

اثر هیپوتیروئیدی مادری بر تکامل سیستم عصبی مرکزی (قشر مخ و مخچه) در جنین رت

محمدحسین حیدری M.Sc.*، محمدحسن حیدری Ph.D.*، محمدرضا نیکروش Ph.D.*، مهدی جلالی Ph.D.*

* دانشگاه علوم پزشکی فسا، دانشکده پزشکی، گروه علوم تشریح

* دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، گروه آناتومی

* دانشگاه علوم پزشکی مشهد، دانشکده پزشکی مشهد، گروه علوم تشریح

✉ آدرس مکاتبه: تهران، صندوق پستی ۱۹۸۳۵-۳۵۵، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، گروه علوم تشریح

چکیده

هدف: بررسی آثار هیپوتیروئیدی مادری بر تکامل سیستم عصبی مرکزی در جنین و تغییرات تکاملی قشر مغز و مخچه

مواد و روشها: تعداد ۴۰ سر رت ماده، نژاد Wistar با میانگین وزن و انحراف معیار $17/0 \pm 159/36$ (gr) انتخاب و سپس به دو گروه مساوی کنترل و تجربی تقسیم شدند. گروه تجربی با استفاده از داروی پروپیل تیواوراسیل (قرصهای ۵۰ میلی‌گرمی ساخت کارخانه Herbrand آلمان) به میزان ۰/۵ درصد در آب آشامیدنی تیروئید کتومی شیمیایی شدند و گروه کنترل آب آشامیدنی معمولی دریافت کردند.

یافته‌ها: بنا بر نتایج حاصل افزایش میزان سقط و جذب جنین و مرده‌زایی در گروه آزمایش قابل مشاهده است. همچنین کاهش وزن بدن و وزن مغز و (CR) Crown-Ramp در جنینها دیده می‌شود. تغییرات مشخص در ضخامت و طبقات سلولی مخ قشر مخ و اغلب در لایه Plexiform مخ دیده می‌شود. ضخامت پالایوم در جنین با مادران هیپوتیروئیدی در روزهای ۱۴-۱۶ جنینی، اختلاف معنی داری با گروه کنترل نشان می‌دهد.

نتیجه‌گیری: با توجه به یافته‌های این تحقیق به نظر می‌رسد که هیپوتیروئیدی مادری عاملی برای کاهش تعداد جنینها و همچنین ناپایداری بارداری و افزایش میزان سقط و جذب جنین می‌باشد. همچنین به نظر می‌رسد که هورمون‌های تیروئیدی نقش مهمی در تکامل نورونی مهره‌داران ایفا می‌کنند تا آنجا که تکامل سیستم عصبی مرکزی وابسته به وجود این هورمونها است.

کل واژگان: هیپوتیروئیدی مادری، تکامل سیستم عصبی مرکزی، پروپیل تیواوراسیل

مقدمه

بر آن شدیم تا با استفاده از رت و ایجاد هیپوتیروئیدی مادری به صورت تجربی، بررسی دقیق‌تری بر نوروهیستومرفورژنز در روند تکامل سیستم عصبی جنین این مادران صورت گیرد تا با توجه به نتایج حاصل از آن و در صورت تعمیم آن به انسان بتوان خطر چنین بحرانی را برای رسیدن به راه حل‌های مناسب یادآوری نمود.

مواد و روشها

تعداد ۴۰ سر رت ماده، نژاد Wistar با میانگین وزن و انحراف معیار $17/0 \pm 159/36$ (gr) انتخاب و سپس به دو گروه مساوی کنترل و تجربی تقسیم شدند. گروه تجربی با استفاده از داروی 1 PTU (قرصهای ۵۰ میلی‌گرمی ساخت کارخانه Herbrand آلمان) به میزان ۰/۰۵ درصد در آب آشامیدنی تیروئیدکومی شیمیایی شدند و گروه کنترل آب آشامیدنی معمولی دریافت کردند.

