



۱۳۷۸ / ۶ / ۲۹

دانشگاه علوم پزشکی تهران دانشکده داروسازی

پایان نامه:

مقطع تحصیلی: دکتری داروسازی

موضوع:

اثر ناهنجاری‌زایی دی اتیل استیل بسترویل بر روی
جنین خوکچه هندی

اساتید راهنما:

آقای دکتر سیدناصر استاد

آقای دکتر امید سبزواری

استاد مشاور:

آقای دکتر حسن مرزبان

نگارش:

نورایر - اوهان قراقیز

سال تحصیلی: ۱۳۷۸

۳۷۴۹

فهرست مطالب

صفحه	عنوان
	خلاصه
	فصل اول: تراتولوژی
۱	۱-۱- مقدمه و تاریخچه تراتولوژی
۵	۲-۱- عوامل اساسی در نمو طبیعی
۵	۱-۲-۱- DNA و کروموزوموها
۵	۲-۲-۱- نسخه برداری (Transcription)
۶	۳-۲-۱- ترجمه (Translation)
۶	۴-۲-۱- ترجمه و اهمیت پروتئینهای غشایی
۶	۳-۱- عوامل اساسی در نمو غیرطبیعی
۷	۱-۳-۱- اثرات ژنتیکی
۷	۲-۳-۱- تغذیه
۸	۳-۳-۱- دوره های بحرانی و حساس در مورد نمو
۹	۴-۳-۱- آنومالی های نموی جفت
۹	۵-۳-۱- انتقال جفتی
۱۰	۴-۱- روشهای شناسایی اثرات سمی مواد روی جنین انسان بعد از تولد
۱۰	۱-۴-۱- سقط
۱۱	۲-۴-۱- مرده زایی و مرگ نوزادان تازه متولد شده
۱۱	۳-۴-۱- وزن هنگام تولد
۱۲	۴-۴-۱- نتصهای مختلف مادرزادی
۱۲	۵-۱- روشهای تشخیص پیش از تولد
۱۲	۱-۵-۱- روشهای تهاجمی

۱-۵-۲- روشهای غیر تهاجمی ۱۴

فصل دوم: (DES)

۱-۲- ساختمان شیمیایی ۱۵

۲-۲- کاربرد درمانی ۱۵

۳-۲- فارماکوکینتیک ۱۶

۴-۲- عوارض جانبی ۱۶

فصل سوم: میکروسفر

۱-۳- ثبات و کینتیک رهاسازی داروهای ترکیب شده در میکروسفر ۱۸

۲-۳- روش میکروسفر و امکان رها سازی دارو در رحم ۱۹

۳-۳- میکروسفر بومیینی ۲۰

۴-۳- آزادسازی درواز میکروسفر ۲۰

۵-۳- تئوری میکروسفر ۲۱

۶-۳- مکانیزمهای اتصال متقاطع ۲۲

فصل چهارم: انتخاب مدل حیوانی

۱-۴- بررسی زیست شناسی خوکچه هندی ۲۳

۲-۴- شیوه نگهداری و پرورش خوکچه هندی ۲۳

۳-۴- نیازهای غذایی خوکچه هندی ۲۴

۴-۴- تعیین جنسیت ۲۵

۵-۴- تولید مثل ۲۵

۶-۴- کالبدشناسی خوکچه هندی آبستن و غیر آبستن ۲۶

۲۶	۴-۶-۱- کالبدشناسی
۲۸	۴-۶-۲- سیکل استروس در خوکیچه هندی
۲۹	۴-۷-۷- استروس و زمان فحلی
۲۹	۴-۷-۱- شروع استروس
۳۰	۴-۷-۲- جایگزینی (Implantation)
۳۱	۴-۸-۸- تشکیل ساختمان پلازنتا
۳۱	۴-۸-۱- ارتباط مادری - جنینی

