

بررسی اثر کلرید کادمیوم در دوران جنینی بر گناد نر و مطالعه هیستولوژیکی گناد در دوران بلوغ

عبدالحسین شیروی *، کاظم پریور *، غلامحسین ریاضی *، شهریانو عریان *

خلاصه:

در این تحقیق اثر کلرید کادمیوم در دوران جنینی و اثرات آن پس از تولد بر تغییرات بافتی بیضه و اسپرماتوزنر مورد بررسی قرار گرفت. حیوانات گروه تجربی در دو گروه به ترتیب ۴ و ۸ میلی گرم بر کیلو گرم وزن حیوان، کلرید کادمیوم را بصورت تزریق زیر جلدی در روزهای ۸/۵، ۱۰/۵، ۱۲/۵، ۱۴/۵ دوران بارداری دریافت کردند. در همین زمان به گروه شاهد سرم فیزیولوژی تزریق شد. نتایج بدست آمده نشان میدهد که در دوز ۴ میلی گرم کلرید کادمیوم تغییرات معنی داری در پارامترهای اندازه گیری شده بین گروه شاهد و تجربی بوجود نیامده است. مطالعات انجام شده در دوز ۸ میلی گرم نشان میدهد که وزن و حجم بیضه، اسپرمهای اپیدیدیم، قطر لوله های اسپرم ساز، کاهش معنی داری را نسبت به گروه شاهد از خود نشان میدهند. مطالعات انجام شده در مورد تغییرات سلولی در لوله های اسپرم ساز نشان میدهد که در تعداد سلولهای سرتولی تغییرات معنی داری بوجود نیامده هر چند که در تعداد سلولهای اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت اولیه و اسپرماتید کاهش معنی داری بوجود آمده است.

واژه های کلیدی: ایران، تهران، دانشگاه تربیت معلم Cadmium chloride, Testis, Gonad, Rat

مقدمه:

موش باردار در دوره میانه بارداری

(Midgestation) منجر به مرگ جنینی، ناهنجاری و اختلال در رشد و نمو جنین می شود. (Chiquoine, 1965).

بعد از لانه گزینی جنین، کادمیوم میتواند از جفت عبور کرده و در بافتهای مختلف بدن جنین جایگزین شود. (Wolkowski 1974) نکرور شدن ساختمان جفت بدنیاال تجویز کادمیوم منجر به اختلال در رشد و نمو جنین می گردد. (Parizek 1965 Levin 1981) تجویز کادمیوم به موش باردار منجر به اختلال در رشد و نمو جنین، افزایش جذب جنین ها، کاهش وزن و

کادمیوم به عنوان یکی از فلزات سنگین و سمی در زندگی انسان کاربرد وسیعی پیدا نموده است و جا دارد که تحقیقات وسیعی در زمینه چگونگی راههای ورود آن به بدن همچنین اثرات بیولوژیکی گوناگونی را که میتواند از خود بر جای بگذارد صورت گیرد.

گزارشات موجود در مورد اثرات بیولوژیکی کادمیوم مبین این واقعیت است که این ماده در سطح گسترده ای میتواند سیستم های بیولوژیکی را تحت تأثیر قرار دهد. در این رابطه توجه به روند تکوین جنین نیز از جایگاه ویژه ای برخوردار است. کادمیوم در

در صبح روز بعد بود. حیوانات ماده گروه شاهد در روزهای ۸/۵، ۱۰/۵، ۱۲/۵ و ۱۴/۵ بارداری سرم فیزیولوژی را بعنوان حلال کلرید کادمیوم بصورت تزریق زیر جلدی دریافت می نمودند. به یک گروه از حیوانات ماده تجربی (گروه تجربی یک) در روزهای ذکر شده هر روز مقدار یک mg/kg وزن کلرید کادمیوم را بصورت تزریق زیر جلدی و در مجموع ۴ میلی گرم انجام می شد و گروه دوم تجربی در روزهای ذکر شده، هر روز مقدار 2 mg/kg وزن بدن، کلرید کادمیوم و در مجموع ۸ میلی گرم را دریافت مینمودند. بعد از تولد، از نوزادان نر گروه های شاهد و تجربی مراقبت بعمل آمد تا به سن بلوغ برسند. سپس از حیوانات گروه شاهد و تجربی، بیضه ها خارج شده و از نظر وزن و حجم بیضه، تغییرات بافتی، وزن اپیدیدیم و تعداد اسپرمهای موجود در اپیدیدیم مورد بررسی قرار می گرفتند و از داده های بدست آمده تجزیه و تحلیل آماری صورت می گرفت.

