

بررسی اثرات مت‌آفتامین بر روی ترکیبات کیسه آمیوتیک در موش‌های باردار و تخمدان فرزندان آنها

میلاذ رضازاده^۱، رامین حاجی‌خانی^{۱*}، غلامحسین واعظی^{۲*}، مریم بنانج^۳

۱- گروه زیست‌شناسی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲- گروه زیست‌شناسی، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران

۳- گروه زیست‌شناسی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران

*مسئول مکاتبات: gh.vaezi@yahoo.com

DOI: 10.22034/ascij.2022.1934666.1266

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۵/۱۴

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۴/۱۱

چکیده

مت‌آفتامین نوعی داروی محرک سیستم عصبی مرکزی است که مصرف آن در سال‌های اخیر در میان نوجوانان و جوانان بسیار رواج یافته است. از آنجا که استفاده از مواد مخدر از جمله مت‌آفتامین می‌تواند تأثیر بالقوه‌ای بر روی مایع آمیوتیک، بیان ژن‌های مؤثر در مادر و جنین، بافت‌ها، هورمون‌ها و سایر فاکتورها داشته باشد، لذا هدف از پژوهش حاضر بررسی اثرات مت‌آفتامین بر کیسه آمیون موش‌های باردار و تأثیرات آن بر نسل‌های بعد آن نیز می‌باشد. در این مطالعه، ۶۰ سر موش صحرایی بالغ ماده نژاد ویستار به شش گروه تقسیم شدند: گروه کنترل، گروه شم، گروه دریافت‌کننده دوز یک میلی‌گرم بر کیلوگرم آفتامین، گروه دریافت‌کننده دوز ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم آفتامین، گروه دریافت‌کننده دوز ۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم آفتامین و گروه دریافت‌کننده دوز ۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم آفتامین. پس از پایان دوره آزمایش، خونگیری از قلب موش‌ها انجام شد و پارامترهای مورد نظر (تستوسترون، گلوکز، LH، FSH، AST، ALT، WBC و RBC) اندازه‌گیری شدند. سپس موش‌ها تشریح، مایع آمیوتیک به منظور بررسی میزان پروتئین، کربوهیدرات‌ها، چربی‌ها، فسفولیپید و اوره جدا شد. تزریق درون صفاقی مت‌آفتامین تغییرات قابل توجهی را در میزان پارامترهای بیوشیمیایی اندازه‌گیری شده همچون LH، T.G و تستوسترون نسبت به گروه کنترل ایجاد نمود. علاوه بر این مت‌آفتامین بر روی FSH تغییر را ایجاد نکرد. از طرفی با افزایش دوز مت‌آفتامین، بیان ژن‌های HOX و TUBB8 کاهش یافت. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که تزریق مت‌آفتامین حتی در دوزهای پایین، باعث افزایش یا کاهش فعالیت تخمدان و اووژنز و در نتیجه اختلال در کیفیت تخمک‌گذاری و بلوغ اووسیت‌ها می‌شود.

کلمات کلیدی: مت‌آفتامین، مایع آمیوتیک، تخمدان، همتوکسیلین - انوزین.

مقدمه

سلولی غلظت کاته کولامین‌ها و بطور کلی مونوآمین-ها (اپی‌نفرین، نوراپی‌نفرین، دوپامین و سروتونین) از طریق ادغام وزیکول‌های ترشحی به غشا پیش سیناپسی می‌باشد. اگرچه این دارو در گذشته بصورت آزاد در دسترس بوده اما امروزه به یک داروی کنترل

آفتامین‌ها گروهی از مواد محرک سیستم عصبی مرکزی هستند که بیش از ۱۰۰ سال پیش کشف شده‌اند (۲۰، ۲۱). آفتامین و بسیاری از مشتقات آن از نظر ساختمانی و اثرات فیزیولوژیکی بسیار متنوع هستند. مهم‌ترین تأثیر آفتامین‌ها، افزایش خارج

شده با کاربردهای درمانی محدود در در معالجه اختلال پیش‌فعالی کمبود توجه (ADHD) و نارکولپسی تبدیل شده است (۲۰، ۲۱). از جمله آثار مصرف آمفتامین‌ها می‌توان به کاهش خواب، کاهش خستگی، کاهش اشتها، بالارفتن آستانه درد و بهبود توجه و عملکرد نیز اشاره نمود (۲۳، ۳۰، ۳۳).

مت آمفتامین یکی از انواع مشتقات آمفتامین‌ها است که از نظر مکانیسمی کاملاً مشابه آمفتامین عمل کرده و سبب آزاد سازی نوروترنسمیترها می‌شود (۲۶، ۳۲). مطالعات متعددی، به اثرات زیانبار این ماده بر روی بدن انسان و همچنین حیوانات آزمایشگاهی اشاره نموده اند. در سال‌های اخیر اثرات تراژونیک و مخرب این ماده بر تکوین جنین مورد توجه محققان زیادی قرار گرفته است (۳، ۱۵، ۲۹). در مطالعه ای، گزارش شده است که داروی مت‌آمفتامین بر کیفیت تخمک و میزان لقاح در موش‌های ماده بالغ اثر گذاشته و سبب ایجاد اختلال در بلوغ اووسیت و متعاقباً قدرت باروری می‌گردد (۴، ۱۴).

