

اثرهای تراژونیک نیکوتین در روند تکامل غضروفها و مراکز استخوانسازی بدن در جنین

حسن فراهی شالچی Ph.D.*، قاسم سازگار Ph.D.**، علیرضا فاضل Ph.D.*

*گروه علوم تشریح دانشگاه علوم پزشکی مشهد

**گروه علوم تشریح دانشگاه علوم بهزیستی و توان بخشی مشهد

تاریخ وصول: تیرماه ۸۱، تاریخ پذیرش: مردادماه ۸۱

چکیده

هدف: هدف عمده در این تحقیق، بررسی تاثیرات تراژونیک نیکوتین بر تکامل بافت استخوانی و غضروفی در جنین بوده است.

مواد و روشها: تعداد ۵۰ سر موش سفید سوری ماده باکره تهیه و با استفاده از جدول اعداد تصادفی به دو گروه تجربی و کنترل تقسیم شدند. پس از مشاهده پلاک واژینال، در ساعت یازده روز دهم به موشهای گروه تجربی به میزان ۱۰۰ میکروگرم نیکوتین تزریق شد.

یافته‌ها: پس از سزارین موشهای هر دو گروه کنترل و تجربی در روزهای دوازده تا بیستم بارداری و خارج نمودن جنینها، میزان وزن و قد آنها و همچنین نوزادان روزهای اول تا پنجم، هفتم و نهم اندازه گیری و به طریق روتین رنگ آمیزی آلیسیان بلو - آلیزارین رد اس روی آنها انجام شد. برای بررسی میکروسکوپی نمونه‌ها نیز از روش رنگ آمیزی آلیزارین رد اس برای کلسیم استفاده شد.

نتیجه گیری: نتایج ماکروسکوپی نشان دهنده آن است که در گروه تجربی کاهش قابل ملاحظه‌ای پس از تزریق نیکوتین در وزن و قد جنینها به وجود می‌آید. همچنین تکامل بافت استخوانی و اسفیکاسیون به دنبال تزریق نیکوتین در جنینهای گروه تجربی به تاخیر می‌افتد. آزمایشهای بافت شناسی نیز در روزهای پانزدهم الی هفدهم ادعای فوق‌الذکر را به اثبات رساندند.

کلمات کلیدی: نیکوتین، مرکز استخوانساز، غضروف، جنین، ناهنجاری

مقدمه

است که از برگهای خشک توتون به دست می‌آید. علاوه بر نیکوتین، مواد شیمیایی فراوان دیگری نیز در توتون یافت می‌شود [۱]. طی یک بررسی و مطالعه، بیش از ۲۲۰۰ ماده شیمیایی در تنباکوی خالص شناسایی شده است [۲]. با به کارگیری ایزوتوپ رادیواکتیو کربن (14C-Nicotine) نشان داده شده است که نیکوتین به سهولت از پرده‌های جفت نیز عبور کرده و در مدت نسبتاً کوتاهی بافتهای جنینی میوکارد، غده آدرنال و کلیه‌ها غلظت بالایی از نیکوتین را دارا هستند [۳].

گزارشهای بالینی نسبتاً زیادی از اوایل قرن بیستم تا به حال در مورد اثرهای تراژونیک نیکوتین و یا دود ناشی از آن از مراکز بهداشتی یا بیمارستانی نقاط مختلف دنیا ارائه شده است. از جمله این گزارشها می‌توان کمی وزن نوزاد، سقطهای جنینی و

تنباکو اعتیادآور بوده و مصرف آن به طرق مختلف به بدن آسیب می‌رساند. تنباکوی دود شده و دود نشده دارای هزاران ترکیب شیمیایی مثل آلکالوئید، نیکوتین، نیتروسیامین و هیدروکربنهای آروماتیک چند حلقه‌ای است که نه تنها آزاددهنده و سمی اند، بلکه مولد سرطان نیز هستند.

توتون (*Nicotiana Tabacum*) در اکثر نقاط جهان کاشته می‌شود و برگ خشک آن به صورتهای مختلف (سیگار، سیگار برگ، قلیان، پیپ، انفییه و ...) استفاده می‌شود. ماده اصلی و مؤثر توتون نیکوتین (*L-1-methyl-2-[3-pyridyl]pyrrolidine*)

آدرس مکاتبه: مشهد، خیابان دانشگاه، دانشکده پزشکی، گروه علوم تشریح، کدپستی: ۹۱۳۷۵
E-mail: dr-shalchi@hotmail.com

برخی از ناهنجاریهای قلبی را نام برد [۴].

برای پیدا کردن مکانیسم و نحوه عمل نیکوتین احتیاج به مدل آزمایشگاهی مناسب است و از آنجایی که اکثر آزمایشهای تجربی جنین‌شناسی را نمی‌توان روی انسان انجام داد باید از مدل حیوانی مناسب استفاده شود، به طوری که بتوان مشابه ناهنجاری ایجاد شده در انسان را در جنینهای آن حیوان ایجاد نمود و مورد بررسی قرار داد. البته باید توجه داشت که مواد تراتوژن روی تمام موجودات به صورت یکنواخت عمل نمی‌کند و بر همین اساس باید شباهتهای تکامل جنینی نزدیکی بین دو موجود مورد بررسی وجود داشته باشد و مواد تراتوژن نیز به یک صورت عمل نمایند و ناهنجاریهای تولید شده نیز مشابه باشند. مطالعات تجربی در ارتباط با اثرهای تراتولوژیکی نیکوتین روی حیوانات آزمایشگاهی به‌ویژه پستانداران نادر است و اکثر مطالعات روی جنین جوجه انجام شده است. و از همین رو تطبیق نتایج با جنین انسان متفاوت است [۵ و ۶].

