

بررسی اثرات تراژونیک کلریدمس II (CuCl₂) بر رشد و نمو لوله عصبی جنین موش نژاد Balb/C با تأکید بر نخاع گردنی

ثریا پرووری* (M.Sc)، مهدی مهدی‌زاده^۱ (Ph.D)، کاظم پریور^۲ (Ph.D) و ملیحه نوبخت^۱ (Ph.D)

۱- دانشگاه علوم پزشکی ایران، دانشکده علوم پایه پزشکی، گروه آناتومی

۲- دانشگاه تربیت معلم، بخش بیولوژی

چکیده

سابقه و هدف: با توجه به اثرات تراژونیک کلریدمس بر بافت‌ها، هدف این مطالعه بررسی اثرات آن بر رشد و نمو لوله عصبی با تأکید بر نخاع گردنی است.

مواد و روش‌ها: محلول کلریدمس II با دوز ۵ mg/kg از طریق داخل صفاقی (IP) به ۱۸ سر موش آزمایشگاهی نژاد Balb/C در روزهای ۷، ۸ و ۹ بارداری تزریق شد و ۱۸ سر موش حامله نیز به‌عنوان گروه‌های کنترل با روشی مشابه در همان روزها، آب مقطر دریافت کردند. در روز ۱۵ بارداری به‌دنبال تشریح حیوانات حامله، جنین‌ها خارج و با محلول بوئن ثابت شدند. بررسی‌های میکروسکوپی روی جنین‌ها انجام شد. از لوله عصبی جنین‌ها مقاطع ۵ میکرونی به صورت سریال تهیه شد و پس از مراحل پاساژ بافتی، با رنگ همتوکسیلین - ائوزین رنگ‌آمیزی شدند و سرانجام ارزیابی‌های میکروسکوپی و مورفومتری بر روی مقاطع تهیه شده انجام گرفت.

یافته‌ها: نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که کلریدمس باعث کاهش وزن جنین‌ها و کاهش اندازه CR جنین‌ها می‌شود. از طرفی این ماده می‌تواند در سراسر سیستم عصبی جنین، تغییرات سلولی ایجاد کند که این تغییرات به‌صورت بی‌نظمی در جهت قرارگیری سلول‌ها و هسته‌ها، افزایش فضاها بین سلولی، ادم سلول‌ها و نهایتاً دژنراسیون سلول‌های عصبی قابل ملاحظه می‌باشد. همچنین در نواحی بطنی سراسر لوله عصبی، افزایش تقسیم میتوز و در نواحی حاشیه‌ای نخاع کاهش ضخامت مشاهده می‌شود. قطر داخلی طناب نخاعی در سگمان‌های گردنی نیز افزایش می‌یابد.

نتیجه‌گیری: براساس تحقیق حاضر می‌توان نتیجه گرفت که افزایش کلریدمس در دوران جنینی باعث به‌وجود آمدن اختلال در سیستم عصبی جنین خواهد شد و روند دژنراسیون سلول‌های عصبی و احتمالاً مرگ سلولی را القا و تشدید می‌کند.

واژه‌های کلیدی: کلریدمس، نخاع گردنی، تکوین، مرگ سلولی، موش

مقدمه

آمالگام برای ترمیم دندان‌ها از مس استفاده می‌شود [۶]. وسیله داخل رحمی (IUD) نیز حاوی ۱۰۰-۱۵۰ میلی‌گرم مس است که اثرات جلوگیری‌کننده از حاملگی را افزایش می‌دهد [۶]. استفاده از دست‌بند‌های مسی برای درمان آرتрит نیز رواج دارد که نتایج آن ثابت شده نیست [۶]. از این عنصر به‌عنوان

مس (Copper) فلزی با خواص فیزیکی و شیمیایی ویژه می‌باشد. بعد از روی و آهن سومین عنصر مهم بدن به شمار می‌آید. در صنعت، کشاورزی و پزشکی از آن به‌فوق استفاده می‌شود. در پزشکی برای ساختن پل و تاج دندان و ساختن

نظر به اهمیت سیستم عصبی و نحوه تشکیل آن در دوران جنینی و همچنین وفور و امکان دسترسی زیاد به این عنصر، در این مطالعه اثرات تراتوژنیک مس در طی تشکیل سیستم عصبی جنین موش بررسی شد.

