دانشکده علوم پایه

گروه زیست شناسی

گرایش علوم جانوری- سلولی تکوینی

اثر کادمیوم کلراید بر رشد و نمو کورتکس مغز

از:

مهدیه صادقی

استاد راهنما:

جناب آقای دکتر فرهاد مشایخی

شهریور ۸۹

تقدیم به پدر و مادرم

که همواره دعای خیرشان بدرقه راهم بود

هیچ کس منتظر خواب تو نیست که به پایان برسد

لحظه ها می آیند، سالها می گذرند و تو در قرن خودت می خوابی

هیچ پروازی نیست برساند ما را به قطار دگران

مگر اندیشه و علم، مگر انگیزه و عشق

مگر آئینه و صلح، و تقلا و تلاش

بخت از آن کسی است که مناجات کند با کارش

و در اندیشه یک مسئله خوابش ببرد

و کتابش را بگذارد زیر سرش و ببیند در خواب

حل یک مسئله را

باز با شادی یک مسئله بیدار شود

خدای مهربان از تو سپاسگزارم که در همه حال لطف بی کرانت شامل حالم بود.

تقدیم به استاد راهنمای عزیزم جناب آقای دکتر فرهاد مشایخی که در لحظات سخت کار، صبورترین، دلسوزترین و مهرباترین بودند و بدون لطف های بی دریغ ایشان قادر به انجام این کار نبودم. در اینجا وظیفه خود می دانم از ایشان به خاطر تمامی حمایت هایشان در تمامی مراحل تحصیلم تشکر و قدر دانی کنم.

از سرکار خانم دکتر صالحی عزیز نیز بسیار ممنونم که ضمن قبول داوری، در طی انجام پروژه همواره راهنمای من بودند.

از جناب آقای دکتر علی نیک پی بابت قبول داوری و راهنمایی های بی دریغشان در امر نگهداری از حیوانات آزمایشگاهی در طی این پروژه بسیار متشکرم.

همچنین از پدر و مادر عزیز و برادرم سپاسگزارم که همواره مشوق و پشتیبان من بودند.

از دوستان عزیزم در گروه بیولوژی تکوین ۸۷، دریا ۸۷ و بیوشیمی ۸۷ نیز بابت همیاری و همدلی هاشان بسیار ممنونم