فصل ششم: روش عملی

۳۴	۶-۱- تهیه میکروسفر آلبومین محتوی دی اتیل استیل بسترول به روش اتصال متقاطع
۳۴	۶-۲- تهیه گروههای آزمایش
۳۵	۶-۳- خارج نمودن جنین ها از شکم خوکیچه هندی مادر
۳۶	۶-۴- باز کردن حفره شکمی
۳۶	۶-۵- مشاهدات ظاهری جنین ها
۳۶	۶-۵-۱- بررسی غیر پارامتریک
۳۷	۶-۵-۲- بررسی های پارامتریک
۳۷	۶-۵-۳- رنگ آمیزی آیزارین رد

فصل هفتم: نتایج

۴۰	۷-۱- نتایج و بحث
----	------------------

۴۲	جدول
----	------

۴۵	جدول آزمون Student-T-Test
----	---------------------------

صفحه

عنوان

٥١	تصویر
٥٧	منابع
٥٩	بحث

مقدمه

خلاصه :

عنوان : بررسی ناهنجاری زایی دی اتیل استیل بسترول در خوکچه هندی .

DES یک استروژن صناعی غیر استروئیدی می باشد که ساخت سلولی DNA ، RNA و پروتئینهای مختلف را در بافتهای پاسخ دهنده افزایش می دهد . بعلاوه آزاد شدن گونادولبرین (LHRH) را از هیپو تالاموس کاهش داده و در نتیجه موجب کاهش آزاد شدن هورمون محرک فولیکول (FSH) و هورمون محرک جسم زرد (LH) از هیپوفیز می شود [۱] . این دارو به طور سیستمیک برای درمان واژینیت آتروفیک ، کم کاری تخمدان یا برداشتن تخمدان ، خشکی و چروکیدگی فرج ، نارسایی اولیه تخمدان و نشانه های متوسط تا شدید ازوموتور ناشی از یائسگی مصرف می شود . در زنان باردار نیز برای جلوگیری از سقط و زایمان زودرس مورد استفاده قرار گرفته است [۲][۳] .

هدف این تحقیق بررسی ناهنجاریزایی میکروسفر DES زمانیکه از طریق واژینال مورد استفاده قرار گیرد ، است . آزمایشات روی چهار گروه خوکچه هندی باردار (یک گروه کنترل و سه گروه دیگر میکروسفر حاوی ۵۰ میکروگرم ، ۱۰۰ میکروگرم ، ۱۵۰ میکروگرم دی اتیل استیل بسترول ، ۴۸ ساعت بعد از آمیزش از طریق واژینال دریافت نموده بودند) انجام گرفت .

در روز ۴۲ بارداری مادرها کشته شده و جنین ها خارج گردیدند و پس از شستشو با آب مقطر و فیکس نمودن با الکل اتیلیک ۹۶٪ به مدت یک هفته ، وزن ، قطر پایباریتال مجمله و اندازه قد جنین ، طول دست ، اندازه پا از زانو تا نوک انگشتان و فاصله پشت سر تا پوزه جنین به دقت اندازه گیری و بررسی شد . از نتایج بدست آمده اختلاف معنی داری بین گروه های دریافت کننده دارو و گروه کنترل مشاهده

گردید. نتایج حاصل از این تحقیق نشان می دهد که میکروسفر دی اتیل استیل بسترویل در محدوده دوزهای مطالعه شده در خوکچه هندی اثر ناهنجاریزایی نشان داده است.



فصل اول

تراژولوژی

۱-۱- مقدمه و تاریخچه تراژولوژی

تراژولوژی به عنوان یکی از شاخه های مهم علم سم شناسی در سالهای اخیر ، توسعه و گسترش زیادی یافته است . این علم به بررسی عوارض داروها ، مواد شیمیایی و سموم قابل انتقال از مادر به جنین می پردازد. بعلاوه بیماریهای عفونی و ژنتیکی و شرایط و عوامل مکانیکی نیز می توانند باعث تولید کودکان ناقص الخلقه گردند .

