

بررسی آثار تراوتونیک آلپرازولام بر روی جنین موش صحرایی

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۹/۰۴/۲۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۹/۰۶/۲۹

چکیده

نسرین تک زارع^۱، اعظم بختیاریان^{۲*}،
اسماعیل سعیدی^۳ و وحید نیکوئی^۲

۱- گروه بافت‌شناسی
۲- گروه فارماکولوژی
۳- پزشک عمومی

دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده پزشکی،
تهران، ایران

زمینه و هدف: آلپرازولام جزو خانواده بنزودیازپین‌ها می‌باشد که امروزه مصرف آن در جامعه به‌خصوص خانم‌های باردار به صورت تصاعدی افزایش یافته است. با توجه به این‌که تحقیقات زیادی در مورد آثار تراوتونیک این دارو در دوران ارگانوژنز انجام نگرفته است، هدف از این تحقیق، بررسی آثار تراوتونیک آلپرازولام بر جنین موش صحرایی می‌باشد. **روش بررسی:** در این مطالعه تأثیر داروی آلپرازولام با دوزهای مختلف (۶ mg/kg/day و ۴ و ۲ و ۰) بر روی چهار گروه جنین موش صحرایی پنج تا ۱۷ روزه که هر گروه شامل پنج جنین موش ماده رت بودند، بررسی گردید. وزن موش‌ها حدوداً بین ۲۵۰ تا ۳۰۰ گرم و همگی بالغ (سه ماهه) و سالم بودند کلیه گروه‌ها بعد از بروز بارداری هر روزه دوزهای تعیین شده دارو را به صورت تزریقی تا روز پانزدهم دریافت کردند. پس از طی مراحل بارداری، جنین‌ها خارج شده و مورد مطالعه ماکروسکوپی (آنومالی‌های ظاهری) و میکروسکوپی قرار گرفتند. **یافته‌ها:** نتایج حاصله از مطالعه نشان‌دهنده این نکته می‌باشد که با افزایش دوز آلپرازولام به‌خصوص ۶ mg/kg/day در میزان بروز آنومالی‌های ظاهری، چشم غیرطبیعی، شکاف کام و لب افزایش قابل ملاحظه‌ای دیده می‌شود. همچنین میانگین قد جنین‌ها با افزایش دوز دارو، کاهش یافته است. آنالیز آماری نشان داد که میزان اثرات تراوتونیک آلپرازولام به صورت معنی‌داری در گروه چهارم (۶ mg/kg/day)، بالاتر از گروه‌های کنترل و آزمایش اول و دوم می‌باشد (p=۰/۰۰۱). **نتیجه‌گیری:** نتایج به‌دست آمده از این مطالعه حاکی از تراوتون بودن آلپرازولام در دوز بالا می‌باشد. توصیه می‌گردد که مادران باردار از مصرف بنزودیازپین‌ها در سه ماهه اول بارداری خودداری نمایند.

کلمات کلیدی: آلپرازولام، بنزودیازپین، ناهنجاری‌ها، موش صحرایی.

* نویسنده مسئول: تهران، خیابان پورسینا، ضلع شمالی
دانشگاه تهران، دانشکده پزشکی، کد پستی ۱۴۱۷۶۱۳۱۵
تلفن: ۰۲۱-۶۶۴۰۲۵۶۹
email: bakhtiar@sina.tums.ac.ir

