

## اثر ویتامین A بر تکوین جوانه اندام حرکتی جنین موش نژاد Balb/C

دکتر جواد بهارآرا<sup>۱\*</sup>، دکتر کاظم پریور<sup>۲</sup>، مژگان مددی امامچای<sup>۳</sup>

- ۱- استادیار، دکترا زیست شناسی تکوین جانوری، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی مشهد، مشهد، ایران  
 ۲- استاد، دکترا جنین شناسی جانوری، گروه زیست شناسی، دانشگاه تربیت معلم تهران، تهران، ایران  
 ۳- کارشناس ارشد زیست شناسی سلولی تکوینی، دانشگاه آزاد اسلامی مشهد، مشهد، ایران

تاریخ دریافت ۸۸/۵/۱۳، تاریخ پذیرش ۸۸/۹/۴

### چکیده

**مقدمه:** ویتامین A مولکول پیام ده مهمی برای تنظیم تمایز، تکثیر سلول‌ها و ریخت زایی محسوب می‌شود. در پژوهش حاضر اثرات این ویتامین بر تکوین جوانه اندام حرکتی جنین موش نژاد Balb/C بررسی شده است.

**روش کار:** در طی یک مطالعه تجربی ۱۰ موش ماده حامله به دو گروه کنترل و تجربی تقسیم شدند. موش‌های گروه کنترل در شرایط طبیعی نگهداری شدند و به نمونه‌های گروه تجربی در روز ۱۰/۵ حاملگی به میزان ۱۵۰۰۰ واحد بین المللی در کیلوگرم ویتامین A تزریق درون صفاقی شد. موش‌های تجربی و کنترل در روز ۱۵/۵ حاملگی تشریح و جنین‌های آنها پس از انجام بررسی‌های ریخت شناسی برای انجام مطالعات بافت شناسی با میکروسکوپ نوری آماده سازی و به روش هماتوکسیلین-اُوزین هاریس رنگ آمیزی گردیدند.

**نتایج:** مقایسه میانگین‌های طول فرق سری - نشیمنگاهی، عرض اندام حرکتی جلوئی، طول منطقه ۱ (انگشت و کف) و منطقه ۲ (مچ) اندام حرکتی جلوئی و نیز طول کل اندام حرکتی عقبی جنین‌های تجربی نسبت به کنترل تفاوتی نشان نداد. لیکن متوسط وزن جنین‌ها و طول کل اندام حرکتی جلوئی و نیز متوسط طول منطقه ۳ (بازو و ساعد) اندام حرکتی جلوئی جنین‌های تجربی نسبت به کنترل بیشتر بود ( $p < 0/001$ ). هم‌چنین در مقایسه میانگین عرض اندام حرکتی عقبی جنین‌های تجربی نسبت به کنترل افزایش مشاهده شد ( $p < 0/006$ )، اما تعداد و ابعاد سلول‌های غضروفی در چهار منطقه اندام حرکتی جلوئی و عقبی در گروه تجربی نسبت به کنترل متفاوت نبود.

**نتیجه گیری:** غلظت ۱۵۰۰۰ واحد بین المللی در کیلوگرم ویتامین A بر وزن جنین‌ها و نیز تکوین اندام حرکتی جلوئی موش کوچک آزمایشگاهی اثر افزایشی دارد.