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل اول: مقدمه

۱.مقدمه ۲

۱-۱ اثرات توکسیک کادمیوم بر اندم ها ۵

۱-۲ اثرات تراتوژنیک کادمیوم بر اندام ها ۷

۱-۳ کادمیوم به عنوان یک متالوهورمون ۱۲

۱-۳-۱ اثرات استروژنی کادمیوم ۱۳

۱-۳-۲ اثرات آندروژنیک کادمیوم ۱۳

۱-۴ مکانیسم تاثیر کادمیوم ۱۵

۱-۴-۱ مکانیسم اثر کادمیوم بر رشد و مهاجرت نورون ها ۱۵

۱-۴-۲ اثرات القایی کادمیوم در عملکردهای اندوکرینی ۱۶

۱-۴-۳ مکانیسم کلی تراتوژنز کادمیوم ۱۶

۱-۵ مکانیسم رقابت کادمیوم با کلسیم و سایر پروتئینها ۱۸

۱-۵-۱ رقابت با کلسیم در اتصال به PKC و کالمادولین ۱۸

۱-۵-۲ رقابت با کلسیم در سیستم عصبی ۱۹

۱-۵-۳ رقابت با روی ۱۹

۱-۵-۴ رقابت با منگنز ۱۹

۱-۶ اثرات کادمیوم بر پروتئین سازی ۲۰

۱-۶-۱ فرایند سنتز پروتئین ۲۰

۱-۶-۲ تاثیر کادمیوم کلراید بر eIF4E ۲۲

۱-۷ مکانیسم دفاع علیه کادمیوم ۲۴

۱-۷-۱ دفاع با گلوتاتیون و آسکوربیک اسید و کاتالاز ۲۴

۱-۷-۲ دفاع توسط متالوتیونین ۲۵

هدف از انجام پروژه ۲۸

فصل دوم: مواد و روش ها

۲-۱ دستگاه های مورد استفاده ۳۰

۲-۲ مواد مورد نیاز ۳۱

۲-۳ بررسی اثر کادمیوم کلراید روی مورفولوژی کورتکس مغز جنین ها ۳۲

۲-۴ روش آماده کردن کورتکس برای برش گیری ۳۳

۲-۵ تعئین غلظت کل پروتئین به روش برادفورد ۳۵

۲-۶ تهیه لیز بافر پروتئین ۳۶

۲-۷ آماده سازی محلول ها و بافرهای مورد نیاز برای الکتروفورز ۳۸

۲-۸ آماده سازی ژل الکتروفورز ۴۰

۲-۸-۱ دستور تهیه ژل پایین ۴۰

۲-۸-۲ دستور تهیه ژل بالا ۴۱

۲-۹ آماده سازی نمونه ها به منظور الکتروفورز ۴۱

۲-۱۰ رنگ آمیزی نیترات نقره ۴۲

۲-۱۱ بیان نسبی eIF4Eدر عصاره کورتکس ۴۵

فصل سوم: نتایج

۳-۱ اندازه گیری ضخامت لایه های کورتکس در موش ۴۸

۳-۲ تعئین غلظت کل پروتئین به روش برادفورد ۵۱

۳-۳ بررسی بیان پروتئین در مغز با استفاده از الگوی الکتروفورزی ۵۲

۳-۳-۱ تاثیر کادمیوم بر الگوی پروتئینی در مغز بالغ ۵۳

۳-۳-۲ تاثیر کادمیوم بر الگوی پروتئینی کورتکس جنین موش ۵۴

۳-۴ بررسی بیان eIF4Eدر کورتکس مغز موش به روش وسترن بلات ۵۵

فصل چهارم: بحث و نتیجه گیری

بحث و نتیجه گیری ۵۸

پیشنهادات ۶۳

فصل پنجم: منابع

منابع ۶۵

فهرست شکل ها

عنوان ..... صفحه

شکل ۱-۱ شکل سلولهای FNC-B4 قبل و بعد از تحریک با کادمیوم ۹

شکل ۳-۱ برش از مغز جنین ۱۸ روزه ۴۹

شکل ۳-۲ مقایسه ضخامت لایه های کورتکس در مغز جنین های تزریق شده و کنترل ۵۰

شکل ۳-۳ تعیین غلظت کل پروتئین های عصاره کورتکس در نمونه های تزریق شده و کنترل ۵۱

شکل ۳-۴ باندهای پروتئینی که با استفاده از بافرهای A, B بدست آمده اند ۵۲

شکل ۳-۵ ژل SDS-PAGEمربوط به عصاره کوزتکس موش بالغ ۵۳

شکل ۳-۶ الگوی الکتروفورزی عصاره مغز جنین موش ۵۴

شکل ۳-۷ بیان eIF4E در عصاره های کورتکس مغز در نمونه های تزریق شده و کنترل ۵۵

شکل ۳-۸ بیان نسبی eIF4E ۵۶

فهرست جداول

عنوان ..... صفحه

جدول ۲-۱ تهیه محلول های استاندارد ۳۵

جدول ۲-۲ محلول های ژل پایین ۴۰

جدول ۲-۳ محلول های ژل بالا ۴۱

جدول ۳-۱ بیان نسبی eIF4Eدر نمونه های تزریق شده و کنترل ۵۶

بررسی اثر کادمیوم کلراید بر رشد و نمو کورتکس مغز

چکیده:

کادمیوم یک سم سیستمیک است که بسیاری از عملکردهای سلولی را تحت تاثیر قرار می دهد. یون کادمیوم به نوکلئیک اسیدها و کروماتین متصل شده و باعث تغییرات در شکل فضایی آنها می شود. کادمیوم تمایز پیش سازهای گلیال را کاهش می دهد و از تکثیر و تمایز سلولهای مغز استخوان جلوگیری می کند. تکثیر سلولی توسط افزایش در میزان سنتز پروتئین افزایش می یابد. فاکتور آغازگر رونویسی4E (eIF4E) نقش کلیدی در تنظیم رونویسی ایفا می کند و پیشنهاد شده است که باعث افزایش سنتز پروتئین می شود. افزایش سنتز پروتئین ممکن است در نتیجه افزایش در میزان رونویسی و یا افزایش در میزان ترجمه رونوشتهای mRNA باشد. یک مرحله کلیدی در تنظیم ترجمه پروتئین، مرحله شروع است، که بطور اصلی توسط پروتئین متصل شونده به کلاهک eIF4E کنترل می شود. در این مطالعه اثرات کادمیوم روی بیان eIF4E و سنتز پروتئین در کورتکس مغز در حال تکوین بررسی شده است. کادمیوم به صورت درون صفاقی به موش های باردار تزریق شد و جنین ها بعد از ده ساعت از رحم خارج و قشر مغز برای آنالیزهای بعدی جدا و در دمای منهای ۷۰ درجه سانتی گراد نگهداری شد. از Western blot و Bio-Rad protein assay برای مطالعه بیان eIF4E و غلظت کلی پروتئین استفاده گردید. نتایج نشان داد که بیان eIF4E و سنتز پروتئین در پاسخ به تزریق کادمیوم کاهش می یابند. همچنین نشان داده شد که ضخامت اپی تلیوم زاینده و قشر مغز در گروه تزریق شده در مقایسه با گروه کنترل کاهش می یابد. بنابراین نتیجه گیری شد که کادمیوم با کاهش در بیان eIF4E سنتز پروتئین را کاهش می دهد و این امر ممکن است با تغییرات در فرایندهای مهم رشد و نمو نظیر تکثیر و تمایز باعث کاهش ضخامت اپی تلیوم زاینده و قشر مغز شود.

کلمات کلیدی: کادمیوم کلراید، eIF4E، قشر مغز، تکوین

Effects of cadmium chloride on brain's development

Abstract

Cadmium is a systemic poison affecting many cellular functions. The cadmium ion binds to nucleic acids and chromatin and it causes conformational changes. Cadmium decreases the differentiation of glial precursors and inhibits the proliferation and differentiation of bone marrow cells. Cell proliferation is accompanied by increased rates of protein synthesis. Eukaryotic initiation factor 4E (eIF4E) plays a key role in translation regulation and it has been suggested that it is implicated in increase protein synthesis. Increased synthesis of protein may involve an increase in the rate of transcriptional events and/ or augmented efficiency in the rate of translation of their mRNA transcripts. A key step in the regulation of protein translation is the initiation phase, which is critically controlled by the mRNA cap binding protein eIF4E. In this study the effects of cadmium on eIF4E expression and protein synthesis in developing cerebral cortex have been studied. Cadmium was administered intrapritoneally to the pregnant mice and the embryos were harvested after ten hours and cerebral cortex were removed for further analysis. We used western blotting and Bio-Rad protein assay in order to study eIF4E expression and total protein concentration. We showed that eIF4E and protein expression are decreased in response to injection of cadmium. It was also shown that the thickness of germinal epithelium and cerebral cortex is altered in cadmium injected group as compared to control groups. It is thus concluded that cadmium decreases protein synthesis by decreasing eIF4E expression.

