

بررسی هیستوپاتولوژی تزریق داخل صفاقی ایزوترتینوئین بر پوست، کبد و کلیه جنین موش NMRI



JOURNAL OF VETERINARY CLINICAL RESEARCH

اعظم کلانتری^{۱*}، رمضان خانابایی^۱، بهمن اسلامی^۱

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قائمشهر، گروه زیست شناسی، قائمشهر، ایران

*نویسنده مسئول: Azam_kalantari55@yahoo.com

دوره چهارم، شماره دوم، تابستان ۱۳۹۲

صفحات ۹۹-۱۰۹

دریافت مقاله: ۹۲/۳/۷

پذیرش مقاله: ۹۲/۵/۲

چکیده

اگرچه امروزه داروهای مؤثری در جهت کنترل و درمان بیماری‌ها به بازار عرضه شده است، اما همچنان اثرات ناخواسته این داروها بر بدن انسان مطرح می‌باشد. یکی از راه‌های بسیار مؤثر و مورد قبول در ارزیابی اثرات دارو بر بدن انسان، تجویز دارو به حیوانات آزمایشگاهی مخصوصاً موش می‌باشد که به راحتی و در بازه زمانی مناسب می‌توان این اثرات را بررسی نمود. در این میان داروی ایزوترتینوئین علی‌رغم کاربرد بسیار وسیعی که در درمان آکنه‌ی شدید ندولی مقاوم به درمان، اختلال کراتینیزاسیون مقاوم به درمان، جلوگیری از سرطان پوست و همچنین سرطان سلول‌های سنگفرشی سر و گردن دارد، اما اثرات ناخواسته‌ای از دارو گزارش شده است، خصوصاً اینکه به علت اثرات تراژونیک در دوران بارداری منع مصرف دارد. اثرات این دارو وابسته به درمان طولانی مدت و مصرف خوراکی آن می‌باشد، مثلاً در انسان طول درمان توصیه شده، برای آکنه ۱۵ تا ۲۰ هفته می‌باشد که این مدت طولانی، غالباً سبب اثرات ناخواسته‌ای از قبیل افزایش تری‌گلیسرید خون، مرطوب شدن پوست، اثرات سوء بر چشم، افزایش کلسیم خون و اختلالات ناخواسته دیگر می‌شود. در این تحقیق اثرات هیستوپاتولوژی داروی ایزوترتینوئین پوست، کلیه و کبد جنین موش‌هایی که در طول دوره بارداری این دارو بصورت داخل صفاقی به آنها تزریق شده است، مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که تزریق داخل صفاقی ایزوترتینوئین در غلظت ۱،۳/۵ و ۶ میلی‌گرم در جنین موش‌های گروه آزمایش منجر به کاهش تعداد فولیکولهای مو، پرخونی، اتساع رگها و افزایش نفوذ پذیری رگها در کلیه و همچنین تجمع صفرا در کبد می‌شود، بطوریکه با افزایش دوز دارو تغییرات مورد اشاره بارز تر خواهد بود.

واژه‌های کلیدی: ایزوترتینوئین، پوست، کبد، کلیه، موش NMRI



JOURNAL OF VETERINARY CLINICAL RESEARCH

J.Vet.Clin.Res 4(2)99-109, 2013

Received: May 28, 2013

Accepted: July 24, 2013

Histopathological evaluation of the effects of Intrapretoneal Isotretinoin on skin, kidney and Liver of the NMRI mouse fetus

Kalantari, A.^{1*}, Khanbabaee, R.¹, Eslami B.¹

1- Department of Biology, Qaemshahr Branch, Islamic Azad University, Qaemshahr, Iran

* *Corresponding author:* Azam_kalantari55@yahoo.com

Abstract

Side effects of the drugs on the human body have always been under discussion. One of the most effective and acceptable methods of determination of drugs side effects is testing the medicines on laboratory animals. Despite the fact that Isotretinoin is widely being used in the treatment of severe refractory to treatment nodular acne, Keratinization disorder refractory to common treatments, prevention of skin cancer and especially squamous cell carcinoma of the head and neck, the adverse effects of the drug on the body have been reported. The drug is strongly advised not to be used by particularly pregnant women for its teratogenic effects. The side effects of this drug depends on the duration of the treatment. For example, in humans, the recommended duration of treatment for acne is 15 to 20 weeks and prolonged treatment often causes some side effects such as increase in serum triglycerides, abnormal moisture on the skin, adverse effects on the eye, elevated blood calcium and other unwanted disturbances. In this study, the effects of Intrapretoneal Isotretinoin on the development of skin, kidney and liver of mouse embryos have been examined, during pregnancy. The results showed many dose dependant histopathological changes such as: decreasing in number of hair follicles in skin, congestion, blood vessel dilation, increasing in permeability of blood vessels in kidneys and accumulation of the bile in the liver.

