

اثر خوراکی هروئین بر جنین موشهای سوری Balb/C معتاد

دکتر زهرا طوطیان^۱ دکتر سیمین فاضلی پور^۲

مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، دوره ۵۶، شماره ۴، ۷۹-۷۳، (۱۳۸۰)

مواد و روش کار

در این پژوهش از موشهای سوری استفاده شد. موشهای مورد استفاده، بالغ و حدود ۲۵ تا ۳۰ گرم وزن داشته و از نژاد Balb/C بودند. موشها به گروههای مختلف تقسیم شدند. گروه کنترل، گروه شم و گروههای تجربی، گروه کنترل: تنها از آب استفاده می کردند، گروه شم: از آب به همراه شکر (به ازاء هر میلی لیتر آب ۰/۰۵ گرم شکر) استفاده می کردند. در گروههای تجربی نیز ماده ها به سه گروه قبل از باروری معتاد، طی باروری معتاد، قبل و بعد از باروری معتاد طبقه بندی شدند. هر گروه از ماده ها خود به دو دسته یک گروه با نر سالم و یک گروه با نر معتاد آمیزش داده شدند. موشهای گروه تجربی از آب همراه هروئین و شکر استفاده می کردند. مقدار مصرفی هروئین برای گروههایی که میزان مصرفی آنها ۰/۱ میلی گرم / میلی لیتر بود در دو روز اول ۰/۱ میلی گرم / میلی لیتر در دو روز دوم ۰/۲ میلی گرم / میلی لیتر و در دو روز سوم ۰/۳ میلی گرم / میلی لیتر و تا پایان ۰/۴ میلی گرم / میلی لیتر تکرار شد. بنابراین گروههای تجربی مورد آزمایش در این تحقیق به ۸ گروه تقسیم شدند که به هفت گروه اول هروئین ناخالص و به گروه آخر هروئین خالص خوراندند. گروههای تجربی شامل: (۱) ماده معتاد قبل از باروری + نر سالم (FAIMN، ۲) ماده معتاد قبل از باروری + نر معتاد (FAIMA، ۳) ماده معتاد بعد از باروری + نر سالم (FA2MN، ۴) ماده معتاد بعد از باروری + نر معتاد (FA2MA، ۵) ماده معتاد قبل و بعد از باروری + نر سالم (FAI2MN، ۶) ماده معتاد قبل و بعد از باروری + نر معتاد (FAI2MA، ۷) ماده سالم + نر معتاد (FNMA، ۸) ماده معتاد بعد از باروری + نر سالم (هروئین خالص داشته اند) FA₂MN خالص. ابتدا موشها را با هروئین تیمار کرده تا معتاد شدند و برای تشخیص اعتیاد آنها، آنتاگونیست مواد مخدر (نالوکسان) استفاده شد. سپس موشهای نر و ماده در کنار هم قرار گرفتند و روز صفر بارداری با مشاهده واژینال پلاک، مشخص شد موشهای ماده تا روز ۱۷ دوران جنینی تحت کنترل و تیمار دارو قرار داشتند سپس موشها را بیهوش کرده جنینها را از رحم خارج کرده و پس از شستشو با سرم فیزیولوژیک به بررسی تغییرات کمی و کیفی پرداختیم. برای بررسی و مطالعه تغییرات کمی و مقایسه گروههای کنترل و شم با گروههای تجربی از آزمون T استفاده شد.

نتایج

نتایج مطالعات کمی: در بررسی اثر هروئین بر جنین موشهای سوری معتاد، با مقدار مصرف ۰/۳، ۰/۱ و ۰/۵ میلی گرم/میلی لیتر صفات کمی که شامل کاهش بارداری، طول فرق سر- نشیمنگاه، و وزن جنینی می باشد مورد مطالعه قرار گرفت. در مقیاس وزن جنین با مقادیر مصرف ۰/۱، ۰/۳ و ۰/۵ میلی گرم/میلی لیتر بین گروه کنترل و شم تفاوت معنی داری وجود نداشت اما در وزن جنین، گروههای تجربی با گروه کنترل تفاوت معنی داری ($P < 0/0001$) دیده شد (نمودار ۱، ۲- B) و در گروه (FA₂MN) که هروئین خالص دریافت کرده بودند فاقد معنی بود (نمودار ۱- B). در مقایسه اثر هروئین بر طول فرق سر- نشیمنگاه بین گروه کنترل و شم تفاوت معنی داری وجود نداشت ولی در اندازه طول فرق سر- نشیمنگاه بین گروه کنترل و گروههای تیمار با استفاده از مقادیر ۰/۱، ۰/۳، ۰/۵ میلی گرم/میلی لیتر هروئین، تفاوت معنی داری وجود داشت ($P < 0/0001$) نمودار (۱، ۲- A). ولی در گروه

۱) گروه آموزشی علوم پایه دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.
۲) گروه آموزشی زیست شناسی دانشکده علوم دانشگاه تهران، تهران - ایران.

در این پژوهش اثرات اعتیاد خوراکی هروئین بر جنین موشهای سوری معتاد مورد بررسی قرار گرفت. بدین طریق والدین به دنبال افزایش تدریجی غلظت هروئین در آب آشامیدنی (۰/۱، ۰/۳ و ۰/۵ میلی گرم / میلی لیتر) معتاد شدند. سپس موشهای نر و ماده در گروههای مختلف طبقه بندی گردیدند. ماده ها به صورت معتاد قبل از بارداری، معتاد بعد از بارداری و معتاد قبل و بعد از بارداری و نرها در گروههای سالم و معتاد بودند. در روز ۱۷ بارداری جنینها مورد مطالعه قرار گرفتند. نتایج نشان داد که هروئین باعث کاهش معنی داری در وزن و طول فرق سر - نشیمنگاهی، عدم گامت زایی، کاهش گامت زایی، کاهش فعالیت های جنسی، طولانی شدن زمان لقاح، مرگ جنینها و والدین و همچنین ناهنجاریهایی در بافت های مختلف (زایده انگستی، انحراف محور بدن، عقب ماندگی رشد، خونریزیهای زیر پوستی، انحراف دم، باز بودن پلک، خمیدگیهای غیر طبیعی در ستون مهره ها و...) می شود. واژه های کلیدی: هروئین، جنین، موش سوری.

یکی از مسایل رو به افزایش در اجتماعات امروزه اثرات ناهنجاری زایی موادی است که جنین پستانداران منجمله انسان در طی دوران جنینی از طریق سد جفتی از مادر دریافت می دارد (۶) یکی از انواع این داروها اویپوتهاست که با عبور از سد جفتی بر سلامت مادر و جنین مؤثر خواهد بود (۱، ۳، ۴، ۸، ۱۰). پژوهشهای مختلفی در زمینه ناهنجاری زایی مواد مخدر بر جنین در حیوانات مختلف صورت گرفته و بعضاً نتایج مشابهی را ارائه می دهد (۱۰). Grodon و همکاران در سال ۱۹۸۵ اثر الکل را در رشد و نمو جنین موش مورد مطالعه قرار دادند. Fazel در سال ۱۹۹۵ اثر دود سیگار و اتانول را در جنین موش بررسی کرد. Salo و همکاران در سال ۱۹۹۶ نیز اثر الکل و کوکائین را در روز ۱۴ تا ۱۷ بارداری در موش مورد بررسی قرار دادند. Maqueen در سال ۱۹۹۸ نیز اثر هروئین را بر کاهش وزن جنین مطالعه کرد.

هروئین یکی از انواع مواد مخدر است که از مرفین به دست می آید. این ماده به صورت پودر کریستالی سفید رنگی است که در سال ۱۸۷۴ توسط دانشمند انگلیسی C.F. Wight کشف و به نام تتراسیتیل مرفین نامیده شد تا اینکه در سال ۱۸۹۰ دانشمند آلمانی به نام Dersser با مطالعات بیشتر دریافت که این مشتق دی استیله مرفین بوده و از آن برای معالجه اشخاص مبتلا به بیماریهای تنفسی و ترک اعتیاد به مرفین استفاده می شد و به نام هروئین که به زبان آلمانی Herosch به معنی بسیار قوی و مؤثر می باشد نامگذاری شد، این ماده را به طرق مختلف خوراکی، تزریقی و کشیدن از راه مجاری تنفسی استفاده می کنند.