امتیاز دیگری مطالعات تجربی تراتولوژی روی حیوانات آزمایشگاهی و پیدا نمودن مدل مناسب برای این منظور (حیوان آزمایشگاهی مناسب، دوز و زمان مصرف دارو و...) این است که می‌توان جنین در حال تکامل و مورد تجربه را فقط در معرض ماده مورد آزمایش قرار داد. این عمل در جنین‌های انسانی و در نهایت با مشاهده معضلات کاملاً عملی نیست زیرا ممکن است مصرف نیکوتین به‌صورت‌های مختلف و همراه با سایر مواد مانند کافئین الکل، برخی داروها و غیره باشد که اولاً دقیقاً نمی‌توان گفت که نیکوتین باعث ناهنجاری شده و ثانیاً ثابت شده که برخی مواد به‌ویژه الکل و نیکوتین در دوران بارداری آثار یکدیگر را به شدت بالا می‌برند [۷].

هدف ما در این پژوهش، ایجاد ناهنجاریهای مختلف مشابه آنچه در نوزادان انسان در اثر اعتیاد مادران به سیگار به وجود می‌آید و پی‌بردن به زمانهای بحرانی بارداری برای تکامل و تمایز بافت‌های غضروفی و استخوانی و ارتباط آن با سایر ناهنجاریهای احتمالی بدن است. همچنین پی‌بردن به دوز تراتوژنیک و ارتباط آن با درصد ناهنجاریها و مورد بحث قراردادن این موضوع که آیا نیکوتین باعث ایجاد ناهنجاری می‌شود و اینکه آیا عوامل وابسته به آن نظیر آنوکسی و غیره در

تولید ناهنجاریها دخیل هستند.

مواد و روشها

۵۰ سر موش سفید سوری ماده باکره با متوسط وزن ۳۰-۲۵ گرم انتخاب و با استفاده از جدول اعداد تصادفی به دو گروه تجربی و کنترل تقسیم شدند. هر سه موش ماده با یک موش نر به مدت ۱۲ ساعت در جعبه‌های مخصوص جفت‌گیری قرار گرفتند. روز مشاهده پلاک واژن روز صفر بارداری در نظر گرفته شد، سپس موشهای ماده از نرها جدا شدند و موشهای باردار در شرایط استاندارد از نظر رطوبت (۵۵ - ۵۰ درصد)، درجه حرارت (۲۴ - ۲۲ درجه سانتی‌گراد)، نور (دوازده ساعت روشنائی، ۱۲ ساعت تاریکی) و دسترسی آزاد به آب و مواد غذایی نگهداری شدند.

موشهای باردار گروه کنترل براساس روز صفر بارداری از روز دوازدهم تا روز بیستم، تحت بیهوشی عمیق توسط کلروفورم که منجر به مرگ حیوان شد به دقت تشریح شدند. بعد از خارج کردن جنین از لوله‌های رحمی، پرده‌های جنینی به کمک میکروسکوپ استریو باز شدند و در زمان حداکثر پنج دقیقه پس از تشریح، و در زیر میکروسکوپ فوق‌الذکر پوست و امحا و احشای جنینها برداشته شد و در محلول تثبیت‌کننده قرار گرفتند. از هر موش باردار به‌طور متوسط ده جنین جمع‌آوری شد که متوسط تعداد جنینها در شاخ چپ و راست رحمی به ترتیب ۵/۶ و ۴/۴ بود. برای تثبیت نمونه‌ها از الکل ۹۶ درجه استفاده شد [۸]، نوزادان یک تا پنج روزه و روزهای ۷ و ۹ پس از تولد نیز توسط کلروفورم کشته شدند و به طریق فوق بافت نرم آنها خارج و تثبیت شدند.

نیکوتین (۹۸-۱۰۰ درصد) از شرکت سیگما تهیه شده و طبق دستور دور از نور نگهداری شد. این محلول با سرم فیزیولوژی رقیق شده و تحت شرایط استریل با غلظت $100 \mu\text{g/kg}$ (با حجم متوسط تزریق در هر موش به میزان ۲۵ میکرولیتر) به‌صورت داخل صفاقی و در ساعت یازده روز دهم به موش باردار گروه تجربی تزریق شد؛ لازم به توضیح است که غلظت، ساعت و روز فوق‌الذکر براساس تجارب نگارندگان به صورت آزمایش و خطا با غلظت و دوزهای

درصد تثبیت شدند سپس طبق روش متداول نمونه‌های پارافینی و برشهای با مقطع ۵، ۱۰ و ۱۵ میکرومتر تهیه شد. لامها توسط الکل ۹۵ درصد Deparaffinize و آبگیری شدند. سپس به مدت ۲ دقیقه در محلول آلیزارین رد اس قرار گرفته و بلافاصله ۵ تا ۶ بار توسط آب مقطر شستشو شدند. Counter stain توسط محلول Light Green به مدت یک دقیقه انجام و مجدداً لامها توسط آب مقطر به مدت ۵ الی ۱۰ ثانیه شستشو شدند. در ادامه توسط الکل ۹۵ درصد و الکل مطلق دهیدراته و توسط گزیرلول شفاف شدند و به روش آلیزارین رد اس برای کلسیم رنگ آمیزی شدند [۹]. در این روش کلسیم به رنگ قرمز و زمینه به رنگ سبز کمرنگ مشاهده می‌شود.

