مقاله تحقیقی

مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی بابل
دوره هفدهم، شماره 10، مهر1394، صفحه 66-60

مقایسه تاثیر آرسنیت سدیم و نانوآرسنیت سدیم روی ناهنجاری‌های ظاهری و اسکلتی جنین‌های موش صحرایی

حسین نجف زاده ورزی (PhD)[1*]، محمود خاکساری مهابادی (PhD)[2]، عبداله حاجی (DVM)[3]

1-گروه فارماکولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز
2-گروه آناتومی و جنین شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز
3-دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز

دریافت: 93/9/24، اصلاح:93/11/15 ، پذیرش:94/2/16

خلاصه

سابقه و هدف: آرسنیک سبب ناهنجاریهای مادرزادی در انسان و حیوانات می‌شود. نانوآرسنیت توان بیشتری در ایجاد آپوپتوز دارد، از آنجاییکه تاکنون اثرات نانو آرسنیت بر ناهنجاری های جنینی ارزیابی نشده لذا این مطالعه به منظور مقایسه اثر آرسنیت سدیم و نانوآرسنیت سدیم بر روی ناهنجاریهای اسکلتی جنین موش صحرایی انجام شد.

مواد و روشها: این مطالعه تجربی در مدل حیوانی بر روی 23 سر موش صحرایی آبستن در 4 گروه انجام شد. تایید آبستنی با مشاهده پلاک واژنی بود. در روز دهم آبستنی به گروه اول (گروه شاهد، 7 سر) نرمال سالین و به گروه‌های دیگر به ترتیب آرسنیت سدیم با دوز 11 میلی‌گرم (5 سر)، نانوآرسنیت سدیم با دوزهای 1 (5 سر) و 11 (7 سر) میلی‌گرم برای هر کیلوگرم وزن بدن، بصورت داخل صفاقی، تزریق گردید. در روز بیستم آبستنی موش ها آسان کشی شدند و پس از خارج کردن جنین‌ها، طول و وزن آنها تعیین و با آلیزارین قرمز-آلسین آبی رنگ‌آمیزی شدند. ناهنجاری‌های سیستم اسکلتی جنین‌ها از جمله شکاف کام، بدشکلی های دنده ها، مهره ها و ستون فقرات، جناغ، دستها و پاها، انگشتان و کاهش استخوان سازی بوسیله استریومیکروسکوپ بررسی و مقایسه شد.

یافته‌ها: آرسنیت معمولی و نانو وزن جنین را بطور معنی داری از حدود 5 گرم در گروه شاهد به کمتر از 2 گرم رساندند ($p\leq0/033$) و طول جنین را از حدود 38 میلیمتر به 28 میلیمتر کاهش دادند ($p\leq0/023$). کاهش طول و وزن جنین ها با دوز 11 میلی‌گرم نانو در مقایسه با آرسنیت معمولی (11 میلی‌گرم) معنی دار بود ($p\leq0/033$). درصد وقوع ناهنجاریها در گروه های تحت تیمار از 3 تا 47 درصد بوده در حالی که در گروه شاهد ناهنجاری اسکلتی مشاهده نشد.

نتیجه گیری: نانوآرسنیت نسبت به آرسنیت معمولی اثرات بیشتری بر کاهش وزن و طول جنین و برخی از ناهنجاری های اسکلتی مثل شکاف کام دارد.

واژه‌های کلیدی: آرسنیت سدیم، ناهنجاری اسکلتی، جنین موش صحرایی.