مقدمه

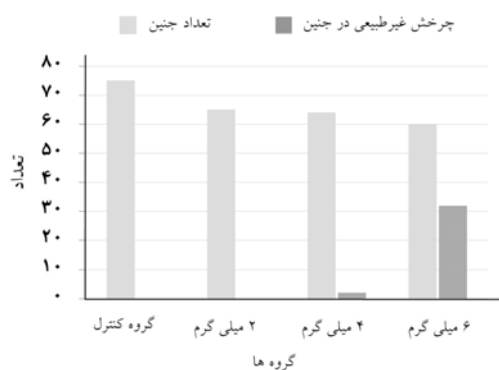
مصرف این گروه دارویی در دوران حاملگی از نقطه‌نظر ایجاد عوارض غیرطبیعی در جنین مورد توجه قرار گیرد.^{۸-۳} در سال ۱۹۶۰ به‌دنبال بروز فاجعه تالیدومید که یک داروی ضد تهوع بوده و در زنان حامله استفاده می‌شد، آنومالی‌های اندام در نوزادان به دنیا آمده دیده شد. به دنبال این فاجعه مسأله تراوتونز ناشی از تجویز داروها مورد توجه قرار گرفت. در همین دهه نیز تحقیقات روی مشتقات بنزودیازپین‌ها شروع شد^{۱۲-۸} و در مطالعات انجام شده بروز شکاف کام و لب و آنومالی‌های اندام گزارش شده است ولی اطلاعات میکروسکوپی از بروز عوارض جانبی بر ارگانوژنز عمومی بدن در مورد داروی آلپرازولام گزارش نگردیده است. در دوران بارداری، حساس‌ترین زمان دوره رویانی بوده که اهمیت خاصی از نظر تأثیرات

آلپرازولام (Alprazolam) به خانواده بنزودیازپین‌ها،^۱ گروهی از داروهای آرام‌بخش تعلق دارد.^۲ این دارو در درمان اضطراب از جمله حملات ترس مثل ترس از محیط‌های باز استفاده می‌شود. با توجه به این‌که انسان جهت ادامه حیات و تقویت قوای تحلیل رفته احتیاج به خواب دارد، بسیاری از انسان‌ها جهت غلبه بر مشکل بی‌خوابی به سراغ داروهای خواب‌آور می‌روند. اصولاً با توجه به این‌که ماهیت و عملکرد داروهای خواب‌آور شباهت فراوانی به داروهای آرام‌بخش دارد، استفاده فراوان و گسترده از این گروه دارویی (بنزودیازپین‌ها) در جامعه دیده می‌شود. مصرف این گروه دارویی به‌خصوص آلپرازولام در سال‌های اخیر فزاینده بوده، پس باید

داروی دریافتی، کاهش یافته است. ۳- میانگین وزن جنین‌ها در روز ۱۷ بارداری، در گروه کنترل بیشترین و در گروه‌های آزمایشی به ترتیب افزایش دوز داروی دریافتی، کاهش یافته است. (جدول ۱ میانگین وزن و اندازه قد جنین‌های ۱۷ روزه گروه کنترل و گروه‌های آزمایشی). ۴- در گروه‌های کنترل و آزمایشی اول چرخش غیرطبیعی در جنین مشاهده نشد، ولی در گروه‌های آزمایشی دوم، دو عدد و سوم ۳۲ عدد چرخش غیرطبیعی وجود داشت (نمودار ۱). ۵- در گروه‌های کنترل و آزمایشی اول و دوم چشم غیرطبیعی وجود نداشت ولی در گروه آزمایش سوم ۱۳ مورد چشم غیرطبیعی دیده شد. ۶- در گروه‌های کنترل و آزمایشی اول شکاف کام و لب مشاهده نشد ولی

جدول- ۱: میانگین وزن و اندازه قد جنین‌های ۱۷ روزه گروه کنترل و گروه‌های آزمایشی

گروه‌ها	تعداد جنین‌ها	میانگین قد (mm)	میانگین وزن (gr)
گروه کنترل	۷۵	۱۶/۵	۲/۵۶
گروه آزمایشی ۱ آلپرازولام ۲(mg/kg/day)	۶۵	۱۶	۲/۵۰
گروه آزمایشی ۲ آلپرازولام ۴(mg/kg/day)	۶۴	۱۵/۹	۲/۴۹
گروه آزمایشی ۳ آلپرازولام ۶(mg/kg/day)	۶۰	۱۳/۹	۱/۹۰



نمودار- ۱: مقایسه چرخش غیرطبیعی جنین‌ها در گروه‌های کنترل و آزمایشی

تراتوژنی دارد.^{۱۳} رویان در این فاز حساسیت زیادی به داروهای مختلف دارد.^{۱۴-۱۶} در این تحقیق، اثرات تراتوژن آلپرازولام بر روند تکامل جنین رت در بارداری بررسی شده است.