**واژگان کلیدی:** جوانه اندام حرکتی، ویتامین A، تکوین، غضروف زایی، Balb/C

\* نویسنده مسئول: مشهد، قاسم آباد، امامیه ۴۲، حوزه معاونت دانشجویی

Email: baharara@yahoo.com

## مقدمه

ویتامین A و مشتقات آن چنانچه در دوران بارداری به صورت ویتامین تکمیلی و یا مصرف مواد غذایی سرشار از این ترکیب و یا در درمان آکنه و نئوپلازی و برخی سرطانها به مقدار زیاد استفاده شود (۳-۱) بر روی ساختارهای متعددی مانند اندامهای حرکتی، قلب و رگهای مهره‌داران دارای اثرات تراژونیک متفاوت می‌باشد (۶-۴). برخی از گزارش‌ها بیان‌گر آن است که ازدیاد مصرف ویتامین A به عنوان یک تراژون قوی عمل نموده و سبب ناهنجاری در اندامها می‌شود و درصد فراوانی و شدت ناهنجاری‌ها به دوز مصرفی دارو و زمان تجویز آن بستگی دارد (۷). هم‌چنین گزارش شده است که رتینوئیک اسید آگزوزن باعث کاهش طول محور پراکسیمال - دیستال اندامهای حرکتی و کاهش رشد انگشتان می‌شود (۸). در برخی تحقیقات نیز در اثر تجویز رتینوئیک اسید نقایص اسکلت محوری و اندامهای حرکتی در جنین موش گزارش شده است (۹). دیسینز و همکاران نشان داده است که دوزهای بالای رتینوئیک اسید ممانعت کننده رشد و ریخت‌زایی اسکلتی اندام حرکتی موش می‌باشند در صورتی که دوزهای پایین محرک رشد و غضروف‌زایی است (۱۰). مطالعات گارسیا فرناندز و همکاران بیان‌گر این است که تیمار اسید رتینوئیک پیش از تولد روی تکوین اپیدرم اثر تکثیر کننده دارد. نتایج تحقیقات او در سال ۲۰۰۶ بیان‌گر آن است که دوز ۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خوراکی اسید رتینوئیک در روز ۱۱/۵ بارداری بدون اثر در زمان بافت زایی، دارای اثر زیادی در افزایش فعالیت تکثیری اپیدرم در حال تکوین می‌باشد. فعالیت تحریکی وابسته به دوز اسید رتینوئیک خواص درمانی آن را تأیید می‌کند (۱۱). نتایج استینچکوب و مدن در سال ۲۰۰۸ نشان داده است که رتینوئیک اسید باعث القاء تکثیر و ترمیم در کیسه‌های هوایی بافت شش موش می‌گردد (۱۲). برخی مطالعات نیز زمان بحرانی تکوین لوله عصبی در موش نژاد سوئیس (SWISS) را روزهای ۷ و ۸ بارداری گزارش کرده است و این که تزریق درون صفاقی ویتامین A با دوز ۷۰ میلی‌گرم در

کیلوگرم در روز ۹ بارداری نسبت به تزریق در روزهای ۷ و ۸ بارداری با نقایص بیشتری همراه است (۶، ۱۳). علی‌خان و هالز نیز اهداف جدیدی را برای رتینوئیدها در طی ارگانوژنز اندام حرکتی موش، شناسایی نموده و با به کارگیری غظت‌های تراژونیک ویتامین A در روز دوازدهم جنینی در کشت جوانه اندام موش مشاهده نمود که ویتامین A بر بیان تعدادی از ژن‌ها اثر تنظیمی دارد (۱۴). تجربیات واسیگروچ و بولن نیز بر روی موش صحرائی نشان داده است که دوز تراژون رتینوئیک اسید (غلظت بیشتر از ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) رشد پراکسیمال - دیستال جوانه اندام حرکتی جلویی را کاهش می‌دهد (۱۵). هم‌چنین تزریق دو دوز ۱۵۰۰۰ واحد بین‌المللی در کیلوگرم به موش نژاد سوئیس در یکی از روزهای ۹ تا ۱۲ بارداری باعث ایجاد ناهنجاری‌هایی در اندامهای حرکتی شده است (۷). با توجه به این که ویتامین A دارای مصارف زیادی مانند درمان آکنه و برخی سرطانها است و نیز دارای اثرات تراژونیک وابسته به دوز مصرفی ویتامین A و زمان تجویز آن می‌باشد، در پژوهش حاضر اثر دوز ۱۵۰۰۰ واحد بین‌المللی در کیلوگرم ویتامین A بر تکوین جوانه اندام حرکتی جنین موش نژاد Balb/C بررسی شده است.

