

## بررسی آثار کادمیوم بر ساختار و فراساختار سلولهای پورکنز قشر مخچه در نوزاد چهار روزه موش صحرایی (Rat)

عبدالله امینی \*M.Sc.، ابوالفضل فقیهی \*Ph.D.، مهدی مهدی زاده \*Ph.D.، فریدون نگهدار \*M.Sc.، تابنده شریعتی \*Ph.D.،  
سید محمد فرشته نژاد\*\*

\* گروه علوم تشریح دانشگاه علوم پزشکی ایران  
\*\* دانشجوی پزشکی و عضو کمیته پژوهشی دانشجویی دانشگاه علوم پزشکی ایران  
تاریخ وصول: تیرماه ۸۴، تاریخ پذیرش: شهریور ماه ۸۴

### چکیده

**هدف:** بررسی آثار کادمیوم بر ساختمان و فراساختار سلولهای پورکنز قشر مخچه.

**مواد و روشها:** این پژوهش به روش تجربی (Experimental) ۴۰ سر موش صحرایی ماده از نژاد ویستار (Wistar) صورت گرفت. نمونه‌ها در چهار گروه ۱۰ تایی، شامل: کنترل I، کنترل II، آزمایشی I و آزمایشی II تقسیم شدند. به دو گروه اول (گروههای کنترل I و II) نرمال سالین و به دو گروه دوم (گروههای آزمایشی I و II) کلرید کادمیوم به صورت داخل صفاقی در روزهای هشتم بارداری (زمان تکامل مخچه) و شانزدهم بارداری (زمان شروع رشد سلولهای پورکنز مخچه) به‌طور جداگانه تزریق شد و در نهایت در روز چهارم بعد از تولد (PN4) (زمان آرایش نهایی سلولهای پورکنز مخچه) پس از توزین و اندازه‌گیری قد آنها، با کمک محلول تثبیت کننده گلو تارالدئید ۲/۵ درصد (از طریق بطن چپ) پرفیوژن شدند و در نهایت مراحل آمادش و پردازش بافتی روی مخچه نمونه‌ها با تکنیک میکروسکوپ نوری و الکترونی انجام گرفت.

**یافته‌ها:** در بررسیهای کمی، تعداد سلولهای پورکنز قشر مخچه در گروههای آزمایشی I و آزمایشی II به ترتیب نسبت به گروههای کنترل I و کنترل II ( $P < 0.005$  و  $P < 0.000$ ) کاهش معنی‌داری را نشان داد. این تغییرات در گروه آزمایشی I نسبت به گروه آزمایشی II نیز مشاهده شد ( $P < 0.005$ ). در بررسیهای کیفی، مرگ سلولهای پورکنز، هتروکروماتین بودن هسته و مشخص نبودن هستک قابل ملاحظه بودند. همچنین تخریب غشای میتوکندریها و کریستاهای آنها و وجود واکوئولهای متعدد غیر طبیعی در میتو کندریها مشاهده شد. ضمن آن که وجود تکه‌های جدا شده سیتوپلاسم همراه با اجزای سلولی در گروههای آزمایشی از دیگر تفاوت آنها با گروههای کنترل بود.

**نتیجه‌گیری:** نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهد که مصرف کادمیوم در زمان بارداری (روزهای ۸ و ۱۶ بارداری) علاوه بر تاثیر منفی در رشد و نمو نوزادان موش صحرایی، باعث ایجاد تغییرات دژنراتیو و کاهش تعداد سلولهای پورکنز قشر مخچه در نوزادان ۴ روزه حاصل از موشهای صحرایی تحت مطالعه با کلرید کادمیوم می‌شود.

**کلیدواژه‌ها:** کادمیوم، سلولهای پورکنز، مخچه، ترانوژن، موش صحرایی (Rat)

## مقدمه

کادمیوم یکی از عناصر موجود در طبیعت است که معمولاً به صورت ترکیب با سایر عناصر مانند اکسیژن (اکسید کادمیوم)، کلر (کلرید کادمیوم)، سولفور (سولفید کادمیوم) و سولفات کادمیوم) یافت می‌شود. این عنصر بسیار سمی و به رنگ سفید - به شکل کریستال - و دارای نیمه عمر بسیار زیاد است (۱ و ۲).

آلودگیهای محیطی از طریق این فلز در ارتباط با استخراج آن از معادن، کاربردهای صنعتی آن در صنایع هواپیماسازی، باتری سازی، تولیدات پلاستیکی پلیونیل، رنگرزی و عکاسی، تهیه کودهای شیمیایی، حشره کشها، و استفاده آن در داروهای که برای درمان اختلالات چشم و سالک کاربرد دارند، همه می‌توانند سبب افزایش میزان کادمیوم در چرخه اکولوژیکی شوند. همچنین وجود آن در سیگار نیز قابل توجه است به طوری که هر نخ سیگار محتوی ۲ میلی گرم کادمیوم است که حدود ۱۰ درصد آن جذب می‌شود [۳].

کادمیوم به طور معمول از طریق تنفس (گرد و خاک) یا از طریق گوارش (مواد غذایی و نوشیدنیها) یا از طریق پوست (سفید کننده‌ها) جذب بدن شده و از طریق کلیه‌ها و ادرار و به ندرت از راه تعریق دفع می‌شود [۴]. امروزه مطالعات نشان می‌دهد، فلز سنگین کادمیوم دارای اثرهای سمی متعددی در انسان و حیوانات است [۵]. به نظر می‌رسد ارگان مورد هدف کادمیوم معمولاً کلیه‌ها، کبد و ریه هستند [۸-۴] که از طریق اتصال به پروتئینهای خاص به نام متالوتیونین در خون به این ارگانها رفته و در آنجا تجمع می‌یابند و بدین طریق اثرهای سمی خود را اعمال می‌کنند [۹].

