

پژوهش در پزشکی (مجله پژوهشی دانشکده پزشکی)
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی شهید بهشتی
سال ۲۱، شماره ۴، صفحات ۶۴-۶۷ (دی-اسفند ۱۳۷۶)

اثر تراژونیک آدنوزین روی جنین جوجه درون تخم مرغ

دکتر محمد عبدالهی*، دکتر بهروز جنت**، دکتر اکبر محمدی*** و
دکتر محسن نایب‌پور****

* استادیار سم‌شناسی و داروشناسی دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تهران
** دستیار مواد خوراکی از نظر دارویی و سم‌شناسی؛ (گروه سم‌شناسی و داروشناسی دانشکده
داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تهران)
*** دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تهران
**** استادیار روانشناسی دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تهران

خلاصه

آدنوزین یک نوکلئوزید درونی است که به عنوان یک عامل بی‌نظمی (Arrhythmia) تحت مطالعه می‌باشد. آدنوزین به شکل تزریق درون سیاهرگی برای نگهداری وزن (ریتم) سینوسی در تاکی‌کاردی شدید سوپراونتری‌کولار کاربرد دارد. در این مطالعه، اثر آدنوزین بر جنین جوجه تخم‌مرغ بررسی شده است. در این روش، پس از ۸ روز رشد نهفته (انکوباسیون) یک سوراخ کوچک در تخم‌مرغها ایجاد شد و از آن سوراخ تزریق انجام گرفت. تخم‌مرغها به ۷ گروه تقسیم شدند، یعنی سرم فیزیولوژیک ۰/۹ درصد؛ آدنوزین ۳۰، ۶۰، ۱۲۰، ۱۸۰ و ۳۰۰ میکروگرم برای هر تخم‌مرغ؛ و گروه بدون تزریق را تشکیل می‌دادند و هر گروه یک دوز از دارو را - به مقادیری که گفته شد - دریافت می‌کردند. پس از ۱۷ روز رشد نهفته جنین‌ها از تخم‌مرغها بیرون آورده شدند و در الکل ۹۵ درصد ثابت شده، استخوانها با محلول رقیق آلزارین - رد در پتاس رنگ‌آمیزی شدند. سپس اثر غلظتهای متنوع آدنوزین در اثر تزریق در روز هشتم روی درازای استخوانهای بازو، زند زبرین، زند زیرین، ران، درشت نی و اندازه سر تا دنبالچه بررسی شد. تحلیل نتایج نشان داد که در بعضی موارد تفاوت‌های معنی‌داری در درازای استخوانهای بازو، زند زبرین و زند زیرین میان گروه تحت درمان و کنترل وجود دارد. نسبت تعداد جنین‌های مرده میان دو گروه هیچ تفاوت معنی‌داری را نشان نداد. پیشنهاد می‌شود در دوران بارداری آدنوزین با احتیاط مصرف شود.

مقدمه

آدنوزین یک نوکلئوزید درونی است که به عنوان یک عامل بی‌نظمی تحت مطالعه و مصرف می‌باشد (۱). آدنوزین زمان هدایت الکتریکی را از طریق گره A.V کند و حرکت چرخشی ورود مجدد جریان الکتریکی را از طریق گره A.V قطع می‌کند. آدنوزین برای نگهداری ضرب‌آهنگ سینوسی در تاقیکاردی شدید سوپراونتریکولار کاربرد دارد (۲). آدنوزین درون سیاهرگ تزریق شده (۱)، به سرعت از جریان گردش خون خارج می‌شود (۳). آدنوزین در بدن به اینوزین و آدنوزین مونوفسفات (AMP) متابولیزه می‌شود (۳). مطالعات حیوانی اثرات سرطانزایی و موتاژنز را برای آدنوزین اثبات نکرده است، و آدنوزین در آزمایش Ames پاسخ منفی داشته است (۳). آدنوزین در مراجع جزء گروه C قرار دارد: یعنی از نظر اثرات کژریختی‌شناسی (تراژولوژی) هنوز شناخته شده نیست (۳). گزینش آدنوزین در این مطالعه بدان جهت بود که مانند دیگر نوکلئوزیدها در غلظتهای میلی مول در محیط کشت سلولی باعث شد که تغییرات کروموزومی انجام شود (۳). تجویز آدنوزین به میزان ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم در موش طی پنج روز از طریق درون صفاقی باعث کاهش اسپرماٹوژنز و افزایش تعداد اسپرمهای غیرطبیعی و تخریب کروموزومی شد (۳). از سویی ممکن است در آنزیم متابولیزه کننده آدنوزین نقص ژنتیکی وجود داشته باشد که باعث تجمع آدنوزین در بدن می‌شود (۴).

