

اثرات تراژونیک ویتامین A بر شکل گیری لوله عصبی در جنین موش

دکتر نورالله رضائی^(۱) - دکتر مهدی جلالی^(۲) - دکتر محمدرضا نیکروش^(۳) - دکتر علیرضا فاضل^(۴)

خلاصه:

در این تحقیق تاثیر آمپول ویتامین A (رتینول) بر شکل گیری لوله عصبی در جنین موش سوری جهت تعیین حساسترین زمان شکل گیری آن و حداقل دوز تراژونیک این ماده در ایجاد تجربی نقائص لوله عصبی مورد بررسی قرار گرفت. پس از مشاهده پلاک واژن (روز صفر حاملگی) موشهای حامله به دو گروه کنترل و تجربی تقسیم شدند و نیز موشهای گروه تجربی به سه گروه الف و ب و ج تقسیم و آمپول ویتامین A به ترتیب با دوزهای $1 \times 15000 \text{ IU}$, $2 \times 10000 \text{ IU}$, $2 \times 15000 \text{ IU}$ به ترتیب در ساعتهای ۸، ۸ و ۱۴ و ۱۴ و ۸ و ۱۴ روزهای ۷ الی ۱۰ بارداری با سرنگ انسولین بصورت داخل صفاقی تزریق شد. جنین ها در روز ۱۷ بارداری از رحم مادر تخلیه و از نظر ماکروسکوپی و میکروسکوپی با جنین های کنترل مورد بررسی قرار گرفتند. در جنین های گروه کنترل و گروه تجربی الف ناهنجاری ظاهری مشاهده نشده است. اما در جنین های گروههای تجربی ب و ج ناهنجاری لوله عصبی مشاهده گردید. در گروههای ب و ج بیشترین ناهنجاری لوله عصبی در جنین های مربوط به روز هشتم بارداری به ترتیب ۹/۶٪ و ۹/۷٪ مشاهده گردید. بنابراین حساسترین زمان شکل گیری لوله عصبی جنین موش روز هشتم بارداری (تقریباً برابر با روز ۲۲ رویانی در انسان) می باشد که عوامل تراژونیک معین ممکن است در تکامل طبیعی آن مداخله کنند. همچنین حداقل دوز تراژونیک آمپول ویتامین A جهت ایجاد نقص تجربی در لوله عصبی $2 \times 10000 \text{ IU}$ می باشد که در ساعت های ۸ و ۱۴ روز هشتم بارداری تزریق شده است. این اثر ممکن است مربوط به افزایش مرگ سلولی در محل هایی که مرگ فیزیولوژیکی سلول در بافتهای رویانی روی می دهد باشد. بعلاوه آمپول ویتامین A سبب افزایش میزان مرگ و میر در جنین ها، کاهش طول سری - دم جنین ها و ناهنجاریهای مرفولوژیک دیگر شده است.

کلید واژه ها: جنین / نقص های لوله عصبی / ویتامین A

مقدمه:

حفظ اپیتلیوم تخصصی بویژه اپی تلیوم ترشح کننده موکوس، افزایش ایمنی در مقابل عفونت بویژه در کودکان آنتی اکسیدان نقش اساسی ایفا می کنند (۴، ۶، ۱۳).

ویتامین A (رتینول) یکی از ویتامین های محلول در چربی است که در تشکیل پیگمانهای بینایی، رشد، تولید مثل و مهاجرت سلولی، شروع تمایز سلولی در مراحل اولیه تکامل،

۱- استادیار گروه آناتومی - دانشکده پزشکی - دانشگاه علوم پزشکی ساری

۲ و ۳ - استادیار گروه آناتومی - دانشکده پزشکی - دانشگاه علوم پزشکی مشهد

۴ - دانشیار گروه آناتومی - دانشکده پزشکی - دانشگاه علوم پزشکی مشهد

سیکل تاریکی و روشنایی (هر یک ۱۲ ساعت) بطور خودکار توسط دستگاه مرکزی کنترل شد. شب حیوان نر در قفس ماده ها قرار داده شد و صبح پس از کنترل و مشاهده پلاک واژن آن روز به عنوان روز صفر حاملگی تعیین گردید سپس این حیوانات با ثبت مشخصاتشان در قفس جداگانه نگهداری شدند.

مواد: آمپول ویتامین A ($5000 \text{ I.U.} = 1 \text{ ml}$) ساخت WEIMER PHARMA آلمان از داروخانه ۲۲ بهمن مشهد تهیه و با سرنگ انسولین به صورت داخل صفاقی تزریق گردید.

موشهای بارداری به دو گروه تجربی و کنترل تقسیم شدند تعداد حیوانات گروه کنترل ۶ راس و گروههای تجربی ۵۲ راس بوده است. موشهای تجربی جهت تعیین زمان حساس و حداقل دوز تراژونیک این ماده بر روی لوله عصبی در حال تشکیل به سه گروه تجربی الف، ب، ج، تقسیم شدند و در روزهای ۱۰-۷ بارداری دوزهای متفاوتی از آمپول ویتامین A به شرح ذیل به هر گروه تزریق شد.