مقدمه

در معرض بودن جنین با مواد شیمیایی از جمله داروها ممکن است منجر به ناهنجاری‌های جنینی یا سقط گردد (3-1). داروهایی مانند والپروئیک اسید(1)، سیکلوفسفامید، متیل نیتروزاوره، فنی توئین و آرسنیک از جمله شناخته شده ترین داروهای تراتوژنیک در انسان و حیوانات می‌باشند(4). مسمومیت و در معرض بودن با آرسنیک می تواند سلامت و بهداشت انسانی را به خطر اندازد (7-5). مطالعات اپیدمیولوژیک نشان داده که در معرض بودن با آرسنیک منجر به اختلال عملکرد اعصاب به ویژه حافظه و یادگیری در اطفال و افراد بالغ می شود (8). آرسنیک بر روی سیستم آنتی‌اکسیدان بدن اثر کرده و باعث تشکیل رادیکال‌های آزاد شده و واکنش‌های اکسیداسیون را در بدن تسهیل می‌نماید(10و9). آرسنیک یک تراتوژن شناخته شده است که به نقص‌های جنینی در انسان و حیوانات خصوصاً حیوانات آزمایشگاهی می‌انجامد. ناهنجاری‌های ناشی از آرسنیک شامل اگزنسفالی، آنوفتالمی، چشم باز، کوتاهی فک، نقص در اندام‌ها و دنده‌ها، جوش خوردگی مهره‌ها، نبود یا کوتاهی دم و دم پیچ خورده و کاهش وزن می‌باشد (13-11). نانو داروها نسبت به داروهای معمولی دارای مزیت بیشتری از جمله انتخابی‌تر عمل کردن دارو برای رسیدن به بافت هدف، خلوص بالاتر، جذب بیشتر دارو، افزایش اثر دارو در بدن، تجویز مقادیر کمتر دارو همراه با کاهش دفعات تجویز می باشند. در واقع خصوصیت مهم نانو داروها بالاتر بودن نسبت سطح به حجم آنها در مقایسه با داروهای معمولی است که این افزایش نسبی، به افزایش حلالیت، سرعت جذب و عبور راحتتر آنها از سد خونی مغزی کمک می کند (14). به همین دلیل توجه به عوارض و سمیت نانو داروها نیز از جمله موارد مهمی است که در به کارگیری آنها، باید مورد توجه خاص قرار گیرد. مطالعه Najafzadeh و همکاران نشان داد که نانو آرسنیت سدیم توان بیشتری از آرسنیت معمولی در ایجاد آپوپتوز سلولهای کبد موش دارد (15). همچنین در طی مطالعه دیگری اثرات تراتوژنیک آرسنیت سدیم را در جنین موش بررسی و مشاهده شد که این ماده می تواند روی بدشکلی های جنینی در محور اسکلتی و فرایند استخوان سازی اثر داشته باشد (16). با توجه به اثرات تراتوژنیک آرسنیک، هدف از این مطالعه، مقایسه اثرات تراتوژنیک نانوآرسنیت سدیم روی ناهنجاریهای ظاهری و سیستم اسکلتی جنین موش صحرایی با اثرآرسنیت سدیم می باشد.

▣ این مقاله حاصل پایان نامه آقای عبداله حاجی دانشجوی دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز می باشد.
* مسئول مقاله: دکتر حسین نجف زاده ورزی
آدرس: اهواز، دانشگاه شهید چمران، گروه علوم پایه، بخش فارماکولوژی. تلفن: 061-33330073
E-mail: najafzadeh@scu.ac.ir

[DOR: 20.1001.1.15614107.1394.17.10.9.4]
[DOI: 10.22088/jbums.17.10.60]

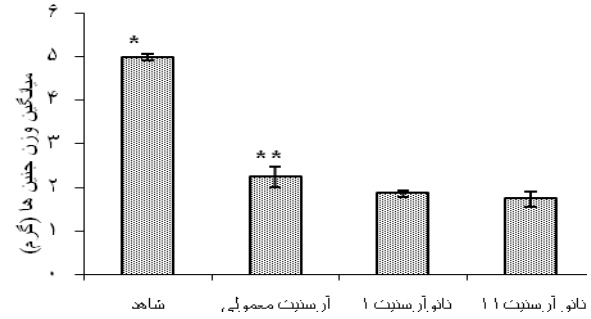
مواد و روش‌ها

این مطالعه تجربی بر روی 23 مدل حیوانی از موش‌های صحرایی نژاد ویستار مرکز تحقیقات و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز انجام شد. موش‌های صحرایی نر و ماده حدود 2 هفته به منظور تطابق با محیط در مرکز تحقیقات به طور مجزا از یکدیگر نگهداری شدند. شرایط نگهداری در دمای 22-20 درجه سانتیگراد حرارت، و دوره 12 ساعت روشنایی- 12 ساعت تاریکی بود. موش‌های صحرایی در سن تقریباً 12 هفتگی و همچنین دارای میانگین وزنی 200-180گرم در شرایط یکسان تغذیه و محیط نگهداری شدند. موش‌های صحرایی از آب لوله‌کشی شهر و غذای فشرده ساخت کارخانه خوراک دام شوشتر استفاده کردند. برای انجام عمل جفت‌گیری موش‌های صحرایی، هر سه سر موش‌های صحرایی ماده با یک سر موش‌های صحرایی نر در ساعت 20 شب در کنار همدیگر قرار داده شدند و روز بعد، روز صفر حاملگی محاسبه گردید. تایید آبستنی با مشاهده پلاک واژنی بود. موش‌های صحرایی حامله به صورت تصادفی در چهار گروه به طور مجزا نگهداری شدند. گروه اول (به تعداد 7 سر موش) در روز دهم آبستنی به موش های آبستن این گروه هم حجم آرسنیت سدیم، نرمال سالین به صورت داخل صفاقی تجویز شد (گروه شاهد). گروه دوم (به تعداد 5 سر موش) در روز دهم آبستنی آرسنیت سدیم (شرکت مرک آلمان) به میزان 11 میلی‌گرم برای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت داخل صفاقی تجویز شد (16). گروه سوم (به تعداد 5 سر موش) در روز دهم آبستنی نانوآرسنیت سدیم به میزان 1 میلی‌گرم برای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت داخل صفاقی تجویز شد. گروه چهارم (به تعداد 6 سر موش) در روز دهم آبستنی نانوآرسنیت سدیم به میزان 11 میلی‌گرم برای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت داخل صفاقی تجویز شد. نانوذره آرسنیت سدیم با روش آسیاب کاری مکانیکی در دانشگاه صنعتی اصفهان تهیه شد و اندازه ذره بوسیله دستگاه سنجش ذرات و تابش اشعه ایکس (Diffraction XRD= X-ray) حدود 50 نانومتر تایید شد. در روز بیستم آبستنی، موش‌ها بوسیله اتر آسان کشی شده و پس از باز کردن محوطه شکمی و برش شاخ رحم، جنین‌ها از رحم خارج شدند. جنین-ها از نظر ناهنجاریهای ظاهری در نواحی مختلف بدن ارزیابی شدند و وزن و طول جنین با ترازو و کولیس اندازه‌گیری شده و تعداد جنین‌های مرده، زنده و جذب شده تعیین گردید. ناهنجاری‌های سیستم اسکلتی جنین‌ها (ناهنجاری های اسکلت محوری و اسکلت زائده‌ای) پس از رنگ‌آمیزی با رنگ‌های آلیزارین قرمز و آلسین آبی با استریومیکروسکوپ بررسی شد و با گروه شاهد مقایسه گردید. داده‌ها با استفاده از آزمونهای آماری آنالیز واریانس یک طرفه(ANOVA) و آزمون تعقیبی LSD و independent t-student جهت تعیین اختلاف میانگین وزن و طول جنین‌ها مقایسه شدند و $p\leq0/05$ معنی‌دار تلقی شد.

