

اثرات سمی کلرید آلومینیوم بر جفت و رحم موش های حامله

دکتر عباسعلی کریم پور^{۱*}، دکتر ژילה ترابی زاده^۲، دکتر مهرانگیز صدوقی^۳، سیدسعید صادقی دارابی^۴

۱- دانشیار گروه تشریح دانشگاه علوم پزشکی مازندران ۲- استادیار گروه پاتولوژی دانشگاه علوم پزشکی مازندران ۳- دانشیار گروه زیست شناسی تکوینی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شمال تهران ۴- کارشناس ارشد جنین شناسی

سابقه و هدف: آلومینیوم ماده سمی شناخته شده ای برای بدن می باشد. اثرات سمی آن بر ساختمان های مختلف حیوانات آزمایشگاهی بالغ مورد مطالعه زیادی قرار گرفت. اما مطالعه اثرات آن بر ساختمان های تولید مثلی همچنان ناکافی می باشد. در این تحقیق ساختمان جفت و رحم موش های حامله ای که در یک دوره زمانی کوتاه در معرض کلرید آلومینیوم قرار گرفتند مورد مطالعه قرار گرفته است.

مواد و روشها: حیوان مورد استفاده در تحقیق موش های سفید NMRI بوده است. موش های ماده با پلاک واژنی مثبت بطور تصادفی در ۶ گروه جای داده شدند (در هر گروه ۱۲ رأس). در سه گروه اول که گروه های تجربی این مطالعه بودند به حیوانات در یک نوبت کلرید آلومینیوم با دوز ۱۵۰ mg/kg و به ترتیب در روزهای دهم، یازدهم و دوازدهم حاملگی تزریق شد. به موش های گروه های شاهد در همان روز نرمال سالیین تزریق شد. در روز پانزدهم موش ها کشته شده و جنین ها از رحم بیرون آورده شدند. وزن و قطر جفت ها اندازه گیری شده و ساختمان ماکروسکوپی جفت و رحم با استفاده از استریومیکروسکوپ مورد بررسی قرار گرفت. از رحم مقاطع بافتی تهیه و مورد مطالعه میکروسکوپی قرار گرفت.

یافته ها: در گروه های تجربی روزهای دهم، یازدهم و دوازدهم به ترتیب ۱۴/۳، ۱۳/۸ و ۱۳/۳ درصد از جنین ها از جفت هایی با ظاهری ناهنجار و آتروفی شده برخوردار بودند که بطور معنی داری از گروه های شاهد مربوط به خود بالاتر بوده است ($p < 0.05$). میانگین قطر جفت ها در گروه های مزبور به ترتیب ۷/۲، ۷/۳ و ۷/۳ میلی متر بود در حالی که در هر سه گروه شاهد این میزان ۷/۶ میلی متر و بطور معنی داری بیشتر بوده است ($p < 0.05$). در ساختمان خارجی رحم گروه های تجربی نواحی هموراژیک و نیز در مقاطع میکروسکوپی واکنش آماسی و کانون های نکروزه در میومتر مشاهده شده است.

نتیجه گیری: یافته های مطالعه نشان داد که کلرید آلومینیوم می تواند باعث ایجاد اختلالات ساختمانی در جفت و رحم موش های حامله شود. این یافته می تواند اثرات سمی این ماده را بر جنین حیوانات حامله با مکانیسم آسیب جفتی مطرح نماید.

واژه های کلیدی: کلرید آلومینیوم، آسیب جفتی، آسیب رحمی، ترانژن.

مقدمه

آلومینیوم ماده سمی شناخته شده ای برای بدن می باشد (۱-۳).

اثرات سمی آن بر سیستم عصبی بیش از سایر دستگاهها مورد مطالعه قرار گرفته و تمامی این مطالعات ضمن تایید اثرات نورو توکسینی آلومینیوم، نقش احتمالی این عنصر در بروز برخی

بیماریهای عصبی همانند آلزایمر را مطرح کرده اند (۴-۶) علاوه بر آن اثرات سمی آلومینیوم بر ساختمان برخی دیگر از اجزای بدن همانند استخوان (۷)، کلیه (۱)، خون (۸) و گنادها (۹) نیز گزارش شده است. همچنین برخی محققان گزارش کردند که ترکیبات مختلف حاوی