پس از گذشت سه هفته از تجویز دارو، خون‌گیری از ورید دمی هر دو گروه به میزان ۱-۲ میلی‌لیتر انجام و در لوله‌های حاوی هپارین اپندروف ریخته و برای انجام تست T4، TSH، به آزمایشگاه ارسال شد. پس از دریافت جواب که به روش رادیو ایمنواسی (RIA) انجام شد، هر یک از رت‌های هیپوتیروئید شده به مدت ۱۲ ساعت با یک رت نرمال آمیزش داده شدند. مشاهده پلاک واژینال هر دو گروه به عنوان روز صفر بارداری در نظر گرفته شد.

سپس نیمی از رت‌های باردار بر اساس روز صفر بارداری در سه مقطع زمانی E14، E16 و E20 تحت بیهوشی عمیق با کلروفورم کشته شده و به دقت تشریح شدند. بعد از خارج کردن جنین از لوله‌های رحمی پرده‌های جنین با استفاده از میکروسکوپ استریو باز شدند. نوزادان در باقیمانده مادران گروه کنترل و تجربی به ترتیب در روزهای اول تا بیستم به فواصل ۵ روز متولد شده و پس از بیهوش شدن نوزادان، مغز آنها خارج و در فرمالین ۱۰ درصد نگهداری شد. سپس نمونه‌ها به روش معمول در بافت شناسی پاساژ داده شدند و بلوکهای تهیه شده با میکروتوم روناری در مقاطع ۱۵-۱۰ میکرونی به صورت عرضی و کروئال برش داده شدند.

سپس مقاطع با روش هماتوکسیلین ائوزین (H&E) و آلبین‌بلر رنگ آمیزی و سپس مطالعات بافت شناسی انجام شد. برای انجام بررسیهای آماری از آزمون Mann-Whitney که یک آزمون دو طرفه آنالیز واریانس به روش غیر پارامتری است استفاده شد.

یافته‌ها

در بررسیهای ماکروسکوپی یک نمونه‌های گروه کنترل و تجربی مشاهده شد که تعداد جنینهای گروه تجربی به ازای هر موش باردار نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری را نشان می‌دهد؛ به طوری که میانگین آن در گروه کنترل ۱۴/۲۵ اما در گروه تجربی ۸/۳ است. از دیگر یافته‌های این تحقیق ناتوانی مادران گروه تجربی در زایمان

نقش غدد درون ریز و من جمله غده تیروئید در فعالیتهای متابولیکی بدن واقعیتی انکارناپذیر است. در این رابطه آثار پرکاری یا کم کاری غده تیروئید و نوسانات هورمونی مربوط به آن هر کدام می‌تواند مکانیسم فعل و انفعالات شیمیایی ارگانیسم بدن را شدیداً متأثر نماید تا آنجا که اختلالات حاصل از این نوسانات به صدمات جبران‌ناپذیری منجر شود که زندگی طبیعی فرد را به مخاطره اندازد (۱). اهمیت این موضوع تا به آن اندازه است که تأثیرات ناشی از این نوسانات هورمونی نه تنها سلامت شخص را به‌عنوان فرد مبتلا مستقیماً آسیب‌پذیر می‌نماید، بلکه بازتاب آثار مخرب آن در دوران بارداری به جنین نیز منتقل شده و صدماتی به مراتب جبران‌ناپذیر از آنچه بر مادران باردار وارد شده بر جنین اعمال می‌نماید (۲).

هورمونهای تیروئیدی (T3، T4) در روند تمایز و بلوغ سلولی در دستگاه عصبی پستانداران نقش مهمی را ایفا می‌کنند. وجود این هورمونها در خلال مراحل اولیه بارداری به عنوان عاملی برای ایجاد محیط مناسب برای نگهداری جنین در رحم صادر ضروری به نظر می‌رسد (۲).

تحقیقات نشان می‌دهد که بد به‌عنوان ساده‌ای ضروری در سنتز هورمونهای تیروئیدی بوده و در انسان نیز تکامل دستگاه عصبی مرکزی در خلال سه ماهه اول بارداری کاملاً وابسته به دسترسی به ید است (۱). هورمونهای تیروئیدی در مراحل مختلف بارداری قادر به عبور از جفت بوده و از این طریق اثر خود را در بلوغ دستگاه عصبی مرکزی اعمال می‌نمایند (۱).

