Physiology and Pharmacology, 11(1), 68 - 75
Spring 2007 [Article in Persian]

Physiology and Pharmacology

In vitro and in vivo interaction of oral contraceptive high dose (HD) with urine morphine diagnostic test

Valiollah Hajhashemi*, Mohsen Minaiyan, Mahdi Saberian-Boroojeni

Dept. Pharmacology and Isfahan Pharmaceutical Research Center, School of Pharmacy, Isfahan Univ. Med. Sci., Isfahan.

Abstract

Introduction: Urine morphine test, in several countries is the most primarily available qualitative test for detecting opioid abusers. Since the users of illicit drugs attempt to defeat urine tests and there are also plenty of claims that usage of HD (high dose) contraceptive pills can result in false-negative results, we decided to design the present study to investigate the probable in vitro and in vivo interaction of HD contraceptives and urine morphine diagnostic test.

Methods: Several high and low concentrations of ethinylestradiol (EE), levonorgestrel (LN), and both of them were made in the blank urine and urine samples obtained from morphine abusers and then were detected by Acon® urine test strips. Also, high and low doses of EE, LN, and both of them were administered orally to separate groups of control, morphine dependent, and morphine treated (20 mg/kg in single dose, s.c.) male Wistar rats (225 ± 25 g). The urine samples were collected during 3-6, 12-15, 21-24 h time intervals in metabolic cages and were examined by Acon® urine tests.

Results: Neither contraceptive constituents nor their urine metabolites at different levels were able to negate the results of urine kits.

Conclusion: We conclude that there is no interaction between HD contraceptives and urine morphine diagnostic tests both in vitro and in vivo. It is recommended to inform the results of this study to withhold further misusage of contraceptives and their possible adverse effects.

Keywords: Urine diagnostic test; Morphine; HD contraceptive, In vitro and in vivo interaction.

* Corresponding Author Email: hajhashemi@pharm.mui.ac.ir
Available online @: www.phypha.ir/ppj

فیزیولوژی و فارماکولوژی

فیزیولوژی و فارماکولوژی ۱۱ (۱)، ۶۸ - ۷۵
بهار ۱۳۸۶

تداخل درون تنی و برون تنی قرص ضد حاملگی با دوز بالا (HD) در آزمون ادراری تشخیص اعتیاد به مورفین

ولی‌اله حاج‌هاشمی*، محسن مینائیان، مهدی صابریان بروجنی
مرکز تحقیقات علوم داروئی اصفهان و گروه فارماکولوژی، دانشکده داروسازی و علوم داروئی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان

دریافت: مهر ۸۵ بازبینی: اردیبهشت ۸۶ پذیرش: اردیبهشت ۸۶

چکیده

مقدمه: از آنجا که منفی کردن تست تشخیص ادراری مورفین آرزوی دیرینه افراد معتاد می‌باشد. در این مطالعه بر آن شدیم تا تداخل احتمالی بین قرص‌های ضد بارداری و کیتهای تشخیص مورفین را مورد مطالعه قرار دهیم.

روش‌ها: در برون تن، غلظت‌های مختلف اتینیل استرادیول و لوونورژسترل در ادرار بلانک و ادرار افراد معتاد با پاسخ مثبت، تهیه گردید و با کیت تشخیص مورفین مورد بررسی قرار گرفت. این آزمایش در حضور غلظتهای مختلف مورفین تکرار گردید. در درون تن ابتدا دوزهای مختلف دو دارو به موشهای صحرائی نر کنترل، وابسته به مورفین، و دریافت کننده دوز منفرد مورفین (۲۰ mg/kg) تجویز گردید. نمونه‌های ادراری در فواصل ۶-۳، ۱۵-۱۲، ۲۴-۲۱ ساعت جمع آوری شده و مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: هیچ یک از اجزای قرصهای ضد بارداری HD و متابولیت‌های ادراری آنها به طور منفرد و یا توأم تاثیری بر کیتهای تشخیص مورفین نداشت. این تداخل در شرایط وجود وابستگی به مورفین یا تجویز دوز منفرد نیز مشابه و خنثی بود.

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد تداخل بین مورفین و اجزای قرص‌های ضد بارداری HD منتفی است و اطلاع رسانی موثر در این زمینه میتواند از بروز عوارض جانبی این داروها جلوگیری کند.

واژه‌های کلیدی: تست تشخیص ادرار، مورفین، قرص ضد بارداری HD، تداخل درون تن و برون تن.

مقدمه

ایران از جمله کشورهایی است که طی سالها و خصوصاً دهه‌های اخیر، به شدت از سوء مصرف مواد یا داروهای مخدر آسیب دیده است. حصول برآورد درست و دقیقی از میزان شیوع مصرف این مواد در کشور ما عملاً غیر ممکن است زیرا قبح اجتماعی، محدودیتها و مجازات‌های قانونی ومسائل فرهنگی مانع از آن می‌شوند که معتادان به مواد مخدر اطلاعات و اخبار درستی از وضعیت خود در اختیار محققان قرار دهند [۱۳]. تنها در ایالات متحده آمریکا سالانه میلیونها آزمایش ادراری به منظور بررسی وضعیت سوء استفاده از مواد مخدر از جمله مواد اوپیوئیدی انجام میشود [۴]. در نتایج بدست آمده از نمونه‌های ادراری آزمایش شده در سال ۱۳۷۴ (۱۹۹۷ میلادی) در کشور ما از مجموع ۹۶۰/۰۰۰ نمونه آنالیز شده ۲/۳۹ درصد جوابها مثبت بوده است که از این پاسخ‌های مثبت بیشترین تعداد به رانندگان ماشین‌های سنگین با ۳/۹۶ درصد و کمترین مقدار به جوانان در شرف ازدواج با ۱/۳۴ درصد اختصاص داشته است

