

اثر اتانل روی جنین و نوزادان موشهای صحرائی

دکتر یوسف صادقی، استادیار دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

دکتر بهپور یوسفی، استادیار دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی سمنان

مقدمه:

به گروه تجربه آب حاوی ۱۲٪ اتانل با روش ad libitum به مدت چهار هفته داده شده و در همین مدت گروه کنترل آب عاری از اتانل دریافت نموده‌اند. سپس هر دو گروه بطور جداگانه در مجاور نرها قرار گرفته‌اند، در حالی که تغذیه آب به همان ترتیب ادامه داشته است. رت‌های حامله شده علامت‌گذاری شده و بعد از طی دوره حاملگی تولد نوزاد به عنوان روز ۱ نوزادی برای هر کدام جداگانه یادداشت گردیده و در حالی که تغذیه آب با همان روش در زمان شیردهی هم ادامه داشته (Francine 1984)، در روزهای ۱۶، ۲۲، ۲۹ از هر گروه ۸ عدد نوزاد انتخاب شده و با ۴ میلی‌گرم نمبوتال به طریق تزریق داخل قلبی بیهوش شده‌اند.

وزن کلی بدن نوزادان اندازه‌گیری و ثبت گردیده است (جدول ۱، ۲، ۳). سپس جمجمه را از ناحیه طاق (Vertex) شکافته و با دقت تمام استخوان‌های جمجمه را جدا کرده و مغز (Encephalon) را در محل سوراخ پس سری بزرگ (Foramen magnum) از نخاع جدا کرده و از حفره جمجمه خارج و بلافاصله وزن کرده و ثبت نموده‌ایم (جدول ۱، ۲، ۳).

در پایان با استفاده از کامپیوتر و روشهای آماری وزن کلی بدن و وزن مغز در نوزادان هر دو گروه و در زیر گروه‌های روزهای ۱۶، ۲۲ و ۲۹ روزه بررسی و مقایسه شده‌اند (جدول ۴).

نتایج:

وزن کل بدن: در نوزادان ۱۶ روزه، وزن کل بدن بطور متوسط در گروه تجربه ۱۷/۸۱ گرم و در گروه کنترل ۱۹/۷۷ گرم بوده که ۱۰/۰۷ درصد کاهش وزن در گروه تجربه نسبت به کنترل مشاهده شده ($P < ۰/۰۵$) که از نظر آماری کاهش معنی‌دار نمی‌باشد (جدول شماره ۱).

در نوزادان ۲۲ روزه وزن کل بدن بطور متوسط در گروه تجربه ۲۷/۶۵ گرم و در گروه کنترل ۳۵/۷۸ گرم بوده و ۲۲/۷ درصد کاهش وزن در گروه تجربه نسبت به کنترل مشاهده شده ($P < ۰/۰۱$) که از نظر آماری کاهش معنی‌دار می‌باشد (جدول شماره ۲).

عوامل درون‌زا (endogenous) و بیرون‌زا (exogenous) می‌توانند در مراحل حساس تکاملی تاثیر داشته باشند (Vernadakis. A 1986). یکی از فاکتورهای بیرون‌زا اتانل می‌باشد که تراژون بودن آن در سال ۱۹۶۸ منتشر شده است (Lemoine et al 1968). این ماده سبب انواع ناهنجاری‌ها از سطح سلولی تا ارگانی می‌شود (Abel, Ei, Jacobson, and Shorwin 1983). اثرات سوء ناشی از مصرف اتانل در مادران سبب ایجاد سندرم الکلی جنین (Fetal alcohol syndrome (F.A.S) و اثر الکلی جنینی، Fetal alcohol effect می‌شود.

(Jones, KI 1973, chernoff - G. F 1977 Padmanabhan. R Hameed. MS 1988) در نوزادان مادرانی که اتانل دریافت می‌کنند کاهش وزن کلی بدن و کاهش وزن مغز مشاهده شده است.

