

## اثر آسپرین بر ناهنجاری زائی الکل در اندام های جنین موش سوری

دکتر هوشنگ رفیقدوست\*، دکتر محمد اکبری\*\*، دکتر زهرا حیدری\*\*\*

### چکیده:

آنومالی های ناشی از تأثیر الکل بر روی جنین گسترده بوده و اصطلاحاً سندرم الکلی جنینی (Fetal Alcohol Syndrome =FAS) خوانده می شود. در مورد مکانیسم پاتولوژیک اثرات الکل نظریات گوناگونی ارائه گردیده است. بر اساس یکی از جدیدترین مکانیسم های پیشنهادی، الکل باعث تغییر در سطوح پروستاگلندین های خون و بافت های مادر و جنین می شود. از طرف دیگر، آسپرین به عنوان یک مهار کننده قوی پروستاگلندین معرفی گردیده است و گزارش هایی نیز مبنی بر کاهش شیوع ناهنجاری های اندام ها و کلیه ها در جنین موش های حامله دریافت کننده الکل و آسپرین به طور همزمان موجود است. گزارش های دیگری نیز دال بر فقدان اثرات مهاری آسپرین ارائه شده است. هدف از این مطالعه تعیین اثرات تجویز آسپرین بر روند ناهنجاری زائی الکل است. در این تحقیق ۱۳۵ موش نر و ماده (یک نر به ازای سه ماده) در حیوانخانه و در پنج گروه مورد مطالعه قرار گرفتند، گروه اول، هیچ ماده ای در طول بارداری دریافت ننموده گروه دوم، سوم و چهارم و پنجم بترتیب حجم های مناسبی از سرم فیزیولوژی، الکل، آسپرین، الکل و آسپرین توأم را پس از تأیید حاملگی و مشاهده واژینال پلاک در روز هشتم بارداری به طریقه اینتراپرتونال دریافت داشتند. در روز ۱۸ موش های حامله به طریقه سرویکال دیسلوگشن کشته شدند، جنین های هر یک از گروه های فوق جمع آوری و سپس ناهنجاری های جوانه های اندام های فوقانی و تحتانی در هر گروه بررسی گردید. نتایج حاصل نشان داد که در گروه های الکل و نیز الکل و آسپرین ناهنجاری های جوانه اندامی بوقوع می پیوندد بنابراین می توان گفت تجویز همزمان آسپرین با الکل از وقوع ناهنجاری در اندام ها نمی کاهد. بر این اساس می باید مکانیسم های دیگری در روند ایجاد ناهنجاری های اندام ها به جز نقش پروستاگلندین ها جستجو نمود.

واژه های کلیدی: الکل، آسپرین، ناهنجاری های مادرزادی، تراژون.

### مقدمه:

تأخیر رشد دوران قبل از تولد و کند ذهنی را در فرزندان مادران الکلی مشاهده نمود (۹) پنج سال بعد Smith، Jones، الگوی مشخصی در مورد نقص رشد، میکروسفالی، آنومالی های فاسیال، نارسائی های قلبی، نقص اندامهای حرکتی را در فرزندان مادرانی که در طول بارداری الکل مصرف کرده بودند گزارش نمود. این شکل از آنومالی ها را اصطلاحاً سندرم الکلی جنینی FAS نامیدند (۲) از زمان توصیف سندرم الکلی جنینی تاکنون تحقیقات وسیعی در مورد

تقریباً ۲۵۰ سال در مورد اثرات نامطلوب مصرف الکل بر روی جنین در طول مدت بارداری تردید وجود داشت. محقق بنام Lemion در سال ۱۹۶۸ برای اولین بار شواهدی صریح مبنی بر اثرات تراژونیک الکل ارائه داد (۶). در این گزارش علمی مشخص گردیده بود که در ۱۲۷ کودک که مادران آنها به صورت مزمن الکلی بودند، سندرمی از ناهنجاری های مادرزادی بوجود آمده بود. محقق دیگری بنام Ulleland، کاهش وزن هنگام تولد،

\*استادیار گروه علوم تشریح-دانشگاه علوم پزشکی: زاهدان-ستاد مرکزی دانشگاه علوم پزشکی-خیابان شریعتی-تلفن: ۰۵۴۱-۳۲۲۸۱۱۰، (مؤلف مسئول).

\*\*دانشیار گروه علوم تشریح - دانشگاه علوم پزشکی تهران. \*\*\*استادیار گروه علوم تشریح - دانشگاه علوم پزشکی زاهدان.