* نویسندهٔ مسئول مکاتبات: hajhashemi@pharm.mui.ac.ir
وبگاه مجله: www.phypha.ir/ppj

[۱۳]. در برآورد دیگری که توسط رجب زاده و همکاران (۱۳۸۰-۱۳۷۹) انجام پذیرفت شیوع پاسخ مثبت در بین رانندگان اتوبوس و کامیون با تست تشخیص ادراری مورفین ۱۴/۶ و پس از مصاحبه روانشناسی ۲۶/۵ درصد بدست آمد که در مقایسه با آمار قبلی اختلاف فاحشی را نشان میدهد [۱۵]. شواهد همچنین بر این امر تاکید دارند که مواد مخدر شبه تریاک از قبیل خود تریاک، هروئین، شیره، ومورفین مهمترین مواد مخدر مصرفی در کشور ما میباشند [۱]. مطابق با قوانین کشوری ما و بسیاری از کشورهای دیگر تست تشخیص اعتیاد برای آزمون‌های قبل از استخدام، بررسی علل جرائم و تصادفات، صدور گواهی صلاحیت، تمدید پروانه اشتغال به رانندگی و برخی مشاغل حساس، ازدواج و بسیاری موارد دیگر ضروری است [۱۳]. لذا همیشه این احتمال وجود دارد که افراد معتاد با استفاده از مواد شیمیائی یا مصرف داروها سعی در مخدوش کردن و منفی کردن پاسخ جواب آزمایش خود داشته باشند [۲۰]. در تحقیقی که توسط اداره مبارزه با مواد مخدر و تأمین سلامت و بهداشت روانی (SAMHSA) در بین سالهای ۲۰۰۰-۱۹۹۹ در آمریکا انجام پذیرفت حدود ۶۴۴۰ نمونه ادرار تقلبی به ۶۶ آزمایشگاه تحویل گردیده بود [۱۹]. اهمیت استفاده از عوامل و مواد تقلبی در نمونه‌های ادراری به اندازه‌ای در این کشور افزایش یافته است که قوانین ایالتی خاصی برای دریافت نمونه‌های ادراری و تشخیص نوع و مقدار مواد تقلبی در آنها وضع گردیده است [۲۱و۱۹]. مواد شیمیائی تداخل کننده را در دو دسته عمده میتوان قرار داد: مواد کلاسیک که در همه جا یافت میشوند مثل: نمک، جوش شیرین، سرکه، اسید آسکوربیک، آب لیمو، مواد سفید کننده و شوینده، صابون مایع، نیتریت سدیم و پتاسیم، پیریدینیوم کلروکرومات و گلوتارآلدهید و مواد تجاری که اگرچه در بیشتر موارد حاوی همان مواد کلاسیک ولی به طور بسته‌بندی شده می‌باشند، اما خوشبختانه در کشور ما عمومیت ندارند. برخی از مارکهای اصلی این مواد شامل: Clean®, Klear®, Purafyzit®, ® Instant Krystal klean®, Urine Luck می‌باشند [۲۱]. با توجه به اینکه اضافه کردن مواد تقلبی به نمونه‌های ادراری در برخی موارد موفقیت آمیز بوده و باعث منفی شدن پاسخ آزمایش می‌گردد، عمل جمع آوری نمونه ادرار باید در مقابل شاهد صورت پذیرد. همین امر سبب گردیده تا مصرف کنندگان مواد مخدر به استفاده از روشهای درون تن روی آورند [۱۲]. ماده مخدوش کننده درون تن (In vivo Adulterant) ماده‌ای است که از راه خوراکی مصرف می‌شود تا شناسائی ماده مخدر مصرفی را در نمونه‌های ادراری دچار اختلال کند. گرچه مکانیسم عمل این مواد غالبا رقیق کردن ادرار یا تسریع در دفع آنها از بدن می‌باشد لیکن بررسی کارایی و مکانیسم عمل دقیق این روش‌ها بدلیل مشکلات اخلاقی کار بر روی انسان آنهم افراد معتاد بشدت محدود می‌باشد [۱۴و۱۰]. از جمله این روشها می‌توان به مصرف خوراکی جوش شیرین، کاغذ کاربن، داروهای مدر یا مایعات فراوان، و در رأس آنها که در سالهای اخیر به شدت رواج یافته است داروهای ضد بارداری خوراکی با دوز بالا (HD) (۵ تا ۷ قرص شب قبل از انجام آزمایش) اشاره کرد. اگر چه بسیاری از این روشها فاقد اعتبار علمی و منطقی است و ممکن است موثر هم نباشد لیکن عدم توجه به آنها به نوعی تائید آنها محسوب شده و ممکن است به شیوع مصرف آنها بیانجامد. در همین راستا تصمیم به انجام تحقیق حاضر گردید تا ضمن بررسی احتمال تداخل برون تن و درون تن قرص‌های ضد بارداری HD با تست‌های تشخیص اعتیاد به مرفین از مصرف نابجای این قرص‌ها که به دلیل ماهیت هورمونی می‌توانند منشاء عوارض گوناگون و طولانی مدت باشند، کاسته شود.