گروه الف - یک دوز ویتامین A ($1 \times 15000 \text{ I.U.}$) در ساعت ۸ صبح روزهای هشتم و نهم بارداری تزریق شد.

گروه ب - دو دوز ویتامین A ($2 \times 10000 \text{ I.U.}$) در ساعت ۸ صبح و ۱۴ عصر روزهای ۱۰-۷ تزریق شد.

گروه ج - دو دوز ویتامین A ($2 \times 15000 \text{ I.U.}$) در ساعت ۸ صبح و ۱۴ عصر روزهای ۱۰-۷ تزریق شد.

در روز هفدهم بارداری موشهای بارداری هر دو گروه تجربی و کنترل را در آزمایشگاه جنین شناسی و هیستوشیمی دانشکده پزشکی مشهد پس از فراهم کردن مقدمات کار با اتر و فشردن ناحیه گردنی (cervical dislocation) کشته و با باز نمودن جدار شکم جنین ها را همراه با رحم خارج و وارد ظرف پتری محتوی سرم فیزیولوژی نمودیم.

سپس با قیچی و پنس ظریف رحم را با دقت شکافته و جنین ها را خارج کردیم و تعداد جنین های زنده، تعداد جنین های جذب شده و مشخصات هر حیوان ثبت شد و همزمان با استفاده از میکروسکوپ استرئوژنیک ها از نظر مالفورماسیون

تحقیقات نشان می دهد ویتامین A و مشتقات آن مثل اسید رتینوئیک به عنوان مولکول سیگنال و مرفوزن طبیعی بر روی تکامل بخشهای مختلف جنین از جمله چشم، گوش، قلب، سیستم اسکلتی، اپی تلیوم و سیستم عصبی و اندام ها اثرات وسیعی دارد (۲، ۶، ۱۱، ۱۴، ۲۲) این ماده از جفت عبور میکند (۱۰) و چنانچه در مادران باردار به صورت مکمل ویتامینی یا مواد غذایی غنی از این ویتامین و یا در درمان بعضی از بیماریها به مقدار زیاد استفاده بشود احتمالاً در زمانهای بحرانی حاملگی دارای اثرات تراژونیک متفاوت بر روی ارگانهای در حال تکامل جنینی می باشد (۷، ۱۲، ۱۹) لذا با توجه به نقش این ماده در تشکیل سیستم عصبی و حساسیت این سیستم در حین شکل گیری و مهاجرت و تمایز سلولهای آن به نظرمی رسد بررسی آن از اهمیت ویژه ای برخوردار باشد در این تحقیق برعکس تحقیقات قبلی که بیشتر از مشتقات ویتامین A استفاده شده است (۱۶، ۱۷، ۲۰). از آمپول ویتامین A استفاده شده است. ویژگی آن در این است که یک داروی رایج در داروخانه ها بوده و با همان غلظتی که در بیماران بکار میرود استفاده شده است. هدف از این تحقیق پی بردن به نقش احتمالی ناهنجاری ها در اثر تجویز آمپول ویتامین A علاوه بر آنچه که قبلاً در جنین مسلم شده است و تعیین حداقل دوز تراژونیک این ماده و نیز تعیین زمان حساس تاثیر آن بر روی لوله عصبی جنین موش است. نتایج این تحقیق شاید بتواند هشدار جدی باشد به تمام مادران تا از ازدیاد مصرف ویتامین A در دوران بارداری مخصوصاً در زمانهای بحرانی رویانی خودداری کنند.

مواد و روشها:

حیوان آزمایشگاهی: برای تحقیق از مرکز پرورش و تکثیر و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی بیمارستان قائم مشهد موشهای سفید سوری (نژاد balb/c) به وزن متوسط ۳۰ گرم انتخاب و به نسبت یک نر با سه ماده در یک قفس قرار داده شدند درجه حرارت اطاق حدود ۲۰ درجه سانتیگراد و

محلول حاصل تا ۴۰ درجه سانتیگراد گرم و همزمان با ماگنت به مدت ۵ ساعت هم زده شد و سپس سه بار با کاغذ صافی صاف شد. مقاطع تهیه شده جهت این رنگ آمیزی بعد از آب مقطر به مدت ۶۰-۳۰ ثانیه در این محلول قرار داده شدند و پس از شستشو با آب جاری و آبگیری و شفاف کردن آماده شد در این رنگ آمیزی سلولهای عصبی نسبت به سلولهای مزانشیمی اطراف رنگ را بیشتر بخود میگیرند (۳).

