Archive of SID

مقالهٔ پژوهشی

تاثیر هالوپریدول بر تکامل چشم جنین موش

معصومه زیرک جوانمرد [۱] ، دکتر رجبعلی صدر خانلو [۲]

چکیده

مقدمه: داروهای ضد پسیکوز و آرام‌بخش‌ها نظیر، دیازپام، لیتیوم و هالوپریدول دارای اثرات تراتوژنیک می‌باشند، با توجه به اینکه حباب‌های بینایی اولیه از لوله عصبی مشتق می‌شوند و خاصیت تراتوژنی داروی هالوپریدول عمدتا مربوط به سیستم عصبی است، در این تحقیق رابطه بین مصرف دارو و اثرات سوء ایجاد شده در تشکیل سیستم بینایی بررسی می‌شود.

روش کار: در این تحقیق اثر این دارو بر تکامل چشم دو گروه آزمایشی (یک) و (دو) مورد بررسی قرار گرفت. در گروه آزمایشی (یک) میزان ۵ میلی‌گرم و در گروه آزمایشی (دو) ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دارو از طریق داخل صفاقی در روز هشتم جنینی به موشهای حامله تزریق شد. در ضمن جهت مقایسه یک گروه نیز به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. جنین‌ها پس از خارج شدن از رحم و طی مراحل ثبوت و رنگ‌آمیزی با هماتوکسیلین ماتراکسین وائوزین تحت بررسی میکروسکوپیک قرار گرفتند.

نتایج: نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که در دوگروه آزمایشی نسبت به گروه شاهد با $P<0/05$ ارتباط معنی داری بین تزریق این دارو و ناهنجاری چشم به‌صورت نقص در تشکیل عدسی، شبکیه بینایی و عصب بینایی مشاهده شد.

بحث: با توجه به اینکه تکامل چشم در ابتدا از طریق ایجاد فرورفتگی در مغز قدامی ظاهر می‌شود، ناهنجاری چشم به‌صورت نقص در تشکیل عدسی، شبکیه بینایی و عصب بینایی مشاهده شد. به‌نظر می‌رسد که تزریق هالوپریدول در زمان شکل‌گیری وزیکول بینایی بر سلول‌های آن که در حال تقسیم هستند، اثر نداشته و باعث مرگ سلولی در وزیکول می‌شود. بنابراین وزیکول رشد طبیعی نداشته و کوچک می‌ماند.

گل واژگان: هالوپریدول، لوله عصبی، جنین موش

مجلهٔ پزشکی ارومیه، سال سیزدهم، شماره اول ص۲۵-۳۲، بهار ۱۳۸۱

۱ـ مربی گروه آناتومی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه

۲ـ استاد بافت‌شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

اولین مطالعه در زمینه تکامل ساختمان چشم توسط *Pander* در سال ۱۸۱۷ بر روی جنین جوجه انجام گرفت، در این بررسی مشخص شد که حباب‌های بینایی به‌صورت بیرون زدگی‌هایی از لوله عصبی هستند. در این زمینه درک روند بسته شدن لوله عصبی سری و همین‌طور تشکیل حباب بینایی حائز اهمیت است (۱).

درباره روند بسته شدن لوله عصبی تحقیقات زیادی انجام گرفته، لیکن توجه کمتری نسبت به جزئیات آن شده است. زمان بسته شدن در گونه‌های مختلف متفاوت است.

محققان راجع به نحوهٔ بسته شدن لوله عصبی چنین اظهار می‌کنند که بسته شدن ناودان عصبی و تشکیل لوله در ناحیه گردنی شروع می‌شود، اتصال چین‌های جانبی در بسیاری از جوندگان نظیر موش در بیش از یک نقطه اتفاق می‌افتد که این نحوهٔ اتصال با جنین انسان متفاوت است.

اتصال چین‌های جانبی از ناحیه گردنی در جهت سری و دمی پیشرفت می‌کند و در مرحلهٔ بعد دومین نقطه اتصال در مغز میانی به‌وجود می‌آید و این نیز در دو جهت سری و دمی پیش می‌رود.

ناحیه دمی مغز قدامی و ناحیه سری بخش گردنی در بالای مغز میانی همدیگر را تلاقی می‌کنند که این امر منجر به بسته شدن نهایی لوله عصبی سری می‌شود.