امروزه در جهان در حدود ۸۰۰ میلیون نفر که نیمی از آن در قاره آسیا به سر می‌برند در معرض خطر کمبود ید قرار دارند و سازمان بهداشت جهانی نا هنجاریهای ناشی از این کمبود را مورد توجه قرار داده است (۱، ۴). بنابراین کاهش تیروکسین سرم مادری در مناطق کمبود ید و عدم افزایش آن در طی بارداری در مادران باردار ساکن اینگونه مناطق می‌تواند سبب هیپوتیروئیدی مادر و جنین، اختلال در رشد و ضایعات غیر قابل برگشت سیستم عصبی و ایجاد کریپتسم اندمیک شود (۴، ۵، ۶).

از آنجائی که هورمونهای تیروئیدی و گیرنده‌های آنها در سلول در زمان بحرانی تکامل جنینی نقش حیاتی دارند (۷) این هورمونها برای تکامل طبیعی مغز ضروری بوده و به‌عنوان یک تنظیم‌کننده فیزیولوژیک در تکامل مغز پستانداران به حساب می‌آیند (۸، ۹).

در کشورهای در حال توسعه و من جمله ایران که بخش اعظمی از مردم آن را ساکنین ارتفاعات و مناطق کوهستانی تشکیل می‌دهند؛ با توجه به نقش فعالیت تیروئید، هورمونهای تیروئیدی و اهمیت عنصر ید در فرآیندهای زیستی، این موضوع می‌تواند تهدیدی جدی برای سلامتی جمعیت‌های ساکن و نسل‌های آینده متعلق به آنان باشد. لذا به دلیل عوارض ناشی از کمبود ید و هیپوتیروئیدی ناشی از آن در نسل آینده و مخصوصاً مادران از یک سو و ضرورت تحقیقات وسیعتر با وجود اطمینان از اثرهای سوء هیپوتیروئیدی مادری بر روند تکامل جنین و به‌خصوص دستگاه عصبی مرکزی آن از سوی دیگر، در مطالعه حاضر

۱۶۸

1. Propylthiouracil
2. Radioimmunoassay



جدول ۱: مقایسه وزن کلی در زمانهای E14، E16، E20 بر دو گروه کنترل و تجربی

P-Value	کنترل		آزمایش (تجربی)		گروه	تعداد
	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار	میانگین		
$P=0/0122$	$0/0071$	$0/1222$	$0/0164$	$0/12$	وزن کلی E14	$n=15$
$P=0/0015$	$0/0074$	$0/2862$	$0/0082$	$0/3267$	وزن کلی E16	$n=15$
$P=0/0002$	$0/1261$	$2/3528$	$0/0547$	$2/1772$	وزن کلی E20	$n=18$
$P=0/017$	$0/0126$	$0/1577$	$0/0084$	$0/1440$	وزن مغز E20	$n=18$

تولد اختلاف معنی داری با $P=0/0284$ بین نسبت وزن مغز به وزن کلی در بدن در بین دو گروه آزمایش و کنترل وجود دارد (جدول ۴).

جدول ۲: مقایسه نسبت وزن مغز به وزن کلی در گروههای آزمایش و کنترل

P-Value	کنترل		آزمایش (تجربی)		گروه
	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار	میانگین	
$P=0/5762$	$0/5224$	$6/7032$	$0/4125$	$6/6229$	E20
$P=0/3159$	$1/1212$	$7/2415$	$0/7252$	$6/7289$	P1
$P=2112$	$0/8868$	$6/446$	$1/542$	$5/8245$	P5
$P=0/0284$	$0/1656$	$5/2212$	$0/3776$	$4/9252$	P10
$P=0/6698$	$1/1480$	$5/8459$	$0/3702$	$6/1177$	P15
$P=0/0771$	$0/2222$	$5/5402$	$0/1767$	$4/8666$	P20

جدول ۵: مقایسه ضخامت لایه کرانولار خارجی در مخرجه نوزادان روزهای ۱ و ۵ و ۱۰ و ۱۵ و ۲۰

P-Value	کنترل		آزمایش (تجربی)		گروه
	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار	میانگین	
$P=0/1620$	$7/3598$	$24/1667$	$6/8212$	$18/2222$	P1
$P=0/0206$	$8/0104$	$29/1667$	$2/5277$	$26/6667$	P5
$P=0/0128$	$8/0104$	$50/8222$	$6/1227$	$27/500$	P10
$P=0/2049$	$30/3922$	$97/1229$	$6/6458$	$99/1667$	P15
$P=0/0020$	$22/5092$	$122/2222$	-	-	P20

بحث

غده تیروئید دارای نقش اساسی در تنظیم متابولیسم بافتی و همچنین روند بلوغ دپفرانسیون بافتی است.