مایع آمنیوتیک، نوعی ترکیب حیرت آور و پیچیده ای است و درون کیسه آمنیوتیک قرار دارد. این مایع علی‌رغم اینکه دارای اثرات ضد میکروبی است، محتوی ترکیبات حیاتی مانند مواد مغذی، هورمون‌ها و فاکتورهای رشد متعددی است که از رشد جنین انسان حمایت می‌کند. در اواخر بارداری حجم کلی آن به ۵۰۰-۲۵۰۰ میلی‌لیتر می‌رسد و در حفره آمنیون (نوعی کیسه غشایی) جای داشته و اطراف جنین را نیز احاطه می‌کند. پایین بودن و بالا بودن حجم مایع آمنیوتیک را اصطلاحاً به ترتیب الیگو‌هیدرآمنیوس و پلی‌هیدرآمنیوس می‌نامند (۷، ۸، ۲۷). عده‌ای از محققین تعداد ۱۲ زن با علائم پلی‌هیدرآمنیوس را تحت درمان با ایندومتاسین با میزان ۳-۲/۲ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم قرار دادند که ۱۱ مورد به درمان پاسخ دادند و ۶/۴ هفته زایمان آنان به تعویق افتاد. در

این مطالعه ایندومتاسین عارضه جانبی مهمی نداشت. گروه دیگری از محققین، ۸ زن مبتلا به پلی-هیدرآمنیوس علامت دار در سن حاملگی ۲۸/۶ هفته را تحت درمان با ایندومتاسین قرار دادند که متوسط زمان ختم حاملگی در آنان ۳۹ هفته بود. از آنجا که استفاده از مواد مخدر از جمله مت‌آمفتامین می‌تواند تأثیر بالقوه‌ای بر روی مایع آمنیوتیک، بیان ژن‌های مؤثر در مادر و جنین، بافت‌ها، هورمون‌ها و سایر فاکتورها داشته باشد، لذا هدف از پژوهش حاضر بررسی اثرات مت‌آمفتامین بر کیسه آمنیون موش‌های باردار و تأثیرات آن بر نسل‌های بعد آن نیز می‌باشد (۲، ۱۰، ۱۲).

مواد و روش‌ها

حیوانات آزمایشگاهی: در این مطالعه تجربی، تعداد ۶۰ سر موش صحرایی بالغ ماده نژاد ویستار، با وزن ۱۸۰-۲۲۰ گرم از مرکز تحقیقاتی پژوهشگاه رویان خریداری و به آزمایشگاه مرکز تحقیقات دانشگاه آزاد تهران شمال منتقل شدند. در طول مطالعه، حیوانات دسترسی کافی به آب و غذا داشته و در شرایط استاندارد سیکل نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی همراه با دمای 23 ± 2 درجه سانتیگراد نگاه‌داری شدند. لازم به ذکر است که کلیه اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی بر اساس دستورالعمل‌های اخلاقی انجمن بین‌المللی، رعایت گردید.

تهیه و آماده‌سازی محلول مت‌آمفتامین: مت‌آمفتامین از ستاد مبارزه با مواد مخدر تهیه گردید. سپس در غلظت‌های مورد نیاز با نرمال سالین حل شده و در ساعات مشخص به حیوانات بصورت درون صفاقی تزریق شد.

این پژوهش در دو مرحله صورت گرفت: در ابتدا به منظور جفت‌گیری حیوانات، هر رت ماده در قفسی

G5E: فرزندان رت‌های بارداری ماده‌ای که مت‌آمفتامین را با دوز ۳ میلی‌گرم/کیلوگرم طی دو نوبت صبح و عصر دریافت کردند.

G6F: فرزندان رت‌های بارداری ماده‌ای که مت‌آمفتامین را با دوز ۴ میلی‌گرم/کیلوگرم طی دو نوبت صبح و عصر دریافت کردند.

سنجش پارامترهای بیوشیمیایی: پس از پایان دوره آزمایش تمامی حیوانات با استفاده از کتامین و زایلازین بیهوش شده و با استفاده از سرنگ خوگیری مستقیم از قلب آنها انجام شد. نمونه‌های خون با دور rpm ۳۵۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد و سرم آن‌ها جدا و در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد تا زمان انجام آزمایشات نگهداری شد. در ادامه سطح هورمون‌های تستوسترون (ساخت شرکت IBL آلمان)، LH، FSH (ساخت کمپانی بیومریو فرانسه) و آنزیم‌های کبدی ALT، AST و همچنین تست گلوکز، RBC و WBC اندازه‌گیری شد (۹).

در ادامه، بلافاصله بعد از کشته شدن رت مادر، کیسه آمیون جدا شده، وزن هر یک از آنها محاسبه و محتویات داخل کیسه ذخیره گردید و برای بررسی میزان پروتئین، کربوهیدرات‌ها، چربی‌ها، فسفولیپید و اوره به آزمایشگاه منتقل شدند (۱۷).

Real- Time PCR: در این مطالعه RNA تام به کمک TRIzol بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده استخراج شد. به منظور ارزیابی کنترل کیفی RNA استخراج شده از لحاظ کمی و کیفی به ترتیب، میزان جذب نوری آن در طول موج‌های A260/280 به کمک دستگاه بیوفتومتر و بارگذاری روی ژل آگاروز ۲/۵ درصد انجام گرفت سنتز cDNA با استفاده از کیت Thermo Fisher طبق دستورالعمل شرکت سازنده انجام گرفت. واکنش Real Time PCR به صورت سه مرحله‌ای با استفاده از Biofact 2X Master Mix انجام گرفت و به روش SYBR

مجزا و در کنار یک رت نر قرار گرفت. مشاهده پلاک واژینال به عنوان روز اول بارداری در نظر گرفته شد. سپس مادران بارداری در ۶ گروه به ترتیب زیر گروه بندی شدند:

G1: رت‌های بارداری ماده‌ای که تغذیه طبیعی و نرمال دریافت کردند.

G2: رت‌های بارداری ماده‌ای که آب مقطر دریافت کردند.

G3: رت‌های بارداری ماده‌ای که مت‌آمفتامین را با دوز ۱ میلی‌گرم/کیلوگرم طی دو نوبت صبح و عصر دریافت کردند.

G4: رت‌های بارداری ماده‌ای که مت‌آمفتامین را با دوز ۲ میلی‌گرم/کیلوگرم طی دو نوبت صبح و عصر دریافت کردند.

G5: رت‌های بارداری ماده‌ای که مت‌آمفتامین را با دوز ۳ میلی‌گرم/کیلوگرم طی دو نوبت صبح و عصر دریافت کردند.

