

بررسی مقایسه‌ای اثرات مورفولین و سرم فیزیولوژیکی بر پارامترهای خونی و بافت طحال در موش سفید (آلبینو) نر

نسیم نعیمی¹، حمیدرضا عادل²، کبری زارع²

1- عضو هیئت علمی (مربی) گروه زیست شناسی، دانشکده ی علوم، دانشگاه سیستان و بلوچستان، زاهدان، ایران. nnaeimi@science.usb.ac.ir

2- دانشجوی دکتری گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران.

تاریخ دریافت: 93/12/1 تاریخ پذیرش: 94/1/15

چکیده

زمینه و هدف: مورفولین ماده‌ای سمی با کاربرد فراوان در صنایع و کشاورزی است که از طریق خوراکی، تنفسی و پوستی قابل جذب می‌باشد. این تحقیق با هدف بررسی اثرات مورفولین بر پارامترهای خونی و بافت طحال در موش سفید نر 6 هفته‌ای، انجام گردید.

روش کار: 40 سر موش نر بالغ در 4 گروه شاهد، سرم فیزیولوژیکی (گروه شم)، تیمار A و B مورد مطالعه قرار گرفتند. گروه A تحت اثر خوراکی مورفولین (300 mg/kg) به مدت 15 روز، هر روز در یک نوبت به میزان 0/1 میلی لیتر از محلول تهیه شده (0/09 میلی لیتر مورفولین + 0/91 میلی لیتر آب مقطر) و گروه B نیز به صورت هم حجم با مورفولین و سرم فیزیولوژیکی به روش خوراکی به همان مدت تیمار شد. پس از توزین، بیهوشی و خون‌گیری، برخی پارامترهای خون و مطالعات ماکروسکوپی و میکروسکوپی طحال از طریق لام‌های تهیه شده، مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: در گروه A افزایش معنی‌داری در تعداد گلبول‌های قرمز (7/6٪)، هماتوکریت (21٪)، چگالی پلاسما (25٪) و هموگلوبین (10٪)، وزن طحال (14/6٪)، ضخامت دیواره شریانچه مرکزی پالپ سفید (30٪) و کاهش معنی‌داری در ضخامت دیواره کپسول طحال و فیبری شدن آن (3/8٪)، وزن موش‌ها (14/2٪) نسبت به گروه شاهد و شم مشاهده شد، همه ویژگی‌های ذکر شده در گروه B (به جز ضخامت دیواره کپسول و وزن بدن) کاهش یافت و اختلاف معنی‌داری با گروه A داشت (p<0/05).

نتیجه‌گیری: معنی‌داری رابطه نشان داد که مورفولین با دوزهای استفاده شده، باعث افزایش پارامترهای خونی، به هم ریختگی پارانشیم، التهاب، افزایش وزن طحال و کاهش وزن بدن موش‌ها شد و سرم فیزیولوژیکی اثرات مضر آن را کاهش می‌دهد.

واژه‌های کلیدی: مورفولین، سرم فیزیولوژیکی، فاکتورهای خونی، طحال، موش سفید نر.

مقدمه

گرد (18، 23)، در صنایع پلاستیک‌سازی (10، 19)، به عنوان ضدزنگ در سیستم‌های بخار (6)، واکس‌ها و جلادهنده‌ها (15)، پوشش‌های حفاظتی برای نگه‌داری میوه‌ها و سبزیجات و جلوگیری از زنگ‌زدگی قوطی-های مواد غذایی استفاده می‌شود (21). میوه‌ها، از طریق واکس، جهت ماندگاری بیشتر، پوشش‌های پیچیده شده در اطراف آن‌ها و بخارات دستگاه‌ها در جریان فرآوری مواد غذایی با مورفولین در تماس قرار می‌گیرند (22). مورفولین برای مواد آلی مثل رنگ، رزین، واکس و جهت استفاده در صنعت رنگ سازی حلال خوبی

مورفولین با فرمول شیمیایی C_4H_9NO (7)، مایعی فرار، روغنی، بدون رنگ با بویی شبیه آمونیاک است (9) که در آب و در سایر مواد مانند اتانول، متانول، استون، بنزن، کلروفرم و غیره محلول می‌باشد. این ماده باز قوی بوده که رطوبت هوا را جذب کرده و به سرعت در هوا تبخیر می‌شود (14). مورفولین در مواد آرایشی به عنوان افزودنی به رنگ موها، حالت دهنده‌ها و شامپوها مورد استفاده قرار می‌گیرد (19). مشتقات مورفولین با خاصیت باکتری‌کشی و علف‌کشی در کشاورزی مصارف زیادی دارد (29) و برای گندزدایی آب نیز از آن استفاده می‌-

