

بررسی کمی تأثیر کلرید کادمیوم بر رشد و نمو جنین و نوزاد موش صحرایی

فروع الدین مولایی،^{*M.Sc.}، مهدی مهدیزاده،^{*Ph.D.}، ملیحه نوبخت،^{*Ph.D.}، کاظم پریور،^{*Ph.D.}، فرزانه محمدزاده،^{*M.Sc.}

*گروه علوم تشریح دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی ایران

تاریخ وصول: فروردین ماه ۸۲، تاریخ پذیرش: خرداد ماه ۸۲

چکیده

هدف: بررسی تأثیر کلرید کادمیوم روی جذب جنین و تغییرات ماکروسکوپی در شکل ظاهری، قد و وزن جنین و نوزاد موش صحرایی

مواد و روشها: در این مطالعه از ۳۰ سر موش صحرایی ماده نژاد Sprague-Dawely استفاده شد. موشها در شش گروه پنج تایی تقسیم شدند. در روز نهم بارداری موشهای گروه I، II، III، IV، V و VI به ترتیب ۰، ۰.۰۱، ۰.۱، ۱، ۱۰ و ۱۰۰ mg/kg از محلول فوق را به صورت تزریق داخل صفاقی در ربع تحتانی راست شکم دریافت کردند. به موشهای گروه V و VI میزان ۱ ml/kg سرم نرمال سالین تزریق شد. در روز ۲۱ بارداری و روز سوم پس از تولد جنینها و نوزادان برای نقصان و اختلال رشد و ناهنجاریهای صورتی بررسی و سپس کلیه چپ آنها توزین شد.

یافته‌ها: تیمار با ۴ mg/kg کلرید کادمیوم سبب کاهش وزن و قد جنین و نوزاد، همچنین کاهش وزن کلیه در گروه نوزادان موش صحرایی شد. اما تزریق ۲ mg/kg کلرید کادمیوم روی وزن کلیه مؤثر نبود. در این دوز اختلال رشد در نوزادان و جنینها، به ندرت ملاحظه شد. **نتیجه گیری:** به نظر می‌رسد که تیمار کلرید کادمیوم در دوران جنینی تغییرات معنی داری را در وزن کلیه و رشد و نمو جنین و نوزاد موش صحرایی در اواخر دوران بارداری و مراحل ابتدایی پس از تولد ایجاد می‌کند و این تغییرات در غیاب دیگر علائم مسمومیت روی می‌دهند.

واژه‌های کلیدی: کلیه، موش صحرایی، کلرید کادمیوم، جنین

مقدمه

کادمیوم در سیستم‌های بیولوژیکی صورت گرفته است و گزارشهای موجود در مورد آثار بیولوژیکی این فلز سمی بیانگر آن است که کادمیوم در سطح گسترده‌ای می‌تواند سیستم‌های بیولوژیکی را تحت تأثیر قرار دهد و در این رابطه توجه به روند تکوینی جنین از جایگاه ویژه‌ای برخوردار است [۳]. کادمیوم خصوصیات ترانزژنیک و کارسینوژنیک دارد [۴ و ۵] و مطالعات نشان می‌دهند که این عنصر در مراحل اولیه بارداری ترانزژنیک و امبریوتوکسیک و در مراحل آخر بارداری، مسموم کننده جفتی است [۴]. کادمیوم با عبور از جفت و انتقال به بدن جنین ناهنجاری‌های مختلفی از جمله شکاف کام، شکاف لب،

کادمیوم یکی از آلاینده‌های مهم صنعتی و محیطی است که تأثیرات زیادی روی محیط اطراف می‌گذارد. در صنایع رنگ‌سازی، روکش‌سازی، باتری‌سازی و ساختن مواد مقاوم‌کننده پلاستیک‌ها مصرف دارد. این فلز سنگین و سمی به راحتی جذب گیاهان، حیوانات و میکروارگانیسم‌ها شده، در دوزهای بالاتر باعث آسیب‌های حاد سلولی، بافتی و حتی کل ارگانیسم می‌شود [۱ و ۲].