نتایج:

الف - اثرات تزریق یک دوز آمپول ویتامین A (I.U) ۱۵۰۰۰ (۱×۱۵۰۰۰) در روزهای هشتم و نهم بارداری: میانگین طول سری - دمی جنین های گروه تجربی اندکی کمتر از جنین های گروه کنترل بوده است. میانگین وزن جنین های گروه تجربی در مقایسه با گروه کنترل بطور معنی دار کاهش یافته است. بطوریکه میانگین وزن جنین های مربوط به روز هشتم بارداری ۰/۲۶ گرم کمتر از میانگین وزن گروه کنترل بوده است. بیشترین میزان جذب در مقایسه با گروه کنترل افزایش داشته است. بیشترین میزان جذب در جنین هایی است که در روز هشتم بارداری در معرض یک دوز ویتامین A قرار گرفتند (جدول ۱)

جدول ۱ - وضعیت موش های حامله ای که در روزهای ۸ و ۹ بارداری یک دوز ویتامین A (I.U) ۱۵۰۰۰ (۱×۱۵۰۰۰) در ساعت ۸ صبح دریافت کرده اند

روز تزریق ویتامین A در گروه تجربی	تعداد کل جنین	تعداد جنین های جذب شده (%)	طول C.R (cm) ۱ M ± S.D	وزن جنین ها (gr) ۲ M ± S.D	ناهنجاری لوله عصبی
۸	۳۴	۳ (۸/۸)	۰/۹۸ ± ۰/۰۶	۰/۱۵ ± ۰/۰۸	دیده نشد
۹	۳۳	۲ (۶)	۰/۲ ± ۰/۰۹	۰/۲۳ ± ۰/۰۵	دیده نشد
گروه کنترل	۵۱	۳ (۵/۸)	۰/۲۰ ± ۰/۰۶	۰/۴۱ ± ۰/۰۹	دیده نشد

۱ - میانگین و انحراف معیار طول سری - دمی جنین ها ($P < ۰/۰۱$) (**)

۲ - میانگین و انحراف معیار وزن جنین ها ($P < ۰/۰۰۱$) (**)

آن شدیم هم روزهای تزریق و هم دوز دارو را افزایش بدهیم.
ب: اثرات تزریق دو دوز آمپول ویتامین A (I.U) ۱۰۰۰۰ (۲×۱۰۰۰۰) در روزهای ۱۰-۷ بارداری: میانگین طول سری - دمی و میانگین وزن در این گروه در

ظاهری مورد بررسی قرار گرفته و نتایج ثبت گردید.
ثابت کننده (فیکسسیون): فرمالین سالین ده درصد (فرمالدوئید ۴۰-۳۷ درصد ۱۰ سی سی + نرمال سالین ۹۰ سی سی) جنین ها به مدت ۵ روز در فیکسسیون قرار داده شدند پس از فیکس شدن مجدداً تحت بررسی دقیق با میکروسکوپ استرئو قرار گرفتند. همزمان بررسی های دیگری از قبیل اندازه گیری وزن جنین ها با ترازو آزمایشگاه (با دقت صدم گرم) و طول سری - دمی با کولیس کوچک در هر دو گروه کنترل و تجربی انجام شد. در این تحقیق جهت بررسی تفاوت بین دو گروه از روش آماری T-test استفاده شده است.

رنگ آمیزی: هماتوکسیلین - ائوزین و تولوئیدین بلو ۱. جهت بررسی مقاطع میکروسکوپی شکل ظاهری نخاع و ستون مهره ای جنین های ۱۷ روزه گروه های تجربی و کنترل از این دو رنگ آمیزی استفاده شده است. پس از طی مراحل آماده نمودن نمونه ها به روش معمولی و قالب گیری آنها بصورت عرضی مقاطعی با ضخامت ۵-۴ میکرون تهیه و رنگ آمیزی شد و بررسی میکروسکوپی به عمل آمد. برای رنگ آمیزی تولوئیدین بلو ابتدا تولوئیدین بلو ۱ با آب مقطر تهیه شد در مرحله بعد برای جلوگیری از رسوب

در این گروه از جنین ها در مقایسه با گروه کنترل مالفورماسیون ظاهری با استفاده از میکروسکوپ استرئو مشاهده نشده است. با توجه به اینکه با این دوز در این گروه تغییرات خاصی در سیستم عصبی مشاهده نگردیده بود بر

هماتوکسیلین وائوزین و تولوئیدین بلورنگ آمیزی شده است چنانچه درمقطع میکروسکوپی جنین ۱۷ روزه موش گروه کنترل ملاحظه می شود نخاع سالم است و تیغه های مهرهای در قسمت خلفی - میانی به هم رسیده و جوش خورده اند. و زائده شوکی تشکیل شده و توسط پوست و عضلات پوشیده شده است (عکس ۲).