هروئین به دو صورت وجود دارد یک نوع خالص که به صورت پودر نرم و سفید رنگ و دیگری ناخالص که قهوه ای رنگ است. تجزیه شیمیایی هروئین ناخالص نشان داد که این ماده از مواد مخدر مانند کافئین، کدئین، هروئین و مونواسیتیل مرفین و مواد غیر مخدر مانند پودر گلوکز، شیر خشک، پودر بیکربنات، گرد آجر و... تشکیل شده است.

هدف اصلی این پژوهش مطالعه اثر اعتیاد والدین به هروئین بر جنین موشهای سوری است تا اثر اعتیاد آنها قبل از بارداری، طی بارداری، قبل و بعد از بارداری در مادر و همچنین اثر اعتیاد پدر بر جنین مشخص گردد.



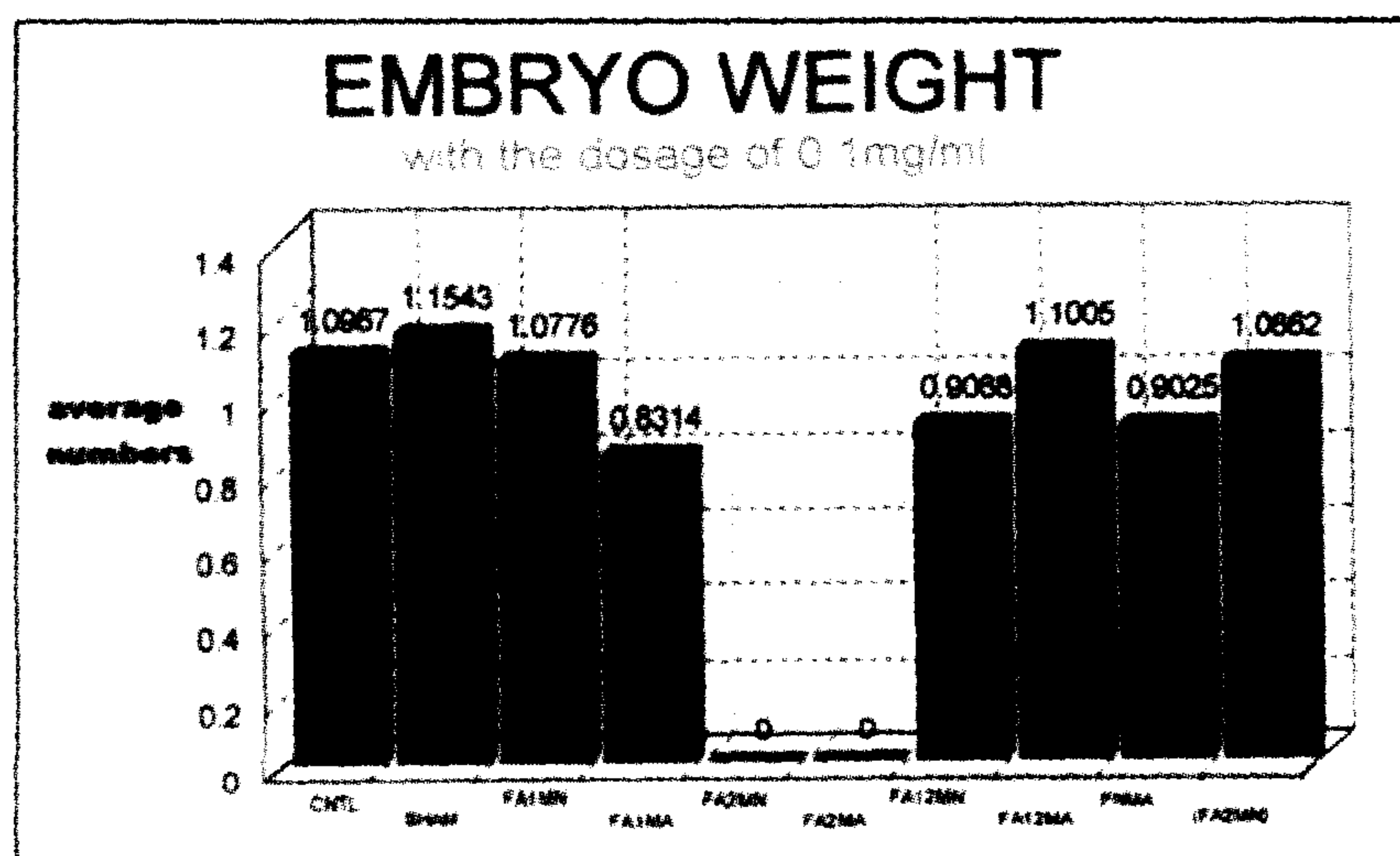
بحث

نتایج به دست آمده نشان داد که هروئین می تواند با عبور از سد جفتی و رسیدن به جنین، اثرات سوء بر جنین والدین معتاد بر جای بگذارد. در بررسیهای انجام شده مشخص شد که افزایش میزان مصرف هروئین، درصد مرگ جنینها را افزایش داده و در صورت افزایش مصرف، مرگ والدین را بدنبال خواهد داشت (۳،۷).

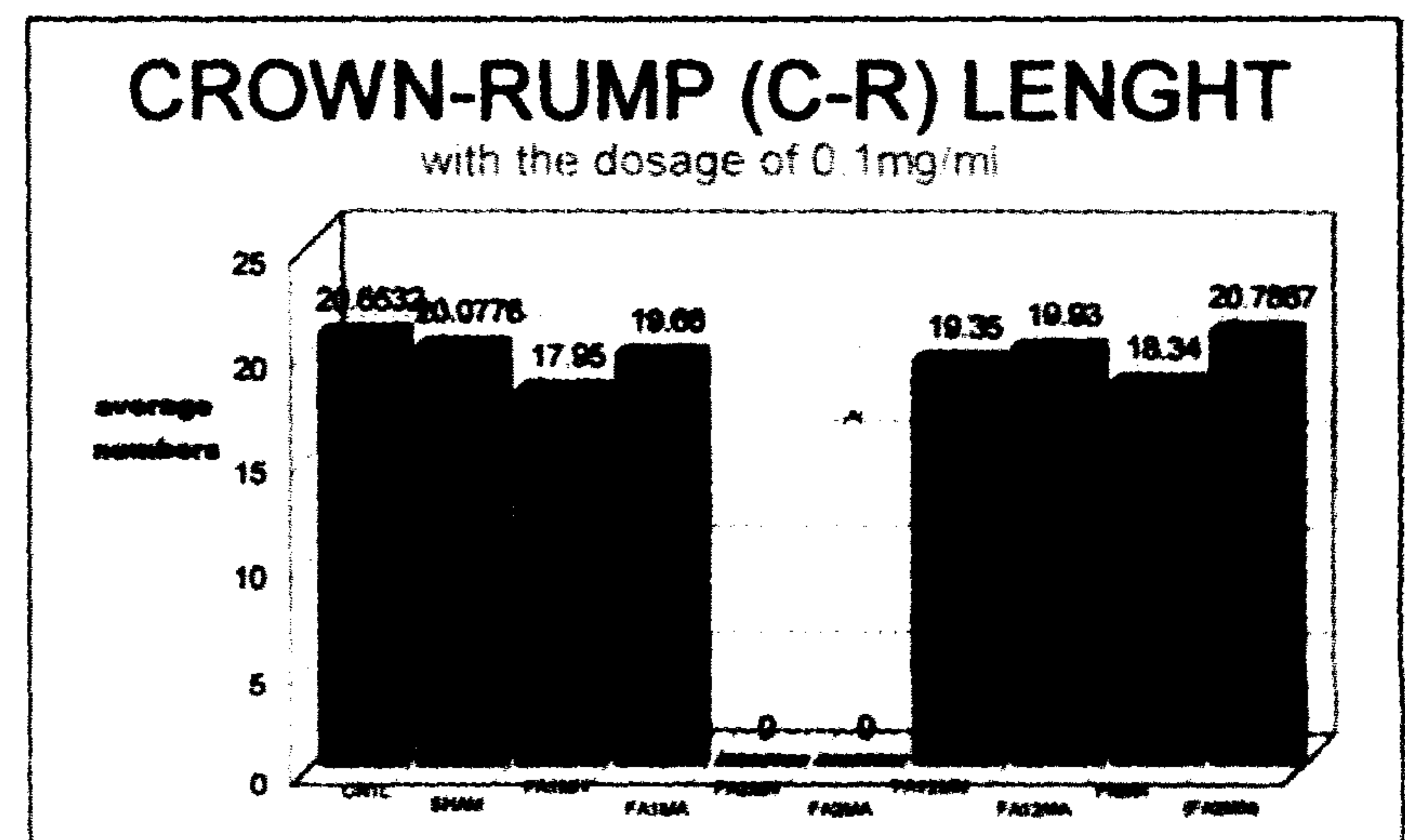
در این مطالعه مشخص شد که مصرف هروئین موجب کاهش تمایل جنسی و گامت زایی بوده که با نتایج تحقیقات قبلی تطبیق داشته (۱)، زیرا در بعضی گروهها خصوصاً گروههایی که نر، معتاد بوده (جداول ۱ الی ۳) میزان درصد حاملگی کم و گاهی در بعضی از گروهها به ۱۰۰ درصد رسیده زیرا هروئین مانند سایر اویپوتها با تأثیر بر محور مغز - هیپوفیز موجب کاهش گنادوتروپین ها و در نتیجه کاهش اووژنز و اسپرماتوژنز می شود (۱،۱۳)، به علاوه در بعضی از گروهها با مشاهده در پوش واژنی و اطمینان از بارداری حیوان باز هم حاملگی رخ نداد (جداول ۱ الی ۳) که نشان دهنده جذب جنینی و یا سقط جنینی می باشد (۱). مشاهده جنینهای آتروفیه که در بعضی از گروهها به