روش بررسی

این مطالعه با روش Experimental بر روی موش‌های نژاد (Wistar) در گروه فارماکولوژی دانشگاه علوم پزشکی تهران در پاییز سال ۱۳۸۸ انجام شد. موش‌های صحرایی بالغ نر و ماده سالم با میانگین سنی سه ماه و وزن تقریبی ۳۰۰-۲۵۰ گرم به طور تصادفی انتخاب شدند. پس از مرحله جفت‌گیری و بروز بارداری، موش‌ها به چهار گروه آزمایش تقسیم گردیدند. کلیه گروه‌ها بعد از بروز بارداری هر روزه دوزهای تعیین شده دارو را به صورت تزریقی تا روز پانزدهم دریافت داشتند. گروه اول، گروه کنترل که شامل پنج موش بارداری، که آب مقطر استریل تزریقی دریافت کردند. گروه آزمایش دوم، پنج موش بارداری که آب مقطر و ۲mg/kg/day آلپرازولام (زاناکس (Zanax)، شرکت سیگما آمریکا) دریافت کردند. گروه آزمایش سوم، پنج موش بارداری که آب مقطر و ۴mg/kg/day آلپرازولام دریافت کردند. گروه چهارم، پنج موش بارداری که آب مقطر و ۶mg/kg/day آلپرازولام دریافت کردند. این تزریقات تا روز پانزدهم ادامه پیدا کرده و روز هفدهم جنین‌ها به طریق سزارین خارج شده و تحت بررسی ماکروسکوپی از نظر بروز آنومالی‌های ظاهری قرار گرفتند. همچنین جهت بررسی دقیق‌تر، نمونه‌ها در درون محلول فیکساتور قرار داده شده و سپس رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین انجام شده، سپس مورد مطالعه میکروسکوپی قرار گرفتند. آزمون آماری Student's t-test استفاده شد و $p < 0/001$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

تعداد جنین‌های به‌دست آمده از گروه کنترل ۷۵ جنین، گروه آزمایشی اول ۶۵، گروه آزمایشی دوم ۶۴ و گروه آزمایشی سوم ۶۰ جنین بودند. نتایج به‌دست آمده از این مطالعه عبارت است از: ۱- در گروه‌های کنترل، آزمایشی اول و دوم هیچگونه آنومالی اندام دیده نشد ولی در گروه آزمایشی سوم چندین مورد آنومالی اندام وجود داشت (نمودار ۲). ۲- میانگین وزن جنین‌ها در روز ۱۷ بارداری، در گروه کنترل بیشترین و در گروه‌های آزمایشی به ترتیب افزایش دوز