یافته ها

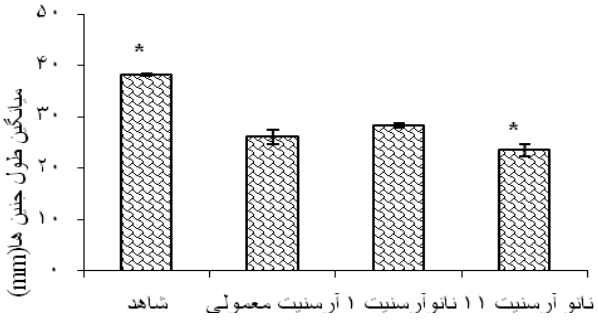
از تمام موشهای آبستن تعداد 181 سر جنین بدست آمد. در گروه شاهد 55 سر جنین و در سه گروه تیمار به ترتیب 23، 26 و 33 سر جنین استحصال شد. درصد جنین های جذب شده در گروه شاهد و گروه های دریافت کننده آرسنیت معمولی، نانو آرسنیت 1 و 11 میلی گرم به ترتیب 3/51، 54، 16/13 و 23/26 درصد بود. میانگین وزن جنین‌ها در گروه دریافت کننده نرمال سالین (شاهد) 4/99±0/08 گرم بود. به علاوه میانگین فوق در گروه‌های دریافت کننده آرسنیت سدیم، نانوآرسنیت سدیم با دو دوز 1 و11 میلی‌گرم برای هر کیلوگرم وزن بدن به ترتیب 2/24±0/24، 1/86±0/07 و 1/742±0/17 گرم بود. میانگین وزن جنین‌ها در گروه شاهد نسبت به گروههای دریافت کننده آرسنیت سدیم و نانوآرسنیت سدیم به طور معنی‌داری بیشتر بود($p\leq0/033$). که این معنی‌داری نسبت به گروه نانوآرسنیت سدیم به میزان 11 میلی‌گرم برای هر کیلوگرم وزن بدن بیشتر از سایر گروهها بود. میانگین وزن گروه دریافت کننده آرسنیت سدیم نسبت به گروه دریافت کننده نانوآرسنیت سدیم با دوز 11 میلی گرم برای هر کیلوگرم وزن بدن تفاوت معنی‌داری را نشان داد ولی این میانگین به اندازه گروه شاهد نبود($p=0/023$) (نمودار1). میانگین طول جنین‌ها در گروههای دریافت کننده نرمال سالین، آرسنیت سدیم، نانوآرسنیت سدیم با دوزهای 1 و 11 میلیگرم برای هر کیلوگرم وزن بدن به ترتیب 0/27±38/18، 1/4±26/13، 0/44±28/34 و 1/12±23/51 میلیمتر محاسبه شد. میانگین طول جنین‌ها در گروه شاهد به طور معنی‌داری بیشتر از گروههای دریافت کننده آرسنیت سدیم و نانوآرسنیت سدیم بود ($p<0/05$) (نمودار 2). میانگین طول جنین‌ها در گروه دریافت کننده آرسنیت سدیم به طور معنی‌داری بیشتر از گروه دریافت کننده نانوآرسنیت سدیم به میزان 11 میلی‌گرم برای هر کیلوگرم وزن بدن بود، ولی این میانگین به اندازه گروه شاهد نبود($p=0/033$). میانگین طول جنین‌ها در گروه دریافت کننده نانوآرسنیت سدیم با دوز 11 میلی‌گرم برای هر کیلوگرم وزن بدن در مقایسه با سایر گروهها کمتر بود، ($p<0/05$). میانگین طول جنین‌ها در گروه دریافت کننده نانوآرسنیت سدیم به میزان 1 میلیگرم برای هر کیلوگرم وزن بدن بیشتر از گروه دریافت کننده آرسنیت سدیم بود ولی از نظر آماری معنی‌دار نبود. تغییرات ظاهری جنین‌ها به دنبال مصرف آرسنیت سدیم شامل جذب شدن جنین‌ها بود و ناهنجاری ظاهری خاصی مشاهده نگردید. درصد جنین‌های زنده در گروه دریافت کننده نرمال سالین، آرسنیت سدیم، نانوآرسنیت سدیم با دوزهای 1 و 11 میلی‌گرم برای هر کیلوگرم وزن بدن به ترتیب 96/49، 46، 83/87، 76/74 درصد بود، ولی در بررسی استریومیکروسکوپی سیستم اسکلتی، جنین‌ها دارای ناهنجاریهای شکاف کام، مهره شکاف دار، جناغ دو قسمتی، به هم چسبیدن