آلومینیوم بر جنین حیوانات آزمایشگاهی دارای اثرات تراتوژنیک بوده و بروز ناهنجاریهای مادرزادی بخصوص در سیستم اسکلتی و عصبی در فتوس و نوزاد حیواناتی که در دوره بارداری در معرض آلومینیوم بودند افزایش پیدا می کند (۱۲-۱۰). آلومینیوم در برخی از افزودنیهای خوراکی، مواد آرایشی و ترکیبات دارویی (مانند آنتی اسیدها) یافت شده (۱۳ و ۳) و از طریق خوراکی و یا جذب پوستی می تواند وارد بدن شود. بخصوص اینکه اختلالات گوارشی در زمان حاملگی سبب روی آوردن زنان حامله به داروهای آنتی اسید حتی بدون مراجعه به پزشک می شود (۱۳ و ۳). بعلاوه آلودگی محیط زیست به برخی از مواد آلوده کننده حاوی ترکیبات آلومینیوم همانند ذرات گرد و غباری که از کارخانه های تولید سیمان پخش می شوند (۱۵ و ۱۴) انسان ها را هرچه بیشتر در معرض آلودگی به این عنصر سمی قرار می دهد.

با وجود افزایش قابل توجه مستندات علمی در مورد اثرات سمی آلومینیوم در سالهای اخیر، مطالعاتی کمی در خصوص اثرات سمی این عنصر بر سیستم تولید مثلی انجام پذیرفته است (۳)، بیشتر این مطالعات نیز اثرات آلومینیوم بر غدد جنسی مذکر و فرایند اسپرماتوژنز را مورد بررسی قرار دادند (۱۶ و ۹). مطالعه اثرات یک ماده سمی تراتوژن بر ساختمان جفت و رحم حیوانات حامله می تواند در پاسخ به این سوال راهگشا باشد که آیا همه اثرات تراتوژنیک آن ماده بر ساختمان جنین و فتوس بطور اولیه می باشد یا حداقل بخشی از آن ثانویه بوده و با متأثر ساختن جفت و رحم صورت می پذیرد؟ در این تحقیق ساختمان جفت و رحم موش های حامله ای که در دوره زمانی کوتاه در معرض دوز بالا اما غیر کشنده ای از کلرید آلومینیوم قرار گرفتند مورد مطالعه قرار گرفت.

جدا شده و روز دیده شدن پلاک به عنوان روز صفر حاملگی در نظر گرفته می شد. کلرید آلومینیوم از شرکت مرک تهیه و محلول آن با نسبت ۱۵ mg/ml در سرم فیزیولوژیک آماده شد.

موش های حامله بطور تصادفی در ۶ گروه جای داده شدند (در هر گروه ۱۲ راس). در سه گروه اول که گروه های تجربی این مطالعه بودند به حیوانات در یک نوبت کلرید آلومینیوم به نسبت ۱۵۰ mg/kg (۳۰ mg/kg AL) و به روش داخل صفاقی (IP) تزریق شد. تزریق کلرید آلومینیوم در گروه اول در روز ده، گروه دوم روز یازده و گروه سوم در روز دوازدهم حاملگی انجام پذیرفت. روزهای مزبور جزو مرحله اورگانوژنز دوره حیات داخل رحمی جنین های موش محسوب می شوند (۱۷). گروه های ۵، ۴ و ۶ به ترتیب گروه های شاهد سه گروه اول بودند که در همان روز با همان حجم (حدود ۰/۳ ml) سرم فیزیولوژیک بدون کلرید آلومینیوم مورد تزریق قرار گرفتند. انتخاب دوز تزریق کلرید آلومینیوم با تعیین LD50 و نیز با ملاحظه مطالعات دیگر (۱۷) انجام گرفت. تمامی حیوانات در روز پانزدهم حاملگی با قطع نخاع گردنی کشته شده و جنین ها از رحم بیرون آورده شدند. وزن و قطر جفت ها اندازه گیری شده و ساختمان ماکروسکوپی جفت و رحم با استفاده از استریومیکروسکوپ مورد بررسی قرار گرفت. از رحم مقاطع بافتی تهیه شده و پس از رنگ آمیزی مورد مطالعه میکروسکوپی قرار گرفت.

برای مقایسه میانگین وزن و قطر جفت در گروه های مختلف از ANOVA و آزمون Tukey استفاده شده است. میزان معنی دار بودن در سطح $p < 0.05$ در نظر گرفته شد.

