

اثرات تراتوژنیک هیپرترمی بر روی تکامل رویانی موش صحرائی

دکتر غلامرضا حسن زاده * دکتر مهناز آذرینیا ** یزدانقلی ابراهیمی ***

The study Teratogenic effects of hyperthermia on rat embryonic development

Gh.Hassanzadeh, M.Azarnia, Y.Ebrahimi,

⊥ Abstract

Background: The hyperthermia is the increase in mammalian's body temperature above normal that affects the embryo during the critical stage of gestational term and may cause some congenital malformations.

Objective: The aim of this study was understanding the teratogenic effects of hyperthermia on the rat embryonic development.

Methods: In this study 50 female rats of Sprague Dawley strain were used and their body temperature was determined by rectal measurement. Then female pregnant rats were divided to seven groups (one control group and six experimental groups).

The female pregnant rats from 9 to 14 days of gestation, were put in the incubator in three stage during a day and were remained in the incubator for 10 minutes on 85°C that their body temperature increased to 41°C. Rats in control group were put in incubator at similar situation except the temperature which was kept on 40°C to increase only 1°C to their body temperature. Then, on 20th day of gestation their fetuses were taken out and examined.

Findings: Results showed that congenital malformations such as microphthalmia, anophthalmia, maxillary hypoplasia, IUGR and fetal death were observed in the groups that affected by hyperthermia on the days 9,10 and 11.

Conclusion: Hyperthermia is a teratogenic factor which its effects in organogenic period causes congenital malformations.

Keywords: Hyperthermia, Congenital Malformation, Anomaly and Teratogenic Effects

⊥ چکیده

زمینه: هیپرترمی به معنی افزایش دمای طبیعی بدن پستانداران در مراحل حساس بارداری است که ممکن است باعث ناهنجاری های مادرزادی شود.

هدف: مطالعه به منظور تعیین اثرات تراتوژنیک هیپرترمی بر روی تکامل رویانی موش صحرائی انجام شد.

مواد و روش ها: در این مطالعه تجربی، ۵۰ رأس موش صحرائی ماده باردار از نژاد اسپراگو-داولی مورد استفاده قرار گرفتند. ابتدا دمای طبیعی بدن آنها به وسیله دماسنج جیوه ای از طریق رکتوم اندازه گیری شد. سپس موش ها به هفت گروه (یک گروه شاهد و شش گروه تجربه) تقسیم شدند. موش های گروه های تجربه در روزهای ۹ تا ۱۴ بارداری طی سه مرحله و هر مرحله ده دقیقه در دمای ۸۵ درجه سانتی گراد به صورت جداگانه درون انکوباتور حرارت داده شدند. در هر مرحله ۵ دقیقه برای رسیدن دمای بدن به ۴۱ درجه سانتی گراد و ۵ دقیقه برای ایجاد شوک حرارتی بود. موش های گروه شاهد نیز در شرایط مشابه درون انکوباتور قرار گرفتند ولی درصد حرارت انکوباتور در حد ۴۰ درجه سانتی گراد تنظیم شد تا دمای بدن موش ها، فقط یک درجه سانتی گراد افزایش یابد. در روز ۲۰ بارداری جنین ها خارج شده و مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته ها: در گروه هایی که روزهای ۹، ۱۰ و ۱۱ تحت تأثیر هیپرترمی قرار گرفته بودند، ناهنجاری هایی مانند میکروفتالمی، آنوفتالمی، هیپوپلازی ماگزایلا، عقب ماندگی رشد داخل رحمی و مرگ جنین مشاهده شد.

نتیجه گیری: هیپرترمی یک عامل تراتوژن است که تأثیر آن در مراحل ارگانوژنز باعث ناهنجاری های مادرزادی می شود.

