



بررسی اثرات بافتی داروی سیتالوپرام بر روی کلیه جنین موش صحرایی

زینب محمدی^{۱*}، مهناز آذرنیا^۱، عبدالحسین شیروی^۱

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

۲- دانشگاه خوارزمی، دانشکده علوم پایه، گروه زیست‌شناسی، تهران، ایران

مسئول مکاتبات: zmohammady95@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۱/۳/۱۶ تاریخ پذیرش: ۹۱/۶/۵

چکیده

سیتالوپرام یک داروی ضد افسردگی است که برای درمان افسردگی در دوران بارداری و شیردهی تجویز می‌شود. این دارو در کبد متابولیزه شده و توسط کلیه‌ها از بدن دفع می‌شود. مطالعات نشان داده‌اند که سیتالوپرام و متابولیت‌های آن از جفت عبور کرده و در خون بند ناف قابل ردیابی هستند. در این مطالعه اثرات داروی سیتالوپرام بر روی بافت کلیه جنین‌های موش صحرایی نژاد ویستار که در دوران جنینی در معرض این دارو بوده‌اند در دو دوز ۱۰ و ۲۰ mg/kg/day بررسی گردید. جنین‌ها در روز ۱۸ بارداری خارج شده و کلیه آنها از نظر مورفولوژیکی و هیستولوژیکی با استفاده از رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین - ائوزین مورد ارزیابی قرار گرفت. بررسی‌های آماری نشان داد که هیچ تفاوت معنی‌داری در وزن کلیه جنین‌های کنترل و تیمار در هیچ یک از دو دوز وجود ندارد. بررسی‌های هیستولوژیکی نیز هیچگونه تغییری در بافت کلیه را نشان نداد. ساختار و تعداد گلوبومرول و مجاری جمع‌کننده ادراری در جنین‌ها در اثر مصرف سیتالوپرام توسط موش‌های باردار تغییر نکرده و شبیه گروه کنترل بود. بنابراین بر اساس نتایج تحقیق حاضر تجویز داروی سیتالوپرام در دوران بارداری اثر معنی‌داری بر روی کلیه‌ی جنین‌های مادران دریافت‌کننده دارو ندارد.

کلمات کلیدی: سیتالوپرام، کلیه، بافت‌شناسی، موش صحرایی

مقدمه

جهت درمان افسردگی در دوران بارداری از گروه SSRI's می‌باشد [۳، ۴، ۹، ۱۲]. یکی از جدیدترین داروهای مورد مصرف در این گروه داروی سیتالوپرام است که در سال ۱۹۹۸ توسط سازمان غذا و داروی آمریکا (FDA) مورد تأیید قرار گرفته است [۱۳]. مکانیسم اثر این دارو از طریق مهار برداشت مجدد سروتونین توسط نورون پیش‌سیناپسی می‌باشد که به این وسیله میزان سروتونین را در سیناپس عصبی بالا برده و در نتیجه باعث مهار افسردگی می‌شود [۴]. سیتالوپرام در طبقه‌بندی FDA برای مصرف داروها در دوران بارداری جزو گروه C می‌باشد. طبق این طبقه‌بندی گروه C شامل داروهایی است که در مورد آنها مطالعات حیوانی و انسانی هنوز کامل نبوده و راجع به بی‌ضرر بودن آنها در مصرف در دوران بارداری اطمینانی وجود ندارد. هنگام تجویز این

افسردگی یکی از بیماری‌های روحی - روانی شایع در دوران بارداری بوده [۲۱] که عدم درمان آن می‌تواند منجر به مشکلاتی در زمان زایمان برای مادر و نوزاد شود. این مشکلات شامل پره‌آکلامپسی، نوزادان نارس، رشد ناقص جنین، نقایص جفت و نیز مشکلات جسمی نوزادان پس از تولد می‌باشد [۱، ۵، ۱۱، ۱۶، ۲۰]. در نتیجه درمان افسردگی مادران در دوران بارداری از اهمیت زیادی برخوردار است. اصول درمان افسردگی بر دو دسته دارویی استوار است. یک دسته شامل ضد افسردگی‌های سه‌حلقه‌ای (TCA) بوده و دسته بعدی مهارکننده‌های اختصاصی برداشت مجدد سروتونین (SSRI's) می‌باشد. امروزه گروه SSRI's بیشترین کاربرد را در درمان افسردگی دارا هستند چرا که اثرات جانبی بسیار کم و اثرات درمانی بالایی دارند. به همین دلیل بیشترین توصیه