مواد و روشها

آدنوزین در شرکت آلدریج ساخته شد و محلول ذخیره استاندارد به میزان ۰/۶ میلی‌گرم در میلی‌لیتر از آدنوزین تهیه کردیم. تخم‌مرغهای نطفه‌دار از شرکت مرغک خریداری شد که تمامی این تخم‌مرغها در روز

صفر جهت رشد نهفته، به وضعیت افقی در انکوباتور قرار دادیم. این انکوباتور دما را در $37/5 \pm 0/5$ درجه سانتیگراد و رطوبت نسبی را در حدود ۶۰-۸۰ درصد ثابت نگه می‌دارد. تخم‌مرغها را تا زمان تزریق دارو هر ۶ ساعت ۹۰ درجه چرخاندیم؛ سپس در روز هشتم انکوباسیون تخم‌مرغها را به هفت گروه مشابه تقسیم کردیم.

گروه اول، گروه کنترل بودند که ۵۰۰ میکرولیتر نرمال سالین به آنها تزریق شد؛ سپس، به پنج گروه دیگر به ترتیب ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ و ۵۰۰ میکرولیتر از محلول استاندارد آدنوزین- که به ازای هر تخم‌مرغ معادل ۳۰، ۶۰، ۱۲۰، ۱۸۰ و ۳۰۰ میکروگرم بود- تزریق شد و گروه هفتم هم گروه کنترل بدون تزریق بود (۵). برای انجام تزریق، یک سوراخ کوچک در تخم‌مرغها ایجاد شد و از آن سوراخ تزریق صورت گرفت. سپس در روز ۱۷ انکوباسیون جنین‌های زنده را از درون تخم‌مرغها خارج کرده، پرده‌های دور جنین را باز کردیم و جنین‌ها در الکل ۹۵ درصد ثابت شدند. بعد، استخوانهای آنها را به شیوه آلیزارین- رد رنگ کردیم (۶ و ۷).

تحلیل آماری

نتایج با استفاده از Student-t-test بررسی و در جدول ۱ به صورت میانگین ارزشها $\pm SE$ ارائه شد و تعداد جنین‌های مرده با به کار بردن آزمون مجذور خی ارزیابی شد (جدول ۱).

نتایج

همان طور که در جدول ۱ آمده است اثرات غلظتهای مختلف آدنوزین روی درازای استخوانهای بازو، زند زبرین، زند زیرین، ران، درشت نی و اندازه سر تا دنبالچه در اثر تماس دارو با جنین در روز هشتم رشد نهفته نشان داده شد. تحلیل نتایج با استفاده از روش

جدول ۱) اثرات غلظت‌های مختلف آدنوزین روی اسکلت جنین جوجه

فاصله تاج سر تا دنبالچه mean±SE(mm)	درشت نی mean±SE(mm)	ران mean±SE(mm)	زند زیرین mean±SE(mm)	زند زیرین mean±SE(mm)	بازو mean±SE(mm)	تعداد رویانه‌های مرده	تعداد رویانه‌ها	
۶۶/۵ ± ۰/۷	۲۲/۵ ± ۰/۳	۱۷/۱ ± ۰/۲	۹/۸ ± ۰/۱	۹/۷ ± ۰/۱	۱۰/۷ ± ۰/۱	۱۲	۴۶	کنترل
۶۶/۵ ± ۰/۴	۲۱/۸ ± ۰/۳	۱۶/۶ ± ۰/۲	۹/۶ ± ۰/۱	۹/۴ ± ۰/۱	۱۰/۷ ± ۰/۱	۹	۴۴	نرمال سالین ۰/۵cc/egg
۶۷/۶ ± ۰/۷	۲۲/۳ ± ۰/۳	۱۷/۱ ± ۰/۱	۹/۸ ± ۰/۱	۹/۷ ± ۰/۱	۱۰/۹ ± ۰/۱	۱۵	۴۵	آدنوزین ۳۰μg/egg
۶۸ ± ۰/۸	۲۲ ± ۰/۲	۱۶/۹ ± ۰/۱	۹/۸ ± ۰/۱	۹/۵ ± ۰/۱	۱۰/۷ ± ۰/۱	۱۴	۴۶	آدنوزین ۶۰μg/egg
۶۷/۷ ± ۰/۵	۲۲ ± ۰/۲	۱۷/۱ ± ۰/۲	۹/۸ ± ۰/۱	۹/۴ ± ۰/۱	۱۰/۲ ± ۰/۱*	۱۴	۴۸	آدنوزین ۱۲۰μg/egg
۶۶/۹ ± ۰/۷	۲۱/۸ ± ۰/۳	۱۶/۶ ± ۰/۲	۹/۸ ± ۰/۱	۹ ± ۰/۱*	۱۰/۱ ± ۰/۱*	۱۹	۴۷	آدنوزین ۱۸۰μg/egg
۶۶/۹ ± ۰/۶	۲۱/۹ ± ۰/۲	۱۷/۱ ± ۰/۲	۹/۱ ± ۰/۱*	۹/۱ ± ۰/۱*	۱۰/۲ ± ۰/۱*	۱۲	۴۲	آدنوزین ۳۰۰μg/egg