پس از تهیه نمونه‌های جنین و لامهای بافتی، برای مطالعه ماکروسکوپی نمونه‌های جنینی به وسیله استرئومیکروسکوپ و نمونه‌های میکروسکوپی به وسیله فتومیکروسکوپ دوربین‌دار عکسبرداری شدند.

براساس تکامل طبیعی بافت استخوانی و غضروفی نمونه فرمی تهیه و اطلاعات مربوط به تکامل استخوانی و غضروفی هر روز آزمایش مورد مقایسه قرار گرفت. پس از جمع‌آوری اطلاعات مربوط به وزن و قد، این اطلاعات توسط آزمون Student *t* test و همچنین پس از دسته‌بندی اطلاعات توسط تست Z بررسی شدند.

یافته‌ها

در این تحقیق، تاثیرات تراژونیک نیکوتین بر تکامل بافت استخوانی و غضروفی بررسی شد. پس از تزریق در ساعت ۱۱ روز دهم بارداری، حدود ۴۳ درصد از بارداریهای مشخص شده، جنینهای خود را به دلیل سقط خودبه‌خودی، مرگ جنینی یا جفت غیرطبیعی از دست دادند.

همان‌طور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود، کاهش قابل ملاحظه‌ای پس از تزریق نیکوتین در وزن و قد جنینهای گروه تجربی مشاهده شد. این کاهش، به جز روزهای دوم و سوم پس از تولد از نظر قد و روزهای دوم تا چهارم پس از تولد از لحاظ وزن، کاملاً معنی‌دار بود ($P < 0.005$).

مختلف به دست آمده است [۱]. در گروه کنترل نیز در همان روز و ساعت مذکور برای حفظ اثرهای مکانیکی به میزان ۲۵ میکرولیتر سرم فیزیولوژی به صورت داخل صفاقی تزریق شد. سپس جنینها و نوزدان این گروه نیز مانند گروه کنترل به روش فوق تثبیت شدند. قبل از تثبیت، طول قد و وزن تمامی جنینها و نوزادان توسط دستگاه توزین (Mettler PM2000) و کولیس ثبت شد.

پس از گذشت سه ماه از تثبیت نمونه‌ها در الکل ۹۶ درجه، جنینهای ۱۷ روزه به بعد و نوزادان به مدت ۲ روز و جنینهای ۱۶ روزه و کمتر به مدت ۷ روز برای برداشتن چربی و سفت شدن در استون قرار گرفتند. سپس یک حجم آلیسیان بلو ۰/۳ درصد، یک حجم آلیزارین رد اس ۰/۱ درصد، یک حجم اسید استیک گلاسیال و ۱۷ حجم اتانول ۷۰ درصد به خوبی با هم مخلوط شده و به ازای هر جنین ۱۰ برابر حجم آن از این محلول رنگی الیسیان بلو - آلیزارین رد اس استفاده شد [۸].

پس از رنگ آمیزی، نمونه‌ها با آب مقطر شستشو شدند و بلافاصله در KOH آبی یک درصد قرار گرفتند. بعد از ۴۸-۱۲ ساعت نمونه‌ها از محلول پتاس خارج و به ترتیب در محلول گلیسرین ۲۰، ۵۰ و ۸۰ درصد بسته به اندازه جنین و تعداد جنینها در هر ظرف به مدت ۴-۲ هفته واقع شدند. بعد از کامل شدن شفاف‌سازی کلیه نمونه‌ها برای نگهداری به گلیسرین خالص انتقال یافتند.

با توجه به اینکه رسوب آلیسیان بلو روی بافت نرم، مزاحم شفاف‌سازی نمونه‌ها می‌شد و اینکه رنگ آبی در جنینها بر رنگ قرمز قالب بود؛ بنابراین نگارندگان برای رفع نقایص فوق به دو روش زیر عمل کردند:

۱) در تهیه محلول رنگی، نیم حجم آلیسیان بلو و دو حجم آلیزارین رد اس به کار برده شد.

۲) پس از تثبیت نمونه‌ها به مدت ۲ روز در استون قرار گرفتند، سپس توسط آب مقطر شستشو شده به محلول پتاس آبی یک درصد انتقال یافتند. بعد از گذشت مدت زمان ۴۸-۱۲ ساعت از این محلول خارج، با آب مقطر شستشو شده و در محلول رنگی قرار داده شدند.

برای مطالعات بافت‌شناسی نمونه‌ها ابتدا در اتانول ۹۵

کوچکتر از ۱ محاسبه شده برای وزن ۲۱/۹۲ و قد ۱۴/۸۷۶ است. بنابراین فرضیه تحقیق مبنی بر کاهش قد و وزن در گروه تجربی اثبات می‌گردد.

بحث

محققان گزارش کرده‌اند که زنان شاغل در کارخانجات دخانیات از میزان سقط خودبه‌خودی بالاتری نسبت به دیگر زنان برخوردار هستند [۱۰]. در آزمایشهای تجربی این پژوهش حدود ۴۳ درصد از بارداریهای مشخص شده جنین خود را از دست دادند که این مورد با تحقیقات آقای Able در سال ۱۹۹۲ و Werler در سال ۱۹۹۷ که مدعی شده‌اند در اثر نیکوتین حدود ۳۰ درصد از بارداریهای مشخص شده به دلیل سقط خودبه‌خودی پایان می‌یابند، همخوانی دارد [۱۰ و ۱۱]. کودکان با مادران سیگاری از یک کاهش وزن بین ۳۰ تا ۴۳۰ گرم (متوسط ۲۰۰ گرم) و یک کاهش قد ۱/۴۴ سانتی‌متر برخوردار هستند [۱۰ و ۱۲]. در پژوهش کنونی، کاهش قد چشمگیری در جنینها و نوزادان مورد مطالعه مشاهده شد که این در روزهای دوم و سوم پس از تولد معنی‌دار نبود و با تحقیقات Abel در سال ۱۹۹۲، Andrews در سال ۱۹۷۲ مطابقت دارد [۲ و ۱۰].

