

اثرات فیتو توکسیک کربنات لیتیموم بر پارامترهای رشد دوره جنینی در موش صحرایی آزمایشگاهی

مریم سربیشگی*، دکتر حمیدرضا محمودزاده ثاقب**، دکتر زهرا حیدری**، دکتر هوشنگ رفیق دوست*

* دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی زاهدان، دانشکده پزشکی، گروه علوم تشریح، بخش آناتومی
** دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی زاهدان، دانشکده پزشکی، گروه علوم تشریح، بخش بافت شناسی

چکیده

لیتیموم دارویی است که در درمان اختلالات دو قطبی، مانیا و افسردگیهای مازور بکار می رود. مصرف این دارو در دوران بارداری نیز به دلیل جلوگیری از عود بیماری ادامه می یابد لذا مطالعه حاضر به منظور بررسی اثرات فیتوتوکسیک کربنات لیتیموم بر قد، وزن و قطر بین آهیانه ای و تغییرات ماکروسکوپی در شکل ظاهری جنین موش صحرایی آزمایشگاهی انجام شد.

در این مطالعه تجربی ۳۰ سر رت ماده و ۱۰ سر رت نر از نژاد Sprague dawely انتخاب گردیدند. پس از جفت گیری و مشاهده اسپرم در اسمیر واژینال معادل روز صفر حاملگی در نظر گرفته شد، رتهای باردار به طور تصادفی به دو گروه آزمایش و شاهد تقسیم شدند. ($n = 6$) گروه آزمایش در روزهای ۷، ۱۰، ۱۳، ۱۶ و ۱۹ حاملگی تحت تزریق ۵۰ میلی گرم کربنات لیتیموم به صورت داخل صفاقی قرار گرفتند، به گروه شاهد هیچ ماده ای تزریق نگردید. روز بیستم بارداری پس از بیهوشی، جنین ها خارج و از لحاظ ناهنجاریها و شکل ظاهری مورد بررسی قرار گرفتند. از گروه شاهد ۵۱ و از گروه آزمایش ۵۰ جنین بدست آمد. وزن، طول فرق سری- دنبالچه ای و قطربین آهیانه ای اندازه گیری، ثبت و مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. آزمون آماری کاهش معنی داری را در میانگین اندازه قطربین آهیانه ای، وزن و طول فرق سری- دنبالچه ای در اثر مسمومیت با لیتیموم نشان داد. ($P < 0.05$)

به نظر می رسد که تجویز لیتیموم در دوره حاملگی می تواند باعث کاهش رشد و نمو جنین موش صحرایی آزمایشگاهی شود. (مجله طبیب

شرق، سال پنجم، شماره ۲، تابستان ۱۳۸۲، ص ۱۱۵ تا ۱۲۱)

گل واژه ها: کربنات لیتیموم، اثرات فیتوتوکسیک، جنین، رت، پارامترهای رشد

مقدمه

این دارو تقریباً به طور کامل از طریق سیستم گوارشی جذب شده و به راحتی می تواند از سد خونی - جفتی عبور کند به طوری که غلظت سرمی آن در مادر و جنین یکسان می گردد. همچنین می تواند در شیر مادر نیز ترشح شده و میزان آن در شیر نصف غلظت سرمی مادر شود.^(۴۳)

از آنجائیکه اکثراً اولین واقعه مانیا و اختلالات سایکولوژیک در زنان قبل از سی سالگی اتفاق می افتد، بسیاری از این زنان در سال های باروری شان ممکن است در معرض خطرات تراتوژنیک و فیتوتوکسیک این دارو قرار گیرند، حاملگی در

لیتیموم فلزی است از خانواده فلزات قلیائی (سدیم، پتاسیم، منیزیم) که به صورت آزاد در محیط یافت نمی شود ولی از طریق بعضی غذاها، آب های معدنی و سبزیجات وارد بدن می گردد و میزان دریافت آن روزانه ۲ میلی گرم می باشد.^(۱) از ترکیبات این فلز در صنایع خودروسازی، باطری سازی، جوشکاری، لحیم کاری و سرامیک سازی استفاده زیادی می شود.^(۱) هم اکنون بر مصرف ترین ترکیب آن کربنات لیتیموم می باشد که در درمان اختلالات دوقطبی، مانیا، سایکوز و افسردگی مازور به کار می رود.^(۲)

لذا مطالعه حاضر به منظور بررسی تأثیر لیتیوم بر میزان ناهنجاری‌های ظاهری و اختلالات رشدی داخل رحمی جنین موش صحرایی آزمایشگاهی انجام گرفت.

