● مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی بابل، سال دوم ، شمارهٔ ۳ پی‌درپی (۷) ، صفحه ۱۲ الی ۱۶ ، تابستان ۱۳۷۹

اثرات تراتوژنیک دگزامتازون و هیدروکورتیزون بر روی جنین مرغ

دکتر سیدناصر استاد [۱] ، دکتر محمد عبداللهی [۲] ، دکتر محمد اکبری [۳] ، دکتر حسن مرزبان [۳] ، دکتر نیلوفر باب المراد [۴]
۱ - استادیار گروه داروشناسی دانشگاه علوم پزشکی تهران ۲ - دانشیار گروه داروشناسی دانشگاه علوم پزشکی تهران
۳ - استادیار گروه جنین‌شناسی دانشکده پزشکی تهران ۴ - گروه سم‌شناسی دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تهران

سابقه و هدف: دگزامتازون و هیدروکورتیزون از خانواده هورمونهای گلوکوکورتیکوئیدی بوده و در محدوده وسیعی کاربرد دارند. این دو دارو اثرات زیستی مشابهی داشته ولی بدلیل کنتیک متفاوت آنها، میزان ناهنجاری‌زائی آن هم‌ارز قدرت اثر فارماکولوژیک آن نمی‌باشد. در این مطالعه اثر این داروها با تزریق به داخل مایع آمنیوتیک جنین مرغ سه روزه در ابتدای شروع اندامزائی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روشها: پس از ۲۰ روز از انکوباسیون، جنینها از داخل تخم خارج گردیدند و اثرات ناهنجاریزایی شامل سمیت رویانی، جنینی مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته‌ها: دگزامتازون با مقدار مصرف ۴×۱۰^{-۴} mg و هیدروکورتیزون با دوز ۲×۱۰^{-۱} mg باعث ایجاد ناهنجاری در جنین مرغ گردیدند. هر دو دارو در پارامترهای مورد بررسی واسکلت جنین‌ها تغییرات چشمگیری ایجاد نمودند.

نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان داد که در دوزهای مشابه دگزامتازون در ایجاد ناهنجاری، نسبت به هیدروکورتیزون، ۵۰۰ بار قویتر است.

واژه‌های کلیدی: *دگزامتازون، هیدروکورتیزون، ناهنجاریزایی، جنین مرغ ، سمیت.*

مقدمه

دگزامتازون و هیدروکورتیزون از خانواده هورمونهای گلوکوکورتیکوئیدی بوده که خاصیت ضدالتهابی دارند (۱و۲). فعالیت گلوکوکورتیکوئیدی بسیار شدید ترکیب صناعی دگزامتازون که فعالیت مینرالوکورتیکوئیدی آن تقریباً صفر است این ماده را بصورت اختصاصی در مواردی که نیاز به یک کورتیکواستروئید ضد التهابی است شاخص می‌نماید(۲). لااقل ۹۵٪ فعالیت گلوکوکورتیکوئیدی ترشحات فوق کلیه ناشی از هیدروکورتیزون است (۲). مشخص شده است که اثر ضدالتهابی دگزامتازون در مقایسه با هیدروکورتیزون حدود ۲۵ برابر است (۲). دگزامتازون در موش باعث ایجاد شکاف کام (۳)، ناهنجاریهای جنینی در موشهای سوری، صحرائی و خرگوش و همچنین افزایش جنینهای مرده در موش صحرائی و خرگوش می‌شود (۴). هیدروکورتیزون نیز باعث تأخیر رشد در جنین مرغ (۵)، شکاف کام در موش (۳) و افزایش مرگ‌ومیر در جنینهای موش و خرگوش می‌شود(۶).بررسی ناهنجاریزایی داروها تأثیر بسیار خوبی بر نحوه درست مصرف و دوز

[DOR: 20.1001.1.15614107.1379.2.3.2.8]

مورد استفاده از آنها دارد. ناهنجاریزایی برخی از داروها بستگی به مقدار مصرف داروها دارد و برخی دیگر با هر دوزی ناهنجاریزا هستند. استفاده از این داروها بجای همدیگر بسیار رایج است و معیار تجویز معمولاً مقدار قدرت (Potency) دارو می‌باشد. در این مطالعه سعی شده تا قدرت اثر این دارو در ایجاد سمیت جنینی در جنین سه روزه مرغ بررسی گردد.