حیوانات آزمایشگاهی خصوصاً در روی جنین موش جهت مطالعه ناهنجاریها، مشابه آنچه در انسان گزارش گردیده صورت پذیرفته است (۳،۴).

مکانیسم های پاتولوژیک این اثرات ناشناخته است (۱) بر اساس یکی از جدیدترین مکانیسم های پیشنهادی الکل باعث یکسری تغییرات در سطوح پروستاگلندین های (PGE<sub>2</sub>) خون و بافتهای مادر و جنین می شود (۸). همچنین نشان داده شده است که بالا بودن غیر طبیعی پروستاگلندین در جوندگان تراتوژن است (۷). از طرف دیگر، آسپیرین به عنوان یک مهار کننده قوی سنتز پروستاگلندین های (E<sub>2</sub>, F<sub>2</sub>) (۳) معرفی شده است. محققین گزارش نموده اند که آسپیرین می تواند شیوع ناهنجاری های اندام ها و کلیه را که توسط الکل در جنین موش ها ایجاد می شوند کاهش دهد (۵). گزارش های دیگر دال بر فقدان اثرات مهاری آسپیرین موجود است. با توجه به مطالعات فوق که نشان می دهند، مصرف الکل در طی دوران بارداری و همزمان با دوران ارگانوژنز، دارای پتانسیل ناهنجاری زائی است، هدف این پژوهش آن است که اگر چنانچه به موش های حامله کمی قبل از دریافت الکل، آسپیرین، تجویز شود، آیا اثرات این دارو می تواند از ظرفیت تراتوژنیسیته الکل بر روی جوانه اندام فوقانی و تحتانی بکاهد یا خیر؟

## مواد و روشها:

این مطالعه از نوع تجربی بوده که تعداد ۱۳۵ سر موش سوری از نژاد Balb/c (نر و ماده) از انستیتو رازی حصارک خریداری گردید و پس از انتقال به حیوانخانه تحقیقاتی دانشکده پزشکی تهران اجازه داده شده که به مدت یک هفته با محیط جدید تطابق پیدا کنند. محیط حیوانخانه دارای شرایط استاندارد بوده و در این مدت تحت

شرایط ثابت ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و دمای مناسب قرار گرفته و آب لوله کشی شهری استفاده گردید. درجه حرارت آزمایشگاه در تمام مدت ۱-۲۱ و ثابت نگهداری گردید. پس از طی این مدت و تطابق با محیط جدید در اولین ساعات دوره روشنایی و روز هشتم نگهداری هر سه سر موش ماده با یک سر موش نر در یک قفس قرار داده شده. متذکر می گردد از ابتدای نگهداری موشها و انتقال آنها به حیوانخانه، موش های نر و ماده به طور جداگانه ای نگهداری می گردیدند و پس از یک شب به طور مرتب موش ها از نظر ایجاد واژینال پلاک بررسی شده و در صورت مشاهده پلاک واژینال از بقیه جدا می شدند و در این زمان روز یک حاملگی برایشان ثبت می گردید. کلیه موش های مثبت (حامله) در قفس های دیگری در همان آزمایشگاه برای ادامه تحقیق نگهداری گردیدند.

لازم به ذکر است در مجموع ۹۹ سر موش ماده با ۳۳ سر موش نر در قفس تحت شرایط جفت گیری قرار گرفتند و از آنجا که دانستن روز اول حاملگی برای تحقیق لازم است موش ها مرتباً از نظر واژینال پلاک بررسی می گردیدند. در مجموع ۸۹ سر موش حامله شناسائی شدند. سپس موش ها فوق را به طور راندوم به پنج گروه تقسیم نمودیم.

گروه اول یا گروه کنترل (Nontreatment) شامل ۱۲ سر موش حامله بودند که هیچگونه ماده ای در طول دوران بارداری (روز هشتم) دریافت نمودند.

گروه دوم (Salin treatment) شامل ۱۲ سر موش حامله بودند که حجم مناسبی از سرم فیزیولوژی (۱<sup>cc</sup>) را به طریق داخل صفاقی (Intra pritoneal=IP) دریافت داشتند این تزریق در روز هشتم بارداری صورت گرفت.