نتایج:

در این تحقیق، هدف، بررسی اثرات کلرید کادمیوم با دوزهای متفاوت ۴ و ۸ میلی گرم بر کیلو گرم وزن حیوان در دوران جنینی بر تکوین گناد نر و فعالیت فیزیولوژیکی آن پس از تولد در دوران بلوغ است. پارامترهایی که در این رابطه مورد بررسی قرار گرفته اند شامل وزن و حجم بیضه، وزن اپیدیدیم، اسپرمهای موجود در اپیدیدیم، تغییر لوله های اسپرم ساز، تغییرات سلولی در لوله ها شامل سلولهای سرتولی، اسپرمانوگونی، اسپرماتوسیت اولیه و اسپرماتید می باشد. نتایج حاصل نشان میدهد که در دوز ۴ میلی گرم (گروه تجربی یک) تغییرات معنی داری در پارامترهای مورد مطالعه بوجود نیامده است. نتایج بدست آمده از تجویز دوز ۸ میلی گرم (گروه تجربی ۲) نشان میدهد که وزن و حجم بیضه کاهش معنی داری نسبت به گروه

افزایش ناهنجاریهایی در اندامهای حرکتی، دستگاه اسکلتی و لوله عصبی میگردد (Layton 1979, webster 1980). تجویز کادمیوم در روز هفتم بارداری در موش سفید کوچک منجر به آگزنسفال شدید، لب شکری، کام شکری، سینداکتیلی، پلی داکتیلی، اولیگو داکتیلی، میکرو فتالمی، آنوفتالمی، عدم تشکیل گوش خارجی و کوچک ماندن غضروف پارکودال میگردد. (Parivar & pilechian, 1989) یکی از علائم در مسمومیت های حاد با کادمیوم در حیوانات آزمایشگاهی، نکروز و تخریب بافت بیضه ها میباشد. حساسیت دستگاه تولید مثل نسبت به کادمیوم وابسته به سن می باشد بطوریکه در حیوانات بالغ اثر کادمیوم بر این دستگاه شدید تر نسبت به حیوانات نابالغ است. (Lahtonen 1985). کادمیوم همچنین میتواند منجر به فلیایی شدن مایعات بیضه و اپیدیدیم، یک روز پس از تزریق شود. پیشنهاد شده است که فلیایی شدن مایعات شاید بدلیل تحلیل رفتن ساختمان بیضه در ارتباط با مهار ترشح آندروژن توسط سلولهای لیدیگ باشد. (Cullisch 1991). در این تحقیق اثر کلرید کادمیوم در دوران جنینی بر تکوین دستگاه تولید مثل نر مورد بررسی قرار گرفته است.

روش کار:

حیوانات در سه گروه شامل دو گروه تجربی و یک گروه شاهد انتخاب شدند. هر گروه شامل پنج موش رت ماده و پنج موش نر بالغ از نژاد wistar بودند. حیوانات در شرایط دمایی ۲۳ - ۲۱ درجه سانتیگراد و دوره نوری - تاریکی ۱۲ - ۱۲ ساعت و آب و غذا بصورت یکسان نگه داری می شدند. حیوانات گروه شاهد و تجربی ماده با حیوانات نر آمیزش داده می شدند و شاخص جفت گیری مشاهده در پوش مهلی (vaginal plug) و با مشاهده اسپرم در واژن

