Хорио-аллантойн бүрхүүлийн судасжилтанд изотретинойны үзүүлэх нөлөөг судалсан дүн

Г.Тамир[1,2], М.Сувд[3], Л.Ганболд[2], Э.Баттөмөр[4], Л.Саямаа[5], Б.Болорчимэг[1], О.Эрдэнэзаяа[3,6]

[1]АШУҮИС, АУС, Эх барих эмэгтэйчүүд судлалын тэнхим
[2]Баянөндөр Мед нэгдсэн эмнэлэг
[3]АШУҮИС, Био-АС, Анатомийн тэнхим
[4]Улаанбаатар Элит сургууль
[5]АШУҮИС, Био-АС, Эмгэг судлал шүүх эмнэлгийн тэнхим
[6]АШУҮИС, Био-Анагаахын хүрээлэн
Цахим хаяг: amd26e040@gt.mnums.edu.mn, Утас: 95354684

Түлхүүр үг:
Тахианы үр хөврөл
In ovo загвар
Хөврөлийн биеийн гаднах судас
Судасжилт

Товч утга:

Үндэслэл: Изотретинойн нь ургийн хөгжлийн гажиг үүсгэдэг тератоген бодис болох нь эмнэлзүйн болон туршилтын судалгаагаар батлагдсан хэдий ч ихэс болон түүнтэй төстэй биеийн гаднах судасжилтын хөгжилд үзүүлэх нөлөө хангалттай судлагдаагүй байна. Хорио-аллантойн бүрхүүлийн судасжилт нь хөхтөн амьтны ихсийн судасжилттай бүтэц, үйл ажиллагааны хувьд төстэй байгаа нь уг судалгааг хийх үндэслэл болсон. **Зорилго:** Тахианы үр хөврөлийн in ovo загварыг ашиглан хорио-аллантойн бүрхүүлийн судасжилтанд изотретинойны үзүүлэх нөлөөг судлах. **Арга, аргачлал:** Gallus gallus domesticus үүлдрийн ижил хоногтой үр тогтсон өндгийг ашиглан туршилт-хяналтын харьцуулсан загвараар судалгаа явуулсан. Үр хөврөлийн HH10 шатанд хяналтын бүлэгт шувууны салин, туршилтын бүлэгт изотретинойн (5 мкг/100 мкл) тарьсан. Үр хөврөлийн хөгжлийн 72 болон 120 дахь цагт шар уургийн хүүдий болон хорио-аллантойн бүрхүүлийн судасжилтыг үлэмж болон эдийн түвшинд үнэлж, судасны салаалалтын эрэмбэ, судасны нягтрал, хялгасан судасны тоог харьцуулан Манн–Уитнигийн U тестээр статистик боловсруулалт хийв. **Үр дүн:** Хяналтын бүлэгт судасжилт эрчимтэй явагдаж, 3-4 дүгээр эрэмбийн судаснууд олноор үүсч, нягт торлог бүтэц үүсгэсэн бол изотретинойноор үйлчилсэн бүлэгт судасны салаалалт саарч, 3–4 дүгээр эрэмбийн судасны тоо эрс буурч, судасны ерөнхий нягтрал 40–60%-иар багассан байв. Эдийн шинжилгээгээр хорио-аллантойн бүрхүүлийн нимгэрэлт, эдийн давхаргын алдагдал, судасны ханын нимгэрэлт илэрч, хялгасан судасны тоо хяналтын бүлгээс статистик ач холбогдолтойгоор бага байлаа ($p<0.01$). Мөн тахианы хорио-аллантойн бүрхүүлийн судасжилтын хөгжил нь хөхтөн амьтны ихсийн судасжилттай бүтэц, хөгжлийн хувьд төстэй болохыг тогтоов. **Дүгнэлт:** Изотретинойн нь хорио-аллантойн бүрхүүлийн хөгжлийг саатуулж, судасжилт, ялгаран хөгжлийг эрс бууруулж байгааг in ovo тахианы хөврөлд тодорхойллоо.

Үндэслэл: Ургийн төрөлхийн хөгжлийн гажиг нь хожуу үр хөндөлт, эрт болон хожуу аяндаа зулбалт, амьгүй төрөлт болон 5 хүртэлх насны хүүхдийн эндэгдлийн голлох шалтгаануудын нэг болох төдийгүй архаг өвчин эмгэг, хөгжлийн бэрхшээл үүсэх гол шалтгаан болдог. Төрөлхийн хөгжлийн гажгийн тархалтад нийгэм, эдийн засаг, яс үндэс, байгаль экологи зэрэг олон хүчин зүйлс нөлөөлдөг бөгөөд үндсэн шалтгааныг нь тодорхойлоход бэрхшээл тулгарч байна[1]. Төрөлхийн хөгжлийн гажигтай нярай нь бие даан амьдрах чадваргүй байхаас гадна хөгжлийн бэрхшээлтэй иргэн болж, гэр бүл, нийгмээс ихээхэн анхаарал, халамж шаарддаг. Манай улсын хэмжээнд нялхсын эндэгдлийн шалтгаанд төрөлхийн хөгжлийн гажгийн эзлэх хувь жилээс жилд өсөх хандлагатай байгаа бөгөөд оношлогдож буй төрөлхийн хөгжлийн гажгийн дийлэнх нь жирэмсний хожуу хугацаанд болон төрсний дараа оношлогдож байна[2]. 2024 онд Монгол улсын хэмжээнд төрөлхийн хөгжлийн гажигтай төрсөн нийт 517 нярайн тохиолдол, жирэмсний 22

долоо хүртэлх хугацаанд нийт 12676 үр хөндөлтийн тохиолдол бүртгэгдсэн байна[3,4].