تراژولوژی در گذشته فقط به بررسی اختلالات اندام زایی و شکل زایی در جنین می پرداخت ولی امروزه رفتار ، یادگیری ، حافظه و دیگر مسائل جنینی که حتی تکمیل آنها به دوره بعد از تولد میرسد را نیز شامل می شود . به طور کلی میزان تاثیر عوامل گوناگون در تولد کودک ناقص الخلقه به ترتیب زیر است :

۱۵ الی ۲۰ درصد ژنتیک - ۵ درصد سیتوژنیک - ۴ درصد وضعیت ارد و بیماریها - ۳ درصد عفونتهای مادری - ۱ الی ۲ درصد عوامل مکانیکی - ۶۵ درصد عوامل ناشناخته - ۵ درصد موند شیمیایی و داروها و تشعشعات [۵][۴] و هیپوترمی [۶] .

لذا شناختن این عوامل و نحوه عملکرد آن می تواند کمک شایسته ای در پیشگیری از بروز عوارض ناخواسته بنماید .

امروزه یکی از مهمترین آزمایشات لازم و اجباری جهت تصویب قابل مصرف بودن داروها ، آزمایشات تراژولوژی می باشد . این آزمایشات با استفاده از لوازم و ابزار موجود در حیوانات پستاندار به خصوص جوندگان (موش صحرائی - موش سوری - خرگوش - خوکچه هندی) انجام می گیرد [۹][۸][۷] .

در سالهای اخیر تماس مادران باردار با مواد شیمیایی در محیط کار و زندگی به طور بی سابقه ای افزایش یافته است زندگی در نقاط نزدیک به کارخانه های تولید مواد

شیمیایی و داروها و همچنین آلودگی محیط زندگی با مواد شیمیایی مختلف به قدری افزایش یافته است که این قرن را قرن بمباران شیمیایی نام نهاده اند [۱۰].

امروزه بیشترین توجه در مورد عوارض دارو درمانی در طول حاملگی به رتینوئیدهای سنتتیک معطوف شده است. ایزوترتینوئین (ویتامین A) یک رتینوئید سنتتیک است و متابولیت اصلی آن 4-oxo-Retinoic است. که در دوز بالای ۱۰ هزار واحد در روز ماده ای فوق العاده تراژوژن در سه ماهه اول بارداری است. کند ذهنی و کندی رشد اعضا از عوارض آن است [۱۱].

الکل - سیگار - کوکائین از دیگر مواد تراژوژن هستند که باعث کند ذهنی می شوند. اگر میزان مصرف الکل خالص به ۳۵ میلی لیتر در روز برسد، باعث دفرمه شدن استخوان سر و صورت می شود. در مورد کوکائین کودکان از دو سالگی مختصراً هاپراکتیویته می شوند. در مورد مادران سیگاری آسیب به ریه جنین مشاهده شده است و درصد بچه های مبتلا به آسم و عفونتهای تنفسی در سنین بالا گزارش شده است [۱۲]. از دیگر مواد تراژوژن متیلن تترا هیدروفولات ردوکتاز می باشد که ایجاد نقایص لوله عصبی در نوزادان می نماید [۱۳].

همیشه احتمال تراژوژن بودن داروهای جدید وجود دارد. اگر اثرات تراژوژنی روی سلولهای غیر سوماتیک باشد این عارضه ارثی می شود. مثلاً کوکائین، نیکوتین، کیفیت اسپرم و تخمک را کم می کند در نتیجه درصد افراد کندذهن را در جامعه افزایش می دهد.

DES اولین بار در سال ۱۹۳۸ در متون علمی انتشار یافت و بصورت علمی به آن پرداخته شد. اولین ترکیب غیر استروئیدی بود که از خود خواص نظیر استروژنهای واقعی را بروز میداد [۱۴]. این دارو موارد مصرف گوناگونی یافت ولی

به طور عمده در پیشگیری از زایمان زودرس مورد استفاده قرار می گرفت. تخمین زده می شود که در ایالات متحده آمریکا ۱ الی ۲ درصد از زنان باردار از این دارو استفاده کردند.