مراحل بسته شدن لوله عصبی عبارتست از:

۱) تماس اولیه و ایجاد چسبندگی بین چین‌های جانبی

۲) بهم پیوستن سلولهای اکتودرم سطحی

۳) جدا شدن لوله عصبی از اکتودرم سطحی

جزئیات تغییرات ایجاد شده در مرحلهٔ بسته شدن لوله عصبی توسط *Waterman* بررسی شده و نتایج زیر به‌دست آمده است:

۱- مرحلهٔ *Presomite*

(Hamster: 7.5 day , Mouse: 7.5)

صفحه عصبی ضخیم می‌شود و شیار اولیه در نیمه خلفی طول جنین امتداد دارد. با رشد بیشتر چین‌ها برجسته شده و ناودان عصبی به‌صورت عمیقی در نیمه قدامی جنین مشاهده می‌شود. زوائد سلولی در هر دو سطح اکتودرم غیر عصبی و عصبی ظاهر می‌شود، اما در اثر رشد فقط به سطح اکتودرم عصبی محدود می‌شود.

۲- شروع بسته شدن لوله عصبی

(H: 7.75, M: 8.5 Day)

جنین در این مرحله حدود ۵-٤ سومایت دارد و ناودان عصبی در تمام طول جنین مشخص است. زمانی‌که چین‌ها بهم نزدیک می‌شوند، یک منطقه خاص بین اکتودرم عصبی و اکتودرم سطحی دیده می‌شود.

در جنین موش این منطقه تغییر یافته شامل سلولهای پهن است که دارای زوائدی به‌صورت پای کاذب و میکروویلی هستند. نزدیک نقطه اتصال برجستگی‌های غشایی خودنمایی می‌کنند. همین منطقه در هامستر بوسیلهٔ حباب‌های سلولی

www.SID.ir

Archive of SID

گرد و زوائدی به‌صورت پای کاذب و تعداد کمی زوائد مشخص می‌شود.

۳- **بسته‌شدن بخش قدامی‌چین‌ها**

H:*8.25* , *M:* 8.9 DAY)

نزدیک شدن چین‌ها بهم در جلوی حباب‌های بینایی و مغز خلفی است. درست قبل از بسته شدن سقف مغز میانی یک ردیف زوائد جامی شکل در طول منطقه سلولهای پهن در جنین موش دیده می‌شود. به محض تماس، سلول‌های پهن چین‌های مقابل هم، حالت روی هم افتادگی پیدا می‌کنند مرحلهٔ نهایی بسته شدن، ایجاد چسبندگی بین سلولهای اکتودرم سطحی است (۳).

تشکیل صفحات بینایی در قسمت قدامی - شکمی صفحه عصبی سری در حدود ٤ سومایتی دیده می‌شود. اکتودرم عصبی ضخیم شده و در مرحله ٦-٥ سومایتی «حفره بینایی» ایجاد می‌شود، سلول‌های این ناحیه پهن شده و به‌تدریج بر عمق حفره افزوده می‌شود. با ایجاد زاویه بین مزانسفال و پرزانسفال حفره بینایی تبدیل به «حبابهای بینایی» می‌شود. تشکیل این حباب‌ها همزمان با بسته شدن نوروپور قدامی لوله عصبی است که در مرحله ۲۰-۱۰ سومایتی است.

در جنین ۳۰-۲۵ سومایتی موش افزایش سریع در حجم مغز قدامی ایجاد می‌شود. متعاقبا حجم حبابهای بینایی افزایش و قطر ساقه بینایی که به مغز قدامی متصل است کاهش می‌یابد. حبابهای بینایی و اکتودرم سطحی ضخیم شده، شبکیه و عدسی را تشکیل می‌دهند(٤).

از سال ۱۹۹٦، مطالعات در زمینه اثبات خاصیت تراتوژنی هالوپریدول در حیوانات آزمایشگاهی شروع شد و محققان به نتایج مشابهی در زمینه ایجاد بدشکلی‌ها در جنین موش، مرگ و میر و جذب جنین‌ها دست یافتند.