آثار سمی کادمیوم روی ساختمانهای بدن در حیوانات آزمایشگاهی طی مطالعات متعددی بررسی شده است. در سلولهای مختلف مغز، کلیه و کبد موش صحرایی (رت) به عنوان یک ماده کارسینوژن باعث ایجاد نقایص ژنی شده است [۱۰، ۱۱]. نشان داده شده است که ترکیبات کلسیم کالمودولین عامل و آغاز گر همانند سازی DNA است. در صورت وجود دوز بالای یون کادمیوم این فلز جانشین کلسیم شده و ترکیبات جدید کادمیوم - کالمودولین باعث وقوع اشتباهاتی در همانند

سازی DNA می‌شود. آثار تراژونیک کادمیوم روی لوله عصبی [۱۲، ۱۳] چشم [۹]، اندامها، کلیه [۳، ۷، ۸ و ۱۴]، سیستم اسکلتی و سیستم ایمنی [۱۲] مطالعه شده است و گزارشهایی از قبیل تخریب و مرگ سلولهای عصبی، خونریزی در بافتهای مغزی به خصوص در دیواره بطنهای طرفی و نواحی تحت قشری و نازک شدن جدار عروق مغزی، امفالوسل، مینرالیزاسیون بطئی استخوانها، پلیب داکتیلی، عدم تمایز انگشتان و آملیا، فیروز توپولهای کلیوی، مهار پاسخهای ایمنی هومورال و سلولار، تغییر بیان ژن و به دنبال آن القای آپوپتوزیس در سلولها ارایه شده است. اما نقش تراژونیک آن در انسان به طور کامل مشخص نیست [۱۵].

مخچه منشاء اکتودرم عصبی دارد [۱۸-۱۶]، بنابراین با توجه به تاثیرات تراژونیک کادمیوم بر سیستم عصبی [۱۸] و [۱۹]، این ماده می‌تواند باعث تغییرات در سلولهای مخچه شود. مشخص ترین سلول مخچه، سلول پورکنز است که می‌تواند تحت تاثیر آثار مخرب این ماده قرار گیرد.

چون در زمینه آثار کادمیوم بر سلولهای پورکنز قشر مخچه موش صحرایی اطلاعات مفیدی در دسترس نیست، بنابراین در تحقیق حاضر مطالعات مرفومتری با استفاده از میکروسکوپ نوری روی کمیت سلولهای پورکنز قشر مخچه و همچنین بررسیهای کیفی را توسط میکروسکوپ الکترونی روی فراساختار سلولهای پورکنز قشر مخچه در موش صحرایی انجام شد. هدف از این پژوهش پی بردن به این موضوع است که مصرف کادمیوم چه تغییرات ساختاری و فراساختاری بر سلولهای پورکنز قشر مخچه ایجاد می‌نماید. نتایج حاصل می‌تواند برای افزایش دانش بشر نسبت به تاثیرات سوء کادمیوم و آلاینده‌های زیست محیطی و پیشگیری از عوارض احتمالی و نیز استفاده آگاهانه و محدودتر از این مواد کاربرد داشته باشد.

## مواد و روشها

### مدل بیولوژیکی و مراحل آزمایش

تعداد ۴۰ سرموش صحرایی ماده سه ماهه از نژاد Wistar تحت

در سه منطقه مختلف از لوبهای ۱ و ۲ مخچه شمارش و گزارش شدند.

### آماده سازی و بررسی نمونه‌ها توسط میکروسکوپ الکترونی

به منظور مطالعه با میکروسکوپ الکترونی، در روز ۴ بعد از تولد (زمان آرایش نهایی سلولهای پورکنژ مخچه)، از هر گروه ۶ نوزاد به صورت تصادفی انتخاب شده و با اتر بیهوش شدند. بعد از پرفیوژن با گلو تار آلدهید ۲/۵ درصد، سر آنها از بدن جدا شد و در تثبیت کننده ۲/۵ درصد به مدت ۴۸-۲۴ ساعت قرار گرفت. بعد از تهیه قطعات میلی متری از ناحیه مورد نظر بافت، آنها به تثبیت کننده ثانویه تتراکسیداسمیوم منتقل شدند. بعد از شستشو و آبگیری با استون سریال، در نهایت با آپوکسی رزین آغشته گشته و سپس قالب گیری شدند. در مرحله برش گیری، با کمک دستگاه اولترامیکروتوم - مدل Iccatractuct - و چاقوی شیشه ای مثلثی شکل، برشهای نیمه نازک ۵۰۰ نانومتری از بافت مخچه تهیه و با رنگ تولوئیدین بلو رنگ آمیزی شدند. بعد از پیدا کردن موضع مورد نظر، برشهای نازک ۵۰ نانومتری تهیه و بر روی گرید منتقل شدند. سپس با اورانیل استات و سیترات سرب، نمونه‌های حاصل رنگ آمیزی و مطالعه شدند.

### آنالیز آماری داده‌ها

اطلاعات جمع آوری شده، به نرم افزار آماری SPSS وارد و آنالیز شد. برای این منظور در آنالیز توصیفی از شاخصهای فراوانی، میانگین و انحراف از معیار و SEM استفاده شد و برای تحلیل نتایج نیز از آزمون آماری One Way ANOVA استفاده شد و  $P < 0.05$  در نظر گرفته شد.

### یافته‌ها

#### یافته‌های ماکروسکوپی

بررسیهای صورت گرفته در چهار گروه، آزمایشی I و آزمایشی II، کنترل I و کنترل II بیانگر آن است که تزریق کلرید کادمیوم به صورت داخل صفاقی، نه تنها باعث کندی رشد و کاهش

شرایط محیطی (از نظر روشنایی و تاریکی) و تغذیه ای مناسب و استاندارد قرار گرفتند. موشهای ماده به نسبت سه به یک با موشهای نر، شبانه در قفس مشخص جفت شدند. روز بعد با مشاهده پلاک واژینال به عنوان روز صفر بارداری محسوب شد. در ادامه، موشهای باردار به صورت تصادفی به چهار گروه ده تایی، شامل: آزمایشی I، آزمایشی II، کنترل I و کنترل II تقسیم شدند. در روز ۸ بارداری (زمان تکامل مخچه) [۱۸] به گروه آزمایشی I مقدار دوز [۶] ۳mg/kg و در روز ۱۶ بارداری (زمان شروع رشد سلولهای پورکنژ مخچه) [۱۸] به گروه آزمایشی II با همان دوز - ۳mg/kg - به روش داخل صفاقی، کلرید کادمیوم تزریق شد. برای گروههای کنترل I و II نیز به ترتیب در روزهای ۸ و ۱۶ بارداری سرم نرمال سالین تزریق شد.