مواد و روشها

برای هر مقدار مصرف انتخابی از داروها تعداد ۲۰ عدد تخم‌مرغ نطفه‌دار از نژاد آرین (تهیه شده از شرکت ایران جوجه) مورد استفاده قرارگرفت. هیدروکورتیزون و دگزامتازون (Sigma) بوسیله فسفات دی سدیم در محلول سالین نرمال به غلظتهای مختلف در شرایط استریل رسیده و سپس توسط سرنگ انسولین با متد خاص تزریق در تخم مرغ (۷) در حجم‌های ۰/۵ میلی‌لیتر در روز سوم انکوباسیون به روش کور (روش خاصی در تزریق داخل تخم مرغ با استفاده از سایز و پوسته می‌باشد) تزریق شدند. به تخم‌مرغ‌هایی که دسته کنترل محسوب می‌شدند بمیزان ^{cc} ۰/۵ از ماده حامل تزریق شد. در روز ۲۰ انکوباسیون تخم‌مرغها باز شدند و پرده دور جنین‌ها به آرامی برداشته شد و جنینها بیرون آورده شدند. سپس جنینها وزن شدند و نارسائی‌های اسکلتی و اندامی آنها بررسی گردید. پارامترهای مورد بررسی عبارت بودند از : طول نوک تا خلف سر (Cranial ramp)، طول نوک (Length of beak)، قد (RCL)، قطر سر (BPD) و وزن (Weight). برای بررسی اسکلت داخلی، نمونه‌ها توسط متد آلیزارین رد- اس (Alizarin Red -S) رنگ‌آمیزی شدند. داده‌ها با استفاده از تست Newman-keuls و تست Fisher-Exact مقایسه گردیدند.

یافته‌ها

همانطوریکه در جدول(۱) مشاهده می‌شود دگزامتازون در 4×10^{-4} mg برای هر تخم‌مرغ اثرات ناهنجاری‌زائی قابل توجهی نسبت به کل داشته است ($p<0/01$) و اثر مشابهی نیز در مقدار مصرف حدود ۵۰۰ برابر دگزامتازون، از هیدروکورتیزون مشاهده شد. مقادیر مصرف بین 4×10^{-7} mg تا 4×10^{-5} mg میلیگرم از دگزامتازون اثر ناهنجاریزایی نداشت و این محدوده برای هیدروکورتیزون 8×10^{-2} mg تا 4×10^{-5} mg میلیگرم بود. نارسائی‌های مشاهده شده اسکلتی شامل موارد زیر می‌باشد:

- دفرمیتی استخوان که در ستون مهره‌ها و استخوانهای دراز و کوتاه دست و پا مشاهده شد.
- عدم وجود قسمتی تا تمام استخوانهای ناحیه کمری ، خاجی، مهره و جمجمه.
- کوچک بودن استخوانهای اسکلتی بدین معنی که بعضی استخوانها وجود دارند ولی ناقص هستند.
- نرم بودن و بی‌حالت بودن استخوانها نسبت به حالت طبیعی
- کاهش در تعداد دنده‌ها.
- کوچکی استخوانهای لگنچه.
- وجود اختلال در تکامل استخوان که استخوانها حالت فیبرمانند دارند که در استخوانهای ستون فقرات دیده شد.

بحث

تجویز محدوده وسیعی از مقادیر دو داروی هیدروکورتیزون و دگزامتازون بترتیب نشان داد که در مقادیر مصرف 2×10^{-1} mg و 4×10^{-4} mg برای هر جنین مرغ باعث ایجاد ناهنجاری گردیده است. گلوکوکورتیکوئیدها بر روند افزایش نیتروژن و هیدروکسی پرولین در کل بدن مرغ اثر گذاشته و آنرا کاهش می‌دهند. از این رو وزن متوسط مرطوب و خشک جنین با این داروها کاهش یافت که می‌تواند دلیل کندی روند رشد جنین‌ها باشد. این داروها در بیوسنتز RNA ایجاد تغییراتی می‌نمایند که این امر می‌تواند توجیهی برای اثر تخریبی بر