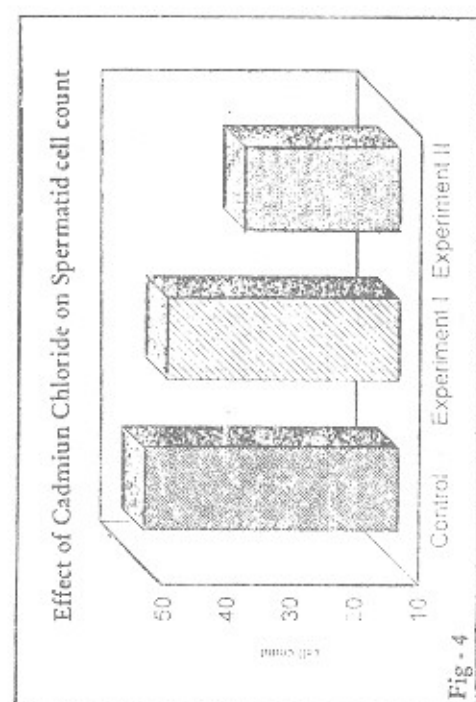
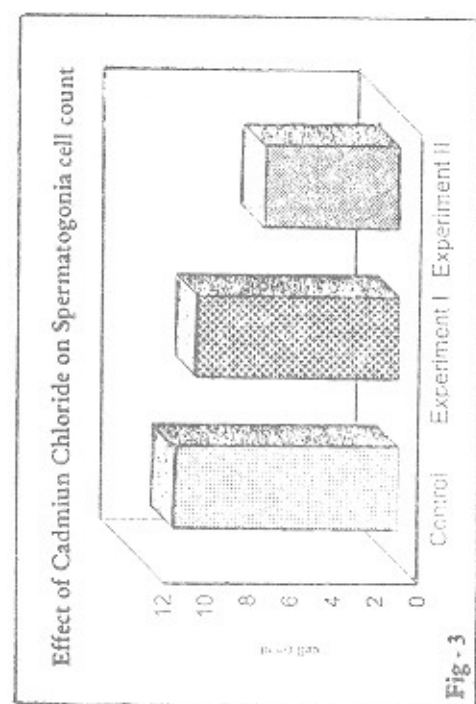
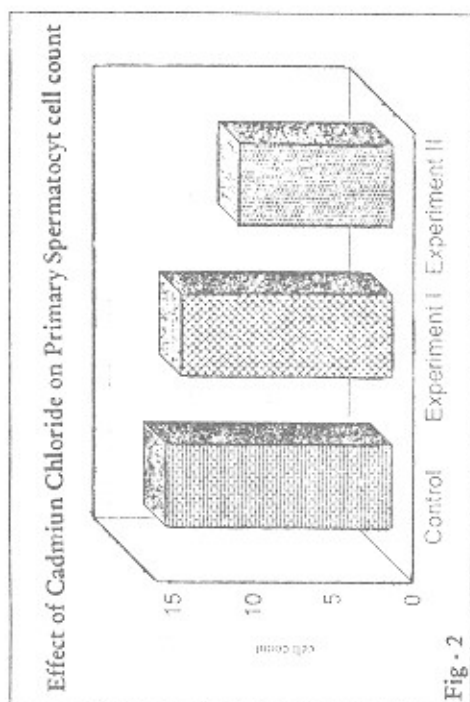
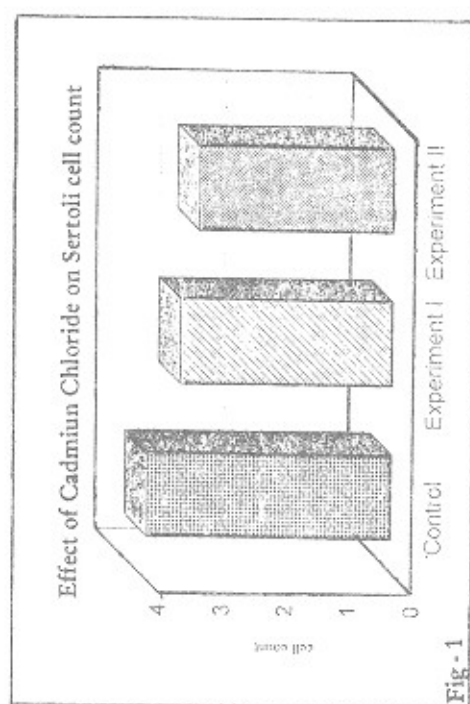
همبستگی وجود دارد. بطوریکه کاهش تولید اسپرم توسط بیضه میتواند منجر به کاهش وزن این اندام گردد (Almquist 1961). در تحقیق حاضر کاهش معنی داری در تعداد اسپرمهای موجود در اپیدیدیم مشاهده می شود که با کاهش وزن بیضه همبستگی معنی داری دارد. از طرفی در بررسی بافت بیضه نیز کاهش معنی داری در قطر لوله های اسپرم ساز دیده می شود.