مواد و روش‌ها

از آمپول مورفین ۱۰ mg/ml (تولیددارو- ایران)، پودر خالص و استاندارد اتینیل استرادیول و لوونورژسترل (ابوریحان- ایران)، اتانول ۹۶ درجه (اصطلک – ایران)، آب مقطر قابل تزریق (اسوه – ایران)، کیت تشخیص مورفین (Acon® – آمریکا) استفاده شد.

موش‌های صحرائی (رات) نر از نژاد ویستار تهیه شده از انستیتو رازی – تهران با محدوده وزنی ۲۵± ۲۲۵ گرم استفاده شده‌اند. تغذیه حیوان از پلت‌های آماده بوده و در شرایط یکسان و مناسب حرارتی (°C ۲۵-۲۲)، رطوبت (۷۰-۶۰٪)، و روشنائی (۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی) نگهداری شدند.

در این مطالعه سه نوع نمونه ادراری مورد استفاده قرار گرفت. نمونه ادراری بلانک که از ۶ نفر داوطلب سالم بدون

سابقه اعتیاد و یا مصرف اپیوئیدها طی یک‌هفته قبل دریافت گردید. نمونه ادراری انسان که از ۶ معتاد مراجعه کرده به آزمایشگاه رفرانس درمانگاه سینا- اصفهان جمع آوری شده بود و پاسخ حاصل از آنها مثبت بود. مقدار ۷۰-۶۰ میلی لیتر از این نمونه ادراری با رعایت کلیه جوانب بهداشتی و اخلاقی حداکثر در فاصله زمانی ۲ ساعت و در یخچال به آزمایشگاه محل تحقیق منتقل گردید. کلیه نمونه‌های ادراری از لحاظ ظاهر، کدورت، چگالی و pH مورد آزمایش و تائید قرار گرفت. نمونه ادراری حیوان که برای این منظور از قفسه‌های متابولیک (metabolic cage) استفاده گردید و در آن موش صحرائی به مدت ۲۴ ساعت پس از دریافت درمانهای لازم به صورت منفرد نگهداری می‌شد. زمان‌های نمونه‌گیری در فواصل زمانی ۶-۳, ۱۵-۱۲، و ۲۴-۲۱ ساعت انتخاب گردید. کلیه نمونه‌های ادراری قبل از انجام آزمایش از لحاظ وجود ذرات معلق بازرسی گردید و در صورت لزوم سانتریفوژ و صاف شد [۱۷].

کلیه مراحل تست نمونه ها مطابق دستورالعمل کیت تشخیص مورفین ®Acon انجام پذیرفت. این کیت که از یک نوار کروماتوگرافی ایمونواسی تشکیل شده است با مکانیسم باندشدن رقابتی عمل می کند. به این معنی که در صورت وجود داروی قابل ردیابی با غلظت کافی در نمونه، دارو با مواضع اتصال به طور کامل واکنش می دهد و آنها را اشباع می کند لذا در نوار تست تغییر رنگی ظاهر نمیشود. روشن شدن نوار کنترل به تنهایی نشانه پاسخ مثبت، ظاهر شدن هر دو نوار کنترل و تست نشانه پاسخ منفی و ظهور نوار ناحیه تست به تنهایی یا عدم ظهور هیچیک از نوارها بیانگر عملکرد نادرست کیت و پاسخ مشکوک یا بی ارزش بود. کلیه نتایج حداکثر ۵ دقیقه پس از خارج کردن کیت از نمونه ادراری و بر روی سطح صاف و غیر قابل جذب خوانده شد.

تزریق مورفین به حیوان به روش زیر جلدی (s.c.) و با استفاده از سرنگهای یک بار مصرف انسولین انجام پذیرفت. در صورت لزوم دارو توسط سالین نرمال رقیق گردید. برای تهیه و رقیق کردن محلول‌های داروئی خوراکی اتینیل استرادیول و لوونورژسترل از حلال اتانول ۹۶ درجه استفاده گردید و به رات‌های گروه کنترل حامل دارو (الکل ۹۶ درجه) تجویز گردید. از لوله خوراک دهنده (Feeding tube) برای خوراندن داروها استفاده گردید.

به گروههای ۶ تائی از موش صحرائی که به همین منظور انتخاب گردیده بودند دوزهای فزآینده مورفین به طور s.c. تزریق گردید. روز اول صبح ۳۰ و بعد از ظهر ۴۵ mg/kg، روز دوم صبح ۶۰ و بعد از ظهر ۹۰ mg/kg، و روز سوم صبح تنها یک دوز ۹۰ mg/kg تزریق گردید [۱۰].

در یک مطالعه مقدماتی (pilot study) دوزهای مختلف و کاهنده مورفین شامل ۰/۰۰۱ mg/kg، ۰/۰۰۳، ۰/۰۰۵، ۰/۰۱، ۰/۱، ۱،۱۰، و ۲۰ در فاصله ۸ تا ۹ صبح به صورت زیر جلدی به حیوان تزریق گردید. سپس نمونه‌های ادراری در فواصل زمانی ۶-۳، ۱۵-۱۲، و ۲۴-۲۱ ساعت بعد جمع آوری گردید و در مجاورت با کیت تشخیص مورفین مورد بررسی قرار گرفت. نمونه مشکوک ۶ بار تکرار گردید و در صورت منفی بودن پاسخ یک دوز بالاتر به عنوان حداقل دوز مثبت کننده مورد استفاده قرار گرفت.