در طول چند دهه اخیر تحقیقات زیادی روی اهمیت و تأثیر

آدرس مکاتبه: تهران، دانشگاه علوم پزشکی ایران، گروه علوم تشریح، صندوق پستی ۶۱۸۳-۱۴۱۵۵
Email: maranaoo@iums.ac.ir

نوزادان گروه IV، II و VI روز تولد روز صفر در نظر گرفته شد. این گروهها نیز در روز سوم پس از تولد از نظر ناهنجاریهای ظاهری بررسی و اندازه گیری C-R و وزن انجام و کلیه های چپ آنها در آورده شد، در تمام گروهها نمونه ها با ترازوی حساس Colleague توزین شدند؛ در مرحله آخر داده های خام با روش آماری Multi Analysis of Variance (MAOVA) (۲×۳) بررسی شد.

یافته ها

داده های خام توسط آزمون آماری واریانس دو طرفه با برنامه نرم افزاری SPSS 9.0 بررسی شدند.

وزن کلیه

آزمون واریانس دوطرفه وزن کلیه نشان داد که دوز و دوره تکاملی روی وزن کلیه مؤثر است. به عبارت دیگر؛ کلرید کادمیوم در دوز ۴mg/kg باعث کاهش وزن کلیه می شود. حال آنکه در دوز ۲mg/kg در دوران قبل و بعد از تولد این تأثیر معنی دار نیست ($P>0.05$) (جدول ۱).

وزن نوزاد و جنین

بررسی آماری وزن نوزاد و جنین نشان می دهد که کلرید کادمیوم در دوز ۴mg/kg و ۲mg/kg باعث کاهش معنی دار وزن نوزاد و جنین می شود. ($P<0.05$) (جدول ۱).

قد نوزاد و جنین

بررسی آماری مربوط به قد نوزاد و جنین نشان می دهد که کلرید کادمیوم در دوز ۴mg/kg در دوران قبل و بعد از تولد باعث کاهش معنی دار قد (C-R) می شود. در حالی که در دوز ۲mg/kg فقط در دوران بعد از تولد روی قد (C-R) تأثیر گذاشته است (جدول ۱).

ناهنجاری در ظاهر نوزاد و جنین

بررسیهای انجام شده روی تغییرات اندامی، اسکلتی، صورتی، چشم و گوش نشان داد که از مجموعه ۱۵۰ نوزاد و

پلی داکتیلی، مینی داکتیلی، تشکیل نشدن گوش یا گوش نابه جا و چشم باز ایجاد می کند [۳، ۶ و ۷]. میزان، درجه و شدت ناهنجاری ناشی از آن بستگی به دوره، دوز، زمان تجویز و نژاد حیوان دارد [۸ و ۹]. در کارگرانی که در معرض آن قرار گرفته اند، وجود سنگهای ادراری و کالکوریا به وفور مشاهده می شود که این عارضه ناشی از تأثیر کادمیوم روی کلیه و سیستم اسکلتی و تأثیر غیرمستقیم آن روی متابولیسم ویتامین D است. اختلال در عملکرد کلیه یکی از ویژگیهای مسمومیت مزمن با کادمیوم است [۱۰]. توجه به مطالعات فوق و این نکات که اولاً؛ بیشترین درگیری کادمیوم در کلیه ها ایجاد می شود [۱۱]، ثانیاً؛ کلیه ها حتی پس از تولد نیز مراحل تکاملی خود را طی می کنند [۱۲] و از سوی دیگر با توجه به این مسأله که سطح کادمیوم در جنوب تهران در مواردی حتی به ۲ برابر حد مجاز می رسد [۲ و ۶] سبب شد که در تحقیق حاضر تأثیر این فلز بر میزان جذب جنین، ناهنجاریهای ظاهری، اختلالات رشدی و وزن کلیه جنین ۲۱ روزه و نوزاد ۳ روزه موش صحرایی مطالعه و بررسی شود.