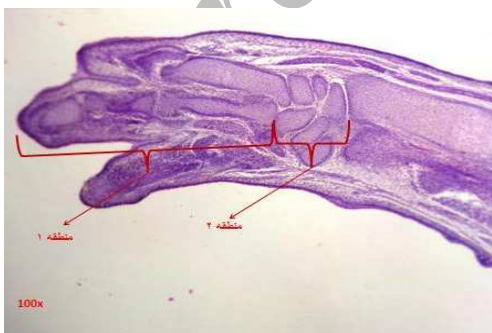
## روش کار

این مطالعه از نوع تجربی است و در مدت ۱۲ ماه در سال ۱۳۸۷ در آزمایشگاه تحقیقاتی تکوین جانوری گروه زیست‌شناسی دانشگاه آزاد اسلامی مشهد انجام شده است. در این تحقیق جهت بررسی اثر ویتامین A بر رشد و نمو جوانه اندام حرکتی از موش کوچک آزمایشگاهی (Balb/C) به عنوان مدل آزمایشگاهی استفاده گردید. موش ماده باکره بالغ و نیز نرهای بالغ آن از موسسه سرم سازی رازی مشهد خریداری و استفاده گردید. این موش‌ها در اتاق پرورش حیوانات و در درجه حرارت  $22 \pm 2$  درجه‌سنتی گراد، و دوره نوری طبیعی (۱۲ ساعت نور، ۱۲ ساعت تاریکی) در قفس‌های پلی‌کربنه با درپوش سیمی ضد زنگ که هر هفته دو بار شستشو و ضد عفونی می‌شدند، نگهداری و برای تغذیه آن‌ها از غذای آماده استاندارد که از

سلول‌های غضروفی چهار ناحیه انگشتی، کف، میچ و ناحیه چهارم (ساق و ران در اندام حرکتی عقبی و بازو و ساعد در اندام حرکتی جلویی) در اندام حرکتی جلویی و اندام حرکتی عقبی شمارش گردید. برای انجام شمارش ۵ خانه از سطح مشبک (چهار خانه در گوشه‌ها و یک خانه در مرکز) در میدان دید بررسی شد و نیز ابعاد سلول‌های غضروفی (قطر کوچک و بزرگ سلول) در چهار ناحیه مذکور در هر دو گروه با استفاده از گراتیکول خطی مورد بررسی قرار گرفت. داده‌های کمی حاصل با آزمون‌های آماری تی (داده‌های پیوسته) و من ویتنی (داده‌های گسسته) به کمک نرم افزار SPSS در سطح معنی داری  $p < 0/05$  تحلیل شد.

### نتایج

مقایسه آماری میانگین طول فرق سری - نشیمنگاهی جنین‌های تجربی ۱۵/۵ روزه کنترل و تجربی متفاوت نبود ( $p > 0/05$ ). لیکن مقایسه متوسط وزن جنین‌های تجربی نسبت به کنترل افزایش نشان داد ( $p < 0/001$ ). هم‌چنین میانگین طول کل اندام حرکتی جلویی گروه تجربی نسبت به کنترل بیشتر بود ( $p < 0/001$ ). مقایسه میانگین عرض اندام حرکتی جلویی و طول منطقه ۱ (طول انگشت و کف) و منطقه ۲ (طول میچ) اندام حرکتی جلویی نمونه‌های تجربی نسبت به کنترل تفاوت نداشت ( $p > 0/05$ ) (شکل ۱). لیکن متوسط طول منطقه ۳ (طول بازو و ساعد) اندام حرکتی جلویی تجربی نسبت به کنترل افزایش نشان داد ( $p < 0/001$ ).



شکل ۱. بخش‌های مختلف مورد مطالعه استخوان‌های منطقه ۱ (انگشت و کف)، منطقه ۲ (میچ) در مقطع سهمی میانی اندام حرکتی جلویی در جنین ۱۵/۵ روزه موش در نمونه تجربی با درشت‌نمایی  $\times 100$ ، رنگ آمیزی H&E