G6: رت‌های بارداری ماده‌ای که مت‌آمفتامین را با دوز ۴ میلی‌گرم/کیلوگرم طی دو نوبت صبح و عصر دریافت کردند.

سپس نوزادان در ۶ گروه ۱۰ تایی به ترتیب زیر گروه بندی شدند:

G1A: فرزندان رت‌هایی که تغذیه طبیعی و نرمال دریافت کردند.

G2B: فرزندان رت‌های بارداری ماده‌ای که آب مقطر دریافت کردند.

G3C: فرزندان رت‌های بارداری ماده‌ای که مت‌آمفتامین را با دوز ۱ میلی‌گرم/کیلوگرم طی دو نوبت صبح و عصر دریافت کردند.

G4D: فرزندان رت‌های بارداری ماده‌ای که مت‌آمفتامین را با دوز ۲ میلی‌گرم/کیلوگرم طی دو نوبت صبح و عصر دریافت کردند.

Green طبق دستورالعمل شرکت سازنده انجام گرفت. پرایمرهای مورد استفاده در آزمایش در جدول ۱ ذکر شده است (۱۷).

تجزیه و تحلیل آماری: داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون Kruskal-wallis

1sample k-s و Test تجزیه و تحلیل شدند. سپس با استفاده از نرم‌افزار Excel هیستوگرام‌های مربوطه ترسیم و $p < 0/05$ به عنوان تفاوت معنی‌دار در نظر گرفته شد.

جدول ۱- توالی پرایمرهای ژن‌های HOX و TUBB8

نام پرایمر	نوع پرایمر	توالی پرایمر
HOX	پیشرو	5'-TCCCAAACACTTCACCCCAC-3'
HOX	معکوس	5'-TGGGTGGTGTTCATTGGCA-3'
TUBB8	پیشرو	5'-TCGTGGCCTCAAGATGTCAG-3'
TUBB8	معکوس	5'-GCCTGAACATGGCAGTGAAC-3'

نتایج

پارامترهای بیوشیمیایی: داده‌های حاصل از سنجش پارامترهای بیوشیمیایی مربوط به گروه‌های مورد بررسی در جدول ۲ و نمودار ۲ آورده شده است. همانطور که در جدول ۲ مشخص است، تغییرات پلاسمایی هورمون FSH در گروه‌های تجربی دریافت‌کننده مت‌آمفتامین اختلاف قابل توجهی را نسبت به گروه کنترل نشان نمی‌دهد. میانگین تغییرات هورمون LH در گروه M3 برابر با $0/604$ و بیشتر از سایر گروه‌های دریافت‌کننده مت‌آمفتامین است. این در حالی است که گروه M2 دارای کمترین مقدار هورمون LH می‌باشد. داده‌های حاصل از سنجش هورمون تستوسترون نشان دهنده این است که میانگین تغییرات هورمون تستوسترون در گروه M3 برابر با $4/914$ و بیشتر از سایر گروه‌های دریافت‌کننده مت‌آمفتامین است. داده‌های حاصل از بررسی آنزیم کبدی (SGOT) (AST) در گروه‌های M دریافت‌کننده مت‌آمفتامین، اختلاف معنی‌داری را نسبت به گروه کنترل نشان می‌دهند. علاوه بر این در گروه M2-3، میزان آنزیم کبدی (SGPT) (ALT)، بیشتر از گروه‌های کنترل و میزان TG، کمتر از گروه کنترل است (نمودار ۲ و جدول ۲). داده‌های حاصل از

سنجش میزان گلوکز و پروتئین در جدول ۳ و نمودار ۳ آورده شده است. همانطور که مشخص است، اختلاف قابل توجهی در میزان پروتئین موجود در نمونه‌های گروه M دریافت‌کننده مت‌آمفتامین، نسبت به گروه کنترل وجود دارد. گروه M1-1، M1-3 و M3-3، دارای کمترین میزان گلوکز نسبت به گروه‌های کنترل هستند. بیشترین میزان پروتئین مربوط به گروه M1-1 می‌باشد (نمودار ۳ و جدول ۳).

بیان ژن‌های HOX و TUBB8: به منظور کسب اطمینان از عدم تجزیه‌ی RNA استخراج شده، کیفیت نمونه‌های RNA به کمک الکتروفورز ژل آگارز بررسی شد. در بررسی ژل، دو باند 8S و 18S به وضوح قابل مشاهده بودند که بیان‌گر عدم تجزیه‌ی RNA می‌باشد. پس از سنتز cDNA، به منظور تایید پرایمرها PCR معمولی انجام شد. در این مطالعه HOX و TUBB8، که ژن‌های هدف هستند، به وسیله ژن مرجع GAPDH نرمال شده‌اند. بیان نسبی ژن‌های هدف، بر روی ۸ رت، در مقایسه بین گروه‌های آزمایشی شامل گروه‌های M1، M2، M3، M4 و M5، توسط روش ΔCT و محاسبه $2^{\Delta CT}$ انجام شد. با توجه به داده‌های حاصل از Real-Time PCR،

دوز مختلف از مت‌آفتامین، بیان ژن‌های HOX و TUBB8 بررسی شد. نتایج نشان می‌دهد که با افزایش دوز مت‌آفتامین، بیان این ژن‌ها کاهش می‌یابد (نمودار ۴).