Key words: Isotretinoin, skin, liver, kidney, NMRI mouse

مقدمه

علی رغم پیشرفت‌های عظیمی که در صنعت دارو حاصل گردیده و داروهای مؤثری در جهت کنترل و درمان بیماری‌ها به بازار عرضه شده است، اما همچنان اثرات ناخواسته این داروها بر بدن انسان مطرح می‌باشد. یکی از راه‌های بسیار مؤثر و مورد قبول در ارزیابی و مقایسه این اثرات بر بدن انسان، تجویز دارو به حیوانات آزمایشگاهی مخصوصاً موش می‌باشد که به راحتی و در بازه زمانی مناسب می‌توان این اثرات را بررسی نمود. در این میان داروی ایزوترتینوئین با آنکه کاربرد بسیار وسیعی که در درمان آکنه‌ی شدید ندولی مقاوم به درمان، اختلال کراتینیزاسیون مقاوم به درمان‌های رایج و جلوگیری از سرطان پوست خصوصاً کارسینوم سلول‌های سنگفرشی سر و گردن دارد (۹)، اما اثرات ناخواسته‌ای از این دارو در بدن گزارش شده است، خصوصاً در خانم‌های باردار به علت اثرات تراژونیک منع مصرف دارد. اثرات این دارو وابسته به درمان طولانی مدت و مصرف خوراکی آن می‌باشد، مثلاً در انسان طول درمان توصیه شده، برای آکنه ۱۵ تا ۲۰ هفته می‌باشد (۵) و این مدت طولانی، غالباً سبب اثرات ناخواسته‌ای از قبیل افزایش تری گلیسرید (۱۰)، مرطوب شدن پوست (۳)، اثرات سوء بر چشم (۵)، افزایش کلسیم خون (۴) و اختلالات ناخواسته دیگر می‌شود (۱۳). در این تحقیق اثرات هیستوپاتولوژیک داروی ایزوترتینوئین بر پوست، کلیه و کبد جنین موش‌هایی که در طول دوره بارداری این دارو بصورت درون صفاقی به آنها تزریق شده است، مورد بررسی قرار گرفت. اساساً پوست از یک لایه اپی تلیال با منشأ اکتودرم، موسوم به اپی درم و لایه‌ای از جنس بافت همبند با منشأ مزودرمی به نام درم تشکیل شده است (۲). لایه قاعده‌ای که مرکب از ماتریکس خارج سلولی که اپی تلیوم اپیدرم را از درم جدا می‌کند. لایه‌ی قاعده‌ای سلول‌های بنیادی دارند که به طور آهسته تکثیر پیدا کرده است و خاصیت خود سازی دارند. سلول‌های لایه‌ی قاعده‌ای دو نوع سلول ایجاد

می‌کنند، دسته‌ای از سلول‌ها که به سطح می‌آیند تا جایگزین سلول‌های از دست رفته پیشین شوند و دسته دوم که بنیادی می‌مانند. سلول‌های دختری که تعهد پیدا می‌کنند، چند بار تقسیم شده و به محض اینکه از لایه قاعده‌ای فاصله گرفتند به سلول‌های اپیدرمی تمایز می‌یابند (۱). کلیه از مهم ترین اندام‌های بدن می‌باشد که نقش‌های حیاتی و اساسی در بدن بر عهده دارد و از مهم ترین این عملکردها پاک سازی مواد زائد از بدن می‌باشد. واحدهای ساختاری کلیه نفرون نام دارد و از لحاظ آناتومیکی از دو بخش مرکزی و قشری تشکیل شده است. در قسمت‌های مختلف نفرون مواد ترکیبات تراوش، بازجذب و ترشح می‌شوند (۱۵). این دارو از مسیرهای کلیوی و صفراوی دفع می‌شود (۶).

کبد بزرگ ترین غده بدن است که هم ترشحات آندوکراین و هم اگزوکراین دارد و وظایف متعددی در بدن نظیر سنتز بسیاری از ترکیبات حیاتی و همچنین سم زدایی بسیاری از ترکیبات شیمیایی بر عهده این اندام می‌باشد. وضعیت خون رسانی به کبد استثنایی بوده و بر خلاف سایر اندام‌های بدن %۸۰ از خون دریافتی این اندام از طریق سیاهرگ باب می‌باشد که مستقیماً مواد غذایی جذب شده از روده را ابتدا به کبد تحویل می‌دهد و پس از آن وارد گردش خون عمومی می‌شود. لذا داروهای خوراکی در اولین مرحله پس از جذب به کبد تحویل داده می‌شود و با توجه به این که داروی ایزوترتینوئین در انسان خوراکی است بررسی اثرات این دارو بر کبد بسیار حائز اهمیت است (۱۱). واحد ساختاری در کبد لوبول‌های کبدی می‌باشد که عمده سلول‌های تشکیل دهنده آن هپاتوسیت‌ها است که به طور پراکنده سلول‌های کوپفر در بین آن مستقر شده‌اند (۱۴). کانالیکول‌های صفراوی در این واحدها با هپاتوسیت‌ها در ارتباط هستند که در نهایت به مجاری بزرگ تر (مجرای صفراوی) ختم می‌شوند.

با توجه به اینکه ایزوترتینوئین یک دارو برای درمان آکنه شدید است و معمولاً این دارو در جوش‌های شدید (جوش‌های چرکی و بزرگ) و در مواردی تجویز می‌شود که داروهای

معمول آکنه (مانند بنزوئیل پروکساید) مؤثر واقع نشده‌اند، اما موجب بورز عوارضی در بدن می‌شوند که از آن‌ها می‌توان به خشکی لب، خشکی دهان، بینی و چشم، خونریزی بینی، درد خفیف مفاصل و ماهیچه‌ها بویژه زانو، احساس خستگی و سردرد خفیف، حساس شدن پوست به آفتاب و آفتاب‌سوختگی، افزایش ریزش مو، حالت تهوع، تاری چشم و اختلال در بینایی، احساس افسردگی شدید، اختلال در سیستم عصبی و اختلالات حافظه نام برد (۱۷).