گروه سوم (Alcohol treatment) شامل ۱۲ سر موش حامله بود که در روز هشتم بارداری ۳ kg/ml اتانول

و آب و مواد غذایی قرار داده شدند. در روز هیجدهم بارداری کلیه موش های حامله بیهوش و سپس به طریق Dislocation Cervical کشته شده و با شکافتن جدار قدامی شکم، جنین ها از لوله رحمی تخلیه و جمع آوری نموده و سپس توسط استریو میکروسکوپ پرده های جنینی از روی آنها برداشته شد و تک تک جنین ها از نظر زنده و مرده یا باز جذبی بودن و مورفولوژی ظاهری (تکامل اندام های فوقانی و تحتانی) بررسی شده و وزن (W)، قد (Crown Rump-Lengrth=CRL) و قطر بین دو آهیانه (Biparietal Diameter=BPD) با کولیس نیز اندازه گیری گردیدند. شاخص های مربوطه با استفاده از نرم افزار SPSS و آزمون t تعیین شده اند.

الکل با درجه خلوص ۲۵ درصد که توسط سرم فیزیولوژی حجم آن به ۱<sup>cc</sup> رسیده بود به طریقه داخل صفاتی (I.P) دریافت نمودند.

گروه چهارم (Aspirin treatment) که شامل ۷ سر موش حامله بودند در روز هشتم بارداری ۱۵۰ میلی گرم به ازای هر کیلو از وزن بدن آسپیرین را به صورت تزریق داخل صفاتی (I.P) دریافت نمودند.

گروه پنجم (Alcohol Aspirin treatment) در این گروه که ۱۵۰ mg به ازای هر کیلو گرم از وزن بدن آسپیرین را در روز هشتم بارداری یک ساعت قبل از تجویز الکل ۲۵٪ به طریق داخل صفاتی (I.P) دریافت داشتند. سپس کلیه موش ها مجدداً در شرایط یکسان آزمایشگاهی

**جدول شماره ۱:** شاخص های مرکزی و پراکندگی وزن، BPD و CRL موش های مورد مطالعه در گروه های مختلف

گروه	W(g) گرم	CRL(M)	BPD (m)	درصد	تعداد	ناهنجاری
	انحراف معیار± میانگین	انحراف معیار± میانگین	انحراف معیار± میانگین	ناهنجاری اندام	جنین های ناهنجار	در غیراندام
گروه I (کنترل)	۱ ± ۰/۲۵۳	۳۱ ± ۰/۳۴	۸ ± ۰/۳۴	۰	۰	-
گروه II (سرم)	۱ ± ۰/۲۳۴	۳۱ ± ۰/۳۱	۸ ± ۰/۳۰	۰	۰	-
فیزیولوژی						
گروه III (الکل)	۱ ± ۰/۰۷	۲۰ ± ۰/۸۱	۶ ± ۰/۶۵	۲/۲۴	۲	-
گروه IV (آسپیرین)	۱ ± ۰/۰۶	۲۰ ± ۰/۷۷۵	۶ ± ۰/۳۷	-	۱	٪۱
گروه V						
گروه (آسپیرین + الکل)	۰/۰۳ ± ۰/۹۴۶	۲۰ ± ۰/۱۱۹	۶ ± ۰/۲۰	۱۲/۱۲	۴	-

W=weight

\*اندازه های CRL و BPD و W با گروه کنترل مقایسه شده است.

## نتایج:

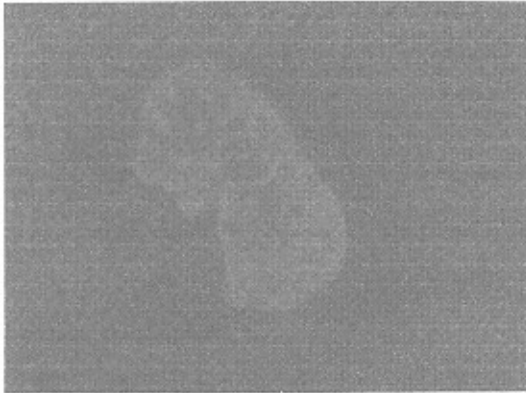
نتایج حاصله از مطالعه جنین های به دست آمده از ۱۳۵ سر موش در زمینه وقوع ناهنجاریها در مورفوژن اندام ها و به طوز کلی و بدون تقسیم بندی نوع ناهنجاری از قبیل آملیا، میکرومیلیا که هدف اصلی تحقیق است به همراه سایر پارامترهای مورد نظر مانند میانگین وزن (w)، قد (CRL) و قطر بین دو آهیانه (B.P.D) در جدول شماره ۱ آمده است.