Изотретинойныг 1980-аад оноос эмчилгээнд ашиглаж эхэлсэн бөгөөд мөн энэ үеэс ургийн хөгжлийн гажиг тухайлбал мэдрэлийн тогтолцоо, зүрх судасны, толгой нүүрний, сэрээ булчирхайн гажиг үүсгэдэг талаар мэдээлэгдэж эхэлсэн байна[5]. Гэвч ихэс үүсэх үйл явцад хэрхэн нөлөөлдөг талаар мэдээлэл хомс байна. Уг эм нь АНУ-ын Хүнс, эмийн хяналтын газрын албан ёсны бүртгэлд жирэмсэн эмэгтэй хэрэглэхийг хориглосон Х ангилалд багтдаг хэдий ч энгийн батга өвчний дунд болон хүнд хэлбэрийн үед эмчилгээний хоёрдугаар эгнээний сонголт болгон арьс, гоо заслын практикт өргөн хэрэглэгдэж байна[6-8].

Сээр нуруутан амьтны үр хөврөлийн хөгжлийн эрт үе хоорондоо нэлээд төстэй бөгөөд тахианы үр хөврөлийг бодисын тератоген нөлөө, судасжилтын судалгаанд ашиглахад давуу талуудтай. Тухайлбал үр хөврөлийг гаструляцын шатнаас эхлэн судлахад хялбар, зардал бага, арчлахад хялбар, богино хугацаанд үр дүнг цуглуулах боломжтой, бодисын болон орчны нөлөөллийг үр хөврөлд шууд туршиж, үр хөврөлийн хөгжлийг явцыг шууд ажиглах боломжтой байна[9,10]. Мөн сүүлийн үед судлаачид тахианы өндөг ашиглан үр хөврөлийн хөгжлийн эрт үеийг судлахтай зэрэгцүүлэн ихсийн судасжилтын хөгжлийг судлах ихсийн хөгжилд нөлөөлөх хорт бодисын судалгаа хийж байна[11,12]. Хөхтний ихэс, тахианы шар уургийн болон хорио-аллантойн бүрхүүлтэй зарим бүтцээрээ мөн тэжээлийн болон хийн солилцоогоороо төстэй байдаг. Ихсийн судасжилт орчны нөлөөлөлд мэдрэг бөгөөд энэ нь шууд бусаар ургийн хөгжилд нөлөөлж байна[11].

Иймд бид изотретинойн эмийн хорио-аллантойн бүрхүүлийн судасжилтанд үзүүлэх нөлөөг тахианы үр хөврөлийн in ovo загварт шинжиллээ.

Зорилго: Тахианы үр хөврөлийн in ovo загварыг ашиглан хорио-аллантойн бүрхүүлийн судасжилтанд изотретинойны үзүүлэх нөлөөг судлах.

Арга, аргачлал: АШУҮИС-ийн Судалгааны ёс зүйн хяналтын хорооны 2025 оны 9 сарын 26-ны өдрийн №25-26/01-02 тоот тогтоолоор судалгааг хийх ёс зүйн зөвшөөрөл авч туршилт судалгааны харьцуулсан загвараар in ovo туршилт судалгааг АШУҮИС-ийн Био-Анагаахын хүрээлэнгийн Эсийн өсгөвөр болон Эмгэг судлалын лабораторид хийж гүйцэтгэв. Gallus Gallus Domesticus үүлдрийн тахианы ижил хоногтой үр тогтсон туршилтын амилах өндгийг тахиа үржүүлэгчээс авч, изотретинойн (13-cis-retinoic acid)-ы 50 мг/мл тунтай эмийг худалдаанаас авч шувууны салины (0.72% натрийн хлорид) уусмалаар шингэлэн ашиглав.