است (10، 7). علی رغم استفاده زیاد مورفولین در صنایع مختلف و کشاورزی، این ماده خواص سمی نیز دارد و از راه های خوراکی، تنفسی و پوستی اثر می کند (8). مورفولین با محلول آبی نیتريت واکنش داده و تولید ان- نیتروزو مورفولین می کند. خاصیت سرطان زایی تیمار خوراکی ان- نیتروزو مورفولین در موش، هامستر و انواع ماهی ها مورد مطالعه و سرطان کبد و ریه در موش، سرطان کبد و کلیه در رت و سرطان کبد در هامستر گزارش شده است (32). درگاوژ با مورفولین پالمیتات حدود 7٪ مورفولین از طریق مدفوع دفع می - گردد (۲۲، ۳۲). این ماده در تمام بافت های بدن منتشر و اثرات مخربی را بر بافت ها دارد (24). خون یک نوع بافت پیوندی سست است که ماده بنیادی آن مایعی به نام پلاسما و عناصر سلولی آن گلبول های قرمز، گلبول های سفید و پلاکت ها می باشند (17). هموگلوبین نزدیک به 95٪ از پروتئین داخل سلولی گلبول قرمز را تشکیل می دهد و اسکلت سلولی موجود در گلبول قرمز، نقش مهمی در تعیین شکل آن دارد (7). شکل مقعرالطرفین گلبول قرمز، نسبت سطح به حجم آن را افزایش داده و به تبادل گازی کمک می نماید (11، 9، 3). اما در برخی مواقع، گلبول های قرمز شکل طبیعی خود را از دست داده و با سطح چین دار منظم که ناشی از عدم تناسب غشاء سلول با محتوای آن می باشد، مشاهده می شوند و به آن اکی نوسیت گویند، که بیشتر در اثر افزایش اسمولالیتة خون و یا کاهش آدنوزین تری فسفات در گلبول های قرمز، در کم خونی های همولیتیک و کارسینوم معده گزارش شده است (9). گاهی گلبول های قرمز به صورت رشته های طویل به دنبال هم قرار گرفته و یا به صورت سکه هایی از پهلو به هم می پیوندند که به آن پدیده رولو گویند که در اثر افزایش فیبرینوژن و گلوبولین های پلاسما در حالت های التهابی و عفونت ها مشاهده می - شود (12). طحال یک عضو لنفاوی با خواص مخصوص

از جمله تولید لنفوسیت ها، تخریب اریتروسیت ها و دفاع از موجود زنده بوده که مانند ساختمان های لنفاوی به غیر از شبکه بافت رتیکولر، از سلول های لنفاوی، ماکروفاژ و سلول های عرضه کننده آنتی ژن تشکیل شده است (12). غلافی به نام کپسول که بافت طحال را احاطه کرده؛ ترابکولاهایی به داخل می فرستد و پارانشیم یا پالپ طحالی را به قسمت های ناکامل تقسیم می کند. در ترابکولاهای رشته ارتجاعی بیشتر از کپسول است. از اجتماع ترابکولاهای و بافت رتیکولر، داربست طحالی به وجود می آید که بر روی آن پارانشیم طحالی یعنی نسج اصلی قرار دارد (13). در بافت طحال دو ساختار مهم به چشم می خورد؛ بخشی به نام پالپ قرمز که دارای ساختمان های طویلی به نام طناب های طحالی (طناب های بیروت) است و بین سینوزوئیدها قرار گرفته و اندوتلیوم سینوزوئیدی از سلول های پهن منفذ دار تشکیل شده که اجازه ارتباط راحت بین پالپ قرمز و محیط داخل را فراهم می کند (2). جدار سینوس های طحال در داخل پالپ قرمز از سلول های اندوتلیال ناپیوسته که بین آن ها فاصله هایی وجود دارد، ساخته شده است (1). بخش دیگر یعنی، پالپ سفید نیز از شریان های مرکزی و نودول های لنفاوی تشکیل شده، شریانچه های مرکزی به همراه لنفوسیت های B در نودول های اطراف آن مشاهده می شود. از خصوصیات شریانچه مرکزی این است که شبکه ای از بافت رتیکولر قسمت اعظم ادوانتیس آن را تشکیل می دهد (2). در این تحقیق تلاش بر آن بود تا اثرات سمی مورفولین همراه با سرم فیزیولوژیکی بر روی فاکتورهای خونی، بافت طحال و وزن بدن در موش های سفید نر، بررسی شود.

مواد و روش ها

این پژوهش بر روی 40 موش سفید نر نژاد Albino NMRI (انستیتو پاستور ایران) با وزن تقریبی 25 تا 30 گرم انجام گرفت. هر 5 موش در یک قفس و در شرایط

لام نئوبار ریخته و با میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی 400× تعداد گلبول‌های قرمز مورد شمارش قرار داده شد.

اندازه‌گیری درصد حجمی گلبول‌های قرمز با روش میکروهماتوکریت

حجم کل عناصر سلولی خون موجود درحجم خاصی از خون پس از سانتریفوژ با روش میکروهماتوکریت به صورت درصد حجمی گلبول‌های قرمز محاسبه شد.

اندازه‌گیری هموگلوبین با روش سالی

برای اندازه‌گیری هموگلوبین به روش سالی (26)، با استفاده از پیت سالی، 20 میکرولیتر از خون حاوی EDTA به یک لوله همومترکه تا درجه 2 آن اسید کلریدریک 0/1 نرمال داشت، انتقال و آنقدر به آن آب مقطر اضافه گردید تا رنگ محلول در لوله وسط با رنگ لوله‌های کناری تقریباً یکی شود. سپس درجه سطح محلول خوانده و مقدار هموگلوبین را بر حسب گرم در دسی‌لیتر محلول خون تعیین گردید. محلول اسید کلریدریک گلبول‌های قرمز را همولیز کرده و موجب آزاد شدن هموگلوبین می‌شود. هموگلوبین با اسید کلریدریک، تولید اسید هماتین قهوه‌ای رنگ می‌نماید که شدت رنگ آن بستگی به غلظت هموگلوبین موجود در خون مورد آزمایش دارد (20، 15) سپس این محلول با محلول استاندارد سالی مقایسه شد.