۲۰ سال قبل از تاثیر مخرب تالیدومید بر کودکان به دنیا نیامده، DES تاثیر ویرانگر خود را در زنان آبستن البته نه مانند تالیدومید که بی توجه از این دارو استفاده می نمودند بر جای گذاشت. در سال ۱۹۵۷ شرکت های دارویی چنین تبلیغ می نمودند که داروی DES به دلیل ایجاد بچه های قوی تر و بزرگتر در تمام حاملگیها مفید است. در سال ۱۹۵۲ یک مطالعه دوسویه بر دو هزار زن نشان داد که DES باعث کاهش تعداد سقط نوزادان نارس شده و منجر به مرگ نوزادان نمی شود. فروش کلی این دارو در سال ۱۹۵۳ به اوج خود رسید. در سال ۷۳-۱۹۷۲ یعنی نوزده سال بعد یک سرطان نادر واژن شایع گردید. یک سال قبل از این تاریخ (۱۹۷۱)، Scully & Herbst هفت مورد از آدنوکارسینومای واژن (سرطان بدخیم رحم) را در زنان جوان در سنین ۱۵ تا ۲۲ سالگی را گزارش کردند [۱۵].

در سال ۱۹۷۲ این دارو توسط FDA از لیست داروی آمریکا حذف گردید [۱۶]. تخمین زده می شود ۱ تا ۲ میلیون زن آمریکایی از اشکال متنوع این دارو استفاده کردند و دخترانی را به دنیا آورده اند که $\frac{14}{10000}$ مبتلا به سرطان واژن بودند. بررسیهای انجام شده در سال ۱۹۷۴ نشان داد ۷۵۰۰ زن از این دارو به خصوص در سال ۱۳۵۰ در انگلستان اسفاده نمودند [۱۷]. که منجر به بروز برخی از اثرات نامطلوب در فرزندان دختر آنها گردید. این ناهنجاریهای آناتومیک شامل غیر طبیعی شدن رحم - غیر طبیعی شدن دهانه رحم - غیر طبیعی شدن بخش

فوقانی واژن و غیر طبیعی شدن لوله مولرین و ساختار خوش خیم غیر متعارف در دهانه رحم و رحم (Cockscomb, Rims, collars و شبه پلیپها) در ۲۵ الی ۴۰ درصد از زنانی که در معرض DES قرار گرفته بودند نمودار گردید [۱۹][۱۸].

کولپوسکوپی تغییرات بافت اپی تلیال را در واژن و دهانه واژن در ۶۵ الی ۹۰ درصد از زنان [۲۰]، همراه با تغییرات غدد واژن در ۳۰ الی ۷۵ درصد از آنها را نشان داد [۲۱]. یک مطالعه روی زنان استرالیایی مبتلا به کارسینومای واژن نشان داد که تماس با DES قبل از ۱۸ هفتگی دوران بارداری بوده است و علاوه بر سرطان واژن عواقب تولید مثلی دیگر نیز مشاهده گردید که عبارتند از:

۱- کاهش میزان بارداری [۱۶]

۲- افزایش خطر حاملگی نابجا [۱۶]

۳- سقط های ناخواسته و زایمان های زودرس [۱۶]

هر چند به نظر میرسد که سرطان های دستگاه تناسلی در پسران افزایش ندارد، تجزیه و تحلیل مایعات منی این پسران پاره ای از ناهنجاریها را آشکار نمود که عبارتند از:

کاهش در غلظت اسپرم و تعداد اسپرمهای متحرک و افزایش میزان عقیمی [۱۶]. معهذاً مصرف DES در استرالیا ممنوع نگردید و در بازار دارویی با نام تجارتي HONVAN برای درمان سرطان پروستات مورد استفاده قرار می گیرد. همچنین استفاده از DES در زنان آبستن نشان می دهد که در معرض قرار گرفتن جنین از همان اوایل در مقابل DES می تواند تعیین حالت و فعالیت شخص را بکند و یا حتی بیماریهای عصبی از قبیل افسردگی - اضطراب و افزایش پرولاکتین را به همراه داشته باشد [۲۲]