Keywords: Cadmium chloride, eIF4E, cerebral cortex, development

مقدمه

۱-مقدمه:

فلزات سنگین در هوا، آب و فراورده های غذایی وجود دارند. آلودگی با فلزاتی نظیر سرب موجود در خاک، جیوه موجود در اتمسفر و غذاهای دریایی، کادمیوم و آرسنیک در محیط و همچنین دود سیگار بسیار زیاد رخ می دهد.آلودگی آب و هوا و غذا توسط مواد شیمیایی و عناصر فلزات سنگین، متاسفانه از پیامد های ناگواری است که در جوامع پیشرفته و صنعتی اتفاق می افتد و از طرفی تماس دائم و با دوز پایین با این فلزات بسیار بیشتر از تماس حاد با آنها رخ می دهد(Miller et al., 1998). این فلزات دارای خاصیت سم زایی برای نورون ها، و ایجاد کارسینوما هستند. کادمیوم و سایر یونهای فلزی می توانند به عنوان متالوسترونها عمل کرده و روی تکوین جنین در پستانداردان و انسان اثر بگذارند.تجمع فلزات سنگین در بدن انسان خطر بسیار جدی برای سلامتی به حساب می آید که منجر به ایجاد تعداد زیادی از بیماریها مانند کم خونی، کاهش هوش، تغییرات رفتاری، رعشه، التهاب لثه، فشار خون، زودرنجی، سرطان، افسردگی، از دست دادن حافظه، خستگی، سردرد، نقرس، نقص کلیوی مزمن، ناباروری مردان، دیستروفی استخوانی و احتمالا آلزایمر و مالتیپل اسکلروزیس می شود (Miller et al., 1998) .

فلزات واسطه مانند مس، آهن و منگنز در واکنش های احیا در سیستم های بیولوژیکی بکار می روند. بسیاری از این فلزات هم مغذی بوده و هم برای سیستم عصبی سمی هستند. به عنوان مثال، روی فلز مغذی است اما در دوزهای بالا می تواند خاصیت سمی اکسیداتیو ایجاد کند. فلزاتی مانند سرب و کادمیوم نیز می توانندهمین آثار مضر را در پی داشته باشند که به نظر می رسد این کار را از طریق اتصال به پروتئین ها و دخالت در انتقال فلزات و عملکردآنها انجام می دهند (Wright etal., 2007). انسان از طرق مختلفی ممکن است با فلزات سمی آلوده شود و اثرات بیولوژیکی فلزات، مرتبط با ویژگیهای شیمیایی آنهاست. به عنوان نمونه، آلودگی با سرب یک تهدید بزرگ برای سلامتی در ایالات متحده امریکا است. سرب موجود در گرد و غبار و خاک که از رنگ های پودری ایجاد می شود و از عوامل آلودگی مزمن با این فلز می باشد، در بدن با کلسیم رقابت کرده و سبب ناهنجاریهای متعددی در جذب و مصرف کلسیم و متابولیسم سلولی با واسطه کلسیم از جمله آزادسازی نوروترانسمیترها می شود. همچنین سبب مهار کانالهای کلسیمی و پمپهای کلسیم/ سدیم می شود. گفته می شود که سیستم عصبی بیشترین تاثیر را از سرب می گیرد. این فلز در خون، بافت نرم (مانند کلیه، مغز استخوان کبد و مغز) و بافت معدنی (استخوانها و دندان) توزیع می شود. بافت معدنی حاوی ۹۵٪ از کل توده بدنی سرب در بالغین است. تماس دائم با آن سبب عملکرد ناصحیح کلیوی می شود(Miller et al., 1998).

وجود بخارات بعضی فلزات در جو نیز از دیگر راه های آلودگی با آنهاست. مثلا می توان به فلز جیوه اشاره کرد که انسان از دو طریق بخار جیوه و ترکیبات متیل جیوه با آن آلوده می شود. بخار جیوه در اتمسفر، راهی برای ورود آن به آب های شیرین و

شور به حساب می آید. ترکیبات متیل جیوه نیز از متابولیسم باکتریایی و تبدیل جیوه معدنی ایجاد می شوند که متعاقبا در غذاهای دریایی و گوشت ماهی ها تجمع می یابند. ضمنا ماده اصلی بکار رفته در آلیاژ مورد استفاده در پر کردن دندان حدودا ۵۰٪ جیوه مایع است، سایر ترکیبات این آلیاژ نیز شامل نقره (۳۵٪)، قلع (۹٪) و مس (۶٪) و مقدار کمی هم روی است. در هنگام استفاده از این آلیاژ، دندانپزشک، به همراه شخصی که این آلیاژ را آماده می کند و همچنین خود بیمار با بخار جیوه (HgO) آلوده می شوند. بیمار به هنگام جویدن، مسواک زدن و یا نوشیدن مایعات داغ، مجددا با بخار جیوه متصاعد شده از آلیاژ آلوده می شود(Miller et al., 1998).