[DOR: 20.1001.1.15614107.1379.2.3.2.8]

جدول ۱. مقایسه تأثیر دو داروی دگزامتازون و هیدروکورتیزون بر روی جنین ۳ روزه مرغ در مقایسه با کنترل در فاکتورهای مورد بررسی

	طول نوک تا خلف	طول نوک	قد	قطر سر	وزن
کنترل (۱)	۳/۳۷۵ ±۰/۱۸۱	۱/۲۱۸ ±۰/۱۵۱	۸/۰۳۵ ±۰/۱۳۷	۱/۵۶۳± ۰/۰۲۷	۱۷/۳۰۲±۰/۹۱۶
$Dex4\times10^{-7}mg$	۳/۴۳۵ ±۰/۱۱۴	۱/۱۰۳ ±۰/۰۵۹	۸/۱۸۴ ±۰/۲۷۹	۱/۵۶۶± ۰/۰۳۹	۱۶/۸۸۰±۰/۸۰۸
$Dex4\times10^{-5}mg$	۳/۳۷۱ ±۰/۱۰۵	۱/۰۸۴ ±۰/۰۴۷	۸/۲۱۰ ±۰/۴۶۹	۱/۵۵۶± ۰/۴	۱۷/۴۵۸± ۲/۵۵
$Dex4\times10^{-4}mg$	۲/۰۷۸± ۰/۴۷*	۰/۶۹۳±۰/۱۶۱*	۴/۸۶۸±۱/۱۰۴*	۱/۱۲± ۰/۲۵۷*	۳/۱۱۶±۱/۵۹۱*
$Dex4\times10^{-6}mg$	۳/۴۲۰± ۰/۱	۱/۲۵۶ ±۰/۰۷۷	۸/۳۵۱ ±۰/۳۱۲	۱/۵۶۸± ۰/۰۴۹	۱۸/۷۵۰±۱/۵۹۱
$Dex4\times10^{-5}mg$	۳/۳۳۰ ±۰/۰۵۶	۱/۱۵۹ ±۰/۰۳۹	۸/۱۸۸ ±۰/۲۱۴	۱/۵۷۷± ۰/۰۵۸	۱۶/۲۴۵±۰/۸۵۳
$Dex4\times10^{-4}mg$	۳/۳۷۸ ±۰/۱۰۲	۱/۱۴۳ ±۰/۰۷۱	۸/۳۵۲± ۰/۳۸	۱/۵۶۳± ۰/۰۲۹	۱۷/۴۸۰±۰/۸۵۳
کنترل (۲)	۳/۳۶۶ ±۰/۱۶۸	۱/۲۲۵ ±۰/۱۴۶	۸/۰۱۰ ±۰/۲۰۶	۱/۵۷۸± ۰/۰۲۶	۱۷/۴۸۰±۰/۸۵۳
$Hyd4\times10^{-2}mg$	۳/۳۹۹ ±۰/۱۲۷	۱/۱۱۳ ±۰/۰۵۳	۸/۰۸۶ ±۰/۲۳۸	۱/۵۷۲± ۰/۰۲۶	۱۶/۷۱۰±۰/۸۸۳
$Hyd4\times10^{-2}mg$	۳/۳۸۸ ±۰/۰۹۶	۱/۰۸۷±۰/۰۵	۸/۱۹۷ ±۰/۵۱۴	۱/۵۳۷± ۰/۰۵۲	۱۷/۵۴۲±۲/۳۸۰
$Hyd4\times10^{-1}mg$	۲/۳۲۹±۰/۳۶۴*	۰/۷۷۲±۰/۱۰۸*	۵/۶۹۰±۱/۰۵۶*	۱/۲۵۸±۰/۲۲۱*	۶/۲۲۹±۳/۰۶۸*

Dex: Dexamethasone Hyd: Hydrocortisone * Significant at $p<0.01$ ، در بقیه موارد $p<0.05$