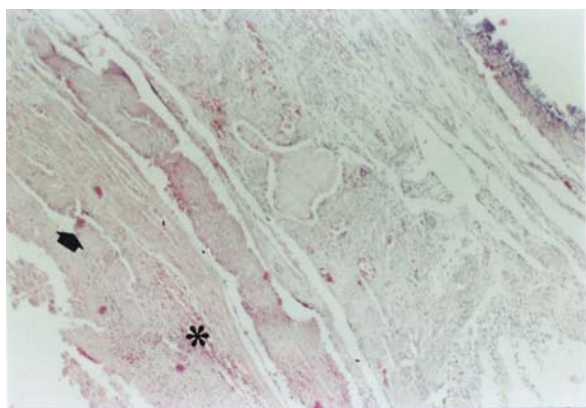
یافته ها

تعداد جنین هایی که به همراه جفت از رحم موش های مورد مطالعه خارج و مورد بررسی قرار گرفتند به ترتیب ۹۰، ۹۴ و ۹۸ مورد برای گروه های تجربی روزهای دهم، یازدهم و دوازدهم بوده است. در گروه های شاهد روزهای دهم، یازدهم و دوازدهم به ترتیب ۶۵، ۷۰ و ۷۴ جنین و جفت مورد بررسی قرار گرفتند. در حالی که در گروه های شاهد روزهای دهم، یازدهم و دوازدهم به ترتیب ۵/۸، ۴/۹ و ۴/۶ درصد جنین ها از جفت هایی با ظاهری ناهنجار و آتروفی برخوردار بودند در گروه های مورد روزهای دهم، یازدهم و دوازدهم

مواد و روشها

در این تحقیق از موش های سفید NMRI استفاده شده است. حیوانات از انیستیتویاستور تهیه شده و در شرایط مساعد با دمای حدود 25°C ، و دوره روشنایی - تاریکی ۱۲-۱۲ ساعت با آب و غذای کافی نگهداری می شدند. برای آزمایش از موش های ماده با وزن ۲۴ الی ۳۳ گرم استفاده شد. موش های ماده در قفس هایی جداگانه با نسبت یک نر بالغ و دو ماده قرار داده شده و صبح روز بعد ماده ها مورد بررسی پلاک واژنی قرار گرفتند. حیوانات با پلاک مثبت از بقیه

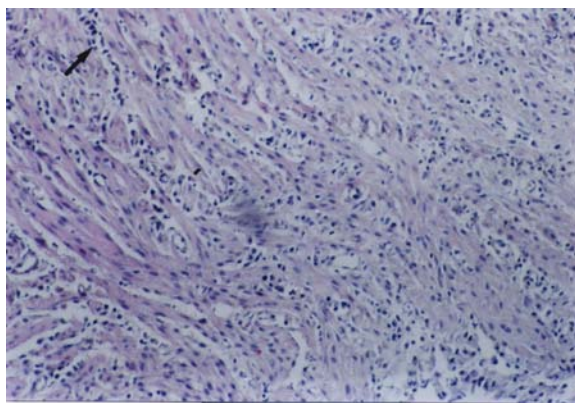
خارجی بسیاری از آنها مشهود بوده است. در برش‌های میکروسکوپی از رحم هر سه گروه تجربی ارتشاح سلولهای التهابی در لایه میومتر کاملاً مشهود بوده که نشانگر آماس میومتر می‌باشد (شکل ۱). همچنین مناطق نکروزه پراکنده در میومتر رحم گروههای تجربی دیده می‌شد (شکل ۲).



شکل ۱. فتومیکروگراف از میومتر رحم موش دریافت کننده

کلرید آلومینیوم؛ ارتشاح سلولهای التهابی در لابلای

سلولهای عضلانی مشاهده می‌شود (فلش) (H&E، $\times 100$)



شکل ۲. فتومیکروگراف از رحم موش دریافت کننده کلرید

آلومینیوم؛ مناطق نکروزه (فلش) و نیز همورائیک (ستاره) در

تصویر قابل مشاهده است (H&E، $\times 40$)

بحث

جفت ساختمانی یگانه در عالم حیاتی محسوب می‌شود. عضو منحصر به فردی که دارای دو بخش از دو موجود (بخش مادری و

