

بررسی اثرات هیپوتیروئیدیسم مادری و تیروکسین درمانی بر میزان یادگیری زاده‌ها در رت

*دکتر مرفضی بهنام رسولی، **جواد رضانژاد جولایی، ***دکتر موسی الرضا حاج زاده
*دانشکده علوم دانشگاه فردوسی مشهد، **دانشگاه پیام نور واحد فریمان، ***دانشگاه علوم پزشکی مشهد

خلاصه

کاهش فعالیت تیروئید مادر در دوران حاملگی (هیپوتیروئیدیسم مادری) علاوه بر بروز اختلال در روند حاملگی موجب اعمال اثرات نامطلوب بر رشد عمومی جنین و بویژه سیستم عصبی آن می‌شود. در این پژوهش اثرات هیپوتیروئیدیسم مادری و درمان جایگزین با تیروکسین، در طی دوره حاملگی و بعد از آن، بر قابلیت‌های یادگیری زاده‌ها، مورد بررسی قرار گرفته است. ۱۲ موش صحرایی آزمایشگاهی (رت) باکره از نژاد Wistar، با وزن ۱۲۰ تا ۱۵۰ گرم، قبل از آمیزش به مدت سه هفته تحت تأثیر داروی ضد تیروئیدی PTU (۵ g/lit / آب آشامیدنی) قرار گرفته و هیپوتیروئید گردیدند (سطح هورمون تیروکسین در خون رت‌های هیپوتیروئید و کنترل به روش RIA اندازه‌گیری شد). پس از آمیزش، رت‌های هیپوتیروئید به سه گروه آزمایشی ۱، ۲ و ۳ (به ترتیب تجویز PTU در طی دوره حاملگی، تجویز PTU+T4 در طی دوره حاملگی و تجویز PTU+T4 در طی دوره حاملگی و دوره شیر دادن به نوزادان) تقسیم گردیدند. برای سنجش و مقایسه میزان یادگیری زاده‌ها، از زاده‌های متعلق به هر مادر در سن دو ماهگی، دو نمونه بطور اتفاقی انتخاب و روزی یکبار، تا شش روز، بر اساس دو پارامتر تعداد خطا و زمان رسیدن به هدف، مورد آزمون ماز قرار گرفتند.

نتایج حاصل حاکی از افزایش میزان مرده‌زایی، سقط جنین و کاهش وزن نوزادان در هر سه گروه آزمایشی بویژه در گروه ۱ می‌باشد. بررسی و مقایسه آماری نتایج آزمون ماز (مقایسه بین گروهی) نشان می‌دهد که میزان یادگیری در زاده‌های متعلق به گروه آزمایشی ۳ (دریافت PTU+T4 در دوران حاملگی و شیرخوارگی) در بین گروه آزمایشی ۲ و گروه کنترل قرار می‌گیرد. از نتایج حاصله چنین بر می‌آید که تجویز تیروکسین به مادران هیپوتیروئید در دوران حاملگی و شیر دادن به نوزادان دارای اثرات مثبتی بر روند یادگیری زاده‌ها است. در مجموع می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که مهار فعالیت تیروئید، بویژه زمانی که تا بعد از تولد ادامه یابد، می‌تواند اثرات سویی بر تکامل ساختاری و بالطبع تکامل عملکردی مغز بر جای گذارد.

کلمات کلیدی: تیروئید، تیروکسین، هیپوتیروئید، یادگیری، رت

مقدمه

آمار ارائه شده از طرف سازمان جهانی بهداشت نشان می‌دهد که قریب ۸۰۰ میلیون نفر در جهان در معرض خطر کمبود ید قرار دارند. کمبود ید موجب بروز اثرات سه‌گانه حسی، حرکتی و شناختی می‌گردد (۷، ۱۰). در دوران حاملگی کمبود ید موجب کاهش فعالیت تیروئید مادر (هیپوتیروئیدیسم (۷، ۱۰) و در نتیجه اعمال اثرات نامطلوب بر رشد جنین می‌شود. سقط جنین، کاهش میزان باروری، مرده‌زایی و عوارض مادرزادی مانند گواتر و کرتینیسم از جمله اثرات کمبود ید می‌باشند. در شرایط تجربی، نتایج حاصل از بررسی اثرات کمبود هورمون‌های تیروئیدی بر مغز حاکی از آن است که، در رت، تیروئیدکتومی نوزادی موجب کاهش وزن مغز، کاهش بسترهای مویرگی و محدودیت آکسونها می‌شود (۵). در