داروها در این دوران باید مزایا و معایب آنها طبق نظر پزشک نسبت به هم سنجیده شود و یک تصمیم نهایی برای تجویز یا عدم تجویز دارو اتخاذ شود [۴]. سیتالوپرام در کبد متابولیزه شده و از طریق کلیه‌ها دفع می‌شود [۱۹]. به همین دلیل در تمامی مراجع نسبت به مصرف سیتالوپرام در بیماران کبدی و کلیوی هشدار داده شده است [۴، ۱۹، ۱۸]. بنابراین با در نظر گرفتن ارتباط مستقیم دارو یا متابولیت‌های حاصل از آن با بافت کلیه مطالعه آثار احتمالی مصرف این دارو در دوران بارداری بر روی بافت کلیوی جنین از اهمیت بالایی برخوردار است. در این مطالعه اثرات بافتی داروی سیتالوپرام بر روی بافت کلیه جنین موش صحرائی که در دوران جنینی در معرض سیتالوپرام بوده است بررسی گردید.

مواد و روش کار

مواد: پودر سیتالوپرام (هدیه از طرف کارخانه راموفارمین)، آب مقطر مخصوص تزریق (ساخت کارخانه داروسازی ثامن)، محلول آماده همتوکسیلین (ساخت کارخانه پادتن طب)، پودر اتوزین، اسید استیک گلاسیال، کلروفورم، اتانول و گزیلول (همه موارد از کارخانه مرک آلمان تهیه شدند).

شرایط نگهداری و پرورش حیوانات: در این مطالعه از موش‌های صحرائی ماده، بالغ و با کره از نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۵۰-۳۰۰ گرم استفاده گردید. موش‌ها در اتاق حیوانات دانشگاه تربیت معلم تهران با درجه حرارت $30 \pm 21^{\circ}\text{C}$ و رطوبت (۵۰-۴۵٪) نگهداری شدند. نوسانات نوری ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی به کمک تایمر الکتریکی تأمین گردید. حیوانات از قرص‌های خوراکی آماده (pallet) تغذیه شدند و همچنین آب شرب نیز از آب لوله‌کشی شهر تهران تأمین گردید.

تیمار حیوانات با سیتالوپرام: مشاهده پلاک واژینال در دهانه واژن موش ماده در صبح روز بعد از جفت‌گیری نشان دهنده صحت جفت‌گیری و نشانه‌ای بارزش در تأیید جفت‌گیری است. وجود پلاک واژینال در موش‌های ماده به عنوان روز صفر حاملگی در نظر گرفته شده و در این روز حیوان نر از ماده جدا شد. ماده‌ها پس از تأیید صحت بارداری و تعیین روز صفر بارداری با دستگاه توزین وزن شدند و به سه گروه شش تایی، یک گروه کنترل و دو گروه تیمار شامل:

گروه A: گروه تیمار که سیتالوپرام را با دوز 10 mg/kg/day دریافت کردند.

گروه B: گروه تیمار که سیتالوپرام را با دوز 20 mg/kg/day دریافت کردند، تقسیم شدند. میزان و روش تزریق دارو در هر گروه طبق جدول ۱ می‌باشد. بارداری موش‌ها تا روز هجدهم ادامه یافته و در روز هجدهم موش‌ها با کلروفورم بی‌هوش شده و جنین‌ها خارج شدند پس از خارج کردن جنین ما هریک جداگانه توسط ترازوی حساس دیجیتالی وزن شدند. سپس کلیه‌های آنها خارج شده و به طور جداگانه وزن شدند. وزن نسبی کلیه با استفاده از فرمول زیر بدست می‌آید:

$$\text{وزن نسبی کلیه} = \frac{\text{وزن کلیه (g)}}{\text{وزن جنین (g)}}$$

مطالعات بافت‌شناسی: نمونه‌های بافتی برای مطالعات هیستولوژیکی با انجام مراحل ثابت کردن، پاساژ بافت، آگیری، شفاف‌سازی، نفوذ آغشتگی، قالب‌گیری، میکروتومی و رنگ‌آمیزی H&E طبق استاندارد انجام شد. نمونه‌های آماده شده به وسیله میکروسکوپ نوری بررسی شدند.