ابتلا به انسفالوی مخصوصاً در نوزادان زنانه ده نخ سیگار می‌کشد زیاد است به گونه‌ای که بروز آن ۱/۷۲ به ازای هر صد تولد در مقایسه با ۱/۰ به ازای هر صد تولد در زنان غیرسیگاری یا زنانه که کمتر از ده نخ سیگار در طول روز

در ارتباط با تکامل بافت استخوانی و غضروفی، اطلاعات به‌دست آمده در جدول ۲ منعکس شده‌اند و همان‌طور که ملاحظه می‌شود تکامل بافت استخوانی و غضروفی در گروه تجربی و در روزهای، نوزده و بیستم جنینی و اول، دوم، سوم، پنجم، هفتم و نهم پس از تولد نسبت به گروه کنترل به‌طور معنی‌داری کاهش یافته است (شکل ۱ و ۲).

جدول ۱. میزان وزن و قد در دو گروه تجربی و کنترل در روز پنجم بعد از تولد

شماره جنین	گروه کنترل		گروه تجربی	
	وزن gf	قد cm	وزن gf	قد cm
۱	۱/۵۲	۴/۵۲	۰/۹۲	۳/۶۱
۲	۱/۶۷	۴/۷۲	۱/۲۸	۳/۸۷
۳	۱/۸۵	۴/۸۸	۱/۱۵	۳/۶۱
۴	۰/۱	۱/۳۸	۰/۰۳	۱/۱۰
۵	۰/۰۹	۱/۳۵	۰/۰۳	۱/۱۰
۶	۰/۱	۱/۴۳	۰/۰۴	۱/۱۲
۷	۰/۱	۱/۴۵	۰/۰۴	۱/۱۳
۸	۰/۰۹	۱/۳۸	۰/۰۳	۱/۰۹
۹	۰/۰۹	۱/۳۶	۰/۰۳	۱/۰۸
۱۰	۰/۱	۱/۴۲	۰/۰۳	۱/۱۱
Σx	۰/۹۸	۱۴/۱۲	۰/۴۵	۱۱/۰۸
x	۰/۰۹۸	۱/۴۱۲	۰/۰۴۵	۱/۱۰۸
SD	۰/۰۰۶	۰/۰۴۳	۰/۰۰۵	۰/۰۱۴

در آزمایشهای بافت‌شناسی و در روزهای پانزدهم تا هفدهم اختلاف فاحشی در تکامل بافت استخوانی بین گروههای آزمایش و تجربی مشاهده شد (شکلهای ۳ و ۴).

از بدشکلی‌های مشاهده شده در گروه تجربی می‌توان به فقدان انگشتان یک پا در نوزاد یک روزه و اسپینایفیدا در جنین روزه هجده بارداری اشاره نمود (شکلهای ۵ و ۶).

در سطح $P < 0.005$ ، t جدول برابر است با ۲/۸۷۸ و چون

جدول ۲. میانگین و انحراف معیار میزان تکامل بافت غضروفی و استخوانی در دو گروه تجربی و کنترل