مواد و روشها

در این پروژه از ۳۰ سر موش صحرایی ماده Nulliparus نژاد Sprague-Dawley به وزن متوسط ۲۴۰-۱۸۰ گرم استفاده شد. موشهای ماده با موشهای نر آمیزش داده شدند و مشاهده پلاک واژینال روز صفر بارداری محسوب شد. موشهای باردار در شش گروه پنج تایی قرار گرفتند. تمامی گروهها از ۱۲ ساعت روشنائی، ۱۲ ساعت تاریکی و آب و غذا و نیز شرایط دمایی یکسانی برخوردار بودند. در روز نهم بارداری، موشهای گروه I، III، میزان ۲mg/kg کلرید کادمیوم (محلول در سرم نرمال سالین)، موشهای گروه II، IV، میزان ۴mg/kg از محلول فوق و موشهای گروه V، VI، میزان ۱mg/kg سرم نرمال سالین دریافت کردند. تزریق به صورت داخل صفاقی و در ربع تحتانی راست شکم صورت گرفت. در روز ۲۱ بارداری، جنینهای گروه I، III و V با عمل سزارین از شکم مادر خارج و پس از بررسی از نظر ناهنجاریهای ظاهری، اندازه گیری قد (C-R) Crown Rump و وزن انجام شد و کلیه چپ آنها به سرعت در آورده شد. در

جدول ۱. میانگین قد C-R و وزن و وزن کلیه چپ در شش گروه مورد مطالعه

روز	دوز	میانگین قد C-R در شش گروه مورد مطالعه برحسب cm			میانگین وزن در شش گروه مورد مطالعه برحسب gr			میانگین وزن کلیه چپ در شش گروه مورد مطالعه برحسب gf		
		۴mg/kg	۲mg/kg	کنترل	۴mg/kg	۲mg/kg	کنترل	۴mg/kg	۲mg/kg	کنترل
روز ۲۱ بارداری		۳/۹۲±۰/۰۷۲۶۲	۴/۰۲±۰/۰۳۳۲	۴/۰۷±۰/۰۳۶۱	۴/۹۵±۰/۰۹۵	۵/۱۳±۱/۱۳۶	۵/۷۶±۰/۴۷۷	۰/۱۹۰±۰/۰۰۰۵	۰/۰۲۰۵±۰/۰۰۰۳	۰/۰۲۰۸±۰/۰۰۰۴
۳ روز پس از تولد		۴/۲۷±۰/۰۶۳	۴/۴۷±۰/۰۰۳۶	۴/۷۳±۰/۰۴۷۲	۵/۹±۰/۰۶۳۳	۶/۲۱±۰/۰۴۷۵	۷/۵۱±۰/۰۳۸۵	۰/۰۳۰۱±۰/۰۰۱۳	۰/۰۳۴۲±۰/۰۰۱۱	۰/۰۳۶۱±۰/۰۰۰۹

جنین مورد مطالعه در ۶ گروه، در گروه IV، ۲ مورد پلی داکتیلی، ۱ مورد سین داکتیلی و ۲ مورد مرگ نوزاد مشاهده شد؛ در گروههای دیگر ناهنجاری خاصی مشاهده نشد. با توجه به تعداد اندک این ناهنجاری به عنوان عوامل مزاحم و دخیل در آزمایش از بررسی آماری حذف شدند.

میزان جذب جنین

میزان جذب جنین به روش مجذور کای بررسی شد. نتایج نشان داد که در گروه I، ۱۲/۷۷ و در گروه III، ۳۹/۴۷ و در گروه V، ۵/۷ درصد جنینها جذب شدند. بررسی آماری نشان داد که کلرید کادمیوم در دوز ۴mg/kg باعث کاهش معنی داری در جذب جنین می شود ($P < 0.05$) (جدول ۲).