مهره‌های جناغی، به هم چسبیدن دنده‌ها، دنده ناقص و کاهش استخوان سازی دست و پا بودند (جدول 1). در گروه شاهد ناهنجاریهای ظاهری و اسکلتی مشاهده نشد. کاهش استخوان سازی جنین ها در گروههای دریافت کننده آرسنیت سدیم و نانوآرسنیت سدیم نسبت به هم تفاوت معنی‌داری نداشتند. جذب جنین‌ها و شکاف کام در گروه دریافت کننده آرسنیت سدیم نسبت به گروه‌های دریافت کننده نانوآرسنیت سدیم از نظر آماری اختلاف معنی‌داری را نشان داد اما بین گروههای دریافت کننده نانوآرسنیت سدیم اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. مهره شکاف‌دار، استخوانی نشدن مهره‌های جناغ، دنده ناقص، جناغ دو قسمتی در گروه‌های دریافت کننده آرسنیت سدیم و نانوآرسنیت سدیم مشاهده شد ولی از نظر آماری اختلاف معنی‌داری را نشان نداد. به هم چسبیدن دنده‌ها فقط در گروه دریافت کننده آرسنیت سدیم مشاهده شد. بین دو گروه دریافت کننده نانوآرسنیت سدیم مشاهده شد که با افزایش دوز دارو میانگین طول جنین‌ها به صورت معنی‌داری کاهش یافت ($p<0/05$) ولی اختلاف میانگین وزن جنین ها نسبت به هم، معنی-دار نبود. همچنین از نظر وقوع ناهنجاریهای دیگر تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های دریافت کننده نانوآرسنیت سدیم مشاهده نشد.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1394.17.10.9.4]
[DOI: 10.22088/jbums.17.10.60]



نمودار 1. مقایسه میانگین وزن(گرم) در جنین‌های گروه‌های مختلف

* اختلاف معنی‌دار بین گروه شاهد با بقیه گروه‌ها، ** اختلاف معنی‌دار بین گروه دریافت کننده آرسنیت سدیم با گروه دریافت کننده نانوآرسنیت سدیم با دوز 11 میلی‌گرم برای هر کیلوگرم وزن بدن



نمودار 2. مقایسه میانگین طول(میلی‌متر) در جنین‌های گروه‌های مختلف

* اختلاف معنی‌دار بین گروه شاهد با بقیه گروه‌ها،** اختلاف معنی‌دار بین گروه دریافت کننده آرسنیت سدیم با گروه دریافت کننده نانوآرسنیت سدیم با دوز 11 میلی‌گرم برای هر کیلوگرم وزن بدن

جدول 1. فراوانی ناهنجاری‌های مشاهده شده در جنین‌های گروه‌های مختلف

گروه‌ها	جنین زنده تعداد(درصد)	جنین جذب شده تعداد(درصد)	شکاف کام	مهره شکاف دار	ناهنجاری‌ها تعداد(درصد) جناغ دو قسمتی	بهم چسبیدن مهره‌های جناغی	دنده ناقص	بهم چسبیدن دنده ها	کاهش استخوان سازی دست و پا
شاهد (n=55)	55(96/49)	2(3/51)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
آرسنیت سدیم (n=23) 11mg	23(46)	27(54)	9(39/13)	11(47/82)	1(4/34)	11(47/82)	6(26/08)	5(21/74)	9(39/13)
نانوآرسنیت سدیم (n=26) 1mg	26(83/87)	5(16/13)	20(76/92)	8(30/77)	1(3/85)	13(50)	7(26/92)	0(0)	11(42/31)
نانوآرسنیت سدیم (n=33) 11mg	33(76/74)	10(23/26)	25(75/76)	10(30/30)	1(3/03)	15(45/45)	7(21/21)	0(0)	13(39/39)