مواد و روش‌ها

الف - حیوانات. به منظور بررسی اثرات تراتوژنیک کلریدمس بر نخاع گردنی از موش نژاد Balb/C استفاده شد. این حیوانات جهت تطابق با محیط به مدت دو هفته در حیوان‌خانه به طور جداگانه نگهداری شدند. موش‌های نر و ماده به نسبت ۱ به ۳ در بعدازظهر روز قبل در کنار هم قرار گرفته، ساعت ۸ صبح روز بعد جهت مشاهده پلاک واژینال چک شدند. روز مشاهده پلاک واژینال به عنوان روز صفر حاملگی منظور شد. سپس ۱۸ سر موش حامله به عنوان گروه‌های آزمون و ۱۸ سر موش حامله نیز به عنوان گروه‌های کنترل و ۶ سر موش حامله دیگر به عنوان گروه‌های دست‌نخورده انتخاب شدند.

ب - روش کار. به سه گروه آزمایشی محلول کلریدمس با غلظت ۵ mg/kg در روزهای ۷، ۸ و ۹ بارداری از طریق داخل صفاقی (IP) تزریق شد. به گروه‌های کنترل در همان روزها آب مقطر تزریق شد و حیوانات گروه دست‌نخورده، هیچ ماده‌ای را دریافت نکردند. در روز ۱۵ حاملگی به دنبال خارج کردن جنین‌ها و فیکس نمودن آن با محلول بوئن، ارزیابی‌های ماکروسکوپی انجام شد. شاخص‌های ماکروسکوپی شامل اندازه‌گیری وزن، تعداد جنین‌ها و میزان جذب آن، اندازه فرق‌سری تا نشیمنگاهی (CR) و بررسی شکل‌ظاهری جنین بود. (منظور از جنین‌های جذب شده، جنین‌هایی است که مراحل تکاملی را طی نکرده‌اند و به عبارت بهتر سقط شده‌اند که در حیواناتی مانند موش، جنین‌های سقط شده تحلیل رفته و جذب می‌شوند و بقایای آن در لوله رحمی تا مدتی باقی می‌ماند). سپس مراحل پاساژ بافتی شامل آب‌گیری، شفاف‌سازی، آغشتگی و قالب‌گیری و برش‌گیری انجام شد. مقاطع با ضخامت ۵ میکرون به صورت سریال تهیه و با

داروی هومیوپاتی نیز استفاده می‌شود [۱۰]. منابع مس در خوراکی‌هایی مانند صدف‌های دریایی، گوشت ماهیچه، جگر، شکلات، فندق، قارچ، سبزیجات و میوه‌ها می‌باشد [۶،۱]. هوا، آب و خاک نیز حاوی مقادیری از این عنصر هستند [۶]. استفاده از ظروف مسی و جوشاندن مداوم مواد در این ظروف نیز باعث ورود مس در غذا می‌شود [۶]. کمبود این عنصر باعث نقص‌های جدی در سیستم عصبی جنین و آسیب به بافت‌ها می‌شود [۶]. همچنین ازدیاد مس که اکثراً به دنبال نقص آنزیمی است، باعث اختلال در کار آنزیم‌های متعدد می‌شود و روی سیستم‌های مختلف بدن از جمله دستگاه گوارش، کلیوی، ریوی، عصبی، پوست و مو تأثیر می‌گذارد [۴،۶]. مسمومیت با مس شایع نیست ولی عموماً به دلیل استفاده زیاد از منابع خوراکی این عنصر می‌باشد [۱].

به طور کلی، مس کوفاکتور بسیاری از آنزیم‌ها است [۱]. در ساختن هم (Heme) در هموگلوبین و جذب آهن به عنوان کاتالیزور عمل می‌کند [۱]. مس به همراه روی در تنفس سلولی، تولید DNA و RNA، یکنواخت نگهداشتن غشای سلول، تجزیه رادیکال‌های آزاد، کاهش خطر کانسر و کاهش روند پیری (Aging) تأثیرگذار است [۵].