راه دیگر آلودگی با فلزات را می توان با ذکر مثال در مورد کادمیوم و آرسنیک مطالعه کرد؛ صنایعی که این فلزات را در ساخت آفت کش ها و یا ساخت باتری های نیکل-کادمیوم بکار می برند، باعث آلوده شدن انسان با این فلزات می شوند. کادمیوم می تواند مانند سرب و جیوه با فلزات ضروری بدن واکنش متابولیکی بدهد. کادمیوم با کلسیم در سیستم اسکلتی واکنش داده و سبب ایجاد مشکلات استخوانی می شود. همچنین با فلز روی در اتصال به متالوتیونین[1] رقابت می کند. متالوتیونین برای ذخیره و انتقال روی در طی تکوین مهم است. این دو فلز در همه جای محیط وجود دارند و آلودگی با آنها از طریق غذا، آب، محیط کار یا زندگی می تواند سبب ایجاد طیف وسیعی از بیماریها شود. کادمیوم اثر چشمگیری روی عملکرد کلیه دارد، در نتیجه متابولیسم استخوان را تغییر می دهد که منجر به پوکی استخوان و بیماری استئومالاسیا[2] می شود. فلز آرسنیک نیز سبب ایجاد زخم های پوستی، کم خونی، افزایش خطر ابتلا به بیماریهای قلبی-عروقی، دیابت و صدمات کبدی می شود. مکانیسم ایجاد صدمات توسط این دو فلز، تولید رادیکال آزاد بوده که فعالیت میتوکندریایی را تغییر می دهد. بطور کلی، متابولیسم و دفع این فلزات به حضور آنتی اکسیدانت ها و تیولها بستگی دارد که در مباحث بعدی بیشتر به آنها اشاره خواهد شد. این دو فلز در بین ۲۷۵ عنصر مضر، رتبه ۷ را کسب کرده اند. دفع آرسنیک و کادمیوم از طریق صفرا فاکتور مهمی در خارج کردن این فلزات از بدن است. این فلزات همچنین می توانند از طریق ادرار نیز دفع شوند. در ادامه درباره اثرت مضر کادمیوم در بدن انسان بیشتر بحث خواهد شد. همانگونه که اشاره شد، کادمیوم به دلیل خاصیت سمی برای اکثر ارگانهای بدن و همچنین نیمه عمر طولانی (۱۰-۳۰ سال) یکی از سمی ترین مواد در محیط است. به نظر می رسد که خاک سطحی آلوده شده با کادمیوم محتمل ترین مکانیسم برای آلوده شدن انسان با آن است. زیرا گیاهان خوراکی و تنباکو این فلز را از خاک جذب می کنند. آژانس حفاظت محیطی[3] تخمین زده که در ایالات متحده آمریکا سالانه تقریبا۳/۴ بیلیون پوند فاضلاب به خاک ریخته می شود که این مقدار حاوی بالای ۱۰۰۰mg/gکادمیوم است. مواد خام موجود در کودها نیز با کادمیوم آلوده اند. کودهای شیمیایی مجددا از طریق بازیابی پس مانده های صنعتی به عنوان سولفات روی یا سایر مواد خام مورد نیاز برای

[1]Metallothionein
[2]Osteomalacia
[3]Environmental Protection Agancy

کشاورزی، با کادمیوم آلوده می شوند. جذب کادمیوم از خاک توسط محصولات کشاورزی سبب تجمع آن در سبزیجات برگدار و سیب زمینی، میوه ها و غلات می شود. کمترین مقدار جذب آن که در بدن انسان سبب ایجاد آثار مضر یا سرطان نمی شود حدود ۰/۲µg/kg در روز است. بین ۱۰-۵۰٪ از بخار کادمیوم توسط سیستم تنفسی و حدود ۵٪ از کادمیوم خوراکی توسط سیستم گوارشی جذب می شود. افراد سیگاری حدودµg ۲-۱ کادمیوم را در هر بسته سیگار جذب می کنند. اگرچه جذب گوارشی کادمیوم پایین است، اما جذب عناصری مانند کلسیم، آهن، روی و مس موجود در رژیم غذایی می تواند جذب کادمیوم را در روده افزایش دهد. کادمیوم بعد از جذب، در بین گلبول های قرمز چرخیده و یا به آلبومین متصل می شود. درکبد سبب القای متالوتیونین شده و به آن متصل می شود. این کمپلکس تدریجا از کبد آزاد شده و به کلیه می رسد و در آن تجمع می یابد. کادمیوم همچنین در استخوان، پانکراس، غده فوق کلیه و جفت نیز تجمع می یابد ولی بیشتر تجمع آن (حدود نصف کل ذخائر بدنی) در کبد و کلیه اتفاق می افتد. ثابت شده که کادمیوم به میتوکندری سلول متصل شده و در غلظت های پایین در ۷۵٪ موارد سبب مهار تنفس سلولی و در ۱۰۰٪ موارد سبب مهار اکسیداسیون-فسفریلاسیون می شود. این سمیت میتوکندریایی می تواند هیدروکسیلاسیون ویتامین D در بافت کلیه را مهار کند. اگرچه متالوتیونین در سم زدایی کادمیوم نقش دارد اما در عین حال می تواند در ایجاد صدمات کلیوی القا شده توسط کادمیوم شرکت کند. زیرا کادمیوم متصل شده به متالوتیونین می تواند به درون پلاسما نشت کرده و جایگاه های ذخیره ای کبد را ترک کرده و توسط کلیه جذب شود (Miller et al., 1998).

همانطور که در بالا اشاره شد کادمیوم روی بیشتر ارگان های بدن اثرات سمی اعمال می کند. بدین منظور در ابتدا به معرفی مختصری در مورد کادمیوم پرداخته می شود.