آنالیزهای آماری: آنالیز آماری استفاده شده در این مطالعه t-test بوده و داده‌ها با نرم‌افزار Prism در سطح معنی‌داری $P < 0.05$ آنالیز شدند.



جدول ۱- گروه‌بندی، دوز، تعداد دوزها و روش تجویز دارو به موش‌های باردار

نام گروه	میزان دوز تزریق سیتالوپرام mg/kg/day	تعداد دوزهای تجویز	روش تجویز
A	۱۰	از روز ۱ تا روز ۱۸ بارداری	زیرجلدی
B	۲۰	از روز ۱ تا روز ۱۸ بارداری	زیرجلدی
کنترل	-	-	-

نتایج

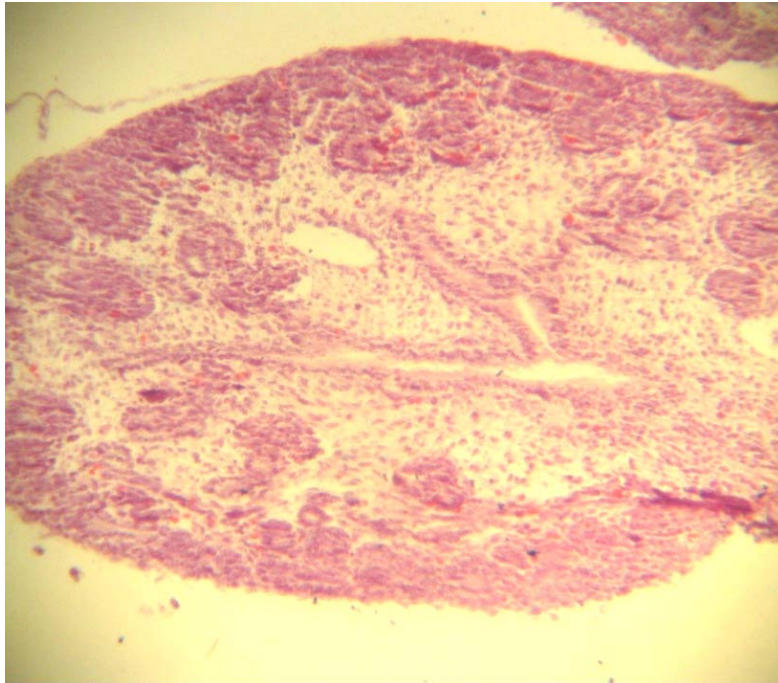
بافت کلیه دیده نمی‌شود. همچنین گلوبول‌ها و مجاری جمع‌کننده ادراری در اثر مصرف سیتالوپرام از نظر ظاهری تغییر نکرده و شبیه گروه کنترل می‌باشد. تعداد گلوبول‌ها نیز در گروه‌های کنترل و گروه‌های تست A و B شمارش شد که تغییرات آنها از نظر آماری معنی‌دار نبود یعنی بین تعداد گلوبول‌ها در گروه‌های تست A و B و گروه کنترل تفاوت آماری وجود نداشته است (شکل ۴).

اثر تیمار با سیتالوپرام بر وزن نسبی کلیه جنین‌ها: طبق مطالعات مورفولوژیکی انجام شده تفاوت معنی‌داری در وزن کلیه بین گروه‌های تست A و B در مقایسه با گروه کنترل وجود نداشت (جدول ۲).

