# مطالعه اثرات تراتوژنیک و سمیت سلولی کمپلکس "سالِن وانادیوم اکساید" بر جنین جوجه و کشت سلول‌های کبدی و فیبروبلاستی

آرش عبدالملکی[۱]
صابر زهری[*۱]
ابوالفضل بضاعت پور[۲]

۱- گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.
۲- گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.

[*] نویسنده مسئول: اردبیل، خیابان دانشگاه، دانشگاه محقق اردبیلی، دانشکده علوم پایه، گروه زیست‌شناسی
تلفن: ۰۴۵۱-۵۵۱۴۷۰۱
E-mail: sazahri@gmail.com

## چکیده

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۱/۰۶/۰۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۰۹/۲۸

***زمینه و هدف:*** کمپلکس‌های فلزی سالن به‌طور موفقیت‌آمیز و در محدوده وسیعی از واکنش‌های غیرمتقارن و مهم از لحاظ صنعتی و داروسازی به‌کار برده می‌شوند. در این مطالعه سمیت و اثرات تراتوژنیک ترکیب سالن وانادیوم اکساید (VOsalen) نسبت به جنین جوجه به‌عنوان مدل حیوانی و سلول‌های کبدی و فیبروبلاستی مشتق از آن مورد بررسی قرار گرفت.

***روش بررسی:*** ترکیب VOsalen سنتز گردید. ترکیب حاصل در غلظت‌های مختلف، در سه تکرار و در روز سوم انکوباسیون جنین مرغ، درون کیسه هوا تزریق شد. تخم‌مرغ‌های تیمار شده و شاهد، در روز ۱۹ انکوباسیون باز و جنین‌ها توزین شدند سپس میزان مرگ و میر آن‌ها ثبت شد. سلول‌های کبدی و فیبروبلاستی از جنین شاهد جداسازی، کشت و تیمار شده و تغییرات مورفولوژیک و درصد بقای سلول‌ها ثبت شدند.

***یافته‌ها:*** میزان درصد بقای جنین‌ها بستگی به غلظت تیمار دارد به‌طوری که در بالاترین غلظت ۳۰۰ میکرومولار تنها ۳۶/۳۲٪ از جنین‌ها زنده ماند و میزان ($LD_{50}$) دوز کشنده در ۵۰٪ جمعیت برابر با ۲۲۶/۳۷ میکرومولار به‌ازای تخم‌مرغ برآورد شد. از نظر شکل ظاهری، ناهنجاری از نوع تاخیر در رشد و از نظر اسکلتی، حذف مهره‌های دمی مشاهده گردید. نتایج بررسی سایتوتوکسیسیتی VOsalen بر سلول‌های کبدی و فیبروبلاستی جنین نشان‌گر تراکم سیتوپلاسمی و گسسته شدن اتصالات سلولی بود و میزان $IC_{50}$ آن به‌ترتیب برابر با ۱۰۴۷/۲۵ و ۱۰۳۶/۸۲ میکرومولار است.

***نتیجه‌گیری:*** در غلظت‌های پایین ترکیب سالن وانادیوم اکساید اثرات سمی قابل توجهی بر روی جنین و کشت سلول مشاهده نشد. با این وجود به‌طور قابل توجهی سلول‌های در حال تکثیر را تحت تاثیر قرار داد و از طرف دیگر تاثیر ضد تکثیری این ترکیب بر سلول‌های کبدی کم‌تر از سلول‌های فیبروبلاستی بود.

***کلمات کلیدی:*** VOsalen، سمیت سلولی، ناهنجاری‌زایی، سمیت جنینی.

## مقدمه

وانادیوم (Vanadium) یک عنصر با چندین ترکیب شیمیایی است، که از جهت علمی و بیولوژیکی مورد توجه می‌باشد زیرا مشخص شده که مشتقات آن دارای خصوصیت‌های فیزیولوژیکی است. وانادیوم در غلظت‌های بسیار پایین دارای خصوصیت‌های ضدسرطانی بدون سمیت جانبی می‌باشد.[۱] ترکیبات وانادیوم دارای دو نقش مهاری و ضدتوموری در مقابل عوامل شیمیایی مولد سرطان در جانوران و در انواع رده‌های سلولی می‌باشند. در گزارش‌ها آمده است که ترکیبات وانادیوم ممکن است القاکننده توقف سیکل سلولی، قطعه‌قطعه کردن DNA و شکافتن آن و لیپوپروکسیداسیون غشا پلاسمایی شوند.[۲و۳] متالوسالن‌ها به‌دلیل خصوصیات ساختاری که دارند، طیف وسیعی از فعالیت‌های شیمیایی را نشان می‌دهند و به‌طور گسترده‌ای برای کاتالیز واکنش‌های آلی به‌کار می‌روند. هم‌چنین



[ Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-05-19 ]

متالوسالن‌ها جزو گروه نوکلئازهای شیمیایی هستند که به‌خوبی مطالعه شده‌اند و به اسیدهای نوکلئیک متصل می‌شوند و آن‌ها را تخریب می‌کنند. کمپلکس‌های فلزی و لیگاندهای سالن به‌عنوان پروب‌های مفید برای تحقیقات بیولوژیکی و هم‌چنین عوامل بالقوه درمانی شناخته شده‌اند.[۴و۵]