کلید واژه ها: هیپرترمی، ناهنجاری های مادرزادی، آنومالی و اثرات تراتوژنیک

* دانشیار علوم تشریح دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی قزوین

** دانشیار بافت شناسی و جنین شناسی دانشگاه تربیت معلم تهران

*** کارشناس ارشد علوم جانوری با گرایش تکوینی

۱. مقدمه :

هیپرترمی به معنی افزایش دمای بدن به میزان ۲ تا ۲/۵ درجه سانتی گراد بیش از دمای طبیعی است که به عنوان یکی از عوامل تراتوژن شناخته شده است. بنابراین، در موش که دمای طبیعی بدنش حدود ۳۷ تا ۳۸ درجه سانتی گراد است، دمای حدود ۳۹ تا ۴۱ درجه سانتی گراد تراتوژن محسوب می شود.^(۱۷)

مرحله حساس دوره بارداری نسبت به اثرات هیپرترمی و سایر عوامل ناهنجاری زا، در تمام پستانداران جفت دار، مرحله رویانی است. تأثیر هیپرترمی قبل از این مرحله، بسیار اندک است و سبب ایجاد ناهنجاری نمی شود، بلکه باعث مرگ جنینی می شود و بعد از مرحله مذکور تأثیر چندانی نخواهد داشت. این مرحله حساس در موش روزهای نهم و دهم بارداری است.^(۳) عوامل به وجود آورنده هیپرترمی عبارت اند از: عوامل طبیعی از جمله تب، گرمای بیش از حد محیط، کم آبی بدن، فعالیت های شدید بدنی یا تأثیر جمعی دو یا چند عامل فوق و عوامل تجربی از جمله انکوباسیون، حمام آب داغ، پرتوهای الکترومغناطیسی با طول موج کوتاه، داروها، لوله داغ و حمام سونا.^(۱۲،۱۱،۱۰،۷،۱۱،۱۳،۴)

مطالعه های اپیدمیولوژیک و تجربی انجام شده بر روی حیوان های آزمایشگاهی و مطالعه های آینده نگر بر روی انسان، نشان داده اند که هیپرترمی در انسان نیز قادر به ایجاد ناهنجاری به خصوص ناهنجاری های لوله عصبی است.^(۱۴)

هیپوترمی که به پایین آمدن دمای بدن گفته می شود به جز در موارد بسیار شدید، ناهنجاری زا نیست.^(۲۱) هدف از انجام این پژوهش، تعیین اثرات تراتوژنیک هیپرترمی مراحل مختلف تکامل رویانی موش صحرایی نژاد اسپراگو-داولی بود.

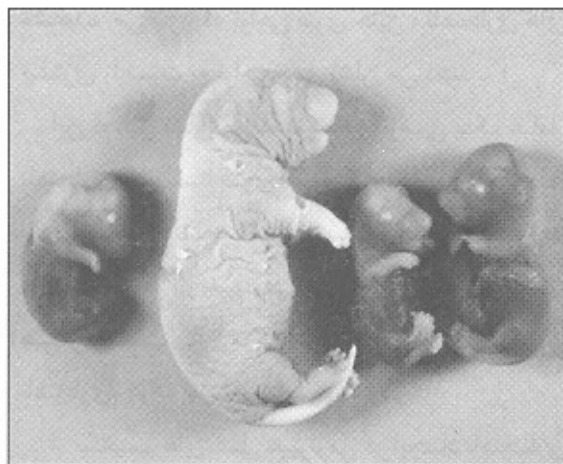
۱. مواد و روش ها :

در این مطالعه تجربی که در سال ۱۳۸۰ در دانشگاه علوم پزشکی قزوین انجام شد، ۵۰ راس موش ماده باردار نژاد اسپراگو-داولی، به هفت گروه (یک گروه شاهد و شش گروه تجربه) تقسیم شدند. ابتدا دمای طبیعی بدن موش ها با استفاده از دماسنج جیوه ای به روش مقعدی اندازه گیری شد که ۳۷ تا ۳۸ درجه سانتی گراد بود. برای ایجاد هیپرترمی، موش های باردار به ترتیب در روزهای ۹ تا ۱۴ بارداری به صورت گروه های مجزا (۶ تا ۷ موش در هرگروه) به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۸۵ درجه سانتی گراد، درون انکوباتور قرار گرفتند تا دمای بدن آنها به ۴۱ درجه سانتی گراد برسد. در مدت ۵ دقیقه بدن حیوان به ۴۱ درجه سانتی گراد می رسید و ۵ دقیقه بعد برای ایجاد شوک حرارتی بود.