ابتدا CT های ژن‌های HOX و TUBB8 در گروه‌های آزمایشی با ژن مرجع مقایسه شد. نسبت کلی ژن‌های HOX و TUBB8، نسبت به GAPDH، به ترتیب ۰/۱۱ و ۰/۵۲ می‌باشد (جدول ۴). در پنج گروه آزمایشی شامل M1، M2، M3، M4 و M5، با ۴

جدول ۲- نتایج حاصل از بررسی پارامترهای بیوشیمیایی

نمونه	GH (ng/ml)	FSH (mIU/mL)	LH (mIU/mL)	Testos (ng/ml)	SGOT (U/L)	SGPT (U/L)	GLU (mg/dL)	LDL (mg/L)	HDL (mg/L)	Chol (mg/dL)	TG (mg/dL)	Ph (mg/dL)	Urea (mg/dL)
Control1	<۰/۰۵	۰/۸۶۰	۰/۶۵۱	۴/۵۹۶	۶۱	۵۶	۱۰۳	۱۶۰	۳۵	۶۸	۳۴۷	۴/۱	۴۸
Control 2	<۰/۰۵	۰/۸۳۴	۰/۶۸۱	۴/۱۲۰	۵۵	۴۱	۹۶	۱۶۹	۳۷	۹۰	۴۹۵	۳/۵	۳۳
M1-1	<۰/۰۵	۰/۷۲۶	۰/۴۳۶	۳/۷۶۲	۱۷۸	۸۱	۱۱۵	۸۹	۴۶	۹۳	۲۳۹	۷/۰	۵۹
M1-2	<۰/۰۵	۰/۸۵۱	۰/۶۲۷	۴/۶۱۷	۱۲۶	۶۷	۱۰۹	۱۳۲	۳۸	۸۵	۳۱۸	۶/۲	۴۴
M1-3	<۰/۰۵	۰/۸۷۹	۰/۶۳۳	۴/۱۸۴	۱۳۹	۸۸	۱۱۵	۱۰۰	۴۰	۸۸	۲۲۰	۶/۷	۴۶
M2-1	<۰/۰۵	۰/۸۳۴	۰/۵۴۷	۴/۶۰۳	۱۲۳	۹۶	۱۰۳	۴۵	۳۵	۹۳	۱۳۱	۶/۹	۶۰
M2-2	<۰/۰۵	۰/۸۷۲	۰/۵۳۰	۴/۸۱۰	۱۰۶	۷۶	۱۲۲	۷۶	۴۴	۸۹	۲۲۷	۸/۹	۴۷
M2-3	<۰/۰۵	۰/۷۰۳	۰/۵۶۱	۳/۳۱۰	۷۳	۱۸۹	۹۵	۵۴	۴۸	۷۳	۱۰۲	۶/۳	۴۱
M3-1	<۰/۰۵	۰/۸۰۱	۰/۵۳۶	۵/۴۴۰	۶۲	۴۹	۱۱۴	۱۳۰	۳۳	۹۴	۲۹۱	۵/۶	۴۸
M3-2	<۰/۰۵	۰/۸۵۴	۰/۶۶۴	۰/۲۸۶	۹۵	۵۰	۱۰۷	۱۳۲	۳۵	۷۳	۲۹۰	۴/۹	۳۹
M3-3	<۰/۰۵	۰/۷۴۲	۰/۶۱۲	۴/۰۱۸	۱۲۳	۸۲	۱۳۶	۸۰	۳۸	۱۰۹	۲۱۹	۵/۱	۵۱
M4-1	<۰/۰۵	۰/۸۲۳	۰/۵۲۲	۴/۴۲۵	۱۵۳	۴۹	۱۶۲	۵۶	۴۰	۶۱	۱۰۹	۵/۶	۵۱
M4-2	<۰/۰۵	۰/۸۳۱	۰/۵۶۷	۴/۴۵۶	۸۰	۶۲	۱۱۷	۷۰	۳۸	۶۲	۱۳۱	۶/۹	۴۸
M4-3	<۰/۰۵	۰/۸۵۳	۰/۵۵۹	۴/۴۵۱	۸۴	۴۱	۱۰۷	۷۹	۳۳	۴۷	۱۵۳	۶/۹	۲۷

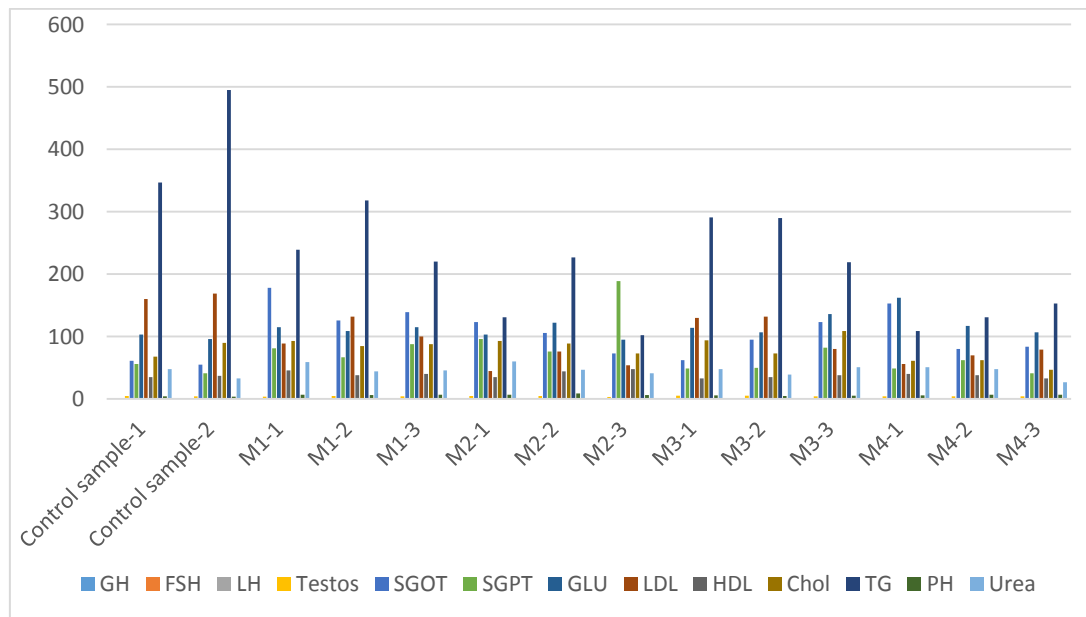
جدول ۳- مقادیر گلوکز و پروتئین موجود در نمونه‌های مایع آمنیوتیک