جنین جوجه یکی از مدل‌های آزمایشگاهی جانوری مناسب است که توسط محققین رشته‌های مختلف از جمله جنین‌شناسی، فارماکولوژی، فیزیولوژی و بیوشیمی به‌دفعات مورد استفاده قرار می‌گیرد، دلیل این امر راحتی تهیه آن به هر تعداد و کوتاهی طول دوران جنینی آن است. هم‌چنین مراحل نرمال تکوین اسکلت جنین جوجه نه‌تنها در مطالعات جنین‌شناسی تجربی و تراتولوژیک به‌عنوان کنترل استفاده دارد، بلکه جهت مقایسه در بدشکلی‌های اسکلتی حاصل از موتانت‌ها نیز می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد.[۶]

جنین پرنده از نظر پیچیدگی و مورفولوژیکی و مراحل عمومی تکوین، شباهت زیادی به جنین پستانداران دارد، لذا به‌عنوان مکمل برای مطالعه تکوین پستانداران به‌کار می‌رود. هم‌چنین جنین جوجه را می‌توان به‌راحتی کشت داد. این عمل راه را برای بسیاری از تحقیقات که نیاز به میکروجراحی دارند و هم‌چنین بررسی تأثیر مواد شیمیایی و دارویی بر روی جنین همواره کرده است.[۷] Molinuevo تاثیر کمپلکس‌های وانادیوم (IV) را بر روی مهار اشکال آماس، چسبندگی، مهاجرت و هم‌چنین کلونی استئوسارکوما UMR106 بررسی کرد. نتایج این بررسی نشان داد که این کمپلکس‌های وانادیوم قادر می‌باشند که بعضی از پارامترهای وابسته به متاستاز سرطان مانند چسبندگی، مهاجرت و سخت شدن کلون را مهار نمایند.[۸]

کمپلکس‌های سالن- منگنز و سالن- آهن باعث فعال شدن مسیر آپوپتوز در رده‌های سلول‌های سرطانی شده و منجر به فعال شدن کاسپازهای مربوطه به‌ویژه کاسپاز سه، ورود سیتوکروم C از میتوکندری به سیتوپلاسم و قطعه‌قطعه شدن DNA می‌گردند.[۴] Kulkarni گزارش داد که کمپلکس‌های VO(IV)، La(III) و Th(IV) سنتز شده به‌وسیله شیف بازهای مشتق شده از ۸-فرمیل ۷-هیدروکسی ۴-متیل کومارین و اتیلن دی‌آمین دارای اثرات ضد قارچی و ضد باکتریایی هستند هم‌چنین فعالیت قطعه‌قطعه کردن DNA با کمپلکس‌های فلزی سالن را به‌وسیله‌ی روش الکتروفورز ژل آگاروز مورد بررسی قرار دادند.[۳] در تحقیقی، کمپلکس محلول در آب Fe(III)-salen را سنتز کردند و تاثیرات بیوشیمیایی کمپلکس روی DNA در شرایط In vitro و هم‌چنین بر روی سلول‌های کشت شده‌ی انسانی مورد بررسی قرار دادند.

درمان با Fe(III)-salen حتی با غلظت‌های پایین در حد ۱۰ میکرومول بر روی سلول‌های انسانی HEK29 نشان‌دهنده تغییرات مورفولوژیکی و قطعه‌قطعه شدن DNA و فشردگی هسته و در نهایت آپوپتوزیس و مرگ سلولی بود.[۹] در مورد اثر سمیت سالن وانادیوم اکساید (VOsalen) بر سلول‌ها و جنین، اطلاعات بسیار محدودی در دسترس می‌باشد، بنابراین مطالعه حاضر به بررسی اثرات تراتوژنیک و سمیت سلولی این ترکیب بر روی جنین جوجه به‌عنوان جانور مدل و سلول‌های کبدی و فیبروبلاستی مشتق از آن می‌پردازد.

## روش بررسی

پژوهش حاضر در آزمایشگاه تحقیقاتی گروه زیست‌شناسی دانشگاه محقق اردبیلی در طی سال ۱۳۹۰ انجام شد.

سنتز VOsalen: به نسبت استوکیومتری از $VO(acac)_2$ در ۳۰-۲۰ میلی‌لیتر Methanol داغ، دمای ۷۰-۶۰ °C حل شد. سپس به نسبت استوکیومتری از Salen ligand به مخلوط واکنش اضافه شد و حدود یک میلی‌لیتر (تری‌اتیل آمین یا پیریدین) به ظرف واکنش اضافه شد و مخلوط واکنش حدود دو ساعت در دمای ۷۰-۶۰ °C هم زده شد. با تبخیر حلال در خلا و تغلیظ و پس از سرد کردن، محصول سبز رنگ جامدی حاصل شد. بازده عمل محصول واکنش پس از خالص‌سازی از طریق متبلورسازی مجدد یا رسوب‌گیری مجدد در حلال مناسب بر پایه مقدار نمک وانادیل مصرفی ۸۵٪ به‌دست آمد.[۱۰]