بحث و نتیجه گیری

در مطالعه حاضر به طور کلی درصد وقوع مهمترین ناهنجاری‌ها از جمله شکاف کام، مهره شکاف دار، بهم چسبیدن دنده‌ها و کاهش استخوان‌سازی دست و پا ناشی از آرسنیت سدیم به ترتیب 39/13، 47/8، 21/74، 39/13 و برای نانوآرسنیت سدیم با دوز 1 میلی گرم به ترتیب 76/92، 30/77، صفر، 42/31 و برای نانوآرسنیت سدیم با دوز 11 میلی گرم به ترتیب 75/76، 30/30، صفر، 39/39 درصد بود. آرسنیک به عنوان یک سم تأثیرات متعددی بر روی فعالیتهای آنزیمی و همچنین پروتئین‌های بدن دارد. آرسنیک فعالیت‌های وابسته به انرژی میتوکندری را از طریق رقابت با فسفات در هنگام فسفریلاسیون اکسیداتیو و مهار NAD مختل می‌کند. آرسنیک آنزیم‌های میتوکندریال را تحت تاثیر قرار داده و تنفس غشایی را مختل می کند. به‌نظر می رسد این موضوع با خاصیت سیتوتوکسیک آرسنیک در ارتباط باشد (10و9). همچنین آرسنیک آنزیم سوکسینیک دهیدروژناز را مهار کرده و موجب جدا شدن فرآیندهای اکسیداتیو و فسفریلاسیون می‌شود(10و9). از آنجایی که استرس اکسیداتیو و تولید رادیکالهای آزاد نقش مهمی در ناهنجاری‌های جنینی دارد، به نظر می‌رسد آرسنیک از این طریق در ایجاد ناهنجاری‌های جنینی اسکلتی موش صحرایی دخالت داشته باشد. در مطالعه Najafzadeh و همکاران تجویز آرسنیت سدیم با دوز 11 میلی‌گرم

[DOR: 20.1001.1.15614107.1394.17.10.9.4]
[DOI: 10.22088/jbums.17.10.60]