بنابراین کاهش قطر لوله های اسپرم ساز و کاهش تولید اسپرم توسط بیضه میتواند علل کاهش وزن و حجم بیضه باشند. در تحقیق حاضر نشان داده شده است که تجویز کادمیوم منجر به تخریب و کاهش تعداد سلولهای ژرمینال در لوله های اسپرم ساز می شود. بنابراین بنظر میرسد که کاهش قطر لوله های اسپرم ساز میتواند مربوط به تخریب سلولهای ژرمینال و اختلال در تکوین و شکل گیری این سلولها در لوله های اسپرم ساز باشد. Parizek در سالهای 1957 و 1960 نکروز شدن بافت بیضه را ناشی از دو علت میدانست یکی توقف گردش خون در بافت بیضه و دوم تأثیر کادمیوم بر سلولهای ژرمینال در لوله های اسپرم ساز. شایان ذکر است که نظرات Parizek مربوط به تأثیر کادمیوم در حیوان بالغ بوده است. در این پژوهش با توجه به زمان تجویز کادمیوم در دوران بارداری و اینکه گناد جنین در حال شکل گیری و تکوین می باشد بنظر میرسد که از حساسیت زیادی نسبت به ترکیبات سمی برخوردار است و اثرات کادمیوم در این زمان میتواند به شدت سلولهایی را که در تکوین گناد نقش دارند تحت تأثیر قرار دهد. نتایجی که در این پژوهش بدست آمد نیز نشان میدهد که کاهش معنی داری در سلولهای ژرمینال شامل سلولهای اسپرماتوگونی و اسپرماتوسیت اولیه و اسپرماتید نسبت به گروه شاهد بوجود آمده است. علیرغم اینکه روند اسپرماتوژنز در لوله های اسپرم ساز در حال انجام است ولی بطور کلی این فعالیت بدلیل کاهش سلولهای ژرمینال اولیه در این لوله ها در سطحی

شاهد داشته است. همچنین قطر لوله های اسپرم ساز نیز کاهش معنی داری نسبت به گروه شاهد از خود نشان میدهد. (جدول یک) در بررسی تغییرات وزن اپیدیدیم هر چند که تغییر معنی داری در وزن آن نسبت به گروه شاهد نداشته ایم ولی تعداد اسپرمهای موجود در اپیدیدیم کاهش معنی داری را نسبت به گروه شاهد از خود نشان میدهد. آزمون ضریب همبستگی بین وزن بیضه و تعداد اسپرمهای موجود در اپیدیدیم نشان میدهد که بین آنها همبستگی مثبت وجود داشته که مقدار آن در گروه کنترل برابر $(r=0.824 \quad p < 0.01)$ محاسبه در گروه تجربی $(r=0.865 \quad p < 0.01)$ گردید. در مطالعات انجام شده در دوز ۸ میلی گرم، هر چند در تعداد سلولهای سرتولی تغییرات معنی داری بوجود نیامده است ولی سلولهای ژرمینال موجود در لوله ها شامل سلولهای اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت اولیه و اسپرماتید کاهش معنی داری را نسبت به گروه شاهد از خود نشان میدهند. (جدول شماره ۲ و هیستوگرامهای شماره ۱ الی ۴).

بحث:

در طول چند دهه اخیر تحقیقات زیادی در زمینه اهمیت و تأثیر کادمیوم در سیستمهای بیولوژیکی صورت گرفته است. بسیاری از محققین علم جنین شناسی تحقیقات گستردهای را در جهت بررسی تأثیر این عنصر بر دوره تکوین موجودات زنده و مشکلاتی که بعد از تولد با آن روبرو مییاشد انجام داده اند. (Tam 1985, parivar 1989). تحقیقات نشان میدهد که کادمیوم قادر به عبور از جفت بوده و جنین حساسیت زیادی به این ماده از خود نشان میدهد. (Dencker 1975) در این پژوهش کاهش معنی داری در وزن و حجم بیضه بوجود آمده است که این نتیجه با کار Laskey در سال ۱۹۸۴ مطابقت دارد. تحقیقات نشان میدهد که بین تولید اسپرم و وزن بیضه ارتباط و