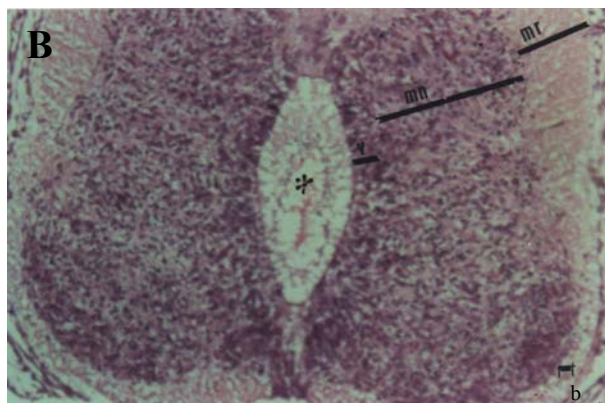
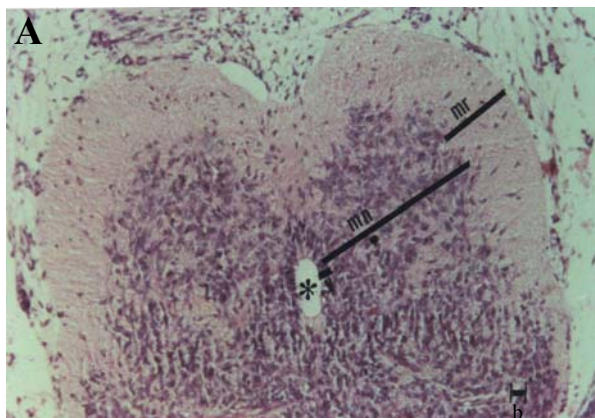
تأثیر ازدیاد مس در حیوانات بالغ و انسان بررسی شده است [۱۷،۹]. همچنین ثابت شده که ازدیاد مس در دوران جنینی موجب کاهش وزن جنین و وقوع اثرات التهابی در کلیه و کبد جنین می‌شود [۱۳،۱۲]. همچنین تأخیر رشد و تمایز مخصوصاً در لوله عصبی و کاهش تعداد مراکز استخوان‌سازی نیز مشاهده شده است [۸].

در دو دهه اخیر، روند تأثیرات سلولی و مولکولی مقادیر مس اضافی روی ارگان‌های مختلف بررسی شده است. برخی محققین بر این باورند که مقادیر اضافه مس، روند آپاپتوز و مرگ سلولی را القاء می‌کند [۱۸] و باعث پراکسیداسیون لیپیدها، کاهش در بیان ژن‌هایی مثل Cu/Zn SOD (Superoxide dismutase) و گلووتاتیون پراکسیداز می‌شود [۱۴،۱۷].

جدول ۲ مقایسه میانگین اندازه CR را در گروه‌های آزمون و کنترل روزهای ۷، ۸ و ۹ نشان می‌دهد.

مشاهدات میکروسکوپی

- تغییرات سلولی. لایه داخلی لوله عصبی شامل سلول‌های نوروایی تلیال می‌باشد که طی تکامل خود، سلول‌های اپاندیم را ایجاد می‌کنند. سپس لایه پوشاننده (mantle) که شامل نوروبلاست‌ها می‌باشد در نهایت ماده خاکستری نخاع را می‌سازد و خارجی‌ترین لایه، بخش حاشیه‌ای (marginal) است که حاوی اکسون نورون‌ها است و ماده سفید نخاع را تشکیل می‌دهد.



تصویر ۱. مقطعی از نخاع و لایه‌های ونتریکولار، پوشاننده و حاشیه‌ای آن در گروه کنترل (A) و گروه آزمون در روز ۷ (B). ستاره مجرای داخلی نخاع را نشان می‌دهد. افزایش قطر داخلی نخاع، بی‌نظمی واضح سلول‌ها در نواحی ونتریکولار و پوشاننده، مرگ سلولی و گلیوزیس در گروه آزمایشی کاملاً مشهود است. بزرگ‌نمایی ۱۰۰، ۱۰۰ μm = b

در گروه کنترل، سه لایه فوق به طور منظم با نوروبلاست‌های فعال و هسته مشخص دیده شد. در تمام گروه‌های آزمون، بی‌نظمی در جهت قرارگیری سلول‌ها و هسته‌ها، افزایش فضاها بین سلولی، ادم سلول‌ها، افزایش

رنگ‌آمیزی هِماتوکسیلین-ئوزین، رنگ شد. بررسی‌های میکروسکوپی شامل اندازه‌گیری ضخامت نواحی ونتریکولار، پوشاننده و حاشیه‌ای نخاع گردنی و قطر داخلی نخاع و نوع تغییرات سلولی در نواحی مختلف نخاع گردنی انجام شد.