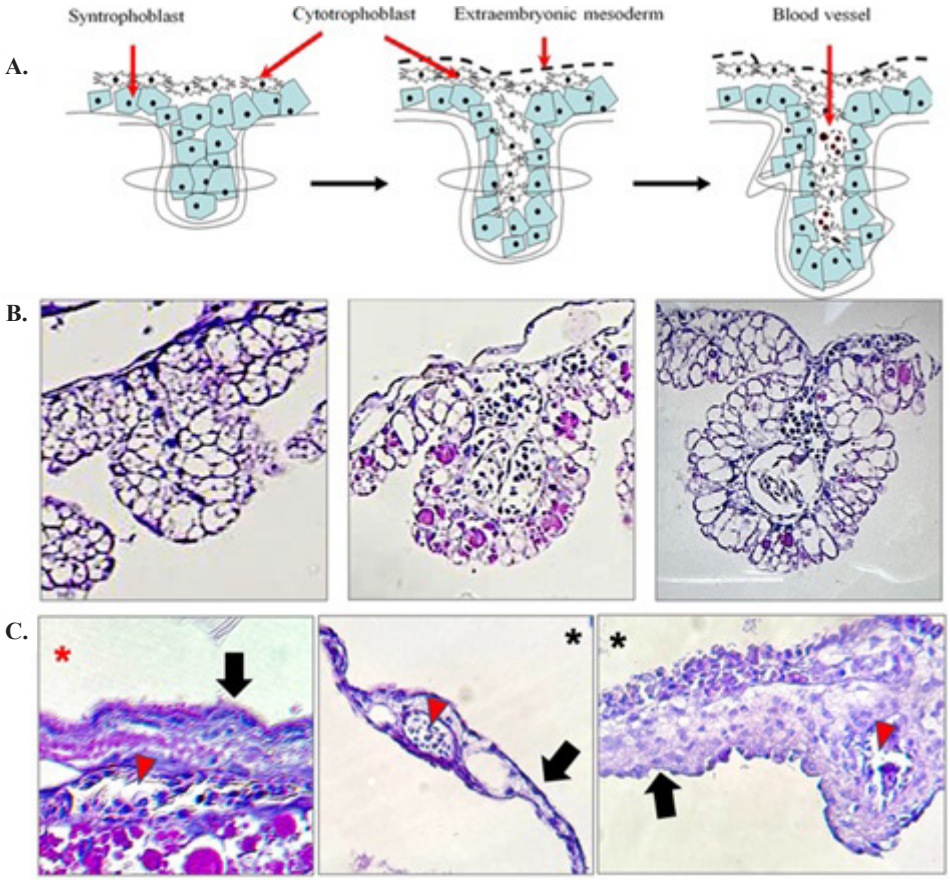
Туршилтын амилах өндөгний тээвэрлэлт, хадгалалт: Тахианы үүрнээс өндгийг өдөр бүр авч хөндлөн байрлалд, огцом хөдөлгөөнгүй, чимээгүй, нарны гэрлийн шууд тусгалгүй газар зориулалтын саванд 16°C хэмд тодорхой хугацаанд цуглуулж аль болох хөдөлгөхгүйгээр тээвэрлэсэн. Лабораторид хүргэсэн өндгийг 24 цагийн хугацаанд хөдөлгөөнгүй байлгаж амраасны дараа өсгөвөрлөсөн.

Тахианы үр хөврөлийг өсгөвөрлөх, хөврөлд тарилга хийсэн аргачлал: Тахианы өндгийг 38°C хэмд, 60% чийгшилтэй инкубаторт өсгөвөрлөсөн. Үр хөврөлийн НН10[13] үе шатанд буюу өсгөврийн 36 цагт судлаач Ма (2012)[11] нарын аргаар өндөгний хальсыг цонхолж хийтэй зайд хяналтын уусмал болон туршилтын уусмалыг өндөг бүрд 100 мкл хэмжээтэй тарьсан. Хяналтын бүлэгт шувууны салин буюу 0.72% натрийн хлорид 100 мкл, туршилтын бүлэгт изотретинойн 5 мкг/100 мкл тарьсан. Тарилгын дараа өндөгний хальсыг тунгалаг наалтаар нааж инкубаторт өсгөвөрлөв. Хөврөлийн хөгжлийн 72 болон 120 дах цагт өндөгний хальсыг авч судасжилтын зургийг өндөр нарийвчлалтай авч баримтжуулав.

Хөврөлийн биеийн гаднах судасжилтыг шинжилсэн аргачлал: Шар уургийн хүүдийн болон хорио-аллантойн бүрхүүлийн судасны зургийг ашиглан салаалалтын эрэмбийг хоёр судлаач нэг бүрчлэн тэмдэглэн тоолов. Судасны эрэмбийг нарын аргачлалаар хамгийн том судсыг 1-р эрэмбийн судас, түүнээс салбарлах тусам эрэмбийг ахиулан (2, 3, 4-р эрэмбэ) тооллоо[14]. Хорио-аллантойн бүрхүүлийг авч 4%-ийн параформальдегидэд бэхжүүлж парафин блок бэлтгэж зүслэг хийж PAS (Periodic Acid-Schiff) будгаар будаж шинжилсэн. Хялгасан судасны тоог 10 харах талбайд тоолж дундаж үзүүлэлтийг гаргаж бүлэг хооронд ялгаатай байгаа эсэхийг тооцоолсон.

Статистик боловсруулалт хийсэн арга зүй: Үр дүнгийн статистик боловсруулалтыг хийхдээ SPSS-21.0, Microsoft Excel программуудыг ашиглан хяналтын болон туршилтын бүлгийн хоорондын ялгааг Манн-Уитнигийн U тест (Mann-Whitney U test)-ийг ашиглан тооцоолж, p утга <0.05 үед статистикийн үнэн магадлалтай гэж үзэв.

