادول بصورت تغییر نیافته و ۶۰ درصد آن بصورت متابولیت‌های شکسته شده در کبد از راه ادرار دفع می‌شود. نیمه عمر دارو ۴ تا ۶ ساعت می‌باشد. موارد مصرف ترامادول برای تسکین درد معمولاً به مدت کمتر از ۵ روز و به مقدار ۵۰ تا ۱۰۰ میلی‌گرم هر ۸ ساعت تجویز می‌شود [۹].

- [2] Pilehvarian A*, Karimeh A, Etemadi E, Study of Changes in Blood Cells and Spleen Tissue on days 10 and 20 of Pregnancy and the First Week of Lactation in Rats, Scientific Journal of Ilam University of Medical Sciences, 2017; 26(5): 20-29.
- [3] Shakeribavil A., Azari S, Azari M, The Effect of Fatty Liver with or without Hepatomegaly on the Renal Artery Resistance, Scientific Journal of Ilam University of Medical Sciences, 2018; 27(4): 90-98.
- [4] Lund B.A, Miler D.M. and woods, J.S. Mercury – induced H₂O₂ Formation and lipid Peroxidation in vitro in rat kidney mitochondria. Biochem. Pharmacol. 1991; 32: 181-187.
- [5] Ben Ely A, Zissin R, Copel L, et al. The wandering spleen: CT findings and possible pitfalls in diagnosis. Clin Radiol. 2006; 61(11): 954-8.
- [6] Tan HH, Ooi LL, Tan D., et al. Recurrent abdominal pain in a woman with a wandering spleen. Singapore Med J. 2007; 48(4): 122-4.
- [7] Misawa T, Yoshida K, Shiba H., et al. Wandering spleen with chronic torsion. Am J Surg. 2008; 195(4): 504-5.
- [8] Kodati VR. Effect of amalgam restorations on whole body Potassium and bone mineral content in older men. Gen-Dent 1996; 44: 246-848.
- [9] Burton D, Adam M, Tramadol, Pharmacology, Side Effects, and Serotonin Syndrome: A Review, Pain Physician 2015; 18: 395-400.
- [10] Molzemi S, Bolbolhaghghi N, Aminian M, Molzemi SH, Effect of oral tramadol on rat liver tissue in male Wistar rats, Govareh, 2016; 21(2): 104-109.

The effect of tramadol on spleen tissue in male Wistar rats

Aminian M.¹, Molzemi S.^{2*}, Afshar Ardalan M.³, Ashnaei A.H.⁴

¹ Internal Medicine Assistant, School of Medicine, Army University of Medical Sciences, Tehran, Iran

^{2,4} Department of Laboratory Sciences, Faculty of Medical Sciences, Islamic Azad University, Shahroud Branch, Shahroud, Iran

³ Department of Internal Medicine, School of Medicine, Army University of Medical Sciences, Tehran, Iran

*Email: saharmolzemi@yahoo.com

Received: December 2020

Accepted: June.2021

Abstract

Tramadol the right drugs are synthetic opioid analgesics or Epoxied. The aim of this study was to evaluate the effect of oral tramadol on Spleen in rats Wistar male rats. In this study, 60 male Wistar rats randomized into 3 groups (1 control group, and experimental groups of 1, 2). In control group adequate serum physiology and in experimental groups a dose of mercuric chloride infused into peritoneal cavity, for 30 days. The amount of gavage tramadol were, 50ml /kg group 2, 100 ml /kg , every other day for 30 days. After the end of the day appointed for Histological analysis some blood parameters of Spleen samples, were tested. In experimental groups one and two, tissue density is very high and the sinusoidal space is full of lymph and blood cells. The amount of hemosiderin particles in both experimental groups showed a significant increase. This study showed that long-term oral administration of tramadol causes splenic tissue changes.

Keywords: Tramadol, Spleen, mouse, rats, Wistar.