گروه اول: جنین های حاصل از آن دسته از موش های بارداری بوده اند که در دوران حاملگی هیچگونه ماده ای دریافت نداشته بودند. مشاهدات مورفولوژیک هیچگونه ناهنجاری را در مورفوژن اندامهای فوقانی و تحتانی در این گروه نشان نداد.

گروه دوم: شامل آن دسته از جنین هائی است که مادرانشان در دوران حاملگی سرم فیریولوژی دریافت داشته بودند، در این گروه نیز هیچگونه ناهنجاری در جوانه اندام های فوقانی و تحتانی مشاهده نگردید.

گروه سوم: شامل آن دسته از جنین هایی است که مادرانشان در دوران حاملگی الکل دریافت داشته اند در این گروه ۲/۲۴ درصد از جنین های حاصل دارای ناهنجاری در شکل گیری جوانه های اندامها خصوصاً در اندام تحتانی بوده اند (تصویر شماره ۱).

فاکتورهای B.P.D و CRL گروه سوم با گروه کنترل با استفاده از آزمون t مقایسه شد و تفاوت آماری با حدود اطمینان ۹۵ درصد ( $P < 0.05$ ) مشاهده نشد ولی با حدود اطمینان ۹۰ درصد تفاوت معنی دار بود. گروه چهارم: جنینی های آن دسته از موش های بارداری را شامل می گردید که در دوران بارداری آسپرین دریافت داشته بودند. در این گروه ناهنجاری در مورفوژن اندام های حرکتی مشاهده نگردید. اما دفرمیتی به شکل انحنای غیر طبیعی ستون مهره ای کمر و سیستم اسکلتی مشاهده



**تصویر شماره ۱.** عدم تکامل اندام تحتانی در مقایسه با اندام فوقانی و مهره های دمی در جنین موشی که مادرش در دوران حاملگی الکل را دریافت داشته است، در نمای جانبی دیده می شود.

گردید. فاکتورهای B.P.D و CRL گروه چهارم با گروه کنترل با  $P < 0.05$  معنی دار بود.

گروه پنجم: جنین حاصل از موش های باردار دریافت کننده الکل و آسپرین توأم بوده اند در این گروه ناهنجاری اندام ها به صورت آملیا در اندام تحتانی و ادغام سیستم اسکلتی اندام تحتانی در اسکلت محوری به همراه دفرمیتی ستون مهره ها مشاهده گردید. میزان ناهنجاری اندام ها در این گروه ۱۲/۱۲ درصد بوده است (تصویرهای شماره ۲، ۳، ۴). فاکتورهای BPD و CRL یا گروه کنترل ( $P < 0.01$ ) تفاوت معنی دار نشان داد.

## بحث:

مشخصات ظاهری و مشاهده ناهنجاری اندام های جنین موش های دریافت کننده الکل، آسپرین و الکل آسپرین توأم نشان دهنده تغییراتی در روند مورفوژن اندام ها می باشد که چهار نمونه آن ارائه گردیده است.



**تصویر شماره ۲:** نفاض شدید در سیستم اسکلتی میکروملیا در اندام فوقانی راست و عدم چرخش طبیعی و دفرمیتی در اندام تحتانی جنین حاصل از موش حامله دریافت کننده الکل و آسپیرین

است. وقوع ناهنجاری در مورفوژنز اندام های فوقانی و تحتانی در این گروه ۲/۲۴ درصد جنین ها را شامل می شود. در حالی که ناهنجاری اندام ها در هیچ یک از گروه های کنترل و گروه دریافت کننده سرم فیبرولوژی

مطالعه نشان می دهد که بین گروه دریافت کننده الکل با گروه کنترل پارامترهای CRI و BPD در سطح اطمینان ۹۰ درصد تفاوت وجود دارد بدین معنی که پارامترهای فوق در این گروه کمتر از گروه کنترل بوده



**تصویر شماره ۳:** دفرمیتی و عدم تکامل جوانه اندام تحتانی راست و چپ در جنین حاصل از موش دریافت کننده توام الکل و آسپرین

حرکتی و نقص در مورفوژنز طبیعی اندام ها می گردد. هم چنین کاهش وزن هنگام تولد، تأخیر رشد دوران قبل از تولد را نیز در مشاهدات خود ارائه نموده است (۹،۲،۱).