Үр дүн: Хөхтөн амьтны ихсийн цэлмэнгийн хөгжил болон тахианы үр хөврөлийн хорио-аллантойн бүрхүүлийн хөгжилтэй бүтцийн хувьд хэрхэн дүйж байгааг морфологийн шинжилгээгээр баталгаажуулсан (Зураг 1). Тахианы үр хөврөлийн хөгжлийн НН26 (Hamburger-Hamilton) буюу 5 дахь хоногт шар уургийн хүүдийн бүрхүүлийг шинжлэхэд морфологийн бүтэц нь хөгжлийн явц нь ихсийн цэлмэнгийн хөгжлийн үетэй ижил төстэй шинжүүдийг агуулж байна (Зураг 1B). Үр хөврөлийн хөгжлийн 5-аас 9 дэх хоногийн хоорондох хорио-аллантойн бүрхүүлийн өөрчлөлтийг шинжлэхэд (Зураг 1C) судасжилтын үйл явц цаг хугацаанаас хамааран нэмэгдэж байгаа нь ажиглагдлаа. Үр хөврөлийн 5 дах хоногт хорио-аллантойн бүрхүүл харьцангуй нимгэн, бичил судаснууд шинээр үүсэж эхэлж буй шатандаа байсан бол 9 дэх (НН35) хоногт бүрхүүлийн зузаан нэмэгдэж, цусны эсүүдийг агуулсан томоохон судаснууд үүссэн нь ажиглагдсан. Энэхүү 9 дэх хоногийн дүр зураг нь хөхтөн амьтны ихсийн гуравдагч цэлмэнгийн судасжилтын түвшинтэй бүрэн дүйж байна.



Зураг 1. Хөхтөн амьтны ихсийн цэлмэн болон тахианы үр хөврөлийн хорио-аллантойн бүрхүүлийн харьцуулалт.

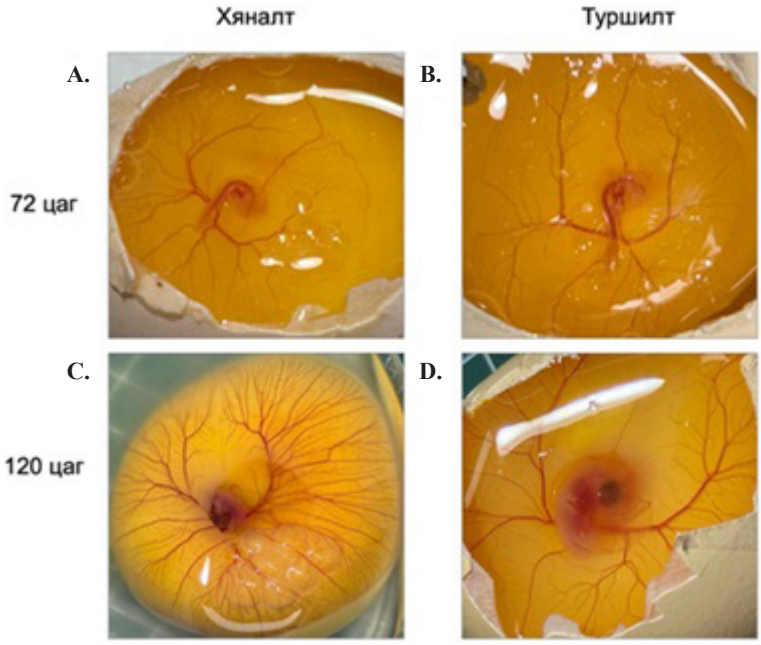
А. Хөхтөн амьтны ихсийн цэлмэнгийн хөгжлийн үе шат Ma ZL (2016) нарынхаар. В. Тахианы 5 хоногтой үр хөврөлийн шар уургийн хүүдийн бүрхүүлийг PAS будгаар будаж 20х өсгөлтөөр шинжлэв. С. Тахианы үр хөврөлийн хорио-аллантойн бүрхүүлийг 5 (улаан од) болон 9 (хар од) дэх хоногт PAS будгаар будаж 40х өсгөлтөөр шинжлэв. Сум: хорио-аллантойн бүрхүүл, улаан гурвалжин: цусны эсүүдийн агууламж бүхий цусны судсыг тус тус тэмдэглэв.

Тахианы үр хөврөлийн биеийн гаднах бүрхүүлийн судасжилтыг шинжилсэн дүн: Туршилтын 36 дах цагт буюу үр хөврөлийн хөгжлийн 3 дах өдөр (72 цаг) үр хөврөлийн төвөөс салбарласан үндсэн 4-5 том судас хөгжсөн, жижиг судасны тор бүрэлдэж эхэлсэн нь харагдаж байна (Зураг 2А). Үр хөврөлийн 5 дах өдөр (120 цаг) хяналтын бүлэгт судасжилт маш эрчимтэй явагдсан (Зураг 2С). Төвөөс зах руу чиглэсэн судасны тор бүх талбайг бүрхсэн, 3 болон 4 дүгээр эрэмбийн судаснууд эрчимтэй хөгжиж, хорио-аллантоин бүрхүүлийг бүрэн бүрхсэн судасны нягт торлог бүтэц үүсгэсэн байна. Харин изотретинойноор үйлчилсэн бүлэгт 3 дах өдөр тодорхой ялгаа ажиглагдахгүй байсан (Зураг 2В) боловч 5 дахь өдөр 3 дугаар эрэмбийн судасны тоо хяналтын бүлгээс 2-3 дахин бага, 4 дүгээр эрэмбийн нарийн судаснууд бараг үүсээгүй байна (Зураг 2D).