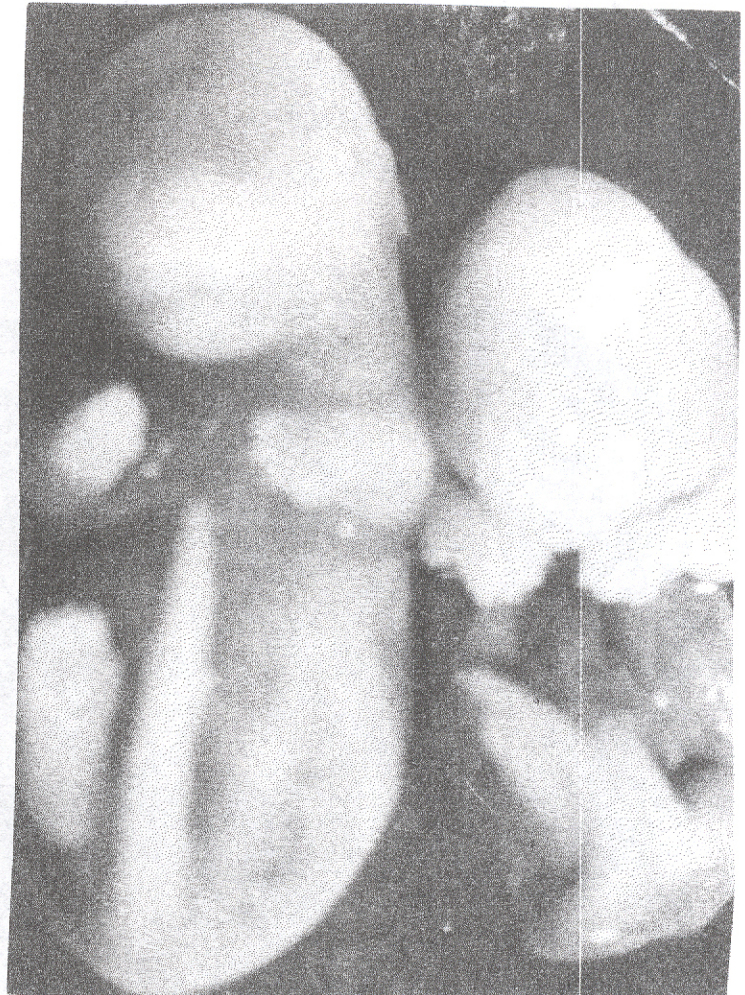
عکس-۲: مقطع عرضی در سطح قسمت فوقانی ناحیه سینه ای، جنین موش کنترل، روز ۱۷، رنگ آمیزی تولوئیدین

در بررسی مقطع میکروسکوپی جنین ۱۷ روزه تجربی در مقایسه با کنترل نخاع سالم است اما تیغه های مهره ای کامل تشکیل نشده است بطوریکه قسمت خارجی تیغه ها تشکیل شده شد ولی بخش داخلی تیغه ها و زائده شوکی تشکیل نشده است. بلکه بافت لیفی جایگزین آن شده است (X). این بافت لیفی از سطح فقط توسط پوست پوشیده شده است و ما بین پوست و بافت لیفی در مقایسه با گروه کنترل عضلات ملاحظه نمی شود (۳).

ج: اثرات تزریق دو دوز آمپول ویتامین A ($2 \times 15000 \text{ IU}$) در روزهای ۱۰-۷ بارداری:

در این گروه در مقایسه با گروه کنترل میانگین طول سری - دمی

مقایسه با گروه کنترل تفاوت معنی داری را نشان می دهد وزن جنین هایی که مادر در طی روز هفتم بارداری دارو دریافت کرده بسیار کمتر است (عکس ۱)



عکس-۱: جنین موش روز ۱۷، کنترل (سمت چپ) تجربی (سمت راست)

میزان جذب در مقایسه با گروه کنترل افزایش یافته است بیشترین جذب در جنین هایی است مادر در طی روز هفتم بارداری دو دوز ویتامین A دریافت کرده است. ناهنجاری ستون مهره ای و لوله عصبی در جنین های این گروه مشاهده شد و بیشتر مربوط به جنین هایی است که مادر در طی روز هشتم بارداری دو دوز دارو دریافت داشته است این ناهنجاری در ناحیه سری لوله عصبی و نیز در قسمت فوقانی ستون مهره ای پشتی قرار دارد.

همچنین از تعدادی از جنین های ۱۷ روزه این گروه تجربی و کنترل پس از فیکس و قالب گیری مقاطع سریال تهیه و با

جذب نیز با افزایش دوز ویتامین A در مقایسه با گروههای تجربی الف و ب افزایش یافته است. ناهنجاری ستون مهره ای همراه با بسته نشدن لوله عصبی در مقایسه با گروه کنترل و گروههای تجربی الف و ب در جنین های این گروه افزایش یافته است که در جنین های مربوط به روز هشتم بارداری بیشتر مشاهده گردید این ناهنجاری در قسمت فوقانی ستون مهره ای سینه ای و نیز در قسمت سری لوله عصبی می باشد (جدول ۲).