	Testis		Semeniferous diameter (μ m)	Epidydimis weight (mg)	Sperm concentration(10^6)
	weight (mg)	volume (cm^3)			
Contol	1258.31 ± 16.7	1.29 ± 0.03	238.1 ± 4.1	431.7 ± 13	135 ± 9
Experiment I	1247.23 ± 26.4	1.23 ± 0.01	229.4 ± 3.8	449.3 ± 8	127 ± 6
Experiment II	$1115.59 \pm 53.2^*$	$1.13 \pm 0.04^*$	$203.5 \pm 3.2^*$	445 ± 19	$105 \pm 4^*$

* = Significant

جدول ۱: تغییرات وزن و حجم بیضه، قطر لوله های اسپرم ساز، وزن اپیدیدیم و تعداد سلولهای موجود در اپیدیدیم. علامت (*) معنی دار بودن تغییرات را در $p \leq 0.05$ نسبت به گروه شاهد نشان میدهد.

	Number of variation cells in the seminiferous tubules			
	Sertoli	Spermatogonia	primary spermatocyte	Spermatid
Control	3.85 ± 0.4	10.57 ± 0.5	14.14 ± 0.6	49.85 ± 1.5
Experiment I	3.35 ± 0.2	9.5 ± 0.3	13.2 ± 0.5	46.2 ± 1.4
Experiment II	3.06 ± 0.2	$6.33 \pm 0.4^*$	$9.53 \pm 0.5^*$	$34.1 \pm 1.3^*$

* = Significant

جدول ۲: تغییرات تعداد سلولهای سرتولی، اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت اولیه و اسپرماتید در لوله های اسپرم ساز. علامت (*) معنی دار بودن تغییرات را در $p \leq 0.05$ نسبت به گروه شاهد نشان میدهد.

تأثیر پذیری حیوان به دوز ۸ میلی گرم کلرید کادمیوم را میتوان به میزان حساسیت موجود در دستگاه تولید مثلی حیوان به غلظتهای متفاوت کادمیوم نسبت داد. بنابراین با توجه به نتایج بدست آمده در این پژوهش و نتایج تحقیقات سایرین، چنین بنظر میرسد که کادمیوم بطور مشخص توانسته از طریق تأثیری که بر سلولهای ژرمینال اولیه گذاشته است و از طریق مهار فعالیت فیزیولوژی و همچنین اختلال در حرکت این سلولها به سمت سستیم های تناسلی؛ اثرات خود را بر تکوین طبیعی دستگاه تولید مثل نر در موش رت اعمال نماید.

سپاسگزاری:

از داروسازی ویرا بدلیل فراهم نمودن امکانات آزمایشگاهی و تامین بوجه لازم تشکر و قدر دانی میشود.

کتابنامه:

- 1- Almquist, J. O., Amann, R. P. (1961). Reproductive capacity of dairy bulls. II. Gonadal and extra - gonadalsperm reserve as determined by direct counts and depletion trials. dimensions and weight of genitalia. J. dairy sci. 44, 1968.
- 2- Calfish, C. R. and Dubose, T. D. (1991). Cadmium - Induced Changes in Luminal fluid PH in testis and epididymis of the rat in vivo.
- 3- Chellman, G. J., Shaikh, Z. A., Baggs, R. B., and Diamond, G. L. (1985). Resistance to cadmium - induced necrosis in testes of inbred mice: Possible role of a metallothionein - Like cadmium - binding protein. Toxicol Appl. phar macol. 79, 511-523.

پایین تر از مقدار طبیعی از نظر تعداد سلولی صورت می گیرد و در نتیجه منجر به کاهش تولید اسپرماتوزئید در گروه تجربی شده است. تحقیقات نشان میدهد که کادمیوم در سطح اندامکها و ماکروملکولهای سلولی نیز میتواند اثرات سمی خود را اعمال نماید. بطوریکه کادمیوم میتواند منجر به دپلی مریزاسیون رشته های اکتین در انواعی از سلولها بشود. (Wang 1996) بنابراین کادمیوم از طریق تأثیر بر سیتواسکلتون سلولها میتواند فعالیت های سلول را تحت تأثیر قرار داده و از این طریق در حرکت سلولی و تقسیمات سلولی اختلال ایجاد می نماید. بنظر میرسد که کادمیوم از طریق تداخلی که با حرکت و مهاجرت سلولها به سمت سستیم های تناسلی ایجاد می نماید باعث می شود که سلولهای ژرمینال اولیه نتوانند بشکل کامل و طبیعی خود را به سستیم های تناسلی رسانند و در این ساختمانها تکامل نهایی خود را کسب نمایند. تحقیقات نشان میدهد که تأثیر بعضی ترکیبات مثل Busulphan در تخریب بافت بیضه از طریق تخریب و اختلال در اندامهایی مثل هیپوتالاموس و هیپوفیز که فعالیت آنها با اندامهای تولید مثل ارتباط دارد صورت می گیرد. (Wartenberg 1980). در تحقیق حاضر شواهدی مبنی بر اینکه اختلال در فعالیت فیزیولوژیکی بیضه ناشی از تخریب سیستم هیپوتالاموس - هیپوفیز باشد بدست نیامده است.