تیمار جنین جوجه: تخم‌مرغ‌های بارور نژاد راس از شرکت (Arta chicken, Iran) خریداری شدند. تخم‌مرغ‌ها در شرایط دمایی مناسب ۱۲-۱۰ °C نگه‌داری شدند. جهت بررسی فعالیت بیولوژیکی ترکیب VOsalen در Dimethyl Sulphoxide (DMSO) حل شده و سپس در روز سوم گرماگذاری، ۱۰۰ میکرولیتر از محلول‌های VOsalen در غلظت‌های ۷/۵، ۱۵، ۷۵، ۱۲۰، ۱۵۰، ۲۴۰ و ۳۰۰ میکرومولار به‌ازای هر تخم‌مرغ و با استفاده از سرنگ هامیلتون به داخل کیسه هوا تزریق شد. تزریق در شرایط استریل و از قسمت پهن تخم‌مرغ به درون کیسه هوا صورت گرفت و بلافاصله محل تزریق



[ Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-05-19 ]

توسط پارافین مذاب بسته شد و تخم‌مرغ‌ها در دمای ۳۸-۳۷/۷ °C و در رطوبت ۶۵٪ گرماگذاری شدند. به‌عنوان شاهد از تعداد تکرار یکسان تخم‌مرغ از تزریق ۱۰۰ میکرولیتر DMSO استفاده گردید، تعدادی تکرارهای اضافی جهت کنترل آلودگی باکتریایی و قارچی گرماگذاری گردید که به‌طور تصادفی انتخاب شده و آلودگی آن مورد بررسی قرار می‌گرفت. جهت کنترل رشد جنینی در طول انکوباسیون، به‌طور متوسط چهار بار کندلینگ انجام گرفت. برای هر غلظت به‌طور متوسط سه گروه شش‌تایی انتخاب شده است.[11]

بررسی سمیت و تراتوژنیک: تخم‌مرغ‌های تیمار شده و شاهد، در روز ۱۹ انکوباسیون باز و جنین‌ها توزین شدند. میزان مرگ و میر آن‌ها ثبت شده با فرمول زیر محاسبه شد.[12]

$$\frac{\text{درصد مرگ و میر شاهد} - \text{درصد مرگ و میر تیمار}}{\text{درصد مرگ و میر شاهد} - ۱۰۰} = \text{درصد مرگ و میر}$$

سپس جنین‌ها از نظر هر گونه ناهنجاری ظاهری قابل تشخیص بررسی و ثبت گردید. برای بررسی ناهنجاری اسکلتی، پوست جنین جدا و محتویات شکمی تخلیه گردید و به‌مدت سه روز در محلول دو درصد Potassium hydroxide (KOH) قرار گرفتند. جنین‌ها در محلول یک درصد هیدروکسید پتاسیم حاوی Alizarin (۰/۱ درصد) به‌مدت سه روز رنگ‌آمیزی شدند. شفاف‌سازی نهایی با قراردادن جنین در Glycerol (۱۰۰٪) انجام شد.[13]

جداسازی و کشت سلولی: جداسازی سلول‌های فیبروبلاستی: جنین‌های سالم در روز ۱۰ گرماگذاری خارج شده و در شرایط استریل، سر و محتویات شکمی از آن جدا گردید و مابقی آن درون Phosphate Buffer Saline (PBS) حاوی Antibiotic قرار گرفت و تکه‌تکه شد سپس ظرف حاوی محلول آنزیمی تریپسین و تکه‌های بافت جنینی بر روی هم‌زن الکترومغناطیسی به‌مدت پنج دقیقه قرار گرفت در ادامه به ظرف محیط کشت حاوی سرم گاوی (FBS) اضافه شد، سوسپانسیون به‌دست‌آمده سانتریفیوژ شده و به محیط کشت تازه Roswell Park Memorial Institute Medium (RPMI) همراه با Antibiotic منتقل و در پلیت‌های ۲۴ خانه کشت گردید.[14]

جداسازی سلول‌های کبدی: کبد جنین ۱۲روزه جوجه در شرایط استریل استخراج شده و در محلول PBS حاوی آنتی‌بیوتیک قرار گرفت و تکه‌تکه شد سپس ظرف حاوی محلول آنزیمی تریپسین و تکه‌های بافت کبدی بر روی هم‌زن الکترومغناطیسی به‌مدت پنج دقیقه قرار گرفت و سپس به ظرف حاوی محیط کشت دارای سرم گاوی اضافه شد. سوسپانسیون به‌دست‌آمده سانتریفیوژ شده و به محیط کشت تازه (RPMI) همراه با Antibiotic منتقل و در پلیت‌های ۲۴ خانه کشت گردید.[15]

بررسی سمیت سلولی: برای بررسی اثرات سایتوتوکسیسیتی این ترکیب، سلول‌های کشت یافته پس از ۲۴ ساعت و در فاز رشد لگاریتمی با غلظت‌های ۷۵، ۱۵۰، ۳۰۰، ۶۰۰ و ۱۲۰۰ میکرومولار و برای ۱۶ ساعت تیمار گردید و کسر زنده‌ماندنی سلول به‌وسیله آزمون سنجش احیای فورامازون 3-(4,5-dimethyl thiazol-2yl)- 2,5- (MTT) diphenyl tetrazolium bromide بررسی شدند، در سلول‌هایی که از لحاظ متابولیکی فعال هستند، ترکیب MTT در حضور سوکسینات دهیدروژناز میتوکندریای احیاشده به شکل کریستال نامحلول فورامازون در می‌آید که شدت تولید کریستال نشان حیات سلول می‌باشد. بدین‌منظور، محیط کشت سلول‌های تیمارشده خارج گردیده و محیط کشت تازه حاوی ۱۰ درصد محلول MTT (محلول پنج میلی‌گرم در میلی‌لیتر در بافر فسفات ۰/۱ مولار با pH:7.4) به چاهک‌ها اضافه شده و به‌مدت سه ساعت در ۳۷ °C و در شرایط تاریکی گرماگذاری گردید. محیط سطحی خارج شده و کریستال‌های ایجاد شده در دی‌متیل‌سولفوکسید (DMSO) حل و جذب آن‌ها در طول موج ۵۷۰ نانومتر ثبت گردید. مقدار IC50 به‌عنوان غلظتی از سم در نظر گرفته شد که باعث ۵۰٪ کاهش در جذب نوری می‌گردد و میزان درصد زنده‌ماندنی سلول از رابطه " شاهد OD/ تیمار OD" محاسبه گردید.[15]