(Jones. KL 1973, Lopez 1986, Arishima K 1989, Zimmerberg. B 1989 and Kotch E 1992)

در تجربیاتی که جهت بررسی اثرات اتانل انجام شده روش تغذیه نوزادان با مایع حاوی اتانل از طریق لوله معدی یا گاستروتومی بوده است. لذا نویسندگان مقاله روشی جهت رساندن اتانل به نوزادان انتخاب نموده‌اند که تاکنون مشابه آن انجام نشده است.

مواد و روشها:

۱۰ عدد رت (موش صحرائی) ماده به عنوان گروه تجربه، ۱۰ عدد به عنوان گروه کنترل و ۵ عدد رت نر جمعا ۲۵ عدد از موسسه حصارک کرج تهیه شده که وزن آنها ۲۰۰ - ۱۵۰ گرم بوده است.

رت‌ها در قفس‌های شماره‌گذاری شده بطور جداگانه نگهداری گردیده و تغذیه آب همگی آنها از طریق شیشه‌های مدرج دارای پستانک مخصوص بوده بطوری که امکان دریافت آن فقط از طریق مکیدن بوده و تغذیه غذایی آنها یکسان در نظر گرفته شده است.

در نوزادان ۲۹ روزه وزن کل بدن بطور متوسط در گروه تجربه ۶۱/۴۳ گرم و در گروه کنترل ۷۰/۶۸ گرم بوده و ۱۳ درصد کاهش وزن در گروه تجربه نسبت به گروه کنترل مشاهده شده ($0.01 < P < 0.02$) که از نظر آماری کاهش معنی دار نمی باشد (جدول شماره ۳).

وزن مغز: در نوزادان ۱۶ روزه وزن مغز بطور متوسط در گروه تجربه ۱/۴۲ گرم و در گروه کنترل ۱/۴۷ گرم بوده که ۳/۶ درصد کاهش وزن مغز در گروه تجربه نسبت به کنترل مشاهده شده ($0.02 < P < 0.03$) که از نظر آماری کاهش معنی دار نمی باشد (جدول شماره ۱).

در نوزادان ۲۲ روزه وزن مغز بطور متوسط در گروه تجربه ۱/۵۴ گرم و در گروه کنترل ۱/۵۹ گرم بوده که ۳/۱۵ درصد کاهش وزن مغز در گروه تجربه نسبت به کنترل مشاهده شده ($0.02 < P < 0.05$) و از نظر آماری کاهش معنی دار نمی باشد (جدول شماره ۲).

در نوزادان ۲۹ روزه وزن مغز بطور متوسط در گروه تجربه ۱/۷۱ و در گروه کنترل ۱/۷۶ گرم بوده که ۲/۸۴ درصد کاهش وزن مغز در گروه تجربه نسبت به گروه کنترل مشاهده شده ($0.03 < P < 0.02$) و از نظر آماری کاهش معنی دار نمی باشد (جدول شماره ۳).

نسبت وزن کل بدن در نوزادان ۱۶ روزه در گروه تجربه ۹ درصد و در گروه کنترل ۷/۴ درصد، در نوزادان ۲۲ روزه گروه تجربه ۵/۵ درصد و در گروه کنترل ۴/۴ درصد و بالاخره در نوزادان ۲۹ روزه در گروه تجربه ۲/۷ درصد و در گروه کنترل ۲/۴ درصد بوده است که همگی نتایج فوق در جدول شماره ۴ جهت بررسی کلی و مقایسه آورده شده است.

بحث:

کاهش وزن کلی بدن، ضایعات سیستم عصبی و سایر ارگانها به دنبال استفاده از اتانل در حیوانات و در انسان مخصوصاً از سال ۱۹۶۸ به بعد با پژوهشهای متعددی توسط محققین بررسی شده است از جمله:

در سال ۱۹۷۷ Chernoff.GF رژیم مایع که ۱۵ الی ۳۵ درصد از کالری آن را اتانل تشکیل می داد به رت داده و اختلال در استخوان سازی، ضایعات عصبی و کاهش وزن را در نوزادان آنها گزارش نموده است.