ج - گروه‌های آزمایشی. موش‌ها در سه گروه آزمایشی ۱ و ۲ و ۳ و سه گروه کنترل ۱ و ۲ و ۳ و یک گروه دست نخورده قرار گرفتند. هر گروه شامل ۶ سر موش بود. گروه ۱ موش‌هایی بودند که سن حاملگی آنان ۷ روز بود و به همین ترتیب گروه ۲ روز هشتم حاملگی و گروه ۳ روز نهم حاملگی را می‌گذراندند.

د - آنالیز آماری. نتایج مطالعات میکروسکوپی و میکروسکوپی و مورفومتری جهت مطالعه با نرم‌افزار آماری SPSS و آزمون‌های LSD و Duncan مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج

مشاهدات میکروسکوپی

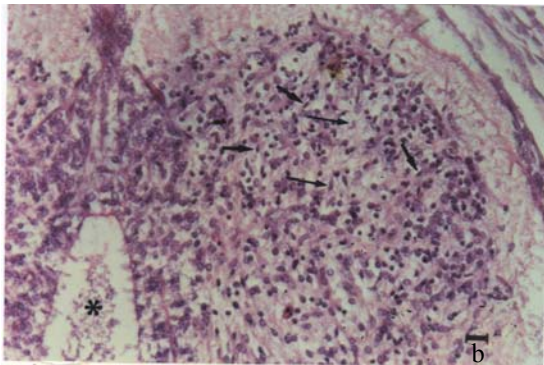
- بررسی شکل ظاهری جنین. در گروه آزمایشی ۲، آگروسفالی به میزان ۶ درصد مشاهد شد و در سایر گروه‌های آزمون تغییر ظاهری دیگری دیده نشد.

- میزان جذب جنین. در بررسی تعداد جنین‌ها و میزان جذب آنها ملاحظه شد که در گروه آزمون ۱، ۴ درصد و در گروه آزمون ۲ و ۳ به ترتیب ۸ و ۶ درصد جذب وجود داشت. جدول ۱ تعداد جنین‌ها و میزان جذب آنها را در هر گروه نشان می‌دهد.

- وزن جنین‌ها. در گروه آزمایشی ۱ و ۲ کاهش وزن جنین‌ها نسبت به گروه کنترل دارای اختلاف معنی‌دار بود و در گروه آزمایشی ۳ کاهش وزن وجود داشت که معنی‌دار نبود. جدول ۲ مقایسه میانگین وزن گروه‌های آزمون و کنترل را در روزهای ۷، ۸ و ۹ نشان می‌دهد.

- اندازه CR. در گروه‌های آزمون ۱ و ۳ کاهش معنی‌دار اندازه CR جنین نسبت به گروه کنترل وجود داشت ولی در گروه ۲، افزایش اندازه CR ملاحظه شد که البته معنی‌دار نبود.

قطر داخلی نخاع در گروه‌های آزمون نسبت به کنترل را در روزهای ۷، ۸ و ۹ نشان می‌دهد.



تصویر ۳. مقطعی از نخاع گردنی و نواحی و نتریکولار، پوشاننده و حاشیه‌ای را در گروه آزمون روز ۷ نشان می‌دهد. سلول‌های پیکنوزه (فلش بزرگ)، فراوانی سلول‌های گلیال (فلش کوچک) علامت ستاره بجزای داخل نخاعی را نشان می‌دهد. بزرگنمایی $200 \times$ ، $100 \mu m$ b

- ضخامت ناحیه و نتریکولار نخاع گردنی. در گروه آزمون ۱ و ۳ ضخامت ناحیه و نتریکولار نسبت به گروه‌های کنترل افزایش معنی‌دار یافته بود. در گروه آزمایشی ۲ افزایش ضخامت ناحیه و نتریکولار مشاهده شد که معنی‌دار نبود. جدول ۲ مقایسه میانگین ناحیه و نتریکولار نخاع گردنی را نسبت به گروه کنترل در روزهای ۷، ۸ و ۹ نشان می‌دهد.