اندازه‌گیری چگالی سرم

چگالی سرم به وسیله دستگاهی به نام رفاکتومتر سنجیده شد، که اساس کار آن بر مبنای شکست نور هنگام برخورد با جامدات است. چون اعداد این ستون از 1/000 که چگالی آب است تا عدد 1/040 بر حسب گرم بر سانتی متر مکعب درجه بندی شده است و معمولاً چگالی پلاسما در گروه‌های تیمار از 1/040 بیشتر است، جهت رقیق نمودن نمونه به آن 10 میکرولیتر آب اضافه و عدد به دست آمده در 2 ضرب گردید.

کنترل شده از نظر دما و نور با دسترسی آزاد به آب و غذای مخصوص موش در اتاق مخصوص حیوانات به مدت یک هفته پیش از آغاز آزمایش‌ها نگهداری شدند. حیوانات به صورت تصادفی به گروه‌های زیر تقسیم شدند:

شاهد، سرم فیزیولوژیکی (گروه شم)، گروه A و B که به ترتیب به صورت خوراکی حلال + مورفولین، و حلال + مورفولین + سرم فیزیولوژیک دریافت کردند. در این آزمایشات به موش‌های نر 6 هفته‌ای در مدت 15 روز و هر روز به مقدار 0/1 میلی لیتر از محلول مورفولین (009/ میلی لیتر مورفولین + 091/ میلی لیتر آب مقطر) به میزان 300 mg/Kg وزن بدن خوراندند (گروه تیمار A) (27، 32، 22) و در موش‌های گروه مورفولین + سرم فیزیولوژیکی (گروه تیمار B) به صورت هم‌حجم با محلول مورفولین، 10 دقیقه پس از خوراندن شدن مورفولین، سرم فیزیولوژیکی حاوی الکترولیت‌های سدیم (147/5 m.Eq/l)، پتاسیم (4 m.Eq/l)، کلسیم (4/5 m.Eq/l) و کلرید (156 mEq/l)، جهت تیمار، موش‌ها به روش خوراکی استفاده شد (16، 14). مورفولین و سرم فیزیولوژیکی با سرنگ انسولین و نیدل گاوآژ نمره 20 خریداری شده از شرکت رازی رادایران به روش گاوآژ وارد معده موش‌ها شد و گروه‌های شاهد تحت اثر هیچ ماده‌ای قرار نگرفتند و به گروه شم فقط سرم فیزیولوژیکی داده شد. در طول مدت تیمار، وزن موش‌ها هر روز اندازه‌گیری و برای بالا رفتن دقت، گاوآژها در ساعت مشخصی از روز صورت گرفت.

خون‌گیری، رقیق کردن و شمارش گلبول‌ها

درخاتمه هر دوره آزمایشی (15 روزه) (24، 14)، پس از بیهوش کردن موش‌ها با اتر و تشریح جانور، با سرنگ 2 میلی‌لیتری که به ماده ضد انعقاد EDTA آغشته شده بود، از دهلیز راست قلب موش، خون‌گیری به عمل آمد. سپس یک قطره خون رقیق شده در ملانژور قرمز بر روی

مطالعات بافتی

روش‌های مختلفی برای تهیه ی مقاطع بافتی وجود دارد، ولی متداول‌ترین و آسان‌ترین روش، پاساژ به وسیله ی پارافین جامد است، که شامل برداشت طحال و شماره گذاری، فیکساسیون، آبگیری، شفاف سازی، آغشته سازی، قالب گیری، برش گیری، رنگ آمیزی، پارافین گیری، آب دهی و چسباندن بود(3،4،5). 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 دورین دیجیتال مجهز بود، عکس تهیه و با استفاده از نرم افزار موتیک بخش‌های مورد نظر بر اساس واحد میکرومتر اندازه گیری شد.