شرکت جوانه خراسان خریداری می‌شد، استفاده گردید. آب نیز به مقدار کافی توسط بطری شیشه‌ای در اختیار آنها قرار داده شد. برای اطمینان از بلوغ موش‌ها از حیوانات ۲/۵ تا ۳ ماهه با وزن حدود ۳۰-۲۵ گرم استفاده گردید. آمیزش موش‌های نر و ماده منوگامی بوده و روز مشاهده درپوش واژنی به عنوان روز صفر حاملگی در نظر گرفته شد. برای انجام تجربیات ۱۰ موش‌های حامله به صورت تصادفی به ۲ گروه مساوی کنترل (موش‌های حامله این گروه در اتاق پرورش حیوانات و در شرایط طبیعی نگهداری شدند) و تجربی (به موش‌های حامله این گروه با توجه به زمان شروع تشکیل اندام حرکتی و نیز دوز تراژونیک ویتامین A (۷، ۱۶) در روز ۱۰/۵ حاملگی به میزان ۱۵۰۰۰ واحد بین‌المللی در کیلوگرم ویتامین A تزریق درون صفاقی شد) تقسیم شدند. در کلیه مراحل پژوهش از جمله نگهداری حیوان و انجام تیمار و کشتن حیوان مجریان به رعایت اصول اخلاقی متعهد بوده‌اند. کلیه موش‌های حامله گروه‌های تجربی و کنترل در روز ۱۵/۵ حاملگی توسط کلروفورم بی‌هوش و سپس تشریح و جنین آنها همراه با رحم از بدن مادر خارج گردید. ۴۰ جنین حاصله ابتدا با استرنو فتومیکروسکوپ تحقیقاتی (Ziess, Germany) مورد بررسی ریخت‌شناسی قرار گرفتند و هم‌چنین اندازه‌گیری وزن جنین با استفاده از ترازوی آنالیتیکال (Sartorius, Germany) و طول فرق سری - نشیمنگاهی (crown-rump) با استفاده از کولیس انجام شد. سپس جنین‌ها در فرمالین ۱۰ درصد تثبیت شدند و پس از آب‌گیری، قالب‌گیری انجام شد و به وسیله میکروتوم (Microm, Germany) برش‌های سهمی میانی سریال ۷ میکرونی فراهم گردید و به روش هماتوکسیلین-انوزین هاریس رنگ آمیزی و لام‌های دائمی تهیه شد. مقاطع آماده شده توسط فتومیکروسکوپ تحقیقاتی مورد بررسی قرار گرفت و با استفاده از گراتیکول مدرج طول کل و عرض اندام حرکتی، طول منطقه اول (انگشت و کف)، طول منطقه دوم (میچ)، طول منطقه سوم (بازو و ساعد در اندام حرکتی جلویی و ران و ساق در اندام حرکتی عقبی) اندازه‌گیری شد و به وسیله گراتیکول مشبک تعداد

حرکتی عقبی و متوسط طول منطقه ۱، ۲ و ۳ گروه تجربی نسبت به کنترل تفاوت دیده نشد ( $p > 0.05$ ). (جدول ۱، شکل ۲ و ۳).

همچنین با مقایسه میانگین عرض اندام حرکتی عقبی گروه تجربی نسبت به کنترل افزایش مشاهده شد ( $p < 0.006$ ) ولی بین میانگین طول کل اندام

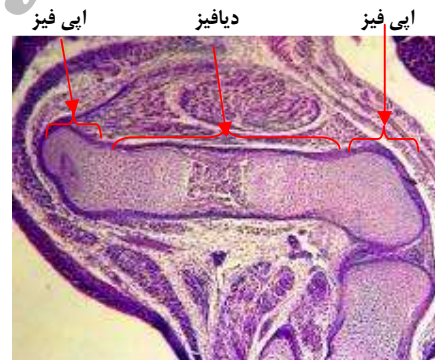
جدول ۱. مقایسه میانگین متغیرهای مطالعه بین کنترل (شرایط طبیعی) با گروه تجربی (در روز ۱۰/۵ حاملگی به میزان ۱۵۰۰۰ واحد بین المللی در کیلوگرم ویتامین A در روز ۱۰/۵ حاملگی تزریق درون صفاقی شد)