روزها	مشخص کننده		تعداد		مجموع		میانگین		انحراف معیار	
	کنترل	آزمایش	کنترل	آزمایش	کنترل	آزمایش	کنترل	آزمایش	کنترل	آزمایش
دوازده جنینی	۵	۶	۴۰	۴۸	۰/۱۲۱۲۱	۰/۱۲۱۲۱	۰/۱۲۱۲۱	۰/۱۲۱۲۱	۰/۳۲۸۸۷	۰/۳۲۸۸۷
سیزدهم جنینی	۱۰	۱۰	۸۰	۸۰	۰/۱۲۱۲۱	۰/۱۲۱۲۱	۰/۱۲۱۲۱	۰/۱۲۱۲۱	۰/۳۲۸۸۷	۰/۳۲۸۸۷
چهاردهم جنینی	۱۰	۱۱	۸۰	۸۸	۰/۱۲۱۲۱	۰/۱۲۱۲۱	۰/۱۲۱۲۱	۰/۱۲۱۲۱	۰/۳۲۸۸۷	۰/۳۲۸۸۷
پانزدهم جنینی	۸	۸	۱۰۴	۶۴	۰/۱۹۶۹۶	۰/۱۲۱۲۱	۰/۱۲۱۲۱	۰/۴۰۸۷۵	۰/۳۲۸۸۷	۰/۳۲۸۸۷
شانزدهم جنینی	۱۰	۹	۲۴۰	۱۲۶	۰/۳۶۳۶	۰/۲۱۲۱۲	۰/۲۱۲۱۲	۰/۴۸۴۷۳	۰/۴۱۱۹۴	۰/۴۱۱۹۴
هفدهم جنینی	۸	۹	۲۵۶	۱۸۹	۰/۴۸۴۸۴	۰/۳۱۳۴۳	۰/۳۱۳۴۳	۰/۶۱۳۷۵	۰/۶۴۷۳۸	۰/۶۴۷۳۸
هجدهم جنینی	۴	۱۶	۲۰۴	۳۲۰	۰/۷۷۲۷۲	۰/۲۹۸۵۰	۰/۲۹۸۵۰	۰/۸۹۰۹۰	۰/۴۶۱۰۵	۰/۴۶۱۰۵
نوزدهم جنینی	۹	۷	۶۶۶	۲۱۰	۱/۱۲۱۲۱۲	۰/۴۵۴۵۴	۰/۴۵۴۵۴	۰/۸۵۰۶۱	۰/۵۳۱۵۲	۰/۵۳۱۵۲
بیستم جنینی	۳	۷	۲۶۷	۴۳۴	۱/۳۹۳۹	۰/۹۳۹۳	۰/۹۳۹۳	۰/۸۷۴۹۲	۰/۷۶۲۱۵	۰/۷۶۲۱۵
اول پس از تولد	۵	۳	۶۰۰	۲۶۴	۱/۸۱۸۱۸	۱/۳۳۳۳	۱/۳۳۳۳	۱/۱۳۵۵۶۶	۰/۸۶۵۲۸	۰/۸۶۵۲۸
دوم پس از تولد	۴	۱۱	۵۱۶	۱۰۸۹	۱/۹۵۴۵	۱/۵	۱/۵	۱/۱۸۲۳۲	۰/۹۶۴۷	۰/۹۶۴۷
سوم پس از تولد	۷	۴	۹۴۵	۴۳۶	۲/۰۴۵۴	۱/۶۵۱۵	۱/۶۵۱۵	۱/۱۶۹۲۴	۱/۰۷۴	۱/۰۷۴
چهارم پس از تولد	۵	۳	۷۳۵	۴۲۳	۲/۲۲۷۲	۲/۱۳۶۳	۲/۱۳۶۳	۱/۲۳۷۸	۱/۲۷۵۶	۱/۲۷۵۶
پنجم پس از تولد	۳	۳	۵۱۳	۳۷۵	۲/۵۹۰۹	۱/۸۹۳۹	۱/۸۹۳۹	۱/۳۹۲	۱/۲۲۹۴	۱/۲۲۹۴
هفتم پس از تولد	۶	۴	۱۱۶۴	۶۲۰	۲/۹۳۹۳	۲/۳۴۸۴	۲/۳۴۸۴	۱/۳۹۰۹	۱/۱۸۳۱۱	۱/۱۸۳۱۱
نهم پس از تولد	۴	۹	۸۳۲	۱۵۵۷	۳/۱۵۱۵	۲/۶۲۱۲	۲/۶۲۱۲	۱/۲۹۱۸	۱/۱۷۳۶	۱/۱۷۳۶

دیگر؛ برای دتوکسیفیکاسیون سیانید، ویتامین B_{12} لازم است. طبیعی است این کاهش بر میزان مجموعه‌های سولفوری بدن تاثیر می‌گذارد که به دنبال آن فعالیت‌های ترمیمی برای رشد و تکامل کاهش یافته و اینها در مجموع بر وزن هنگام تولد کودک تاثیر منفی می‌گذارند [۱۴].

بنا به نظر Anderson وجود وزیکولهای ماتریکسی به عنوان آغازکننده رسوبگذاری در غضروف در حال استخوانی شدن، لازم است. این وزیکولها از سلولهای هایپرتروفیک غضروفی، جدا شده و دارای فعالیت آلكالین فسفاتازی بسیار بالایی هستند. بلورهای اولیه هیدروکسی آپاتیت در درون این وزیکولها رسوب می‌کنند و سبب شکستن آنها و به دنبال آن، آزاد شدن کریستالهای فوق به داخل ماتریکس می‌شوند [۱۵]. یکی از خصوصیات وزیکولهای ماتریکسی، حساسیت آنها به ویتامین D و B_{12} است [۱۶] و همان‌گونه که ذکر شد با توكسیفیکاسیون سیانید سطح سرمی ویتامین B_{12} کاهش می‌یابد.

در روند استخوانسازی با تهاجم عروق خونی به داخل غضروف، کندروکلاستها تمایز یافته و شروع به برداشت کندروسیت‌های در حال از بین رفتن می‌نمایند و به نظر می‌رسد که تمایز کندروکلاستها وابسته به تهاجم عروق خونی باشد [۱۷]. نیکوتین در میزان اندک نیز عروق محیطی و رحمی را منقبض می‌نماید [۵] و از نتیجه می‌تواند روند استخوانسازی را مختل نماید یا به تاخیر بیاندازد.

از علل دیگری که نیکوتین می‌تواند استخوانسازی را به تأخیر بیاندازد، اختلال در متابولیسم جنینی است [۱۰]. استخوان به‌خصوص در جریان رشد خود، نسبت به چندین فاکتور غذایی حساس است. پروتئین ناکافی منجر به کمبود اسیدهای آمینه شده و به کاهش ساخت کلاژن توسط استئوبلاستها منتهی می‌شود. کمبود کلسیم نیز به کلسیفیکاسیون ناکامل ماده زمینه‌ای آلی استخوان منجر می‌شود [۱۸]. بنا به پیشنهاد McGarry و Andrews، کاهش در میزان مواد غذایی مهم مثل آمینواسیدها و روی مربوط به مزداپی سیانین موجود در توتون است [۲].

می‌کشند وجود دارد [۱۰]. در تحقیق کنونی شانس بروز آنسفالای حدود ۰/۸۵ درصد مشاهده شد که تقریباً نصف بروز مشاهده شده توسط Abel است.