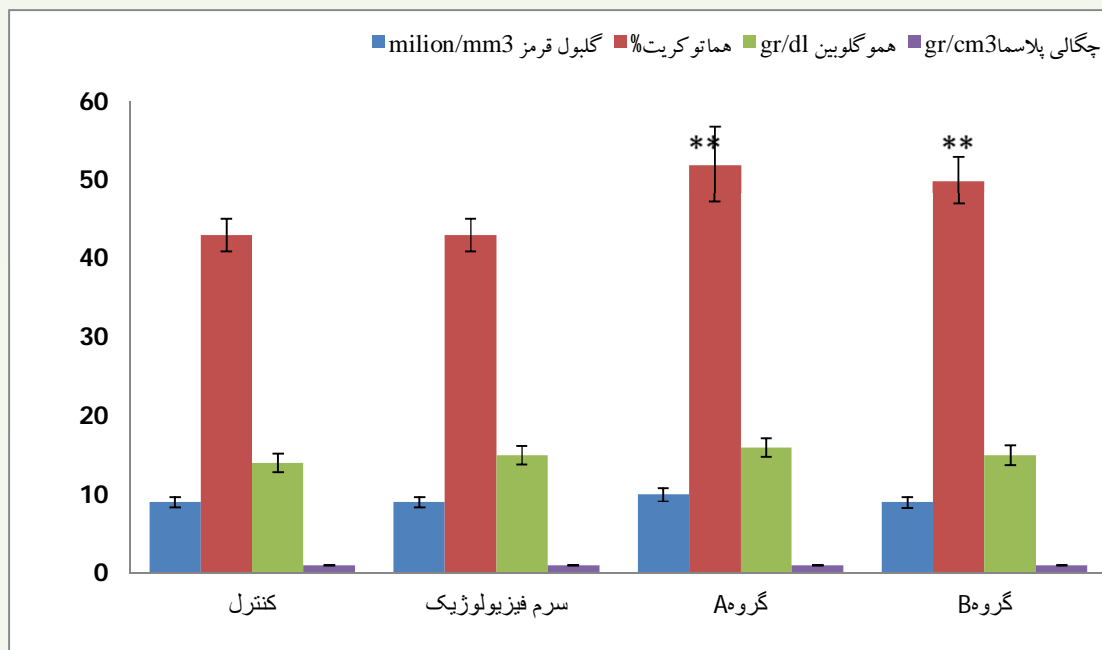
تحلیل آماری

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 تیمار A، B با گروه کنترل و شاهد وجود دارد ($P < 0/05$) (تغییرات پارامترهای خونی، بین گروه شاهد با سرم فیزیولوژیکی بسیار کم، یا بدون اختلاف بود)(نمودار 1).



نمودار 1- اثر مورفولین و سرم فیزیولوژیکی بر میانگین و انحراف معیار پارامترهای خونی گروه های مختلف آزمایش

** بین گروه A و B اختلاف معنی داری داشت.

تغییرات پارامترهای طحال

داد ($P < 0/05$). اما در گروه شاهد و سرم فیزیولوژیکی ضخامت دیواره شریانچه تغییر محسوسی نداشت (جدول 1). مطالعات بافت‌شناسی و میکروسکوپی، افزایش ضخامت شریانچه مرکزی پالپ سفید، کاهش ضخامت کپسول، جداشدن از بافت طحال و فیروز بافت کپسول و تراکولار رادر گروه تیمار A نسبت به گروه شاهد و تیمار B نشان می‌دهد (در گروه سرم فیزیولوژیک تغییرات محسوسی مشاهده نشد) (اشکال 1 و 2).

مطالعات میکروسکوپی و اندازه‌گیری‌ها نشان داد که اختلاف میانگین ضخامت کپسول طحال در گروه‌های شاهد و سرم فیزیولوژیکی بسیار ناچیز بوده ولی این مقدار در گروه تیمار A و تیمار B کاهش معنی‌داری را در گروه مورفولین نشان داد ($P < 0/05$). هم‌چنین کپسول طحال گروه تیمار A به نسبت گروه‌های دیگر فیبری‌تر شده و از بافت طحال فاصله گرفته است. بررسی‌های ضخامت دیواره شریانچه مرکزی پالپ سفید در گروه تیمار A و B افزایش معنی‌داری را نسبت به هم نشان

جدول 1- اثر مورفولین و سرم فیزیولوژیکی بر میانگین و انحراف معیار پارامترهای اندازه‌گیری شده در بافت طحال موش‌های سفید نر نژاد آلبینو در گروه‌های مختلف آزمایش

گروه B	گروه A	سرم فیزیولوژیک	گروه کنترل	ضخامت (μm)
130/07±0/2**	126/11±0/04*	131/04±0/03	131/04±0/03	کپسول طحال
90/05±0/03**	104/8±0/04*	80/04±0/02	80/06±0/04	دیواره شریانچه مرکزی طحال

* اختلاف معنی‌دار در سطح ($P < 0/05$) بین گروه A با گروه شاهد و شم

** اختلاف معنی‌دار در سطح ($P < 0/05$) بین گروه A و B

تغییرات وزن طحال

موش‌های گروه تیمار A نسبت به وزن اولیه، در سطح $P < 0/05$ معنی‌دار بود (نمودار 3).

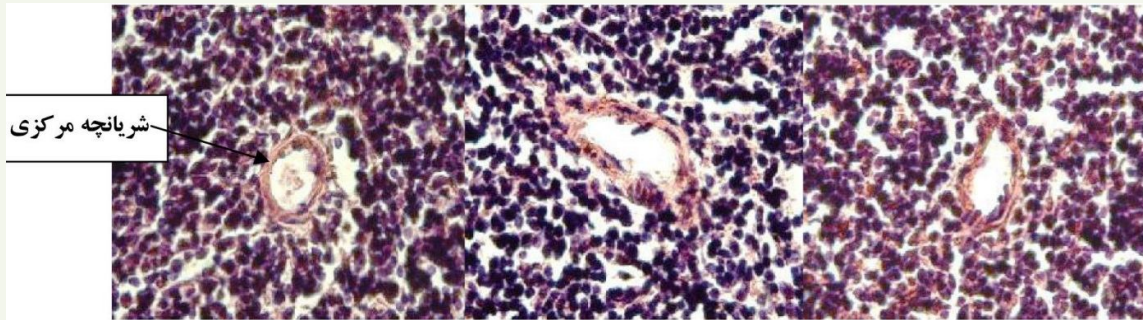
بحث و نتیجه‌گیری

مورفولین ترکیبی شیمیایی با کاربردهای متفاوت از طریق خوراکی، تنفسی و پوستی جذب شده و باعث آسیب بخش‌های مختلف بدن حیوانات یا انسان می‌شود (7). گزارشات نشان داده که مورفولین در قسمت‌های مختلف بدن موش‌هایی که اولئیک اسید مورفولین (1 gr/Kg وزن بدن) را به صورت گاوژ در طی 5 روز متوالی دریافت نمودند، یافت شده است (24). استعمال خوراکی مورفولین در رت‌ها به صورت 2 gr/Kg وزن بدن، باعث خون‌ریزی بینی و گوارشی گردیده (17) و دوز کشنده خوراکی در موش‌ها (LD_{50}) برای مورفولین 525 mg/Kg وزن بدن بوده است (22, 27, 32).