Хүснэгт 1. Тахианы үр хөврөлийн биеийн гаднах судасны тоо

Хугацаа	Бүлэг	Судасны тоо			
		1-р эрэмбэ	2-р эрэмбэ	3-р эрэмбэ	4-р эрэмбэ
72 цаг Шар уургийн хүүдийн судас	Хяналт (n=3)	4-5	10-12	18-20	18-20
	Туршилт (n=3)	4-5	9-11	15-18	8-10
120 цаг	Хяналт (n=2)	5-6	16-20	40-52	90+(маш өтгөн)
Хорио-аллантойн бүрхүүлийн судас	Туршилт (n=3)	3-4	7-9	16-24	20-30 (сийрэг)

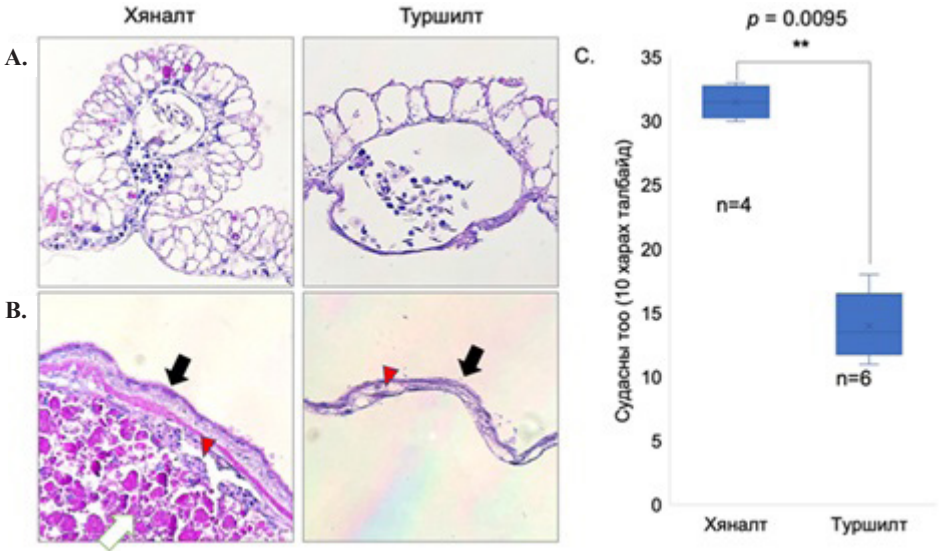
Судсыг эрэмбээр нь тоолж харьцуулахад (Хүснэгт 1) хяналтын бүлэгт судас салаалах тусам тоо нь дахин нэмэгдэж байгаа бол, туршилтын бүлэгт судасны салаалалт 2-р эрэмбийн дараа зогсонги байдалд орж хялгасан судасны тор маш сийрэг, зарим хэсэгт судасгүй талбай үүссэн байна. Туршилтын бүлэгт судасны ерөнхий нягтрал хяналтын бүлгээс ойролцоогоор 40-60%-иар бага харагдаж байлаа. Энэ нь изотретинойн нь судасны салаалалт болон шинээр хялгасан судас үүсэх явцыг хүчтэй дарангуйлж байгааг харуулж байна.



Зураг 2. Тахианы үр хөврөлийн биеийн гаднах судасжилтын үлэмж бүтцийн шинжилгээний дүн.

Тахианы хөврөлийн өсгөврийн 36 дахь цагт хяналтын бүлэгт салин, туршилтын бүлэгт изотретинойныг өндөгний хийтэй зайд тарьж хөврөлийн хөгжлийн 72 дахь (A, B) болон 120 дахь (C, D) цагт өндөгний хальсыг бүрэн нээж зураг дарж баталгаажуулав.