نمودار-۳: مقایسه میزان بروز شکاف کام و لب در گروه‌های کنترل و آزمایشی



نمودار-۲: مقایسه میزان بروز آنومالی‌های اندام در گروه‌های کنترل و آزمایشی

غلظت پلاسمایی را بین یک تا دو ساعت ایجاد می‌کند.^{۱۹} مطالعات بر روی این خانواده دارویی از سال‌های ۱۹۶۰ آغاز گردید.^۳ در مطالعات انجام شده، بروز شکاف کام و آنومالی‌های اندام گزارش شده است.^{۱۲-۱۳} با توجه به این‌که آلپرازولام به عنوان کم‌خطرترین داروی خواب‌آور ضد تشنج معروف شده است، مصرف خودسرانه این دارو با دوزهای بالا رایج گردیده است.^{۱۹} ماه‌های اول بارداری دوران حساس شکل‌گیری جنین و دوران ارگانوژنز می‌باشد، با توجه به اینکه بعضی از خانم‌ها در ماه‌های اول از بارداری خود خبر نداشته و یا ناآگاهانه در کم‌خوابی و یا بنا به ضرورت درمان بعضی بیماری‌ها، از این دارو استفاده می‌کنند، این امر می‌تواند موجب تأثیر منفی بر ارگانوژنز و تکامل طبیعی جنین گردد.^{۱۴} طبق نتایج به‌دست آمده از جنین‌های سزارین شده ۱۷ روزه گروه کنترل در بررسی ماکروسکوپی و مورفولوژی ظاهری، بدن خمیدگی طبیعی C شکل خود را حفظ کرده و اندام‌ها در وضعیت طبیعی خود قرار گرفته‌اند. سر و صورت و پوزه شکل گرفته و چشم‌ها و گوش‌ها و بینی و دهان وضعیت طبیعی خود را به‌دست آورده‌اند. در این گروه (کنترل) کلیه جنین‌ها حالت طبیعی داشتند. در بررسی‌های میکروسکوپی گروه کنترل نیز مورد خاصی دیده نشد و همگی حالت طبیعی داشتند. در مطالعه ما، گروه‌های آزمایشی ۴ mg/kg/day و ۲، در حد مجاز آلپرازولام دریافت کرده‌اند. در بررسی‌های مورفولوژیک ماکروسکوپی، مشاهده گردید که نمای ظاهری جنین‌ها از نظر ارگانوژنز و قرارگیری اندام‌ها در جای طبیعی خود تفاوت بارزی با گروه کنترل ندارند و اختلاف این دو گروه با گروه کنترل معنی‌دار نمی‌باشد. در بررسی نمونه‌ای گروه آزمایشی ۶ mg/kg/day، مشاهده

در گروه‌های آزمایشی دوم یک مورد و گروه آزمایشی سوم ۱۹ مورد دیده شد (نمودار ۳). ۷- در گروه‌های کنترل و آزمایشی اول پوست چروکیده و خونریزی موضعی مشاهده نشد ولی در گروه‌های آزمایشی دوم، سه مورد و سوم، ۱۴ مورد دیده شد. ۸- در هیچ‌کدام از گروه‌های کنترل و آزمایشی آنومالی‌های دیگر مثل گوش، گردن و دم دیده نشد. در آنالیز آماری مقایسه گروه آزمایشی سوم با گروه کنترل، p به‌دست آمده کمتر از ۰/۰۰۱ و معنی‌دار می‌باشد. بر اساس این نتایج تراژون بودن آلپرازولام در دوزهای بالا دیده می‌شود.

بحث

مصرف داروها در دوران حاملگی از دو جهت مورد توجه قرار می‌گیرد: ۱- ایجاد عوارض غیرطبیعی در جنین. ۲- اثر خاص حاملگی در فارماکوکینتیک بالینی دارو. به دنبال فاجعه تالیدومید مسئله تراژون دارو مورد ملاحظات کلی قرار گرفته است. هر چند از میزان تجویز این داروها به زنان حامله کاسته شده ولی به علت عدم پژوهش کافی در مورد مصرف داروهایی که در این زمینه مشکل آفرینند، نتایج مطلوبی حاصل نگردیده است.^{۱۷،۱۸} داروهایی با پتانسیل تراژونیک پایین در اکثر زنان حامله تأثیر چندانی ندارند ولی ممکن است موجب اثرات تراژونیک در تعداد کمی از زنان باردار شوند. تحقیقات گسترده در مورد داروهای پر مصرف و کم عارضه می‌تواند مانع بروز عوارض جانبی آن‌ها شود. یکی از این گروه‌های دارویی، خانواده بنزودیازپین‌ها می‌باشند که عموماً جهت القای خواب، اثرات ضد اضطراب، ضد تشنج، ضد اسپاسم و القای بیهوشی به کار می‌روند. آلپرازولام پس از مصرف به سرعت جذب شده و حداکثر