این رابطه کاهش انشعابات دندریتی، کاهش تعداد پایانه‌های نورنی، خارهای دندریتی و سلولهای مغزی نیز گزارش شده است (۴). علاوه بر این با استفاده از متدهای بیوشیمیایی نشان داده شده است که مغز رت‌های هیپوتیروئید دارای میلین کمتری است و در توالی تکوین، میلیناسیون فیبرهای عصبی دچار تأخیر می‌شود که این خود احتمالاً بدلیل کاهش آنزیمهای سنتزکننده میلین و یا عدم فعالیت مناسب آنزیمها در سلولهای الیگودندروگلیال است (۸). یافته‌های فوق اثرات چشمگیر هورمون‌های تیروئیدی بر رشد و تکامل ساختاری و عملکردی مغز را نشان می‌دهند. البته در محرومیت‌های غذایی نیز کاهش سنتز میلین مشاهده می‌شود، لیکن میزان این کاهش در هیپوتیروئیدیسم بیشتر است. در تیروئیدکتومی نوزادی در رشد و تکامل قشر مخچه اختلالاتی همچون تأخیر و بی‌نظمی در روند

جدول ۲: برنامه تیمار، نتیجه زاد و ولد و میانگین وزن نوزادان در گروه‌های مختلف آزمایشی و کنترل.

گروه	رژیم دارویی در دوره حاملگی	تعداد رت حامله		تعداد نوزادان	میانگین وزن نوزادان زنده (گرم)
		زنده	مرده		
کنترل	-	۳	۲۸	-	۵/۱
آزمایشی ۱	PTU	۶	۷	۳	۳۳/۱
آزمایشی ۲	PTU+T4	۶	۳۸	-	۳۴/۳۸

مقایسه بین گروه‌های آزمایشی با گروه کنترل با استفاده از آزمون توکی صورت گرفته است. $p < 0.05$ ، $p < 0.01$ **

جدول ۳: میانگین غلظت T₄ سرم خون رتها (میکروگرم بر دسی‌لیتر) در قبل از آمیزش.

رت‌های آزمایشی	۱/۱۴ ± ۰/۰۴۳ **
رت‌های کنترل	۴/۲ ± ۰/۱۵۹

نتایج بصورت میانگین (± خطای معیار) بیان شده‌اند. مقایسه بین گروه آزمایشی با گروه کنترل با استفاده از آزمون توکی صورت گرفته است. $p < 0.01$ **

جدول ۴: میانگین نتایج آزمون ماز زاده‌های رت‌های گروه‌های آزمایشی و کنترل

گروه	نوبت آزمون					
	۱	۲	۳	۴	۵	۶
کنترل n=6	زمان	۵۷/۵ ± ۶/۲	۱۴/۷ ± ۲/۵	۱۴/۵ ± ۱/۷	۱۳/۵ ± ۱/۶	۱۲/۶ ± ۰/۹
	خطا	۲/۳ ± ۰/۶	۰/۳۳ ± ۰/۲	۰/۳۳ ± ۰/۲	۰/۱۶ ± ۰/۲	۰/۱۶ ± ۰/۲
آزمایشی ۱	از این گروه هیچگونه نوزاد زنده‌ای باقی نماند.					
آزمایشی ۲ n=6	زمان	۱۳۹ ± ۴۰	۱۷/۲ ± ۲/۱	۱۳/۱ ± ۲/۴	۱۰ ± ۱/۷	۸/۸ ± ۰/۷
	خطا	۹/۲ ± ۱/۷	۱/۵ ± ۰/۷	۰/۸۳ ± ۰/۴	۰/۳۳ ± ۰/۲	۰/۱۶ ± ۰/۲
آزمایشی ۳ n=6	زمان	۹۲ ± ۴۶	۱۵/۵ ± ۲/۳	۱۵/۱ ± ۲/۵	۸/۳ ± ۰/۶	۸/۵ ± ۰/۴
	خطا	۷/۶ ± ۲/۴	۱/۳ ± ۰/۲	۱/۵ ± ۰/۶	۰/۳۳ ± ۰/۲	۰/۵ ± ۰/۲

نتایج به صورت میانگین (± خطای معیار) بیان شده‌اند. مقایسه بین گروه‌های آزمایشی با گروه کنترل با استفاده از آزمون توکی صورت گرفته است. $p < 0.05$ ، $p < 0.01$ **، منظور از زمان (برحسب ثانیه)، زمان رسیدن به هدف و منظور از خطا، تعداد خطا تا هنگام رسیدن به هدف است.