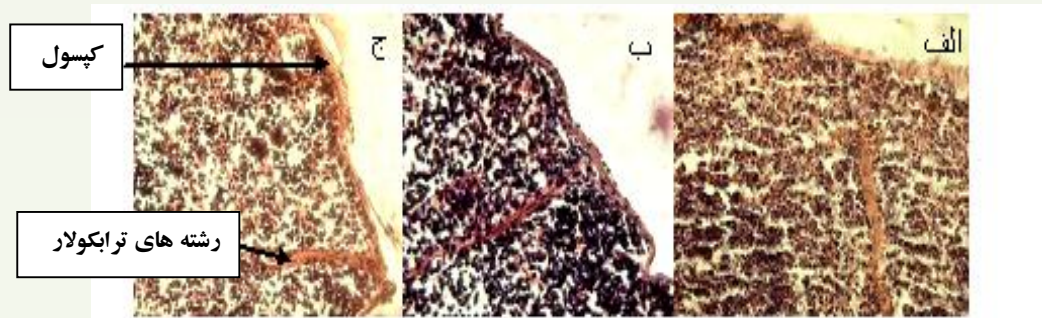
وزن طحال در گروه تیمار A و تیمار B به طور مستقل کاهش نشان داد. میانگین وزن طحال در گروه B به ترتیب 16 و 15 گرم بود، اما با توجه به کاهش وزن بدن در گروه مورفولین نسبت وزن طحال به وزن بدن در گروه A به 18 گرم رسید و در گروه B کاهش نسبت وزن طحال نسبت به وزن بدن مشاهده شد. این رابطه بین گروه تیمار A با گروه B، شاهد و سرم فیزیولوژیکی معنی‌دار بود ($P < 0/05$) (نمودار 2).

تغییرات وزن بدن

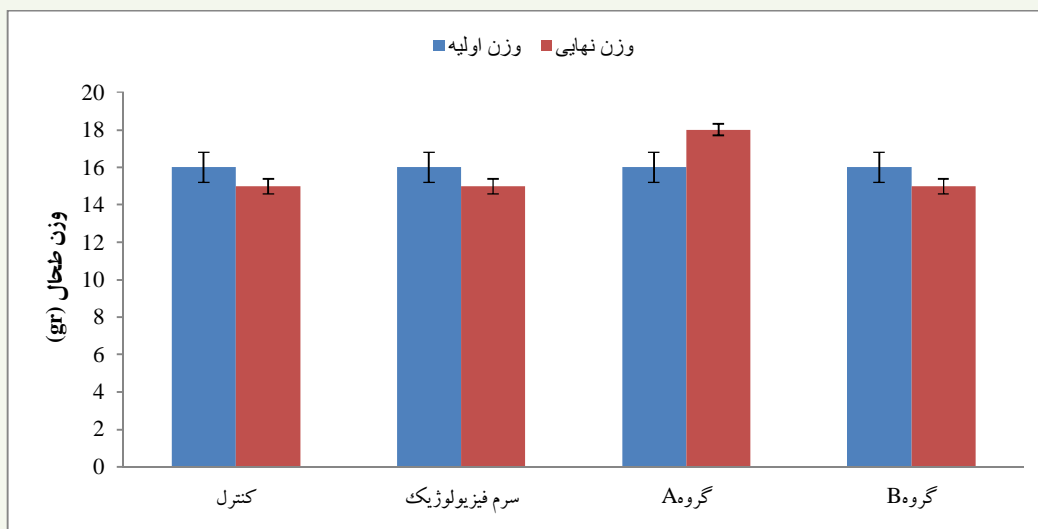
در طی دوره پانزده روزه، میانگین وزن موش‌های شاهد و سرم فیزیولوژیک از 28 گرم به 33 گرم رسید. در حالی که موش‌های گروه تیمار A کاهش وزن داشته و وزن آن‌ها به 24 گرم رسید. وزن موش‌های گروه تیمار B به 30 گرم رسیدند. این افزایش وزن در موش‌های شاهد، سرم فیزیولوژیک، گروه تیمار B و کاهش وزن در



شکل 1- اثر افزایشی مورفولین بر ضخامت شریانچه مرکزی پالپ سفید طحال موش سفید نژاد آلبینو در گروه های مختلف آزمایشی الف(شاهد، ب) تیمار A، ج) تیمار B(×1000)

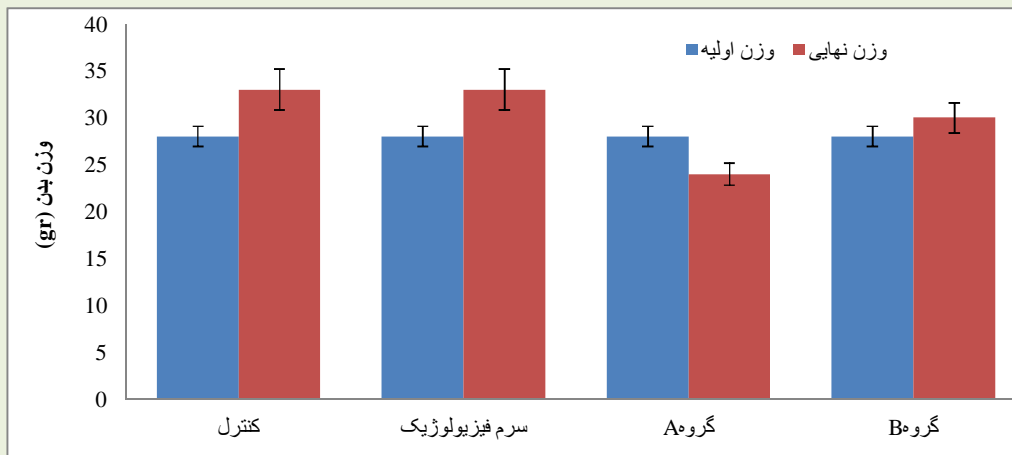


شکل 2- اثر کاهشی مورفولین بر اندازه کپسول و فیبری شدن رشته های تراپکولار پالپ سفید و قرمز طحال موش های سفید نژاد در گروه های مختلف آزمایشی الف(شاهد، ب) تیمار A، ج) تیمار B(×400)