همانطوریکه در نتایج بیان گردید تجویز دوز ۴ میلی گرم به تکوین دستگاه تولید مثل مؤثر نبوده در صورتیکه دوز ۸ میلی گرم منجر به اختلال در تکوین طبیعی این دستگاه شده است. اینطور به نظر میرسد که موجودات زنده از نظر حساسیت نسبت به برخی مواد سمی بسیار متفاوت می باشند بطوریکه میتوان برای یک ماده سمی از جمله کادمیوم موجودات را به دو دسته حساس و مقاوم تقسیم بندی نمود. (1985) Chellman بنابراین علت عدم تأثیر دوز ۴ میلی گرم و

- 4 - Chiquoine , A.D .(1965) . Effect of cadmium chloride on the pregnant albino mouse.J. Reprod.Fertil.10 : 263-265.
- 5 - Dencker , L .(1975). Possible mechanisms of cadmium fetotoxicity in golden hamsters and mice . uptake by the embryo , placenta and ovary.J.Reprod .Fertil., 44 : 461 - 471.
- 6 - Layton , W. M (1979) . cadmium induced limb defects in the mouse strain associated differences in sensitivity . Teratology , 19 :229 - 305
- 7 - Lahtonen , R . (1985) . Zinc and cadmium concentrations in whole tissue two inbred mouse strain :I . Analysis of . and in separated epithelium stroma from human prostate 6(2):177-183
- 8 - Laskey , J.W ., Rehnberg , G .L ., laws , S. C ., Hein , J .F . (1984). Reproductive effects of low acute doses of cadmium chloride in adult male rats. Toxicol , Appl , pharmacol . 73(2):250 - 255 .
- 9 - Levin , A.A., plantz ,J. R ., Disant , P .A ., Miller , R . K (1981). Cadmium placental mechanism of fetal toxicity .placenta [supple] , 3:303 - 318.
- 10 - Parivar , K ., pilechian . Langroudi , R . (1989) . The effect of cadmium chloride on the organogenesis of laboratory mice cell different and develop . vol 27 . no 154.
- 11 - Parizek , J. (1965) . the peculiar toxicity of cadmium during pregnancy an experimental toxemia of pregnancy induced by cadmium salts.J Reprod . Fertil., 9 :111 - 112 .
- 12 - Suzuki , Y . chao , S., Zysk , J .R ., cheung , w.y .(1985). Stimulation of calmodulin by cadmium ion . Arch. Toxicol , 57 :205 - 211 .
- 13 - Tam , P.P .L ., liu , w .k . (1985) . Gonadal development and fertility of mice treated prenatally with cadmium during the early organogenesis stages.Teratolgy . 32 : 452 - 462 .
- 14 - Wang , X.P., and Foulkes , E .C.(1984). specificity of acute effects of cadmium on renal function.Toxicology.30: 243-247.
- 15 - Webster , W . S ., and messerle , K . (1980). changes in the mouse neuroepithelium associated with cadmium induced neural tube defects . Teratology . 21:79 - 88.
- 16 - Wolko wski , R M . (1974).Differential cadmium - induced embryotoxicity in two inbred mouse strain : I . Analysis of inheritance of the response to cadmium and of the presence of cadmium in fetal and placental tissues . Teratology , 10 : 243 - 292.
- 17 - Wartenberg , H . (1980) . Studies on the early development and sexual differentiation of the mammalian gonad . Arch . Biol . Med . EXP., 13:315 - 320.