خونریزی موضعی شده بود. این امر مستقیماً بر روی ارگانوژنز و روند تکامل لایه‌های چشمی اثر گذاشته، به طوری که باعث غیرطبیعی شدن چشم و لایه‌های آن می‌شود. مقایسه میزان بروز حالات غیرطبیعی چشم در گروه کنترل با گروه آزمایشی 6mg/kg/day دارای اختلاف معنی‌داری می‌باشد ($p < 0/001$) همچنین در بررسی نمونه‌های میکروسکوپی گروه آزمایشی 6mg/kg/day بروز شکاف کام و شکاف لب دیده شد در حالی که در سایر گروه‌ها دیده نشد (نمودار ۳). در تحلیل آماری و بررسی میانگین بروز آنومالی‌ها با مصرف داروهای تراوتوزن، با آزمون χ^2 اختلاف معنی‌داری بین گروه آزمایشی 6mg/kg/day و گروه کنترل وجود داشت ($p < 0/001$). بنابراین فرضیه خطرناک بودن دوز بالای آلپرازولام برای مادران باردار تأیید شد.

گردید که شکل طبیعی جنین از حالت خود خارج شده و تا حدودی چرخش C شکل خود را از دست داده است و دفورمیتی واضحی در نمای خارجی کل بدن مشاهده می‌گیرد و گاهی کوتاهی اندام‌ها نیز دیده می‌شود (نمودار ۱). آزمون آماری χ^2 نیز اختلاف آماری معنی‌داری بین گروه سوم و گروه‌های دیگر از نظر آنومالی اندام‌ها نشان داد ($p < 0/001$). تحقیقات گروهی از دانشمندان نشان داده بود که مصرف بالای بنزودیازپین‌ها سبب باز باقی ماندن پلک‌ها و در نتیجه عدم تکامل چشم می‌شود.^{۲۰} در نمونه‌های بررسی شده در تحقیق نیز باز بودن پلک‌ها مشهود است. همچنین ایجاد اختلالات سیستم بینایی بر اساس مطالعات Kats در سال ۱۹۸۸ نیز با دوز دارو رابطه مستقیم دارد.^{۱۱} در برخی از نمونه‌ها فک، گوش و لب در وضعیت طبیعی قرار نداشته و پوست بسیار چروکیده و دچار