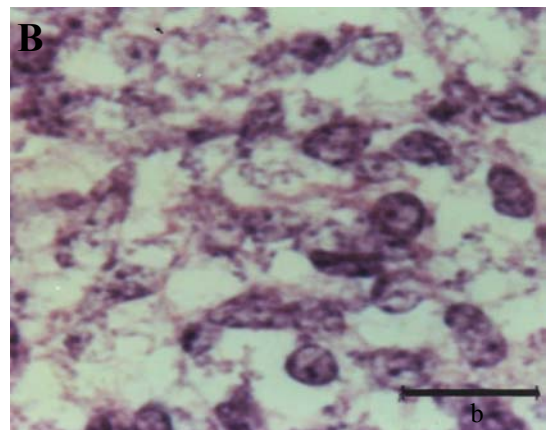
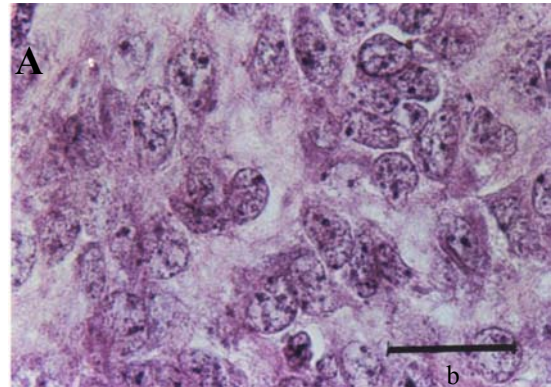
- ضخامت ناحیه پوشاننده نخاع گردنی. ضخامت لایه پوشاننده، در گروه آزمایشی ۳ کاهش یافته بود و اختلاف، معنی‌دار بود. در گروه‌های آزمون ۱ و ۲، کاهش ضخامت دیده شد که معنی‌دار نبود. جدول ۲ مقایسه میانگین ضخامت ناحیه پوشاننده نخاع گردنی را در گروه‌های آزمون و کنترل در روزهای ۷، ۸ و ۹ نشان می‌دهد.

- ضخامت ناحیه حاشیه‌ای نخاع گردنی. در کلیه گروه‌های آزمون ضخامت ناحیه حاشیه‌ای نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌دار یافته بود. جدول ۲ مقایسه میانگین ضخامت ناحیه حاشیه‌ای نخاع را در گروه‌های آزمون و کنترل در روزهای ۷، ۸ و ۹ نشان می‌دهد.

جدول ۱. میزان درصد ناهنجاری ظاهری و جذب جنین در گروه‌های آزمایشی ۱ و ۲ و ۳

گروه‌ها	درصد جذب	درصد آگروسفالی	تعداد جنین
گروه آزمون ۱	۴	-	۵۰
گروه آزمون ۲	۸/۱۶	۶/۰۱	۴۹
گروه آزمون ۳	۶/۳۸	-	۴۷

تقسیم در ناحیه و نتریکولار نخاع گردنی، دژنراسیون سلول‌های عصبی، آسیب سلولی و پراکندگی سلول‌ها قابل مشاهده بود. در نواحی منتل و مارژینال، نظم و آرایش نورویلاست‌ها به هم خورده بود. همچنین گلیوزیس در این نواحی کاملاً مشهود بود که مخصوصاً در نواحی دیستال پوشاننده و حد فاصل بین ناحیه پوشاننده و حاشیه‌ای نسبت به گروه کنترل، گلیوزیس بیشتر دیده شد (تصاویر ۱، ۲ و ۳).



تصویر ۲. مقطعی از ناحیه پوشاننده نخاع گردنی در گروه کنترل (A) و گروه آزمایشی در روز ۸ (B). بزرگنمایی $100 \times$ ، $100 \mu m$ b

ارزیابی‌های مورفومتری

- قطر داخلی نخاع در سگمان‌های گردنی. در کلیه گروه‌های آزمایشی افزایش قطر داخلی نخاع نسبت به گروه کنترل به صورت معنی‌دار مشاهده شد. جدول ۲ مقایسه میانگین

جدول ۲. میانگین \pm انحراف معیار شاخص‌های مختلف نخاع گردنی موش در گروه‌های کنترل و آزمایش در روزهای ۷ و ۸ و ۹