هورمونهای تیروئیدی نقش مهمی را در بلوغ مغز ایفا می‌کنند و عدم حضور آنها در خلال تکامل باعث ضایعات غیر قابل برگشت مغزی می‌شود (۱).

بین میزان تیروکسین مادری و وضعیت هوشی بچه‌های متولد شده از آنان ارتباط معنی داری وجود دارد و این نشان می‌دهد که وجود تیروکسین مادری در خلال مراحل تکامل جنینی برای بلوغ نورولوژیکی نرمان جنین قبل از عملکرد تیروئید ضروری است (۱۰). امروزه به تجربه ثابت شده است که هورمونهای تیروئیدی مادری قبل از به کار افتادن غده تیروئید جنین به آنها منتقل می‌شوند. با بهره‌گیری از مطالعات اپیدمیولوژیک مشخص شده است که کمبود شدید ید مادری در خلال بارداری در انسان باعث ایجاد کرتینیسم در

طبیعی و در مواردی دیرزایی و مرده‌زایی بود.

اختلاف وزن جنینهای حاصل در دو گروه نیز نکته دیگری است که در این مورد می‌توان به اختلاف وزن جنینهای گروه تجربی در روزهای ۱۴، ۱۶ و ۲۰ بارداری که تفاوت معنی داری را نسبت به گروه کنترل نشان می‌دهد اشاره نمود (جدول ۱).

بر اساس جدول فوق و آزمون Mann-Whitney بین وزن کلی بدن در زمان E14 تفاوت معنی داری از نظر آماری وجود دارد ($P=0/0122$) و همچنین در زمان E16 نیز توزیع وزن کلی در دو گروه تفاوت معنی داری را با $P=0/0015$ نشان می‌دهد. در زمان E20 نیز توزیع وزن کلی و وزن مغز در دو گروه نیز تفاوت معنی داری را با $P=0/0002$ برای وزن کلی و $P=0/017$ برای وزن مغز نشان می‌دهد.

جدول ۲: مقایسه وزن کلی و وزن مغز در گروه آزمایش و کنترل در روز اول پس از تولد

P-Value	کنترل		آزمایش (تجربی)		گروه
	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار	میانگین	
$P=0/012$	$0/1478$	$2/1050$	$0/2229$	$2/5222$	وزن کلی
$P=0/001$	$0/0295$	$0/2975$	$0/0100$	$0/2250$	وزن مغز

بر اساس جدول فوق و آزمون Mann-Whitney بین وزن کلی در زمان P1 تفاوت معنی داری از نظر آماری در بین دو گروه تجربی و کنترل وجود دارد. (برای وزن کلی $P=0/012$ و برای وزن مغز $P=0/001$). به اختلاف معنی داری در وزن مغز در روزهای مختلف جدول زیر در گروههای تجربی و کنترل توجه شود (جدول ۳).

جدول ۳: مقایسه وزن مغز (g) در گروه آزمایش و کنترل از روز ۲۰ جنینی تا ۲۰ پس از تولد

P-Value	کنترل		آزمایش (تجربی)		گروه
	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار	میانگین	
$P=0/017$	$0/0126$	$0/1577$	$0/0084$	$0/1440$	E20
$P=0/001$	$0/0295$	$0/2975$	$0/0100$	$0/2250$	P1
$P=0/029$	$0/0686$	$0/4500$	$0/0656$	$0/3900$	P5
$P=0/0022$	$0/0128$	$0/8020$	$0/3226$	$0/5629$	P10
$P=1$	$0/1981$	$0/9260$	$0/0507$	$0/9650$	P15
$P=0/02$	$0/1022$	$0/2225$	$0/0256$	$1/1400$	P20

بر اساس جدول زیر و آزمون Mann-Whitney در روز دهم پس از

نسل آینده می شود (۳).