روش کار

در این مطالعه تجربی که در دی ماه سال ۱۳۸۱ در آزمایشگاه حیوانات مرکز تحقیقات و آزمایشگاه بخش بافت شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی زاهدان انجام گرفت، ۳۰ سررت ماده^(۴) *Nulliparus* از نژاد *Sprague Dawely* با سن تقریبی ۹ تا ۱۰ هفته و با وزن متوسط ۲۳۵ - ۲۰۰ گرم و ۱۰ سررت نر بالغ انتخاب شدند.

هر سه رت ماده با یک رت نر در یک قفس قرارداد شد و پس از ۱۲ ساعت از رت‌های ماده اسپر و ژینال تهیه شد، مشاهده اسپرم در اسپر که علامت جفت‌گیری موفق است معادل روز صفر حاملگی در نظر گرفته شد، رت‌های حامله از رت‌های نر جدا گردیده و به طور تصادفی به دو گروه آزمایش و شاهد تقسیم شدند. ($n = 6$) رت‌های بارداری در آزمایشگاه حیوانات در حرارت ۲۴ - ۲۰ درجه سانتی‌گراد و شرایط نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و دسترسی آزادانه به آب و غذا نگهداری شدند. گروه آزمایش در روزهای ۷، ۱۰، ۱۳، ۱۶ و ۱۹ حاملگی، ۵۰ میلی گرم کربنات لیتیوم به صورت تزریق داخل صفاقی دریافت نمودند، به گروه شاهد هیچ ماده‌ای تزریق نگردید. روز بیستم حاملگی حیوانات تحت بیهوشی عمیق توسط اتر قرار گرفته، سپس جدار قدامی شکم باز و جنین‌ها خارج گردیدند. از گروه شاهد ۵۱ جنین و از گروه آزمایش ۵۰ جنین بدست آمد. جنین‌ها از نظر ناهنجاریهای ظاهری مورد بررسی قرار گرفتند، سپس وزن آن‌ها با ترازوی (A&D) ساخت ژاپن با دقت ۰/۰۱ گرم اندازه‌گیری شد، طول فرق سری دنبالچه ای (CRL) از فرق سر تا اولین مهره دمی (شروع دم) توسط کولیس با دقت ۰/۱ میلی متر و فاصله بین برجستگیهای آهیانه‌ای (BPD) توسط میکرومتر ریزسنج با دقت

زنان تحت درمان اختلالات سایکولوژیک یک مشکل خاص هم برای بیمار و هم برای پزشک تلقی می‌گردد چرا که می‌تواند علائم بیماری را تشدید کرده و همچنین باعث تغییر فارماکوکینتیک (جذب، دفع، متابولیسم، توزیع) دارو شود.^(۵)

کلیرانس کلیوی لیتیوم در طی دوره حاملگی ۵۰ تا ۱۰۰ درصد افزایش می‌یابد از این رو نیاز به افزایش دوز دارو می‌باشد، این افزایش دوز می‌تواند موجب مسمومیت جنین شود.^(۶) همچنین عواملی همچون کاهش آب بدن به هر طریق از جمله اسهال، استفراغ، تعریق و رژیم کم نمک می‌تواند در بیماران تحت درمان با دوز درمانی و نگهدارنده لیتیوم باعث ایجاد مسمومیت شود.^(۴)

نتایج برخی از بررسی‌های انجام شده نشان می‌دهد که مادران تحت درمان با لیتیوم ۲/۵ برابر مادران سالم دچار زایمان زودرس می‌شوند و میزان سقط در این زنان ۱۰ درصد بیشتر از سایر زنان می‌باشد.^(۷و۸)

در طبقه‌بندی سازمان غذا و داروی ایالات متحده (FDA) این دارو جزو گروه (D) قرار دارد بدین معنی که شواهدی مبنی بر وجود خطر برای جنین انسان وجود دارد اما منافع دارو استفاده آن را در زمان بارداری اجتناب‌ناپذیر می‌نماید.^(۹)

برخی مطالعات نشان داده‌اند که کاربرد لیتیوم در طی دوره حاملگی در رت و موش دارای اثرات تراژوژنیک و فیتو توکسیک می‌باشد. لیتیوم می‌تواند باعث کاهش وزن، تاخیر رشدی، ناهنجاریهای استخوانی، آنومالی‌های گوش و چشم در جنین و افزایش جنین‌های جذبی تا ۶۰ درصد و مرگ و میر مادران و نوزادان به هنگام زایمان شود.^(۱۰و۱۱و۱۲)