تجزیه و تحلیل آماری

نتایج حاصل از میزان زاد و ولد، مرگ و میر و وزن نوزادان و همچنین نتایج حاصل از آزمون ماز توسط نرم‌افزار آماری SPSS و تست ANOVA مورد تجزیه و تحلیل و مقایسه قرار گرفتند. برای مقایسه گروه‌های آزمایشی با گروه کنترل از آزمون توکی استفاده شد.

نتایج

نتایج حاصل از زایمان شامل تعداد نوزادان، میانگین وزن نوزادان و تعداد نوزادان مرده و یا زنده در جدول ۲ ارائه گردیده است. این نتایج نشان می‌دهند که رت‌های گروه آزمایشی ۱ (در زمان حاملگی فقط PTU دریافت کرده بودند) یا نوزادی به دنیا نیاوردند و یا بیشتر جنین‌های مرده بدنیا آوردند و نوزادانی هم که زنده متولد شده بودند در طی ۲ روز پس از تولد همگی از بین رفتند. تعداد نوزادان و میانگین وزن آنها در گروه آزمایشی ۳، بیشتر از گروه آزمایشی ۲ و کمتر از گروه کنترل می‌باشد (جدول ۲).

نتایج حاصل از سنجش ایمنونولوژیکی (RIA) هورمون تیروکسین در رت‌های کنترل و هیپوتیروئید (نمونه سرم خون قبل از آمیزش رتها تهیه گردیده بود) نشان می‌دهد که میانگین غلظت هورمون در رت‌هایی که تحت تأثیر PTU بوده‌اند بطور چشمگیری کمتر از گروه کنترل است (جدول ۳). میانگین نتایج آزمون ماز زاده‌های متعلق به گروه کنترل و گروه‌های آزمایشی ۲ و ۳ در جدول ۴ ارائه گردیده است.

بحث و نتیجه گیری

در حال حاضر این موضوع کاملاً به اثبات رسیده است که هورمونهای تیروئیدی دارای اثرات گسترده‌ای بر توسعه و رشد ساختاری و عملکردی طبیعی مغز، بویژه در دوره بحرانی رشد، می‌باشند. بعنوان نمونه، عدم دسترسی به مقادیر مورد نیاز هورمونهای تیروئیدی، در دوره بحرانی رشد، موجب کاهش روند نسخه برداری DNA، تأخیر در پیدایش سلولهای گرانولار خارجی و بلوغ سلولهای گلیال و هیپوپلازی دندریتهای سلولهای پورکنز و در نتیجه اختلال در توسعه فیبرهای موازی و تشکیل سیناپس بین فیبرهای موازی و دندریتهای پورکنز مخچه، اختلال در توسعه زوائد نورونی، کاهش روند میلیناسیون و کاهش تعداد تکمه‌های سیناپسی در سلولهای هرمی نواحی بینایی و شنوایی می‌گردد (۹، ۶، ۳). از طرف دیگر افزایش هورمونهای تیروئیدی موجب تسریع در رشد و توسعه پرتابیهای فیبرهای خزه‌ای، که روی دندریتهای سلولهای هرمی هیپوکامپ سیناپس می‌دهند، می‌شود. در جانوران بالغ میزان یادگیری با میزان توسعه پرتابیهای فیبرهای خزه‌ای همبستگی نشان می‌دهد و از این رو بین مشخصه‌های ساختاری و یادگیری ارتباط مستقیمی وجود دارد (۹). هیپوتیروئیدسم مادری ناشی از کمبود یُد (۷) و یا مواد ضد تیروئیدی از قبیل PTU علاوه بر ایجاد مشکلات تولید مثلی برای مادر، رشد جنین را نیز تحت تأثیر قرار می‌دهد بطوریکه میزان مرگ و میر در بین نوزادان رتهای هیپوتیروئید بالا است (۱۱).

در انسان به منظور بررسی تواناییهای مغزی از تستهای روان‌سنجی مانند دانستن لغت، درک مجهول، ضرب اعداد، درک فضایی از دوران و غیره و دررت، برای بررسی میزان یادگیری معمولاً از ماز استفاده می‌شود (۳). در این قبیل آزمایشها سعی می‌شود که با ثابت نگهداشتن فاکتورهای درونی و بیرونی، یادگیری را بصورت کیفیتی مستقل، که تنها بستگی به تکوین مغز و برقراری صحیح ارتباطات نورونی دارد، مورد ارزیابی قرار دهند.