بنابراین شواهد موجود بر این واقعیت دلالت می کند که این گونه هورمونها در دوران بارداری و در شرایطی که هنوز تیروئید جنینی فعالیت ندارد با گذشتن از سد جفت سلامت جنین را تضمین می نماید (۱۱).

به لحاظ اینکه وجود هورمونهای تیروئیدی برای تکامل جنینی حتی بعد از تولد دارای اهمیت بسیاری هستند کاهش این هورمونها به دلیل هیپوتیروئیدی مادری می تواند به ایجاد ضایعاتی در دستگاه عصبی مرکزی منجر شود که از مهمترین آنها می توان به اختلالات حرکتی، بیوشیمیایی و میکروآناتومیکی اشاره نمود (۱۲).

در این مطالعه فعالیت های رفلکسی گروه های کنترل و تجربی مورد توجه قرار گرفت و مشاهده شد که رفلکسهای Air Righting و Placing در گروه تجربی کاملاً منفی و در گروه کنترل مثبت ارزیابی می شود (۱۳).

به نظر می رسد که تاخیر تکامل فعالیت های رفلکسی و نقص در کنترل فعالیت های حرکتی در راستای عوارض هیپوتیروئیدی مادری است. ناپایداری بارداری و افزایش میزان سقط و جذب جنین نیز از دیگر موضوعات مطرح در موارد هیپوتیروئیدی است و به نظر می رسد که مادر باردار برای ایجاد محیط مناسب برای حفظ و تثبیت جنین نیاز به هورمونهای تیروئیدی دارد (۱۴). نتایج و یافته های دیگر محققین نیز نتایج این تحقیق را تأیید می کند؛ به طوری که در مادرانی که هیپوتیروئیدی ناشی از تیروئیدکومی شیمیایی برای آنان انجام شده است قادر به زایمان طبیعی نبوده و یا در حین زایمان یا پس از آن از بین می روند.

همچنین جنینهای این گونه مادران از نظر CR دارای تفاوت معنی داری با گروه کنترل هستند که بر تاخیر رشد جنینهای تجربی دلالت دارد.

کاهش میزان میل به جفت گیری و میل جنسی و اثرهای معکوس هیپوتیروئیدی مادری بر توانایی تولید مثل آنان نیز از دیگر مسائل مهم و مشخص شده در این تحقیق است. به نظر می رسد که کاهش میزان BMR^۱ و فعالیت های کاتابولیک در زمان آخر بارداری بتواند به عنوان دلیلی برای مشکلات فوق در نظر گرفته شود. در این مورد نیز Oppenhiemor (۱۴) آثار حاصل از هیپوتیروئیدی را به تحت تاثیر قرار دادن لوله های رحمی و لانه گزینی نسبت داده است.

در مطالعه حاضر، مقایسه بین وزن جنینها و نوزادان حاصل در دو

گروه تجربی و کنترل با نتایج دیگر محققین هم سویی دارد. تغییرات در وزن مغز نیز از دیگر مسائل مطرح شده است و در این تحقیق نیز کاهش وزن محسوس در روزهای مختلف زندگی جنینی و نوزادی به چشم می خورد. در مقایسه وزن مغز به وزن بدن نیز در روز دهم پس از تولد این میزان معنی دار است. در مطالعات Earys (۱۵) به تغییرات مشابه در مقایسه نسبت وزن مغز به وزن بدن در فواصل روزهای ۱۰ تا ۲۰ پس از تولد اشاره شده است.

در مطالعات میکروسکوپی در جنینهای روزهای ۱۴ و ۱۶ و ۲۰ کاهش ضخامت کل پالایوم مشهود بوده و مراحل تمايزات سلولی در گروه تجربی با تاخیر مواجه شده است و مهمترین آثار هیپوتیروئیدی در لایه گرانولار مخچه مربوط به افزایش تعداد سلولهای عصبی و افزایش تراکم سلولهای استروسیت است. تغییرات در ضخامت لایه گرانولار خارجی و لایه مولکولار مخچه که یکی از موارد مورد بررسی در این مطالعه بوده است نشان می دهد که ضخامت لایه مولکولار مخچه در گروه تجربی نسبت به گروه کنترل کمتر است.