۱-جستجوی مورفین در ادرار بلانک

به منظور بررسی واکنش احتمالی نمونه‌های کنترل با کیت‌های آزمایش، ۶ نمونه ادرار بلانک مربوط به افراد غیر معتاد با تست تشخیص اعتیاد به تریاک مجاورت داده شد.

۲- جستجوی مورفین در برون تن

غلظت های مختلف و کاهنده مورفین شامل ng/ml ۵۰۰ ،۵۰،۱۰،۱و µg/ml ۵۰۰،۵۰،۱۰،۱، و mg/ml ۱،۱۰ در ادرار بلانک تهیه گردید و با کیت تشخیص مجاور شد. هر مرحله آزمایش ۶ بار تکرار گردید و کمترین غلظتی که بطور پایدار موجب مثبت شدن پاسخ گردید شناسائی شد.

۳- جستجوی مورفین در برون تن در حضور اجزای مختلف قرص‌های HD

حداقل غلظت مثبت کننده کیت مورفین در حضور غلظت‌های فزاینده اتینیل استرادیول (ng/ml ۲۰۰، ۲۰، ۲ و µg/ml ۲۰۰، ۲۰، ۲ و mg/ml ۱)، لوونورژسترل (ng/ml ۱۰۰، ۱۰ وµg/ml ۱۰۰، ۱۰، ۱ و mg/ml ۵، ۱)، به طور توأم (نسبت لوونورژسترل/ اتینیل استرادیول = ۵ / ۱) و حامل (اتانول، ۱ml) در ادرار بلانک با کیت تشخیص مجاور شد. هر مرحله آزمایش ۶ بار تکرار گردید.

۴- تعیین حداکثر رقت نمونه ادرار فرد معتاد که موجب مثبت شدن پاسخ کیت گردید

نمونه‌های ادراری تهیه شده از افراد معتاد به نسبتهای ۱/۱، ۱/۱۰، ۱/۱۰۰، ۱/۱۰۰۰، ۱/۲۵۰۰، ۱/۵۰۰۰، ۱/۱۰۰۰۰، و۱/۲۰۰۰۰ توسط نرمال سالین رقیق گردید. سپس با کیت تشخیص مورفین مجاور شده و حداکثر رقت ادراری که در آن کلیه پاسخ‌ها مثبت بود تعیین گردید. هر مرحله آزمایش ۶ بار تکرار شد.

۵- جستجوی مورفین در حداکثر رقت ادرار فرد معتاد در حضور اجزای مختلف قرص‌های HD

بیشترین غلظت مورد آزمایش اتینیل استرادیول (mg/ml ۱)، لوونورژسترل (۵ mg/ml)، اتینیل استرادیول + لوونورژسترل (۵ mg/ml +۱) و حامل (اتانول ،۱ ml) در حداکثر رقت ادراری مثبت کننده کیت (در مرحله قبل) تهیه گردید و با کیت تشخیص مورفین مجاور شد. هر آزمایش ۶ بار تکرار گردید.

۱-بررسی تداخل اجزای مختلف قرص‌های HD با دوز منفرد مورفین در درون تن

به ۷ گروه ۶ تائی از موش‌های صحرائی نر ویستار دوزهای ۰/۱۲۵ mg/kg و ۱ اتینیل استرادیول، ۰/۶۲۵ mg/kg و ۵ لوونورژسترل، و توأم (۰/۶۲۵ mg/kg + ۰/۱۲۵ و۵ mg/kg + ۱)، همچنین حامل (اتانول۱ ml/kg) از راه خوراکی تجویز گردید. سپس کمترین دوز منفرد مثبت کننده نمونه‌های ادراری مورفین (۰/۰۱ mg/kg) به حیوان تزریق گردید و نمونه‌های ادراری جمع آوری شده در فواصل زمانی پیش گفت مورد ارزیابی توسط کیت قرار گرفت.

۲-بررسی تداخل اجزای مختلف قرص‌های HD با مورفین در حیوان وابسته به مورفین

به ۷ گروه ۶ تائی از موش‌های صحرائی نر ویستار وابسته به مورفین (طبق روش پیش گفت) دوزهای ۰/۱۲۵ mg/kg و ۱ اتینیل استرادیول، ۰/۶۲۵ mg/kg و ۵ لوونورژسترل، و توأم (۰/۶۲۵ mg/kg + ۰/۱۲۵ و ۵ mg/kg + ۱)، همچنین حامل (اتانول ۱ ml/kg) از راه خوراکی تجویز گردید و نمونه‌های ادراری جمع آوری شده در فواصل زمانی منتخب مورد ارزیابی توسط کیت قرار گرفت.

۳- بررسی تداخل متابولیت‌های ادراری اجزای قرص‌های HD با حداقل غلظت مثبت کننده مورفین

به ۴ گروه از موشهای صحرائی نر ویستار بالاترین دوز مورد آزمایش اتینیل استرادیول (۱ mg/kg)، لوونورژسترل (۵ mg/kg)، و توأم (۵ mg/kg +۱) همچنین حامل (اتانول ۱ ml/kg) به طور خوراکی تجویز گردید. نمونه‌های ادراری مثل قبل در زمان‌های مقرر جمع آوری شده و حداقل غلظت ادراری مورفین (۵۰۰ ng/ml) مثبت کننده کیت در آن تهیه گردید. در پایان نمونه‌های ادراری در مجاورت کیت مورد بررسی قرار گرفت.