فلز کادمیوم (Cd) با وزن اتمی ۱۱۲/۴ عنصر واسطه شماره ۴۸ از گروه ۱۲ جدول تناوبی است که یک آلاینده محیطی به حساب می آید. همچنین قسمت اصلی سازنده دود تنباکو است، این فلز دارای اثرات مضر روی تولید مثل در پستانداران است. در طی بارداری انسان، آلودگی مادر با کادمیوم توسط محیط یا سیگارکشیدن، منجر به عقب افتادن رشد[1] جنین می شود. مکانیسم های این عمل بدرستی معلوم نیست ولیشواهد نشان می دهد که کادمیوم بطور غیر مستقیم و توسط جفت روی رشد جنین اثر دارد ولی مولکولهای هدف بدرستی شناخته نشده اند. کادمیوم سبب ایجاد بیماری های متعددی از جمله اسپینا بیفیدا و اگزنسفالی در جنین ها می شود(Schoeters et al., 2006).

کادمیوم به عنوان پیش برنده سرطان است و روی بیان ژن اثر دارد. حجم تولیدی آن در سال حدود ۱۳۰۰۰ تن بوده و همانطور که قبلا نیز اشاره شد، قسمت اعظم آن توسط باتری های نیکل-کادمیوم و تثبیت کننده های شیمیایی و روکش

[1]Fetal growth retardation

فلزات[1] و آلیاژهاست. کادمیوم باعث ایجاد بیماریهای مختلفی از جمله : ناتوانی های یادگیری، پارکینسون و ایجاد بدشکلی هایی شامل اسپینا بیفیدا و اکتوداکتیلی[2] در اندام حرکتی جلوییمی شود. تماس دائم با آن سبب ایجاد صدمات کلیوی و ریوی می شود. گفته می شود کادمیوم یک تراتوژن قوی در انسان است. مسیرهای اصلی که کودکان با آن آلوده می شوند شامل غذا، تنباکو در محیط و گرد و غبار در منزل است. تجمع آن در کلیه سبب ایجاد اثراتی مانند صدمات کلیوی و پوکی استخوان شده که در بزرگسالی مشاهده می شود. تنفس آن باعث سرطان ریه بالغین می شود. اگرچه انتقال آن به نوزاد بوسیله جفت و شیر دادن محدود است، اما اثرات تراتوژنیک در حیوانات آزمایشگاهی دیده می شود(Schoeters etal., 2006).

بعد ازمعرفی کادمیوم و اشاره مختصر به راه های ورود آن به بدن انسان، به اثرات آن روی بعضی از اندام های بالغین اشاره می شود:

۱-۱ اثرات توکسیسیتی کادمیوم بر اندام ها:

اثرات کادمیوم بر روی کبد:

در مسمومیت با کادمیوم، سلولهای کبدی با گذر زمان دچار مرگ سلولی آپاپتوتیک می شوند. Midkine پروتئینی است که در شرایط عادی در سلول کبد ترشح می شود، اما در حضور کادمیوم به حالت وابسته به دوز افزایش می یابد. ترشح این پروتئین از سلولهای کبدی در مقابل سمیت کادمیوم محافظت می کند. بکارگیری این پروتئین به صورت اگزوژن سبب مهار فعالیت کاسپاز۳ و مرگ سلولی می شود. این پروتئین در مقابله با سم زایی کادمیوم نقش آنتی آپاپتوتیک داشته و کاسپاز۳ که نقش مهمی در مسیر آپاپتوز دارد را سرکوب می کند. همچنین ثابت شده که این پروتئین در حضور کادمیوم سبب افزایش تکثیر سلولی نیز می شود. علاوه بر کبد، این پروتئین در اطراف نورون های آسیب دیده بعد از عفونت نیز بیان می شود و این پیشنهاد می کند که این پروتئین در ترمیم بافت نقش دارد. کادمیوم باعث بیان برخی ژنها نظیر ژن*Midkine* می شود که محصولات آنها باعث خنثی شدن اثرات مخرب کادمیوم می شود(Yazihan etal., 2008).

تاثیر کادمیوم بر ریه:

کادمیوم باعث ایجاد واکنش التهاب و همچنین القا تکثیر سلولی در ریه می شود. مسیر اصلی ورود کادمیوم، استنشاق دود سیگار و مصرف غذای آلوده است. کادمیوم با تولید سیتوکاین ها باعث بروز آسیب در ریه می شود. تماس دائم ریه با دوز پایینی از کادمیوم سبب ایجاد ادم ریوی و بیان پروتئین های درگیر در فرایند تکثیر سلولی می شود که به جای مرگ سلولی،

[1]Metal coatings
[2]Forelimb ectodactyly

ابتدا التهاب و سپس تکثیر سلولی را القا می کنند. همچنین فضای آلوئولی در امتداد پایه اپی تلیالی کاهش می یابد (Kundu et al., 2009).

اثر کادمیوم بر دستگاه تولید مثلی نر:

کادمیوم سبب از هم گسیختن اکتین در سر اسپرم می شود. این حالت در برخی بیماران مبتلا به واریکوسل که با دوز بالایی از کادمیوم نیز آلوده شده اند دیده می شود. کادمیوم عامل سمی در اسپرماتوژنز است. افزایش کادمیوم در غدد جنسی نر و مایع اسپرمی در مبتلایان به واریکوسل نشان داده شده است. تجمع کادمیوم باعث آسیب به بیضه و اختلال در عملکرد اسپرم می شود. اشخاصیکه بطور دائم در معرض کادمیوم هستند، در اعمال تولید مثلی آنها اختلال دیده می شود. رسوبات کادمیوم در بیضه این افراد زیاد است. تاثیر اصلی آن روی سلولهای سرتولی است که سبب تغییر شکل آنها می شود. همچنین در عملکرد نرمال آنزیم های میتوکندریایی مداخله می کند. صدمات بیضوی ابتدا عروقی است که این صدمات درجه آسیب به سلولهای زاینده و سلولهای لایدیگ را تعیین می کند. این آسیب می تواند سبب تومورهای لایدیگ، تحلیل توبولی، آتروفی، نکروز بافتی، تولید ناقص و ناکارای آندروژن ها شود(Marmar 2001).