### آماده سازی و بررسی نمونه‌ها توسط میکروسکوپ نوری

به منظور مطالعه با میکروسکوپ نوری در روز چهار بعد از تولد (زمان آرایش نهایی سلولهای پورکنژ مخچه)، از هر گروه ۱۰ نوزاد به صورت تصادفی انتخاب شده و با اتر بیهوش شدند. پوست در ناحیه سینه باز و استرونوم و دنده‌ها جهت نمایاندن قلب برش داده شدند. سپس از طریق بطن چپ با کمک محلول تثبیت کننده گلو تار آلدهید ۲/۵ درصد پرفیوژن شدند [۶]. بعد از ثبوت و جدا کردن مخچه‌ها از سایر قسمتهای مغز، نمونه‌ها به طور سائیتال و با رعایت سطح فوقانی و تحتانی در داخل قالب پارافین قرار گرفتند تا هنگام برش، مقاطع کاملا سائیتال از مخچه تهیه شود. بعد از تهیه قالب، برش گیری توسط دستگاه میکرو توم نوع leitz انجام شد و برشهای سریال به ضخامت ۹ میکرون (اندازه سلولهای پورکنژ قشر مخچه) تهیه شد و سپس نمونه‌ها به نسبت ۱ به ۳ روی لام آورده شد و بعد از رنگ آمیزی با H&E و تولوئیدین بلو، از طریق تکنیک مرفومتی و با بالاترین بزرگنمایی که میدان دید میکروسکوپ نوری اجازه می داد، با کمک گراتیکول چشمی تعداد سلولهای پورکنژ قشر مخچه، برای افزایش دقت مطالعه،

معنی‌داری را نشان دادند ( $P < 0.000$ ). جدول ۱ بیانگر این نتایج است.

### یافته‌های میکروسکوپی نوری

با استفاده از قطعه چشمی مدرج و با بزرگنمایی ۴۰۰ تعداد سلولهای پورکنژ قشر مخچه (نزدیک به منطقه برجستگیهای فوقانی لوبهای ۱ و ۲) در سه منطقه مشخص شمارش شد. در مقایسه تعداد سلولهای پورکنژ در گروه آزمایشی I، نسبت به گروه کنترل I اختلاف آماری معنی‌دار ( $P < 0.0003$ ) مشاهده شد. چنین اختلاف معنی‌داری در مقایسه تعداد سلولهای پورکنژ در گروه آزمایشی II، نسبت به گروه کنترل II با ( $P < 0.0005$ ) نیز مشاهده شد. همچنین تعداد سلولهای پورکنژ قشر مخچه در دو گروه آزمایشی I و II نیز نسبت به هم تغییرات معنی‌داری ( $P < 0.003$ ) را نشان می‌داد. در صورتی که تعداد سلولهای پورکنژ در گروههای کنترل I و II نسبت به هم تغییرات معنی‌داری را نشان نمی‌داد (جدول ۲ و شکل ۱).

وزن نوزدان می‌شود بلکه باعث یک سری ناهنجاریهایی از جمله عدم تمایز انگشتان و سقط و آملیا و کاهش تعداد نوزادان می‌شود. به گونه‌ای که در گروه آزمایشی I کاهش وزن و کاهش تعداد نوزادان بسیار محسوس است. داده‌های خام مربوط به وزن نوزادان موش صحرایی در چهار گروه کنترل I و II و آزمایش I و II تجزیه و تحلیل شد. نتایج حاصل از مقایسه میانگین وزن نوزادان در بین گروههای آزمایشی I (تزریق کادمیوم در روز ۸ بارداری) و کنترل I (تزریق سرم فیزیولوژیکی در روز ۸ بار داری) تغییرات معنی‌داری ( $P < 0.0003$ ) را نشان می‌داد یعنی تزریق کادمیوم باعث کاهش وزن نوزادان شده است. همین نتایج در مورد گروه آزمایشی II (تزریق کادمیوم در روز ۱۶ بار داری) در مقایسه با کنترل II (تزریق سرم فیزیولوژیکی در روز ۱۶ بارداری) نیز به دست آمد. یعنی تزریق کادمیوم در این گروه نیز باعث کاهش وزن نوزادان شده است ( $P < 0.0002$ ). نتایج این بررسیها در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱. مقایسه وزن، طول فرق سری - نشیمنگاهی CR و تعداد نوزادان در چهار گروه کنترل I و II و آزمایشی I و II