از عوارض مهم این دارو تمایل به خودکشی است به خصوص در افرادی با سابقه افسردگی، همچنین در صورتی که خانمی در اوایل بارداری ایزوترتینوئین مصرف کند، احتمال خطر سقط جنین در او می‌تواند تا حدود ۵۰ درصد افزایش یابد. ایزوترتینوئین می‌تواند منجر به بروز نقایص هنگام تولد در بیش از ۳۵ درصد نوزادانی شود که مادرانشان این دارو را در طول بارداری، خصوصاً در طول سه ماهه اول بارداری مصرف کرده‌اند. از جمله این نقایص می‌توان به اختلالات و مشکلات بینایی، شنوایی، کوچکی و یا حتی عدم وجود چشم، کوچکی فک، کوچکی سر، شکاف کام و در برخی موارد به اختلالات غده تیروئید اشاره کرد. بر این اساس شناسایی دقیق عوارض این دارو در جهت هرچه کمتر نمودن اثرات ناخواسته آن به بیماران احساس می‌گردد (۲۱). اگرچه عوارض این دارو بطور کلی شناسایی گردیده اما اثرات دقیق آن بر لایه‌های پوست و نیز بافت کبد و کلیه که محل متابولیزه نمودن دارو می‌باشد و همچنین اثرات مشخص دارو بر مغز گزارش دقیقی وجود ندارد (۷ و ۸). نتایج این تحقیق بطور شفاف به اثرات این دارو بر اندام مذکور می‌پردازد.

مواد و روش کار

حیوانات آزمایشگاهی: حیوانات آزمایشگاهی استفاده شده در این تحقیق، موش‌های سفید کوچک آزمایشگاهی ماده و نر بالغ (Navel Medical Research Institute) NMRI

بودند که از انستیتو پاستور ایران (آمل) تهیه شدند. موش‌ها در حیوان خانه دانشگاه آزاد علوم کشاورزی واحد قائم شهر، در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی در محدوده دمایی ۱۹ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد و در رطوبت نسبی ۴۵ درصد، به تعداد ۵ سر در هر قفس با آب و غذای کافی در دسترس، نگهداری می‌شدند. آب مصرفی موش‌ها از آب شرب شهرستان قائم شهر بود که روزانه تعویض می‌شد. غذای موش‌ها از پلت (Pellet) غذایی موش تهیه شده از انستیتو پاستور ایران (آمل) بود. قفس‌های نگهداری، دارای درپوش سیمی بوده و بستر قفس‌ها با خاک اره پوشیده شده و هر هفته تعویض و پاکیزه می‌شدند.

بررسی‌ها در قالب یک گروه کنترل، یک گروه حامل و سه گروه تجربی به شرح زیر انجام شد:

گروه کنترل: تعداد ۵ سر موش بالغ ماده که پس از بارداری در روز نوزدهم، جنین‌های آن خارج و از بافت پوست، کبد و کلیه آنها اسلاید میکروسکوپی تهیه شد.

گروه حامل: تعداد ۵ سر موش بالغ ماده که پس از بارداری به مدت ۱۵ روز به میزان ۵ واحد روغن سویا (حلال داروی ایزوترتینوئین) به صورت تزریق داخل صفاقی (IP) دریافت کردند تا در روز نوزدهم، جنین‌های آن خارج و از بافت پوست، کبد و کلیه آنها اسلاید میکروسکوپی تهیه شود.

گروه تجربی ۱: تعداد ۵ سر موش بالغ ماده که پس از بارداری به مدت ۱۵ روز ۱/۵ میلی گرم داروی ایزوترتینوئین به میزان ۵ واحد به صورت تزریق داخل صفاقی (IP) دریافت کردند تا در روز نوزدهم، جنین‌های آن خارج و از بافت پوست، کبد و کلیه آنها اسلاید میکروسکوپی تهیه شود.

گروه تجربی ۲: تعداد ۵ سر موش بالغ ماده که پس از بارداری به مدت ۱۵ روز ۳ میلی گرم داروی ایزوترتینوئین به میزان ۵ واحد به صورت تزریق داخل صفاقی (IP) دریافت کردند تا در روز نوزدهم، جنین‌های آن خارج و از بافت پوست، کبد و کلیه آنها اسلاید میکروسکوپی تهیه شود.

گروه تجربی ۳: تعداد ۵ سر موش بالغ ماده که پس از بارداری،

به مدت ۱۵ روز ۶ میلی گرم داروی ایزوترتینوئین به میزان ۵ واحد به صورت تزریق داخل صفاقی (IP) دریافت کردند تا در روز نوزدهم، جنین‌های آن خارج و از بافت پوست، کبد و کلیه آنها اسلاید میکروسکوپی تهیه شود.

در این تحقیق برای هر گروه ۵ سر موش ماده بالغ را به همراه ۳ موش نر بالغ ۸ هفته‌ای به مدت یک شبانه روز در قفس قرار دادیم. مشاهده پلاک واژینال (VP) در صبح روز بعد به عنوان نشانه‌ی اولین روز حاملگی می‌باشد. با مشخص شدن روز صفر حاملگی، از روز دوم تزریق داخل صفاقی داروی ایزوترتینوئین رقیق شده در روغن سویا انجام شد.

دارو در ۳ غلظت مختلف ۱/۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم موش در روز، ۳ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم موش در روز و ۶ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم موش در روز بصورت زیر به گروه‌های تجربی تزریق شد.

۰/۱ گرم داروی ایزوترتینوئین در ۲۰ cc روغن سویا حل شد. ۵ واحد بین‌المللی از این محلول که معادل ۱/۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن موش در روز می‌باشد، به گروه تجربی ۱ تزریق شد.

۰/۱ گرم داروی ایزوترتینوئین در ۱۰ cc روغن سویا حل شد. ۵ واحد بین‌المللی از این محلول که معادل ۳ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن موش در روز می‌باشد، به گروه تجربی ۲ تزریق شد.