برای هر کیلوگرم وزن بدن موش صحرایی در روز دهم آبستنی موجب ناهنجاری در 55 درصد جنین‌ها شد (16). Hood و همکاران دوزهای مختلف از آرسنیت سدیم را بر روی موش و جنین آن بررسی نمودند و دوز 10 یا 12 میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم را دوز فتوتوکسیک و تراتوژنیک گزارش کردند و نواقصی از قبیل کوتاهی فک پایین، باز بودن چشم، ناهنجاری‌هایی در اندام ها، کوتاهی یا فاقد دم، دم پیچ خورده و به هم چسبیدن بدنه مهره‌ها را مشاهده کردند(17). ناهنجاری‌های مشاهده شده در این مطالعه با بررسی فوق متفاوت می‌باشند که احتمالاً به دلیل نوع حیوان (موش سوری) و نوع نمک آرسنیک (آرسنات) می باشد. همچنین Machado و همکاران با تجویز آرسنیت سدیم در دوزهای 5، 10 و 15 میلی گرم برای هر کیلوگرم وزن بدن موش سوری در روز هشتم آبستنی مشاهده کردند که دوز 5 میلی گرم موجب ناهنجاری در 9/3 درصد جنین ها شد در حالی که دوز 10 میلی گرم سبب ناهنجاری در 45 درصد جنین‌ها گردید و دوز 15 میلی گرم سبب جذب 100 درصد جنین‌ها شد(11). در مطالعه حاضر که آرسنیک معمولی با دوز 11 میلی‌گرم برای هر کیلوگرم وزن بدن تجویز شد، موجب جذب 54 درصد از جنین‌ها شد. این میزان برای گروه‌های نانوآرسنیت با دوزهای 1 و 11 میلی‌گرم به ترتیب برابر 16/13 و 23/26 درصد بود. Wlodarczyk و همکاران نیز آرسنیک را واجد خطرات مهم در تکامل جنینی معرفی نمودند و تفاوت موجود در عوارض را به تفاوت در متابولیت‌های مربوطه دانستند. آن‌ها مشاهده کردند که اگزنسفالی مهمترین ناهنجاری ایجاد شده به‌وسیله آرسنات می‌باشد(18). ولی این عارضه در مطالعه ما مشاهده نشد که شاید به دلیل تفاوت نوع حیوان، نمک آرسنیک و زمان تجویز آرسنیک در آبستنی باشد. Hills و همکاران نیز در بررسی اثرات آرسنیک در جنین موش اثراتی چون نقص‌های اسکلتی و کاهش وزن را برای آن ذکر نمودند، ناهنجاریهای مختلفی از جمله اگزنسفالی، ناهنجاری دنده (از قبیل چسبندگی دنده)، ناهنجاری‌های مهره‌(همانند چسبندگی مهره)، ناهنجاری مچ دست و پا مشاهده گردید(12)، در حالی که در مطالعه ما اگزنسفالی مشاهده نشد ولی شکاف کام، مهره شکاف دار و ناهنجاری‌های مهره‌ای و دنده‌ای مشاهده شد، که این تفاوت در بعضی ناهنجاری‌ها می‌تواند به دلیل روزهای آبستنی در معرض این ماده باشد، به طوری که اگزنسفالی ناهنجاری ناشی از نقایص لوله عصبی است که بسته شدن آن در موش در روزهای هفتم تا نهم آبستنی می‌باشد. در مطالعه‌ای Liu و همکاران نشان دادند که تجویز آرسنیت سدیم در آب آشامیدنی موش صحرایی در روزهای 8 تا 18 آبستنی موجب تغییرات عملکرد آدرنال در جنین می‌شود (19). در مطالعه ای دیگر تزریق داخل صفاقی آرسنیک با دوزهای مختلف در روز 9 آبستنی، نقایص تکاملی در مغز، سیستم بینایی و اندام‌ها را ایجاد کرد (20). طی بررسی مشاهده گردید که آرسنات موجب کاهش رشد جنین و نقص لوله عصبی می‌گردد (21)، که با نتایج مربوط به رشد و وزن جنین حاصل از مطالعه حاضر مطابقت دارد ولی در مطالعه حاضر نقایص مربوط به لوله‌های عصبی بررسی نشد. Ahmad و همکاران با بررسی میزان آرسنیک در آب آشامیدنی و ارتباط آن با عوارض حاملگی و جنینی در انسان مشاهده کردند که سقط خود به خودی، مرده زایی و زایمان زودرس در مادران باروری که در معرض آرسنیک بودند به طور معنی‌داری بیشتر از مادران باروری بود که در معرض آرسنیک نبودند (22). در تحقیقی در سال 2014 بیان شد که نانوسوسپانسیون سولفید آرسنیک سمیت بالایی بر روی رده سلولی ملانومای انسانی نشان داده است (23). به نظر می‌رسد که هر چه اندازه نانو ذرات کاهش بیشتری داشته باشد، تغییر در رفتار این مواد نیز بیشتر خواهد شد، چرا که کاهش اندازه ذرات، پیدایش خواص جدیدی از جمله افزایش واکنش پذیری، افزایش خواص جذب، افزایش بر همکنش های فیزیکی در سطح ذره، کاهش دمای ذوب و تغییر خواص الکتریکی را بدنبال خواهد داشت(14). در مطالعه حاضر افزایش میزان دارو نیز برخی از ناهنجاری های ایجاد شده را به طور معنی داری افزایش داد. در مطالعه‌ای که توسط Zhang و همکاران انجام شد، گزارش گردید که اندازه ذرات نانو در عبور آنها از غشاهای زیستی موثر بوده و برهمکنشهای متفاوتی نیز با غشاهای زیستی دارند(24). همچنین مطالعه Sonavane و همکاران نشان داد، انتشار ذرات نانوی طلا با اندازه کوچکتر در خون و بافت‌هایی مانند کبد، کلیه، طحال و بطور کلی عبور آنها از سد خونی مغزی نسبت به ذرات بزرگتر، بیشتر است (25). مطالعه Najafzadeh و همکاران نشان داد که نانوآرسنیت سدیم توان ایجاد آپوپتوز بیشتری نسبت به آرسنیت سدیم معمولی دارد که این میزان برای دوزهای 40µmol و 100µmol از آرسنیت سدیم معمولی بترتیب 30/67% و 57/34% و برای نانو آرسنیت سدیم بترتیب 42/67% و 86/67% بود (15). از این مطالعه می توان نتیجه گیری کرد که با تجویز آرسنیت سدیم معمولی و نانوآرسنیت سدیم درصد ناهنجاری‌ها در مقایسه با گروه شاهد افزایش پیدا کرد. به طوری که کاهش طول و وزن جنین‌ها در گروه دریافت کننده نانوآرسنیت با دوز 11 میلی‌گرم برای هر کیلوگرم وزن بدن در مقایسه با آرسنیت معمولی با همین دوز دارای اختلاف معنی‌دار بوده است و همچنین وقوع شکاف کام در گروه‌های دریافت کننده نانوآرسنیت نسبت به گروه دریافت کننده آرسنیت سدیم معمولی افزایش معنی‌داری داشت. اگر چه میزان جذب جنین در گروه آرسنیت معمولی بیشتر از نانوآرسنیت بود.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه شهید چمران اهواز بدلیل حمایت مالی از این تحقیق و همچنین از آقای دکتر علی اشرفی که در تهیه نانوآرسنیت مورد نیاز این مطالعه همکاری داشتند، تشکر و قدردانی می گردد.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1394.17.10.9.4]
[DOI: 10.22088/jbums.17.10.60]