p	تجربی میانگین (انحراف معیار)	کنترل میانگین (انحراف معیار)	
۰/۰۰۱	(۰/۰۰۷)۰/۴۹۷	(۰/۰۰۱)۰/۴۴۴	وزن جنین ها (گرم)
۰/۲۸۵	(۰/۱۱۷)۱۵/۱۵	(۰/۱۶۷)۱۴/۹۳	طول فرق سری - نشیمنگاهی (میلی متر)
۰/۱۲۱	(۰/۰۰۹)۱/۰۳۷	(۰/۰۱۱۴)۱/۰۱۳	عرض اندام حرکتی جلوئی (میلی متر)
۰/۰۰۱	(۰/۰۶۳)۶/۴۹	(۰/۰۶۷)۵/۹۵	طول کل اندام حرکتی جلوئی (میلی متر)
۰/۲۷۳	(۰/۰۲۲)۱/۳۳	(۰/۰۱۹)۱/۳۷	طول منطقه ۱ اندام حرکتی جلوئی (میلی متر)
۰/۱۳۹	(۰/۰۱۱)۰/۳۳	(۰/۰۰۱)۰/۳۱	طول منطقه ۲ اندام حرکتی جلوئی (میلی متر)
۰/۰۰۱	(۰/۰۵۸)۴/۸۲	(۰/۰۶۵)۴/۲۸	طول منطقه ۳ اندام حرکتی جلوئی (میلی متر)
۰/۰۰۶	(۰/۰۱۴)۱/۰۲	(۰/۰۲۴)۰/۹۴	عرض اندام حرکتی عقبی (میلی متر)
۰/۵۸۳	(۰/۰۴۴)۶/۵۴	(۰/۰۹۱)۶/۵۹	طول کل اندام حرکتی عقبی (میلی متر)
۰/۷۳۱	(۰/۰۲۲)۱/۵۱	(۰/۰۱۸)۱/۵۰۲	طول منطقه ۱ در اندام حرکتی عقبی (میلی متر)
۰/۰۹۳	(۰/۰۱۵)۱/۰۵۶	(۰/۰۲۴)۱/۱۰۷	طول منطقه ۲ اندام حرکتی عقبی (میلی متر)
۰/۸۶	(۰/۰۴۳)۳/۹۷	(۰/۰۸۳)۳/۹۸	طول منطقه ۳ اندام حرکتی عقبی (میلی متر)

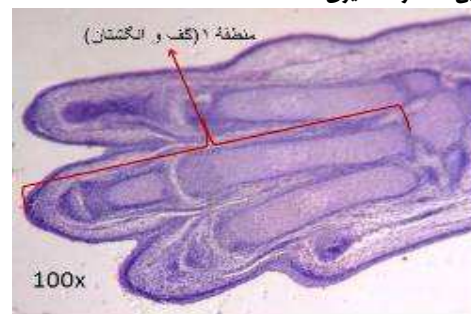
سلول‌های غضروفی نیز در اندام حرکتی عقبی و جلوئی در دو گروه کنترل و تجربی در چهار منطقه از اندام حرکتی تحت عنوان مناطق انگشتی، کف، مچ و ران و ساق یا بازو و ساعد مورد بررسی قرار گرفت و شمارش کندروسیت و کندروبلاست در اپی فیز انجام شد. تعداد و اندازه قطر بلند و کوتاه سلول‌های غضروفی در چهار منطقه اندام حرکتی جلوئی و عقبی در گروه تجربی نسبت به گروه کنترل تفاوت نشان نداد ( $p > 0.05$ ).

### بحث

نتایج این پژوهش حاکی از این است که ویتامین A (غلظت ۱۵۰۰۰ واحد بین المللی در کیلوگرم) به صورت تزریق درون صفاقی در روز ۱۰/۵ بارداری در تعداد و نیز ابعاد سلول‌های بافت غضروفی اندام‌های حرکتی در گروه تیمار شده نسبت به گروه کنترل تغییر ایجاد نمی‌کند. در حالی که وزن جنین‌های مادرانی که ویتامین A را دریافت نموده‌اند، نسبت به جنین‌های گروه کنترل افزایش داشت. با توجه به آن که بررسی ما فقط در مورد اندام‌های حرکتی و



شکل ۲. مقطع سهمی میانی از جوانه اندام حرکتی عقبی (ناحیه ران) در جنین ۱۵/۵ روزه موش در نمونه تجربی با درشت نمایی ۵۰x، رنگ آمیزی H&E



شکل ۳. نمایش بخش‌های مختلف استخوان‌های منطقه ۱ (انگشت و کف) در مقطع سهمی میانی اندام حرکتی عقبی جنین ۱۵/۵ روزه موش در نمونه تجربی با درشت نمایی ۱۰۰x، رنگ آمیزی H&E