ن

نمودار 2- اثر مورفولین و سرم فیزیولوژیکی بر میانگین و انحراف معیار وزن طحال نسبت به وزن بدن موش در گروه های آزمایشی



نمودار 3- اثر مورفولین و سرم فیزیولوژیکی بر میانگین و انحراف معیار وزن بدن موش گروه‌های آزمایش

است. نسبت وزن خون به وزن بدن نیز تقریباً 1 به 12 است (10). هماتوکریت به معنی نسبت حجم گلبول‌های قرمز به حجم خون است (2) 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 42٪ گزارش شده است (26) و 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 (هماتوکریت) افزایش قابل ملاحظه‌ای در موش‌های تیمار شده نشان داد، که از 43/04٪ در گروه شاهد به ترتیب به 52/1٪ و 50/07٪ در گروه‌های تیمار A و B رسید و در گروه سرم فیزیولوژیکی تغییری ایجاد نشد. این افزایش در مورد گروه تیمار A (21٪) و تیمار B (16٪) و نسبت به هم معنی‌دار بود ($P < 0/05$) که می‌تواند ناشی از اضافه شدن تعداد گلبول‌های قرمز و نیز کاهش آب خون باشد (20). ضمن این که معنی‌داری ارتباط گروه شاهد با گروه تیمار A نیز می‌تواند به همین علت باشد. بنابراین با افزایش گلبول قرمز، به همان نسبت هماتوکریت نیز افزایش یافت، که مطابق با پژوهش‌های گذشته بود. در بررسی چگالی پلاسما با میانگین $1/05 \text{ gr/cm}^3$ افزایشی در حدود 25٪ در موش‌های گروه A و 20٪ در موش-

وان و همکارانش، به 6 گروه خرگوش نیوزلندی نر 5 میلی‌مول مورفولین نشان‌دار با کربن 14 به میزان 435 mmol/kg به صورت وریدی تزریق نمودند و بررسی پراکنش فعالیت رادیواکتیو بعد از 30 دقیقه نشان داد که بالاترین غلظت‌ها در قشر کلیوی 36 mmol/kg ، ریه‌ها $1/5 \text{ mmol/kg}$ و کبد $7/4 \text{ mmol/kg}$ و خون $3/2 \text{ mmol/litre}$ بود و مورفولین با پروتئین‌های پلاسما اتصال برقرار نکرد (31). در این تحقیق نیز مورفولین اثرات مختلفی بر فاکتورهای خونی و بافت طحال داشت. بررسی میانگین تعداد گلبول‌های قرمز در موش‌های سفید نر گروه تیمار A (تیمار مورفولین) $10/13 \text{ million/mm}^3$ بود که افزایشی در حدود 7/6٪ را نسبت به کنترل نشان داد که این افزایش در نمونه‌های گروه تیمار B (مورفولین همراه با سرم فیزیولوژیکی) با میانگین $9/62 \text{ million/mm}^3$ در حدود 2/03٪ بود. افزایش معنی‌دار ($P < 0/05$) در این دو گروه، چندان به فعالیت مراکز خون‌سازی مربوط نیست زیرا در جریان استرس حاصل از مورفولین، 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 (20). حجم کلی خون در یک موش بالغ با وزن تقریبی 22 گرم، 5/5 الی 8 درصد وزن بدن و یا به طور متوسط 2 سانتی‌متر مکعب

روز، باعث کاهش وزن بدن در تیمار 1% در هر دو جنس و با غلظت 0/25٪ اولئیک اسید مورفولین درجنس ماده گردید(25)، که با نتایج تحقیق ما همخوانی داشت. بررسی بافت طحال در گروه تیمار A به هم ریختگی نسبی در پارانشیم پالپ سفید و قرمز را نشان داد. التهاب حاصله ناشی از افزایش قطر رگ‌های خونی و توسعه شبکه مویرگی بود. بر اساس مطالعات بافتی ضخامت کپسول طحال در تیمارهای گروه A کاهش نسبی در حدود 3/8٪ نشان داد و دنباله کپسول طحال که به صورت تراپیکولار در ساختار درونی طحال نفوذ می‌کند ساختار فیبری پیدا نموده و در اغلب نقاط دیواره، کپسول از طحال جدا شده و فاصله گرفته بود، ولی این کاهش در گروه B قابل ملاحظه نبود. انشعابات رگ‌های خونی به صورت سینوزوئید در پالپ قرمز گروه A نسبت به نمونه شاهد گسترده‌تر و فراخ‌تر شده بود. همراه با افزایش قطر شریانچه مرکزی درون پالپ سفید، دیواره آن نیز ضخیم شد، به طوری که در گروه A افزایش 30٪ و در گروه B ، 12/5٪ بود. با بررسی وزن طحال، قبل و بعد از تیمار، کاهش در وزن طحال‌های گروه‌های تیمار A و B مشاهده شد که این امر می‌تواند نشانه‌ای از تحلیل یا تخریب نسبی ساختار طحالی باشد. اما به دلیل کاهش وزن بدن در گروه تیمار A، نسبت وزن طحال به وزن بدن در حدود 14/6٪ افزایش نشان داد که در گروه تیمار B نسبت وزن طحال به وزن بدن 3/8٪ کاهش یافت. مورفولین (و متابولیت‌های حاصل از آن) ماده‌ای است که در زندگی روزمره ناخواسته با آن سروکار داشته و با توجه به نتایج به دست آمده، این ماده با افزایش تعداد گلبول‌های قرمز، هماتوکریت، چگالی سرم، هموگلوبین خون باعث برهم خوردن تعادل فاکتورهای خون شده و با به هم ریختگی بافت پارانشیمی، التهاب و کاهش وزن طحال و وزن بدن در موش‌های سفید نر اختلالات زیادی ایجاد می‌نماید، که اگر این عوارض به