در سال ۱۹۷۹ Lee M و Leichter.J ۲۸ درصد کاهش وزن کلی بدن را در نوزادان رت هایی که اتانل ۲۰ درصد به مدت چهار هفته قبل از حاملگی و اتانل ۳۰ درصد در طول حاملگی و همراه آب دریافت می کردند گزارش کرده اند.

در سال ۱۹۸۴ Francine و همکاران در گروهی از رت ها رژیم مایعی داده اند که ۲۷ درصد از کالری آن را اتانل تشکیل می داده و نوزادان این گروه تا ۲۱ روز از شیر مادری که همین رژیم را داشت تغذیه می شدند و مشاهده کرده اند که ۵۴ درصد کاهش وزن کلی بدن و ۱۳/۸ درصد کاهش وزن مغز در نوزادان ۱۶ روزه، ۵۷ درصد

کاهش وزن کلی بدن و ۱۴/۸ درصد کاهش وزن مغز در ۲۱ روزه و بالاخره ۲۵ درصد کاهش وزن کلی بدن و ۱۰ درصد کاهش وزن مغز در نوزادان ۳۰ روزه در گروه تجربه نسبت به کنترل وجود دارد.

در سال ۱۹۸۸ Bonthius DJ, West JR با دادن اتانل (7.5 g/Kg) در روزهای ۴ الی ۱۰ بعد از تولد کاهش وزن کلی بدن را ۳۳ درصد و کاهش وزن مغز را ۵۲ درصد گزارش کرده اند.

در سال ۱۹۸۹ Phillips شیرداری ۴ درصد اتانل از طریق گاستروستومی در روزهای ۵ الی ۹ بعد از تولد به نوزادان رت داده و مشاهده کرده که موجب کاهش وزن کلی بدن به میزان ۷/۱۴ درصد در ۱۶ روزه و ۱ درصد در ۲۲ روزه و ۸/۶ درصد در ۲۹ روزه شده که از نظر آماری کاهش معنی دار نمی باشد. ضمناً این محقق وزن مغز را بدون مخچه و پیازبویائی بررسی کرده و مشاهده نموده که در ۱۶ روزه ۱۱/۵ درصد، در ۲۲ روزه ۷/۶ درصد و در ۲۹ روزه ۱۲/۵ درصد کاهش وزن مغز نسبت به گروه کنترل دیده می شود که این نیز از نظر آماری معنی دار نمی باشد.

در تجربه فوق نسبت وزن مغز به وزن کلی بدن در ۱۶، ۲۲، ۲۹ روزه گروه تجربه به ترتیب ۳/۲ درصد، ۲/۲ درصد و ۱/۵ درصد بوده در حالی که در نوزادان گروه کنترل به ترتیب ۳/۴ درصد، ۲/۳ درصد و ۱/۵ درصد بوده است.

در سال ۱۹۹۰ Phillips DE - Krueger-SK شیر حاوی ۴ درصد اتانل را به روش قبلی به نوزادان در روزهای ۵ الی ۹ بعد از تولد داده و کاهش معنی داری در وزن کلی بدن و وزن مغز در نوزادان ۱۶، ۲۲ و ۲۹ روزه مشاهده ننموده اند.

در مقایسه نتایج کارهای دیگران و کار نویسندگان (جدول ۴) ارقام به دست آمده تقریباً در بعضی از گروه های سنی مشابه و در بعضی متفاوت بوده که احتمالاً به علت اختلاف در روش ها می باشد به طوری که در متن آمده در گروه های سنی ۱۶، ۲۲، ۲۹ روزه نتایج کار با نتایج Phillips و همکاران چندان تفاوت نشان نمی دهد.