و میانگین وزن کاهش معنی داری را نشان میدهد بنابراین تمام جنین های این گروه تجربی طول سری - دمی و وزن بسیار کمتری نسبت به گروه کنترل و گروههای تجربی الف و ب داشته اند و با افزایش دوز دارو کاهش طول سری - دمی و کاهش وزن جنین ها کاملاً مشهود است. میزان جذب در جنین های این گروه در مقایسه با کنترل افزایش یافته است. بیشترین جذب در جنین هایی بوده است که در روز هفتم بارداری در معرض این دوز از دارو قرار گرفته اند. و میزان



عکس ۳: مقطع عرضی در سطح قسمت فوقانی ناحیه ای سینه ای، جنین موش تجربی، روز ۷ بارداری آمیزی تولوئیدین

جدول ۲- وضعیت موش های حامله ای که در روزهای ۱۰-۷ بارداری دوز ویتامین A (۲X۱۵۰۰ I.U) در ساعت های ۸ و ۱۴ صبح دریافت کرده اند

روز تزریق ویتامین A در گروه تجربی	تعداد کل جنین	تعداد جنین های جذب شده (%)	طول C.R (cm) ۱ M±S.D	وزن جنین ها (gr) ۲ M±S.D	ناهنجاری لوله عصبی
۷	۴۹	۸(۱۶/۳)	**۱/۸۰±۰/۰۸	*۰/۹۵±۰/۱۱	یک مورد
۸	۴۸	۷(۱۴/۵)	**۱/۸۱±۰/۰۹	*۰/۹۹±۰/۱۲	چهار مورد
۹	۵۲	۴(۷/۶)	**۱/۹۲±۰/۰۹	*۱/۰۴±۰/۰۶	سه مورد
۱۰	۴۹	۳(۸/۱)	**۱/۷۶±۰/۰۹	*۱/۰۷±۰/۰۸	دیده نشد
گروه کنترل	۵۱	۳(۵/۸)	**۲/۲۰±۰/۰۶	*۱/۴۱±۰/۰۹	دیده نشد

۱- میانگین و انحراف معیار طول سری - دمی جنین ها ($P < ۰/۰۱$)

۲- میانگین و انحراف معیار وزن جنین ها ($P < ۰/۰۰۱$)

علاوه بر ناهنجاریهایی که در بالا به آنها اشاره است تزریق ویتامین A منبب ایجاد ناهنجاریهای دیگری از قبیل اسکولیوز در ستون مهره‌ای، کوتاهی اندامهای جلویی و پستی بطور یکطرفه یا دو طرفه، چرخش ناقص اندامها، شکاف کام ثانویه، هیپوپلازی مندیول، میکروسفالی، ناهنجاریهای کرایئوفاسیال و قلبی، ناهنجاری در انگشتان در جنین‌های تجربی شده است (در اینجانبایامده است و بزودی ارائه خواهد شد) که بر اثر دوز دارو و روز تزریق دارو و زمان حساس شکل‌گیری ارگانها در بعضی از جنین‌ها تنها یک ناهنجاری و در بعضی دیگر دو یا چند ناهنجاری با هم وجود داشته است.

بحث:

شکل‌گیری لوله عصبی در جنین موش از روزهای هفتم تا دهم بارداری صورت می‌گیرد و نوروپورهای قدامی و خلفی به ترتیب در روزهای نهم و دهم بارداری بسته می‌شوند (۹) جهت تعیین زمان حساس شکل‌گیری لوله عصبی و تعیین حداقل دوز تراژونیک آمپول ویتامین A در ایجاد نقائص لوله عصبی دوزهای مختلف این ماده در زمانهای متفاوت روزهای ۱۰-۷ بارداری به موش تزریق گردید. براساس نتایج بدست آمده اینطور به نظر می‌رسد که حساس‌ترین زمان (زمان بحرانی) برای سیستم عصبی موش روز هشتم بارداری (تقریباً برابر با روز بیست و دوم بارداری در انسان) می‌باشد (۹) این تاکید می‌کند که یک دوره بحرانی در تکامل لوله عصبی وجود دارد که ممکن است تراژون‌ها اثراتشان را اعمال کنند. و حداقل دوز تراژونیک آمپول ویتامین A (IU) 2×10000 می‌باشد که در ساعت‌های ۸ صبح و ۱۴ عصر روز هشتم بارداری تزریق شد (جدول ۳)

سه مورد از موشهای تجربی این گروه در روز هشتم بارداری دارو دریافت داشتند و در روز دوازدهم بارداری جنین‌ها از رحم مادر تخلیه گردیده اند که از تعداد ۳۶ جنین ۸ مورد جنین جذب شده بود (تعداد جنین‌های کنترل روز دوازدهم ۳۳ مورد بوده که دو مورد جذب شده وجود داشت) و در سه مورد نقص ستون مهره‌ای و لوله عصبی مشاهده گردید در مقایسه با جنین‌های کنترل این روز در این جنین‌ها لوله عصبی در ناحیه رومبانسفال بسته نشده است و در انتهای قدامی چین‌های عصبی به هم جوش نخورده و نیمکره‌ها کلاپس کرده اند و در انتهای تحتانی خط جوش خوردن چین‌های عصبی در قسمت خلفی - میانی مشخص است که در مقایسه با جنین‌های کنترل این روز هنوز بطور کامل جوش نخورده است (عکس ۴).