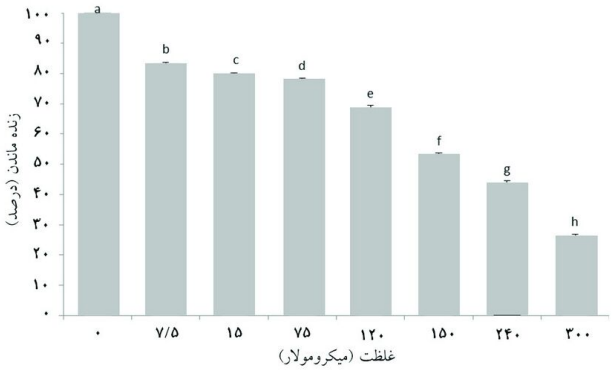
طرح آزمایش از نوع طرح به‌طور کامل تصادفی می‌باشد. برای تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS ویراست ۱۶ و برای تحلیل واریانس از آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA)، جهت مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن (Duncan) و برای محاسبه LD50 از ارزیابی پروبیت (Probit) استفاده شد. سطح معنی‌داری (P<۰/۰۵) به‌عنوان مرز استنتاج آماری قرار داده شد.

## یافته‌ها

سه گروه آزمایشی (n=۶) و یک گروه شم (Sham) به‌ازای هر غلظت تزریقی VOsalen به تخم‌مرغ‌ها از نظر کسر بقای جنین مورد



[ Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-05-19 ]

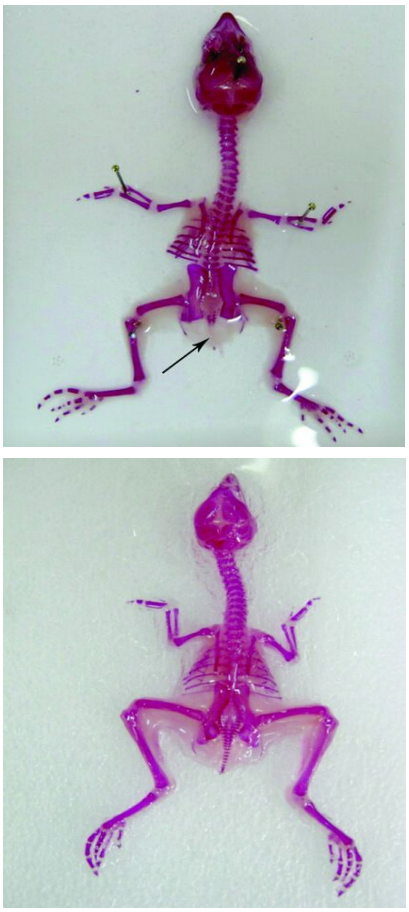



**نمودار ۱: تاثیر غلظت‌های مختلف از سالن وانادیوم اکساید بر جنین جوجه**
P<۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شده و برای هر گروه ۱۸ تخم‌مرغ بررسی شده است (حروف مشترک، نشان‌دهنده معنی‌دار نبودن است)

مطالعه قرار گرفت، این یافته‌ها نشان داد که در تیمار تخم‌مرغ‌ها با غلظت‌های ۷/۵، ۱۵، ۷۵، ۱۲۰، ۱۵۰، ۲۴۰ و ۳۰۰ میکرومولار به‌ازای هر تخم‌مرغ به‌ترتیب ۸۳/۳۴٪، ۸۱/۲۵٪، ۸۰٪، ۶۸/۷۵٪، ۵۲/۹۵٪، ۴۳/۷۵٪ و ۲۶/۳۲٪ در روز ۱۹ زنده مانده‌اند. بررسی رابطه خطی بین غلظت تیمار و درصد جنین‌های زنده مانده نشان‌گر $LD_{50}$ برابر ۲۲۶/۳۷ میکرومولار بود. بررسی آماری داده‌ها نشان داد که اختلاف بین گروه شاهد و هر یک از غلظت‌های مورد بررسی در سطح ۵٪ معنی‌دار می‌باشد. هم‌چنین مقایسه اختلاف بین غلظت‌های تیمار نیز در سطح ۵٪ معنی‌دار بود. به عبارتی دیگر، افزایش مرگ و میر نسبت به افزایش غلظت VOsalen در سطح ۵٪ معنی‌دار می‌باشد (نمودار ۱).