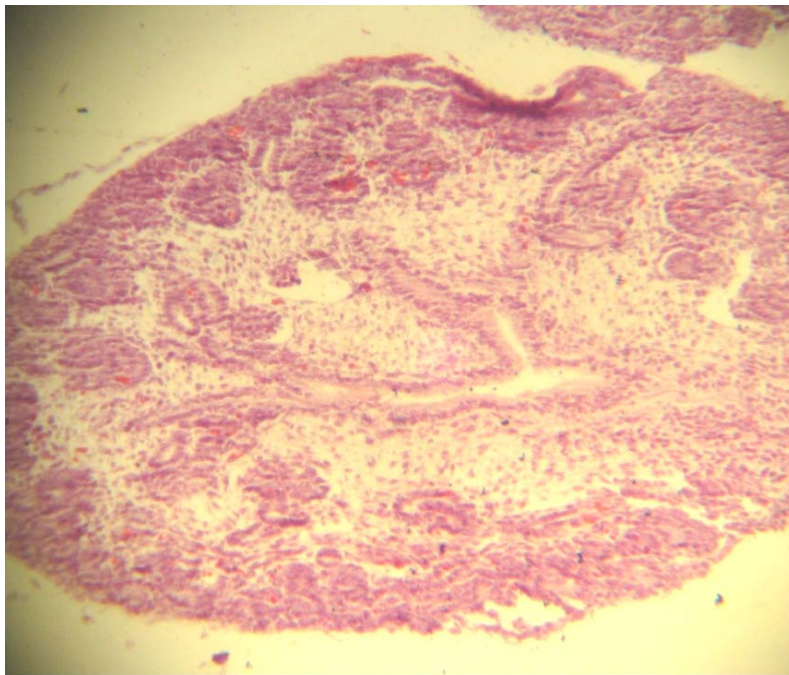
تاثیر سیتالوپرام بر بافت کلیه: لام‌های بافت کلیه جنین-های موش صحرایی پس از رنگ‌آمیزی با روش H&E مورد بررسی بافت‌شناسی قرار گرفتند. همانطور که در شکل‌های ۱، ۲ و ۳ مشاهده می‌شود. در گروه‌هایی که سیتالوپرام دریافت کرده‌اند هیچ‌گونه تغییر و تخریب در

جدول ۲- وزن جنین، وزن کلیه جنین و وزن نسبی کلیه (میانگین \pm انحراف معیار) در گروه‌های تست و کنترل

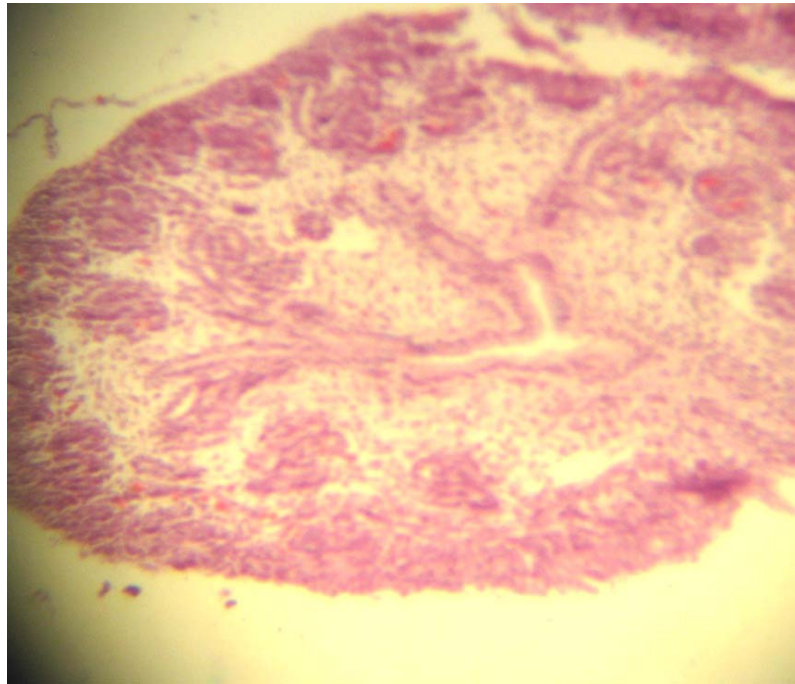
پارامتر مورد مطالعه	گروه کنترل n=۵۲	گروه تست A n= ۵۶	گروه تست B n=۵۰
وزن جنین (g)	۵/۳۱ \pm ۰/۰۱	۵/۵۲ \pm ۰/۰۴	۵/۳۸ \pm ۰/۰۳
وزن کلیه جنین (g)	۰/۰۰۴ \pm ۰/۰۰۱	۰/۰۰۵ \pm ۰/۰۰۱	۰/۰۰۵ \pm ۰/۰۰۱
وزن نسبی کلیه (gg^{-1})	۰/۰۰۰۷ \pm ۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۹ \pm ۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۹ \pm ۰/۰۰۰۱