شاخص	روز ۷		روز ۸		روز ۹	
	گروه کنترل	گروه آزمایش	گروه کنترل	گروه آزمایش	گروه کنترل	گروه آزمایش
قطر داخلی نخاع	۱۳/۸۶±۰/۵۳	* ۳۹/۰۴±۱/۶۳	۱۳/۸۶±۰/۵۳	* ۱۵/۷۳±۰/۵۷	۱۷/۲۰±۱/۰۴	* ۲۳/۳۳±۰/۸۲
ضخامت لایه و نتریکولار	۸/۸۰±۰/۴۲	* ۱۸/۵۶±۰/۸۶	۸/۸۰±۰/۴۲	* ۹/۴۳±۰/۳۱	۸/۰۰±۰/۰۰	* ۱۰/۰۰±۰/۴۲
ضخامت لایه پوشاننده	۹۲/۰۰±۱/۴۳	۸۸/۵۷±۱/۳۶	۹۲/۰۰±۱/۴۳	۸۸/۰۰±۱/۴۰	۱۰۷/۰۰±۱/۹۱	* ۹۱/۷۸±۱/۳۸
ضخامت لایه حاشیه‌ای	۳۴/۷±۱/۱۹	* ۲۸/۰۰±۰/۸۷	۳۴/۷۶±۱/۱۹	* ۳۴/۶۰±۱/۰۹	۳۳/۸۳±۰/۹۳	* ۲۸/۶۳±۰/۹۳

*P<0.05 در مقایسه با گروه کنترل

بحث

در تحقیق حاضر اثر کلریدمس بر طناب نخاعی در سگمان‌های گردنی را در روزهای ۷، ۸ و ۹ بارداری موش، مورد بررسی قرار دادیم و یافته‌های حاصل از مشاهدات ماکروسکوپی و میکروسکوپی را مورد تجزیه و تحلیل قرار دادیم. علت انتخاب روزهای تزریق، همزمانی با روزهای رشد و نمو سیستم عصبی در جنین موش بوده است.

الف - بررسی‌های ماکروسکوپی

۱- وزن. همان‌طور که در قسمت نتایج ذکر شد، بررسی میانگین تغییرات وزن، اختلاف معنی‌دار را در روزهای ۷ و ۸ با گروه‌های کنترل نشان می‌دهد و در گروه سوم (روز ۹) کاهش وزن وجود دارد اما معنی‌دار نمی‌باشد. کاهش وزن جنین‌ها نشان از وجود توکسیسیتی کلریدمس دارد که نتایج تحقیق حاضر با نتایج حاصل از تحقیق Mizejewk و همکارانش در سال ۱۹۹۰ هم‌خوانی دارد [۱۳]. همچنین این پژوهش نشان می‌دهد که میزان سمیت کلریدمس در روزهای پایین‌تر (۷ و ۸) نسبت به روز ۹ بیشتر است.

۲- اندازه CR. یکی از شاخص‌های تعیین سن و میزان رشد و نمو جنین، اندازه‌گیری طول فرق سر تا باسن می‌باشد که به نام Crown Rump (CR) نامیده می‌شود. در تحقیق اخیر در گروه‌های ۱ و ۳ کاهش CR به صورت معنی‌دار بیان می‌شود که باز نشان از وجود توکسیسیتی کلریدمس دارد. اما در گروه

تجربی ۲ افزایش CR را شاید بتوان به ماکروسفالی جنین‌ها نسبت داد که آن هم در اثر سمیت با کلریدمس ایجاد شده است.

ب - بررسی‌های میکروسکوپی

می‌دانیم که در مقاطع بافتی سالم، سلول‌ها با نظم خاصی در کنار هم قرار گرفته‌اند. هسته‌ها در لایه‌های مختلف لوله عصبی در جهت عمود بر لومن داخلی لوله عصبی می‌باشند. در لایه نورویی تلیوم تقسیم میتوزی فراوان است و فعالیت هسته‌ها در این منطقه زیاد است. در تحقیق حاضر با تزریق کلریدمس II، آسیب سلولی در گروه‌های آزمون دیده شد که شامل دژنراسیون سلولی، تغییرات جهت هسته‌ها، پراکندگی سلول‌ها، افزایش میتوز در ناحیه و نتریکولار، گلیوزیز و تورم سلول‌ها بود.