۰/۱ گرم داروی ایزوترتینوئین در ۵ cc روغن سویا حل شد. ۵ واحد بین‌المللی از این محلول که معادل ۶ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن موش در روز می‌باشد، به گروه تجربی ۳ تزریق شد.

داروها با غلظت تعیین شده از روز دوم تا پانزدهم حاملگی تزریق شد.

در روز ۱۹ حاملگی موش‌ها به روش جابجایی مهره‌های گردنی کشته شدند (Sacrifice). سپس با الکل ۷۰٪ ناحیه شکم ضد عفونی و به کمک قیچی و پنس شکافی در ناحیه ایجاد گردید تا از طریق شاخ رحمی، جنین‌ها خارج شوند.

۵ جنین از هر مادر، پس از شستشو در سرم فیزیولوژی در محلول فیکساتیو بوئن، به مدت ۲۴ ساعت فیکس شدند. بعد از پایداری، برشی به ضخامت حداکثر ۵ میلی متر با تیغ جراحی تهیه شد.

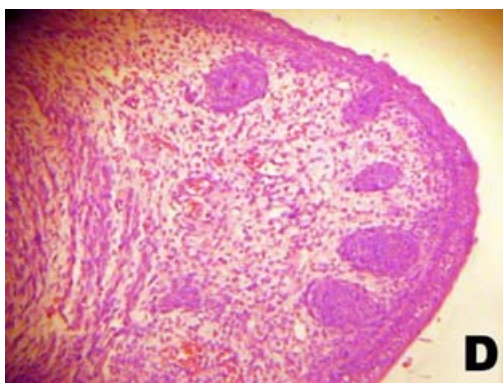
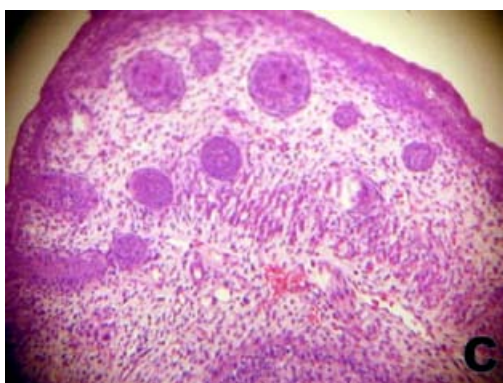
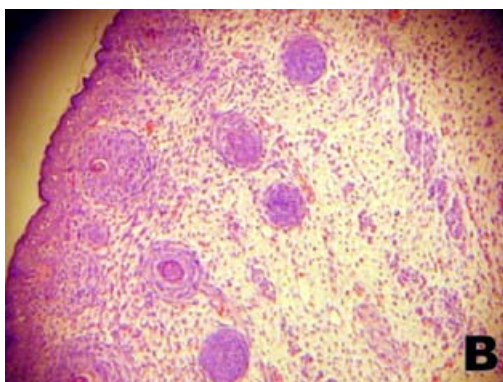
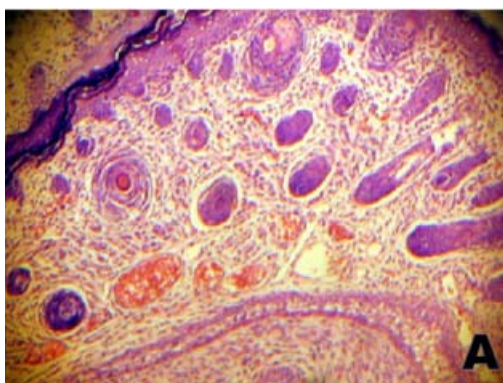
پس از اتمام نمونه برداری، نمونه‌های بافتی به ظروف حاوی بوئن منتقل شدند تا پس از پایداری کامل جهت انجام مراحل تهیه اسلاید به آزمایشگاه ارسال شوند. در آزمایشگاه نمونه‌های بافتی پس از عمل آوری در بلوک‌های پارافینه قرار گرفته و برش ۵ میکرون از آنها تهیه گردید. برش‌ها توسط رنگ آمیزی هماتوکسیلین و اتوزین رنگ آمیزی شدند تا توسط میکروسکوپ نوری مورد بررسی ریزینی قرار گیرند.

نتایج

تغییرات هیستوپاتولوژیکی فولیکول مو: در گروه ۱۹ روزه ایزوترتینوئین با غلظت ۱/۵ میلی گرم (تجربی ۱)، نسبت به گروه کنترل تعداد فولیکولهای مو کاهش یافته بود (تصویر ۱). میانگین تعداد فولیکولهای مو در گروه کنترل ۳۶ عدد و در گروه ایزوترتینوئین با غلظت ۱/۵ میلی گرم، ۲۴ عدد شمارش گردید.

در گروه ۱۹ روزه ایزوترتینوئین در غلظت ۳ میلی گرم (تجربی ۲)، نسبت به گروه کنترل تعداد فولیکولهای مو کاهش یافته بود (تصویر ۲). میانگین تعداد فولیکولهای مو در گروه کنترل ۲۴ عدد و در گروه ایزوترتینوئین با غلظت ۳ میلی گرم ۱۶ عدد شمارش گردید.