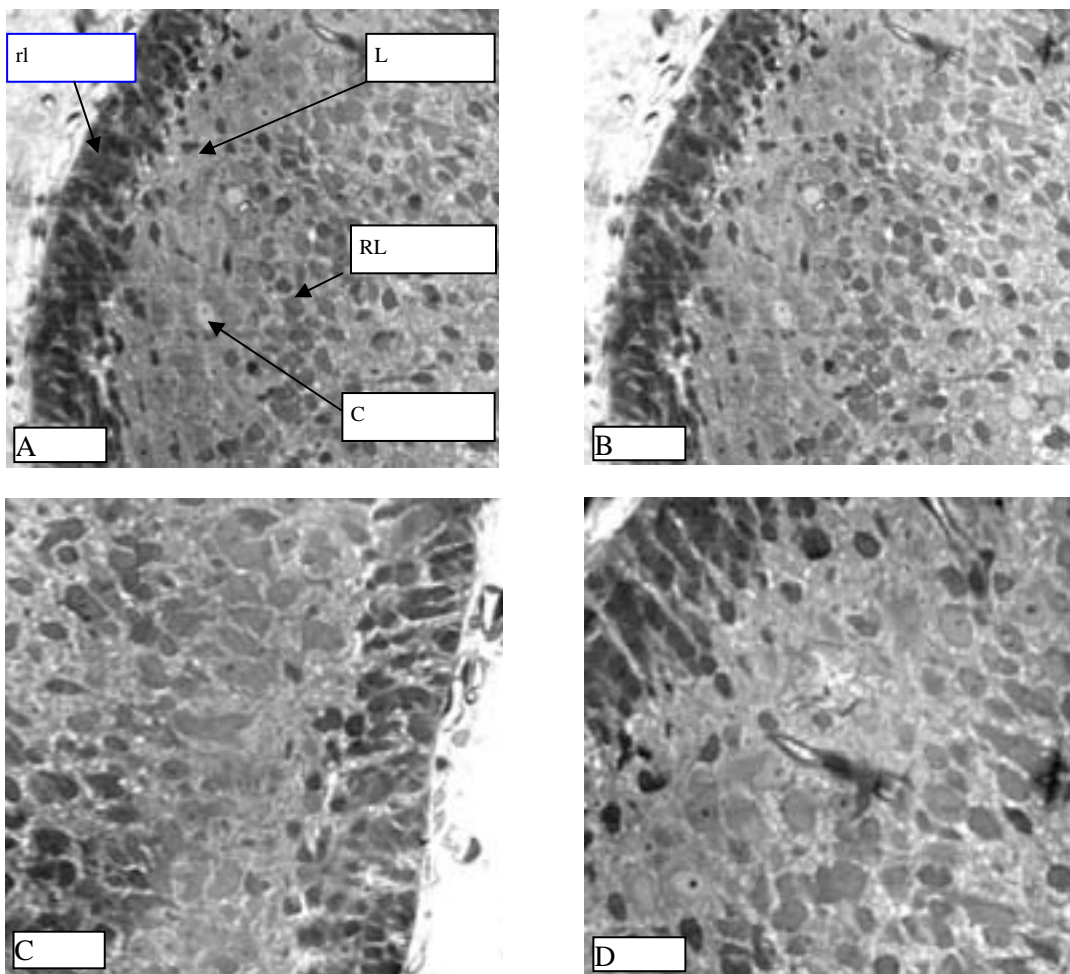
گروهها متغیرها	کنترل I	آزمایشی I	کنترل II	آزمایشی II
تعداد نوزادان حاصله در گروهها	۶۱	۲۱	۶۹	۴۲
طول فرق سری-نشیمنگاهی نوزادان (میلی متر)	۶/۴۵±۰/۶۴	۴/۶۵±۰/۷۷	۶/۶۵±۰/۵۵	۵/۴۳±۰/۷۳
وزن نوزادان (گرم)	۸/۴۳±۰/۷۶	۵/۱۵±۱/۰۷	۸/۷±۰/۸۰	۶/۷±۰/۸۱
P value	P<0.000		P<0.005	

علاوه بر کاهش تعداد سلولهای پورکنژ، در مطالعات میکروسکوپییک علایمی از مرگ سلولی همراه با تراکم هسته و افزایش فضای خارج سلولی و نیز بی‌نظمیهای سلولی (قرار گرفتن نامنظم و غیر معمول سلولها در لایه پورکنژ قشر مخچه) مشاهده شد (شکل ۱).

طول فرق سری - نشیمنگاهی CR (Rumpt-Crown) تمام نوزادان قبل از پرفیوژن باکولیس اندازه‌گیری شد. سپس طول CR در چهار گروه آزمایش I و II، کنترل I و II تجزیه و تحلیل شد. در این مورد گروه آزمایش I، نسبت به گروه کنترل I و نیز گروه آزمایش II، نسبت به گروه کنترل II کاهش

جدول ۲. مقایسه تعداد سلولهای پورکنژ قشر مخچه و آرایش سلولهای پورکنژ قشر مخچه در چهار گروه کنترل I, II و آزمایشی I و II

متغیرها	گروهها			
	کنترل I	آزمایشی I	کنترل II	آزمایشی II
تعداد سلولهای پورکنژ قشر مخچه (در واحد میکرومتر مربع)	۶/۶۱±۰/۶۹	۵/۸۷±۰/۶۶	۶/۸۰±۰/۳۷	۶/۳۶±۰/۸۰
آرایش نهائی سلولهای پورکنژ قشر مخچه	منظم	نامنظم	منظم	نامنظم
P value	P<0.0001		P<0.005	



شکل ۱. مقایسه تعداد سلول های پورکنژ و شکل آنها در گروههای مختلف مورد مطالعه

لایه دانه: rl و لایه دانه دار: RL, سلول: C, لایه: L

- A: تصویری از قشر مخچه در نوزاد ۴ روزه موش صحرائی. گروه کنترل I, بزرگنمایی: ۴۰۰  
 B: تصویری از قشر مخچه در نوزاد ۴ روزه موش صحرائی. گروه کنترل II, بزرگنمایی: ۴۰۰  
 C: تصویری از قشر مخچه در نوزاد ۴ روزه موش صحرائی. گروه آزمایشی I, بزرگنمایی: ۴۰۰  
 D: تصویری از قشر مخچه در نوزاد ۴ روزه موش صحرائی. گروه آزمایشی II, بزرگنمایی: ۴۰۰