جدول ۲. میزان جذب جنین در گروههای I، III و V

تعداد	دوز	۴mg/kg	۲mg/kg	کنترل
جذب جنین	۱۵	۵	۲	
کل جنین	۳۸	۳۶	۲۵	
درصد جذب جنین	۳۹/۴۷%	۱۲/۷۷%	۵/۷%	

بحث

در این تحقیق، آثار کلرید کادمیوم در دو دوز ۲mg/kg و ۴mg/kg وزن بدن بر ریخت شناسی کلیه، تمایز گلوبولها، تغییرات در شکل ظاهری جنینهای ۲۱ روزه و نوزادان سه روزه موش صحرایی نژاد Sprague-Dawley در مقایسه با گروههای

شاهد بررسی شد. اگر چه به دنبال تزریق کلرید کادمیوم (CdCl_2) به صورت داخل صفاقی در دوزهای پایین تر از حد تراژونیک، مقدار اندکی کادمیوم (Cd^{2+}) به جنین می رسد، اما به نظر می رسد که این مقدار اندک نیز در کارکرد جفت و جنین اختلال ایجاد می کند. این اختلال به ویژه در انتقال یون روی (Zn^{2+}) قابل ملاحظه است. از آنجا که Zn^{2+} در رشد و تمایز سلولی در دوران قبل از تولد یک عنصر ضروری محسوب می شود، بنابراین کمبود این فلز می تواند به اختلالات رشد و نمو جنینی منجر شود. به دنبال مهار انتقال Zn^{2+} (در نتیجه تزریق Cd^{2+} در اوایل دوران رشد)، میزان تیمیدین نیز به ویژه در مغز در حال رشد کاهش می یابد. این اثرها را ناشی از مهار آنزیم تیمیدین کیناز (آنزیم وابسته به Zn^{2+}) می دانند. از طرفی؛ در نتیجه نقصان Zn^{2+} و مهار آنزیم تیمیدین کیناز و به تبع آن کاهش تیمیدین، میزان مشارکت تیمیدین در همانندسازی DNA و همچنین حجم کلی DNA در جنین کاهش می یابد و جنین و نوزاد دچار اختلال رشد (آتروفی) می شوند [۷].

مطالعات روی حیوانات نشان داده است که نقص کلسیم (Ca^{2+})، مسمومیت ناشی از Ca^{2+} و جذب روده ای این کاتیون را افزایش می دهد. با توجه به اینکه Ca^{2+} در چسبندگی های بین سلولی و انقباضات عضلانی نقش بسیار مهمی را ایفا می کند، نقصان این عنصر ممکن است آثار وخیمی روی اتصالات بین سلولی و به طور کلی ارگان هدف داشته باشد. در اختلالات عملکردی کلیه که به دنبال تجویز Cd^{2+} اتفاق می افتد، به میزان بیشتری در ادرار دفع می شود و ممکن است ضایعات

استخوانی ناشی از عدم توازن Cd^{2+} بدن نیز به وجود بیاید [۱۳].

کادمیوم با اتصال به پروتئینهای داخل سلولی و مهار آنها باعث اشتباه در تمایز سلولها و بافتها می شود. یکی از پروتئینهایی که میل ترکیبی زیادی با Cd^{2+} دارد، متالوتونین (MT) است، این پروتئین اغلب در کبد ساخته می شود [۶، ۱۵] و [۴۱]. در دوزهای بالاتر کادمیوم، به دلیل اینکه این پروتئین به میزان کافی ساخته نمی شود، بنابراین Cd^{2+} به راحتی وارد کبد مادر و جنین و برخی دیگر از بافتها شده، رقیب یونهای Cd^{2+} می شود [۶].

ترکیب کلسیم - کالمدولین عامل آغازگر همانندسازی DNA است. Cd^{2+} به دلیل انتشار یونی برابر با Ca^{+2} ، می تواند جایگزین کلسیم در ترکیب کلسیم - کالمدولین شود. ترکیب جدید (کادمیوم - کالمدولین) ممکن است باعث وقوع اشتباهاتی در همانندسازی DNA شده و در جنین و نوزاد موجب اختلال رشد شود [۶].