های گروه B با میانگین $1/04 \text{ gr/cm}^3$ مشاهده شد، که معنی‌داری گروه شاهد با گروه A و این گروه با گروه B می‌تواند ناشی از کاهش آب بدن و آزاد شدن اجزای بافتی و املاح حاصله از آن در خون باشد. هموگلوبین موجود در گلبول‌های قرمز می‌تواند، حداکثر تا 34 گرم به ازای صد میلی‌لیتر سلول تغلیظ (3) و میزان هموگلوبین خون موش $16/3 \text{ g/dl} - 10/9$ شود(26).

معمولاً افزایش تعداد گلبول‌های قرمز و هماتوکریت با افزایش هموگلوبین خون در گلبول‌های قرمز نیز همراه است. در این تحقیق نیز میانگین هموگلوبین در گروه شاهد، A و B به ترتیب $14/81 \text{ gr/dl}$ ، $16/31$ و $15/11$ بود که این افزایش در موش‌های گروه تیمار A در حدود 10٪ و در گروه تیمار B 2٪ و معنی‌داری آن در گروه‌های شاهد با گروه A و گروه‌های A، B باهم مربوط به تغلیظ هموگلوبین و کاهش آب بدن می‌باشد(20). حضور کم و بیش گلبول‌های قرمز اکی‌نوسیت و گلبول‌های قرمز رولو در گسترش خونی در این بررسی قابل ملاحظه بود. سرم فیزیولوژیکی می‌تواند به عنوان ماده‌ای که اثرات سمی مورفولین را در بدن ضعیف کند، مورد استفاده قرار گیرد(16). در طی دوره تیمار وزن موش‌های گروه‌های A و B، به علت اثرات سمی مورفولین در بافت خون و طحال، کاهش تغذیه و در نتیجه کاهش جذب مواد غذایی متغیر بود. در گروه A کاهش 14/2٪، ولی در گروه B افزایش وزنی به میزان 8/9٪ به وجود آمد، و موش‌های شاهد و سرم فیزیولوژیکی حدود 17/8٪ افزایش وزن داشتند. اثرات کاهش وزن مورفولین در مطالعات دیگر نیز شبیه به نتایج مطالعه حاضر بود. در مطالعه Tombropoulos و همکارانش استعمال مورفولین ($0/7 \text{ g/Kg}$) به صورت خوراکی باعث کاهش وزن بدن و هیپرپلازی اپیتلیوم معده شده است(30). در مطالعه دیگری، تیمار اولئیک اسید مورفولین با غلظت‌های 0/25٪ و 1٪ به آب آشامیدنی موش‌ها در طی 672

طریق مراکز مرتبط با سلامت و واحدهای نظاره‌گر بهداشتی، نسبت به استفاده مجاز این ماده، اطلاع‌رسانی کنند و در پی یافتن ماده‌ای جایگزین و بی‌ضرر مانند سرم فیزیولوژیکی که کاهنده عوارض مورفولین است، تحقیقات و اقدامات لازم انجام گردد.

11.IARC. (1999). Morpholine. in: some organic solvents, resin monomers and related compounds, pigments and occupational exposures in paint manufacture and painting. Lyon, International Agency for Research on Cancer, 199-213.

12.Junqueira, L.C., Carneiro, J., Kelley, R. O. (1995). Basic histology. Appleton and Lange New York, 245-289.

13.Junqueira, L. C., Carneiro, J., Kelley, R. O. (2002). Basic histology. Appleton and Lange, New York, 112-137.

14.Lupp, A., Karge, E., Wange, J., Eisentraut, C., Zwenizner, T. (2006). In vitro interactions with the cytochrome p450 system, toxicity, and local anaesthetic effects of fomocaine alkyl morpholine derivatives in rats. *Arzneimittelforschung*, 56(6); 369-76.

15.Lupp, A., Wange, J., Oelschläger, H., Fleck, C. (2006). Pharmacological and toxicological testing of the enantiomers of two chiral fomocaine alkylmorpholine derivatives in comparison to their in vitro interactions on drug metabolism in rats. *Arzneimittelforschung*, 56(1); 1-11.

16.Marion, N., Gleason, D., Robert, E., Harold, C. (1957). Clinical toxicology of commercial products. *Acute Poisoning Home and Farm*, 245-264.

17.Martini, F. (2001). *Fundamental of anatomy and physiology*. Prentice-Hall, London, 87-102.

18.Mercer, EI. (1991). Morpholine antifungals and their mode of action. *Biochem. Soc. Trans.*, 19; 788-793.