اگر چه در بسیاری از مطالعات قبلی گزارش شده است که مصرف لیتیوم در دوران بارداری و پس از آن موجب کاهش رشد و نمو جنین و نوزاد می‌شود،^(۱۰و۱۱) ولی شواهدی نیز مبنی بر عدم تأثیر آن بر رشد و نمو جنین‌ها وجود دارد.^(۱۳و۱۴)

معنی داری را نشان داد ($P < 0/001$). این کاهش به میزان ۱۷ درصد در گروه آزمایش نسبت به شاهد بود. در مقایسه قطر بین آهیانه‌ای (BPD) میانگین در گروه آزمایش نسبت به گروه شاهد ۱۲ درصد کاهش داشت که مقایسه میانگین دو گروه از نظر آماری کاهش معنی داری را در گروه آزمایش نشان داد ($P < 0/001$).

بحث

در مطالعه حاضر اثر کربنات لیتیموم در دوز ۵۰ میلی گرم بر پارامترهای رشد جنین ۲۰ روزه موش صحرایی آزمایشگاهی در مقایسه با گروه شاهد بررسی شد. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد در جنین‌هایی که مادرانشان لیتیموم دریافت نمودند پارامترهای رشد (قد، وزن، قطر بین آهیانه‌ای) کاهش معنی داری نسبت به گروه شاهد داشت ($P < 0/05$)، ولی ناهنجاری ظاهری مشاهده نشد، همچنین مقایسه جذب جنین در دو گروه از نظر آماری معنی دار نبود ($P > 0/05$).

۰/۰۱ میلی متر اندازه گیری شد، پس از جمع آوری اطلاعات مربوط به وزن، قطر بین آهیانه‌ای و طول فرق سری دنباله‌ای جنین‌های دو گروه، این اطلاعات با استفاده از آزمون آماری t -test با برنامه نرم افزاری spss 9.0 مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. (حدود اطمینان ۹۵ درصد در نظر گرفته شد)

یافته‌ها

در بررسی‌های انجام شده روی جنین‌ها، در هر یک از گروه‌های آزمایش و شاهد، ناهنجاری ظاهری مشاهده نشد. ولی در گروه آزمایش میزان جنین‌های جذبی ۹/۹ درصد بود که تفاوت دو گروه از نظر آماری معنی دار نبود ($P > 0/05$). در مقایسه وزن نوزادان دو گروه میانگین وزن در گروه آزمایش که مادران آنها کربنات لیتیموم دریافت می‌کردند نسبت به گروه شاهد ۴۹ درصد کاهش داشت که این کاهش وزن از نظر آماری معنی دار بود ($P < 0/001$) (جدول ۱).

بررسی آماری مربوط به مقایسه طول فرق سری دنباله‌ای (CRL) در گروه آزمایش نسبت به گروه شاهد کاهش

جدول ۱: مقایسه میانگین و انحراف معیار قد، وزن و قطر بین آهیانه‌ای در دو گروه شاهد ($n=51$) و تجویز لیتیموم ($n=50$) = تعداد نمونه

مقدار P	آزمایش	شاهد	گروه شاخص
	میانگین $\pm$ انحراف معیار	میانگین $\pm$ انحراف معیار	
$<0/001$	$34/9 \pm 3/4$	$42/1 \pm 1/8$	قد (CRL) (میلی متر)
$<0/001$	$3/5 \pm 0/8$	$6/7 \pm 7/5$	وزن (F.B.W) (گرم)
$<0/001$	$7/2 \pm 0/3$	$8/1 \pm 0/4$	قطر بین آهیانه‌ای (میلی متر) (BPD)

لیتیوم به راحتی می تواند از سدخونی - جفتی عبور کرده و به جنین برسد که این موضوع در رت نیز به اثبات رسیده است.^(۱۰ و ۱۴)

این فلز با مهار پیامبرهای ثانویه (Secondary messengers) روی مکانیسم های سلولی و انتقال سیگنال اثر گذاشته و با توجه به شباهت ترکیب شیمیائی آن با منیزیوم می تواند به طور انتخابی با محل های اتصال منیزیوم در DNA باند شده و باعث مهار سنتز و ترمیم DNA شود.^(۳)

از طرفی لیتیوم با مهار متابولیسم اینوزیتول فسفات باعث ایجاد تغییراتی در تکامل جنین می گردد که احتمالاً ایجاد ناهنجاریهای جنینی به این خصوصیات آن مربوط می شود.^(۶) محققین ناهنجاری های ماکروسکوپی متعدهی را در جنین رت و موش که مادرانشان در معرض کربنات لیتیوم قرار گرفته اند گزارش نموده اند، از جمله می توان به ایجاد شکاف کام، سینداکتیلی، نقایص مفصل مچ پا، موجی شدن دنده ها، مغز خمیری و کوتاهی و تغییر شکل استخوان های اندامها اشاره نمود.^(۱۰ و ۱۲)