مشاهده نگردید و مورفوژنز اندام ها روند طبیعی خود را طی نموده است. قبلاً نیز گزارش شده است که الکل به شدت ترانوژن بوده و موجب بروز ناهنجاری در اندام های



تصویر شماره ۴: دفرمیتی در اندام تحتانی راست در جنین موش حامله دریافت کننده آسپرین و الکل

تفاوتی وجود نداشت هر چند که ناهنجاری از نوع غیر اندامی (۱) به شکل تأثیر بر انحناى ستون مهره ای در گروه آسپرین ملاحظه گردید. با توجه به نتایج فوق می توان آسپرین را یک ریسک فاکتور برای تکامل سایر

در گروه دریافت کننده آسپرین نیز تفاوت معنی دار فاکتورهای W و SRL و BPD با گروه کنترل مشاهده شد (P < ۰/۰۵). اما ناهنجاری از نوع اندامی در گروه دریافت کننده آسپرین مشاهده نگردید و از این نظر با گروه کنترل

نموده اند که آسپرین با توجه به دوزهای مختلف تاثیری در سطح الکل خون ندارد (۷) در این تحقیق نیز تجویز توأم الکل و آسپرین منجر به کاهش ناهنجاری در مورفوژنز اندام ها نگردیده بلکه باعث افزایش آن شده است (تصویرهای شماره ۲،۳،۴). لذا جهت بررسی بیشتر اثرات تجویز توأم الکل و آسپرین می باید علاوه بر اندام های حرکتی سایر ارگان ها نیز مطالعه شوند. بنابراین در ناهنجاری های مورفوژنز اندام های حرکتی لازم است برای یافتن سایر مکانیسم های احتمالی دیگر به جز نقش پروستاگلندین ها مطالعات بیشتری صورت گیرد.

#### تشکر و قدردانی :

بدینوسیله از کلیه کسانی که در این طرح ما را یاری نمودند تشکر و قدردانی می گردد.

ارگان ها (به جز اندام ها) از جمله ستون مهره ها دانست این امر مستلزم مطالعات بیشتری می باشد و بهتر است آسپرین با دوزهای مختلف مورد آزمایش قرار گیرد.

در گروه دریافت کننده الکل و آسپرین توأم پارامترهای CRL و BPD تفاوت های معنی داری را با گروه کنترل نشان دادند. اندازه پارامترهای فوق و در گروه الکل و آسپرین کمتر از گروه شاهد بود در این گروه همچنین درصد ناهنجاری اندام ها نیز افزایش یافته و به ۱۲/۱۲ درصد یعنی تقریباً ۶ برابر گروه دریافت کننده الکل بود. همچنین بیان شده است که الکل باعث افزایش سطح پروستاگلندین های خون و بافت های مادری می گردد و آسپرین به عنوان مهارکننده پروستاگلندین ها عمل می نماید و می تواند از اثرات تراوتوژنیسته الکل بکاهد (۵،۷،۸) و از طرف دیگر Randall و همکاران در گزارش خود اعلام

#### References:

1. Abe EL. Prenatal effects of alcohol. Drug Alcohol Depend, 41: 1-10, 1984.
2. Jones KL.; Smith DW. Recognition of the fetal alcohol syndrome in early infancy. Lancet, 999-1001, 1972.
3. Kotch LE.; Sulik KK. Pathotenlis of ethanol induced limb reduction defect in mice. Teratology, 46: 323-33, 1992.
4. Kotch LE.; Sulik KK. Pathotenlis basis of ethanol-induced exencephaly and its association whit midline facial cleft in early mouse membryos. Teratology, 43: 439, 1991.
5. Lands WEM. Actions of anti-inflammatory drug Trends. Pharmacol Sci, 2: 78-80, 1981.
6. Lemoin P.; Harrowsseau BJP.; Menuet JC. Les enfats deparents alcoholiguse Anomalies. Observe Apropos Des 127 Case. 21: 476-82, 1968.
7. Mannigan JM.; Welch RA.; Sokol RJ. Recognition of fetal alcohol syndrome and alcohol related birth defats. In: Mendel JM.; Mello NK. Editors. Medical diagnosis treatment. Alchol: From McGraw-Hill Company, NewYork: USA, 43, 1992.
8. Persoud TVN. The effects of prostaglandin E2 on pregnancy and embryonic development in mice. Toxicology, 5: 97-101, 1975.
9. Ulleland CN. The offspring of alcoholic. Ann NYAcad Sci, 197: 167-90, 1972.