Тахианы үр хөврөлийн биеийн гаднах бүрхүүлийн эдийг шинжилсэн дүн: Морфологийн бүтцүүдийг шинжлэхэд 5 хоногтой тахианы үр хөврөлийн хяналтын бүлэгт шар уургийн хүүдийн бүрхүүл болон хорио-аллантойны бүрхүүлийн эдийн бүтэц харьцангуй жигд, давхаргат бүтэцтэй, бүрхүүлийн зузаан хадгалагдсан байдалтай ажиглагдсан (Зураг 3А). Туршилтын бүлгийг хяналтын бүлэгтэй харьцуулахад цэлмэнгийн үүсэлт саарсан, ялгаран хөгжил болон бүтцийн алдагдалтай байна (Зураг 3А). Мөн хорио-аллантойны бүрхүүлийн цусны судас жигд тархалттай, хөндийн хэлбэр болон ханын бүтцийн хувьд бүрэн бүтэн байдалтай илэрсэн нь судасжилт идэвхтэй явагдаж байгааг харуулж байна. Харин туршилтын бүлэгт эдийн морфологийн өөрчлөлтүүд тод илэрсэн. Хорио-аллантойны бүрхүүлийн зузаан мэдэгдэхүйц нимгэрч, зарим хэсэгт эдийн давхаргын тасралтгүй байдал алдагдсан нь ажиглагдсан (Зураг 3В). Үүнээс гадна цусны судасны хана нимгэрсэн, хэлбэр алдагдсан байдалтай харагдсан нь судас үүсэл болон судасны тогтвортой байдалд сөргөөр нөлөөлснийг илтгэв. Хялгасан судасны тоог тоолж бүлэг хооронд харьцуулахад (Зураг 3С) туршилтын бүлгийн судасны тоо (14.0±2.6) нь хяналтын бүлгийнхээс (31.5±1.2) статистик ач холбогдол бүхий бага байв (Mann-Whitney U test, $p<0.01$).



Зураг 3. Тахианы үр хөврөлийн биеийн гаднах бүрхүүлийн эдийн шинжилгээний дүн.

Тахианы үр хөврөлийн хөгжлийн 5 дах өдөр шар уургийн хүүдий (А) болон хорио-аллантойн бүрхүүлийг (В) авч PAS будгаар будаж шинжлэв. Өсгөлт А.×20, В.×40. Хар сум: хорио-аллантойн бүрхүүл, цагаан сум: PAS эерэг агууламж бүхий уураг, улаан гурвалжин: цусны судсыг тус тус тэмдэглэв. С. Хорио-аллантойны мембраны судсыг ×40 өсгөлтөөр 10 харах талбайд тоолов. ** P< 0.01.

Хэлцэмж: Энэхүү судалгаагаар изотретинойн нь тахианы үр хөврөлийн шар уургийн болон хорио-аллантойн бүрхүүлийн судасжилтын хөгжлийг хүчтэй дарангуйлах нөлөө үзүүлж, судасны салаалалт, хялгасан судасны үүсэлт болон морфологийн тогтвортой байдалд сөргөөр нөлөөлж байгааг тахианы үр хөврөлийн in ovo загвар ашиглан судаллаа.

Тахианы үр хөврөлийн биеийн гаднах эрхтэнд (extraembryonic membrane) шар уургийн хүүдий, амнион, хорион, аллантойс хамаарах бөгөөд эдгээр нь хөгжлийн тодорхой шатанд хөгжиж аажмаар хорио-аллантойн бүрхүүл болон хөгждөг. Үр хөврөлийн 4-5 дахь хоногоос хорио-аллантойн бүрхүүл эрчимтэй судасжиж, 7-9 дахь хоногт хий солилцоо, шим тэжээлийн дамжуулалтад голлох үүрэг гүйцэтгэдэг[15]. Энэхүү судасжилтын хөгжил нь хөхтөн амьтны ихсийн цэлмэнгийн гуравдагч хэлбэрийн үе шаттай бүтэц, үйл ажиллагааны хувьд ижил байдаг[16]. Хорио-аллантойн бүрхүүлийг ихсийн судасжилтын хөгжлийн загвар болгон ашиглахад тохиромжтой төдийгүй судасжилтанд үзүүлэх бодисын нөлөөг судлахад мөн ашиглаж байна[17]. Эдгээр судлаачдын үр дүнтэй бидний судалгааны үр дүн дүйж байсан бөгөөд хорио-аллантойн бүрхүүлийн 5-аас 9 дэх хоногийн морфологийн өөрчлөлт нь ихсийн судасжилтын хөгжлийн загвар болгон ашиглахад тохиромжтой юм.

Изотретинойн (13-cis-retinoic acid) нь ретинойдын рецепторууд (RAR, RXR)-аар дамжин генийн транскрипцид нөлөөлдөг бөгөөд мэдрэлийн тогтолцоо, зүрх судас, толгой-нүүрний бүтцийн үр хөврөлийн хөгжлийн гажиг үүсгэдэг хүчтэй тератоген бодис болох нь клиник болон туршилтын олон судалгаагаар батлагдсан[5,18]. Гэвч ихсийн үүсэл, судасжилтын түвшинд үзүүлэх нөлөө харьцангуй цөөн судлагдсан байна. Бидний судалгаагаар изотретинойн нь судасны салаалалтыг эрс бууруулж, 3-4 дүгээр эрэмбийн судасны хөгжил бараг явагдахгүй байдалд хүргэж, морфологийн хувьд судасны ханын нимгэрэлт, бүтцийн алдагдлыг үүсгэж байгааг тогтоосон. Энэ нь ретинойд дохиоллын зам нь ангиогенезийн гол зохицуулагч VEGF, FGF зэрэг хүчин зүйлсийн экспрессийг дарангуйлсан байж болзошгүйг илтгэж байна[19].