جمعیت سلولی جنین و کاهش تعداد سلول‌ها و در نتیجه اختلال در سیکل رشد باشد (۸). اثر هیدروکورتیزون در سرکوب فعالیت میتوزی سلولهای در حال رشد و تمایز اندامها ثابت شده است (۴) که دلیلی بر کاهش پارامترهای اندازه‌گیری می‌باشد. رسپتورهای گلوکوکورتیکوئیدی هم واسطه ضدالتهابی و هم واسطه عمل تراتوژنیک گلوکوکورتیکوئیدهاست (۹). گلوکوکورتیکوئیدها از آزادسازی آراشیدونیک اسید و پروستاگلاندین‌ها ممانعت بعمل می‌آورند که دلیلی برای حضور یک مسیر ژنتیکی و بیوشیمیایی برای عمل تراتوژنیکی آنها است (۱۰). هیدروکورتیزون تشکیل و تمایز مراکز استخوانی (کلونی‌هائی که تشکیل مراکز پیش استخوانی را می‌دهند) را کاهش می‌دهد و این امر ممکن است عامل ایجاد دفورمیتی، آپلازی، استئومالاسی، دیسپلازی فیبروزه و دیگر نقایص استخوانی در جنین باشد. هیدروکورتیزون رل اساسی را در رشد غده فوق کلیوی جنین و تشدید عدم پاسخ‌دهی آن ایجاد می‌کند و همین مسئله ایجاد تأخیر در رشد گوسفند و متعاقب آن زایمان دیررس می‌نماید(۱۱).

این مکانیسم ممکن است در مورد جنین مرغ نیز صادق باشد. هیدروکورتیزون می‌تواند میزان گلوتاتیون پراکسیداز، گلوتاتیون ردوکتاز و سوپراکسید دیسموتاز را بمیزان ۷۰-۶۰ درصد در جوجه ۱۵ روزه کاهش دهد (۱۲). در صورتیکه این اتفاق در جنین مرغ نیز بیافتد احتمال ناهنجاریزایی مربوط به کاهش آنزیمهای متابولیزه کننده افزایش می‌یابد. گلوکوکورتیکوئیدها باعث تحریک فعالیت استئوکلاستهای استخوان می‌شوند (۷). استئوکلاستها با دخالت در تجزیه و تغییر شکل استخوانها نقش مهمی در شکل‌بندی اسکلتی دارند. بنابراین ناهنجاریزایی این دو ترکیب ناشی از نقش وسیع گلوکوکورتیکوئیدها در متابولیسم و ساخت و ساز اندامهای مختلف بدن می‌باشد.

نتایج بدست آمده در این مطالعه نشان می‌دهد که دگزامتازون در مقدار مصرف 4×10^{-4} mg برای هر تخم‌مرغ و هیدروکورتیزون در مقدار مصرف 2×10^{-1} mg برای هر تخم‌مرغ باعث ناهنجاریزایی گردیده است که با آنالیز آماری این اثر بر روی اندامهای خارجی و اسکلت

[DOR: 20.1001.1.15614107.1379.2.3.2.8]