در گروه ۱۹ روزه ایزوترتینوئین در غلظت ۶ میلی گرم (تجربی ۳)، نسبت به گروه کنترل تعداد فولیکولهای مو کاهش قابل توجه‌ای یافته بود (تصویر ۳). میانگین تعداد فولیکولهای مو در گروه کنترل ۳۶ عدد و در گروه ایزوترتینوئین با غلظت ۶ میلی گرم، ۵ عدد شمارش گردید. تغییرات هیستوپاتولوژیکی بافت کبد: در گروه ۱۹ روزه ایزوترتینوئین در غلظت ۱/۵ میلی گرم (تجربی ۱)، برخلاف گروه کنترل تجمع صفرا مشاهده گردید (تصویر ۴). در گروه



تصویر ۱- نمای میکروسکوپی نشان دهنده تعداد فولیکول مو در جنین ۱۹ روزه مادران کنترل و ایزوترتینوئینی با غلظت‌های مختلف: (A) کنترل، (B) گروه تجربی یک، (C) گروه تجربی دو و (D) گروه تجربی سه (H&E-X100)

۱۹ روزه ایزوترتینوئینی در غلظت ۳ میلی گرم (تجربی ۱)، بر خلاف گروه کنترل تجمع صفرا مشاهده گردید. بطوریکه میزان این تجمع بیشتر از گروه ۱۵ روزه ایزوترتینوئینی در غلظت ۱/۵ میلی گرم بود (تصویر ۴). در گروه ۱۹ روزه ایزوترتینوئینی در غلظت ۶ میلی گرم نیز تجمع صفرا مشاهده گردید. بطوریکه میزان این تجمع بطور چشمگیری بیشتر از دیگر گروه‌ها بود (تصویر ۵).

تغییرات هیستوپاتولوژیکی بافت کلیه: این مطالعه نشان داد که در گروه‌های ۱۹ روزه ایزوترتینوئینی در غلظت‌های ۳، ۱/۵ و ۶ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم موش در روز بر خلاف گروه کنترل، پرخونی، اتساع رگها، افزایش نفوذ پذیری رگها و افزایش خون رسانی به کلیه وجود دارد. (تصویر ۵). بطوریکه با افزایش دوز دارو تغییرات مذکور در کلیه مشخص تر بود.

تغییرات هیستوپاتولوژیکی ساختار پوست: در گروه‌های ۱۹ روزه ایزوترتینوئینی در غلظت‌های ۳، ۱/۵ و ۶ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم موش در روز نسبت به گروه کنترل، کاهش مشخصی در ضخامت لایه‌های پوست مشاهده گردید که میزان این تغییرات در گروه‌های مورد مطالعه از این قرار می‌باشد.

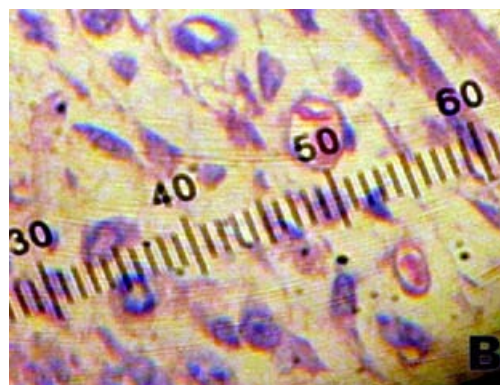
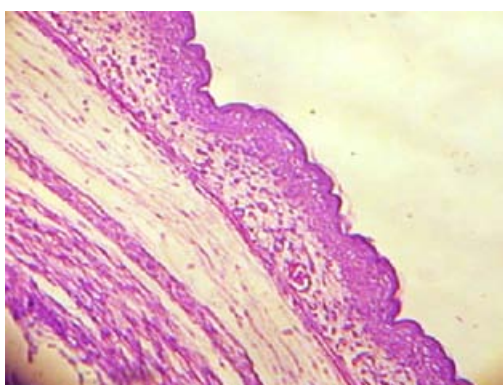
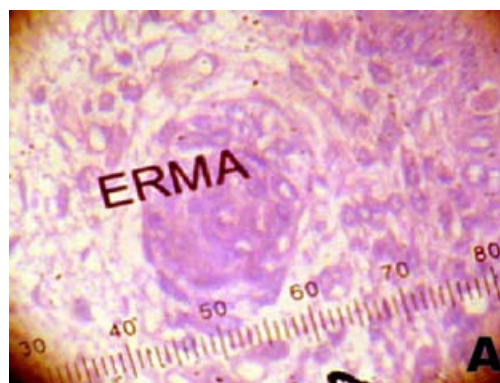
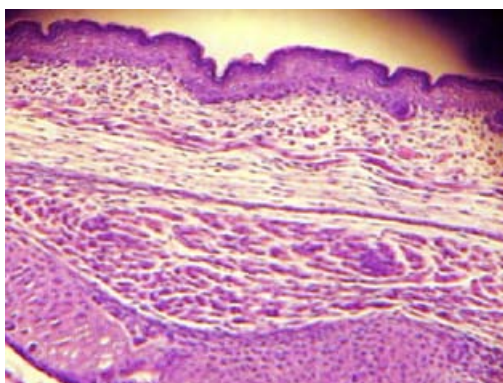
۱. ضخامت لایه‌های پوست در گروه کنترل ۱۲۰ واحد

۲. ضخامت لایه‌های پوست در گروه ۱۹ روزه ایزوترتینوئینی در غلظت ۱/۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم موش در روز (تجربی ۱)، ۷۰ واحد (تصویر ۲).

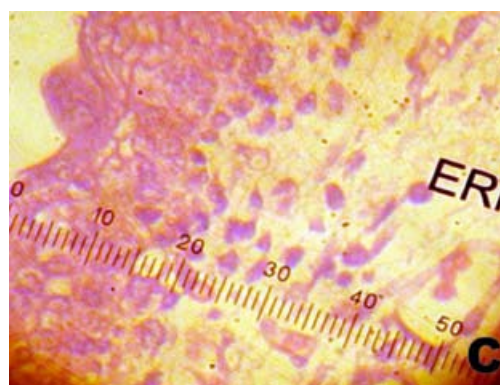
۳. ضخامت لایه‌های پوست در گروه ۱۹ روزه ایزوترتینوئینی در غلظت ۳ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم موش در روز (تجربی ۲)، ۶۰ واحد (تصویر ۲).