نمونه مایع آمنیوتیک	GLU	پروتئین
Control sample-1	۵۶	۹۸/۹
Control sample-2	۵۱	۹۰/۸
M1-1	۲۱	۴۲۱/۱
M1-2	۲۹	۴۰۵/۵
M1-3	۲۱	۴۰۳/۳
M2-1	۳۶	۴۰۶/۶
M2-2	۳۹	۴۰۹/۵
M2-3	۳۵	۳۹۹/۹
M3-1	۳۱	۴۰۰/۲
M3-2	۲۶	۴۰۹/۶
M3-3	۲۱	۴۱۲/۶
M4-1	۳۴	۳۹۱/۹
M4-2	۲۵	۴۰۳/۶
M4-3	۲۳	۴۰۵/۶

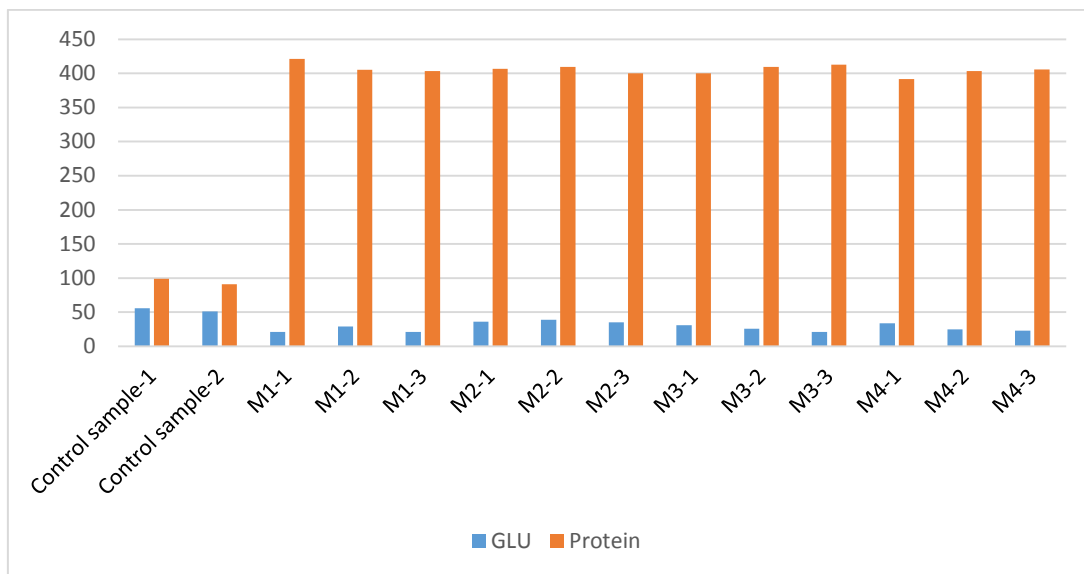
جدول ۴- بررسی کمی بیان ژن‌های HOX و TUBB8 با استفاده از روش Real-Time PCR

شماره موش	تیمار	HOX ct	TUBB8 ct	GAPDH ct	delta ct HOX	delta ct TUBB8	delt delta ct HOX	delt delta ct TUBB8	HOX ratio	TUBB8 ratio
۱	M1-1	۲۴/۳۳	۲۷/۲	۱۷/۹۵	۶/۳۸	۹/۲۵	۲/۵	۰/۶	۰/۱۷۶۷۷۷	۰/۶۵۹۷۵۴
۲	M1-2	۲۴/۸۲	۲۷/۲۳	۱۸/۳۲	۶/۵	۸/۹۱	۲/۶۲	۰/۲۶	۰/۱۶۲۶۶۸	۰/۸۳۵۰۸۸
۳	M2-1	۲۴/۶۶	۲۷/۸۱	۱۸/۴۵	۶/۲۱	۹/۳۶	۲/۳۳	۰/۷۱	۰/۱۹۸۸۸۴	۰/۶۱۱۳۲
۴	M2-2	۲۵/۲۹	۲۷/۹۳	۱۸/۱۹	۷/۱	۹/۷۴	۳/۲۲	۱/۰۹	۰/۱۰۷۳۲۱	۰/۴۶۹۷۶۱
۵	M3-1	۲۵/۳۸	۲۸/۱۸	۱۷/۹۸	۷/۴	۱۰/۲	۳/۵۲	۱/۵۵	۰/۰۸۷۱۷۱	۰/۳۴۱۵۱
۶	M3-2	۲۵/۸۴	۲۸/۱۵	۱۸/۷۶	۷/۰۸	۹/۳۹	۳/۲	۰/۷۴	۰/۱۰۸۸۱۹	۰/۵۹۸۷۳۹
۷	M4-1	۲۶/۹	۲۸/۷۳	۱۸/۲۳	۸/۶۷	۱۰/۵	۴/۷۹	۱/۸۵	۰/۰۳۶۱۴۷	۰/۲۷۷۳۹۲
۸	M4-2	۲۷/۲۷	۲۸/۹۲	۱۸/۸۳	۸/۴۴	۱۰/۰۹	۴/۵۶	۱/۴۴	۰/۰۴۲۳۹۴	۰/۳۶۸۵۶۷
۹	S	۲۲/۱۴	۲۶/۹۱	۱۸/۲۶	۳/۸۸	۸/۶۵				
								Total ratio	۰/۱۱	۰/۵۲