موش های باردار گروه کنترل نیز در شرایط مشابه به مدت ۱۰ دقیقه در انکوباتور با دمای ۴۰ درجه سانتی گراد قرار گرفتند تا حدی که حرارت بدن آنها بیش از یک درجه سانتی گراد افزایش نیابد. موش های کنترل و تجربه در شرایط یکسان نگه داری شدند و در روز بیستم و به وسیله استرئومیکروسکوپ مورد مطالعه قرار گرفتند. برای بررسی دقیق تر جنین ها، مقاطع میکروسکوپی به صورت سریال نیز تهیه و با هماتوکسین و اتوزین رنگ آمیزی شد.

۱. یافته ها :

از ۷ موش بارداری که در روز نهم بارداری تحت تأثیر هیپرترمی قرار گرفتند، ۳۵ جنین به دست آمد که ۱۲ رأس (۳۴/۲۸ درصد) دچار جذب مجدد شده بودند و این جنین های جذب مجدد شده مربوط به دو رأس از موش ها بود. بقیه جنین ها کاملاً طبیعی بودند. از ۷ موش بارداری که در روز دهم بارداری تحت تأثیر



شکل ۲- مقایسه جنین های دارای عقب ماندگی رشد داخل رحمی (سمت راست و چپ) با یک جنین دارای اندازه طبیعی (وسط)

بحث و نتیجه گیری :

این تحقیق نشان داد که ناهنجاری هایی مانند میکروفتالمی، آنوفتالمی، کوچکی آرواره بالا، عقب ماندگی رشد داخل رحمی و مرگ جنین می توانند در نتیجه هیپرترمی در روزهای ۱۰، ۹ و ۱۱ بارداری ایجاد شوند.

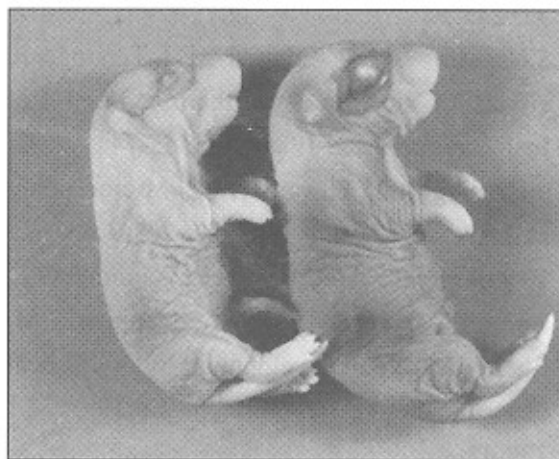
محققین اعتقاد دارند در روزهای ۹ تا ۱۱، مرحله تکوینی گاسترولا تکمیل و مرحله ارگانوژنز شروع می شود.^(۲۰) بنابراین علت حساسیت بالا نسبت به هیپرترمی در روزهای فوق قابل توجه است. در برخی از تحقیقات، به ناهنجاری هایی مانند مهره شکافدار، آنسفالوسل و آنانسفالی که در نتیجه هیپرترمی ایجاد می شوند، اشاره شده است که با نتایج این تحقیق مطابقت کامل ندارد.^(۱۴)

امروزه مشخص شده است ناحیه سری سیستم عصبی مرکزی نسبت به اثرات عوامل ناهنجاری زا حساسیت بیشتری دارد و دلیل احتمالی آن یک گرادیان شیمیایی در این ناحیه است.^(۳) در این تحقیق نیز