بررسی مورفولوژی ظاهری جنین‌ها نشان‌گر ناهنجاری‌های محدودی در نمونه‌های تیمار بود. به‌طوری که تا غلظت ۷۵ میکرومولار به‌ازای هر تخم‌مرغ هیچ‌گونه ناهنجاری مشاهده نشد. با افزایش غلظت تیمار ناهنجاری از نوع تاخیر در رشد در نمونه‌ها مشاهده گردید (جدول ۱). هم‌چنین هیچ‌گونه تغییرات وزنی معنی‌داری در جنین‌های تیمار شده با VOsalen در مقایسه با گروه شم مشاهده نشد.

بررسی ساختار اسکلتی جنین‌های تحت تیمار نشان داد که تا غلظت ۱۲۰ میکرومولار به‌ازای هر تخم‌مرغ هیچ‌گونه ناهنجاری مشاهده نشد و با افزایش غلظت ناهنجاری از نوع حذف مهره‌های دمی با درصد کمی مشاهده گردید (جدول ۱) و (شکل ۱). مطالعه‌ی




**شکل ۱: تصاویر به‌دست‌آمده از ناهنجاری‌های اسکلتی غلظت‌های مختلف سالن وانادیوم اکساید می‌باشند.** در شکل الف حذف مهره‌های دمی مشاهده می‌شود (فلش)، شکل ب یک نمونه از جنین‌های کنترل می‌باشد.

تاثیر غلظت‌های ۷۵، ۱۵۰، ۳۰۰، ۶۰۰ و ۱۲۰۰ میکرومولار VOsalen بر روی سلول‌های کبدی جنین جوجه پس از ۱۶ ساعت به‌ترتیب نشان‌گر کسر زنده‌ماندنی ۸۸/۲۲٪، ۸۵/۸۵٪، ۷۴/۷۷٪، ۶۶/۳۳٪ و ۴۸/۸۷٪ بود. این ترکیب با $IC_{50}$ برابر ۱۰۴۷/۲۵ میکرومولار رشد سلولی را مهار می‌کند. تاثیر غلظت‌ها بر روی سلول‌های فیبروبلاستی جنین جوجه پس از ۱۶ ساعت نشان‌گر کسر زنده‌ماندنی ۸۸/۰۱٪، ۸۴/۷۱٪، ۷۴/۳۹٪، ۶۰/۵۵٪ و ۴۸/۷۷٪ به‌ترتیب افزایش غلظت بود و این ترکیب با $IC_{50}$ برابر۱۰۳۶/۸۲ رشد سلول‌های فیبروبلاست را مهار می‌کند. نتایج حاصل از مطالعات مورفولوژیک سلول‌های تیمار شده نشان داد که با افزایش غلظت VOsalen در سلول‌های کبدی اتصالات



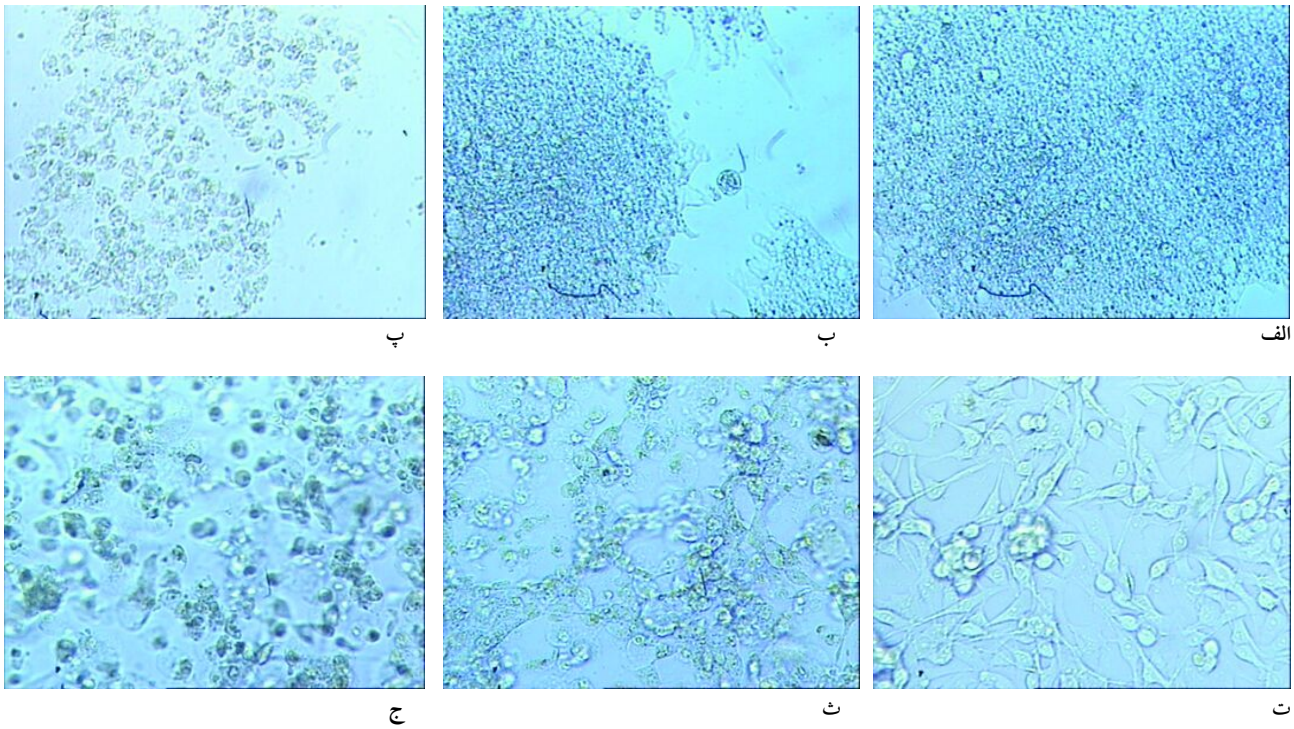
[ Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-05-19 ]