۴-بررسی تداخل متابولیت‌های ادراری اجزای قرص‌های HD با حداکثر رقت ادراری فرد معتاد مثبت کننده کیت

به ۴ گروه از موشهای صحرائی نر ویستار بالاترین دوز مورد آزمایش اتینیل استرادیول (۱ mg/kg)، لوونورژسترل (mg/kg ۵)، و توأم (۵ mg/kg+۱) همچنین حامل (اتانول ۱ ml/kg) به طور خوراکی تجویز گردید. نمونه‌های ادراری مثل قبل در زمان‌های مقرر جمع آوری شده و ۵ میلی لیتر از آن به ۵ میلی لیتر نمونه ادراری فرد معتاد اضافه گردید به طوریکه رقت نهائی , معادل حداکثر رقت قابل ردیابی (۱/۲۵۰۰) برای کیت تشخیص باشد. در پایان نمونه‌های ادراری در مجاورت کیت مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها

ادرار بلانک (نمونه‌های ادراری افراد غیر معتاد) در هیچ موردی با تست تشخیص ادراری مورفین واکنش مثبت نشان نداد (زیر نویس جدول ۱).

حداقل غلظت قابل شناسائی مورفین در ادرار بلانک (پس از افزودن مورفین) ۵۰۰ ng/ml بود که در ۶ بار تکرار آزمایش همیشه مثبت بود. در غلظت ۱۰۰ ng/ml تعدادی از پاسخ‌ها مشکوک بود و در غلظت ۲۰ ng/ml پاسخ‌ها تماماً منفی بود.

همچنین نتایج نشان داد که هیچ یک از اجزای قرص‌های HD شامل اتینیل استرادیول، لوونورژسترل، و هر دو (با نسبت ۵ به ۱، مشابه قرص‌ها) در محدوده غلظت‌های بکار رفته، همچنین حامل اتانول در ردیابی مورفین توسط کیت حتی با

کمترین غلظت ادراری آن (۵۰۰ ng/ml) تداخل ندارند.

در استفاده از ادرار افراد معتاد نتایج نشان داد که در رقت ۱/۵۰۰۰ پاسخ کیت در یک داوطلب منفی و در ۴ داوطلب با تکرار پذیری مختلف مثبت می‌شود. در رقت ۱/۱۰,۰۰۰ پاسخ کیت فقط در یک داوطلب مثبت بود و در رقت ۱/۲۰,۰۰۰ تمام پاسخ‌ها منفی بود. لذا رقت ۱/۲۵۰۰ بعنوان بیشترین رقت نمونه‌های ادراری با پاسخ تماماً مثبت انتخاب گردید (جدول ۱).

در همین راستا بیشترین غلظت اتینیل استرادیول (۱ mg/ml)، لوونورژسترل (۵ mg/ml)، و به طور توأم (۵ mg/ml + ۱) همچنین حامل اتانول نتوانست در محیط حداکثر رقت ادراری مورفین (۱/۲۵۰۰) تداخلی ایجاد کند و در ۶ بار تکرار آزمایش پاسخ‌ها مثبت بود.

نتایج حاصل از تجویز دوزهای کم و زیاد اتینیل استرادیول (۱mg/kg و ۰/۱۲۵)، لوونورژسترل (۵ mg/kg و ۰/۶۲۵)، اتینیل استرادیول + لوونورژسترل (۰/۶۲۵ mg/kg + ۰/۱۲۵ و ۵ mg/kg + ۱)، و اتانول (۱ml/kg) به حیوان دریافت کننده حداقل دوز منفرد مثبت کننده نمونه ادراری مورفین (۰/۰۱ mg/kg) نشان داد که هیچ تداخلی بین این داروها با تست ادراری مورفین وجود ندارد و در همه نمونه‌های ادراری در ساعات مختلف پاسخ‌ها مثبت بود (جدول ۲). نتایج مشابهی در گروه حیوانات وابسته به مورفین بدست آمد (جدول ۲).

در مرحله بعدی تداخل احتمالی متابولیت‌های ادراری اجزای قرص‌های HD با ردیابی مورفین در حضور حداقل غلظت قابل ردیابی مورفین (۵۰۰ ng/ml) بررسی گردید که نتایج در همه حال مثبت بود و حکایت از عدم وجود چنین تداخلی داشت (جدول ۳).

در خصوص تداخل نمونه های ادراری جمع آوری شده از حیوان دریافت کننده دوزهای بالای اتینیل استرادیول و لوونورژسترل به تنهائی و به طور توأم و حامل اتانول با حداکثر رقت ادراری نمونه های انسانی (۱/۲۵۰۰) نیز در هیچ حالت تداخلی مشاهده نشد. نتایج حاصل از ۶ بار تکرار آزمایش در جدول ۳ نشان داده شده است.