که از هروئین خالص استفاده کرده فاقد معنی بود (نمودار B-۱).

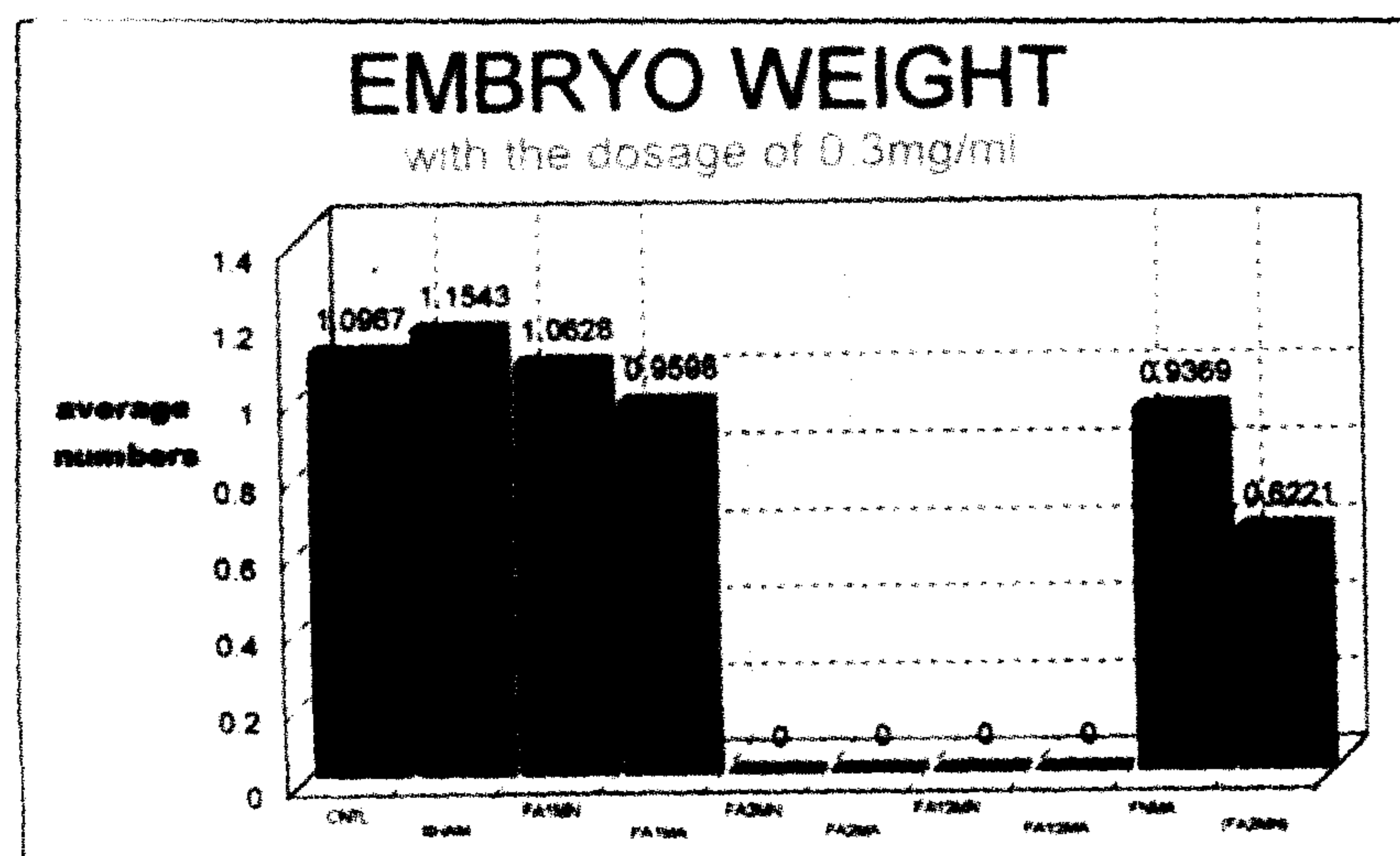
نتایج مطالعات کیفی: جهت بررسی صفات کیفی در جنین والدین معتاد به هروئین جنینها را با محلول فیکساتیو-بوئن فیکس کرده و برای مطالعه ناهنجاریهای احتمالی از میکروسکوپ مجهز به دوربین استفاده شد. در مقایسه گروههای تجربی با گروه کنترل و شم مشاهده شد که در گروههای کنترل و شم ناهنجاری در بین جنینها مشاهده نشد ولی عدم حاملگی، عدم تشکیل جنین با وجود باروری، جنینهای آتروفیه و ناهنجاری در بین گروههای تجربی دیده شد (جداول ۱-۳). این ناهنجاریها شامل جنین با خمیدگی در ناحیه ستون مهرهها، جنین کشیده، جنین با انحراف محور بدن، جنین با انحراف محور دست و پا و دم، جنین با خونریزیهای زیر پوستی، زایده انگشتی یکطرفه و دو طرفه، جنینهای رشد نکرده، جنینهای آتروفیه از مشاهدات ما در این پژوهش بود (تصاویر ۱-۱۳).