اثر کادمیوم روی محور هیپوفیزی-هیپوتالاموسی:

مقدار سروتونین و نوراپی نفرین در افرادی که تزریق ترکیبی از هر دو فلز کادمیوم و سرب را داشتند کاهش می یابد. اما غلظت دوپامین فقط در گروهی که Cd را به صورت تکی دریافت کرده است کاهش می یابد. مقادیر هیپوفیزی LH, FSH در گروه با تزریق ترکیبی کاهش بارزی می یابد. تماس با سرب سبب تغییر در سطح سرمیLH, FSH نمی شود. در حالیکه این کاهش در گروه با تزریق ترکیبی دیده می شود. هر دو فلز بعد از تزریق در هیپوفیز و هیپوتالاموس تجمع می یابند و این مکانیسم باعث قطع مکانیسم تنظیمی محور هیپوفیزی هیپوتالاموسی می شود(Pillai et al., 2003).

اثر کادمیوم روی سلولهای گرانولوزا:

کادمیوم و سرب هر دو باعث کاهش در اتصال گنادوتروفین در سلولهای گرانولوزا شده که سبب تغییر در فعالیت آنزیم استروئیدوژنیک در سلولهای گرانولوزا می شوند(Nampoothiri et al., 2006).

کادمیوم علاوه بر اعمال اثرات سمی روی بالغین، می تواند روی فرایندهای رشد و نموی جنینی نیز اثرات منفی خود را اعمال کند که به همین دلیل در ادامه به بررسی برخی اثرات تراتوژنیک کادمیوم بربافت ها و اندام های جنین اشاره می شود.

۱-۲ اثرات تراتونیک کادمیوم بر اندام ها:

اثرات کادمیوم روی تکوین ماهیچه و رشد آکسون:

مواجهت جنین zebrafish با کادمیوم دردوره جنینی منجر به بدشکلی های مورفولوژیکی اندام ها و بیان نابه جای ژنهای درگیر در فرایندهای تنظیم تکوین می شود. از شایع ترین نقص های تکوینی، تغییر در خمیدگی محور بدن است که نتیجه نقص در میوتوم های سومیت هاست. سومیت ها شکل V مانند خود را از دست داده و نظم آنها بر هم می خورد. نورون های حرکتی اولیه و ثانویه بطور نرمال شکل می گیرند؛ اما رشد آکسون تحت تاثیر قرار می گیرد(Suk et al., 2003). نوتوکورد که برای الگو دهی سومیت ها و سیستم عصبی مرکزی ضروری است، شکل غیر طبیعی پیدا کرده و نمی تواند به ناحیه دم کشیده شود. یون کلسیم به عنوان پیامبر ثانویه کلیدی در فرایند رشد آکسون است. تغییرات در غلظت کلسیم داخل و خارج سلولی پاسخ های متفاوتی را در رشد آکسون القا می کند. کادمیوم با ایجاد عدم تعادل در غلظت کلسیم باعث ناتوانی آکسون بعضی از نورون ها برای رسیدن به اهدافشان در میوتوم ها می شود(Suk et al., 2003).

اثرات کادمیوم بر نوروبلاست های انسان:

کادمیوم تکثیر و تمایز نوروبلاست های انسانی را تعدیل می کند. اثرات پاتولوژیکآن شامل اختلالات نورولوژیکی و بیماری های مغزی است. مکانیسم مولکولی کادمیوم در تاثیر روی نورون ها و القای سمیت برای نورون ها در تکوین مغز انسان هنوز بدرستی شناخته نشده است. در سلولهای نوروایی تلیوم بویایی کشت شده (سلولهای FNC-B4) تیمار شده با غلظت پایین از کادمیوم (۱۰μM) تحریک رشد نوروبلاستها دیده می شود. همچنین تمایز نوروبلاستهای FNC-B4 و افزایش مقدار پروتئین ها و mRNA هایی که مارکر تمایزهستند و کاهش در مقدار مارکر سلولهای بنیادی عصبی نیز دیده می شود، در حالیکه غلظتهای بالای آن (۱۰۰μM) باعث مهار رشد وزیستایی نوروبلاستها، ایجاد تغییرات مورفولوژیکی و سیتو اسکلتی و مرگ آپاپتوتیک می شود که در شکل۱-۱ دیده می شود. در کشت سلولهای تیمار شده با $CdCl_2$ سلولهای تمایز یافته تر می میرند ولی در همان زمان سلولهای تمایز نیافته (یعنی پیشساز های گلیال و نورال) وادار به تمایز می شوند.

درکل کادمیوم روی پیشرفت، تمایز و تکثیر سلولها، همانندسازی و ترمیم DNA اثر دارد.