بحث

با مراجعه به منابع و متون مختلف گزارشی از تداخل معتبر و قابل استنادی در درون تن یا برون تن بین اجزای هورمونی قرص‌های HD و مورفین بجز یک مورد یافت نشد. در این مورد گزارش گردیده که اتینیل استرادیول توانائی افزایش متابولیسم مورفین را در انسان بدون افزایش در جریان خون کبدی دارد [۵]. در این تداخل ادعا شده است که کلیرانس مورفین در حضور قرص‌های ضدبارداری ترکیبی پس از تزریق داخل وریدی به میزان ۷۵٪ و پس از مصرف از راه خوراکی به میزان ۱۲۰٪ افزایش یافته است. افزایش احتمالی فعالیت آنزیم گلوکورونیل ترانسفراز بعنوان علت احتمالی این تداخل بیان شده است. با این وجود آزمایشات ما به خوبی حاکی از عدم کارائی این تداخل در منفی کردن تست تشخیصی مورفین در موش صحرائی بود.

اولین فرضیه‌ای که در این تحقیق مورد بررسی قرار گرفت امکان تداخل اجزای مختلف قرص‌های HD با تست تشخیص

جدول ۱– نتایج پاسخ مثبت نمونه‌های ادراری رقیق شده افراد معتاد (۶ داوطلب) با نسبت‌های مختلف در ۶ بار تکرار آزمایش

نسبت رقت / داوطلب	۱/۱	۱/۱۰	۱/۱۰۰	۱/۱۰۰۰	۱/۲۵۰۰	۱/۵,۰۰۰	۱/۱۰,۰۰۰	۱/۲۰,۰۰۰
۱	۶/۶	۶/۶	۶/۶	۶/۶	۶/۶	۶/۶	۳/۶	۰/۶
۲	۶/۶	۶/۶	۶/۶	۶/۶	۶/۶	۰/۶	۰/۶	۰/۶
۳	۶/۶	۶/۶	۶/۶	۶/۶	۶/۶	۴/۶	۰/۶	۰/۶
۴	۶/۶	۶/۶	۶/۶	۶/۶	۶/۶	۳/۶	۰/۶	۰/۶
۵	۶/۶	۶/۶	۶/۶	۶/۶	۶/۶	۶/۶	۶/۶	۰/۶
۶	۶/۶	۶/۶	۶/۶	۶/۶	۶/۶	۴/۶	۳/۶	۰/۶

نمونه‌های ادرار بلانک (تهیه شده از افراد غیر معتاد) فاقد هر گونه واکنش مثبت با کیت تشخیص مورفین بودند.

جدول۲- تعداد موارد پاسخ مثبت حاصل از تجویز دوزهای خوراکی اتینیل استرادیول (۱mg/kg و ۰/۱۲۵)، لوونورژسترل (۵ mg/kg و ۰/۶۲۵)، اتینیل استرادیول + لوونورژسترل (۰/۶۲۵ mg/kg + ۰/۱۲۵ و ۵ mg/kg + ۱) و حامل (اتانول ۱ml/kg) به حیوان دریافت کننده دوز منفرد مورفین (SD) (۰/۰۱ mg/kg) (n=۶)، و یا حیوان وابسته به مورفین (MD) (n=۶).

زمان نمونه گیری (h) / درمان (mg/kg)	۳-۶ SD / MD	۱۲-۱۵ SD / MD	۲۱-۲۴ SD / MD
EE (۰/۱۲۵)	۶/۶	۶/۶	۶/۶
EE (۱)	۶/۶	۶/۶	۶/۶
LN (۰/۶۲۵)	۶/۶	۶/۶	۶/۶
LN (۵)	۶/۶	۶/۶	۶/۶
EE+LN (۰/۱۲۵ +۰/۶۲۵)	۶/۶	۶/۶	۶/۶
EE+LN (۱ +۵)	۶/۶	۶/۶	۶/۶
Ethanol (۱ ml/kg)	۶/۶	۶/۶	۶/۶

EE: اتینیل استرادیول، LN: لوونورژسترل، SD: دوز منفرد، MD: وابسته به مورفین.

مورفین بود که نتایج حاصله نشان داد چنین تداخلی در شرایط برون تن وجود ندارد. استفاده از محدوده وسیعی از غلظت‌های اجزای قرص‌های HD به طور منفرد و توأم نیز حاکی از عدم وجود این تداخل حتی با کمترین غلظت قابل تشخیص مورفین بود. در گام بعدی امکان تداخل متابولیت‌های مورفین که در ادرار ترشح می‌شوند با اجزای قرص‌های ضد بارداری در غلظت‌های حداکثر مورد بررسی قرار گرفت. مورفین ۳- گلوکورونید، مورفین ۶- گلوکورونید، و مورفین ۳ و ۶- گلوکورونید مهمترین متابولیت‌های مترشحه ادراری هستند که عمدتاً در ۲۴ ساعت اول پس از مصرف مورفین از راه ادرار دفع می‌شوند [۸]. میزان دفع ادراری مورفین آزاد (غیر کنژوگه) در ادرار بسیار اندک و چیزی کمتر از ۵ درصد می‌باشد. با توجه به اینکه احتمال تداخل بین محتویات قرص‌های HD با تست تشخیصی ممکن است ناشی از تداخل آنها با این متابولیت‌ها باشد تصمیم گرفته شد تا غلظت‌های بالای اجزاء هورمونی قرص‌های HD در ادرار رقیق شده انسان مورد مطالعه قرار گیرد که نتایج همگی منفی بود و وجود چنین تداخلی را منتفی می‌دانست. در آزمایشات درون تن امکان تداخل متابولیک و کینتیک اجزای هورمونی قرص‌های HD با مورفین و این فرضیه که آیا بین متابولیت‌های اجزای هورمونی قرص‌های HD با متابولیتهای مورفین در ادرار تداخلی وجود دارد یا خیر مورد آزمایش قرار گرفت. برای این منظور ادرار جمع آوری شده از موش‌های صحرائی دریافت کننده اجزای هورمونی قرص‌های HD به طور مستقل و با هم در حضور کمترین دوز مثبت کننده نمونه ادراری مورفین با کیت مجاور گردید. پاسخ مثبت کیت‌های شناسائی همه بر عدم وجود چنین تداخلی تاکید می‌ورزید.