این نسبت‌ها به ترتیب ۱۴/۳، ۱۳/۸ و ۱۳/۳ بوده است که بطور معنی‌داری در مقایسه با گروههای شاهد بالاتر بوده است ($p < 0.05$). هیچکدام از جفت‌های ظاهراً ناهنجار گروههای شاهد با جنین‌های آتروفی شده همراه نبودند اما در گروههای تجربی به ترتیب ۵۷/۱، ۴۶/۲ و ۶۶/۷٪ از جفت‌های آتروفی شده و کوچک با جنین‌های آتروفی شده همراه بودند. میانگین قطر جفت در گروههای تجربی روزهای دهم، یازدهم و دوازدهم به ترتیب ۷/۲، ۷/۳ و ۷/۳ میلی‌متر و در هر سه گروه شاهد ۷/۶ میلی‌متر بوده است. کاهش قطر جفت‌ها در گروههای تجربی در مقایسه با گروههای شاهد معنی‌دار بوده است ($p < 0.05$) (جدول ۱).

جدول ۱. قطر و وزن جفت‌ها در گروههای تجربی و شاهد

گروه *	قطر (mm) (mean $\pm$ SD)	وزن (g) (mean $\pm$ SD)
روز دهم (مورد)	۷/۲ $\pm$ ۰/۵ **	۰/۱۱۱ $\pm$ ۰/۰۱ **
روز دهم (شاهد)	۷/۶ $\pm$ ۰/۴	۰/۱۴۳ $\pm$ ۰/۰۰
روز یازدهم (مورد)	۷/۲ $\pm$ ۰/۷	۰/۱۲۰ $\pm$ ۰/۰۱
روز یازدهم (شاهد)	۷/۷ $\pm$ ۰/۴	۰/۱۴۳ $\pm$ ۰/۰۰
روز دوازدهم (مورد)	۷/۳ $\pm$ ۰/۵	۰/۱۲۴ $\pm$ ۰/۰۱
روز دوازدهم (شاهد)	۷/۷ $\pm$ ۰/۴	۰/۱۴۰ $\pm$ ۰/۰۰

* تعداد جفت‌های مورد بررسی در تمام گروه‌ها ۳۵ مورد بوده است.

** اختلاف معنی‌داری در هر ستون در مقایسه بین گروه تجربی و گروه شاهد مربوط به خود ($p < 0.05$).

میانگین وزن جفت‌ها در گروههای شاهد روزهای دهم، یازدهم و دوازدهم به ترتیب ۰/۱۳۹، ۰/۱۴۲ و ۰/۱۴۰ گرم بوده است. این شاخص در گروههای تجربی به ترتیب ۰/۱۱۱، ۰/۱۲۰ و ۰/۱۲۴ گرم بوده است که کاهش معنی‌داری را نشان می‌دهد ($p < 0.05$) (جدول ۱). مشاهده رحم موش‌های حامله در گروههای تجربی نشانگر اندازه و ظاهر کوچک‌تر آنها در مقایسه با گروههای شاهد بوده است. در مطالعه سطح خارجی رحم‌ها با استفاده از استریومیکروسکوپ مناطق همورائیک در دیواره

بخش فتال) با ژنوتیپ متفاوت بوده و علی‌رغم این هتروژنیتی هر دو موجود با آن سازگاری نشان می‌دهند. بدیهی است مطالعه تاثیرپذیری این عضو واسط به دنبال حضور یک ماده سمی تراژونیک در بدن مادر در دوره حاملگی از اهمیت بسزایی برخوردار است. یافته‌های این تحقیق نشان داد که جفت در حیوانات حامله‌ای که حتی برای یک دوره کوتاه در معرض دوز بالا اما غیر کشنده‌ای از یک ماده سمی تراژونیک (۱۲-۱۰) قرار داشتند دچار توکسیسیتی آشکار شده و وزن و اندازه آن در مقایسه با گروه شاهد بطور معنی‌داری کاهش می‌یابد. همچنین بین آتروفی جفت و آتروفی فتوس در گروه مورد ارتباط معنی‌داری وجود داشت. برخی محققان گزارش کردند که اثرات سوء یک ماده سمی و تراژون در دوزی از آن اتفاق می‌افتد که برای مادر هم سمی بوده و به این ترتیب نتیجه گرفتند که اثرات نامطلوب تراژون‌ها بر جنین، ثانویه و متعاقب آسیب دیدن ساختمان‌های مادری صورت می‌پذیرد (۱۸).