عکس ۴- جنین موش روز دوازدهم در گروه تجربی

جدول ۳- وضعیت موش های حامله ای که در روزهای ۱۰-۷ بارداری دودوز ویتامین A (۱۰۰۰۰ I.U) در ساعت ۸ و ۱۴ صبح دریافت کرده اند

روز تزریق ویتامین A در گروه تجربی	تعداد کل جنین	تعداد جنین های جذب شده (%)	طول C.R (cm) ۱ M±S.D	وزن جنین ها (gr) ۲ M±S.D	ناهنجاری لوله عصبی
۷	۴۶	۶ (۱۳%)	۱/۸۵±۰/۰۸	۱/۰۳±۰/۰۹	دیده نشد
۸	۴۷	۴ (۸/۵%)	۱/۹۴±۰/۰۵	۱/۰۷±۰/۰۷	سه مورد
۹	۴۹	۴ (۸/۱%)	۱/۹۸±۰/۰۹	۱/۰۹±۰/۱۱	یک مورد
۱۰	۴۵	۳ (۶/۶%)	۱/۸۰±۰/۰۸	۱/۱۴±۰/۰۹	دیده نشد
گروه کنترل	۵۱	۳ (۵/۸%)	۲/۲۰±۰/۰۶	۱/۴۱±۰/۰۹	دیده نشد

۱- میانگین و انحراف معیار طول سری - دمی جنین ها ($P < ۰/۰۱$)

۲- میانگین و انحراف معیار وزن جنین ها ($P < ۰/۰۰۱$)

(۸، ۲۰) و تزریق یک دوز ۱۰۰۰۰ I.U رتینیل پالمیتات در روز هشتم بارداری در موش و رات (۱۷، ۱۵) می باشد. آنچه در این تحقیق مشاهده گردید که در تحقیقات قبل مشاهده نشده است وجود نقص مهره ای همراه با یا بدون نقص در بسته شدن لوله عصبی در قسمت فوقانی ستون مهره ای سینه ای می باشد. که علت آن معلوم نیست؟ ممکن است به نژاد حیوان، دوز دارو و یا ترکیب بکار رفته بستگی داشته باشد. البته برخی از محققین علت اصلی بسته شدن لوله عصبی را در ناحیه دمی مربوط به کمبود غیر عصبی مجاورش بیان کرده اند زیرا رتینوئیدها می توانند موجب مرگ سلولی در خط اولیه آندودرم روده خلفی و مزودرم صفحه جانبی گردند. و سبب رشد نامتقارن جنین نقص در نوتوکورد و نهایتاً در لوله عصبی شوند (۱).

شواهد نشان میدهد که رتینوئیدها همانند هورمونهای استروئیدی دارای گیرنده های هسته ای می باشند این گیرنده ها سبب بروز ژنهایی که وقایع تکاملی مهم در طی ارگانوژنز را تنظیم می کنند می شوند (۱). و از طریق اثر روی ژن بر روی اعمال سلول اثر می کنند. و همانند هورمونهای استروئیدی در تنظیم مرگ فیزیولوژی سلول دخالت میکنند و باعث افزایش مرگ فیزیولوژیکی سلول می شوند (۱۸). آمپول ویتامین A ممکن است باعث افزایش مرگ فیزیولوژیکی سلول های نورویی تلیال صفحه سقفی لوله

این ناهنجاریها به صورت اسپینایفیدا بتنهایی و یا همراه با بسته نشدن لوله عصبی اولیه در قسمت فوقانی ستون مهره ای سینه ای و قسمت سری لوله عصبی همراه با ناهنجاریهای دیگر بوده است. بطوریکه میزان دوز ویتامین A و زمان و مرحله مصرف آن نقش مهمی در اثرات تراتوژنیکی اش دارد. چنانچه دوز این ماده در زمان و مرحله خاص افزایش یابد نقائص لوله عصبی در جنین موش بیشتر مشاهده می گردد. به این ترتیب تحقیق دوز مطلوب تراتوژنیک و زمان تجویز این ماده را در ایجاد تجربی بروز بالای نقائص لوله عصبی در جنین موش در حال تکامل نشان می دهد.

همچنین تحقیق نشان می دهد مصرف زیاد آمپول ویتامین A در زمان بارداری سبب کاهش میانگین طول سری - دمی ($P < ۰/۰۰۱$) و میانگین وزن جنین ها می شود ($P < ۰/۰۰۱$) و آزمون T-test نشان داده است که این تاثیر به لحاظ آماری معنی دار می باشد. و مصرف زیاد ویتامین A سبب افزایش جذب جنین ها می شود که هرچه میزان مصرف این ماده در مادر بیشتر باشد جذب جنین افزایش می یابد. بطوریکه جذب در جنین هایی که در روزهای پائین تر بارداری در معرض دارو قرار گرفته اند نسبت به روزهای بالاتر به مراتب بیشتر بوده است.