اختلال در تکامل اندامها از دیگر نقایصی است که می‌تواند به دلیل استعمال سیگار توسط مادر ایجاد شود و در پژوهش حاضر نیز حدود یک درصد از جنینهای مورد مطالعه فاقد انگشتان یک دست یا هر دو دست بودند [۱۱].

در تحقیق کنونی یک نمونه اسپینایفیدا کاملاً تیپیک از ناحیه پس سری تا ناحیه خاجی مشاهده شد که حدود ۰/۸۵ درصد از کل نمونه‌های مورد آزمایش تشکیل می‌داد و بنابر تحقیقات انجام شده بروز اسپینایفیدا حتی در فرزندان با پدران سیگاری نیز از شانس بالایی برخوردار است [۱۳].

بنا به نظر Kratchman و Grahn بچه‌های متولد شده در ارتفاعات، کوچکتر از بچه‌هایی هستند که در ارتفاع سطح دریا به دنیا می‌آیند و دلیل این را پایین افتادن فشار اکسیژنی شریانی در خون مادر دانسته‌اند.

در پژوهش کنونی همان‌طور که قبلاً ذکر شد وزن پایین هنگام تولد و کوچکی نسبت به سن در نوزادان و جنینهای مورد مطالعه مشاهده شد که دلایل مشروحه زیر می‌توانند علت این که سیگار بر سطح اکسیژن خون جنین تاثیر می‌گذارد را توجیه نمایند:

اول این که نیکوتین خاصیت منقبض‌کنندگی عروقی دارد و با تاثیر بر عروق رحمی سبب انقباض آنها می‌شود. دوم این که مونواکسیدکربن به خون وارد و غلظت آن در خون زیاد و به دنبال آن سطح اکسیژن خون کاهش می‌یابد و سوم این که مونواکسیدکربن محلول در خون به هموگلوبین پیوند و CoHb را تشکیل می‌دهد که این از حجم هموگلوبین خون برای حمل اکسیژن می‌کاهد [۷]. چون در این تحقیق از نیکوتین تزریقی استفاده شد، بنابراین دلیل عمده کاهش وزن هنگام تولد را می‌توان به اثرهای انقباضی آن روی عروق رحمی نسبت داد.

اثر احتمالی دیگری که سیگار بر جنین و مادر می‌گذارد به دلیل، سیانید موجود در توتون است. یکی از اثرهای مستقیم سیانید تاثیر آن به سطح سرمی ویتامین B_{12} است. به عبارت

ساعت ۱۱ روز دهم مشخص شد که نیکوتین سقط جنین، کاهش قد و وزن و افزایش ناهنجاریهای اسکلتی مانند فقدان انگشتان پا، اسپینایفیدا و انسفالای را سبب می‌شود و می‌تواند در روند استئوژنر تأثیر منفی بگذارد یا آن را به تعویق بیندازد.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از زحمات آقایان دکتر جلالی، دکتر آرین و موحیدیان و خانمها دکتر گنجی، متجدد و قاسمی سپاسگزاری به عمل می‌آید.

بنابر آنچه گذشت از سال ۱۹۰۸ توجه جمعی از محققین به تنباکو و نیکوتین و تأثیر آن بر بارداری و رشد و نمو جنینی جلب گردید. برخی به بررسی سقطهای خودبه‌خودی و مرگ و میر جنینی در مادران سیگاری پرداختند و عده‌ای به کاهش وزن هنگام تولد، اختلالات قلبی - عروقی، عصبی و جسمی در فرزندان این مادران توجه نمودند.

با تأکید بر کلیه یافته‌های مذکور، پژوهش حاضر به بررسی تأثیر نیکوتین بر تکامل بافت غضروفی و مراکز استخوانسازی پرداخت و با استفاده از تزریق $100 \mu\text{g/kg}$ در