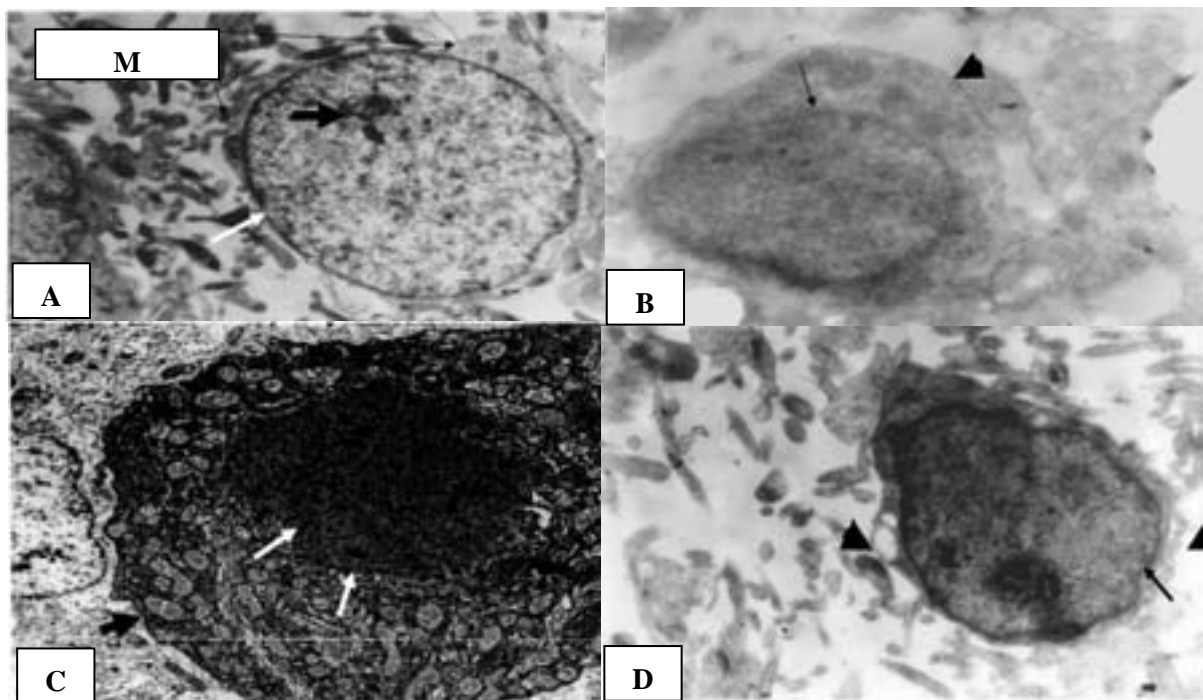
## یافته‌های میکروسکوپ الکترونی

در این بخش ویژگیهای فراساختاری سلولهای پورکنز از جمله هسته و میتوکندری آنها بررسی و موارد زیر مشاهده شد:

الف) گروه کنترل: در بررسی گروههای کنترل مشخص شد که سلولهای پورکنز قشر مخچه در نوزاد ۴ روزه موش صحرایی (Rat)، دارای شکل مخروطی با زواید سیتوپلاسمی بسیار کوچک و غشای سیتوپلاسمی یکنواخت و هسته مرکزی یوکروماتین هستند. میتوکندریها در این سلولها حالت گرد و گاهی کشیده داشته و غشای آنها صاف و منظم است. همچنین ماتریکس آن همگن و فاقد واکوئلهای غیر طبیعی بوده، تیغه‌ها نیز به صورت همگن و متوازی در میتوکندری مشاهده می‌شد (شکل‌های A، B و C).

ب) گروه آزمایش: در گروههای آزمایشی، مرگ سلول و

در نهایت تخریب غشای سیتوپلاسمی و جدا شدگیهای این غشا همراه با اجزای سیتوپلاسمی مشاهده می‌شد. همچنین این سلولها، دارای هسته متراکم و محیطی (نزدیک غشای سیتوپلاسمی) بودند. تغییرات دژنراتیو میتوکندریها به صورت ناهمگنی در شکل آنها (اغلب کوچک یا اتساع یافته بودند)، افزایش تراکم، پاره شدگی غشای خارجی آنها و از بین رفتگی کریستها یا وجود کریستهای نامتوازن قابل مشاهده بود. همچنین ماتریکس آنها دارای واکوئلهای غیر طبیعی و اجسام متراکم و شفاف متعددی بود. در این سلولها، میتوکندریها بیشتر در سمت غشای سیتوپلاسمی سلول تجمع یافته بودند (محیطی شدن میتوکندری) و گاهی اوقات نیز قطعات سیتوپلاسمی جدا شده همراه با میتوکندری در آنها رویت می‌شد (شکل‌های C، D و ۲D و ۳D).