در این زمینه گزارش شده است که اگر هالوپریدول در روزهای ۹-۷ بارداری به موش مادر تزریق شود، باعث مرگ جنین، بروز شکاف کام، Anencephaly (شکل نگرفتن مغز) Anophthalmia (شکل نگرفتن چشم) می‌شود(٥). همین‌طور گزارش شده که خاصیت تراتوژنی این دارو عمدتا مربوط به سیستم عصبی مرکزی است و زمان بحرانی سیستم‌زایی عصبی و بسته شدن لوله عصبی در جنین موش روز نهم بارداری است (٦).

مواد و روش

در این مطالعه جهت بررسی اثرات داروهای هالوپریدول بر جنینها بدین‌گونه عمل شد:

موشهای بالغ نر و ماده «Swiss White» که از دانشکدهٔ دامپزشکی دانشگاه ارومیه تهیه شده بودند، به مدت دو هفته جدا از یکدیگر نگهداری شدند طوری‌که به محیط حیوانخانه عادت کردند. حرارت حیوانخانه در طول مدت نگهداری حدود ۲۲-۲۰ درجه سانتیگراد بود و موشها حدود ۱۲ ساعت در تاریکی و ۱۲ ساعت در روشنایی قرار داشتند. در مرحلهٔ جفت‌گیری موشهای نر و ماده به‌صورت یک به دو در هر قفس کنار هم قرار

www.SID.ir

Archive of SID

داده شدند، سپس با تشخیص پلاک واژینال در صبح روز بعد، آن روز به‌عنوان روز صفر بارداری در نظر گرفته شد. موشهای باردار به‌طور جداگانه و تحت شرایط ذکر شده در بالا تا روز ۸ بارداری نگهداری شدند. تعدادی از موشها در روز ۸ بارداری تحت تزریق محلول هالوپریدول قرار گرفتند. دوز انتخابی ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود. موشهای تحت تزریق بین ۳۰-۲۵ گرم وزن داشتند. تعدادی از موشهای باردار به‌عنوان شاهد تحت تزریق آب مقطر استریل قرار گرفتند و گروه سوم نیز تحت تزریق محلول اسیدلاکتیک که به‌عنوان حلال این دارو محسوب می‌شد، قرار گرفتند، در روز ۱۳ بارداری، موشهایی که تحت تزریق قرار گرفته بودند و نیز موشهای شاهد و تزریق شده توسط حلال، کشته شده و جنین‌ها همراه با رحم خارج شدند. سپس رحم به مدت ۳۰ دقیقه داخل محلول فیکساتیوبوئن نگهداری شده و در مرحلهٔ بعد جنین‌ها از رحم خارج شده و پس از خشک کردن با کاغذ صافی، وزن آنها اندازه‌گیری شده و سپس داخل محلول بوئن به مدت یک هفته الی ده روز نگهداری شدند. جهت بررسی اثرات میکروسکوپیک هالوپریدول، تعداد ۷ جنین از گروه شاهد، ۱۰ جنین از گروه آزمایشی (۱) و ۱۰ جنین از گروه آزمایشی (۲) را به‌طور تصادفی انتخاب و بعد از پاساژ و بلوک گیری با پارافین، از ناحیه سر تا انتهای دم برشهای ٦ میکرونی به‌صورت سریال تهیه و آنها را با هماتوکسیلین و ائوزین، رنگ‌آمیزی کرده مورد بررسی قرار دادیم.

نتایج

در روز سیزدهم جنینی رشد سیستم بینایی موش به تکامل نهایی نرسیده است، ولی عدسی شکل گرفته رشته‌های عدسی (Lens Fibers) از دیواره خلفی به طرف دیواره قدامی آن کشیده شده‌اند، همین‌طور لایه عصب(Neural Layer)، لایه رنگدانه‌ایی (Pigmented Layer) بخش شبکیه بینایی (Pars Optic Retina) و عصب بینایی (Optic nerve)تکامل یافته‌اند. اطاق قدامی در حال شکل‌گیری است و در اطاق خلفی تعدادی سلول مزانشیمی و خونی وجود دارد (تصویر ۱). در گروههای آزمایشی، عدسی به‌صورت ابتدایی دیده می‌شود و در بعضی موارد حالت حباب مانندی دارد همین‌طور هسته‌های متراکم که به ظاهر سلولهای مرده هستند در داخل عدسی دیده می‌شود. عدسی از قدام تماماً توسط سلولهای مزانشیمی احاطه شده و آثاری از تشکیل اطاق قدامی نیست. شبکه بینایی و عصب بینایی نیز تکامل نیافته‌اند (تصویر ۲).