۱-۲- عوامل اساسی در نمو طبیعی

۱-۲-۱- DNA و کروموزومها

کروموزوم یوکاریوتها دارای یک ساختمان پیچیده از DNA و پروتئین است. اطلاعات کد شده روی DNA در مراحل مختلف به RNA منتقل می شود لذا مقدار و نوع RNA تولید شده و در نتیجه سنتز پروتئینهای مربوط توسط ژنهای مشخص کنترل می شود. افزایش، کاهش یا نوآرایی کروموزوم و کروماتید که به صورت خود به خود و یا القاء شده بوسیله مواد شیمیایی رخ داده است بوسیله میکروسکوپ الکترونی قابل مشاهده می باشد و بدین وسیله می توان رابطه آنها را با نقایص نموی در انسان پیدا نمود [۲۳].

۱-۲-۲- نسخه برداری (Transcription)

هر دو مرحله نسخه برداری و ترجمه در کنترل سنتز پروتئین دخالت دارد. در سلولهای یوکاریوت نسخه برداری در هسته و ترجمه در خارج هسته رخ می دهد. این حالت در میتوکندری نیز اتفاق می افتد. مکانیزم اصلی کنترل ژن در سلولهای پروکاریوت، فعالیت ژنهای مختلف با کنترل نسخه برداری است. تشخیص سه شکل مختلف DNA پلی مرز در یوکاریوت ها این موضوع را که کنترل نسخه برداری، مکانیسم غالب در تنظیم بیان ژن در سلولهای یوکاریوت است روشن می کند. نسخه برداری برای ژنهایی که محصولات آنها مقادیر زیادی از تولیدات RNA و پروتئین سلولی است مانند گلوبین، اوآلبومین و متالوتیونین، ثابت شده است.

۱-۲-۳- ترجمه (Translation)

۱-۲-۴- ترجمه و اهمیت پروتئینهای غشایی

۱-۳- عوامل اساسی در نمو غیر طبیعی

اثرات تراژوژنی ، موثاژنی و سرطان زایی ممکن است به طور خود به خودی یا القایی بوسیله مواد شیمیایی و یا فیزیکی خارجی رخ دهد . اصول مکانیسم تراژوژنی در حیوانات آزمایشگاهی مطالعه شده است و یافته های انسانی از بررسی گزارشات اپیدمیولوژیک بدست آمده است . مکانیسم عمل عوامل امبریوتوکسین (سمیت رویانی) ، کمتر شناخته شده است . افزایش دانسته ها در مورد مسائل بیوشیمیایی و بیولوژیکی رویان زایی طبیعی می تواند در فهم بیشتر مکانیسم های ایجاد کننده نقص خلقت کمک نماید . با وجود اینکه اطلاعات زیادی در مورد اثرات تراژوژنیک داروها بر نمو پستانداران و دیگر گونه ها در دست است ولی اطلاعات کمی درباره تغییرات بیوشیمیایی در رویان انسان موجود می باشد . اطلاعات محدود فعلی نیز در نتیجه مشاهدات بالینی موارد اتفاقی بعد از استعمال دارو و یا دیگر عوامل است و هنوز هم اطلاعات کافی در مورد همراهی تغییرات نمو با مصرف عوامل مسموم کننده در دست نیست و این مسئله تا اندازه ای ناشی از عدم وجود اطلاعات کافی در زمینه تغییرات بیوشیمیایی در جنین انسان است . به همین دلیل Connors پیشنهاد نمود با نادیده گرفتن این شکاف اطلاعاتی ، به بررسی جامعتر اطلاعاتی چون کاهش مشخص تعداد سلولی ، شکل زایی و بلوغ پرداخته شود [۲۴] .