یافته های این تحقیق، نتایج محققین دیگر را در مورد آتروفی جنین و نوزاد به دنبال تزریق $CdCl_2$ یا قرار گرفتن در معرض کادمیوم تأیید می کند. از سوی دیگر؛ در این پروژه ملاحظه شد که به دنبال تزریق $4mg/kg$ وزن بدن کلرید کادمیوم، وزن کلیه نوزادان در روز سوم پس از تولد کاهش می یابد. این یافته با یافته Dudley و همکارانش مغایرت دارد. این محققین نشان دادند که به دنبال قرار گرفتن طولانی مدت در معرض کادمیوم، وزن کلیه نوزادان ۱۰ درصد افزایش می یابد [۱۴]. به نظر می رسد که در صورت قرار گرفتن طولانی مدت در معرض کلرید کادمیوم، ادم کلیوی باعث افزایش وزن کلیه می شود [۷]، در حالی که در موارد حاد به دلیل کاهش تعداد نفرون ها وزن کاهش می یابد [۱۲]. در هر حال به دلیل مغایرت این یافته ها، فرضیه ای تحت این عنوان مطرح می شود که آیا کادمیوم در مراحل ابتدایی دوران رشد پس از تولد باعث کاهش وزن کلیه شده و سپس به دلایل پاتولوژیکی وزن افزایش می یابد؟ یا اینکه حاد و مزمن بودن تزریق کادمیوم در این افزایش یا کاهش مؤثر است؟

محققین تغییرات ماکروسکوپیکی مختلفی را در شکل

ظاهری جنین و نوزادان موش صحرایی که مادرانشان در معرض کلرید کادمیوم قرار گرفته اند، گزارش نموده اند؛ از جمله هیدروسفالی، آنوفتالیا، گاستروشیازیس و فتق ناف [۷]. مواردی نیز از آگروسفالی، هگزاداکتیلی، تتراداکتیلی، شکاف کام، شکاف لب و تشکیل نشدن گوش خارجی گزارش شده است [۳ و ۶]. Hovland گزارش نمود که کادمیوم سبب ناهنجاریهایی از جمله لوله عصبی، سری، صورتی اندام ها، تنه، احشا و اسکلت محوری می شود که شدت و وسعت آن با مقدار و دوره، زمان تجویز و نژاد حیوان بستگی دارد [۸ و ۹].

در این تحقیق تنها ۲ مورد پلی داکتیلی، ۱ مورد سین داکتیلی و ۲ مورد مرگ جنین در روز دوم پس از تولد در گروه IV مشاهده شد که به دلیل کافی نبودن تعداد از نظر آماری به عنوان عوامل مزاحم و دخیل در آزمایش حذف شدند و به دلیل دوز بالاتر کلرید کادمیوم در تحقیقات قبلی نسبت به این پژوهش، می توان گفت که کلرید کادمیوم در دوز پایین باعث ناهنجاری شکل ظاهری جنین و نوزاد موش صحرایی نمی شود.

نتایج به دست آمده در خصوص درصد جذب جنین در گروه V اختلاف فاحشی را نشان می دهد که این یافته بیانگر نظر Lau و همکارانش است که معتقدند کادمیوم در مراحل ابتدایی بارداری یک عنصر تراتوژنیک و آمبریوتوکسیک و در دوران انتهایی یک مسموم کننده جفتی است [۴].

براساس این پژوهش می توان نتیجه گیری کرد که تزریق داخل صفاقی کلرید کادمیوم به موشهای باردار در روز نهم بارداری باعث تغییرات معنی داری در وزن کلیه، وزن و قد جنین و نوزاد می شود. با این توضیح که تأثیر کادمیوم بر وزن و قد وابسته به زمان نیست و در قبل و مراحل ابتدایی پس از تولد روی می دهد. در حالی که کاهش وزن کلیه وابسته به زمان است. به عبارت دیگر؛ وزن در دوزهای بالاتر و اغلب در مراحل ابتدایی پس از تولد متأثر از کلرید کادمیوم است. همچنین کلرید کادمیوم در مراحل ابتدایی بارداری سبب مرگ و حذف جنین می شود. اما در همان زمان با دوز پایین سبب ناهنجاری شکل ظاهری جنین و نوزادان موش صحرایی نمی شود.