۴. ضخامت لایه‌های پوست در گروه ۱۹ روزه ایزوترتینوئینی در غلظت ۶ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم موش در روز (تجربی ۳)، ۴۵ واحد (تصویر ۲)

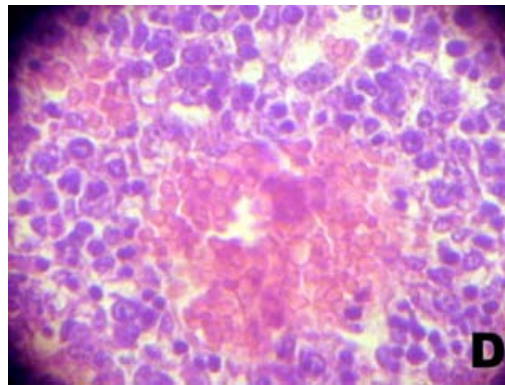
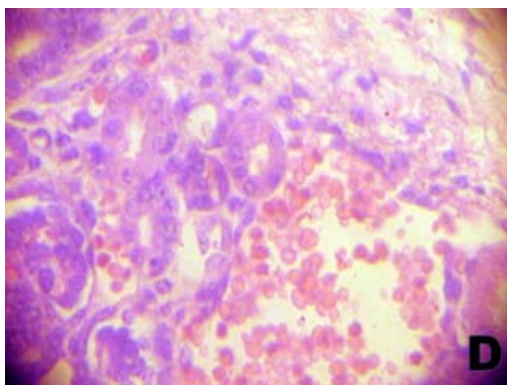
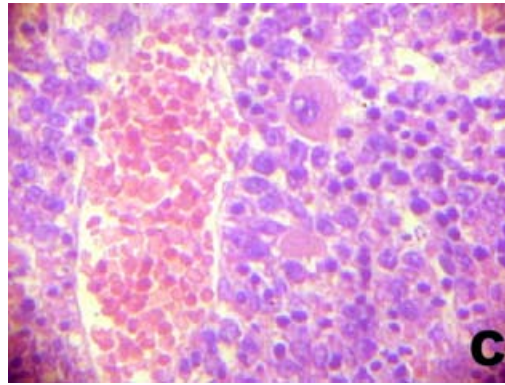
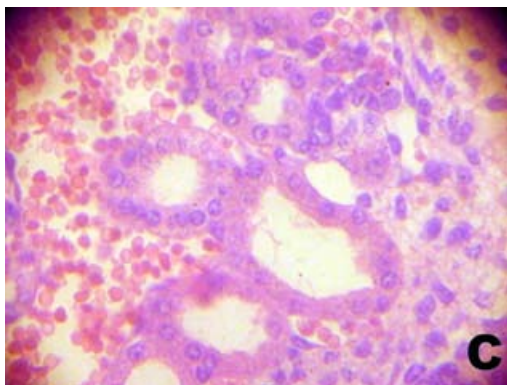
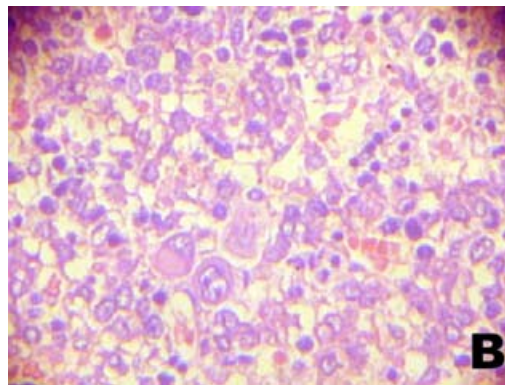
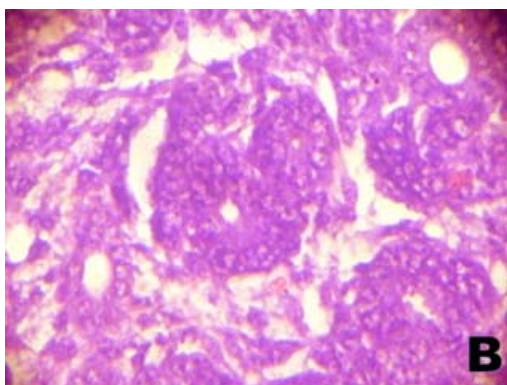
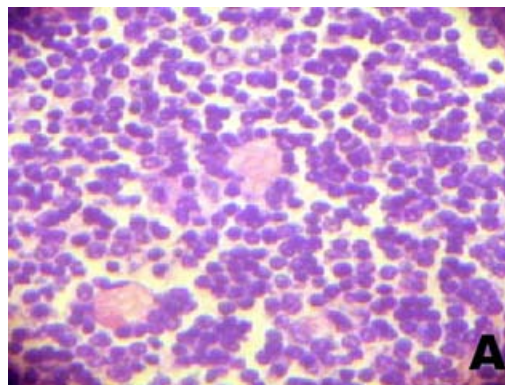
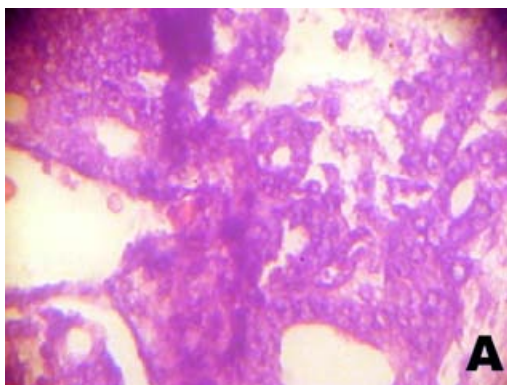
لازم به ذکر است که در این اندازه‌گیری هر ۱۰۰ واحد معادل ۱ سانتی متر در نظر گرفته شده است.