اما Chahoud و همکاران که برای بررسی این تئوری مطالعه‌ای را طراحی و اجرا نمودند نتوانستند بین توکسیسیتی مادر و ناهنجاریهای تکوینی فتوس‌ها ارتباط معنی‌داری را نشان دهند (۱۹). همچنین گزارش شده است که تزریق لاکتات آلومینیوم با دوز ۴۰-۱۰ mg/kg به موش‌های حامله تغییری را در وزن جفت آنان در مقایسه با گروه شاهد ایجاد نکرد (۲۰) اما این محققان افزایشی در میزان بروز آتروفی و ناهنجاریهای خارجی درفتوس‌های این حیوانات نیز مشاهده نکردند.

به نظر می‌رسد در خصوص ارتباط بین توکسیسیتی مادر و فتوس یک قاعده کلی و ثابت وجود نداشته باشد. قطعاً اعضا و بافت‌های جنینی از آستانه آسیب‌پذیری پائین‌تری در مقایسه با ساختمان‌های مادری برخوردار بوده و ترکیبات سمی با دوز پائین‌تر می‌توانند باعث بروز آسیب در آنها شوند (۲۱) اما در این میان نقش جفت هم بسیار با اهمیت است. اینکه نفوذپذیری سدخونی - جفتی در برابر یک ترکیب سمی چقدر باشد می‌تواند تعیین کند که آستانه آسیب‌رسانی ماده تراژون در چه حدی بوده و مکانیسم آسیب آن اولیه یا ثانویه یا تلفیقی از هر دو باشد. نفوذپذیری بالای سدخونی - جفتی در برابر یک تراژون سبب خواهد شد که آن ماده با دوزی به مراتب پائین‌تر از دوز آسیب‌رسان برای مادر، بتواند در جنین ایجاد

ناهنجاری نماید. اما اگر سدخونی - جفتی نفوذپذیری پائینی را در برابر یک ماده تراژون نشان دهد، آن ماده با دوز پائین اثر آشکاری را بر مادر و جنین نشان نخواهد داد. اما بالا رفتن دوز و یا مسمومیت مزمن به آن ماده سبب تجمع بیش از حد آن در ساختمان‌های مادری و از جمله جفت شده و می‌تواند با آسیب رساندن و ایجاد اختلال در عملکرد طبیعی آنها بطور ثانویه سبب آسیب دیدن ساختمان‌های جنینی شود.

کلرید آلومینیوم از جمله ترکیبات سمی است که سدخونی - جفتی در برابر عبور آن مقاومت خوبی از خود نشان می‌دهد. گزارش شده است که فقط ۲۳٪ از کلرید آلومینیوم تزریق شده به رت‌های حامله از جفت عبور کرده و وارد بدن فتوس‌ها شدند (۲۱). در چنین حالتی میزان تجمع ماده سمی در بدن مادر و نیز در جفت افزایش می‌یابد. چنانکه همین محققان نشان دادند که میزان کلرید آلومینیوم در جفت رت‌های حامله در حدود ۹۰ درصد میزان کبدی آن بوده است (۲۱). بدیهی است در چنین حالتی تجمع ماده سمی می‌تواند باعث آسیب دیدن جفت شده و بطور ثانویه جنین‌ها را متاثر سازد و یا با آسیب دیدن سدخونی - جفتی ورود ماده سمی به بدن جنین را نیز تسهیل نموده و در آسیب رساندن به جنین تلفیقی از هر دو مکانیسم دخالت داشته باشند.

تجمع کلرید آلومینیوم در بافت‌های مادری و نیز جفت می‌تواند اختلالات ماکروسکوپی و میکروسکوپی ساختمان رحم که در این مطالعه مشاهده شد را توجیه نماید. همورازی و نیز واکنش آماسی مشاهده شد در ساختمان رحم می‌تواند نشان دهنده آسیب‌های عروقی رحم تحت تاثیر کلرید آلومینیوم باشد. بدیهی است آسیب ساختمانی رحم می‌تواند جنین‌ها را متاثر سازد.

در مطالعه Colomina و همکاران تغییری در وزن و شکل ظاهر رحم موش‌های دریافت کننده کلرید آلومینیوم مشاهده نشد (۱۲)، اما دوز مورد استفاده آنان نصف مطالعه حاضر بوده و نیز این محققان ساختمان میکروسکوپی رحم را مورد بررسی قرار ندادند. به نظر می‌رسد به دلیل نفوذپذیری پائین سدخونی - جفتی در برابر کلرید آلومینیوم فقط دوز بالای این ماده سمی می‌تواند با ایجاد اختلالات ساختمانی در رحم و جفت امکان آسیب رساندن به جنین‌ها را فراهم آورد.