بین سلولی گسسته شده، سلول‌ها گرد گردیده و حاشیه‌ی آن‌ها نامنظم شدند. در سلول‌های تیمار شده گرانول‌های سیتوپلاسمی افزایش یافته و در غلظت ۱۲۰۰ میکرومولار سلول‌ها به‌طور کامل متراکم شده توده‌ی متراکم سلولی به‌تدریج گسسته می‌گردد. در سلول‌های فیبروبلاستی نیز اتصالات بین سلولی گسسته شده و حاشیه‌ی سلول‌ها نامنظم شدند. هم‌چنین تراکم سیتوپلاسمی درون سلول افزایش یافته و سلول‌ها واکوئله می‌گردند و در غلظت ۱۲۰۰ میکرومولار اتصال بین سلولی کاملا گسسته می‌شود (شکل ۲).

**جدول ۱: ناهنجاری‌های مربوط به غلظت‌های مختلف سالن وانادیوم اکساید بر جنین جوجه**

| غلظت میکرومولار/ تخم‌مرغ | درصد ناهنجاری مورفولوژیکی | نوع ناهنجاری | درصد ناهنجاری اسکلتی | نوع ناهنجاری |
|---|---|---|---|---|
| ۰ | ND | – | ND | – |
| ۷/۵ | ND | – | ND | – |
| ۱۵ | ND | – | ND | – |
| ۷۵ | ۱۳/۳۳ | تاخیر در رشد | ND | – |
| ۱۲۰ | ۶/۲۵ | تاخیر در رشد | ND | – |
| ۱۵۰ | ۵/۸۸ | تاخیر در رشد | ۵/۸۸ | حذف مهره‌های دمی |
| ۲۴۰ | ۱۳/۳۳ | تاخیر در رشد | ۶/۲۵ | حذف مهره‌های دمی |
| ۳۰۰ | ۱۵/۷۸ | تاخیر در رشد | ۱۰/۵۲ | حذف مهره‌های دمی |

ND: Not detected (تشخیص داده نشد)




**شکل ۲: بررسی تصاویر مورفولوژیکی تاثیر غلظت‌های مختلف سالن وانادیوم اکساید بر سلول‌های کبدی جنین (الف، ب، پ) و سلول‌های فیبروبلاستی (ت، ث، ج)**

هر ردیف به‌ترتیب نشان‌گر کشت شاهد و تیمار با ۶۰۰ و ۱۲۰۰ میکرومولار با بزرگ‌نمایی ×۴۰۰ می‌باشد.



[ Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-05-19 ]

## بحث

مطالعه حاضر نشان داد که تزریق VOsalen در روز سوم انکوباسیون به تخم‌مرغ‌های نطفه‌دار سبب کاهش در بیرون آمدن جوجه‌ها و تاخیر در بیرون آمدن آن‌ها و هم‌چنین با افزایش غلظت سبب افزایش مرگ و میر جنین‌ها می‌گردد. مطالعات نشان داده‌اند که مرگ و میر جنین‌ها پس از تزریق درون تخم می‌تواند به‌علت تخریب و از بین رفتن هوموستازی جنینی به‌علت تزریق مواد باشد و هم‌چنین حساسیت جنین‌ها به مرحله‌ی رشد و نمو آن‌ها وابسته است.[۱۶] بسیاری از محققین اثر تراتوژنیک آنتی‌بیوتیک‌ها و فاکتورهای رشد را وقتی که در طول هفته اول جنینی درون تخم تزریق می‌شوند اثبات کرده‌اند.[۱۷و۱۸]

در این تحقیق تاثیر سایتوتوکسیسیتی VOsalen روی سلول‌های کبدی و فیبروبلاستی جنین مورد بررسی قرار گرفت و مشاهده شد که این ترکیب اثرات سمیت سلولی قابل توجهی بر روی سلول‌های کبدی و فیبروبلاستی نداشت هم‌چنین مقایسه مقاومت بین سلول‌های کبدی و فیبروبلاستی در مقابل ترکیب VOsalen نشان‌دهنده مقاومت بیش‌تر سلول‌های کبدی در مقابل این ترکیب نسبت به سلول‌های فیبروبلاستی می‌باشد که این امر می‌تواند ناشی از توانایی متابولیزه شدن ترکیب توسط سلول‌های کبدی که دارای فعالیت سم‌زدایی بالایی هستند باشد. Kordowiak به مقایسه تاثیر $VOSO_4$، $Na_3VO_4$ و $NaVO_3$ در تکثیر و توانایی زیستی و هم‌چنین مورفولوژی رده‌ی سلولی هپاتومای موش پرداختند. با استفاده از آزمون MTT و Neutral red بقای سلول‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که هر سه نمک وانادیوم قادر به مهار رشد در محدوده غلظت ۰/۵ تا ۲۰ میکرومولار بر روی این رده‌ی سلولی می‌باشند، این نتایج نشان داد که در غلظت کم از این نمک‌ها مورفولوژی سلول‌ها به‌صورت طبیعی مشاهده می‌گردد در حالی‌که در غلظت‌های بالا از نمک‌های وانادیوم ارگانیسم‌های سلولی آسیب دیده و بیش‌ترین سمیت ترکیبات مشاهده می‌گردد،[۱۹] که تاییدکننده نتایج به‌دست‌آمده از پژوهش حاضر می‌باشد. بررسی‌ها نشان داده‌اند که ناهنجاری‌زاها سبب ایجاد مکانیسم‌هایی می‌شوند که در اعمال متعدد و مختلف سلول‌های طبیعی جنین دخالت می‌کنند و به تاثیر این مکانیسم‌ها واکنش‌های به‌هم پیوسته‌ای به‌وجود می‌آیند که می‌توانند منجر به تاخیر رشد جنین، ناقص‌الخلقه شدن آن و حتی مرگ جنین گردند.[۲۰] تمام غلظت‌های عامل ناهنجاری‌زا نمی‌تواند منشا تولید ناهنجاری جنینی باشد، زمانی که غلظت عامل ناهنجاری‌زا بیش‌تر از غلظت آستانه شود علایم سمیت ظاهر می‌شود.[۲۱و۲۲] آستانه‌ی تاثیر VOsalen در این مطالعه ۷۵ میکرومولار بود.