References

- Ornoy A, Arnon J, Shechtman S, Moerman L, Lukashova I. Is benzodiazepine use during pregnancy really teratogenic? *Reprod Toxicol* 1998;12(5):511-5.
- Mcler AM. Textbook of Drug Information. 2nd ed. London: 2008.
- Livezey GT, Marczynski TJ, McGrew EA, Beluhan FZ. Prenatal exposure to diazepam: late postnatal teratogenic effect. *Neurobehav Toxicol Teratol* 1986;8(5):433-40.
- Fridman JM, Politika JE. Teratogenic Effects of Drugs: A Resource for Clinicians. (TERIS). Baltimore: The Johns Hopkins University Press, 1994.
- Shannon LM, Havens JR, Hays L. Examining differences in substance use among rural and urban pregnant women. *Am J Addict* 2010;19(6):467-73. doi: 10.1111/j.1521-0391.2010.00079.x.
- Koren G. Maternal-Fetal Toxicology: A Clinician's Guide. 2nd ed. New York, NY: Marcel Dekker, Inc; 1994. p. 77-9.
- Wikner BN, Stiller CO, Bergman U, Asker C, Källén B. Use of benzodiazepines and benzodiazepine receptor agonists during pregnancy: neonatal outcome and congenital malformations. *Pharmacoepidemiol Drug Saf* 2007;16(11):1203-10.
- Wikner BN, Stiller CO, Källén B, Asker C. Use of benzodiazepines and benzodiazepine receptor agonists during pregnancy: maternal characteristics. *Pharmacoepidemiol Drug Saf* 2007;16(9):988-94.
- Leaf RC, Wnek DJ, Gay PE, Corcia RM, Lamon S. Chlordiazepoxide and diazepam induced mouse killing by rats. *Psychopharmacologia* 1975;44(1):23-8.
- Spielmann H, Krüger C, Tenschert B, Vogel R. Studies on the embryotoxic risk of drug treatment during the preimplantation period in the mouse. *Arzneimittelforschung* 1986;36(2):219-23.
- Katz RA. Effect of diazepam on the embryonic development of the palate in the rat. *J Craniofac Genet Dev Biol* 1988;8(2):155-66.
- Tocco DR, Renskers K, Zimmerman EF. Diazepam-induced cleft palate in the mouse and lack of correlation with the H-2 locus. *Teratology* 1987;35(3):439-45.
- Sadler TW. Longmans Medical Embryology. 10th ed, 2009.
- Tucker JC. Benzodiazepines and the developing rat: a critical review. *Neurosci Biobehav Rev* 1985;9(1):101-11.
- Marjorie A, Waddell H. Life Before Birth. 2nd ed. England: Mosby-wolf; 1996.
- Mann C. The Development of the Human Eye. 3rd ed. London, 1974.
- McElhatton PR. The effects of benzodiazepine use during pregnancy and lactation. *Reprod Toxicol* 1994;8(6):461-75.
- Brain PF, Ajarem JS, Petkov VV. The application of ethopharmacological techniques to behavioural teratology: preliminary investigations. *Acta Physiol Pharmacol Bulg* 1986;12(4):3-11.
- Eros E, Czeizel AE, Rockenbauer M, Sorensen HT, Olsen J. A population-based case-control teratologic study of nitrazepam, medazepam, tofisopam, alprazolam and clonazepam treatment during pregnancy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2002;101(2):147-54.
- Jurand A. Teratogenic activity of lithium carbonate: an experimental update. *Teratology* 1988;38(2):101-11.

The teratogenic effects of alprazolam intake on rat fetus

Received: July 13, 2010 Accepted: September 20, 2010

Abstract

Nasrin Takzare MSc.¹
Azam Bakhtiarian PhD.^{2*}
Esmaeel Saeedi MD.³
Vahid Nekoui PhD.²

1- Department of Anatomy, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

2- Department of Pharmacology, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

3- General Physician, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Background: Alprazolam belongs to benzodiazepine family and is increasingly used these days by pregnant women. It should be noticed that alprazolam exposure during pregnancy may have teratogenic effects on the fetus. Till now, limited studies have been conducted on the teratogenic effect of alprazolam. In this study, teratogenicity of alprazolam intake during pregnancy and its effects on fetus development was investigated.

Methods: About 20 virgin rats of known age and weight were selected. After being pregnant, they were divided into four groups which contained five animals in each group: Negative and positive control groups. The case group exposed to 1 to 6 mg/kg/day alprazolam. The fetuses were first studied macroscopically regarding anomalies, and then histologically and histochemically to inspect the defects of tissue organogenesis.

Results: Our results show that there was significant difference especially at the dose 6 mg/kg weight and length of the cases compared to the control group. It appeared that at the dose of 6 mg/kg/day, cleft lip and palates were seen in the animals. The highest anomalies of limbs were also seen at the dose of 6 mg/kg/day. The statistical results indicate that alprazolam intake during the second half of pregnancy can lead to irreversible anomalies.

Conclusion: Our results indicate that alprazolam in doses higher than 4 mg/kg/day might cause teratogenic effect. It seems that benzodiazepine therapy among pregnant woman would be better to avoid during the first trimester and multidrug regimens.

Keywords: Teratogenicity, alprazolam, rat, fetus.

*Corresponding author: Pour Sina Ave.
Tehran University of Medical Sciences.
Tehran, Iran.
Tel: +98-21- 66402569
email: bakhtiar@sina.tums.ac.ir