در مورد لایه گرانولار خارجی در گروه تجربی نیز ضخامت این لایه افزایش نشان می دهد.

نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان می دهد که هیپوتیروئیدی مادری باعث ناپدید شدن لایه گرانولار خارجی در مخچه در نوزادان ۲۰ روزه شده است که احتمالاً می تواند ناشی از تأخیر در بلوغ سلولهای پورکنژ یا تأخیر در رشد و شاخه دار شدن زوائد دندربی آن و کاهش تراکم سیناپسی در لایه مولکولار باشد.

از دیگر یافته های این تحقیق وجود سلولهای پیکوزه شده در لایه گرانولار داخلی مخچه در روز ۱۰ پس از تولد (P10) است و با افزایش سن نیز این نوع سلولهای از عمق لایه گرانولار داخلی به سمت سطح تغییر مکان می دهند. به نظر می رسد که هیپوپلازی دندریتهای سلولهای پورکنژ و عدم توانایی در ارتباط یافتن سلولهای گرانولار با این سلولها زمینه مرگ آنها را فراهم می سازد (شکل ۱۰).

بنابراین با توجه به یافته های این تحقیق و دیگر موارد مطرح در این زمینه از سوی محققین دیگر به نظر می رسد که وجود هورمونهای تیروئیدی در مادر برای حفظ ثبات در زمان بارداری و همچنین بلوغ سلولهای عصبی جنینهای حاصل لازم بوده و در صورت کاهش میزان آنها در زمانهای فوق باعث ایجاد اختلال در وضعیت جنین درون رحم و همچنین تاثیر روی روند تکثیر، تمایز و مهاجرت سلولهای عصبی در دستگاه عصبی مرکزی جنین می شود.

۱۷۰

References

1. Hetzel BS: The story of iodine deficiency oxford, Oxford university press, 1988, pp 200-205
2. Lewis E, Braverman S, Dutiger R: The thyroid, 7ed, Lippincot comp, 1998, pp 162-200
3. Hetzel BS, Mano Mt: A review of experimntal studies of iodline deficiency during fetal development J Nut

- 1989; 119: 145-151
4. De Escobar M, Obregan G, Calvor M: Effects of Iodine deficiency on Thyroid hormone metabolism and the brain in fetal rats, the role of maternal transfer of thyroxin. Am J clin Nut 1993; 57: 2805-2855
5. Weiss RM, Noback CR: The effect of thyroxin and thiouracil on the time of apperance of ossification

- centers of rat fetuses. *Endocrinology* 1949; 45: 389-395
6. Sullivan KM, May Way W, Nordenbeg D: Use of thyroid stimulating hormone testing in newborns to identify iodine deficiency. *J Nut* 1997; 127: 55-58
7. Forrest D, Sjoberg M, Vennstrom B: Contrasting developmental and tissue-specific expression of alpha and beta thyroid hormone receptor genes. *J Emb* 1990; 9: 1519-1528
8. Chao Ti, Wang B: Congenital hypothyroidism and concomitant anomalies. *J pediat Endocrino Metab* 1997; 10: 217-221
9. Hallengereh B: Hypothyroidism clinical finding, diagnosis. *Lakartidningen* 1998; 95: 409-16
10. Doorn JV, Roeifesma F, Heide DV: Concentration of thyroxin and T3 at 34 different site in euthyroid rats. *Endocrinology* 1985; 117: 1201-1208
11. Gerard N: Mothers are Important. *Endocrinology* 1997; 138: 3-4
12. Morreale G, Postor R, Obregon MJ: Effect of maternal hypothyroidism on the weight and thyroid H. Contents of Rat embryonic tissue. *Endocrinology* 1998; 117: 1890-1900
13. Earys JT, Taylor SH: The effect of thyroid deficiency induced by methylethiouracil on the maturation of CNS. *J Anat* 1951; 85: 350-358
14. Bur'row oppenhiemer volpe: Thyroid function and disease WB sannders Co, 1990, pp 102-190
15. Earys JT: Goodhead B: Postnatal development of cerebral cortex in rat. *J Anat* 1995; 95: 385-461