در پژوهش حاضر سعی شده است که با رعایت موارد فوق، قابلیت‌های یادگیری و یا حفظ آموخته‌های قبلی در زاده‌های متعلق به گروه آزمایشی ۲ (دریافت PTU+T4 در طی دوره حاملگی) و گروه آزمایشی ۳ (دریافت PTU+T4 در طی دوره حاملگی و دوره شیردادن به

نوزادان) و گروه کنترل مورد ارزیابی و مقایسه قرار گیرد (از گروه آزمایشی ۱ هیچگونه نوزاد زنده‌ای باقی نماند تا مورد آزمون ماز قرار گیرند). نتایج حاصل نشان می‌دهند که سرعت یادگیری (زمان رسیدن به هدف) و نیز حفظ آموخته‌های قبلی (تعداد خطاها) زاده‌های متعلق به گروه آزمایشی ۳ بهتر از زاده‌های گروه ۲ است و به گروه کنترل نزدیک می‌باشد. در تفسیر تفاوت در قابلیت‌های یادگیری در زاده‌های گروه‌های ۲ و ۳ می‌توان چنین گفت که کم‌کاری تیروئیدی، ناشی از مصرف PTU در طی حاملگی، بلافاصله پس از قطع مصرف PTU به حال طبیعی بر نمی‌گردد زیرا PTU با ورود به بدن جنین و نوزاد (بترتیب از طریق جفت و از طریق شیر) مانع فعالیت طبیعی تیروئید و تولید هورمونهای تیروئیدی می‌شود و علی‌رغم درمان جایگزین، در بسیاری از بافتها کاهش ۵۰ درصدی در میزان T4 و T3 بوجود می‌آید (۱۲). بنابراین برگشت فعالیت طبیعی تیروئید مادر و نوزادان مستلزم گذشت زمان است. با توجه به این موضوع که بخش عمده‌ای از دوره بحرانی رشد و تکامل CNS رت به دوره پس از تولد مربوط می‌شود، عدم دسترسی به مقادیر مورد نیاز هورمون موجب اختلال و یا حداقل تأخیر در پدیده‌های تمایزی و تکاملی CNS می‌گردد. این موضوع قبلاً نشان داده شده است که اگرچه بین تعداد نورنهای مغزی بین نوزادان هیپوتیروئید و کنترل تفاوت چشمگیری وجود ندارد ولی در حجم مغز نوزادان هیپوتیروئید بطور چشمگیری کوچکتر از نوزادان گروه کنترل است (۴). بخش عمده‌ای از افزایش حجم مغز در دوره پس از تولد به گسترش درختهای دندریتهای، فیبرهای عصبی، تشکیل خارهای دندریتهای سیناپسهای جدید و نیز روند میلیناسیون فیبرهای عصبی مربوط می‌شود (پدیده‌هایی که وقوع آنها وابسته به حضور هورمونهای تیروئیدی است). در مقابل، در گروه آزمایشی ۳، اگرچه تجویز PTU کماکان در دوره پس از تولد ادامه دارد ولی جانوران تیروکسین تراپی می‌شوند. بنابراین می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که تفاوت در قابلیت‌های یادگیری بین زاده‌های گروه‌های آزمایشی ۲ و ۳ منطقی و قابل قبول و به احتمال زیاد ناشی از تأثیر هورمون تیروکسین در طی دوره بحرانی رشد و تکامل CNS می‌باشد. در همین رابطه نتایج حاصل از آنالیز واریانس (ANOVA) و تجزیه و تحلیل آماری بین‌گروهی تعداد