نتایج به‌دست آمده از بررسی‌های میکروسکوپیک توسط آزمون فیشر تجزیه تحلیل شده و با سطح اعتماد نسبتاً مطلوبی ($P<0.05$) می‌توان گفت که اختلاف معنی‌دار بین وقوع این ناهنجاری در گروه شاهد و آزمایشی وجود دارد (جدول و نمودار ۱).

www.SID.ir

Archive of SID

بحث

در جنین‌های گروه‌های آزمایشی بویژه گروه آزمایشی (دو) تعدادی جنین با ضایعه ناحیه سری مشاهده شد. با توجه به اینکه تکامل چشم در ابتدا از طریق ایجاد فرورفتگی در مغز قدامی ظاهر می‌شود، ناهنجاری چشم به‌صورت نقص در تشکیل عدسی، شبکیه بینایی و عصب بینایی مشاهده شد. *Vichi* گزارش داد که وقتی هالوپریدول در روزهای ۹-۷ حاملگی تجویز می‌شود، ناهنجاری Anophthalmia (عدم تشکیل چشم) در جنین‌های موش مشاهده می‌شود (۷). به‌نظر می‌رسد که تزریق هالوپریدول در زمان شکل‌گیری وزیکول بینایی بر سلولهای آن که در حال تقسیم هستند، اثر گذاشته و باعث مرگ سلولی در وزیکول می‌شود بنابراین وزیکول رشد طبیعی خود را نداشته و کوچک می‌ماند (۸).

اگر چه در مراحل بعدی وزیکول بینایی رشد و تکامل خود را ادامه می‌دهد، اما همواره از نمونه طبیعی کوچکتر می‌باشد و در واقع نمی‌تواند زمان از دست رفته را جبران کند. کاهش تراکم سلولهای مزانشیمی اطراف جام بینایی نیز حکایت از مرگ سلولی در این منطقه دارد. همین‌طور شبکیه نیز در این مرحله تاخیر رشد نسبت به گروه طبیعی دارد و لایه رنگدانه‌ای هم‌به خوبی‌شکل‌نگرفته است. مسلم است که در روند تشکیل عدسی چشم، یکی از عوامل موثر القاء صفحه عدسی، وزیکول بینایی می‌باشد.

حال اگر در سلولهای وزیکول اختلاف ایجاد شود، بر روند القا اثر خواهد گذاشت و عدسی به‌صورت وزیکول کوچک باقی مانده و در بعضی موارد به اکتودرم سطحی چسبندگی پیدا می‌کند (۹). در واقع عدسی چشم در نمونه‌های آزمایشی در مرحله‌ای بسرمی‌بردند که نمونه‌های شاهد قبلا آن را پشت سرگذاشته است.

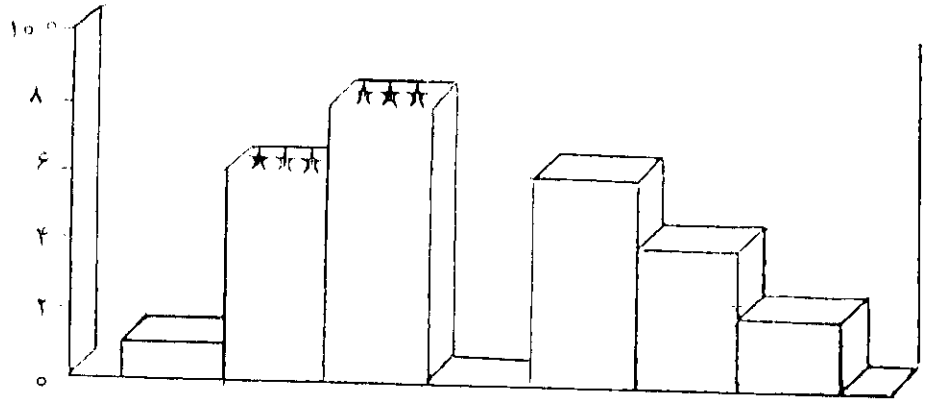
جدول شماره ۱: مقایسه میزان وقوع ناهنجاری چشمدر سه گروه مورد بررسی