این نتایج موافق با نتایج بدست آمده با تجویز یک دوز اسید رتینوئیک ۸۰ mg/kg در روز هشتم بارداری در موش

عصبی در حال تشکیل شود و در این صورت نوروابی تلوم بطور اولیه و ناهنجاری مهره ای (مزانسیم) در ارتباط با آن بطور ثانویه مبتلا شود. همچنین تحقیقات با استفاده از میکروسکوپ الکترونی نشان داده است پوشش سطح خارجی سلولهای چین های عصبی بین دو چین عصبی پلی راتشکیل می دهند که مقابل هم قرار گرفتن و جوش خوردن چین های عصبی این مواد خارج سلولی پیش از بسته شدن لوله عصبی بر روی چین های عصبی وجود دارد اما درست قبل از جوش خوردن کاهش می یابد. چنانچه این سلولها بطور تجربی تحت اثر آنزیم فسفولیپاز C قرار بگیرند این ماده از طریق برداشتن پوشش سطح سلول مانع جوش خوردن لوله عصبی می شود (۵).

بنابراین احتمال دارد که ازدیاد ویتامین A مانند ماده فوق با اثر بر روی پوشش سطح سلولهای چین های عصبی مانع بسته شدن لوله عصبی شود. اینکه چرا لوله عصبی در قسمت فوقانی ستون مهره ای سینه ای بسته نشده است؟ شاید به این دلیل باشد که لوله عصبی در چندین محل شروع به جوش خوردن می کند و این ناحیه یکی از محلهایی باشد که سلولهای آن حساسیت بیشتری به ازدیاد ویتامین A نشان می دهند و لوله عصبی در این محل جوش نمی خورد (۲۰) یا اینکه ویتامین A در کدام مرحله رویانی روی مرگ

فیزیولوژیکی سلول اثر می گذارد؟

پاسخ این دو سوال دقیقاً مشخص نیست و بررسی های بیشتر در این زمینه ادامه دارد.

بعلاوه ازدیاد ویتامین A از طریق تغییر در سنتز گلیکو پروتئین ها بطور مستقیم و یا از طریق تغییر در اجزاء کربوهیدراتی ماتریکس خارج سلولی بطور غیر مستقیم (افزایش اسید هیالورونیک و کاهش گلیکوز آمینوگلیکانهای سولفات) درست قبل از تمایز و یا در حین تمایز بافتهای مزانسیم و سلولهای ستیغ عصبی بر آنها اثر می گذارد و بدین ترتیب ممکن است موجب ایجاد نقائص لوله عصبی سری و ناهنجاریهایی در سر و صورت شود (۱۶).

بدین ترتیب تحقیق نشان می دهد که ازدیاد مصرف آمپول ویتامین A مخصوصاً در دوران رویانی سبب بوجود آمدن ناهنجاریهایی در ستون مهره ای لوله عصبی پشتی و سری، سر و صورت، اندامها، افزایش میزان مرگ و میر جنین ها، کاهش وزن و طول سری - دمی جنین ها و سایر قسمتهای جنین خواهد شد و این هشدار است به تمام خانم های باردار که مصرف زیاد ویتامین A در دوران بارداری مخصوصاً در زمان بحرانی حاملگی سبب ایجاد ناهنجاریهای متعدد در جنین خواهد شد.

تقدیر و تشکر:

بدینوسیله لازم می دانیم از زحمات و همکاریهای صمیمانه آقای دکتر آریان سرپرست بخش حیوانات آزمایشگاهی بیمارستان قائم مشهد و آقای موحیدیان پرسنل آن بخش، آقای دکتر پارسا و آقای دکتر ایزدی و سرکار خانم متجدد تکنسین آزمایشگاه جنین شناسی تقدیر و تشکر نمائیم.

منابع:

- 1-All Aj,sulik kk.Retinoic Acid Induced Spina Bifida;Evidence for a pathogenetic Mechanism. Development 1990;108:73-81.
- 2-Altaba AR.Jessel TM.Retinoic Acid Modifies the Pattern of Cell Differentiation in the Center Nervous system of Neural Stage Xenopus Embryos.Development.1991;112: 945-

952.

3-Bncroft jD,Stevens.Theory and Practice of Histological Techniques.2nded Oxford: Oxford university,1968:145-149.

4-Bollag W.Vitamin A and Retinoids from Nutrition to Pharmacotherapy in Dermatology and Oncology.The Lancet 1983:16:860-63.

5-Campbell R,Dayton D,Sohal GS.Neural Tube Defects:A Review of Human and Animal Studies on the Etiology of Neural Tube Defects.Teratolgy 1986:34:171-187.

6-Deluca LM.Retinoids and Their Receptors in Differentiation,Embryo Genesis,and Neoplasia. Faseb Jou 1991:5:2924-2943.