به منظور شبیه سازی بیشتر شرایط آزمایش با شرایط استفاده معتادان از این قرص‌ها و همچنین این احتمال که اعتیاد یا وابستگی به مورفین ممکن است در نوع و خواص متابولیت‌های مترشحه در ادرار تغییراتی ایجاد نماید [۸]، آزمایش درون تن برای موش‌های وابسته به مورفین نیز تکرار گردید که پاسخ‌های مثبت کیت‌ها احتمال هر گونه تداخل را منتفی دانست. در صورت وجود تداخل متابولیک یا کینتیک بین اجزای هورمونی قرص‌های ضد بارداری با اوپیوئیدها و از جمله مورفین میتوان انتظار داشت که مصرف این داروها در خانم‌های معتاد و یا در خانم‌های سالم در مراحل مختلف سیکل ماهیانه نشانه‌هائی از علائم قطع مصرف مورفین یا تفاوت در اثربخشی را به همراه داشته باشد. اختلاف اثر وابسته به جنس با اپیوئیدها و از جمله مورفین در انسان و حیوان موضوع تحقیق بسیاری از پژوهشگران بوده است. در بیشتر مطالعات حیوانی به اثر بخشی بیشتر این داروها در کنترل درد در جنس مذکر اشاره دارد [۲،۶] در حالیکه در مطالعات انسانی نتایج ضد و نقیض است و در بسیاری از آنها عوامل مخدوش کننده مثل دوز، راه تجویز، سن، مصرف توأم سایر داروها، تفاوت در شیوه ارزیابی اثر بخشی و اظهار آن در دو جنس مذکر و مونث به چشم میخورد [۱۱،۱۸]. اگرچه نقش هورمون‌های جنسی در بروز این اختلافات غیر قابل انکار است لیکن شواهدی دال بر اینکه مکانیسم این تداخل از

جدول۳- تعداد موارد پاسخ مثبت حاصل از تداخل متابولیت‌های ادراری اتینیل استرادیول (۱ mg/kg)، لوونورزسترل(۵ mg/kg)، استرادیول + لوونورژسترل (۵+ ۱ mg/kg)، و حامل (اتانول ۱ ml/kg) خوراکی با غلظت ۵۰۰ng/ml مورفین در نمونه‌های ادراری موش صحرائی (RU)(n=۶) و یا در حداکثر رقت ادراری فرد معتاد (AU) (n=۶).

درمان (میلی گرم/ کیلوگرم) / زمان نمونه گیری (ساعت)	۳-۶ AU / RU	۱۲-۱۵ AU / RU	۲۱-۲۴ AU / RU
EE (۱)	۶/۶	۶/۶	۶/۶
LN (۵)	۶/۶	۶/۶	۶/۶
EE+LN (۱ +۵)	۶/۶	۶/۶	۶/۶
Ethanol (۱ml/kg)	۶/۶	۶/۶	۶/۶

EE: اتینیل استرادیول،LN: لوونورژسترل،AU: ادرار فرد معتاد، RU: ادرار موش صحرائی

نوع کینتیک یا متابولیک باشد در دسترس نیست.

از طرف دیگر نباید از نظر دور داشت که بخشی از متابولیسم مورفین که به تولید متابولیت‌های کنژوگه مورفین گلوکورونید می‌انجامد نمی‌تواند برای تست تشخیص ادراری غیر قابل شناسائی باشد [۱۶]. لذا حتی در صورت وجود چنین تداخلی امکان استفاده از آن توسط معتادان برای این منظور وجود ندارد.

متاسفانه چون امکان بررسی تداخلات متابولیکی مورفین با قرص‌های ضد بارداری HD در انسان بدلیل وجود مشکلات قانونی و اخلاقی وجود نداشت از مدل موش صحرائی استفاده گردید که گرچه در برخی واکنش‌ها و الگوهای متابولیکی با انسان تفاوت دارد لیکن در مسیرهای متابولیک مشابه مانند متابولیسم اوپیوئیدها از ظرفیت متابولیکی زیادی برخوردار است و حصول پاسخ منفی در این سری آزمایشات به وضوح از عدم وجود تداخل موثر و قابل استناد در انسان خبر می‌دهد [۳].