گروهها / نوع ناهنجاری	شاهد	آزمایشی ۱	آزمایشی ۲	معنی‌داری گروههای شاهد و آزمایشی ۲	معنی‌داری گروههای شاهد و آزمایشی ۱	معنی‌داری گروههای آزمایشی ۱و۲
ناهنجاری چشم	۰	٦	۸	×	×	-
تعداد کل	۱۵	۲۱	۲۷			

با $P<0.05$ اختلاف معنی‌دار بین وقوع ناهنجاری چشم در گروههای شاهد و آزمایش ۱ و ۲ وجود دارد.

www.SID.ir

Archive of SID



نمودار ۱: مقایسه ، زان ناهنجاری چشم در سه گروه مورد بررسی اختلاف معنی‌داری بین گروههای شاهد و آزمایشی ۱ و ۲ وجود دارد ($P<0/05$)

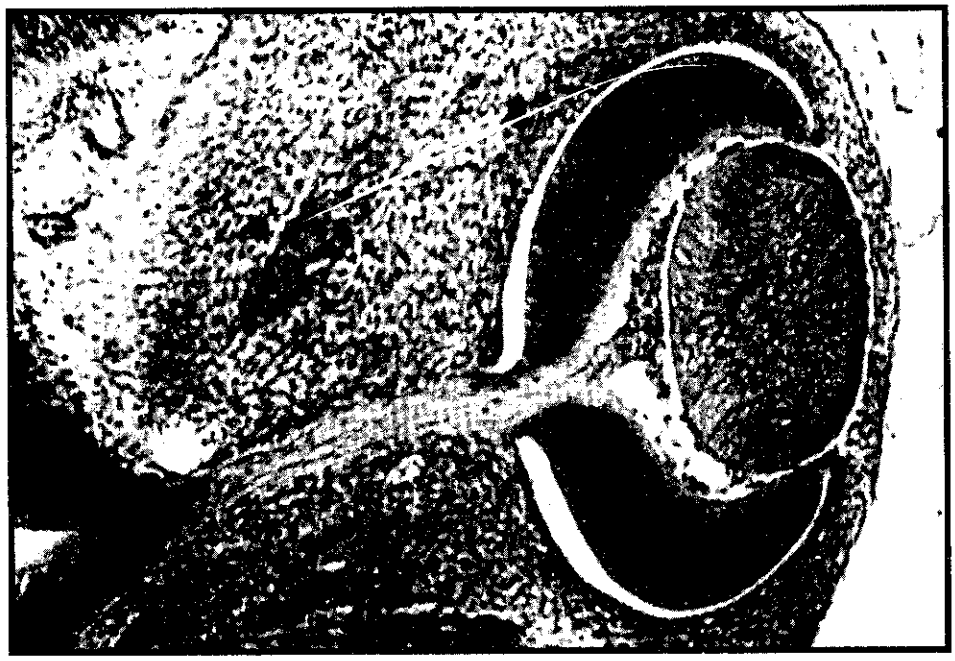
References

1. Mattihew K: Cephalic Neurulation and optic vesicle formation in the early mouse embryo. Am J Anat, 1979,155: 425-431.
2. Geelen JAG: closure of neural tube in the cephalic region of the mouse embryo. Anat Rec, 1989, 620-640.
3. Waterman RE: Topographical change along the neural fold associated with neulatin in the hamster and mouse. Am J Anat, 1976, 146: 151-172.
4. Vichi F: neuroleptic drugs in experimental terategensis. Teratology , 1969,87-101.
5. Jurnad A, Martin LVH: Teratogenic potertial of two neurleptic drugs haloperidol and dextromoramide tested on mouse embryos. Teratoloy, 1990, 42:45-540.
6. Vichi F: Mutagnetic exogenus factors in congenital malfomation: Experimental genesis and clinical references. Minerua stomatiol, 1991, 15: 308-312.
7. Jordi A, Buenauantura B, Uicente N, Rafael C: Haloperidol treatment decreases nerve growth factor receptor and mRNA in neonate rat forebrain. Neurosci Lett, 1997, 131: 228-232.
8. Kaufman M:cephalic Neurulation and optic vesicle formation in the early mouse embryo. Am J Anat, 1979, 155: 425-444.