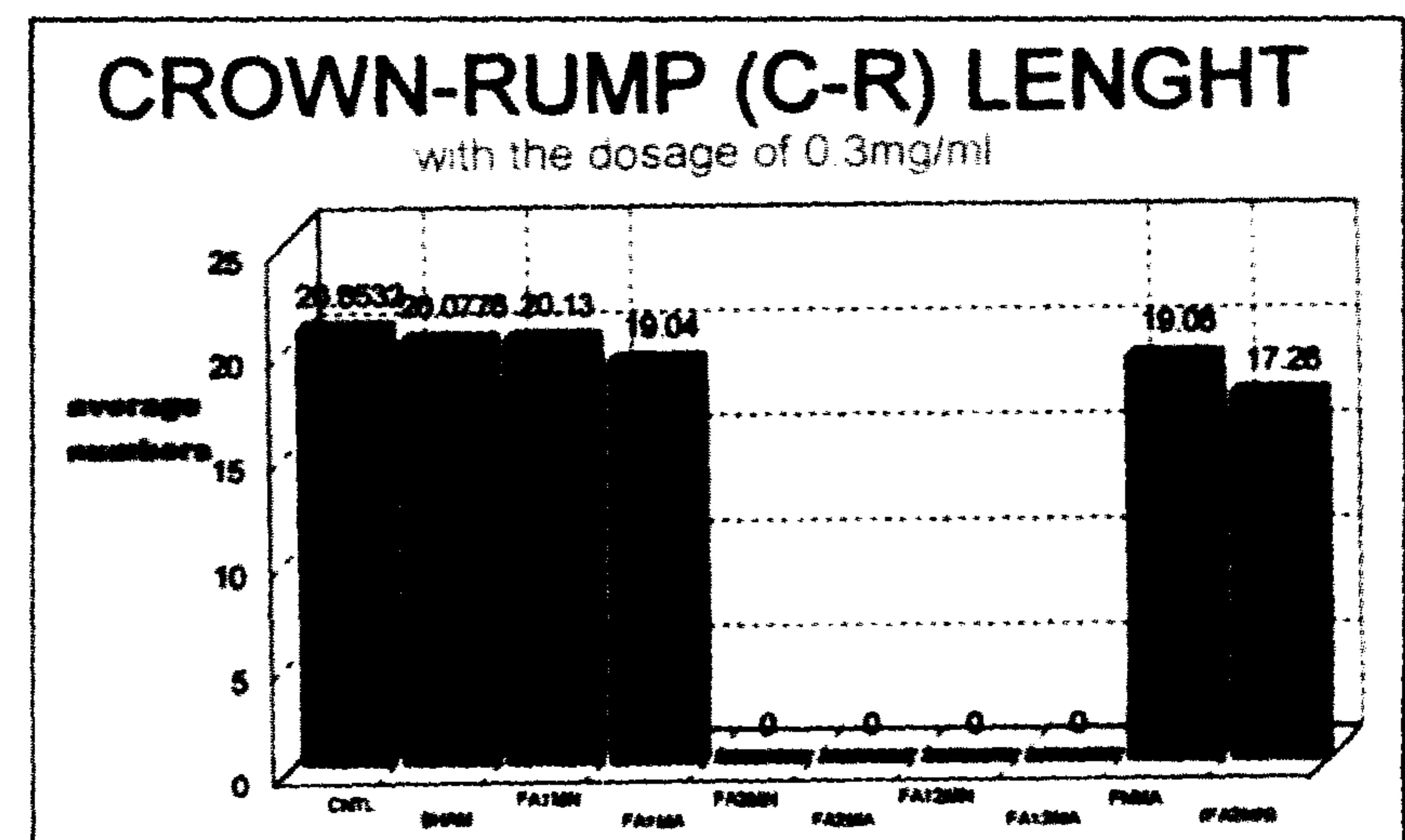
نمودار B-۱



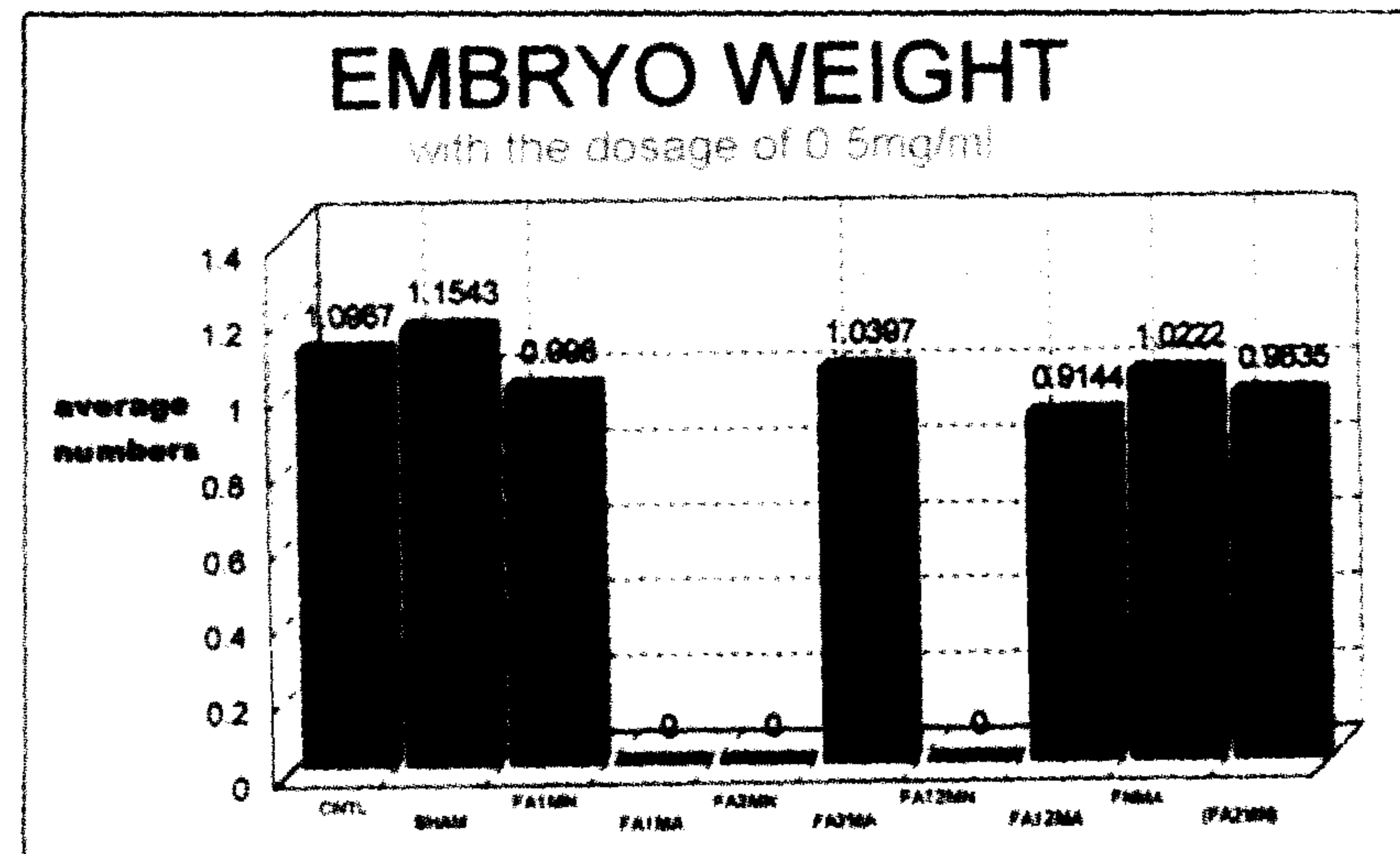
نمودار A-۱



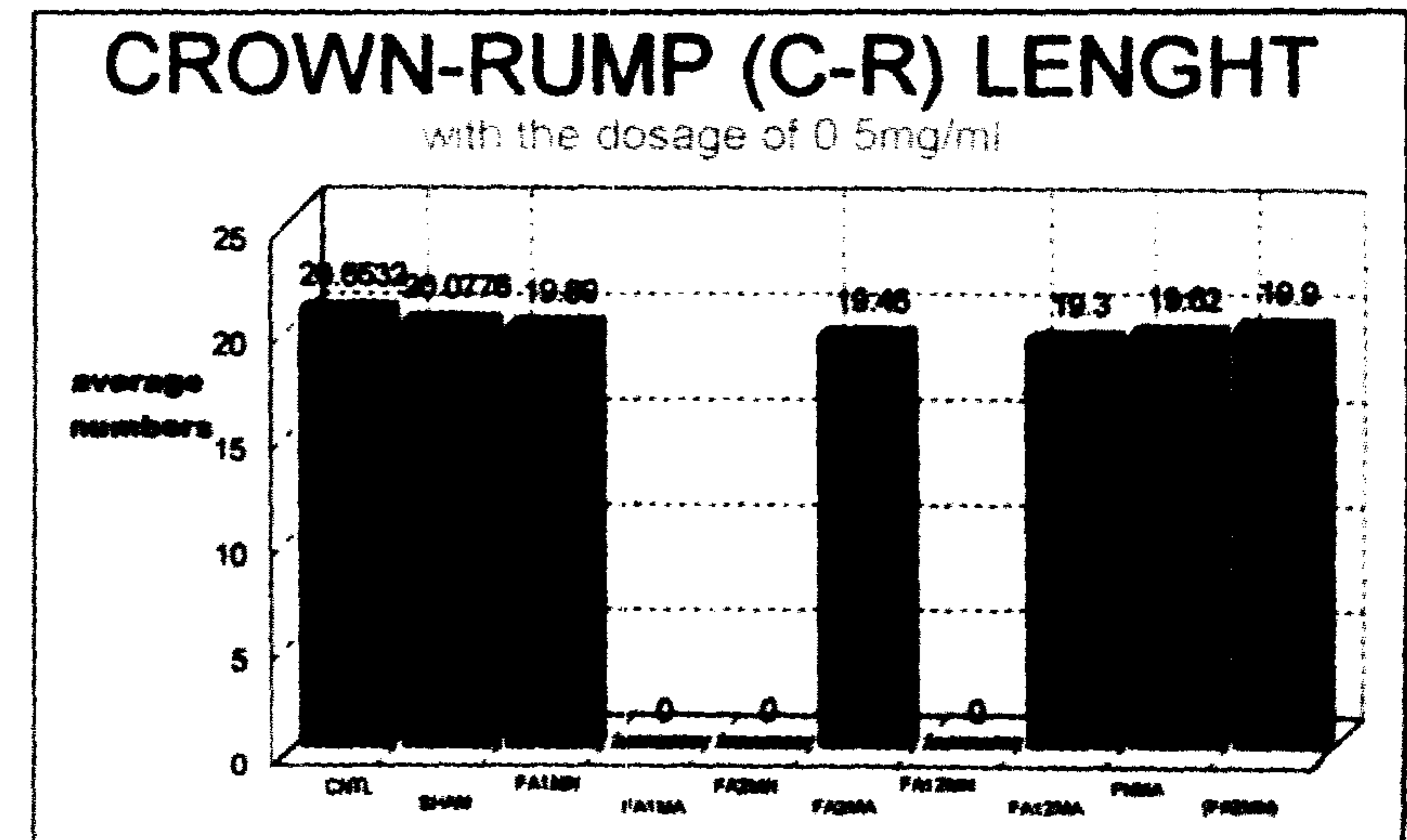
نمودار B-۲



نمودار A-۲



نمودار B-۳



نمودار A-۳



در مطالعه تغییرات کمی مانند کاهش در وزن جنین و طول فرق سر نشیمنگاه نشان دهنده تأثیر هروئین بر رشته های دوک تقسیم و کاهش تقسیم سلول در اثر هروئین است که درباره سایر اویپوتها نیز صادق است (۲،۷). به علاوه تأثیر هروئین در افزایش ترشح آدرنالین موجب تنگی عروق و در نتیجه اختلال در غذارسانی و بالاخره کاهش رشد می شود که این مسئله یکی از اثرات ثانویه تأثیر هروئین بر رشد می باشد (۷،۹).

مشاهده خمیدگیهای غیرطبیعی در ستون مهره ها و یا عدم خمیدگی نشان دهنده تأثیر هروئین بر تأخیر تبدیل سلولها به غضروف و عدم تکوین دیسک بین مهره است. زیرا در جنین پستانداران مانند موش ابتدا جنین به طور طبیعی C تصویر شده و خمیدگیهای سری - گردنی موجب می شود که جنین حالت طبیعی حاصل کند ولی اثر هروئین بر جنین در تبدیل جنین C تصویر به جنین طبیعی وقفه حاصل کرده و جنین در این مرحله باقی می ماند (۶، ۷، ۱۱).

۱۰۰ درصد رسیده، می تواند به دلیل عدم خونرسانی کافی به جفت، کمخونی دیواره رحم و نازک شدن دیواره رحم، که باعث توقف رشد جنینی است باشد، و در گروههایی که ماده سالم و نر معتاد بودند، وضعیت جنینها عموماً بهتر از گروههای مادر معتاد است که نشان دهنده مداومت اثر هروئین بر جنین در این گروهها و دریافت این ماده از طریق جفت می باشد. زنده ماندن جنینها و مشاهده ناهنجاری کمتر، در گروه FA₂MN که از هروئین با مقدار مصرف ۰/۵ میلی گرم / میلی لیتر استفاده کرده اند نسبت به گروه مشابه با مقدار مصرف ۰/۳ میلی گرم / میلی لیتر نشان دهنده این است که مهار گیرنده اویپوتها با مقدار مصرف بالاتر، درصد کمتری از تغییر و مرگ و ناهنجاری را موجب می شود و نشان می دهد که مصرف مقادیر پایینتر برای مهارگیرندهها کافی نیست (۱) که این نتیجه عیناً در گروه FA₂MN که از هروئین خالص با مقدار مصرف ۰/۵ میلی گرم / میلی لیتر استفاده کرده اند مشاهده شد.