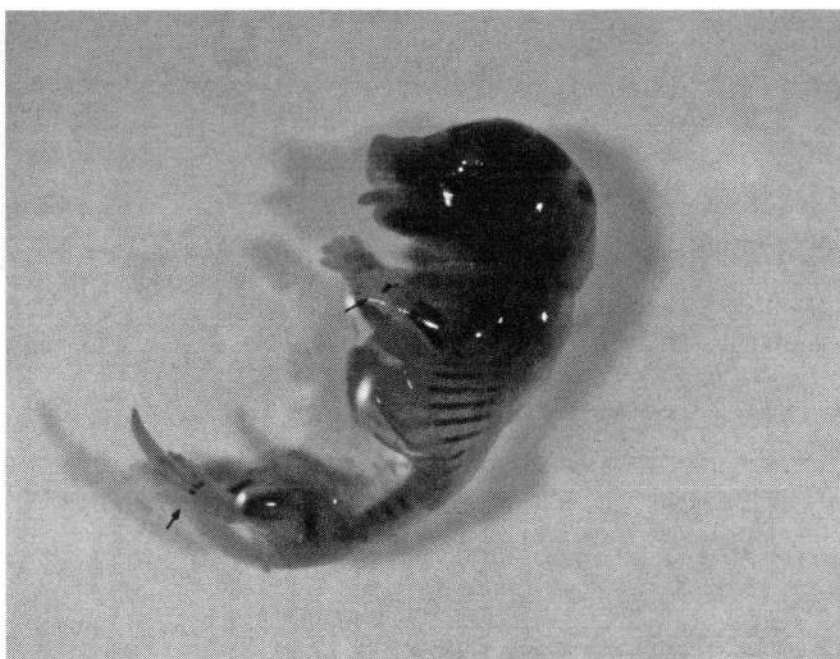
References

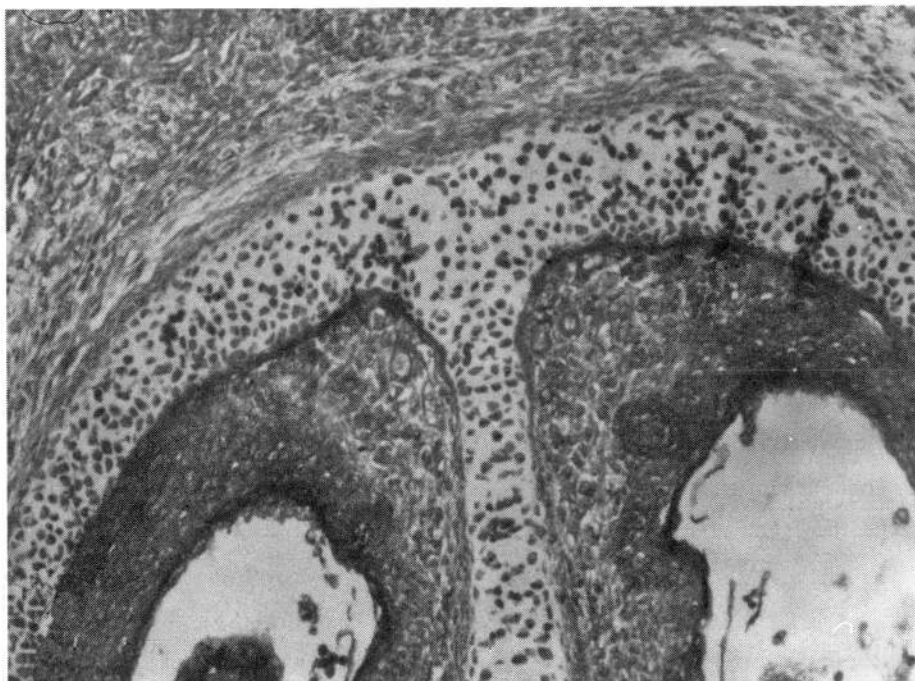
۱. فاضل‌علیرضا: اثرهای تراژونیک نیکوتین و دود ناشی از سیگار در تکامل جنینی قلب و صورت. مجله دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، سال دوم، شماره‌های ۴ و ۵، ۱۳۷۴، صفحات ۵۹-۳۹
2. **Andrews J, McGarry M.** A community study of smoking In pregnancy. J Obstet Gynaecol Brit Common Wealth. 1972; 79(12): 1057-1073
3. **Bruce N, parkinson S.** Effect of nicotine on uterine blood flow in anesthetized pregnant rats. Biol Reprod. 1979; 21: 229 a
4. **Bulter NR, Goldstein H, Ross E.** Cigarette smoking In pregnancy Influence of birth weight and perinatal mortality. Br Med J. 1972; 2: 127-134
5. **Calli LJ.** Cleft lip/palate with tetralogy of fallot. Birt Def. 1971; 7: 261a
6. **Castro LC, Allen R, ogunyemi D, Roll K, platt LD.** Cigarette smoking during pregnancy. J Obstet Gynaecol. 1993; 81(4): 551-555
7. **Cole PU., Hawkins LH, Roberts D.** Soking During pregnancy and its effects on the fetus. J Obstet Gynaecol Brit Common Wealth. 1972; 79: 789-797
8. **Mcleod MJ.** Differential staining of cartilage and bone in whole mouse fetuses by Alcian Blue and Alizarin red S. Teratology. 1980; 22: 299-301
9. **Precce A.** A manual for Histologic Technicians. 3th edition, USA. Little Brown Inc. 1991, pp 324-326
10. **Abel EL.** Effects of smoking on growth and development. In: Abel EL (ed): Marijuana, Tobacco and reproduction: CRD press, 1992, pp 73-94
11. **Werler MM.** Teratogen update: smoking and reproductive outcomes. Teratology 1997; 55: 382-388
12. **Fazel A.** Cigarette smoke/ethanol-induced limb defects in mouse embryos. Med J Islamic Rep Iran. 1996; 9(4): 333-340
13. **Savitz DA, Schwingl PJ, Annkeels M.** Influence of paternal age, smoking, and alcohol consumption on congenital anomalies. Teratology. 1991; 44: 429-40
14. **Pettigrew AK, Logan RW, Willocks J:** Smoking in pregnancy - effects of birth weight and on cyanide and thiocyanate leuels in mother and baby. Brit J Obstet Gynaecol. 1977; 84: 31-34
15. **Anderson HC.** Calcification of rochitic cartilage to study matrix vesicle function. Fed proc. 1996; 35: 147-56
16. **Anderson HC.** Matrix vesicles of cartilage and bone. In: GH Bourne (ed). The biochemistry and physiology of bone. 2nd edition. NY Acad. 1996; 4: pp 135-139
17. **Irving MH.** The blood supply of the growth cartilage in young rats. J Anat. 1984; 98: 631-632
18. **Junqueira L, Carneiro J, Kelley R.** Basic histology. 8th edition. Boston, Academic press Inc. 1994; 207-236



شکل ۱. نوزاد گروه کنترل در روز چهارم بعد از تولد. استخوانهای تارس، میتاتارس، بند انگشتان پا، استخوانهای کارپ، متاکارپ و بند انگشت دستها تشکیل شده است و نیز استخوانهای رادیوس و اولنا رشد نموده‌اند (پیکانها)