A Comparative Study of the Effects of Sodium Arsenite and Nanoparticles of Sodium Arsenite on the Apparent and Skeletal Malformations in Rat Embryos

H. Najafzadeh (PhD)*[1], M. Khaksary Mahabady (PhD)[2], A. Haji (DVM)[3]

1.Department of Pharmacology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University, Ahvaz, I.R.Iran
2.Department of Anatomy and Embryology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University, Ahvaz, I.R.Iran
3.Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University, Ahvaz, I.R.Iran

J Babol Univ Med Sci; 17(10);Oct 2015; PP:60-6
Received: Dec 15th 2014, Revised: Feb 4th 2015, Accepted: May 6th 2015.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Arsenic causes congenital anomalies in humans and animals, and nanoparticles of sodium arsenite are highly capable of inducing apoptosis. Since the effects of nanoparticles of sodium arsenite on fetal malformations have not been evaluated yet, this study aims to compare the effect of sodium arsenite and nanoparticles of sodium arsenite on skeletal malformations in rat embryos.

METHODS: This in-vitro study was performed on four groups of pregnant rats (n= 23 rats). Mating was confirmed by observation of vaginal plug. On the tenth day of gestation, pregnant rats in different groups received intraperitoneal normal saline (n=7 rats), sodium arsenite (11 mg/kg) (n=5 rats), nanoparticles of sodium arsenite (1 mg) (n=5 rats) and nanoparticles of sodium arsenite (11 mg) (n=7 rats). All the rats were euthanized on the twentieth day of pregnancy and their embryos were removed, their weight and length were measured, and then were stained with alizarin red and alcian blue. The skeletal system abnormities of embryos such as cleft palate, malfunctions or malformations in ribs, vertebrae, spine, sternum, arms, legs, fingers and reduction of ossification were evaluated by a stereomicroscope, and then compared with the control group.

FINDINGS: Sodium arsenite and nanoparticles of sodium arsenite reduced fetal weight from 5 g in the control group to 2 g ($p \leq 0.033$) and also, decreased fetal length from 38 cm to 28 cm in the control group ($p \leq 0.023$). The weight and length of fetuses were significantly reduced in nanoparticles of sodium arsenite group (11 mg), as compared to sodium arsenite group ($p \leq 0.033$). There were no skeletal malformations in the control group, while the percentage of anomalities was between 3% and 47% in the intervention group.

CONCLUSION: Nanoparticles of sodium arsenite, as compared to sodium arsenite, were more effective in reducing fetal length and weight and in diminishing the rate of skeletal malformations such as cleft palate.

KEY WORDS: *Fetal Rats, Skeletal Anomalies, Sodium Arsenite.*

Please cite this article as follows:

Najafzadeh H, Khaksary Mahabady M, Haji A. A Comparative Study of the Effects of Sodium Arsenite and Nanoparticles of Sodium Arsenite on the Apparent and Skeletal Malformations in Rat Embryos. J Babol Univ Med Sci. 2015;17(10): 60-6.

***Corresponding Author: H. Najafzadeh (PhD)**
Address: Department of Basic Sciences of Pharmacology, Shahid Chamran University, Ahvaz, I.R.Iran
Tel: +98 61 33330073
Email: najafzadeh@scu.ac.ir

[DOR: 20.1001.1.15614107.1394.17.10.9.4]
[DOI: 10.22088/jbums.17.10.60]

References

1-Giavini E, Menegola E. Gene-teratogen chemically induced interactions in congenital malformations. Biol Neonate. 2004;85(2):73-81.

2-Finnell RH, Dansky LV. Parental epilepsy, anticonvulsant drugs, and reproductive outcome: epidemiologic and experimental findings spanning three decades; 1: Animal studies. Reproduc Toxicol. 1991;5(4):281-99.

3-De santis M, Straface G, Carducci B, Cavaliere AF, De Santis L, Lucchese A, et al. Risk of drug–induced congenital defects. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2004;117(1):10-9.

4-Sharova L, Sura P, Smith BJ, Gogal RM, Sharov AA, Ward DL, et al. Nonspecific stimulation of the maternal immune system.II. Effects on the gene expression in thr fetus. Teratology. 2000; 62(6):420-8.