این تغییرات اغلب در دوران ابتدایی پس از تولد و در غیاب دیگر علائم مسمومیت روی می دهد.

References

1. **Ord MJ, Bouffler SD, Chibbe R.** Cadmium induced changes in cell organelles: an ultrastructural study using cadmium sensitive and resistant muntjac fibroblast II-lines. *Arch Toxicoal.* 1988; 62: 133-145.
۲. کشاورزی شیرازی هما. بررسی کادمیوم در محیط زیست تهران. دانشکده بهداشت، دانشگاه تهران، ۱۳۶۶
۳. شیروی عبدالحسین، پریور کاظم، ریاضی غلامحسین، عریان شهریانو. بررسی اثر کلرید کادمیوم در دوران جنینی بر گناد نر و مطالعه هیستولوژیکی گناد در دوران بلوغ. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی استان زنجان ۱۳۷۷؛ شماره ۲۳: صفحات ۴۲-۳۶
4. **Lau JC, Joseph MG, Cherian MG.** Role of placental metullthionein in maternal to fetal transfer of cadmium in genetically altered mice. *Toxicology.* 1998; 127: 167-178
5. **Martinez EA, Moore BC, Schaumlöffel J, Dasgupta N.** Morphological abnormalities in *Chironomus tentans* exposed to cadmium-and copper-spiked sediments. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2003; 55(2): 204-212
6. **Parivar K, Pilehchian R.** The teratogenic effects of cadmium chloride on days 3 and 7 of gestation of mouse embryos. *J SC IAU.* 1992; 14: 138-150
7. **Samarawickrama GP, Webb M.** Acute effects of cadmium on the pregnant rat and embryo-fetal development. *Environ Health Perspect.* 1979; 28: 245-249
8. **Hovland DN Jr, Cantor RM, Lee GS, Machado AF, Collins MD.** Identification of a murine locus conveying susceptibility to cadmium-induced forelimb malformations. *Genomics.* 2000; 63(2): 193-201
9. **Hovland DN Jr, Machado AF, Scott WJ Jr, Collins MD.** Differential sensitivity of the SWV and C57BL/6 mouse strains to the teratogenic action of single administrations of cadmium given throughout the period of anterior neuropore closure. *Teratology.* 1999; 60(1): 13-21
10. **Taiyi J, Leffler P, Nordberg GF.** Cadmium-metallothionein nephrotoxicity in the rat: Transient calcuria and proteinuri. *Toxicology.* 1987; 45: 307-317
11. **Ogashi K, Moriyama T, Nanazai Y.** Decrease in the mechanical strength of bones of rats administered cadmium. *Arch Toxicol.* 1989; 63: 320-324
12. **Saillenfait AM, Payan JP, Brondeau MT, Zissus D, Deceaurriz J.** Changes in urinary proximal tubule parameters in neonatal rats exposed to cadmium chloried during pregnancy. *J Appl Toxicol.* 1991; 11: 23-27
13. **Itokawa Y, Nishino K, Takashima M, Nakata T, Katto H, Kmoto E, Daijo K, Kawamura J.** Renal and skeletal lesion in experimental Cadmium poisoning of rats. *Histology and renal function. Environ Res.* 1978; 15: 206-217
14. **Dudley RE, Gammal LM, Klaassen CD.** Cadmium-induced hepatic and renal injury in chonically exposed rats: likely role of hepatic cadmium-metallothioneion in nephrotoxicity. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1985; 77: 414-426
15. **Liu J, Liu Y, Habeebu SS, Klaassen CD.** Susceptibility of MT-Null mice to chronic CdCl₂-induced nephrotoxicity indicates that renal injury is not medicated by the CdMT complex. *Toxicol Sci.* 1998; 46: 197-203