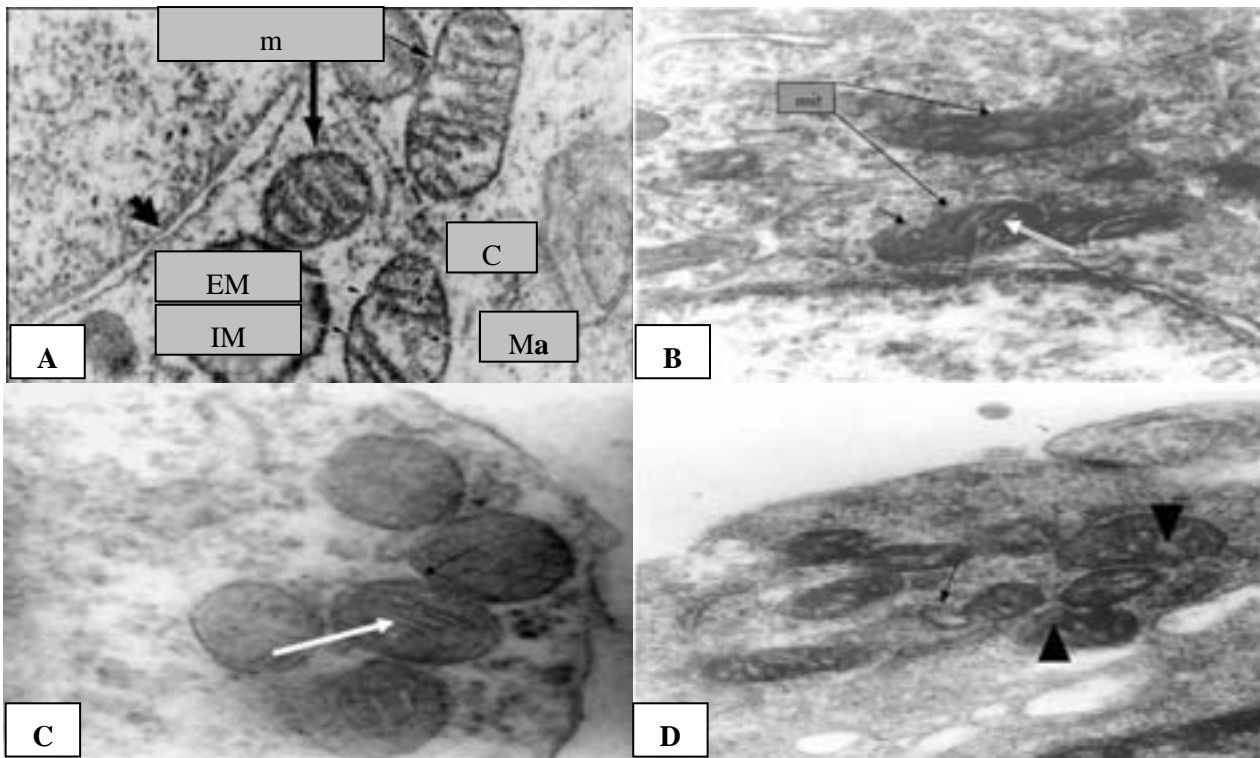
شکل ۲ میکروگرافی از سلول پورکنز قشر مخچه در نوزاد ۴ روزه موش صحرایی در چهار گروه مورد مطالعه (بزرگنمایی ۲۱۰۰۰×)

A: گروه کنترل I، هسته سلول یوکروماتین و کاملاً مشخص (فلش سفید) و هستک آن کاملاً برجسته (سر فلش) است. غشای سیتوپلاسمی: M

B: گروه کنترل II، هسته سلول یوکروماتین و کاملاً مشخص (فلش) و غشای سیتوپلاسمی آن کاملاً یکنواخت است (سر فلش).

C: گروه آزمایشی I، به غشای نامنظم هسته و افزایش تراکم آن توجه کنید (فلش سفید)

D: گروه آزمایشی II، به پارگی غشای سیتوپلاسمی (نوک فلش) و به غشاء نامنظم هسته و افزایش تراکم آن توجه کنید (فلش).



شکل ۲ میکروگرافی از چندین میتوکندری (mit) در سلول پورکنتر قشر مخچه در نوزاد ۴ روزه موش صحرائی در چهار گروه مورد مطالعه بزرگنمایی: ۳۶۰۰۰ ×

IM: غشای داخلی، EM: غشای خارجی، m: میتوکندری، C: تیغه‌ها، Ma: ماتریکس

- A:** گروه کنترل I، به اشکال منظم (فلش) و تیغه های موازی و ماتریکس یکنواخت میتوکندری هاتوجه کنید.
- B:** گروه آزمایشی I، به اشکال غیر طبیعی و پارگی غشاء میتوکندری (سرفلش) و تیغه های نامشخص و ناموازی در آنها (فلش روشن) توجه کنید.
- C:** گروه کنترل II، به اشکال منظم (فلش تیره) و تیغه های موازی و ماتریکس یکنواخت میتوکندری ها (فلش روشن) توجه کنید.
- D:** گروه آزمایشی II، بعضی از میتوکندری ها متراکم شده و کوچک شده اند و بعضی متسع و در داخل آنها واکوتله‌های (سرفلش) مشاهده می گردد به پارگی غشای میتوکندری (فلش نازک) توجه کنید.

## بحث

بعدا منجر به ایجاد ناهنجاریهای مختلف می شود [۲۱]. به طور مثال مطالعات اخیر نشان می دهد اتانول می تواند سبب مرگ سلولهای پورکنتر مخچه با مکانیسم آپوپتوزیس در نوزادان موش صحرائی (رت) شود [۲۲].

در پژوهش حاضر نیز مشخص شد که کادمیوم منجر به قد کوتاه و وزن کم در نوزادان حاصل می شود. مطابق آنچه که در یافته های حاصل از تحقیقات قبلی دیده شد و طبق نظریه یو (Yu) در سال ۱۹۸۵، کلرید کادمیوم به صورت *in vitro* می تواند باعث از بین رفتن نوزادان شود. وی این نظریه را در

در دوره رشد و تمایز، سلولهای عصبی نسبت به مواد مختلف تاثیر پذیر بوده و گاهی این مواد می توانند منجر به آسیبهای مغزی یا سقط جنین شوند [۱ و ۲]. مطالعات گذشته نشان داده است که کلرید کادمیوم به عنوان یک تراتوزن باعث ناهنجاریهای مختلف در مغز می شود [۲۰ و ۲۱]. از طرفی دیگر، سلولهای پورکنتر قشر مخچه که حساس ترین سلولها در بافت مغزی (بسته به مرحله سیکل سلولی) هستند، ممکن است علایم صدمه یا مرگ سلولی را نشان دهند. مرگ سلولی

فعالیت‌های سلولی موثر است [۲۴] و افزایش کادمیوم در رویان باعث آثار تراژونیک در موش می‌شود [۱۹]. محتوای DNA رویانی نیز به دنبال تزریق کادمیوم کاهش می‌یابد. چون یون کادمیوم مشارکت تیمدین با DNA رویانی و نیز انتقال جفتی یون روی رامهار می‌کند، ممکن است این مهار نتیجه مشارکت مستقیم پدیده دوم باشد. از سوی دیگر مهار آنزیم تیمیدین کیناز توسط یون کادمیوم در آزمایشگاه نشان داد که احتمالاً مقادیر اندکی کادمیوم تاثیر مهاری مستقیمی روی این آنزیم دارد [۱۳ و ۱۵]. از سوی دیگر، یکی از پروتئین‌هایی که نقش مهاری روی یون کادمیوم دارد متالوتیونین است [۲۵]. این پروتئین در بافتهای مختلف و اغلب در کبد و کلیه ساخته می‌شود. گفته می‌شود که در دوزهای بالاتر کادمیوم به دلیل اینکه پروتئین‌های بلوک کننده این فلز به میزان کافی ساخته نمی‌شود، این عنصر به راحتی وارد کبد مادر شده و جانشین یونهای کلسیم می‌شود.