تاثیر ترکیب VOsalen بر جنین جوجه منجر به ایجاد ناهنجاری اسکلتی از نوع حذف مهره‌های دمی شد که می‌تواند ناشی از تاثیر مستقیم ترکیب بر سلول‌های جنینی باشد. بررسی اثر Methotrexate در رت‌ها نشان داد که بیش‌تر ناهنجاری‌های ایجاد شده محدود به مهره‌های دمی می‌باشد.[۶] بررسی یافته‌های قبلی نشان می‌دهد که استخوان‌های اندام‌های انتهایی تحت تاثیر مواد تراتوژن بیش‌تر دچار نقص می‌شوند.[۲۳] این ترکیب در غلظت‌های پایین دارای اثرات سمیت کمی بر روی جنین و کشت سلول بود و اثر سایتوتوکسیسیتی قابل توجهی نسبت به سلول‌های طبیعی ندارد. بیش‌ترین تاثیر ترکیب بر روی سلول‌های در حال تکثیر بوده و به سلول‌هایی که رشد آن‌ها متوقف شده تاثیر قابل توجهی نشان نمی‌دهند، هم‌چنین این ترکیب در غلظت‌های پایین‌تر از آستانه هیچ‌گونه اثر تراتوژنیک ندارد از این رو می‌تواند به‌عنوان یک ترکیب با پتانسیل دارویی ضد سرطانی مورد بررسی بیش‌تر قرار گیرد.

*سپاسگزاری*: این مقاله حاصل بخشی از پایان‌نامه تحت عنوان "مقایسه تاثیر سمیت و تراتوژنیک سالن و کمپلکس سالن وانادیوم اکساید بر جنین جوجه" در مقطع کارشناسی ارشد در سال ۱۳۹۰ و کد ۷۸۴ می‌باشد که با حمایت دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل اجرا شده است.

## References

1. Kanna PS, Mahendrakumar CB, Indira BN, Srivastawa S, Kalaiselvi K, Elayaraja T, et al. Chemopreventive effects of vanadium toward 1,2-dimethylhydrazine-induced genotoxicity and preneoplastic lesions in rat colon. *Environ Mol Mutagen* 2004;44(2):113-8.



[ Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-05-19 ]