بدیهی است عوامل متعددی چون مصرف تفننی مواد مخدر، فاصله زمانی طولانی بین مصرف مواد و زمان انجام آزمایش، مصرف مواد مخدر غیر اوپیوئیدی، مخدوش بودن نمونه‌های ادراری از طریق رقیق کردن آن یا افزودن مواد تقلبی، خطاهای انسانی یا تجهیزاتی میتوانند در ایجاد پاسخ‌های منفی کاذب دخیل باشند [۱۳,۱۵] و بعید نیست که این موارد به حساب اثر بخشی اقدامات یا شیوه هائی مانند نمونه مورد تحقیق حاضر گذارده شود که به سرعت در بین این قشر از جامعه رواج می‌یابد. این در حالیست که بررسی متون و مراجع محدود در این زمینه حاکی از بومی بودن این شیوه در کشور ما و فقدان دلایل متقنی مبنی بر کارائی آن می‌باشد [۱,۱۰,۱۳,۱۵]. ضعف سیستم‌های نظارتی بر عملکرد و شیوه‌های رفتاری و جامعه شناختی افراد معتاد، فقر فرهنگی و اقتصادی بخش قابل توجهی از این قشر، ضعف سیستم‌های اطلاع رسانی از طریق رسانه‌های عمومی و مراکز بهداشتی، درمانی و داروئی از دیگر عواملی است که موجبات شیوع و گسترش شیوه‌ها و عادات غیر علمی و غیر بهداشتی در بین معتادان می‌گردد که متعاقبا امکان سودجویی را برای سودجویان فراهم میکند. امید است در آینده با رفع موانع موجود و ریشه کنی اعتیاد و درمان معتادان و به کارگیری بیشتر دانش و تحقیقات دانشگاهی در راستای رفع نیازهای جامعه شاهد استفاده از این شیوه‌های درمانی در بین افراد جامعه و بویژه معتادان نباشیم.

تشکر و قدردانی

این طرح با شماره ۸۲۳۷۱ در دفتر حوزه معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان ثبت گردیده است. بدینوسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان که هزینه‌های اجرای این طرح را تأمین نمودند تشکر و قدردانی میگردد.

منابع

[1] Alemi A, Naraghi MM, The iceberg of opium addiction and epidemiological services of opium addiction in rural community. ***Drug Alcohol Depend*** 3 (1978) 107-112.

[2] Ali B, Sharif S, Elkadi A, Sex differences and the effect of gonadectomy on morphine-induced antinociception and dependence in rats and mice. ***Clin Exp Pharmacol***

22 (1997) 939-944.

[3] Alvares AP, Pratt WB, Pathways of drug metabolism. In: Pratt WB, Taylor P, editors, ***Principles of Drug Action***. 3rd ed. London: Churchill Livingston Companies,1990, p. 410-413.

[4] Baden LR, Horawitz G, Jacoby H, Elipoulos GM, Quinolones and false-positive screening for opiates by immunoassay technology. ***JAMA*** 286 (2001) 3115-3119.

[5] Breen KJ, Desmond PV, The oral contraceptive pill increases morphine clearance but does not increase hepatic blood flow. ***Gastroenterology*** 90 (1986) 1779.

[6] Cicero TJ, Nock B, Meyer ER, Gender related differences in the antinociceptive properties of morphine. ***J Pharmacol Exp Ther*** 279 (1996) 767-773.

[7] Cone EJ, Lange R, Darwin WD, In vivo adulteration: Excess fluid ingestion causes false negative marijuana and cocaine urine test results. ***J Anal Toxicol*** 22 (1998) 460-473

[8] Gutstein HB, Akil H, Opioid analgesics. In: Hardman JG, Limbird LE, Gilman AG, editors. ***Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics***. Tenth ed. New York: McGraw Hill Company, 2001, p. 589, 1985.

[9] Hajhashemi V, Rabbani M, Asghari GHR, Karami-Saravi Z, Effects of *Otostegia persica* (Burm.) Boiss on morphine withdrawal syndrome in mice. ***Iran J Pharmaceut Res*** 3 (2004) 171-175.

[10] Jaffee WB, Trucco E, Levy Sh, Weiss RD, Is this urine really negative? A systemic review of tampering methods in urine drug screening and testing. ***J Subs Abuse Treat*** (2007) In press.

[11] Kest B, Sarton E, Dahan A, Gender differences in opioids-mediated analgesia, ***Anesthesiology*** 93 (2000) 539-547.

[12] Mikkelsen SL, Ash KO, Adulterants causing false negatives in illicit drug testing. ***Clin Chem*** 34 (1988) 2333- 2336.

[13] Mokri A, Brief overview of the status of drug abuse in Iran. ***Arch Iran Med*** 5 (2002) 184-190.

[14] O'Connor E, Oscheimer D, Limitations of forensic urine drug testing in methodology and by adulteration. ***AACC TDM/Tox*** 14 (1993) 277-288

[15] Rajabzadeh GH, Ramezani MA, Shakibi MR, Prevalence of opium addiction in Iranian drivers 2001-2003. ***J Med Sci*** 4 (2004) 210-213.

[16] Schumacher MA, Basbaum AL, Way WL, Opioid analgesics and antagonists. In: Katzung BG, editor. ***Basic and Clinical pharmacology***, Ninth ed. New York: McGraw Hill Companies, 2004, p. 499-500.

[17] Tietz NW, ***Text Book of Clinical Chemistry***. Sixth ed. New York: W.B. Saunders Company, 1986, p. 1735.

[18] Unrah AM, Gender variations in clinical pain experience. ***Pain*** 65 (1996) 123-167.

[19] U.S. dept. of health and human services, Mandatory guidelines for federal workplace drug testing programs: Notice of proposed revision. ***Fed Reg*** 66 (2001) 43876-43882

[20] Wong R, The effect of adulterants on urine screen for drugs of abuse: Detection by an on-site dipstick device. ***Am Clin Lab*** 4 (2002) 37-39.

[21] Wu AHB, Integrity of urine specimens submitted for toxicological analysis: adulteration, mechanisms of action, and laboratory detection. ***Forensic Sci Rev*** 10 (1998) 47-65