5-Wang SL, Chiou JM, Chen CJ, Tseng CH, Chou WL, Wang CC, et al. Prevalence of non-inslindependent diabetes mellitus and related vascular disease in southwestern arseniasis-endemic and nonendemic areas in Taiwan. Environ Health Perspect. 2003;111(2):155-9.

6-Walton FS, Harmon AW, Paul DS, Drobná Z, Patel YM, Styblo M. Inhibition of insulin-dependent glucose uptake by trivalent arsenicals: possible mechanism of arsenic-induced diabetes. Toxicol Appl Pharmacol. 2004:198(3):424-33.

7-Pritchard JD. HPA compendium of chemical hazards, inorganic arsenic; 2007.V 2. Available at: https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/316730/Compendium_of_Chemical_Hazards_ARSENIC_v4-1.pdf

8- Tyler CR, Allan AM. The effects of arsenic exposure on neurological and cognitive dysfunction in human and rodent studies: A Review. Curr Environ Health Rep. 2014; 21(1):132-147.

9-Goyer RA., Clarkson TW. Toxic effects of metals, In: Klaassen, CD. Casarett and Doull's Toxicology. The Basic Science of Poisons. New York: McGraw-Hill, 2001; PP: 811-867

10-Flora SJ, Flora G, Saxena G, Mishra M. Arsenic and lead induced free radical generation and their reversibility following chelation. Cell Mol Biol(Noisy-le-grand). 2007;53(1):26-47.

11-Machado AF, Hovland DN JR, Pilafas S, CoLlins MD. Teratogenic response to arsenite during neurulation: relative sensitivities of C57BL/6J and SWV/Fnn mice and impact of the splotch allele. Toxicol Sci. 1999;51(1):98-107.

12-Hills DS, Wlodarczyk BJ, Finnell RH. Reproductive consequences of oral arsenate exposure during pregnancy in a mouse model. Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol. 2008; 83(1): 40-7.

13-Umpeirre CC. Embryolethal and teratogenic effects of sodium arsenite in rats. Teratol, 1981; 23: 66.

14-Najafzadeh H. Joozaei S. Nanaotoxicology. 1st ed. 2012, pp: 21-156, [In Persian].

15-Najafzadeh H, Rezaei M, Ashrafi A, Samimi A. Apoptosis following conventional and nano-particles of sodium arsenite treatment in hepatocytes of rat. J Babol Univ Med Sci 2014;16(8):39-45. [In Persian]

16-Khaksary Mahabady M, Najafzadeh Varzi H, Ranjbar R, Mehrzadi S. Melatonin and vitamin E protects against sodium arsenite-induced skeletal malformations in rats. Am-Euras J Toxicol Sci. 2011;3(3):184-9.

17-Hood RD, Tacker GT, Patterson BL. Effect in mouse and rat of prenatal exposure to arsenic. Enivron Health Prespect. 1977;19:219-22.

18-Wlodarczyk B, Spiegelstein O, Gelineau-van Waes J, Vorce RL, Lu X, Lc CX, et al. Arsenic-induced congenital malformations in genetically susceptible folate binding protein-2 knockout mice. Toxiciol Appl Pharmacol. 2001;177(3): 238-46.

19-Liu J, Yu L, Coppin J, Tokar EJ, Diwan BA, Waalkes MP. Fetal arsenic exposure appears to facilitate endocrine disruption by postnatal diethylstilbestrol in neonatal mouse adrenal. Chem Biol Interact. 2009;182(2-3):253-8.

20-Li Y, Yu Z, Zhu H. Role of programmed cell death in mediating arsenic-induced rat embryo anomalies. Wei Sheng Yan Jiu. 1998;27(2):91-4.

21-Carpenter SJ. Developmental analysis of cephalic axial dysraphic disorders in arsenic-treated hamster embryos. Anat Embryol(Berl). 1987;176(3):345-65.

22-Ahmad SA, Sayed MH, Barua S, Khan MH, Faruquee MH, Jalil A, et al. Arsenic in drinking water and pregnancy outcomes. Environ Health Perspec. 2001;109(6):629-31.

23-Bujnáková Z, Shpotyuk O, Sedlák J, Pastorek M, Turianicová E, BalázºP, et al. Physico-chemical and biological properties of arsenic sulfide (As55S45) nanosuspension prepared by milling. Acta Physica Polonica A. 2014;126(4):902-6.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1394.17.10.9.4]
[DOI: 10.22088/jbums.17.10.60]

24-Zhang S, Nelson A, Beales PA. Freezing or wrapping: the role of particle size in the mechanism of nanoparticle-biomembrane interaction. Langmuir. 2012;28(35):12831-7.
25-Sonavane G, Tomoda K, Makino K. Biodistribution of colloidal gold nanoparticles after intravenous administration: effect of particle size. Colloids Surf B Biointerfaces. 2008;66(2):274-80.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1394.17.10.9.4]
[DOI: 10.22088/jbums.17.10.60]