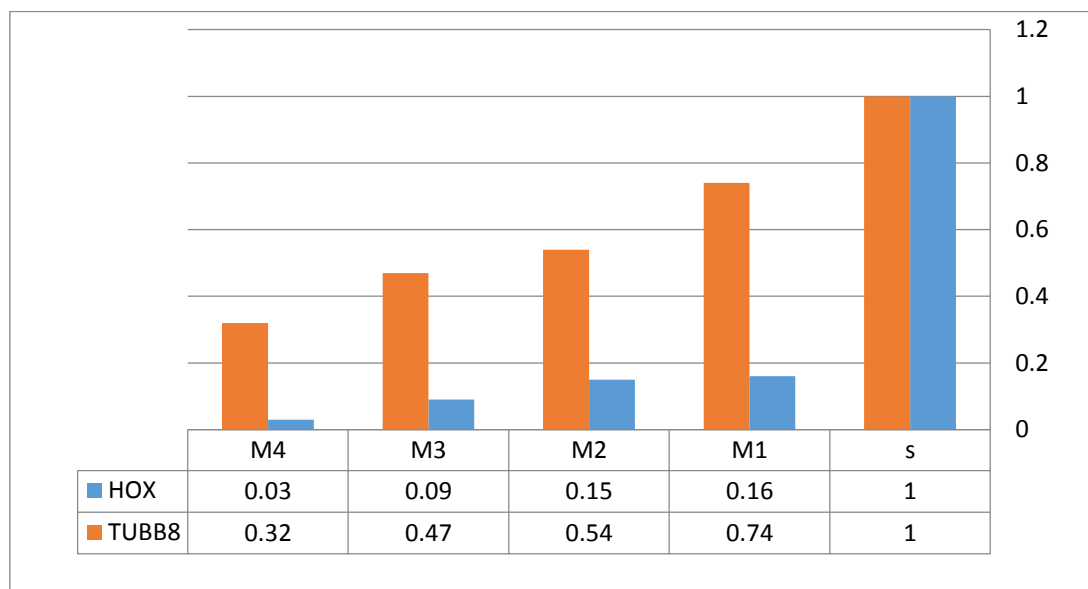
گروه‌ها	HOX	TUBB8
S	۱	۱
M1	۰/۱۶	۰/۷۴
M2	۰/۱۵	۰/۵۴
M3	۰/۰۹	۰/۴۷
M4	۰/۰۳	۰/۳۲



نمودار ۲- نمودار سنجش هورمون‌های گروه M دریافت کننده مت‌آفتامین.



نمودار ۳- نمودار مقادیر گلوکز و پروتئین موجود در نمونه‌های مایع آمنیوتیک.



نمودار ۴- بیان ژن‌های مت‌آمفتامین.

بحث

بیوشیمیایی اندازه‌گیری شده همچون LH، TG و تستوسترون ایجاد نمود. علاوه‌براین بررسی اثر مت‌آمفتامین بر روی FSH نشان داد که ظاهراً تغییری را ایجاد نکرده است. این مطالعه با برخی نتایج مطالعات دیگر همخوانی داشت. فیزیولوژی تنظیم هورمون‌های گنادوتروپ بسیار پیچیده است و توسط مکانیسم‌های متعدد، نوروترنسمیترها، هورمون‌ها و رسپتورهای مختلفی رخ می‌دهد. به دلیل تشابه ساختاری ترکیبات

از آنجا که مت‌آمفتامین یکی از انواع ترکیبات مقلد نوروترنسمیترها است بنابراین به سهولت می‌تواند رسپتورهای مربوطه را اشغال کند و در نتیجه‌ی مداومت در مصرف، علاوه بر ایجاد اعتیاد قادر است اختلالاتی را نیز بر روی سیستم تولیدمثلی ایجاد کند (۵). در مطالعه حاضر تزریق درون صفاقی مت‌آمفتامین در دوزهای ۱، ۲، ۳ و ۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم تغییرات قابل توجهی را در میزان پارامترهای

هورمونی می‌شوند و باعث از بین رفتن سلول‌های بافت ریه در نوزادان پس از تولد می‌شوند. همچنین فرزندان این والدین دچار اختلالات هورمونی در دوران بعد از بلوغ شده و میزان توانایی آنها در تولید مثل در نسل‌های بعدی به شدت کاهش می‌یابد (۲۵، ۲۸). در مطالعه دیگری، اثر مورفین بر اوولاسیون موش صحرائی و بلوکه کردن آن و همچنین نامنظم کردن سیکل ماهیانه در انسان اثبات شده است (۱۸، ۳۱).

احتمال می‌رود که اثرات تخریب‌کنندگی مت‌آفتماین بر روی بافت تخمدان به دلیل یکی از خطرناک‌ترین اثرات آن یعنی افزایش دمای بدن بوده باشد که ساختار بافت تخمدان را تحت تأثیر قرار می‌دهد. علاوه بر این، مت‌آفتماین می‌تواند با آزاد نمودن نوراپی نفرین از پایانه‌های اعصاب سمپاتیک، باعث ایجاد تغییراتی در عروق خونی تخمدان شود و از این طریق در نهایت باعث آسیب فولیکول‌ها گردد (۳۴، ۳۶، ۳۵).

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که تزریق مت‌آفتماین حتی در دوزهای پایین، با مکانیسم‌های متعددی همچون اتصال به رسپتورها، باعث افزایش یا کاهش فعالیت تخمدان و اووژنز و در نتیجه اختلال در کیفیت تخمک‌گذاری و بلوغ اووسیت‌ها می‌شود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله بر خود واجب می‌دانند که از معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال و همچنین پرسنل محترم آزمایشگاه فیزیولوژی دانشکده علوم زیستی دانشگاه آزاد اسلامی تهران شمال و جناب آقای دکتر مهدی احمدی فر که در مسیر این پژوهش یاری‌دهنده ما بودند قدردانی نماید.

مخدردی همچون مورفین، اکستازی و آمفتامین با این عوامل، به راحتی می‌توانند جایگزین آنها شده و اثرات تضعیف‌کنندگی و یا تشدیدکنندگی بر روی گامتوژنز، هورمون‌های جنسی و بطور کلی سیستم تولیدمثلی اعمال کنند (۱، ۶، ۱۱).

در برخی مطالعات نیز به دنبال تزریق مورفین به موش‌های بارداری و در نتیجه اثر بر روی محور هیپوفیز-گناد، LH، FSH، فولیکول‌های ثانویه و همچنین میزان باروری کاهش یافتند. تزریق مداوم مورفین در فواصل ۶ ساعت، در دوره بارداری، با غلظت افزایشی ۱۰-۲/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم در هر روز، موجب ۳۴ درصد سقط و کاهش وزن نوزادان خرگوش‌ها می‌شود (۱۳، ۱۹).