2. Faneca H, Figueiredo VA, Tomaz I, Gonçalves G, Avecilla F, Pedroso de Lima MC, et al. Vanadium compounds as therapeutic agents: some chemical and biochemical studies. *J Inorg Biochem* 2009;103(4):601-8.
3. Ansari KI, Grant JD, Kasiri S, Woldemariam G, Shrestha B, Mandal SS. Manganese(III)-salens induce tumor selective apoptosis in human cells. *J Inorg Biochem* 2009;103(5):818-26
4. Beshir AB, Guchhait SK, Gascón JA, Fenteany G. Synthesis and structure-activity relationships of metal-ligand complexes that potently inhibit cell migration. *Bioorg Med Chem Lett* 2008;18(2):498-504.
5. Peterovová E, Sedmera D, Mísek I, Lesník F, Luptáková L. Bendiocarbamate toxicity in the chick embryo. *Folia Biol (Praha)* 2009; 55(2):61-5.
6. Männer J, Seidl W, Heinicke F, Hesse H. Teratogenic effects of suramin on the chick embryo. *Anat Embryol (Berl)* 2003;206(3): 229-37.
7. Molinuevo MS, Cortizo AM, Etcheverry SB. Vanadium(IV) complexes inhibit adhesion, migration and colony formation of UMR106 osteosarcoma cells. *Cancer Chemother Pharmacol* 2008;61(5):767-73.
8. Kulkarni A, Patil SA, Badami PS. Synthesis, characterization, DNA cleavage and in vitro antimicrobial studies of La(III), Th(IV) and VO(IV) complexes with Schiff bases of coumarin derivatives. *Eur J Med Chem* 2009;44(7):2904-12.
9. Woldemariam GA, Mandal SS. Iron(III)-salen damages DNA and induces apoptosis in human cell via mitochondrial pathway. *J Inorg Biochem* 2008;102(4):740-7.
10. Boghaei DM, Bezaatpour A, Behzad M. Synthesis, characterization and catalytic activity of novel monomeric and polymeric vanadyl Schiff base complexes. *J Molecular Catalysis* 2006;245:12-16.
11. Alhifi MA, Khan MZ, Algoshai HA, Ghole VS. Teratogenic effect of dimethoate on chick embryos. *Int Med J* 2004:3(2);1-9.
12. Talebi-Jahromi K. Pesticide Toxicology. Tehran: Academic press, 2008.
13. Green AC. A rapid method for clearing and staining specimens for the demonsteration of bone. *Ohio J Sci* 1952;529(1):31-4.
14. Malihi G, Elson E, Mascarenhas F. Effect of adenosine agonists on the proliferation and differentiation of chick embryo fibroblasts in three dimensional reconstituted tissue constructs. *Iranian J Pharmacol Therapeutics (IJPT)* 2006;5(2):151-7.
15. Bissell DM, Tilles JG. Morphology and function of cells of human embryonic liver in monolayer culture. *J Cell Biol* 1971;50(1):222-31.
16. Bruggeman V, Swennen Q, De Ketelaere B, Onagbesan O, Tona K, Decuypere E. Embryonic exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in chickens: effects of dose and embryonic stage on hatchability and growth. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol* 2003;136(1):17-28.
17. Roelens SA, Beck V, Maervoet J, Aerts G, Reyns GE, Schepens P, et al. The dioxin-like PCB 77 but not the ortho-substituted PCB 153 interferes with chicken embryo thyroid hormone homeostasis and delays hatching. *Gen Comp Endocrinol* 2005;143(1):1-9.
18. Van der Geyten S, Van den Eynde I, Segers IB, Kühn ER, Darras VM. Differential expression of iodothyronine deiodinases in chicken tissues during the last week of embryonic development. *Gen Comp Endocrinol* 2002;128(1):65-73.
19. Kordowiak AM, Klein A, Goc A, Dabroś W. Comparison of the effect of VOSO4, Na3VO4 and NaVO3 on proliferation, viability and morphology of H35-19 rat hepatoma cell line. *Pol J Pathol* 2007;58(1):51-7.
20. Muhammed A, von Borstel RC. Basic and Applied Mutagenesis. New York, NY: Plenum Press 1984: p. 285-98.
21. Magras IN, Kotsaki-Kovatsi VP, Kovatsis A, Adamidou L. Teratogenic effects of a mixture of scopolamine and hyoscyamine in chick embryos. *Vet Hum Toxicol* 1993;35(5):434-5.
22. Kumar KB, Devi KS. Teratogenic effects of methyl parathion in developing chick embryos. *Vet Hum Toxicol* 1992;34(5):408-10.
23. Singh JD, Singh S. Skeletal malformations induced by mitomycin C in chick embryos. *Acta Orthop Scand* 1976;47(5):509-14.

[ Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-05-19 ]

TUMJ Tehran University Medical Journal, April 2013; Vol. 71, No. 1: 7-14 Original Article

# Teratogenic and cytotoxic effects of VOsalen complex on chicken embryos, hepatic and fibroblastic- cell cultures

Arash Abdolmaleki M.Sc.[1]
Saber Zahri Ph.D.[2*]
Abolfazl Bezaatpour Ph.D.[3]

*1- Department of Biology, Faculty of Science, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.*
*2- Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.*

[*] Corresponding author: Dept. of Biology, Faculty of Sciences, University of Mohaghegh Ardebili, University St., Ardabil, Iran.
Tel: +98-451-5514701
E-mail: sazahri@gmail.com

## Abstract

Received: August 27, 2012 Accepted: December 18, 2012

***Background:*** Salen metal complexes are used successfully in a wide range of asymmetric reactions and important in the pharmaceutical and industry. On the toxicity of salen vanadium oxide (VOsalen) on embryo and cell cultures, little information is available. In the present study, the toxic and teratogenic effects of VOsalen was evaluated against chicken embryos as a animal model and liver and fibroblast cell cultures which was derived from the embryo.

***Methods:*** The VOsalen compound was synthesized. The compound solution was injected in triplicate examination, in the air sac of the eggs, at third day of incubation. Treated and control eggs, on day 19 of incubation opened and embryos were weighted, then mortality rate was recorded. The liver and fibroblast cell culture were treated by this and survival fraction was recorded.

***Results:*** The survived fraction of the embryos depends on the compound concentration. In concentration of 300µM/egg, 36/32% of the embryos survived and the Lethal dose 50% ($LD_{50}$) was 226/37 µM/egg. Morphological study of the treated embryos showed retarded growth, and skeletal staining showed the deletion of caudal vertebrate. The compound was inhibited liver and fibroblast cells growth with $IC_{50}$ 1047/25 and 1036/82µM respectively. The cytoplasm of treated cells became dense and their interconnections were loosed.

***Conclusion:*** The VOsalen compound had low toxic effects against the embryos and the cultured cells at the concentrations. Significant cytotoxic effect was not observed in the treated cells. However the proliferative cells were affected significantly in comparison with the cells which their growth was stopped. The effect of VOsalen compound against replication of liver cells were lower than fibroblast cells.

***Keywords:*** Embryonic, teratogens, toxicity.



[ Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-05-19 ]