- Pinchera A., 1997, Neuropsychological development in a child with early-treated congenital hypothyroidism as compared with her unaffected identical twin, *Eur. J. Endo.*, 136:100-104.
2. Barganga S., Dinetti D., Pinchera A., Marcheschi M., Montanelli L., Presciuttini S., Chiovato L., 1999, School attainments in children with congenital hypothyroidism detected by neonatal screening and treated early in life, *Eur. J. Endo.*, 140:407-413.
3. Barnett S. A., 1975, *The rat: A study in Behavior*, The University of Chicago press.
4. Behnam-Rassoli M., Herbert L. C., Howard V., Pharoah P. O. D., Stanisstreet M., 1991, Effect of propylthiouracil treatment during prenatal and early postnatal development on the neocortex of rat pups, *Neuroendo.* 53:321-324.
5. Braverman L. E., Utiger R. D. 1991, *The thyroid*, I.B. Lippincott Company Philadelphia.
6. Chan S. and Kilby M. D., 2000, Thyroid hormone and central nervous system development, *J. Endo.*, 165:1-8.
7. Connolly K. J., Pharoah P. O. D., Iodine deficiency, Maternal thyroxin levels in pregnancy and developmental disorders in the children in: *Iodine and Brain*. Delong G. R., Robbins G., Ceondlisse P. G., Plenum press. New York & London. 1989, pp 333-354.
8. Hadjzadeh M., Shinha A. K., Pichord M. R., Ekins R. P., 1990, Effect of maternal hypothyroxinaemia in the rat on brain biochemistry in adult progeny, *J. Endo.*, 124:387-396.
9. Hadley Mac E. 1988, *Endocrinology*, 2nd Ed., Englewood Cliff. N. J. Perentice Hall.
10. Hetzel B. S., Mano M. T., 1989, A review of experimental studies of iodine deficiency during fetal development, *J. Nutr.* 119:145-151.
11. Kumar R., Choudhuri B. N., 1989, Altered maternal thyroid function; fetal and neonatal development of rat, *Indian J. Physiol. Pharmacol.*, 33:233-238.
12. Ruize de Ona C., Morreale de Escobar G., Calvo K., Escobar del Rey F., 1991, Thyroid hormones and 5'-deiodinase in the rat fetus late in gestaion: effects of maternal hypothyroidism. *Endo.*, 128:422-432.

خطاها نشان می‌دهد که، در مقایسه با گروه کنترل، در نوبت اول آزمون ماز تعداد خطاها در گروه آزمایشی ۲ ($p < 0/05$) و گروه آزمایشی ۳ ($p < 0/05$) بیشتر است. همچنین در نوبت دوم آزمون ماز بین تعداد خطاهای گروه کنترل و گروه آزمایشی ۲ تفاوت معنی‌دار است ($p < 0/01$)، در حالی که بین گروه کنترل و گروه آزمایشی ۳، تفاوت معنی‌دار نیست. این نتایج حاکی از آنست که میزان یادگیری زاده‌های گروه ۳ کمتر از گروه کنترل و بیشتر از گروه آزمایشی ۲ می‌باشد و احتمالاً به ادامه درمان جایگزین در دوره شیردادن مربوط می‌شود. تفکیک گروه‌های آزمایشی ۲ و ۳ در آزمون ماز هماهنگی مثبتی با نتایج والتر و همکارانش (۱۹۷۹) دارد به این معنی که در صورتی که هیپوتیروئیدیسم در مراحل ابتدایی شناسایی و درمان گردد بهره هوشی (IQ) برگشت پذیر می‌باشد. در یک مطالعه نادر بر روی دو دختر دوقلوی یکسان که یکی سالم و طبیعی و دیگری بدلیل عدم تکامل جنینی غده تیروئید مبتلا به هیپوتیروئیدیسم مادرزادی شده بود و از روز ۲۷ پس از تولد تحت درمان با L-تیروکسین و از سن ۳ ماهگی تا ۸ سالگی مورد ارزیابیهای عصبی-روانی قرار گرفته بود، نشان داده شده است که بین دوقلوی فاقد تیروئید طبیعی با دوقلوی سالم و سایر کودکان از نظر تواناییهای عصبی-حرکتی و نمرات تستهای هوشی تفاوت قابل توجهی وجود ندارد (۱). همچنین نتایج حاصل از درمان جایگزین با تیروکسین، از ماه اول پس از تولد، در گروهی از کودکان مبتلا به هیپوتیروئیدیسم مادرزادی نشان داده است که اکثریت این کودکان در ارزیابی آموزشهای کودکانستانی و یا دبستانی در محدوده طبیعی قرار می‌گیرند (۲).

در مجموع می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که مهار و یا عدم فعالیت تیروئید، در صورتی که تا بعد از تولد یعنی زمانی که حداکثر رشد مغز انجام می‌گیرد، ادامه داشته باشد می‌تواند اثرات برگشت ناپذیری بر تکامل ساختاری و عملکردی مغز بر جای گذارد. بنابراین در انسان اهمیت تشخیص به موقع و آغاز هرچه سریعتر درمان جایگزین نوزادان مبتلا به هیپوتیروئیدیسم مادرزادی کاملاً محرز است.

منابع

1. Barganga S., Chiovato L., Dinetti D., Montanelli L., Giachetti C., Romolini E., Marcheschi M.,