Судлаач xMa нар (2016) тахианы “functional placental blood vessel network” загварыг ашиглан илүүдэл кофейны нөлөөг судлахад хорио-аллантойн бүрхүүлийн судасны нягтрал, салаалалт мэдэгдэхүйц буурч, ангиогенез саатаж байгааг харуулсан[20]. Энэхүү үр дүн нь манай судалгаанд илэрсэн изотретинойны судас дарангуйлах нөлөөтэй төстэй боловч, изотретинойн нь илүү гүнзгий морфологийн эвдрэл, эдийн ялгаран хөгжлийн алдагдал үүсгэж байгааraa онцлог байв. Иймд хорио-аллантойн бүрхүүлийн загвар нь эмийн бодис, хүнсний хэрэглээний хүчин зүйлс болон орчны хоруу чанарт бодисын ихсийн судасжилтад үзүүлэх нөлөөг харьцуулан судлахад ач холбогдолтой гэж үзэж байна. Мөн хорио-аллантойн бүрхүүлийн загварыг бусад тератоген болон ангиогенез саатуулагч бодистой харьцуулсан судалгаанд ашиглах боломжтой юм[21].

Энэхүү судалгааны хязгаарлагдмал тал нь туршилтад ашигласан хөврөлийн тоо харьцангуй цөөн, зөвхөн нэг тунгийн изотретинойны нөлөөг үнэлсэн явдал юм. Мөн судасжилтыг ихэвчлэн морфологийн болон тоон үзүүлэлтээр үнэлсэн бөгөөд молекулын түвшний (VEGF, angiopoietin, retinoic acid signaling) өөрчлөлтийг шинжлээгүй. Цаашид тун хамааралт судалгаа, цаг хугацааны нарийвчилсан динамик шинжилгээ, молекул-иммунологийн аргуудыг хавсаргасан судалгаа хийх нь изотретинойны ихсийн ангиогенезд үзүүлэх механизмыг илүү тодорхой болгох ач холбогдолтой.

Дүгнэлт: Изотретинойн нь хорио-аллантойн бүрхүүлийн хөгжлийг саатуулж, судасжилт, ялгаран хөгжлийг эрс бууруулж байгааг in ovo тахианы хөврөлд тодорхойллоо.

Ном зүй:

1. *Т.Номиндэлгэр, Т.Гантуяа, П.Орхонтуул, М.Баялаг. Монгол улс дахь нярайн төрөлхийн хөгжлийн гажиг, нөлөөлөх хүчин зүйлс. Монголын хүн амын сэтгүүл. Улаанбаатар хот, Монгол улс. 2023;33:1-8.*
2. *Монгол улсын эрүүл мэндийн яам. Пренатал үеийн илрүүлэг, оношилгооны заавар. Улаанбаатар хот, Монгол улс. 2025.*
3. *National Statistics Office of Mongolia. Төрөлт, нас баралт – Төрөлхийн гажигтай төрсөн хүүхдүүдийн статистик дүн (Statistical summary of live births with congenital anomalies), National Statistical Database / Vital Statistics, Mongolia; 2024.*
4. *Ministry of National Statistics Office of Mongolia. Төрөлт, нас баралт – Үр хөндөлтийн тоо статистик дүн[Statistics of abortions, births and deaths]. National Statistical Database / Vital Statistics, Mongolia; 2024.*
5. *Draghici CC, Miulescu RG, Petca RC, Petca A, Dumitrașcu MC, Șandru F. Teratogenic effect of isotretinoin in both fertile females and males (Review). Exp Ther Med. 2021 May;21(5):534. doi: 10.3892/etm.2021.9966. Epub 2021 Mar 23. PMID: 33815607; PMCID: PMC8014951*
6. *Reynolds RV, Yeung H, Cheng CE, Cook-Bolden F, Desai SR, Druby KM, Freeman EE, Keri JE, Stein Gold LF, Tan JKL, Tollefson MM, Weiss JS, Wu PA, Zaenglein AL, Han JM, Barbieri JS. Guidelines of care for the management of acne vulgaris. J Am Acad Dermatol. 2024;90(5):1006.e1-1006.e30. doi:10.1016/j.jaad.2023.12.017.*
7. *U.S. Food and Drug Administration. Isotretinoin capsule information. In: Postmarket Drug Safety Information for Patients and Providers. FDA; 2021.8*
9. *Wachholz GE, Rengel BD, Vargesson N, Fraga LR. From the Farm to the Lab: How Chicken Embryos Contribute to the Field of Teratology. Front Genet. 2021 Jul 22;12:666726. doi: 10.3389/fgene.2021.666726. PMID: 34367238; PMCID: PMC8339958.*
10. *Acharya B, Dey S, Sahu PK, Behera A, Chowdhury B, Behera S. Perspectives on chick embryo models in developmental and reproductive toxicity screening. Reprod Toxicol. 2024 Jun;126:108583. doi: 10.1016/j.reprotox.2024.108583. Epub 2024 Mar 30. PMID: 38561097.*
11. *Ma ZL, Qin Y, Wang G, Li XD, He RR, Chuai M, Kurihara H, Yang X. Exploring the caffeine-induced teratogenicity on neurodevelopment using early chick embryo. PLoS One. 2012;7(3):e34278. doi: 10.1371/journal.pone.0034278. Epub 2012 Mar 28. Erratum in: PLoS One. 2012;7(8): doi/10.1371/annotation/0dc7c4d1-2601-4267-b56d-a315d89a6310. PMID: 22470550; PMCID: PMC3314624.*
12. *Abroms L, Maibach E, Lyon-Daniel K, Feldman SR. What is the best approach to reducing birth defects associated with isotretinoin? PLoS Med. 2006 Nov;3(11):e483. doi: 10.1371/journal.pmed.0030483. PMID: 17121451; PMCID: PMC1637125.*
13. *Hamburger V, Hamilton HL. A series of normal stages in the development of the chick embryo. 1951. Dev Dyn. 1992 Dec;195(4):231-72. doi: 10.1002/aja.1001950404. PMID: 1304821.*
14. *Ribatti (Ribatti D. The chick embryo chorioallantoic membrane*