ضخامت ناحیه حاشیه‌ای و پوشاننده نخاع نسبت به گروه‌های کنترل کاهش یافته بود که این کاهش در ناحیه حاشیه‌ای در همه گروه‌های تجربی معنی‌دار بود و در ناحیه پوشاننده در روز ۹ این کاهش معنی‌دار بود. همچنین در تمامی گروه‌های آزمون اندازه قطر داخلی نخاع گردنی افزایش معنی‌دار یافته‌بود.

دلایلی را که می‌توان برای کاهش ضخامت، بیان کرد، دژنراسیون سلول‌ها و احتمال وجود مرگ سلولی است. مکانیسم‌های دخیل در مرگ سلولی در اثر تزریق کلریدمس به قرار زیر می‌باشند:

احتمال وجود مرگ سلولی در بافت نخاع می‌باشد که چون لایه و نتریکولار به‌عنوان مولد بافت عصبی عمل می‌کند، با وقوع دژنراسیون و مرگ سلول‌ها، با مکانیسم جبرانی خود دستخوش میتوزهای فراوانی می‌شود. به‌دنبال وقوع مرگ سلولی در نورون‌ها، کاهش ضخامت در ناحیه پوشاننده (mantle) قابل توجه می‌باشد. از طرفی چون لایه حاشیه‌ای (marginal) استتاله نورون‌های ناحیه پوشاننده می‌باشد، متعاقب مرگ سلول در ناحیه پوشاننده، ضخامت لایه حاشیه‌ای نیز کاهش خواهد یافت.

مشاهده بی‌نظمی سلول‌ها و تورم سلول‌ها و هسته‌های پیکنوزه و گلیوزیز واضح، بیانگر آسیب کلی وارد شده به بافت عصبی می‌باشد. افزایش قطر لومن نخاع نیز احتمالاً به علت کاهش کلی در ضخامت بافت عصبی مجاور نخاع می‌باشد و همچنین به علت ورود یون مس اضافی به CSF و تغییر در بالانس یون‌های موجود در مایع مغزی-نخاعی، اتساع لومن قابل توجه می‌باشد.

منابع

[۱] انصاری، م، بیماری ویلسون. چاپ اول، معاونت پژوهشی

دانشگاه علوم پزشکی همدان، ۱۳۷۳، صفحات ۵-۲۰

[2] Arlt, S. and Finckh, B., Time Course of oxidation of lipids in human cerebrospinal fluid in vitro, *Free Radic. Res.*, 32 (2000) 103-14.

[3] Aston, N.S. and Watt, N., Copper toxicity after proliferation and viability of human hepatoma cells, *Hum. Exp. Toxicol.*, 19 (2000) 367-76.

[4] Chugh, K.S., Sharma, B.K. and Singhal, P.C., Acute renal failure following copper sulphate intoxication, *Postgrad. Med. J.*, 53 (1977) 18-23.

[5] Chun, S., The role of copper, molybdenum, selenium and zinc in nutrition and health, *Clin. Lab. Med.* 18 (1998) 673-85.

[6] Donald, G. and Barceloux, ., Copper. *Clin. Toxicol.*, 37 (1999) 217-230.

[7] Ferruzza, S., Y.Sambuy, A. Onetti-Muda, F. Nobili, M. L. Scarino, Copper toxicity to tight junctions in the human intestinal CaCo₂ cell line, In: *Handbook of Copper Toxicology and Pharmacology*, E.J. Massaro ed., Humana Press, Totowa, NJ, 2001.

به‌طور کلی فلزاتی مانند آهن و مس جزء رادیکال‌های آزاد به‌شمار می‌آیند که قادرند در واکنش‌های استرس اکسیداتیو شرکت کنند و به ماکرومولکول‌ها آسیب برسانند [۱۶]. همچنین یون مس از طریق واکنش Fenton می‌تواند پراکسید هیدروژن (H₂O₂) را به رادیکال هیدروکسیل (OH) تبدیل کند که رادیکالی قوی می‌باشد [۱۶].

رادیکال‌های آزاد به اسیدهای چرب، متصل شده و باعث متلاشی شدن لیپیدها و تغییر در ساختار شیمیایی لیپیدها می‌شوند. همچنین به پروتئین‌ها متصل شده و باعث دناتوره شدن آنها و ایجاد ارتباط متقاطع (Cross link) پروتئین‌ها می‌شوند. از طرفی باعث اکسیداسیون بازهای DNA شده و به DNA صدمه می‌زنند [۱۶].