19.Mjos, K. (1978). Cyclic amines. In: *kirk-othmer encyclopedia of chemical technology* 3rd ed. New York, John Wiley and Sons., 2; 295-308.

20.Mlekusch, W., Truppe, W. (1975). The effect of hunger on free fatty acids and corticosterone plasma levels in rats. *Experientia*, 15; 1135-7.

21.NIOSH. (1999). *Manual of analytical methods*, 2nd ed. Cincinnati, Ohio, National

انسان تعمیم داده شود برای سلامت بسیار مضر بوده و عامل تحریکی برای ایجاد بیماری‌ها و مشکلات دیگر می‌باشد، البته استفاده از سرم فیزیولوژیکی تمامی این عوارض را کاهش داده و می‌توان به عنوان ماده ای مفید در کنار مورفولین از آن استفاده کرد. بنابراین باید صنایع و بخش های استفاده کننده از مورفولین و مشتقاتش از

منابع

1-بهادری، م. 1376. بافت شناسی پایه. انتشارات ارجمند. ص 353-360.

2-شمس لاهیجانی، م. 1385. بافت شناسی جانوری. انتشارات پیام نور. ص 108-103.

3-مشفق، م، حسینی. ا، وحدتی. ا، مشفق، ز. 1393.

بررسی اثرات دگرمتازون در دوران بارداری بر تکوین و عملکرد بافت تخمدان فرزندان بالغ نسل اول موش‌های صحرایی، فصلنامه فیزیولوژی و تکوین جانوری زنجان. جلد 7 شماره 2: ص 23-30.

4-مقدسی، غ. 1390. هیستوتکنیک در آزمایشگاه. مجله آموزش (آزمایشگاه)، دوره 24، شماره 3: ص 1-5.

5.Bancroft, J.K., Gamble, M. (2002). *Theory and practice of histological techniques*. 5th Ed. Churchill Living Stone, London, 4; 152-155.

6.Brown, A.R. (1966). Morpholine: its properties and uses. *Manuf, Chem, Aerosol, News*, Dec, 50-52.

7.Fleck, C., Karge, E., Loy, S., Wenek-Klose, J., Listing, M., Oelschläger, H. (2003). Local anaesthetic effects and toxicity of seven new diethanolamine and morpholine derivatives of fomocaine. Testing in rats compared with procaine and tetracaine. *Arzneimittelforschung*, 53(3); 221-8.

8.Grant, W.M. (1974). Morpholine. in: *toxicology of the eye*. 2nd ed. Springfield Illinois Charles C, Thomas, 1(2); 722-723.

9.Harper, H.A., Murray, R.K., Granner, DK., Mayes, P.A., Rodwell, V.W. (2000). *Harper's Biochemistry*, 44-60.

10.Heilen, G., Mercker, H.J., Frank, D., Reck, R.A., Jäckh, R. (1989). Amines, aliphatic. In: *Ullmann's encyclopedia of industrial chemistry*. 5th ed. Weinheim, VCH Verlagsgesellschaft A2, 1-36.

Institute for Occupational Safety and Health 3, S150/1-S150/9.

22. Ohnishi, T. (1984). Morpholine. Studies on mutagenicity of the food additive morpholine fatty acid salt. *Nippon Eiseigaku Zasshi*, 39; 729-745.

23. Rekka, E., Retsas, S., Demopoulos, VJ., Kourounakis, PN. (1990). Lipophilicity of some substituted morpholine derivatives synthesized as potential antinociceptive agents. *Arch Pharmacol*, 323; 53-56.

24. Sander, J., Bürkle, G. (1969). Induction of malignant tumours in rats by simultaneous feeding of nitrite and secondary amines. *Z. Krebsforsch*, 73; 54-66

25. Shibata, M-A., Kurata, Y., Ogiso, T., Tamano, S., Fukushima, S., Ito, N. (1987). Combined chronic toxicity and carcinogenicity studies of morpholine oleic acid salt in B6C3F₁ mice. *Food Chem Toxicol*, 25; 569-574.

26. Suckow, M. A., Danneman, P., Brayton, C. (2001). *The laboratory mouse*. CRC., London, 45-52.

27. Symth, HFJr., Carpenter, CP., Weil, CS., Pozzani, UC. (1954). Range – finding toxicity data. *Arch. Ind. Hyg. Occup. Med.*, 10; 61–68.

28. Tanaka, A., Tokieda, T., Nambaru, S., Osawa, M., Yamaha, T. (1978). Excretion and distribution of morpholine salts in rats. *J Food Hyg Soc*, 19: 329-334.

29. Texaco. (1986). *Texaco product brochure - morpholine*. Austin, Texas, Texaco Chemical Company, Research and Technical Services, 29.

30. Tombropoulos, EG., Koo, JO., Gibson, W., Hook, GER. (1983). Induction by morpholine of lysosomal alpha-mannosidase and acid phosphatase in rabbit Alveolar macrophages in vivo and in vitro. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 70; 1-6.

31. Traut-Johnstone. T., Kriel, F., Hewer, R. D., Bradley, G. W. (2014). 4-3-Azaniumylpropyl morpholin-4-ium chloride hydrogen oxalate: an unusual example of a dication with different counter-anions. *Acta. Crystallogr. C. Struct. Chem.*, 6;70(Pt 12);1121-4.

32. Van Stee, EW., Wynns, PC., Moorman, MP. (1981). Distribution and disposition of morpholine in the rabbit. *Toxicology*, 20; 53-60.