طی پژوهشی نشان دادند که اکستازی میل ترکیبی بسیار زیادی با گیرنده‌های هیستامین دارد و از طرفی، از آنجا که هیستامین پاسخ LH به ترشح GnRH را افزایش داده، بنابراین منجر به پاره شدن زودرس فولیکول‌ها و در نتیجه آزاد شدن پیش از هنگام تخمک‌ها می‌گردد (۲۴، ۳۱). نتایج به دست آمده از مطالعه ای دیگر نشان داد که تجویز ۰/۶۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم مورفین به گوسفند حامله، تغییر مهمی در جریان خون نافی یا مصرف اکسیژن جنینی ایجاد نکرد اما میزان گلوکز سیاهرگ نافی کاهش یافت، در واقع تجویز مورفین به مادر، تعادل گلوکز جنینی را به دلیل کاهش نفوذ جفتی تغییر می‌دهد (۱۶، ۲۲). تأثیر مت-آفتماین بر ایجاد اختلالات مورفولوژیک در تخمک‌ها و در نتیجه کاهش باروری به اثبات رسید (۱۲، ۱۳).

تحقیقات دیگر نشان می‌دهد که عصاره گیاهانی چون خشخاش بر روند تولیدمثلی هم در جنس مذکر و هم در جنس مونث باعث ایجاد اختلالات اساسی و جبران‌ناپذیری در نوزادان پس از تولد می‌شود به طوری که نوزادانی که والدین آنها تحت تأثیر مواد مخدر مربوطه قرار می‌گیرند دچار اختلالات ریوی و

study. *Drug and Alcohol Dependence*, 66(2): 189-198.

8. Golub A., Johnson B.D., 2001. Variation in youthful risks of progression from alcohol and tobacco to marijuana and to hard drugs across generations. *American Journal of Public Health*, 91(2): 225.

9. Hatami H., khajehnasiri N., 2015. The effect of intraperitoneally injection of crystal meth on pituitary-gonad axis in adult male rats. *Yafteh*, 17 (2): 81-89.

10. Hunt N., Griffiths P., Southwell M., Stillwell G., Strang J., 1999. Preventing and curtailing injecting drug use: A review of opportunities for developing and delivering route transition interventions'. *Drug and Alcohol Review*, 18(4): 441-451.

11. Islam S.K.N., Hossain K., and Ahsan M., 2000. Sexual life style, drug habit and socio-demographic status of drug addicts in Bangladesh. *Public Health*, 114(5): 389-392.

12. Kelley M.S., Chitwood D.D., 2004. Effects of drug treatment for heroin sniffers: a protective factor against moving to injection? *Social Science and Medicine*, 58(10): 2083-2092.

13. Kippler M., Hoque A.W., Raqib R., Öhrvik H., Ekström E.C., and Vahter M., 2010. Accumulation of cadmium in human placenta interacts with the transport of micronutrients to the fetus. *Toxicology Letters*, 192(2): 162-168.

14. Kosanovic M., Jokanovic M., Jevremovic M., Dobric S., and Bokonic D., 2002. Maternal and fetal cadmium and selenium status in normotensive and hypertensive pregnancy. *Biological Trace Element Research*, 89(2): 97-103.

15. Ministry of Health and Medical Education., 2002. HIV/AIDS in Iran. *Tehran: Deputy of Health*.

16. Mirahmadizadeh A.R., 2007. Study of effectiveness of substance abuse prevention

لازم به ذکر است که نتایج این مطالعه با منافع نویسندگان تعارضی ندارد.

منابع

1. Bravo M.J., Barrio G., De La Fuente L., Royuela L., Domingo L., and Silva T., 2003. Reasons for selecting an initial route of heroin administration and for subsequent transitions during a severe HIV epidemic. *Addiction*, 98(6): 749-760.

2. Buchanan D., Tooze J. A., Shaw S., Kinzly M., Heimer R., and Singer M., 2006. Demographic, HIV risk behavior, and health status characteristics of "crack" cocaine injectors compared to other injection drug users in three New England cities. *Drug and Alcohol Dependence*, 81(3): 221-229.

3. Cheng Y., Sherman S.G., Srirat N., Vongchak T., Kawichai S., Jittiwutikarn J., Celentano D.D., 2006. Risk factors associated with injection initiation among drug users in Northern Thailand. *Harm Reduction Journal*, 3(1): 1-8.

4. Chiang S.C., Chen S.J., Sun H. J., Chan H. Y., and Chen W.J., 2006. Heroin use among youths incarcerated for illicit drug use: psychosocial environment, substance use history, psychiatric comorbidity, and route of administration. *American Journal on Addictions*, 15(3): 233-241.

5. Crofts N., Louie R., Rosenthal D., and Jolley D., 1996. The first hit: circumstances surrounding initiation into injecting. *Addiction*, 91(8): 1187-1196.

6. Frery N., Nessmann C., Girard F., Lafond J., Moreau T., Blot P., and Huel G., 1993. Environmental exposure to cadmium and human birthweight. *Toxicology*, 79(2): 109-118.

7. Fuller C.M., Vlahov D., Ompad D.C., Shah N., Arria A., and Strathdee S.A., 2002. High-risk behaviors associated with transition from illicit non-injection to injection drug use among adolescent and young adult drug users: a case-control