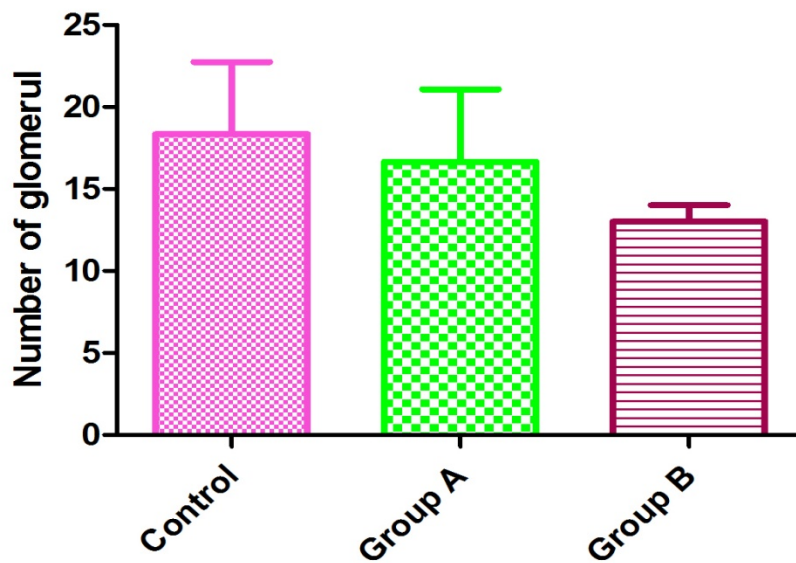
شکل ۱- برش بافتی از کلیه جنین گروه کنترل (×۱۰۰).



شکل ۲- برش بافتی از کلیه جنین تیمار گروه A (×۱۰۰).



شکل ۳- برش بافتی از کلیه جنین تیمار گروه B (x100).



نمودار ۱- مقایسه تعداد گلومرول‌ها در کلیه جنین موش‌های صحرایی. control: گروه کنترل منفی، گروه A: گروه تیمار که سیتالوپرام را با دوز ۱۰ mg/kg/day دریافت کردند، گروه B: گروه تیمار که سیتالوپرام را با دوز ۲۰ mg/kg/day دریافت کردند.

بحث

روحي شايح اين دوران مي‌باشد، بنا بر اين ايمني و عدم زيان رساني اين دارو به جنين هنگامي که سیتالوپرام جهت درمان افسردگی مادران باردار استفاده می‌شود از اهميت زيادی برخوردار است.

سیتالوپرام یک مهارکننده اختصاصی بازجذب سروتونین است که برای درمان افسردگی بطور وسیعی مورد استفاده قرار می‌گیرد [۱۴]. از آنجا که حدود ۵۰٪ بارداری‌ها بدون برنامه ریزی قبلی بوده و افسردگی یک بیماری

مورفولوژیکی عمده‌ای در جنین‌ها نمی‌شود [۲] مطابقت دارد.

سیتالوپرام پس از متابولیزه شدن توسط کبد، به وسیله کلیه‌ها از بدن دفع می‌شود [۶] کلیرانس سیستمیک سیتالوپرام سرعتی معادل 330 ml/min دارد. حدود $12-10\%$ از دارو به طور دست نخورده از ادرار دفع شده و بقیه آن پس از تبدیل به متابولیت‌ها از بدن خارج می‌شود [۶]. از آنجا که در دوره جنینی کلیه‌ها مرتب در حال تکامل می‌باشند پیدا کردن مقیاسی جهت قضاوت در مورد اثرگذاری سیتالوپرام بر کلیه‌ها بسیار مشکل است، اما آنچه که بر اساس داده‌های تحقیق حاضر مشخص می‌گردد این است که در بافت کلیه جنین‌های مادران دریافت‌کننده دارو هیچ گونه تخریب و دژنراسیونی وجود نداشته، همچنین ساختار و شکل گلومرول‌های کلیوی و مجاری جمع‌کننده که در بررسی بافت کلیه مهم است [۱۷] تحت تاثیر داروی سیتالوپرام قرار نگرفته‌اند (شکل‌های ۱، ۲ و ۳). یکی از فاکتورهای مهم در بررسی بافتی کلیه‌ها تعداد گلومرول‌ها می‌باشد. بافت کلیوی گروه‌های تست و کنترل به دقت از نظر تعداد گلومرول شمارش و بررسی شدند و اعداد بدست آمده پس از بررسی‌های دقیق آماری با نرم-افزار prism مورد قضاوت قرار گرفت. همانطور که در نمودار ۱ مشاهده می‌شود با استفاده از آزمون آماری «t» و در نظر گرفتن $p < 0/05$ هیچ گونه تفاوت معناداری بین تعداد گلومرول‌های گروه‌های دریافت‌کننده سیتالوپرام و گروه کنترل مشاهده نشد که این نشان دهنده عدم تأثیر سیتالوپرام بر فعالیت بافت کلیه جنین می‌باشد.