7-Diez PJA,Marin JM;etal.Neural Tube Defects:an Experimental Model in the Fetal Rat. Eur Jou.Ped-Surg.1995:5:2924-2943.

8-Ehler K;Stur J E;etal.Spina Bifida Aperta Induced by Valproic Acid and by Altrance Retinoic Acid in the Mouse Distinct Differences in Morphology and Periods of Sensitivity. Teratology.1992:46:117-130.

9-Kaufman MH.The Atlas of Mouse Development .London:Churchill livingstone, 1991: 8-12.

10-KraftG,Nau H.Teratogenicity and placental Transfer of all-Trans 13-cis, 4-oxo All Trans and 4-oxo-13-cis,Retinoic and -CIS-Retinoic Acid After Administration of a low oral Dose During Organogenesis in mice.Toxicology and Applied Pharmacology 1989:100:162-176.

11-Kraft Jc,Juchau MR.Xenopus Laevis:A Model System for the Study of Embryonic Retinoid metabolism III Isomerization and metabolism of All -Trans-Retinoic Acid and 9-cis-Retinoic Acid Their Dysmorphogenic Effects in Embryos During Neurulation.Drug Metab Dispos 1995:23(10):1058-72.

12-Lammer EJ;Chen DI,Hoar RH.Retinoic Acid Embryopathy.The New England of Medicine.1985:313:837-841.

13-Levin-AA.Receptors as Tools for Understanding The Toxicity of Retinoids.Toxicol Lett 1995:82:91-97.

14-Maden M,Holder N.The Involvement of Retinoic Acid in the Development of the Vertebrate central Nervous System:Development 1991:Supl:87-94.

15-Morris GM.Morphogenesis of the Malformations induced in Rat Embryos by maternal Hypervitaminosis A.M.Jou Anat.1972:113(2):241-250.

16-Morobarbas JA,Gato,etal.Retinoic Acid Induces Changes in the Rhombencephalic Neural Crest Cells Migration and Extracellular Matrix Composition in Chick

Embryos.Teratology 1993: 44:197-206.

17-Murakami U,Kamayama Y.Malformations of the Mouse Fetus Caused by Hypervitaminosis of the Mother During Pregnancy.Arch.Environ.Helth 1965:10:732-741.

18-Petkovitch M,Brand Nj,etal.A Human Retinoic Acid Receptor which Belongs to the Family of Nuclear Receptors.Nature,1987:330:444-50.

19-Pinnock CB.The potential for teratogenecity of Vitamin A,and Its congenrs.The Med Jou of Australian,1992:157:804-809.

20-Tibbles L,wiley Mj:A Comparative Study of the Effects of Retinoic Acid Given During the Critical Period for Inducing Spina Bifida in Mice and Hamsters.Teratology 1988:37: 113-125.

21-Van-Allen Mj;Kalousek K;etal.Evidence for Multisite Closure of the Neural Tube in Human.AM.Jou.Genet.1993:47(5):723-743.

22-Werler MM,Lammer Ej,Rosenberg L.Maternal Vitamin A supplment in Relation to selected Brith Defcts.Teratology 1990:42:497-503.

Teratogenic Effects of Vitamin A on Neurulation in Mouse Embryo

Rezaei N.,

Jalli M.,

Nikravesh M.R.;

Fazel A.R.

ABSTRACT:

In this study we have tried to analyse the effect of vit.A ampule(retinol) on formation of neural tube (neurulation) in mouse (balb/c) embryo to determine the critical time of its formation, and the optimum teratogenic dose of this substance in the experimental induction of neural tube defects(NTD).

After we observed the vaginal plug(v.p=0day), mated animals were divided into two groups, control and experimental ones. The experimental group was subdivided into three groups as A, B, C. VIT.A ampule was injected intraperitoneally by insulin syringe in the doses of 1x15000 I.U. (in group A at 8 a.m), 2x10000 I.U. (in group B both at 8 a.m and at 14 p.m), 2x15000 I.U. (in group C both at 8 a.m and at 14 p.m) on 7th to 10th days of gestation. The embryos were recovered by caesarian section on the 17th day and prepared for morphological investigations. No NTD were observed in control group and group A of experimental embryos, but NTD were observed in group B and C of experimental embryos. The most NTD were observed in groups B and C on the 8th day of gestation which had 6.9% and 9.7% respectively. We conclude that the most critical period for neurulation in mouse embryo is on 8th day of gestation (corresponds to about 22nd day in human embryo). Therefore certain teratogenic agents may interfere with their normal development. Also the optimum teratogenic dose of Vit .A in the experimental induction NTD is 2x10000 I.U., which was given both at 8 a.m and 14 p.m of the 8th day of gestation. This effect may be related to excessive cell death in regions of physiological cell death in embryological tissues. Furthermore Vitamin.A could lead to increase in mortality rate, decrease in weight, decrease in cranio-caudal length, and morphological defects.

Key words: Embryo\Neural Tube Defects\Vitamin A.