مس همچنین باعث کاتالیز واکنش اتواکسیداسیون لیپوپروتئین‌های CSF و مغز می‌شود که منجر به دژنراسیون نورون‌ها و تجمع محصولات پراکسیداسیون لیپیدها می‌شود [۲].

ازدیاد مس باعث تجمع این عنصر در هسته و میتوکندری می‌شود که باعث ایجاد مکانیسم‌های مولکولی و فعالیت ژن P₅₃ می‌شود که سرانجام منجر به خودکشی سلول‌ها یا آپاپتوز می‌شود. ژن P₅₃ مسئول وقوع آپاپتوز است [۱۱].

ازدیاد مس، روی اتصالات محکم تأثیر می‌گذارد و باعث افزایش نفوذپذیری این اتصالات می‌شود [۷]. همچنین مس موجب اتواکسیداسیون سیستئین آزاد شده از آستروسیت‌ها می‌شود و از طریق ایجاد رادیکال‌های آزاد به بافت، آسیب می‌رساند [۱۵]. مس همچنین باعث اکسیداسیون دوپامین و ایجاد گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود [۱۴].

اثرات توكسيك مس شامل تأخير در سيكل سلولي و کاهش تدريجي ظرفيت ريپليكاسيون و افزايش وقوع مرگ سلولي می‌باشد [۳]. فعالیت دو آنتی‌اکسیدان مهم سلولی به نام‌های (N-Acetyl Cyctein) NAC و BCl₂ در حضور ازدیاد مس، مهار می‌شود و آنها قادر نیستند که رادیکال‌های آزاد را حذف نمایند [۱۸].

تمام مکانیسم‌های ذکر شده، اثرات نورو توكسيستي مس را تأیید می‌کنند. افزایش میتوز در ناحیه و نتریکولار نیز مؤید

- Olea Azar, C. and Segura-Aguilar, J., Copper neurotoxicity is dependent on dopamine mediated copper uptake and one electron reduction of aminochrome in a rat substantia nigra neuronal cell line, *J. Neurochem.*, 77 (2001) 519-29.
- [15] Pazmiguel, J.E., Reactive oxygen intermediates during programmed cell death induced in the thymus of the TS (1716) 650n mouse, a murine model for human Down's syndrome, *J. Immunol.*, 163(1999) 5399-5410.
- [16] Siegel, G.J., Albers, R.W., Basic neurochemistry: molecular, Cellular and medical aspects. 6th Edition, Lipincott, 1999.
- [17] Yamada, T., Sogawa, K., Suzuki, Y., Izumi, K., Agui, T. and Matsumoto, K., Elevation of the level of lipid peroxidation associated with hepatic injury in LEC mutant rat, *Res. Common. Chem. Pathol. Pharmacol.*, 77 (1992) 121-4.
- [18] Zhaia, J.I., Copper induces apoptosis in BA/F3 beta cells: Box, reactive oxygen species an NFK appaB are involved, *J. Cell. Physiol.*, 184 (2000) 161-70.
- [8] Haddad, D.S., The effect of copper loading on pregnant rats and their offspring, *Funct. Der. Morphol.*, 1 (1991) 17-22.
- [9] Haywood, S. and Rutgers, H.C., Hepatitis and copper accumulation in sky terriers, *Vet. Pathol.*, 25 (1988) 408-14.
- [10] Parfitt, K., Martindale: the complete drug reference. 32nd ed. London: Pharmaceutical Press, 1999, pp.1337-40.
- [11] Levenson, C.W., Trace metal regulation of gene expression metal regulation of cellular integrity, apoptosis and require metal regulated molecular responses to cellular injury, <http://www.sb.fsu.edu/mob/levenson.htm> (2001).
- [12] Mason, R.W., Teratogenicity of combinations of sodium dicromate and copper sulphate in therat, *Comp. Biochem. Physiol.*, 93 (1989) 407-11.
- [13] Mizejewsk, G.J. and Antelman, D.E., Effect of heavy metals on alpha-fetoprotein in maternal sera and amniotic fluid of pregnant mice, *Toxicology*, 64 (1990) 19-32.
- [14] Paris, I., Dagnino-Subiabre, A., Marcelain, K., Bennett, L.B., Caviedes, P., Caviedes, R.,