هیپرترمی قرار گرفتند، ۴۹ جنین به دست آمد که ۱۱ رأس (۲۲/۴ درصد) بازجذب شده بودند، ۱۰ جنین (۲۰/۴ درصد) در مرحله گاسترولا باقی ماندند و از ۲۸ جنین باقی مانده، ۲۲ جنین (۴۵ درصد) دارای ناهنجاری بودند. ۶ جنین (۱۲/۲ درصد) نیز کاملاً طبیعی بودند. از ۲۲ جنین ناهنجار، ۸ مورد (۲۸/۵ درصد) دچار میکروفتالمی، ۵ مورد (۱۷/۱۴ درصد) دچار آنوفتالمی، ۴ مورد (۱۴/۳ درصد) دچار هیپوپلازی ماگزایلا و ۵ مورد (۱۷/۱۴ درصد) دچار عقب ماندگی رشد داخل رحمی بودند (شکل های شماره ۱ و ۲).

از ۷ موش بارداری که در روز یازدهم تحت تاثیر هیپرترمی قرار گرفتند، ۳۲ جنین به دست آمد که ۵ رأس (۱۵/۶۲ درصد) بازجذب شده؛ ۶ جنین (۱۸/۷۵ درصد) در مرحله گاسترولا باقی مانده؛ ۹ جنین (۲۸/۱۲ درصد) دچار عقب ماندگی رشد داخل رحمی و ۱۲ جنین (۳۷/۵۱ درصد) طبیعی بودند.

۲۰ موش بارداری که در روزهای دوازدهم، سیزدهم و چهاردهم تحت تاثیر هیپرترمی قرار گرفتند، دارای ۱۳۴ جنین بودند که همه آنها طبیعی بودند. در گروه کنترل نیز هیچ گونه ناهنجاری مشاهده نشد.



شکل ۱- مقایسه یک جنین دارای میکروفتالمی (سمت چپ) با یک جنین دارای چشم طبیعی (سمت راست)

2. Balinsky B L. An introduction to embryology. *Br Med J* 1970; 286: 1457-8
3. Bell A W. Consequences of severe heat stress for fetal development. in: *Heat stress: physical exertion and environment*. Hales JRS, Richards, DAB, eds. Amsterdam Exerptamedica Elsevier science, 1987, 313-33
4. Chambers GD, Johnson K A, Felix R J, Dick L M, Jones KL. Hyperthermia in pregnancy: a prospective cohort study. *Teratology* 1997; 55:45
5. Edwards M J. Congenital malformations in the rat following induced hyperthermia during gestation. *Teratology* 1967; 1: 173-7
6. Edwards M J, Walsh DA, Li Z. Hyperthermia, teratogenesis and the heat shock response in mammalian embryos in cultures. *Int J Dev Biol* 1997; 41: 345-58
7. Finnell R H, Moon S P, Abbott L C, Golden J A, Chernoff G F. Strain differences in heat induced neural tube defects in mice. *Teratology* 1986; 33: 245-52
8. Graham J M, Edward M J. Teratogenic effects of maternal hyperthermia. *Ann Res Inst Environ Med* 1989 ; 40: 365-74
9. Harding A J, Edwards M J. Microcephaly in rats. *Cong Anom* 1993; 33: 203-9
10. Kimmel C A, Cuff J M, Kimmel G L, Heredia D J N, Tulor N, Silvenman P M, Chen J. Skeletal development following heat exposure in the rat. *Teratology* 1993; 47: 229-42
11. Lary J M, Conner D L, Hjänsler P L. Teratogenic effects of 27, 12 MHz radiation