بافت غضروفی آن‌ها انجام شده است نمی‌توان علت دقیقی برای افزایش وزن بیان کرد زیرا ممکن است افزایش وزن ناشی از تغییر در عواملی هم چون تعداد و ابعاد سلول‌ها، مایعات بین سلولی و یا ماتریکس خارج سلولی بافت‌های مختلف بدن باشد. مطالعات گارسیا فرناندز و همکاران نشان داده است که اسید رتینوئیک در تکثیر سلول‌های اپیتلیال دخالت دارد و تیمار اسیدرتینوئیک پیش از تولد نیز روی تکوین اپیدرم اثر تکثیر کنندگی دارد (۱۱). دیسینز و همکاران نیز گزارش نموده‌اند دوزهای شدید رتینوئیک اسید ممانعت کننده رشد و شکل‌گیری اسکلتی اندام حرکتی موش می‌باشند در صورتی که دوزهای ضعیف، تحریک کننده رشد و غضروف زایی هستند (۱۰). بنابراین با توجه به دوز تیمار ویتامین در مطالعه ما احتمالاً افزایش وزن می‌تواند ناشی از افزایش در تعداد سلول‌ها، حجم سلول‌ها، مایعات بین سلولی و یا ماتریکس خارج سلول‌ها در بافت‌های مختلف جنینی به غیر از غضروف باشد. هم‌چنین مطالعه ما نشان داد، طول اندام حرکتی جلویی در گروه تیمار با ویتامین A نسبت به گروه کنترل افزایش یافته است که این علاوه بر هم‌خوانی با مطالعه سایر پژوهش‌گران نظیر مدن (۱۳) و تاکید نقش ویتامین A در القا تکثیر سلولی، می‌تواند افزایش وزن جنین‌های تجربی را نسبت به گروه کنترل توجیه نماید. با توجه به این که در بررسی طول فرق سری - نشیمنگاهی جنین‌های تیمار شده با ویتامین A نسبت به گروه کنترل اختلافی مشاهده نشد، به راستی چرا ویتامین A موجب تغییر وزن و تغییراتی در اندام‌های حرکتی جنین‌های مورد مطالعه گردیده است اما اثری بر طول فرق سری نشیمنگاهی آن‌ها ندارد؟ کیمیلو در سال ۲۰۰۷ نشان داده است، تزریق درون صفاقی ویتامین A با دوز ۷۰ میلی‌گرم در کیلوگرم در روز ۹ بارداری نسبت به تزریق در روزهای ۷ و ۸ بارداری باعث نقایص کمتری شده است (۶). با توجه به زمان تزریق در تحقیق حاضر (روز ۱۰/۵ بارداری) و نیز تفاوت در حساسیت و زمان بحرانی تکوین بخش‌های متفاوت جنین ممکن است عدم تغییر طول فرق سری

نشیمنگاهی به دلیل زمان تزریق و یا وابسته به دوز به کار برده شده باشد. نتایج تحقیق حاضر نشان داده است، تیمار ویتامین A در طول کل اندام حرکتی جلویی جنین‌های گروه تجربی نسبت به گروه کنترل افزایش ایجاد می‌نماید. هم‌چنین اندازه‌گیری طول، در سه منطقه بازو و ساعد، مچ، کف و انگشتان نشان داده است که طول منطقه بازو و ساعد افزایش یافته و طول مناطق مچ، کف و انگشتان تفاوتی با گروه کنترل ندارد. با بررسی‌های میکروسکوپی بافت غضروفی نواحی بازو و ساعد، مچ، کف و انگشتان از لحاظ تراکم و ابعاد سلولی مشاهده شد که سلول‌های غضروفی جنین‌های تیمار شده با ویتامین A نسبت به گروه کنترل از لحاظ تراکم و ابعاد سلولی تفاوت ندارند. بنابراین احتمالاً علت افزایش طول اندام حرکتی جلویی، تحریک تکثیر سلولی و روند غضروف سازی در محور قدامی - خلفی اندام حرکتی جلویی تیمار شده با ویتامین A نسبت به گروه کنترل می‌باشد. نتایج برخی پژوهش‌ها نیز نشان داده است، رتینوئیک اسید در غلظت‌های پایین اثر ممانعت کننده کمتری بر روی رشد و نمو و غضروف زایی دارد در صورتی که در دوزهای بالا این اثرات شدیدتر است. به نظر می‌رسد غلظت‌های پایین‌تر از  $10^{-6}$  مولار رتینوئیک اسید بر روی رشد و نمو و غضروف زایی اثر تحریک کننده دارد (۸). در این تحقیق در گروه تیمار شده با ویتامین A افزایش طول در امتداد محور پروکسیمال - دیستال در اندام حرکتی جلویی نسبت به گروه کنترل وجود داشت در حالی که در اندام عقبی تغییری در طول این محور مشاهده نشد که به نظر می‌رسد علت آن تفاوت زمان تکوین اندام حرکتی عقبی نسبت به اندام جلویی می‌باشد (۱۶). در برخی گزارشات نیز نشان داده شده است اندام حرکتی عقبی موش در روز ۱۲/۵ جنینی فاقد اشعه انگشتی و هم‌چنین تراکم مزانشیمی برای تشکیل بخش غضروفی است در حالی که در اندام حرکتی جلویی در همین روز این بخش‌ها در حال تکوین می‌باشند (۸). مطالعاتی که رول و همکاران در مقایسه میزان جذب ترکیب رتینوئید از محیط کشت انجام