همچنین معلوم شده است که ترکیب کلسیم کالمودولین عامل آغازگر دوباره سازی DNA است. کادمیوم به خاطر انتشار یونی برابر با یون کلسیم جایگزین این یون می‌شود. ترکیب جدید کادمیوم کالمودولین باعث وقوع اشتباهاتی در همانند سازی DNA می‌شود [۱۳].

در این تحقیق با بررسی فرا ساختمان سلولهای پورکنژ آپوتوتیک (احتمالاً) با استفاده از میکروسکوپ الکترونی، تعداد زیادی میتوکندری کاملاً بزرگ دیده شد که کریستاهای آنها کم شده بود و واکوئلهایی در داخل آنها وجود داشت. گزارش شده است که در مرحله کروماتولیز و قبل از شروع آپوتوزیس، میتوکندریهای فعال افزایش یافته و در نزدیکی هسته سلول تجمع می‌کنند. ولی در مراحل دیرتر که آپوتوزیس شروع می‌شود، میتوکندریها از بین رفته و تعداد آنها کاهش می‌یابد و به محیط رانده می‌شود [۱۲ و ۲۶]. در حین آپوتوزیس در نورونهای بالغ، میتوکندریها به طور فزاینده ای آسیب می‌بینند، که از بین رفتن فعالیت اکسیداتیو سیتوکروم C، تورم و کروماتولیز میتوکندریها همزمان با وقایع سیتوپلاسمی آپوتوزیس مشاهده می‌شود [۲۶ و ۲۷]. تجمع زیاد میتوکندریها

شرایط *in vitro* بررسی و مشاهده کرده است که کادمیوم علاوه بر اثر کشندگی می‌تواند باعث کاهش وزن و کوتاه ماندن طول CR شود [۲۳]. همچنین در مطالعات انجام شده مشخص شد که در اثر دوز زیاد کلرید کادمیوم نفوذ پذیری سلولهای پرزه‌های روده نسبت به کادمیوم افزایش می‌یابد [۱۶]. در داخل سلولها پروتئینهای دارای وزن ملکولی کم مانند متالوتیونین که می‌تواند با کادمیوم پیوند برقرار نمایند، مؤثر هستند. این پروتئینها در پاسخ به حضور مقادیر کم کادمیوم بیشتر شده و آن را در سیتوزول محبوس می‌کنند، در غیر این صورت در حضور مقادیر زیاد کادمیوم فقط قسمتی از کادمیوم با پروتئین اتصال یافته و نمی‌تواند اثر سمی خود را اعمال کند، در حالی که بقیه کادمیوم با عبور از جفت و ورود به خون آثار سمی خود را القا می‌کند [۶ و ۲۰] و باعث ناهنجاریهای مختلف از طریق تاثیر بر ساختار سلولی ارگان هدف می‌شود. یکی از آثار تراژونیک کادمیوم تخریب سلولهای مغزی است [۹] که در اثر آن تعداد سلولهای مغزی نیز کاسته می‌شود. در تحقیق حاضر مشخص شد که تزریق کادمیوم به موشهای صحرایی ماده باردار باعث کاهش تعداد سلولهای پورکنژ قشر مخچه شده و در آن مناطق مرگ سلولی و نیز افزایش فضای خارج سلولی مشاهده می‌شود. چنین تغییراتی در مطالعات افراد دیگری که روی سلولهای دیگر ارگانها از جمله هیپاتوسیت‌های موش صحرایی [۱۱]، سلولهای عصبی [۹]، سلولهای کلیوی [۱۰]، سلولهای مختلف ایمنی [۱۲]، سلولهای دانه دار مخچه [۲۱]، و ماکروفازهای خون انجام شده که بیانگر نتایج یکسانی است. در یک پژوهش نیز نشان داده شد که اثر سمی کادمیوم منجر به تغییرات بافت شناسی در سلولهای پورکنژ مخچه گوسفند (sheep) می‌شود [۸].

از طرف دیگر چنی برمی‌آید که به دنبال وقوع مرگ سلولی حاصل از کاتابولیس کروماتین از سوللهی مرده در فضای خارج سلولی آزاد شود [۱۴] و بدین ترتیب فضای بین سلولی افزایش می‌یابد که در تحقیق حاضر نیز نتایج مشابهی به دست آمد.

همان گونه که ذکر شد، کادمیوم بر تکثیر، تمایز و سایر



در رشد و نمو نوزادان موش صحرایی، باعث ایجاد تغییرات دژنراتیو و کاهش تعداد سلولهای پورکنز قشر مخچه و ایجاد مرگ سلولی و به احتمال زیاد آپوپتوزیس در آنها در نوزادان ۴ روزه حاصل از موشهای صحرایی تحت مطالعه با کلرید کادمیوم می شود. ضمن آن که پیشنهاد می شود با انجام مطالعاتی در زمینه بررسی آثار کادمیوم روی سلولهای پورکنز قشر مخچه، در مراحل مختلف تکامل و به روشهای ایمنو هیستوشیمی، با روشن شدن بیشتر آثار کادمیوم، بتوان تصمیم صحیحی در راستای پیشگیری از عوارض و نیز استفاده آگاهانه و محدودتر از چنین موادی اتخاذ کرد.