مشاهده می شود که نواحی سری جنین، ناهنجاری های بیشتری را نسبت به نواحی دمی نشان می دهند. این تحقیق نشان می دهد که هیپرترمی یک عامل ناهنجاری زای نسبتاً قوی است که اگر قبل از مرحله ارگانوژنز اثر کند، سبب مرگ و سقط جنین می شود. مرگ سلولی در اثر هیپرترمی یکی از مکانیسم های عمل هیپرترمی است.^(۱۹) مرگ سلول های فعال جنین، سبب ناهنجاری، مرگ جنین و سقط می شود.^(۱۷)

از مکانیسم های عمل هیپرترمی در ایجاد ناهنجاری سیستم عصبی و سر رویان، آسیب غشاء سلولی و تأخیر در تولید نوروبلاست هاست.^(۱۸) هیپرترمی می تواند با انسداد عروق جفت و در نتیجه کمبود مواد غذایی و اکسیژن در ایجاد ناهنجاری های اسکلتی مؤثر باشد.^(۱) در این تحقیق نیز کوچکی آرواره بالا و عقب ماندگی رشد داخل رحمی دیده شد که می تواند با فرضیه فوق مطابقت داشته باشد.

لازم به توضیح است که یک مکانیسم دفاعی در سلول ها برای مقابله با هیپرترمی وجود دارد که به مکانیسم پاسخ شوک حرارتی موسوم است. در این مکانیسم، سلول هایی که تحت تأثیر حرارت قرار دارند، پروتئین های خاصی به نام پروتئین های شوک حرارتی ترشح می کنند که این پروتئین ها انواع مختلفی دارند و با روش های ویژه سبب حفاظت سلول می شوند.^(۶) بنابراین بررسی اثرات بیماری های تب زا و هیپرترمی در مراحل حساس بارداری انسان می تواند زمینه خوبی برای تحقیقات آینده باشد.

۱. مراجع:

1. Arora K L, Chohen B J, Beaudion A R. Fetal and placental responses to artificially include hyperthermia in rats. *Teratology* 1979; 19:251-60

frequency in rats. *Teratology* 1982; 26: 299-309

12. Lipson A H, Webster W S, Woodman P D G, Osborn P A. Moebius syndrome. *Teratology* 1989; 40: 339-50

13. Lomax P. Implications of durations for heat and exercise tolerance in heat stress. *Experientia Medica Sevier Science*, 1987; 399-418

14. Milunsky A, Lickas M U, Rothman K J, Willett W, Jick S S, Jick H. Maternal heat exposure and neural tube defects. *JAMA* 1992; 268: 882-5

15. Mirkes P E, Doggett B. Accumulation of heat shock protein 72 in postimplantation rat embryos after exposure to hyperthermia. *Teratology* 1992; 40: 301-9

16. Mirkes P E, Cornel L M, Park H W, Cunningham M L. Induction of thermotolerance in early postimplantation rat embryos is associated with increased resistance to hyperthermia induced apoptosis. *Teratology* 1997; 56: 210-9

17. Shiota R, Shionoya Y, Ide M, Venobe F, Kuwahara G, Fuki Y. Teratogenic interaction of ethanol and hyperthermia in mice. *Proc*

Soc Exp Biol Med 1988; 187: 142-8

18. Upfold J B, Smith M S R, Edwards M J. Quantitative study of the effects of maternal hyperthermia on cell death and proliferation in the guinea pig brain on day 21 of pregnancy. *Teratology* 1989; 39: 173-9

19. Walsh D P, Li K, Wass J, Dolnikov A, Zeng F, Li Z, Edwards M. Heat shock gene expression and cell cycle changes during mammalian development. *Dev Genet* 1993; 14: 127-31

20. Webster W S, Edwards M J. Hyperthermia and the induction of neural tube defects in mice. *Teratology* 1984; 29: 411-25

21. Webster W S, Grmain M A, Edwards M J. The induction of microphthalmia, encephalocele and other heat defects following hyperthermia during the gastrulation process in the rat. *Teratology* 1985; 31: 73-82

22. Webster W S, Lipson A H, Brownwoodman P D C. Uterine trauma and limb defects. *Teratology* 1986; 35: 253-60