* P<۰/۰۵

بحث

در این مطالعه ما سعی کردیم که اثر تراژونیک آدنوزین را بر جنین جوجه تخم مرغ نشان دهیم. مطالعات نشان داده است که 2'deoxycoformycin (2'dcf) مهار کننده برگشت ناپذیر فارماکولوژیک آنزیم آدنوزین دامیناز یک اثر سمیت جنینی وابسته به دوز را در

Student-t-test نشان داد که در درازای استخوانهای بازو، زند زیرین و زند زیرین میان گروه تحت درمان و گروه کنترل تفاوت‌های معنی‌داری وجود دارد (P<۰/۰۵). در ضمن طبق آنچه که در جدول ۱ نشان داده شده است نسبت تعداد جنین‌های مرده میان دو گروه هیچ تفاوت معنی‌داری وجود ندارد.

روز ۶-۱۱ بارداری تزریق شد. عمده‌ترین عارضه جانی مرگ جنینی زود هنگام بود که به صورت وابسته به دوز و اختصاصی در روز ۷-۸ تزریق ایجاد شد. تزریق ۵ میلی‌گرم در کیلوگرم در روز هفتم بارداری باعث ایجاد ۸۵ درصد از بین رفتن جنین در اثر جذب ۱۵ درصد ناهنجاری جنینی و ۲۴ درصد کاهش وزن جنینی شد؛ در حالی که، تزریق همان دوز S(dcf) هیچ گونه اثری نداشت (۸). این یافته‌ها نشان می‌دهند که غلظت‌های بالای آدنوزین در نتیجه مهار آنزیم ADA به وسیله dcf احتمالاً "تراژون" است (۹). نتایج حاصله از بررسی حاضر نشان داد که در تکامل سیستم اسکلتی بین گروه شاهد و درمان تفاوت معنی‌دار آماری وجود دارد. در نهایت، توصیه می‌شود که مصرف آدنوزین در سه ماهه اول حاملگی با احتیاط زیاد صورت گیرد.

توله‌های تحت درمان با آدنوزین به وجود می‌آورد (۸). سایر مطالعات *In vivo* یک سمیت پیشرونده ناشی از dcf را در موشهای صحرایی و خرگوشها و اثر تراژونی را در موشهای صحرایی در مقادیر سمی نشان داده‌اند (۸). همچنین مطالعات گذشته نشان داده‌اند که یک دوز منفرد به میزان ۵ میلی‌گرم در کیلوگرم از dcf در روز هفتم در موشهای حامله به مدت نیم ساعت باعث توقف کامل فعالیت آدنوزین دامیناز جفتی-رحمی می‌شود که این امر باعث مرگ انبوهی از سلولها در صفحه عصبی و مزانشیم اولیه- بعد از ۶ ساعت- و ناهنجاریهای عمده جمجمه‌ای صورتی تا روز دهم و از بین رفتن جنین در اثر جذب تا روز دوازدهم می‌شود (۸). در مطالعه دیگر R(dcf) به موشهای سوری حامله از نژاد Cd-1 با یک دوز منفرد ۱۰-۰/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم به شکل درون صفاقی در

مراجع

- 1) Parfitt K. Martindale the extra pharmacopoeia. ed. 31, London, The Pharmaceutical Press, 1996, P 813.
- 2) Katzung BG. Basic and Clinical Pharmacology. ed. 6, New York, Appleton & Lange, 1995, P 224.
- 3) Sifton DW. Physicians Desk Reference. ed. 49, Montral, Medical Economics. 1995, PP 1033-1034.
- 4) Knudsen TB, Otey SK, Church JK, Blackburn MR, Winters RS, Airharts MJ. Adenosine accumulation in the gestation site following maternal treatment with deoxycoformycin. *J Toxicologist* 1990; 10: 38.
- 5) New DAT. Techniques for assessment of teratologic effects embryo culture. *Environ Health Perspect* 1976; 18:105-110.
- 6) Lipman HJ. Staining the skeleton of cleared embryos with Alizarin-Red-S. *Stain Technology* 1985; 10:61-63.
- 7) Kelly WL, Bryden MM. A modified differential stain for cartilage and bone whole mount preparation of mamalian fetuses and small vertebrates. *Stain Technology* 1983; 58:131-134.
- 8) Knudsen TB, Winters RS, Otey SK, Blackburn MR, Airhart MJ, Church JK. Effect of (R)-Deoxycoformycin (Pentostatin) on in the pregnant mouse. *J Teratology* 1992; 45:91-103.
- 9) Robbins CM, Church JK, Airhart MJ, Skalko RG. Evidence of receptor-mediated adenosine embryotoxicity during postimplantation mouse development. *J Teratology* 1992; 45:504-505.