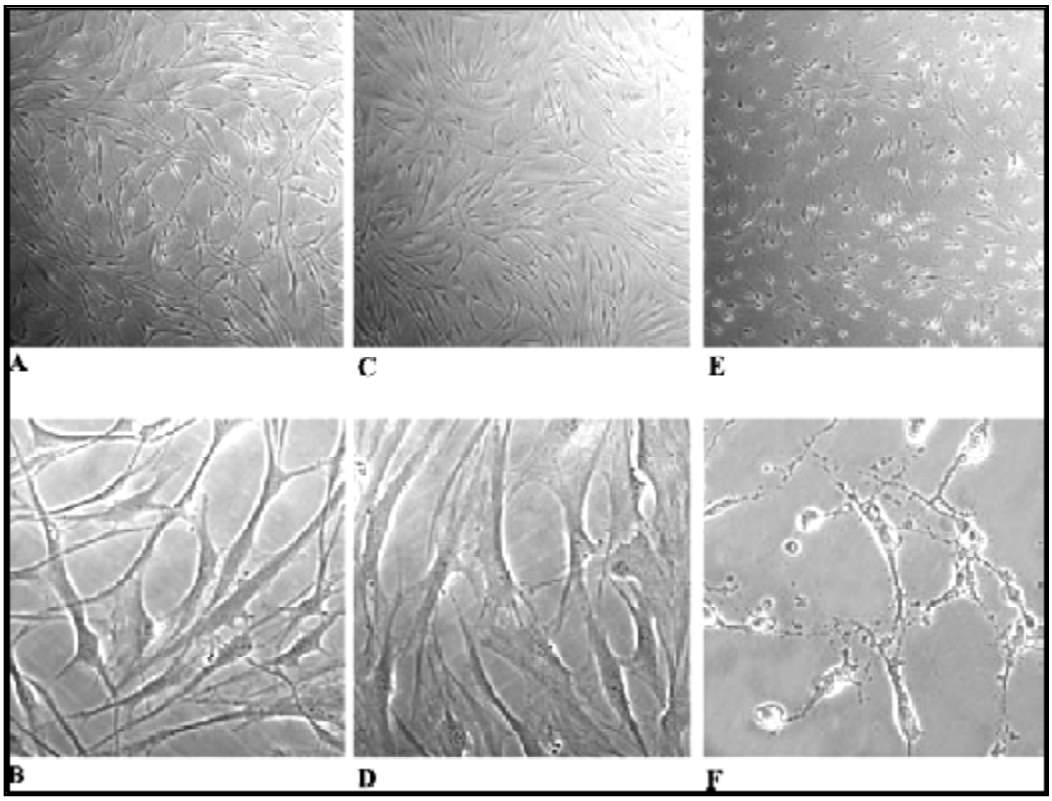
- ✓ در سلولهای عصبی انسان (NB-1):Cd رشد آکسون را تحریک می کند.
- ✓ در سلولهای گانگلیونی موش: Cd سبب القای تحلیل و پس روی می شود.

- ✓ در نورونهای قشری جنینیموش صحرایی آپاپتوز را القا می کند.
- ✓ در سلولهای نوروبلاستومای انسان BE-(2)-C: سبب مهار سیگنالینگ تیروزین کیناز می شود.

در طی تکوین مغز که هنوز سد خونی-مغزی بخوبی تثبیت نشده است، Cd وارد مغز شده و اثرات سمی اش را اعمال می کند. Cdبا ایجاد تغییرات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی سلولهایی که در حال تمایز اند، رشد و بلوغ نورونهای نابالغ را تعدیل می کند(Gulisano et al., 2009).

- ✓ **تاثیر کادمیوم روی رسپتور دوپامین:**

کلرید کادمیوم در نوروبلاستهای FNC-B4 در حالت وابسته به دوز، رسپتور نوع ۱ دوپامین (D_1r) را القا می کند. اما D_2r را کاهش می دهد که این امر روی نوروژنز اثر دارد. دوپامین در اوایل تکوین، در مغز موجود است و رسپتورهای آن درسیستم عصبی مرکزی(CNS) قبل از شیوع سیناپتوژنز بیان می شوند. این موضوع برای دوپامین در تکوین مغز نقشی پیشنهاد می کند که از نقش آن در سیناپس های موجود در CNS بالغ مستقل است. نوروترانسمیترهایی مانند دوپامین قادرند ، توسط تعدیل نوروژنز یا تمایز سلولی نورال یا گلیال روی تکوین مغز اثر بگذارند. فعالسازی رسپتور دوپامین روی چرخه سلولی سلولهای نورواپیتلیال در دیواره مغز اثر می گذارد. کلرید کادمیوم، بیان گیرنده نوع ۱ دوپامین را افزایش دادهاما بیان گیرنده نوع ۲ دوپامین را کاهش می دهد. افزایش در غلظت آن سبب افزایش پیش رونده در بیان ژن گیرنده نوع۱ شده در حالیکه غلظت کم آن سبب کاهش بارز در گیرنده نوع۲ می شود. گفته می شود که $CdCl_2$ یک سیگنال مخصوص برای تمایز دودمان olfactory ایجاد می کند. همچنین اشاراتی تولید می کند که با آن اجداد متعهدتر و یا نورونهای بالغ، تمایز یافته و سریعا به سمت آپاپتوز می روند، در حالیکه پیشسازها توسط یک پیشساز حد واسط که هر دو مارکر گلیال و نورونال را بیان می کند، وادار به تمایز فعال به نورونها و یا سلولهای گلیال می شوند(Gulisano et al., 2009).