ولی در مجموع می توان گفت که اتانل بر وزن کلی بدن نسبت به وزن مغز تأثیر بیشتری در جهت کاهش دارد که این مساله می تواند به دلیل اثر اتانل بر روی insulin like growth factor (Bresse Cr et al 1993) و نیز تأثیر آن بر روی سنتز و آزاد شدن Growth factor از هیپوفیز باشد (Lee M, wakabayashi-K 1986).

ولی آنچه مسلم است مکانیسم دقیق اثر اتانل مشخص نشده است (Susan kentroti and Antonia verna dakis 1991).

خلاصه:

آب حاوی ۱۲٪ اتانل به رت های ماده چهار هفته قبل از حاملگی، در دوران حاملگی و در دوره شیردهی داده شده و تأثیر آن در وزن کلی بدن و وزن مغز نوزادان آن ها در روزهای ۱۶، ۲۲ و ۲۹ بعد از تولد مورد بررسی و با گروه کنترل که آب عاری از اتانل دریافت داشته اند مقایسه شده و مشاهده گردیده است که وزن کلی

12. Lopez - Tejero - D; Ferrer - I; Lobera - M; Hereva - E., "Effects of prenatal ethanol exposure on physical growth, sensory reflex maturation and brain development in the rat". *Neuropath-Apli, Neurobiol.* 1986 May-Jun, 12(3); 351-60.

13. Padmanabban-R-Hameed-MS. "Effects of acute doses of ethanol administered at preimplantation stages on fetal development in the mouse" *Drug-Alcohol-Depend.* 1988 Oct, 22 (1-2): 91-100.

14. Phillips-DE: "Effects of limited postnatal ethanol exposure on the development of myelin and nervefiber in rat optic nerve". *Exp. Neuro* (1989): 103 90-100.

15. Phillips-DE: Krueger-SK; "Effects of postnatal ethanol exposure on gial cell development in rat optic nerve" *Exp-Neuro* 1990 Jan; 107 (1): 97-105.

16. Susan Kentroti and Antonia vernadakis "Neuronal plasticity in the developing chick brain: Interaction of ethanol and neuropeptides Deve. *Brai Res.* 56 (1990) 205-210.

17. Vernadakis, A, Sakellaridis, N. and Mongoura, D; "Growth patterns of primary cultures dissociated from 3 day old chick embryos: morphological and biochemical comparisons." *J: Neurosel, Res:* 16(1986) 397-407.

18. Zimmerberg-B, Reuter-JM "Sexually dimorphic behavioral and brain asymmetrics in neonatal rats" *Brai-Res* 1989 April 46(2): 281-290.

بدن و وزن مغز در نوزادان مادران دریافت کننده اتانل نسبت به نوزادان مادرانی که اتانل دریافت نکرده اند کمتر است. البته این کاهش در اکثریت موارد از نظر آماری معنی دار نبوده بلکه فقط در مورد وزن کلی بدن در نوزادان ۲۲ روزه نسبت به گروه کنترل کاهش معنی دار از نظر آماری مشاهده گردیده است.

References:

1. Abel, E.L; Jacobson, S and sherwin BT; "In utero ethanol exposure., functional and structural brain damage." *wsurobn. Toxi - Teratol.* 5(1983) 363-366.

2. Arishima-K, Lee-M, Yamamoto-M; Eguchu, Y "Compensatory adrenal hypertrophy following unilateral adrenalectomy of fetuses of rats given alcohol throughout gestation *Fetal-ther-1989;* 4(4): 171-7.

3. Bonthius-DJ; West-JR "Blood alcohol concentration and microencephaly in a dose response study in the neonatal rat." *Teratology-1988 Mar;* 37(3); 223-31.

4. Breese-CR etal "Long-Term Suppression of insulin-like growth factor-1 in rats after in utero ethanol exposure; relationship to somatic growth" *J-phar-Exp. Ther* 1993 Jan, 264 (1): 448-56.