(CAM). A multifaceted experimental model. Mech Dev. 2016 Aug;141:70-77. doi: 10.1016/j.mod.2016.05.003. Epub 2016 May 10. PMID: 27178379)

15. *Moore KL, Persaud TVN, Torchia MG. The Developing Human: Clinically Oriented Embryology. 11th ed. Elsevier; 2020. Figure 4-6.*
16. *Ma ZL, Wang G, Lu WH, Cheng X, Chuai M, Lee KK, Yang X. Investigating the effect of excess caffeine exposure on placental angiogenesis using chicken 'functional' placental blood vessel network. J Appl Toxicol. 2016;36(2):285–295.*
17. *Khan Z, Ahmad N, et al. In ovo studies of placental-like membranes for teratogenic evaluation. Dev Biol. 2018;438:1–12.*
18. *Pile HD, Patel P. Isotretinoin. [Updated 2025 Dec 13]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 Jan-. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK525949/*
19. *Balmer JE, Blomhoff R. Gene expression regulation by retinoic acid. J Lipid Res. 2002;43(11):1773–1808.*
20. *Wang G, Li PZ, Zhang SY, Zhong S, Chu C, Zeng S, Yan Y, Cheng X, Chuai M, Hocher B, Yang X. Lipopolysaccharides (LPS) induced angiogenesis during chicken embryogenesis is abolished by combined ETA/ETB receptor blockade. Cell Physiol Biochem. 2018;48(5):2084-2090. doi:10.1159/000492547. PMID:30099448.*
21. *Ahmad N, et al. CAM assay as a model for angiogenesis and teratogen testing. Dev Dyn. 2019;248:21–34.*

Inhibitory effect of isotretinoin on chorio-allantoic membrane vascularization

Tamir G[1,2], Suvd M[3], Ganbold L[2], Battumur E[4], Sayamaa L[5], Bolorchimeg B[1], Erdenezaya O[3,6]

[1]Department of Obstetrics and Gynecology, School of Medicine, MNUMS
[2]Bayanundur Med Hospital
[3]Department of Anatomy, School of Biomedicine, MNUMS
[4]Ulaanbaatar Elite school
[5]Department of Pathology and Forensic medicine, School of Biomedicine, MNUMS
[6]Institute of Biomedical Sciences, MNUMS
E-mail: amd26e040@gt.mnums.edu.mn, Tel: +976-95354684

Abstract:

Background: Although isotretinoin has been confirmed by clinical and experimental studies to be a teratogenic agent that causes fetal developmental abnormalities, its effects on placental development and placental-like extra-embryonic vascularization have not been sufficiently studied. The vascularization of the chorioallantoic membrane is structurally and functionally similar to mammalian placental vascularization, which provided the rationale for conducting this study.

Aim: To study the effect of isotretinoin on chorioallantoic membrane vascularization using an in ovo chick embryo model.

Material and Methods: A comparative experimental control study was conducted using fertilized eggs of the same developmental age from Gallus gallus domesticus. At the HH10 embryonic stage, the control group received avian saline, while the experimental group was administered isotretinoin (5 μg/100 μL). Vascularization of the yolk sac and chorioallantoic membrane was evaluated at the macro- and tissue levels at 72 and 120 hours of embryonic development. Vessel branching order, vascular density, and capillary number were compared, and statistical analysis was performed using the Mann-Whitney U test.

Results: In the control group, vascularization progressed actively, with abundant formation of third and fourth order vessels, resulting in a dense reticular network. In contrast, the isotretinoin treated group showed delayed vessel branching, a marked reduction in the number of third- and fourth-order vessels, and an overall decrease in vascular density of 40–60%. Histological analysis revealed thinning of the chorioallantoic membrane, loss of tissue layers, and thinning of vascular walls, and the number of capillaries was significantly lower than in the control group ($p<0.01$). In addition, the development of chorioallantoic membrane vascularization in chick embryos was found to be structurally and developmentally similar to mammalian placental vascularization.

Conclusion: Isotretinoin was shown to inhibit the development of the chorioallantoic membrane and markedly reduce vascularization and differentiation in an in ovo chick embryo model.

Keywords: Chick embryo, In ovo model, Extra-embryonic vasculature, Vasculature