نتیجه‌گیری

نتایج تحقیق حاضر نشان می‌دهد داروی سیتالوپرام که به عنوان یک داروی ضد افسردگی در دوران بارداری تجویز می‌شود، اثر تراژونی عمده و واضحی بر ساختار کلی و بافت کلیه ندارد. اگر چه مطالعات گسترده‌تر در سایر زمینه‌های مطالعاتی ضروری به نظر می‌رسد.

از آنجا که عبور سیتالوپرام و متابولیت‌های آن از جفت توسط مطالعات متفاوتی به اثبات رسیده [۸]، سیتالوپرام و دمیتل سیتالوپرام (متابولیت اصلی) در خون طناب جفتی ردیابی شده‌اند [۷]. مطالعات انسانی بر روی مادران باردار که در دوران بارداری خود سیتالوپرام دریافت کرده بودند معلوم ساخته است که استفاده از سیتالوپرام در سه ماهه اول بارداری که مرحله اصلی رشد و نمو جنینی می‌باشد هیچ گونه خطر تراژونی عمده‌ای نشان نمی‌دهد [۱۴] ولی به هر حال مطالعه اثر این دارو بر روی اندام‌های مختلف جنین همچنان ضروری به نظر می‌رسد. براساس مطالعات انجام شده توسط این گروه تحقیقاتی تا به حال هیچ مطالعه دقیقی در مورد اثرات احتمال مصرف سیتالوپرام در دوران بارداری بر روی بافت و یا عملکرد کلیوی جنین‌ها انجام نشده و گزارش در این مورد وجود ندارد. بنابراین این مطالعه احتمالاً اولین مطالعه هیستولوژیکی در این مورد می‌باشد.

در این مطالعه انتخاب دوز سیتالوپرام جهت تزریق به موش بالغ بر اساس غلظت خونی مؤثر ایجاد شده دارو طبق مطالعات قبلی صورت گرفته است [۱۵]. در حقیقت وقتی به موش صحرائی بالغ معادل $20-10 \text{ mg/kg/day}$ سیتالوپرام از طریق زیرجلدی تجویز می‌شود غلظت خونی معادل غلظت خونی بدست آمده از تجویز خوراکی دوز $0/6 \text{ mg/kg/day}$ - $0/3$ در انسان تولید می‌کند که حدود $116-45 \text{ ng/ml}$ می‌باشد. غلظت دارو در مغز موش با این دوز حدود $918-280 \text{ ng/g}$ است که غلظت مغزی مؤثر سیتالوپرام جهت درمان افسردگی می‌باشد [۱۵]. در این مطالعه پس از تجویز دوزهای 20 mg/kg/day و 10 همانطور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود هیچ اختلاف معنی داری بین وزن کلیه جنین‌ها در گروه کنترل و گروه‌هایی که دارو دریافت کرده بودند وجود نداشت. این یافته‌ها با نتایج مطالعات تراژولوژی حیوانی که نشان می‌دهد دریافت سیتالوپرام توسط موش-های صحرائی باردار باعث هیچ تغییر و سمیت



11- Jablensky, A.V., V. Morgan, S.R. Zubrick, C. Bower, L.A. Yellachich (2005), Pregnancy, delivery, and neonatal complications in a population cohort of women with schizophrenia and major affective disorders. *American Journal of Psychiatry*, 162(1): 79-91.