داخلی به اثبات رسیده است. قدرت اثر دگزامتازون ۵۰۰ مرتبه قوی‌تر از هیدروکورتیزون در ایجاد ناهنجاریزایی بوده است. البته این اثر در مقایسه با قدرت فارماکودینامیکی آن حدود ۲۵-۲۰ برابر بیشتر است. بررسی فاکتورهای فارماکوکینتیکی در انسان نشان می‌دهد که دگزامتازون دارای نیمه عمر بالا و در حدود ۷۲-۳۶ ساعت است، در صورتیکه هیدروکورتیزون یک داروی کوتاه اثر با نیمه عمر ۱۲-۸ ساعت می‌باشد. علت تفاوت کینتیکی آنها به عمل آنزیمهای متابولیزه کننده برمی‌گردد. در درون تخم‌مرغ جنین‌دار نیز آنزیمهای متابولیزه کننده هم در زرده (yolk) و هم در آلبومین وجود دارد (۱۳). اگر آنزیمهای مذکور بهمان طریق در انسان عمل نمایند، تفاوت در سرعت متابولیزه شدن دگزامتازون و هیدروکورتیزون باعث افزایش اثر دگزامتازون بیشتر از میزان اثر فارماکولوژیک آن می‌گردد. زیرا دگزامتازون مدت زمان بیشتری را در مجاورت سلولهای جنینی قرار می‌گیرد. نکته دیگر اینکه در انسان درصد اتصال به پروتئین‌های پلاسمای هیدروکورتیزون ۹۵-۷۵ درصد و در دگزامتازون ۷۱-۶۵ درصد می‌باشد. زرده و آلبومین تخم‌مرغ نیز حاوی پروتئین‌های مشابه می‌باشد(۱۳). بنابراین احتمال تفاوت غلظت داروی آزاد بنفع دگزامتازون وجود دارد که خود می‌تواند عامل دیگری بر افزایش اثر دگزامتازون باشد. با توجه به وجود تشابهات فارماکوکینتیکی بین محیط جنین مرغ و انسان، احتمال وقوع ناهنجاری در جنین انسان با توجه به تفاوت اثر بین دگزامتازون و هیدروکورتیزون مشابه نتایج این مطالعه، در دوره حاملگی نیز وجود دارد و بنابراین انتخاب مقدار مصرف هم ارز بر اساس قدرت اثر فارماکولوژیکی منطقی بنظر نمی‌رسد.

****

References

1. Timothy et al. Drug's fact & comparisons. JB , Lippincott Co. 48th ed, 1994; pp: 235-250.

2. Reynold JEF, Prasad AB. Marthindale the extra pharmacopcia , 31th eds. the pharmaceutical press 1996;

3. Abbott BD, Predew GH, Buckalew AR, Birnbaoum LS. Interactive regulation of Ah and glucocorticoid receptors in the synergistic induction of cleft palate by 2 , 3 , 7 , 8- tetrachlordibenzo-P -dioxin and hydrocortison. Toxicol Appl Pharmacol 1994; 128:138-150.

4. Pavlik A, Novotna B, Jelinek R. Glucocorticoid receptor mediated teratogenesis and cell proliferation in the limbs and face of the chick embryo teratocarcin Mutagen. 1986; 6(5): 441-450.

5. Bartus F, Loskot J, Matuskova J. Effect of glucocorticoids on total protein and hydroxyproline content in the chick embryo. Folia Pharm 1988; 12: 95-107.

6. Barcellona PS, Compana A, Martino C. Interpecies differences in the embryotoxicity of different corticosteroids. Boll Chim Farm 1980; 119: 391-404.

7. Jelinek R, Peter M. Chick embryotoxicity screening test-130 substances tested. Indian J Exp Biol 1985; 23: 588-595.

8. Likovsky Z, Peterka M, Peterkova R. Drug-induced changes of RNA biosynthesis -A marker of toxic damage to embryonal cell population. Funct Der Morpol 1993; 34: 3-9.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1379.2.3.2.8]

9. Katsumata M, Gupta C, Goldman AS. Glucocorticoid receptor IB, Mediator of anti-inflammatory and teratogenic function of both glucocorticoids and phenytoin. Arch Biochem Biophys 1985; 243(2): 385-390.

10. Gupta C, Katsumata M, Goldman As. H-2 histocompatibility region influence the inhibition of arachidonic acid cascade by dexamethasone and phenytoin in mouse embryonic palates, J Craniofac Gene Dev Biol 1985; 5(3): 277-285.

11. Poore KR, Young IR, Canny BJ, Thorburn GD. Studies on the role of Acth in the regulation of adrenal responsivenen and the timing of parturition in the ovine fetus. J Endocrinol 1998; 158(2): 161-171.

12. Lee JW, Iwatusur M, Nishigori H. Alternation of activities of hepatic antioxidant defence enzymes in developing chick embryos after glucocorticoid regulation of basal and vitamine D stimulated gene expression. J Cell Biochem 1998; 69(2): 154-168.

13. Beltiz HD, Grosch W. Food chemistry translation from the second German edition by Hadziyer D. Sprunger Verlay , Berline. 1986; pp:403-410.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1379.2.3.2.8]