تصویر ۳- کاهش ضخامت لایه‌های پوست در اثر کاهش لایه‌های کوتیکول و درم در جنین ۱۹ روزه مادران کنترل و ایزوترتینوئین با غلظت ۱/۵، ۳ و ۶ میلی گرم



تصویر ۲- نمای میکروسکوپی نشان دهنده کاهش ضخامت لایه‌های پوست در جنین ۱۹ روزه مادران کنترل و ایزوترتینوئین با غلظت‌های مختلف: (A) کنترل، (B) گروه تجربی یک، (C) گروه تجربی دو و (D) گروه تجربی سه (H&E-X۴۰۰)



تصویر ۵- نمای میکروسکوپی نشان دهنده پرخونی کلیه در جنین ۱۹ روزه مادران کنترل و ایزوترتینوئینی با غلظت‌های ۱/۵، ۳ و ۶ میلی گرم: (A) کنترل، (B) گروه تجربی یک، (C) گروه تجربی دو و (D) گروه تجربی سه (H&E-X۴۰۰)

تصویر ۴- نمای میکروسکوپی نشان دهنده تجمع صفرای کبد در جنین ۱۹ روزه مادران کنترل و ایزوترتینوئینی با غلظت‌های ۱/۵، ۳ و ۶ میلی گرم: (A) کنترل، (B) گروه تجربی یک، (C) گروه تجربی دو و (D) گروه تجربی سه (H&E-X۴۰۰)

بحث و نتیجه‌گیری

مطالعه کیفی مقاطع تهیه شده از فولیکول مو در جنین موش‌های سفید کوچک آزمایشگاهی NMRI در ارتباط با تعداد فولیکولها نشان داد، این تعداد در گروه‌های ۱۹ روزه ایزوترتینوئینی در غلظت‌های ۱/۵، ۳ و ۶ میلی گرم، نسبت به گروه کنترل کاهش یافته است. بطوریکه میانگین تعداد فولیکولهای مو در گروه کنترل ۳۶ عدد و در گروه ایزوترتینوئینی با غلظت ۱/۵ میلی گرم، ۲۴ عدد، در گروه ایزوترتینوئینی با غلظت ۳ میلی گرم ۱۶ عدد و در گروه ایزوترتینوئینی با غلظت ۶ میلی گرم، ۵ عدد شمارش گردید. دالزیل و همکاران در سال ۱۹۸۷ نشان دادند این دارو بطور قابل توجهی تعداد فولیکولهای مو کاهش می‌دهد که این یافته با نتایج ما هم خوانی دارد (۷). تحقیقات نشان داده که این دارو سبب کاهش فعالیت متابولیکی در اجزای پوست نظیر غدد سباسه و فولیکولها می‌گردد که از جمله آن می‌توان به کاهش فعالیت آنزیمی گلوکز ۶ فسفات دهیدروژناز و سوکسینیک دهیدروژناز اشاره نمود. اما اینکه چه ارتباط دقیقی میان کاهش فعالیت متابولیکی و تعداد فولیکولها وجود دارد دقیقاً مشخص نشده است. (۲ و ۱۲) از آنجا که این دارو حاوی مقادیر بسیار زیادی ویتامین A می‌باشد لذا این میزان بالای ویتامین A سبب تاثیر بر کبد و واکنش‌های آلرژیک می‌گردد، که بخشی از این تاثیرات می‌تواند مربوط به آلرژی باشد و یا دارو مستقیماً سبب برهم شکستن سیکل رشد فولیکولهای مو می‌گردد (۷). تحقیقات نشان داده کسانی که به صورت هورمونی مستعد ریزش مو هستند بیشتر تحت تاثیر این مصرف دارو قرار می‌گیرند (۱۶). مطالعه کیفی مقاطع تهیه شده از بافت کبد در جنین موش‌های سفید کوچک آزمایشگاهی NMRI در ارتباط با تجمع صفرا نشان داد که در گروه ۱۹ روزه ایزوترتینوئینی در غلظت ۱/۵، ۳ و ۶ میلی گرم، بر خلاف گروه کنترل تجمع صفرا وجود دارد. به طوری که میزان این تجمع، با افزایش دوز داروی مورد مطالعه، بطور چشمگیری افزایش

داشت. به دلیل میزان بالای ویتامین A این دارو و سایر ترکیباتی که طور کامل مشخص نشده سبب ایجاد التهاب در بافت کبد می‌شود که از یک سو سبب نکروز سلول‌های کبدی شده و از سوی سبب انسداد کانالیکول‌های صفراوی و عدم خروج صفرا کتوزگه به داخل صفرا و تجمع صفرا در کبد می‌گردد.

تحقیقات قبلی نشان داده‌اند که مصرف دارو سبب افزایش آنزیم‌های نکروتیک کبدی نظیر آسپاراتات آمینو ترانسفراز و آلانین آمینو ترانسفراز و همچنین سبب افزایش آنزیم‌های کولستاتیک (القایی) نظیر آلکالین فسفاتاز سرم خون می‌گردد که این یافته‌ها با نتایج ما کاملاً همخوانی داشته و نشان دهنده آسیب سلول‌های کبدی و انسداد کانالیکول‌های صفراوی می‌باشد (۱۹ و ۲۰).