شکل۱-۱ سلولهای FNC-B4 قبل و بعد از تحریک با$CdCl_2$ .A,B گروه کنترل در بزرگنماییهای متفاوت. سلولها با مورفولوژی نوعی نورون و با زوائد نوریتیک و تماسهای درون سلولی متعدد. C,D: نوروبلاستهای تیمار شده با Cd۱۰μM، شکل سلولها و شبکه سیناپتیک در مقایسه با گروه کنترل تغییر نکرده است. E,F: نوروبلاستهای تیمار شده با Cd۱۰۰μM تغییرات شکل القا می شود، نورونها مورفولوژی دوکی شکل می گیرند. زوائد سیتوپلاسمی بخوبی مشخص است. (بزرگنمایی ۴۰ و ۴۰۰). برگرفته از (Gulisano et al., 2009)

کادمیوم می تواند سبب ایجاد توموردر مغز نیز بشود. به عنوان مثال کادمیوم در سلولهای گلیوما C6، آپاپتوز را القا می کند و از چند طریق می تواند باعث القای استرس اکسیداتیو شود. به عنوان نمونه می تواند از عمل آنزیمهای متابولیک ممانعت کرده، در غلظت کم در انتقال سیگنال دخالت کند، به DNA آسیب برساند، در عمل آنزیمهای وابسته به زینک و کلسیم دخالت کند، هموستازی کلسیم را بر هم بزند، بطور غیر مستقیم استرس اکسیداتیو تولید کند و از عمل آنزیمهای آنتی اکسیدانت ممانعت کند. کادمیوم تمایل بالایی به گروه سولفیدریل در گلوتاتیون کاهش یافته دارد که این امر سبب کاهش در گروه سولفیدریل آزاد در سلول می شود. کادمیوم سبب از هم گسیختن و قطع پتانسیل غشای سلولی میتوکندریایی؛ فعال شدن کاسپاز ۹و قطعه قطعه شدن داخل هستکی DNA می شود. این فلز می تواند بسته به غلظت آن و نوع سلول سبب آپاپتور یا نکروز شود. مشخص نسیت که قطعه شدن DNA بدلیل تولید استرس اکسیداتیو است یا ممانعت از عمل آنزیمهای ترمیم گر DNA . اما فرضیه اول محتمل تر است(Watjen et al., 2004).

✓ اثر کادمیوم بر جفت:

جفت ارگانی است که اعمال ضروری در طی بارداری انجام می دهد به عنوان مثال، یک سد حفاظتی ایجاد می کندکه تبادلات مادری–جنینی گازها، الکترولیت ها، مواد غذایی و مواد مضر را میانجی می کند. از سایر اعمال جفت می توان به عملکردهای اندوکرین مانند سنتز گنادوتروفین ها، استروژن ها و پروژسترون ها اشاره کرد. جفت در روزهای مختلف بارداری، نفوذپذیری متفاوتی به کادمیوم دارد که در ادامه ذکر می شود. بطور کلی اثرات مواد شیمیایی روی تکوین پستانداران یکی از این سه مورد و یا هر سه آنهاست:

۱. تغییر در بعضی از فاکتورها در سیستم مادری که بطور ثانویه روی تمایز جنینی اثر می گذارد. مانند تغییر ساختار پروتئین توسط کادمیوم در مورد انسان.
۲. بلوکه کردن انتقال جفتی بعضی مواد ضروری برای تمایز نرمال جنینی توسط موادی مانند کادمیوم.
۳. اثر مستقیم روی بافت های مخصوص جنین توسط کادمیوم، به عنوان مثال در مورد همستر.

جفت یک ارگان مناسب برای مانیتور کردن آلودگی مادر و جنین با فلزات است (Goodman et al., 1982). مصرف سیگار که حاوی کادمیوم به مقدار زیاد است در طی بارداری روی معماری عروق جفت اثر دارد. کاهش قطر مویرگهای جنینی در پرز ممکن است جریان خون جفتی را متاثر کند. کاهش در وسعت ناحیه تبادل گازی و مواد مغذی بین مادر و جنین، ریسک ابتلای جنین به سوء تغذیه را افزایش می دهد. اثرات ابتدایی تماس حاد با کادمیوم روی تمامیت و نفوذپذیری اندوتلیوم عروقی مشهود است، سایر تغییرات نکروتیک در پی این فرایند رخ می دهند. در یک بافت، تمام سلولهای اندوتلیال به کادمیوم حساس نیستند. بعد از نکروزه شدن سلولهای حساس به کادمیوم، سلولهای مقاوم تکثیر یافته و سبب ترمیم عروق و متعاقبا کسب مقاومت به فلز می شوند. در تماس با دوزهای بالای کادمیوم تغییراتی در مقدار کلاژن در تیغه پایه اطراف عروق خونی و همچنین در چگالی نسبی حجم عروق خونی جنینی ایجاد می شود. این تغییرات با تغییرات جفت مادران سیگاری مطابقت دارد و احتمالا دلیل آن نیز وجود کادمیوم در دود سیگار است(Van der Veen et al., 1982). حالاتی مانند قطر کمتر مویرگ های پرزی، کاهش در غشای مویرگی سن سیتال و ضخامت تیغه پایه در جفت مادران سیگاری دیده می شود. تکثیر سلولهای سیتوتروفوبلاستیک پرزی، کاهش در پینوسیتوز سن سیتال و فعالیت ترشحی، بسط شبکه اندوپلاسمیک زبر سن سیتال و تجزیه سلولهای اندوتلیال مویرگها نیز از جمله آثار کادمیوم بر روی عروق جفت می باشد. گفته می شود این اثرات به دلیل رخ دادن کم خونی موضعی در جفت، پیرو انقباض عروق رحمی است که توسط نیکوتین القا می شود (Van der Veen et al., 1982). همچنین هیپوکسی در جفت که توسط نیکوتین و مونوکسید کربن ایجاد می شود، مکانیسم پاتولوژی جفت در سیگاریهاست (Goodman et al., 1982). یک مکانیسم احتمالی در کمبود وزن در تولد توسط دود سیگار، اختلال در