جدول ۱- درصد جنینهای طبیعی و غیر طبیعی در گروههای مختلف موشهای سوری با میزان مصرف ۰/۱ میلی گرم / میلی لیتر هروئین

ردیف	گروهها	درصد جنین طبیعی	درصد جنین غیر طبیعی	درصد حاملگی با جنین	درصد حاملگی بدون جنین	بدون حاملگی
۱	CNTL	۱۰۰	۰	۱۰۰	-	-
۲	SHAM	۱۰۰	۰	۱۰۰	-	-
۳	FA ₁ MN	۷۵	۲۵	۵۰	-	۵۰
۴	FA ₁ MA	۱۷/۱	۱۲/۹	۳۰	۲۰	۵۰
۵	FA ₂ MN	۰	۵۰ همگی آتروفیه	۵۰	۵۰	-
۶	FA ₂ MA	-	-	-	-	۱۰۰
۷	FA ₁₂ MN	۲۵	۲۵	۵۰	-	۵۰
۸	FA ₁₂ MA	۵	۲۰	۲۵	۲۵	۵۰
۹	FAMN	۴۰	۱۰	۵۰	۲۰	۳۰
۱۰	(FA ₂ MN) خالص	۴۰	۱۰	۵۰	۵۰	-

جدول ۲- درصد جنینهای طبیعی و غیر طبیعی در گروههای مختلف موشهای سوری با میزان مصرف ۰/۳ میلی گرم / میلی لیتر هروئین

ردیف	گروهها	درصد جنین طبیعی	درصد جنین غیر طبیعی	درصد حاملگی با جنین	درصد حاملگی بدون جنین	بدون حاملگی
۱	CNTL	۱۰۰	۰	۱۰۰	-	-
۲	SHAM	۱۰۰	۰	۱۰۰	-	-
۳	FA ₁ MN	۵۰	۵۰	۱۰۰	-	-
۴	FA ₁ MA	۱۰	۱۵	۲۵	۲۰	۵۵
۵	FA ₂ MN	-	-	-	۱۰۰	-
۶	FA ₂ MA	-	-	-	-	۱۰۰
۷	FA ₁₂ MN	-	-	-	۵۰	۵۰
۸	FA ₁₂ MA	-	-	-	-	۱۰۰
۹	FAMN	۴۵	۲۰	۶۵	-	۲۵
۱۰	(FA ₂ MN) خالص	۱۲/۵	۳۷/۵	۵۰	-	۵۰

جدول ۳- درصد جنینهای طبیعی و غیر طبیعی در گروههای مختلف موشهای سوری با میزان مصرف ۰/۵ میلی گرم / میلی لیتر هروئین

ردیف	گروهها	درصد جنین طبیعی	درصد جنین غیر طبیعی	درصد حاملگی با جنین	درصد حاملگی بدون جنین	بدون حاملگی
۱	CNTL	۱۰۰	۰	۱۰۰	-	-
۲	SHAM	۱۰۰	۰	۱۰۰	-	-
۳	FA ₁ MN	۳۰	۳۰	۶۰	۲۰	۲۰
۴	FA ₁ MA	-	-	-	۳۰	۷۰
۵	FA ₂ MN	-	۱۰۰ جنینها همگی آتروفیه	۱۰۰	-	-
۶	FA ₂ MA	۲۵	۲۵	۵۰	-	۵۰
۷	FA ₁₂ MN	-	۳۰ آتروفیه	۳۰	۲۰	۵۰
۸	FA ₁₂ MA	۱۵	۱۰	۲۵	۲۰	۵۵
۹	FAMN	۳۵	۱۵	۵۰	-	۵۰
۱۰	(FA ₂ MN) خالص	۱۶/۷	۳۳/۳	۵۰	-	۵۰

ماده F=Female، N=Normal، M=Male، سالم، A=Addict، معتاد، CNTL، کنترل، ۱= قبل از باروری، ۲= قبل و بعد از باروری ۱۲.