References

1. Exley C, Burgess E, Day JP, Jeffery EH, Melethil S, Yokel RA. Aluminium toxicokinetics. *J Toxicol Environ Health* 1996; 48: 569.
2. Golub MS, Germann SL, Han B, Keen CL. Lifelong feeding of a high aluminum diet to mice. *Toxicology* 2000; 150: 107-17.
3. Domingo JL. Reproductive and developmental toxicity of aluminium: a review. *Neurotoxicology and teratology* 1995; 17(4): 515-21.
4. Alferey AC, LeGendre GR, Kaehny WD. The dialysis encephalopathy syndrome. Possible aluminium intoxication. *New England Journal of Medicine* 1996; 294: 184-8.
5. Bilkei Gorzo A. Neurotoxic effect of enteral aluminium. *Food and chemical toxicology* 1993; 31: 357-61.
6. Canales JJ, Corbalan R, Montoliu C, et al. Aluminium impairs the glutamate-nitric oxide-cGMP path way in cultured neurons and in rat brain in vivo: Molecular mechanisms and implications for neuropathology. *Journal of Inorganic Biochemistry* 2001; 87: 63-69.
7. Mestaghanmi H, El Amrani S, Saile R. Effects of aluminium chloride administration during gestation in rat. *STAL* 2002; 27(1): 73-81.
8. Suwalsky M, Ungerer B, Villena F, Norris B, Cardenas H, Zatta P. Effects of ALCL3 on toad skin, human erythrocytes, and model cell membranes. *Brain Res Bull* 2001; 55(2): 203-10.
9. Guo CH, Huang CJ, Chen ST, Hsu G. Serum and testicular testosterone and nitric oxide products in aluminum treated mice. *Environ Toxicol Pharmacol* 2001; 10: 53-60.
10. Wide M. Effect of short-term exposure to five industrial metals on the embryonic and fetal development of the mouse. *Environ Res* 1984; 33: 47-53.
11. Paternain JL, Domingo JL, Liobet JM, Corbella J. Embryotoxic and teratogenic effects of aluminium nitrate in rats upon oral administration. *Teratology* 1988; 38: 253-7.
12. Colomina MT, Esparza JL, Corbella J, Domingo JL. The effect of maternal restraint on developmental toxicity of aluminium in mice. *Neurotoxicology and Teratology* 1998; 20(6): 651-6.
13. Agrawal SK, Ayyash L, Gourley CS, Levy J, Faber K, Hughes CL JR. Evaluation of the development neuroendocrine and reproductive toxicology of aluminium. *Fd Chem Toxic* 1996; 34(1): 49-53.
14. Kloppel H, Fliedner A, Kordel W. Behaviour and endotoxicology of aluminium in soil and water. Review of the scientific literature. *Chemosphere* 1997; 35: 353-63.
15. Shehla KF, Prabhavathi PA, Padmavathi P, Reddy PP. Analysis of chromosomal aberrations in men occupationally exposed to cement dust. *Mutation Research* 2001; 490: 179-86.

16. Liobet JM, Colomina MT, Sirvent JJ, Domingo JL, Corbella J. Reproductive toxicology of aluminium in male mice. *Fund Appl Toxicol* 1995; 95: 45-51.
۱۷. پریور ک، محسنی کوچصفهانی ه. اطلس جنین شناسی و جنین شناسی تجربی، انتشارات جهاد دانشگاهی، دانشگاه تربیت معلم، ۱۳۷۲: ۵۰۷-۴۲۳.
18. Khera KS. Maternal toxicity: a possible etiological factor in embryo-fetal deaths and fetal malformations of rodent-rabbit species. *Teratology* 1985: 129-53.
19. Chahoud I, Ligensa A, Dietzel L, Faqi AS. Correlation between maternal toxicity and embryo-fetal effects. *Reprod Toxicol* 1999; 13: 325-81.
20. Golub M, Gershwin ME, Donald JM, Negri S, Keen CL. Maternal and developmental toxicity of chronic aluminium exposure in mice. *Fundam Appl Toxicol* 1987; 8: 346-57.
21. Yomoto S, Nagain H, Matsuzaki H, Matsumura H, Tada W, Nagatsuma E, Kobayashi K. Aluminium incorporation into the brain of rat fetuses and sucklings. *Brain Research Bulletin* 2001; 55(2): 229-34.