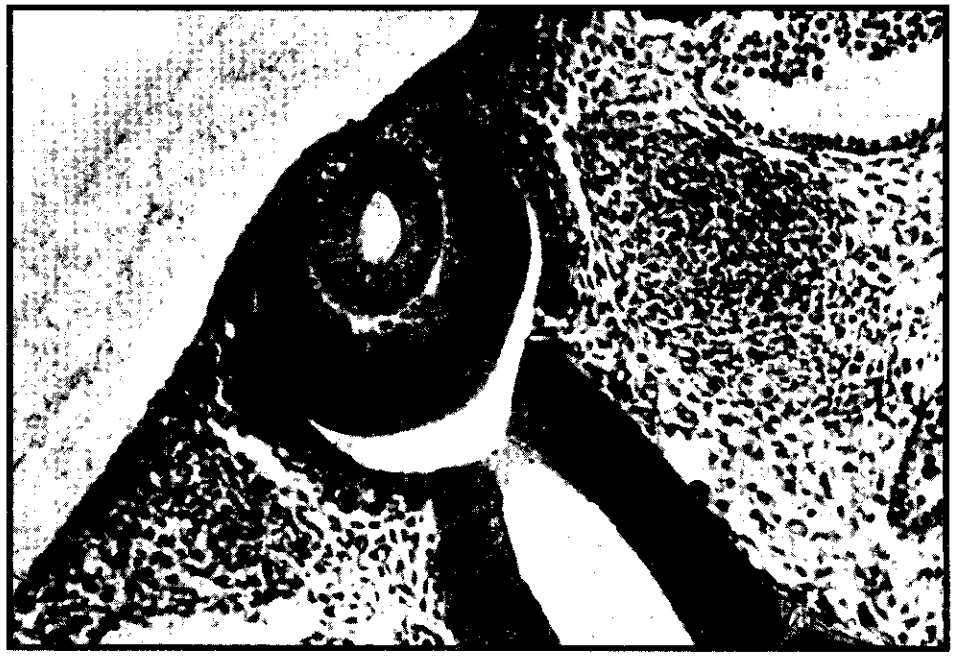
www.SID.ir

Archive of SID

تصویر ۱: برش عرضی چشم جنین ۱۳ روزه گروه شاهد. عدسی، بخش شبکیه بینایی، لایه عصبی، لایه رنگدانه‌ائی و عصب بینایی دیده می‌شود.



تصویر ۲: برش عرضی چشم جنین ۱۳ روزه گروه آزمایشی (۲). حباب عدسی دیده می‌شود و عصب بینایی شکل نگرفته



www.SID.ir

Archive of SID

THE EFFECTIVENESS OF HOLOPRIDOL ON EYE DEVELOPMENT IN MOUSE EMBRYO

M Zirak Javanmard[1], M.S.; R sadrkhanlou[2], M.D.

Summary

Introduction:*Antipsychotic and sedative drugs such as diazepam, lithium and haloperidol have teratogenic effects. In regard to the fact that primary optic vesicle is derivate form of neural tube and teratogenic effect of haloperidol is generally related to nerve system.*
In this study, the relationship between the use of this drugs and their side offects in the optic system was assessed.
Materials & Methods:*In this study the effectiveness of haloperidol on optic vesicle was assassed in two groups of animals. In the first group, 5mg and in the second group 10 mg/kg of drug was administered.*
The embryos were taken out from uterus and processed using paraffin embedded method. The slides were studied under light microscope.
Result:*The results were indicated that there was a significant relation between applying haloperidol and eye anomalies such as defect in formation of lense, retina and optic nerve.*
Discussion:*The development of the eye appears as a pair of shallow grooves on the forebrain in our study. The anomalies of the eye such as defect in formation of lens, retina and optic nerve were observed. It appears that injection of optic vesicle has impact on cell division and thus resulting cell death, therefore vesicle was abnormal.*

Key Words: *Haloperidol, neural tube, Mouse Embryo*

Address:*department of Anatomy, School of medicine, Urmia university of Medical sciences, Urmia, Iran.*

Source: *UMJ 2002;13(1): ISSN: 1027 – 3727*

---

1. Instructor of Anatomy, School of Medicine, Urmia university of Medical scinces
2. Professor of Histology, School of Veterinary, university of Urmia

www.SID.ir