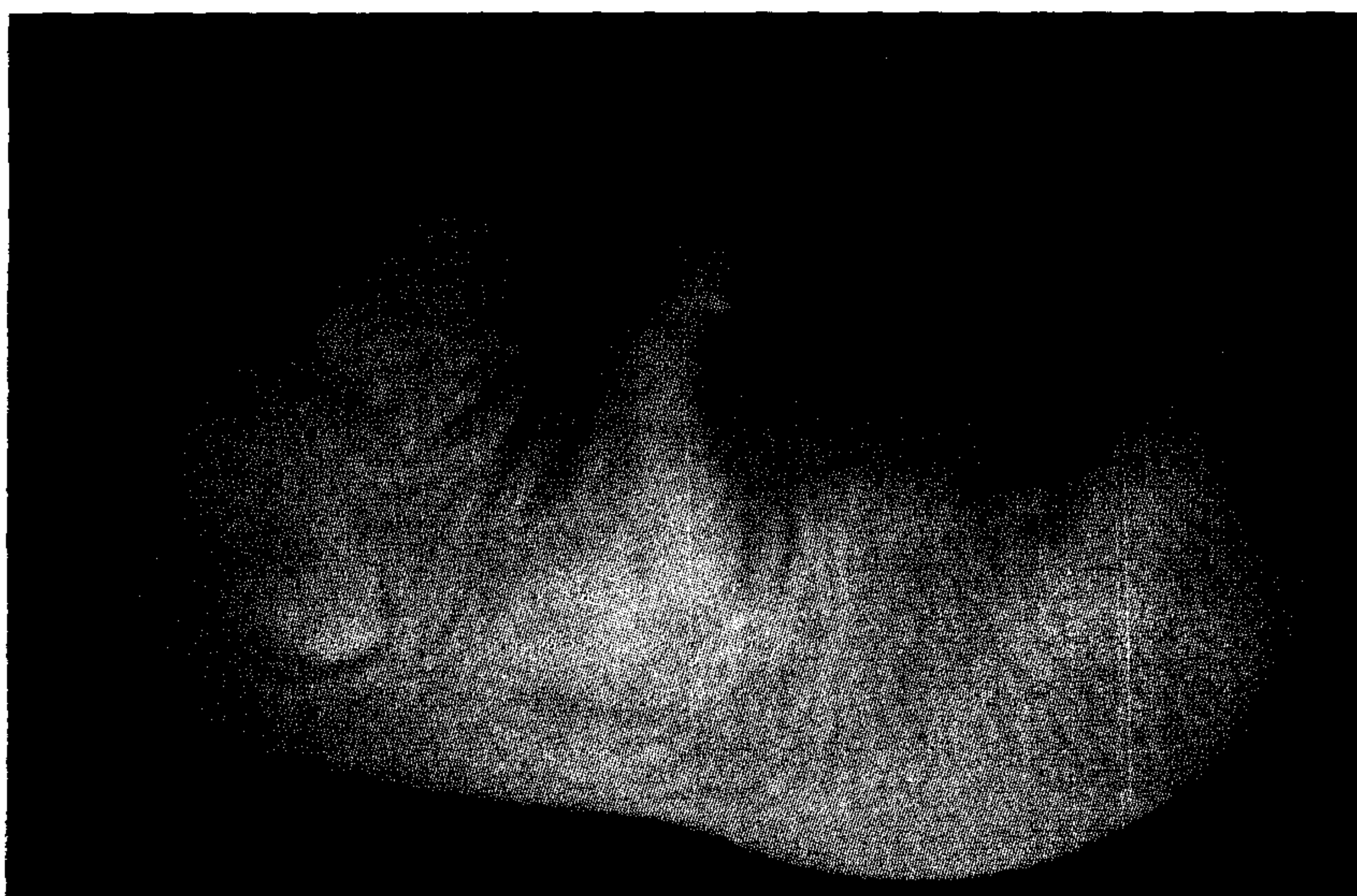




تصویر ۲- جنین سالم ۱۷ روزه موس سوری (بزرگنمایی ۲۰×)



تصویر ۱- یکی از شاخه‌های رحم در موس بیمار شده با هروئین



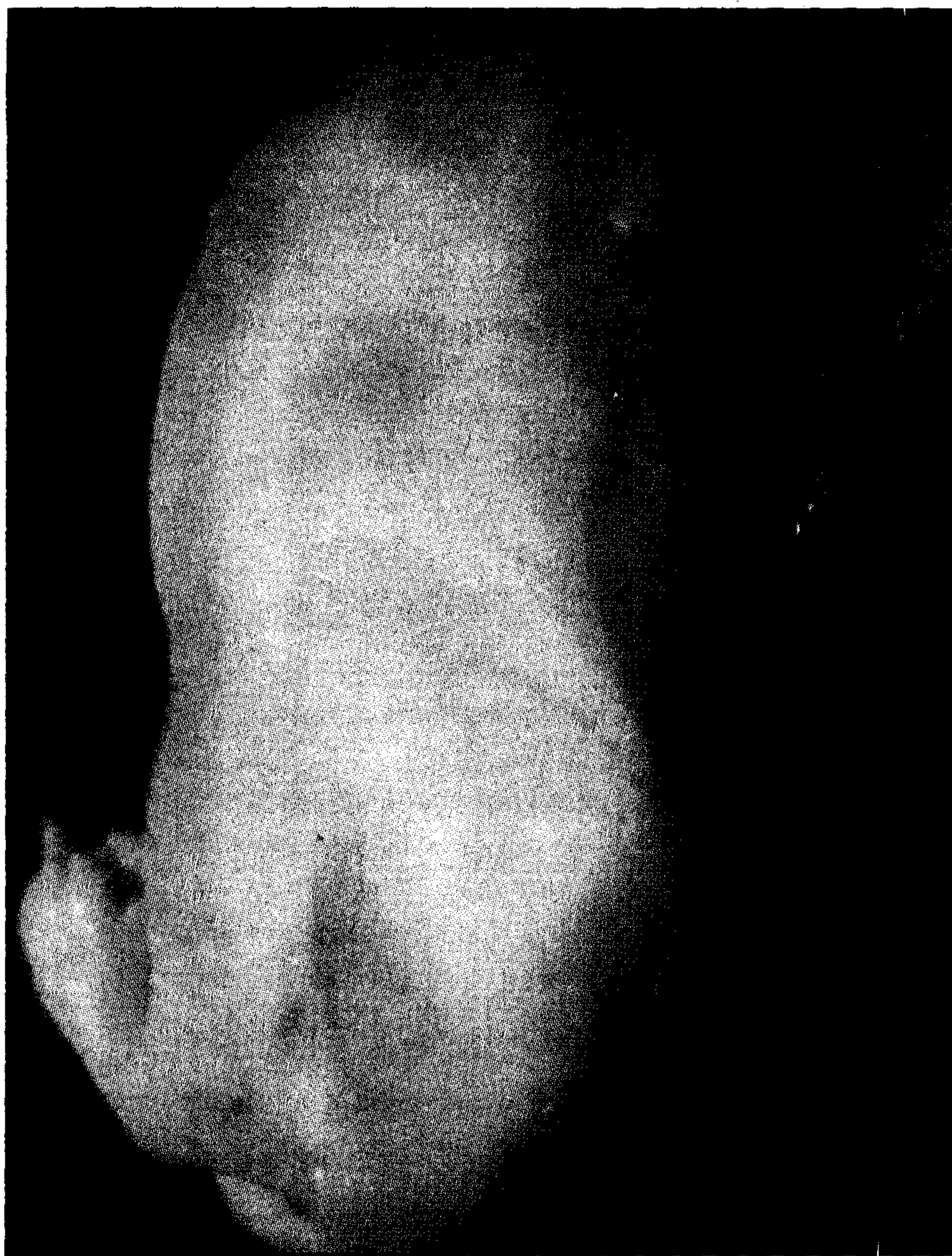
تصویر ۳- رابده انگشتی دو طرفه در جنین ۱۷ روزه بیمار شده با هروئین (بزرگنمایی ۴۰×)