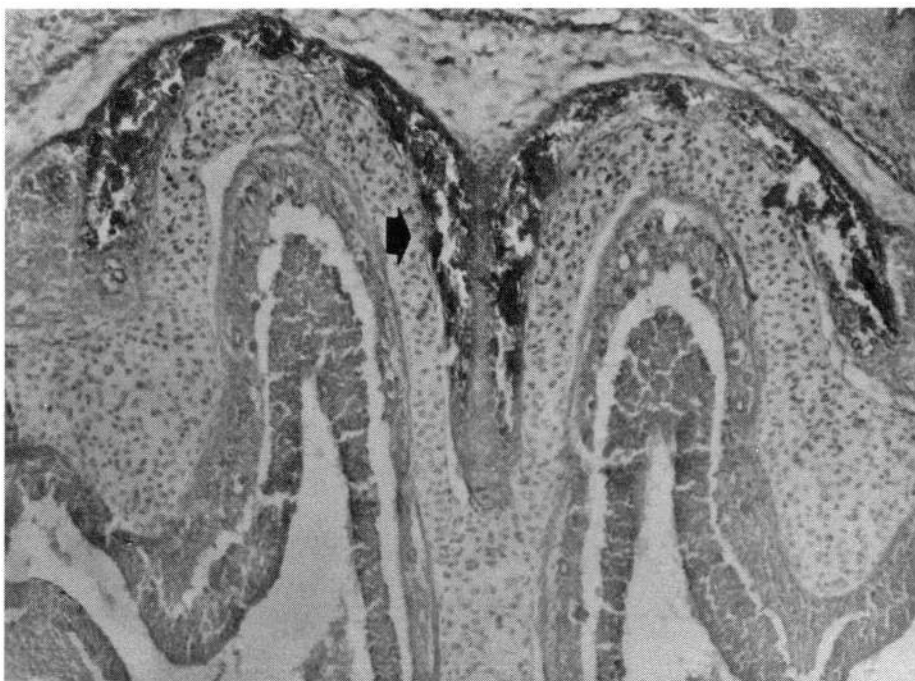
شکل ۲. نوزاد گروه تجربی در روز چهارم بعد از تولد. تاخیر و عدم رشد استخوانهای تارس، میتاتارس و نیز در استخوانهای کارپ و متاکارپ مشهود است.

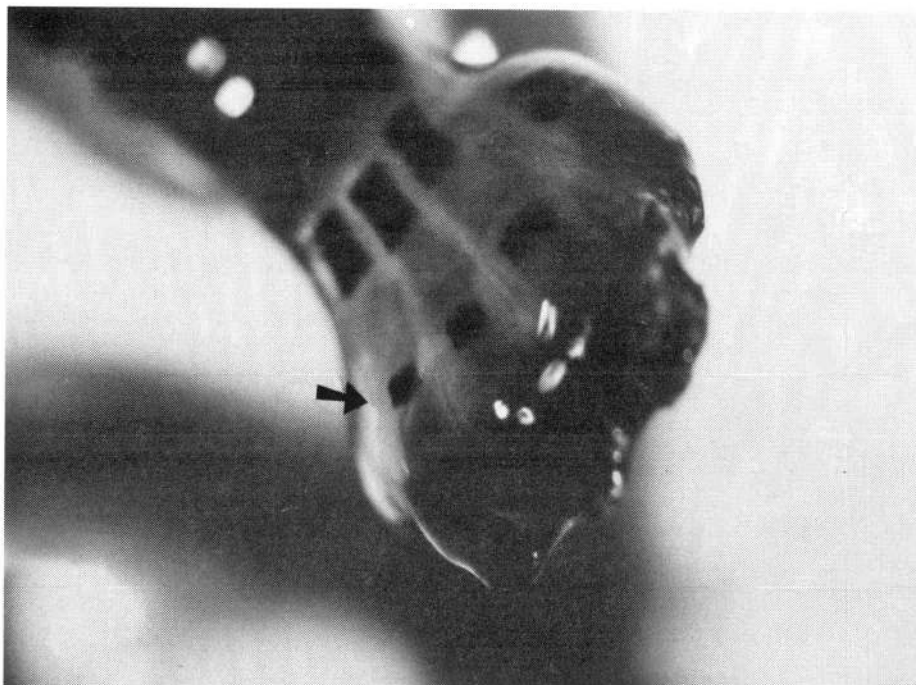




شکل ۳. مقطع عرضی صورت در ناحیه صفحه عمودی استخوان اتموئید و حفرات بینی در گروه تجربی روز ۱۶ جنینی. بزرگنمایی: $\times 400$

شکل ۴. مقطع عرضی صورت در ناحیه صفحه عمودی استخوان اتموئید و حفرات بینی در گروه کنترل روز ۱۶ جنینی. بزرگنمایی: $\times 400$





▲ شکل ۵. شکل اندام تحتانی در نوزاد یک روزه موش در گروه تجربی. استخوانهای تارس و بخشی از تنه استخوانهای متاتارس شکل گرفته‌اند (فلش)، همان‌طور که در شکل مشاهده می‌شود، انگشتان پای جنین فوق‌الذکر تشکیل نشده‌اند.

▼ شکل ۶. نمایی از ناحیه پشتی جنین موش در روز هیجدهم جنینی و در گروه تجربی. وجود اسپینایفیدا به صورت سرتاسری و از ناحیه پس‌سری تا ساکراکال مشهود است، پوست و بافت زیرپوستی و ستون فقرات به طور کامل شکل نگرفته است.