در مطالعه حاضر هیچ گونه ناهنجاری ماکروسکوپی در جنین های گروه آزمایش و شاهد مشاهده نشد. در گروه شاهد جنین جذبی مشاهده نگردید در صورتیکه در گروه آزمایش ۵ جنین جذبی وجود داشت و به میزان ۹/۹ درصد تعداد کل جنین ها در این گروه می باشد که از نظر آماری معنی دار نبود. ($P > 0.05$) کاهش جذب جنین در این پژوهش نسبت به نتایج مطالعات محققین قبلی که تا ۶۰ درصد جذب جنین را گزارش نموده اند^(۱۰ و ۱۱) و عدم مشاهده ناهنجاری ظاهری در این مطالعه احتمالاً می تواند به دلیل استفاده از دوز پایین تر کربنات لیتیوم نسبت به تحقیقات قبلی که در آن ها از دوز ۱۰۰-۷۰ میلی گرم استفاده شده بود، باشد.

نتایج پژوهش های انجام شده توسط برخی از محققین روی رت نشان می دهد که تجویز لیتیوم بخصوص دوز ۵۰ میلی گرم

بر تأخیر رشد و کاهش وزن قبل از تولد تأثیری ندارد.^(۱۳ و ۱۴) ولی یافته های تحقیق حاضر با نتایج این محققین مغایرت دارد چرا که تجویز ۵۰ میلی گرم کربنات لیتیوم در دوران بارداری به رت توانست باعث کاهش معنی دار پارامترهای رشد داخل رحمی (وزن و قد، فاصله بین آهیانه ای) جنین های این گروه نسبت به گروه شاهد شود. ($P < 0.05$) این یافته ها نتایج محققین دیگر در مورد کاهش رشد جنینی به دنبال تجویز دوز های پایین کربنات لیتیوم را تأیید می کند.^(۱۰ و ۱۱)

لیتیوم بدلیل شباهت ترکیب شیمیایی که به کلسیم و منیزیوم، سدیم و پتاسیم دارد، با این عناصر در داخل سلول رقابت نموده و از طرفی باعث مهار تشکیل اینوزیتول و همچنین تغییر در متابولیسم کاتکولامین ها نیز می گردد که شاید بتوان تغییرات رشدی حاصل از لیتیوم را به این مکانیسم ها مربوط دانست.^(۱۵ و ۱۶) اگر چه در مطالعه حاضر بررسی سیستم عصبی مورد نظر نبود و اندازه گیری BPD به عنوان یکی از پارامترهای رشد جنینی انجام شد ولی به نظر می رسد کاهش میانگین معنی دار این پارامتر در گروه آزمایش نسبت به شاهد بدلیل ناهنجاری های سیستم عصبی مرکزی که توسط برخی محققین نیز گزارش شده است باشد.^(۱۶ و ۱۷)

یافته های این مطالعه نشان داد که لیتیوم در دوران بارداری با دوز ۵۰ میلی گرم می تواند باعث کاهش پارامترهای رشد دوره جنینی یا به عبارت دیگر عقب ماندگی رشد داخل رحمی جنین رت شود. با توجه به این که بسیاری از خانم ها در دوران بارداری ممکن است دچار کاهش آب و سدیم بدن شوند و این دو مورد از فاکتورهای مهم در مسمومیت حاد با لیتیوم می باشد واز طرفی دیگر به علت افزایش کلیرانس کلیوی دارو در زمان حاملگی و نیاز به افزایش دوز دارو توسط پزشک، پیشنهاد می شود حتی الامکان در صورت تجویز این دارو در دوران بارداری سطح سرمی آن بطور مرتب کنترل شود تا از مسمومیت مادر و جنین و ایجاد عوارض بعدی جلوگیری به عمل آید.

سپاسگزاری

بدینوسیله از آقای محمدعلی شهریاری ریاست امور عمومی و اداری دانشکده پزشکی و پرسنل محترم بخش بافت شناسی و برای همکاریهای صمیمانه شان در فراهم نمودن تسهیلات لازم جهت انجام این تحقیق سپاسگزاری و قدر دانی می شود.