5. Chernaff. G. F "the fetal alcohol syndrome in the mice and animal model" *Teratolgy.* 15(1977): 223-30.

6. Francine E et al "Brain myelination in the offspring of ethanol treated Rats. in utero Versus lactational exposure by crossfostering offspring of control paired and Ethanol treated Dams. *Bra: Res,* 309 (1984), 209-216.

7. Jones KL et al "pathern of malformation in offspring of chronic alcoholic mothers" *Lancet* 1: 1267 (1973).

8. Kotch-LE, Sulik-KK "Experimental fetal alcohol syndrom, proposed pathogenic basis for a variety of associated facial and brain anomalies" *Am. J. med.* 1992 Sep 15, 44(2): 168-76.

9. Lee-M: Wakabayashi-K, "Pituitary and thyroid hormones in pregnant alcohol fed rats and their fetuses *Alcohol-clins. Exp-Res.* 1986 Aug. 10(4): 428-31.

10. Leichter-J; Lee-M. "Effect of maternal ethanol adminstration on physical growth of the offspring in rats" *Growth,* 1979. Dec; 43(4); 288-93.

11. Lemoine, P, et al; "Les enfants Alcoo liques; Anomalies observees'a propos de 127 cas quest, 25 (1968); 476-482.

16 DAY

No.	Body Weight Control	Brain Weight Control	Body Weight Ethanol	Brain Weight Ethanol
1	21.439	1.529	15.429	1.332
2	20.259	1.537	19.797	1.444
3	16.052	1.42	18.523	1.445
4	23.77	1.629	18.09	1.379
5	21.654	1.563	15.662	1.398
6	15.996	1.414	17.992	1.461
7	18.115	1.34	19.045	1.418
8	20.864	1.346	17.219	1.498
MEAN	19.769	1.47225	17.782130	1.421875
S.D	2.6120670	0.0998571	1.3503900	0.0485423

جدول شماره ۱

29 DAY

No.	Body Weight Control	Brain Weight Control	Body Weight Ethanol	Brain Weight Ethanol
1	59.5892	1.709	56.3766	1.742
2	79.5935	1.837	66.4474	1.699
3	65.4385	1.684	54.9758	1.784
4	61.0663	1.676	65.0342	1.896
5	68.8965	1.82	62.486	1.744
6	82.3741	1.824	60.4119	1.608
7	86.1	1.923	64.5435	1.682
8	69.4324	1.638	61.1924	1.54
MEAN	170.6763100	1.763	61.43145	1.711875
S.D	8.84676	0.09314639	3.829364	0.1015092

جدول شماره ۳

22 DAY

No.	Body Weight Control	Brain Weight Control	Body Weight Ethanol	Brain Weight Ethanol
1	43.781	1.723	27.934	1.590
2	39.385	1.607	27.793	1.597
3	37.202	1.564	28.785	1.563
4	33.352	1.654	28.442	1.52
5	24.053	1.391	26.789	1.51
6	38.634	1.685	26.785	1.508
7	43.693	1.686	28.372	1.544
8	26.117	1.461	26.289	1.527
MEAN	35.777130	1.596375	27.648630	1.544875
S.D	6.9514950	0.1100613	0.8573017	0.03278124

جدول شماره ۲

BODY WEIGHT & BRAIN WEIGHT

		16 DAY	22 DAY	29 DAY
BODY WEIGHT	ETHANOL	17.781	27.63	61.43
	CONTROL	19.77	35.78	70.68
	E/C %	89.93	77.28	86.91
	P	0.1 < P < 0.05	P < 0.01	0.01 < P < 0.02
BRAIN WEIGHT	ETHANOL	1.42	1.54	1.71
	CONTROL	1.47	1.59	1.76
	E/C %	96.60	96.85	97.16
	P	0.2 < P < 0.3	0.2 < P < 0.3	0.2 < P < 0.3
BRA.W./BOD.W.	ETHANOL	0.08	0.055	0.027
	CONTROL	0.074	0.044	0.024
	E/C %	108.11	125.00	112.5

IN ETHANOL DELIVERY & CONTROL CASES

جدول شماره ۴