## منابع

1. Zile MH. Function of vitamin A in vertebrate embryonic development. *J of Nutrition* 2001; 131: 705-8.
2. Ross SA, McCaffery PJ, Drager UC, De Luca LM. Retinoids in embryonic development. *Physiological Reviews* 2000; 80(3): 1021-54.
3. Niederreither K, Vermot J, Schuhbauer B, Chambon P, Dollé P. Embryonic retinoic acid synthesis is required for forelimb growth and anteroposterior patterning in the mouse. *Development* 2002; 129: 3563-74.
4. Mic FA, Molotkov A, Fan x, Cuenca AE, Duester G. Gene expression pattern. *Science Direct* 2000; 97(1-2): 227-30.
5. Mohanty C, Singh G. Teratogenic effects of intra-amniotic vitamin A on rat fetus. *J Anat Soc India* 2000; 49(1): 43-5.
6. Quemelo PR, Lourenço CM, Peres LC. Teratogenic effect of retinoic acid in Swiss mice. *Acta Cir Bras* 2007; 22(6): 451-6.
7. Rezaei N, Hashemi M, KHalilian M, Esmailnejad A. Study of teratogenic effects of vitamin A on organs development of mouse. *Medicine Science* 2001; 31: 16-24.
8. Mirmohammad Rezaie F, Parivar K, Mohseni Kochesfahani H. Effects of retinoic acid on limb bud development of embryo Balb/C mouse: In vitro. *Proceeding of the Biology Congress of Gilan University*; 2005. Sep 6-10; Rasht, Iran.
9. Najafi Mehre M, Amini A. Effects of retinoic acid on skeletal development of embryonic mouse. *Proceeding pf the Iranian Anatomy Congress of Tehran Medical University*; 1999, Nov 2; Tehran, Iran.
10. Desbiens X, Meunier L, Lassalle B. Specific effects of retinoic acid on the skeletal morphogenesis of the 11-day mouse embryo forelimb bud in vitro. *Biol Cell* 1990; 68: 213-20.
11. Garcia-Fernandez R, Perez-Martinez C, Espinosa Alvarez J. Mouse epidermal development: effects of retinoic acid exposure in utero. *Veterinary Dermatology* 2006; 17(1): 36 - 44.

دادند کاهش میزان این ترکیبات در محیط کشت مشاهده شد و هم‌چنین میزان رتینوئیک اسید موجود در محیط کشت اندام حرکتی جلویی کاهش بیشتری نسبت به مقدار آن در محیط کشت اندام عقبی نشان داد. مشاهدات وی بیان‌گر آن است که اندام حرکتی جلویی، رتینوئیک اسید بیشتری را در مقایسه با اندام حرکتی عقبی جذب می‌کند و احتمالاً این کاهش جذب به دلیل تاخیر رشد و نمو اندام حرکتی عقبی نسبت به اندام حرکتی جلویی می‌باشد. هم‌چنین رتینوئیک اسید آندوژن یک مورفوژن موثر در تکوین بسیاری از اندام‌هاست، و رتینوئیک اسید اگزوژن نیز در دوزهای پایین محرک رشد بوده و اثر آن در اندام حرکتی جلویی بیش‌تر از اندام حرکتی عقبی بوده و نیز دوزهای بالای آن سمی و تراژوژن هستند (۱۷). احتمالاً رتینوئیک اسید اگزوژن به رسپتور هسته‌ای اتصال یافته و سبب تغییر در بیان ژن‌های هاکس و سایر فاکتورهای رشد و نمو می‌گردد و بدین ترتیب باعث تزیاید سلولی شده و رشد قدامی - خلفی را تحت تاثیر قرار می‌دهد (۱۸). بنابر این در پژوهش حاضر ممکن است علت افزایش اندازه طول اندام حرکتی قدامی به علت غلظت استفاده شده ویتامین A باشد.