مطالعه کیفی مقاطع تهیه شده از بافت کلیه در جنین موش‌های سفید کوچک آزمایشگاهی NMRI این این نتایج بدست آمد که در گروه‌های ۱۹ روزه ایزوترتینوئینی در غلظت‌های ۱/۵، ۳ و ۶ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم موش در روز بر خلاف گروه کنترل، پرخونی، اتساع رگها، افزایش نفوذ پذیری رگها و افزایش خون رسانی به کلیه مشاهده گردید. احتمالاً کاهش بافت پیوندی اطراف رگ‌های خونی در غلظت‌های بالای ایزوترتینوئین، موجب اتساع رگها و نفوذپذیر شدن رگ‌های خونی کلیه شده و با نفوذ پلاسما به کلیه حالت آبکی پیدا کرده و حجم آن افزایش یافته است (۲۱ و ۱۸).

تقدیر و تشکر

از آقای دکتر عباس کلانتری و همه عزیزانی که در مراحل مختلف این تحقیق صمیمانه همکاری نمودند تقدیر و تشکر می‌گردد.

References

1. Alzoubi, K.H., Khabour, O.F., Hassan, R.E, Qarqaz, F., Al-Azzam, S., Mhaidat, N. (2013) The effect of genetic polymorphisms of RARA gene on the adverse effects profile of isotretinoin-treated acne patients. 6 (9) 124-32
2. Belden, T.L., Ragucci, D.P.. (2012) Hypercalcemia induced by 13-cis-retinoic acid in a patient with neuroblastoma. *Pharmacotherapy*. 22 (5) 645-8
3. Bozkurt, B., Irkeç, M.T., Atakan, N., Orhan, M., Geyik, P.O. (2002) Lacrimal function and ocular complications in patients treated with systemic isotretinoin. *Eur J Ophthalmol*. 12 (3) 173-6.
4. Dalziel, K., Barton, S., Marks, R. (1987) The effects of isotretinoin on follicular and sebaceous gland differentiation. Department of Medicine, University of Wales College of Medicine, Heath Park, Cardiff, U.K. 117(3) 317-23
5. Del Rosso, J.Q., (2013) Clinical relevance of skin barrier changes associated with the use of oral isotretinoin: the importance of barrier repair therapy in patient management. 1;12 (6) 626-631.
6. Erturan, İ., Naziroğlu, M., Akkaya, V.B., (2012) Isotretinoin treatment induces oxidative toxicity in blood of patients with acne vulgaris: a clinical pilot study. 30 (7) 552-7
7. Ghamarian, A., (2010) *Iran Medical Information, Clinical pharmacy department tehran university of medical sciences* (text in Persian)
8. Jaeckle, K.A., Hess, K.R., Yung, W.K., Greenberg, H., Fine, H. Schiff, D., (2003) The effects of isotretinoin on liver and kidney differentiation. 21: 2305-2311.
9. Junqueira's histology, Text & Atlas, (2010) translated by hasanzadeh et al. khosravi publication
10. Kohler, J.A., Imeson, J., Ellershaw, C., Lie, (200) S.O. A randomized trial of 13-Cis retinoic acid in children with advanced neuroblastoma after high-dose therapy. 83 (9) 1124-7
11. McDonald, S.K., Goh, M.S., Chong, AH. (2011) Successful treatment of cyclosporine-induced sebaceous hyperplasia with oral isotretinoin in two renal transplant recipients. 52 (3) 227-30.
12. Nankervis, R. , Davis, S., N.H.Day , Shaw, P.N. (1995) Effect of Lipid Vehicle on the intestinal Lymphatic transport of isotretinoin in the rat. 173-181.
13. Preneau, S., Dessinioti, C., Nguyen, J.M., Katsambas, A., Dreno, B. (2013) Predictive markers of response to isotretinoin in female acne. 24 (2) 57-59.
14. Rezaeian, M., (1998) *veterinary histology atlas*, Tehran university publication, 313-315 (text in Persian)
15. Roche, N.J., (2003) *Accutane Package Insert Pharmaceuticals*. Nutley. *Dermatol* 33 (4) 54-9
16. Sakai, Y., Crandall, J.E., Brodsky, J., McCaffery, P. (2004). 13-cis Retinoic acid (accutane) suppresses hippocampal cell survival in mice. 1021:436-40.
17. Sherry, A. Ferguson, S.A., Cisneros, F.J., Gough, B.J., Ali, S.F. (2005) Four weeks of oral isotretinoin treatment causes few signs of general toxicity in male and female Sprague-Dawley rats. *Food Chem Toxicol*. 43 (8) 1289-96
18. Skeel, R.T., Huang, J., Manola, J., Wilding, G., Dreicer, R., Walker, P., Muggia, F., Crawford, E.D., Dutcher, J.P., Loehrer, P.J. (2003) A phase II study of 13-cis retinoic acid plus interferon alpha-2a in advanced stage penile carcinoma: an Eastern Cooperative Oncology Group study. *Cancer Invest*. 21 (1) 41-6
19. Steven, L. Stockham, and Michael, A. (2008) *Fundamentals of veterinary clinical pathology*. second Edition. Black Well Publishing 415-420 and 675-685
20. Vieira, A.S., Bejamini, V., Melchior, A.C.

(2012) The effect of isotretinoin on triglycerides and liver aminotransferases. 87 (3) 382-7

21. Wysowski, D.K., Pitts, M., Beitz, J. (2001) An analysis of reports of depression and suicide in patients treated with isotretinoin. J Am Acad Dermatol 45 (4) 515-9