## References

1. **Shapiro J, Gordon.** The neurotoxicity of cadmium. Chemistry 131; 2000 December 8<sup>th</sup>  
<http://www.uvm.edu/~swgordon/131-00/131-webproj/jshapiro/shapiro.htm> visited on 21 May 2005
2. **Carmichael NG, Backhouse BL, Winder C, Lewis PD.** Teratogenicity, toxicity and perinatal effects of cadmium. Hum Toxicol 1982; 1(2): 159-86.
3. **Elinder CG, Lind B, Linmann L, Sundstedt K.** Cadmium exposure from smoking cigarettes : variation with time and country where purchased. Environ Res 1983; 32:220-7.
4. **Tetsuo Y, Mitsuru S, Tsutomu N.** Comparative effects of repeated administration of cadmium on kidney, spleen, thymus & bone marrow in 2-4 and 8-month old male rats. Toxicol Sci 1998; 46: 393-402.
5. **Smalinskiene A, Gaileviciute R, Lesauskaite V, Sadauskiene I, Abdrakhmanov O, Ivanov L.** Effects of cadmium and zinc ions on mitotic activity and protein synthesis in mouse liver. Medicina (Kaunas) 2005; 41(6):506-11.
6. **Choudhuri S, Liu WL, Berman NE, Klassen CD.** Cadmium accumulation and metallothionein expression in brain of mice at different stages of development. Toxicol Lett 1996; 84(3):127-33.
7. **Nishijo M, Nakagawa H, Morikawa Y, Kuriwaki J, Katsuyuki M, Kido T, Nogawa K.** Mortality in a cadmium polluted area in Japan. Biometals 2004; 17(5):535-8.
8. **Stoev SD, Grozeva N, Simeonov R, Borisov I, Hubenov H, Nikolov Y, Tsaneva M, Lazarova S.** Experimental cadmium poisoning in sheep. Exp Toxicol Pathol 2003; 55(4):309-14.
9. **Goering PL, Waalkes MP, Klassen CD.** Toxicology of cadmium, Toxicology of metals. Biochemical Aspects (Handbook of Experimental pharmacology) Springer-Verlag 1995; 115:189-213.
10. **Elinder CG.** Cadmium and health: a toxicological appraisal. Chapter 3 . C.R.C press Boca Raton, Florida 1985; p 137.
11. **Carmichael NG, Backhouse BL, Winder C, Lewis PD.** Teratogenicity , toxicity and perinatal effects of cadmium. Hum Toxicol 1982; 1(2):159-86.
12. **Ritz B, Heinrich J, Wist M, Wichmann E, Krause C.** Effect of cadmium burden on immune response of school children. Arch Environ Health 1998; 53(4): 272-9.

13. **Webster W, Angelo AV.** The toxic effects of cadmium on the neonatal mouse CNS. *J Neuropathol and Neurology* 1981;247-57.
14. **Biagioli M, Watjen W, Beyersmann D, Zoncu R, Cappellini C, Raghianti M, Cremisi F, Bucci S.** Cadmium induced apoptosis in murine fibroblasts in suppressed by Bcl-2. *Arch Toxicol* 2001; 75:313-20.
15. **Christley WS, Webster W.** Cadmium uptake and distribution in mice embryos following maternal exposure during the organogenic period: a scintillation & autoradiographic study. *J Teratol* 1983:305-12.
16. **Altman J, Bayer SA.** Embryonic development of the rat cerebellum. III. Regional differences in the time of origin, migration and settling of purkinje cells. *J Comp Neural* 1985; 231:42-65.
17. **Altman J, Winferee AT.** Postnatal development of the cerebellar cortex in the rat. V. Spatial organization of the purkinje cell perikarya. *J Comp Neural* 1977; 171:1-16.
18. **Carol L, Armstrong, Hawkes R.** Pattern formation in the cerebellar cortex. *Biochem Cell Biol* 2000; 78:551-62.
19. Agency for toxic substances & disease registry (ATSDR). Toxicological profile for cadmium. Atlanta, US. Department of Health and human Services, Public Health service 1993.
20. **Fem R, Black JA, Ransom BR, Waxas G.** Cd(2+)-induced injury in CNS white matter. *J Neurophysiol* 1996; 76(5):3264-73.
21. **Antonio MT, Lopez N, Leret ML.** Pb and cadmium poisoning during development alters cerebellar and striatal function in rats. 2002; 176: 59-66.
22. **Dikranian K, Qin YQ, Labruyere J, Nemmers B, Olney JW.** Ethanol-induced neuroapoptosis in the developing rodent cerebellum and related brain stem structures. *Brain Res Dev Brain Res* 2005; 155(1): 1-13.
23. **Yu HS, Tam PPL, Chan STH.** Effects of cadmium on preimplant mouse embryos in vitro with special reference to their implantation capacity and subsequent development. *Teratology* 1985; 32(3): 342-53.
24. **Waisberg M, Joseph P, Hale B, Beyersmann D.** Molecular and cellular mechanisms of cadmium carcinogenesis. *Toxicology* 2003; 192: 95-117.
25. **Trace EK, Raymend B.** Central nervous system lesion in the wistar rat fetus following direct fetal injection of Cd. *Teratology* 1990; 42: 7-13.
26. **Baguslaw S, Sowa, Steibert E.** Effect of cadmium administration to female rat during pregnancy on zinc, coper & iron: Content in placenta, intestine and brain. *Arch Toxicol* 1985; 56:256-62.
27. **Martin LJ, Price AC, Kaiser A, Shaikh AY, Liu Z.** Mechanisms for neural degeneration in amyotrophic lateral sclerosis and in models of motor neuron death. *Int J Mol Med* 2000; 5:3-13.
28. **Shih YL, Lin CJ, Hsu SW, Wang SH, Chen WL, Lee MT, Wei YH, Shih CM.** Cadmium toxicity toward caspase-independent apoptosis through the mitochondria-calcium pathway in mtDNA-depleted cells. *Ann N Y Acad Sci* 2005; 1042:497-505.