- In Clinical Anesthesiology. *Springer*, 187-191
24. Razzaghi E, Rahimi Movaghar A., 2003. Rapid Assessment and Response (RAR), Tehran: *World Health Organization*, 9- 20.
25. Razzaghi E.M., Movaghar A.R., Green T.C., and Khoshnood K., 2006. Profiles of risk: a qualitative study of injecting drug users in Tehran, Iran. *Harm Reduction Journal*, 3(1): 1-13.
26. Richards C.F., Clark R.F., Holbrook T., and Hoyt D.B., 1995. The effect of cocaine and amphetamines on vital signs in trauma patients. *The Journal of Emergency Medicine*, 13(1): 59-63.
27. Ronco A.M., Urrutia M., Montenegro M., and Llanos M.N., 2009. Cadmium exposure during pregnancy reduces birth weight and increases maternal and foetal glucocorticoids. *Toxicology Letters*, 188(3): 186-191.
28. Sanchez J., Page J.B., Chitwood D.D., McBride D.C., Kitner K.R., and Comerford M., 2000. First injection and current risk factors for HIV among new and long-term injection drug users. *AIDS Care*, 12(3): 313-320.
29. Satarug S., Baker J.R., Urbenjapol S., Haswell-Elkins M., Reilly P.E., Williams D.J., and Moore M.R., 2003. A global perspective on cadmium pollution and toxicity in non-occupationally exposed population. *Toxicology Letters*, 137(1-2): 65-83.
30. Satarug S., Garrett S.H., Sens M.A., and Sens D.A., 2010. Cadmium, environmental exposure, and health outcomes. *Environmental Health Perspectives*, 118(2): 182-190.
31. Siegers C.P., Jungblut J.R., Klink F., and Oberheuser F., 1983. Effect of smoking on cadmium and lead concentrations in human amniotic fluid. *Toxicology Letters*, 19(3): 327-331.
- program among military garrison's conscripts in Fars province. Iranian research center for substance abuse and dependence. *University of Welfare and Rehabilitation Sciences*, 14-65.
17. Mojtahedi S., Shabkhiz F., Ravasi A.A., Rosenkranz S., Soori R., Soleimani M., and Tavakoli R., 2020. Voluntary wheel running promotes improvements in biomarkers associated with neurogenic activity in adult male rats. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 533(4): 1505-1511.
18. Mokri A., 2002. Brief overview of the status of drug abuse in Iran, *Archives of Iranian Medicine*, 5(3):184-190.
19. Neaigus A., Miller M., Friedman S.R., Hagen D.L., Sifaneck S.J., Ildefonso G., and Des Jarlais D.C., 2001. Potential risk factors for the transition to injecting among non-injecting heroin users: a comparison of former injectors and never injectors. *Addiction*, 96(6): 847-860.
20. Newton T.F., Cook I.A., Kalechstein A.D., Duran S., Monroy F., Ling W., and Leuchter A.F., 2003. Quantitative EEG abnormalities in recently abstinent methamphetamine dependent individuals. *Clinical neurophysiology*, 114(3): 410-415.
21. Nordahl T.E., Salo R., and Leamon M., 2003. Neuropsychological effects of chronic methamphetamine use on neurotransmitters and cognition: a review. *The Journal of neuropsychiatry and clinical neurosciences*, 15(3): 317-325.
22. Raheb G., Khaleghi E., Moghanibashi-Mansourieh A., Farhoudian A., and Teymouri R., 2016. Effectiveness of social work intervention with a systematic approach to improve general health in opioid addicts in addiction treatment centers. *Psychology Research and Behavior Management*, 9: 309-315.
23. Rangwala Z., 2014. Hypotension in Chronic Methamphetamine User.

35. Werf M.J.V.D., Benthem B.H.V., Ameijden E.J.V., 2000. Prevalence, incidence and risk factors of anaemia in HIV-positive and HIV-negative drug users. *Addiction*, 95(3): 383-392.
36. White J.M., Dyer K.R., Ali R.L., Gaughwin M.D., Cormack S., 1994. Injecting behaviour and risky needle use amongst methadone maintenance clients. *Drug and Alcohol Dependence*, 34(2): 113-119.
32. Suzuki J., El-Haddad S., 2017. A review: Fentanyl and non-pharmaceutical fentanyl. *Drug and Alcohol Dependence*, 171: 107-116
33. Thompson P.M., Hayashi K. M., Simon S. L., Geaga J.A., Hong M.S., Sui Y., London E.D., 2004. Structural abnormalities in the brains of human subjects who use methamphetamine. *Journal of Neuroscience*, 24(26): 6028-6036.
34. Unaid W.H.O., 2002. Report on the global HIV. *AIDS epidemic*.

Evaluation of the Effects of Methamphetamine on Amniotic Sac Composition in Pregnant Mice and Their Offspring

Milad Rezazadeh¹, Ramin Hajikhani^{1*}, Gholamhassan Vaezi^{2*}, Maryam Bananj³

1- Department of Biology, Islamic Azad University, North Tehran Branch, Tehran, Iran

2- Department of Biology, Islamic Azad University, Damghan Branch, Damghan, Iran

3- Department of Biology, Islamic Azad University, Karaj Branch, Karaj, Iran

Abstract

Methamphetamine is a central nervous system stimulant drug that has become very popular among adolescents and young people in recent years. Since the use of drugs including methamphetamine can have a potential effect on amniotic fluid, expression of genes can affect mother and fetus, tissues, hormones, and other factors, this study was aimed at investigating the effects of methamphetamine on the amniotic sac of pregnant rat and its effects on subsequent generations. In this study, 60 adult Wistar female rats were assigned to six groups: control group, sham group, group receiving 1 mg/kg amphetamine, group receiving 2 mg/kg amphetamine, group receiving 3 mg/kg amphetamine, and group receiving 4 mg/kg amphetamine. At the end of the experimental period, blood samples were taken from the hearts of mice and the desired parameters (testosterone, glucose, LH, FSH, AST, ALT, WBC, and RBC) were measured. The rats were then dissected; amniotic fluid was isolated to evaluate the amount of protein, carbohydrates, fats, phospholipids, and urea. Intraperitoneal injection of methamphetamine caused significant changes in the amount of biochemical parameters measured such as LH, T.G, and testosterone compared to the control group. In addition, methamphetamine did not alter FSH. With increasing methamphetamine dose, expression of HOX and TUBB8 genes decreased. The results of this study show that even at low doses, methamphetamine injection increases or decreases ovarian activity and ovogenesis, resulting in impaired ovulation quality and oocyte maturation.

Keywords: Methamphetamine, Amniotic Fluid, Ovary, Hematoxylin – Eosin.