References منابع

1. Opresko DM. Toxicity summary for lithium. 1995: Available from: <http://rislc.lsd.ornl.gov/lith.shtml>
2. Jackson E, Allison JR. Lithium. In: Noji E, Gabor DK. Text book of Manual of toxicology emergencies. 1st edition. Chicago: Yearbook medical publishers; 1989. 312-6.
3. Pienelli JM, Symington AJ, Cunningham KA, Pase BA. Case report and review of the perinatal implications of maternal lithium use. Am J Obstet Gynecol 2002; 187: 245-9.
4. Morgan J, Golub M, Kaufman F, Hong LL. Evidence on the developmental and reproductive toxicity of bromacil lithium salt. 2002: available from: www.oehha.ca.gov/prop65/hazard-ident/pdf- zip/bromacil_HID.pdf
5. Iqbal MM, Ryan W, Passman TE. Effects of antimanic mood-stabilizing drugs on fetuses, neonates, and nursing infants. Southern Medical Journal 2001; 94:304-22.
6. Winchester JF. Lithium. In: Haddad LM, Winchester JF. Clinical management of poisoning and drug over dose. 2nd edition. Philadelphia: W.B.Sanders.Co; 1990. 656-65.
7. Troyer MA, et al. Association of maternal lithium exposure and premature delivery. J Perinatal 1993; 13:123-7.
8. Messiha FS. Effect of maternal exposure to lithium salts on neonatal development. Neurotoxicology 1992; 13:498-50.
9. خدام رامین. داروهای ژنریک ایران. چاپ سوم، انتشارات اشارت، ۱۳۷۳، ص ۲۴۸.
10. Marathe MR, Thomas GP. Embryotoxicity and teratogenicity of lithium carbonate in wistar rat. Toxicolo Lett 1986; 34: 115-20.
11. Christensen S, Ottosen PD, Olsen S. Sever functional and structural changes by lithium in the developing rat kidney. APMIS 1982; 90: 257-67.
12. Smithberg M, Dixit PK. Teratogenic effects of lithium in mice. Teratology 1982; 26: 239-46.
13. Pienelli JM, Symington AJ, et al. Case report and review of the perinatal implications of maternal lithium use. Am J Obstet Gynecol 2002;187:245-9.

۱۴. حیدری زهرا، محمود زاده ثاقب حمید رضا، نوری موگهی محمد حسین. اثرات مسمومیت سرب بر شاخصهای رشد داخل رحمی در موش صحرایی آزمایشگاهی. مجله علمی پژوهشی طبیب شرق دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، سال اول، شماره ۲، ۱۳۷۸، ص ۹۸-۱۰۱.

15. Uma R, Chattopadhyay S, Mukherjee BP. The effects of lithium on reproductive physiology and maternal behavior in rats. Indian Journal of Pharmacology 1999; 31:306-10.
16. Gurand A. Teratologic activity of lithium carbonate: an experimental up date. Teratology 1988; 38:101-11.
17. Sharma A, Rawat AK. Teratogenic effects of lithium and ethanol. Alcohol 1986; 3:101-6.

Investigation of Fetotoxic Effects of Lithium Carbonate on Growth Parameters in Rat's Embryo

Sarbishegi M. MSc*, Mahmoudzadeh Sagheb HR. PhD**

Heidari Z. PhD**, Rafighdoost H. PhD*

Lithium is a drug, which is administrated in treatment of bipolar disorder, mania and major depression. To prevent recurrent of disease using of this drug should be continued in pregnancy.

Therefore the aim of this study was to investigate the fetotoxic effects of lithium carbonate on crown- rump length, fetal body weight, biparietal diameter and macroscopic malformation in rat's embryo.

30 female and 10 male Sprague dawely rats were chosen. After coupling and observation of spermatozoa in vaginal smear, it was taken as zero day of gestation. Then pregnant rats were randomized into test and control groups (n =6). The test group received 50mg lithium carbonate in 7th -10th -13th -16th 19th day of gestation by intraperitoneal injection .In 20th day of gestation, following deep anesthesia, the embryos removed and examined for macroscopic abnormalities. Their fetal body weight (FBW), crown-rump length (CRL) and biparietal diameter (BPD) measured and statistical analysis done. Statistical analysis showed a significant decrease in mean of FBW, BPD and CRL following lithium administration ($p<0.05$). It seems that lithium may cause decrease in growth of fetal rat.

KEY WORDS: *Lithium carbonate, Fetotoxic effects, Embryo, Rat, Growth parameters*

*Anatomical sciences dept, Anatomy section, Faculty of medicine, Zahedan University of Medical Sciences and Health Services, Zahedan, Iran.

** Anatomical sciences dept, Histology section, Faculty of medicine, Zahedan University of Medical Sciences and Health Services, Zahedan, Iran.