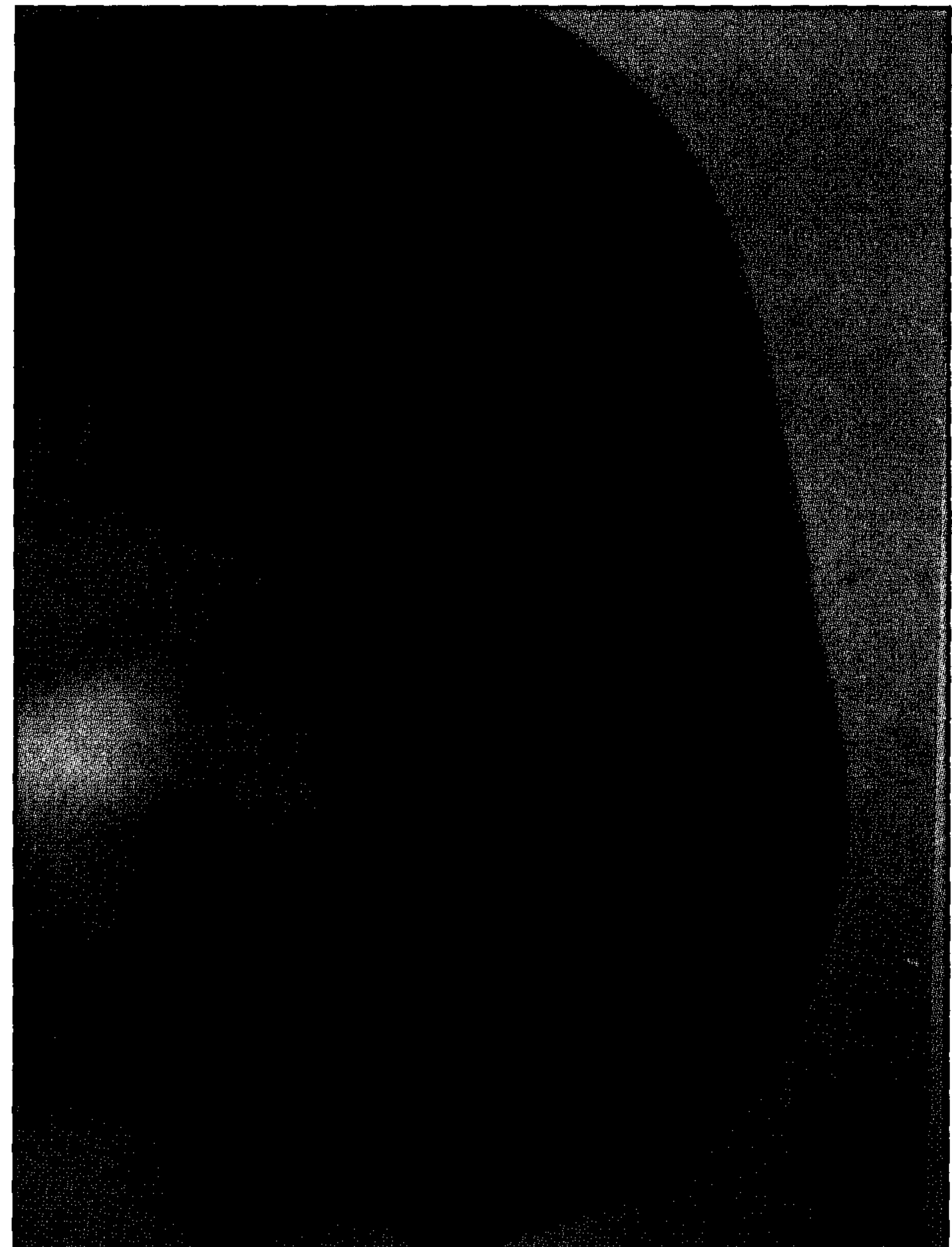
تصویر ۵- انحراف در محور اندام حرکتی نخانی (بزرگنمایی ۲۰×)



تصویر ۴- انحراف در محور اندام فوقانی (بزرگنمایی ۲۰×)



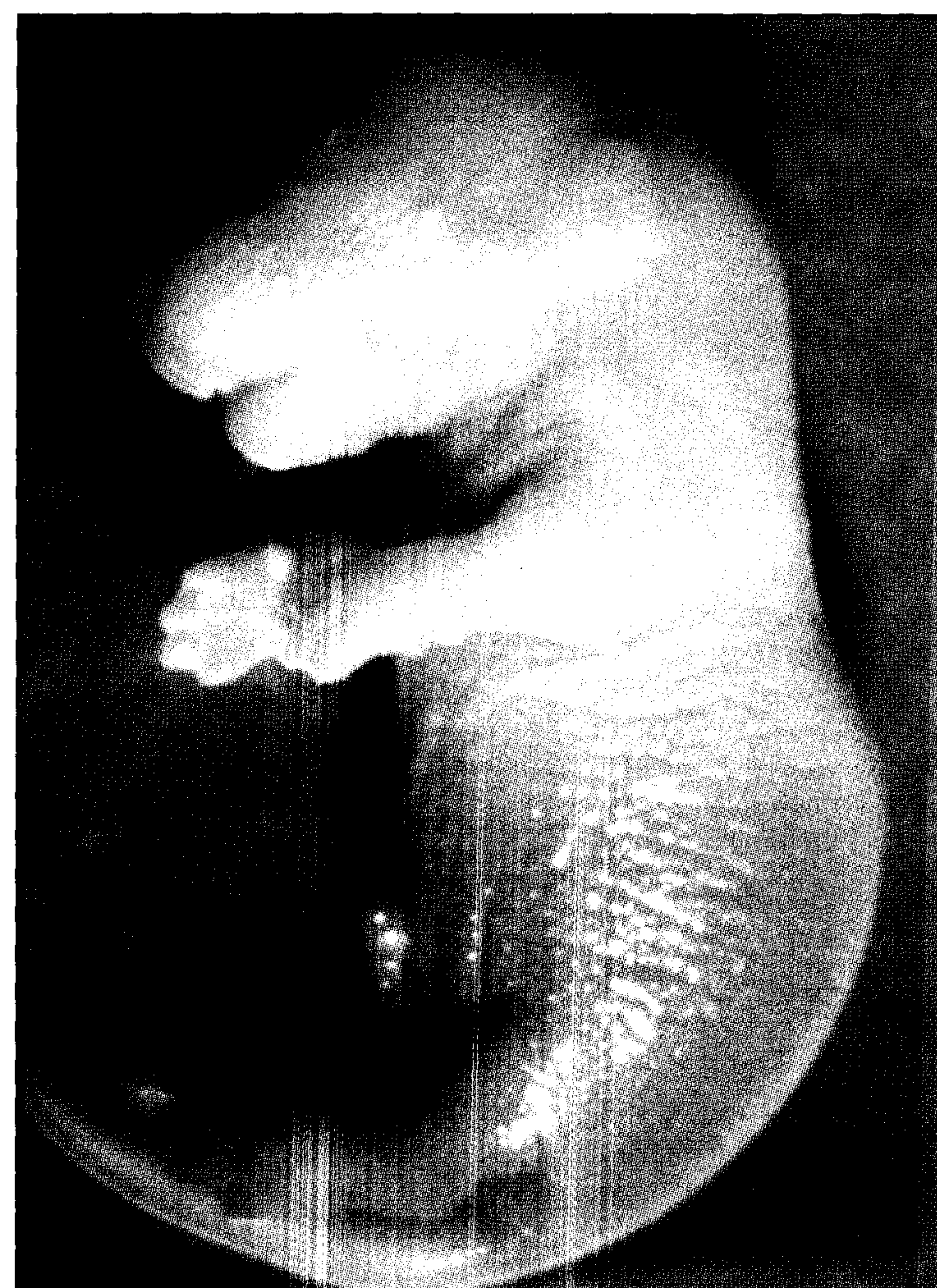
تصویر ۷- انحراف در سطح پشتی (بزرگنمایی ۱۰×)



تصویر ۶- انحراف در محور دم (بزرگنمایی ۱۰×)