12- Cohen, L.S. (2004), Diagnosis and treatment of depression during pregnancy. *CNS Spectrum*, 9: 209-216.

13- Iqbal, M.M. (1999), Effects of Antidepressants during pregnancy and lactation. *Annals of Clinical Psychiatry*, 11(4): 237-256

14- Maciag, D., D. Coppinger, I.A. Paul, (2006), Evidence that the deficit in sexual behavior in adult rats neonatally exposed to citalopram is a consequence of 5-HT1 receptor stimulation during development. *Brain Research*, 1125: 171-175.

15- Maciag, D., K.L. Simpson, D. Coppinger, Y. Lu, Y. Wang, R.C.S. Lin, I.A. Paul (2006), Neonatal Antidepressant Exposure has Lasting Effects on Behavior and Serotonin Circuitry. *Neuropsychopharmacology*, 31: 47-57.

16- Orr, S.T., C.A. Miller (1995), Maternal depressive symptoms and the risk of poor pregnancy outcome. *Epidemiological Review*, 15: 165-171.

17- Ortiz, L.A., A. Quan, A. Weinberg, M. Baum (2001), Effect of prenatal dexamethasone on rat renal development, *Kidney International*, 59: 1663-1669.

18- Physicians' Desk Reference (2011), ISBN-13 9781563637803.

19- Sean, C., E.D. Sweetman (2009), Martindale: The Complete Drug Reference (36th edition). London: Pharmaceutical Press. ISBN 0-85369-840-6.

20- Wisner, K.L., D.K. Sit, B.H. Hanusa, E.L. Moses-Kolko, D.L. Bogen, D.F. Hunker, J.M. Perel, S. Jones-Ivy, L.M. Bodnar, L.T. Singer (2009), Major depression and antidepressant treatment: impact on pregnancy and neonatal outcomes. *American Journal of Psychiatry*, 166: 557-566.

منابع

1- Bonari, L., N. Pinto, E. Ahn, A. Einarson, M. Steiner, G. Koren (2004), Perinatal risks of untreated depression during pregnancy. *Canadian Journal of Psychiatry*, 49(11): 726-735.

2- Celexa product monograph. Montreal: Lundbeck Canada Inc, 1999.

3- Cohen, L.S., R. Nonacs, A.C. Viguera, A. Reminick (2000), Risk-benefit decision making for treatment of depression during pregnancy. *American Journal of Psychiatry*, 157: 1933-1940.

4- Drug facts and comparisons, (2007), Wolters Kluwer Health.

5- Gentile, S., M. Galbally (2011), Prenatal exposure to antidepressant medications and neurodevelopmental outcomes: A systematic review. *Journal of Affecting Disorders*, 128(1-2):1-9.

6- Gutierrez M., W. Abramowitz (2000), Steady-State Pharmacokinetics of Citalopram in Young and Elderly Subjects. *Pharmacotherapy*, 20(12): 1441-7.

7- Hendrick V., Stowe Z., Altshuler L., Hwang S., Lee E., Haynes D. (2003), Placental passage of antidepressant medications. *American Journal of Psychiatry*, 160: 993-6.

8- Heikkinen T., U. Ekblad, K. Laine, (2002), Transplacental transfer of citalopram, fluoxetine and their primary metabolites in isolated perfuse human placenta. *BJOG.*, 109: 1003-8.

9- Hervé T., C. Feyeux, S. Girod; S. Thouvenot, M. Morisse, S. Douvier, P. Sagot, (2008), Acute voluntary intoxication with selective serotonin reuptake inhibitors during the third trimester of pregnancy: therapeutic management of mother and fetus. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, November, 9-12.

10- Kurki T., V. Hiilesma, R. Raitasalo, H. Mattila, O. Ylikorkala (2000), Depression and anxiety in early pregnancy and risk of pre-eclampsia. *Obstetric of Gynecology*, 95: 487-490.



the American Psychiatric Association and the American College of Obstetricians and Gynaecologists. *Obstetric of Gynecology*, 114(3): 703-713.

21- Yonkers, K.A., K.L. Wisner, D.E. Stewart, T.F. Oberlander, D.L. Dell, N. Stotland, S. Ramin, N. Chaudron, C. Lockwood (2009), The management of depression during pregnancy: a report from