## نتیجه‌گیری

یافته‌های تحقیق حاضر بیان‌گر افزایش وزن جنین‌ها و نیز طول اندام حرکتی جلویی در امتداد محور پروکسیمال - دیستال در گروه تیمار با دوز ۱۵۰۰۰ واحد بین‌المللی در کیلوگرم ویتامین A نسبت به گروه کنترل می‌باشد لذا به نظر می‌رسد استفاده مادران باردار از ویتامین A باید تحت نظر پزشک صورت پذیرد.

## تشکر و قدردانی

بدینوسیله از همکاران محترم آزمایشگاه تحقیقاتی تکوین جانوری گروه زیست‌شناسی ویژه خانم‌ها سعیده ثمره موسوی، سعیده ظفر بالانژاد و رویا رستمی تقدیر و سپاس‌گزاری می‌شود.

12. Stinchcombe SV, Maden M. Retinoic acid induced alveolar regeneration: critical differences in strain sensitivity Am J Respir Cell Mol Biol 2008; 38: 185-91.
13. Maden M. Retinoids and spinal cord development. J Neurobiol 2006; 66:726-38.
14. Ali-Khan SE, Hales BF. Novel retinoid targets in the mouse limb during organogenesis. Toxicol Sci 2006; 1: 139-52.
15. Kwasigroch TE, Bullen M. Effects of isotretinoin (13-Cis-retinoic acid) on the development of mouse limbs in vivo and in vitro. Developmental Pharmacology and Toxicology 2005; 44(6): 605-16.
16. Parivar K, Mohseni Kochesfahani H. Atlas of embryology, Tehran: Tarbiat Moallem University; 1993.
17. Rühl R, Sass JO, Nau H, Klug S. Effects of all-trans-retinoic acid and all-trans-retinoyl glucuronide in two in vitro systems of distinct biological complexity. Arch Toxicol 2001; 75(8):497-504.
18. Boncinelli E, Simeone A, Acampora D, Mavilio F. HOX gene activation by retinoic acid. Trends-Genet 1991; 7(10): 329-34.

Archive of SID

## **Effect of vitamin A on limb bud development in embryo of Balb/C mouse**

Baharara J<sup>1\*</sup>, Parivar K<sup>2</sup>, Maddadi Emamchi M<sup>3</sup>

1-Assistant Professor, PhD of Cell & Developmental Biology, Department of Biology, Islamic Azad University, Mashhad, Iran

2- Professor, PhD of Animal Embryology, Department of Biology, Teacher Training University, Tehran, Iran

3- MSc of Cell & Developmental Biology, Department of Biology, Islamic Azad University, Mashhad, Iran

Received 4 Aug, 2009 Accepted 25 Nov, 2009

### **Abstract**

**Background:** Vitamin A is an important messenger molecule for differentiation setting, cells proliferation and morphogenesis. In this research, an effect of vitamin A on limb bud development of Balb/C mouse was determined.

**Materials and Methods:** In this experimental study, 10 female pregnant mice were divided to control and experimental groups. Control mice were maintained in natural situation and experimental mice were received vitamin A 15000IU/kg intraperitoneal injection at gestational day 10.5. Control and experimental mice were dissected in day 15.5 of gestation and after a morphology study; their embryos were prepared for histological studies with microscope and were stained by Hematoxylin & Eosin method.

**Results:** Comparison of crown- rump length, fore limb width, length of zone 1 (finger and palm) and zone 2 (wrist) of fore limb and total length of hind limb in experimental embryos with control group didn't have significant difference in means. But, mean of embryos weights and length of total fore limb and length zone 3 (arm and forearm) of experimental embryos fore limb were more than control ( $p<0.001$ ). Also, in comparison mean of hind limb width of experimental to control embryos, increase was observed ( $p<0.006$ ). But number and size of chondrocyte in 4 zones of fore and hind limb in experimental group didn't have significant difference to control group ( $p>0.05$ ).

**Conclusion:** Concentration of 15000IU/kg vitamin A has progressive effects on the fetuses' weight and fore limb bud development of Balb/C mouse.

**Keywords:** Limb bud, Vitamin A, Development, Chondrogenesis, Balb/C

\*Corresponding author;

Email: baharara@yahoo.com

Address: Student ministry, Emamie 24, Ghasemabad, Mashhad, Iran