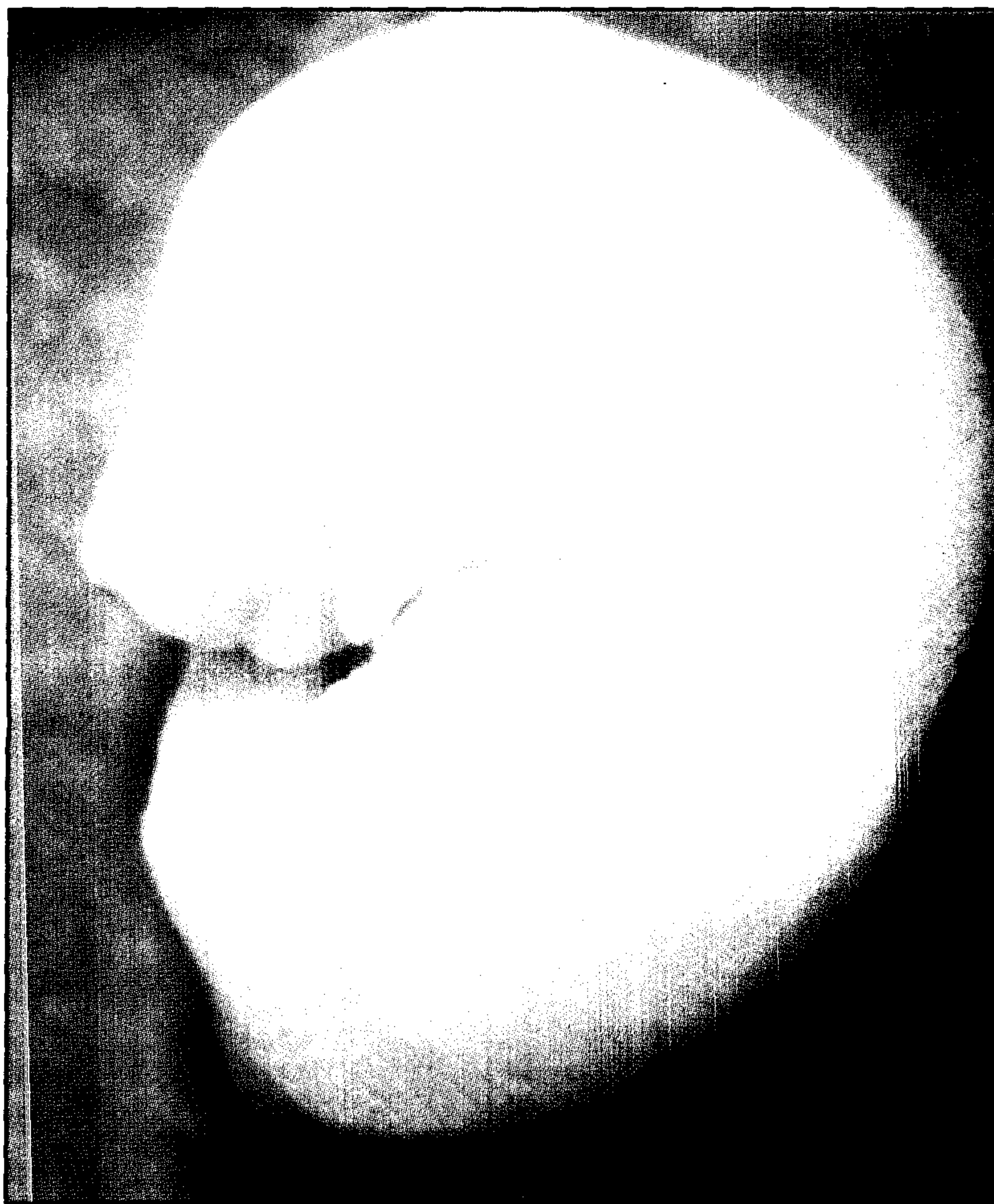


تصویر ۹- عقب ماندگی رشد در جنین ۱۷ روزه تیمار (بزرگنمایی ۱۰×)



تصویر ۸- جنین کشیده (بزرگنمایی ۱۰×)





تصویر ۱۱- جنین خمیده یا C تصویر (بزرگنمایی ۱۰×)



تصویر ۱۰- جنین ۱۷ روزه با پلک باز (بزرگنمایی ۱۷×)



تصویر ۱۳- خونریزی در ناحیه پشت (بزرگنمایی ۱۰×)



تصویر ۱۲- انحراف در محور اندام حرکتی تحتانی (بزرگنمایی ۱۰×)

بوده که نتیجه تأثیر هروئین بر دیواره رگها است (۱). استفاده از هروئین خالص در آخرین گروه جدول (FA₂MN) موشهای مورد آزمایش و مقایسه آن با گروه مشابه که از همین میزان هروئین ولی به صورت ناخالص دریافت داشته‌اند نشان دهنده مصرف همزمان چند ماده مخدر که درصد تغییرات کمی و کیفی را نسبت به مصرف تک تک آنها بالا می‌برد، می‌باشد (۱،۲).

تغییر در محورهای دست، پا، دم و ستون مهره‌ها و عدم رشد طبیعی محور این بخشها نشان دهنده اثر هروئین بر توزیع گلیکوزآمینوگلیکانها و در نتیجه تأثیر بر میدانهای ریخت زایی اندامهای حرکتی است (۷، ۵، ۱). مشاهده جنین با پلک باز نشان دیگری از کاهش رشد در اثر هروئین است که در مورد تأثیر سایر اویپوتها بر رشد نیز صادق است (۱،۷). خونریزیهای زیر پوستی یکی دیگر از مشاهدات ما در این پژوهش است که نتیجه اختلالاتی در انعقاد خون و عمل پلاکتها و به‌علاوه کاهش مقاومت رگها

References

1. لاهیجانی، ش.، سخنور، م. (۱۳۷۶): پایان نامه کارشناسی ارشد، گرایش تکوینی. بررسی جنین والدین معتاد به مرفین در موش سوری، دانشگاه شهید بهشتی.
2. Aufrere, G. Le-Bourhis, B. (1987): Effect of alcohol intoxication during pregnancy on fetal and placental weight: experimental studies. *Alcohol-Alcohol*. 22, 4: 401-7.
3. Brands, B., Baskerville, J.c., Hirst, M. Gowdiey, C.W. (1979): Dependence in rats after one injection of heroin, LAAM or hydromorphone-zinc tannate. *Pharmacol-Biochem-Behav*. Sep. 11, 3: 279-82.
4. Baran, D.T. (1982): Alcohol-induced inhibition of fetal (25-C₃H). Hydroxyvitamin D and alpha-(14C) aminoisobutyric acid accumulation in the pregnant rat. *Endocrinol*. 111, 4: 1109-14.
5. Fazel, A.R. (1995): Cigarette smoke/ethanol, induced limb defects in mouse embryos. *Medical Journal of the Islamic Republic of Iran*, 9, 333-40.
6. Fraser, F.C. (1977): Interaction and multiple causes In: *Handbook of Teratology*. Edited by Wilson and Fraser eds. Vol 1. PP: 445-463.
7. Grodon, B.H., Streeter, M.L., Rosso, P., Winick, M. (1985): Prenatal alcohol exposure: Abnormalities in placental growth and fetal amino acid uptake in the rat. *Biol-Neonate*. 47, 2: 113-4.
8. Johnson J.H., Rosecrans, J.A. (1980): Blockade of ovulation by methadone in the rat: A central nervous system-mediated acute effect. *J. Pharmacol Exp. Ther*. 213, 1: 110-13.
9. Macqueen, A.R. (1998): Maternal use of heroin and methadone and infant birth weight. *Addiction* 93, 9: 1433-1434.
10. Nehlig, A., Debry, G. (1994): Potential teratogenic and neurodevelopmental consequences of coffee and caffeine exposure: a review on human and animal data. *Neurotoxicol-Teratol*. 16, 6: 531-43.
11. Parivar, K. (1993): *Atlas of embryology and experimental embryology*. 440-95.
12. Salo, A.L., Randall, C.L., Becker, H.C. (1996): Effect of acute ethanol and cocaine administration on gestation days 14-17 in mice. *Alchol*. 13, 4: 369-75.
13. Xiao, E., Luckhaus, J., Niemann, W., Ferin, M. (1989): Acute inhibition of gonadotropin secretion by corticotropin releasing hormone in the primate. *Endocrinology*. 124, 4: 1632-7.

The effect of oral administration of heroin on the embryo of addicted Balb/C mice

Tootian, Z.¹, Fazelpour, S.²

¹Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran – Iran. ²Department of Biology Sciences, Faculty of Sciences, University of Tehran, Tehran – Iran. *J. Fac. Vet. Med. Tehran. Univ.* 56, 4: 73-79, 2001.

In this study, the effects of heroin on the embryo of addicted mice were determined. For this purpose, the parents were addicted with gradual increase in concentration of heroin (0.1, 0.3 and 0.5 mg/ml, in drinking water). The female and male mice were categorized in 5 groups: females as pre-pregnant addicts, post-pregnant addicts and pre and post-pregnant addicts and males in healthy and addicted groups. On the 17th day of pregnancy, it was found that the decrease in embryo's weight and crown rump length, were significant. Also we reconfirmed that crown rump length, absence, or decrease of gametogenesis and decrease of sexual activities, prolonged fertilization period, embryo and parental death, and also abnormalities in different tissues (digital process., diversion of body axis, growth stunting, subcutaneous hemorrhagia, tail diversion, opened eyelids, abnormal flexures, in vertebral column, etc).

Key words: Heroin, Embryo, Mice.

