

## بررسی اثرات مزمن کلرید آلومینیوم بر فراساختمان غشای پایه گلوامرولی، مورفولوژی و مورفومتری بافت‌های کلیوی خرگوش

دکتر شهرام شهریار<sup>۱</sup>، دکتر ایرج سهرابی حقدوست<sup>۲</sup>، دکتر امیر امنیت طلب<sup>۳\*</sup>، دکتر فرخ قوام<sup>۴</sup>

تاریخ دریافت: 90/09/01 تاریخ پذیرش: 90/10/25

### چکیده

**پیش زمینه و هدف:** آلومینیوم دارای اثرات سوء زیاد بر ساختارهای بیوشیمیایی، فیزیولوژیکی و حتی اختلالات رفتاری می‌باشد. هدف از این بررسی ارزیابی توأم تغییرات فراساختاری، مورفولوژی و مورفومتری ناشی از تزریق طولانی مدت کلرید آلومینیوم بر روی کلیه خرگوش می‌باشد.

**مواد و روش کار:** خرگوش‌ها به دو گروه تحت مطالعه و کنترل تقسیم شدند به گروه تحت مطالعه مقدار 12.5mg/kg کلراید آلومینیوم و به گروه کنترل نیز به همان مقدار آب دی یونیزه به صورت داخل صفاقی و به مدت هفت هفته و در شرایط بیهوشی تزریق شد. آماده سازی بافتی برای میکروسکوپ نوری و الکترونی به روش استاندارد به عمل آمد مطالعات کیفی و کمی (مورفولوژی و مورفومتری) بر روی تصاویر تهیه شده انجام شد. مطالعات کمی با استفاده از آنالیز آماری مورد بررسی قرار گرفت.

**یافته‌ها:** متسع شدن توپول‌ها، ارتشاح شدید لنفوسیتی و فیروزه شدن نسوج کلیوی (مورفولوژی)، آسیب قابل توجه به سد فیلتراسیون و افزایش ضخامت غشاء پایه و رسوب ذرات الکترون سخت در آن و کاهش میکروپرزها و واکوئوله شدن سیتوپلاسم توپول‌های پروگزیمال (فراساختاری) و معنی‌دار بودن قطر متوسط اجزای بافتی کلیه ( $p < 0.05$ ) و معنی‌دار بودن متوسط ضخامت اجزای غشای پایه گلوامرولی ( $p < 0.05$ ) (مورفومتری) حاصل شد.

**بحث و نتیجه گیری:** مطالعات گذشته نشان دهنده اثر آلومینیوم در ارگان‌های سلولی بافت‌های مختلف متفاوت است نتایج این بررسی نشان دهنده تغییرات در اجزای غشای پایه گلوامرولی، میکروپرزها، غشای هسته، میتوکندری و سیتوپلاسم سلول‌های توپولی می‌باشد. به نظر می‌رسد این تغییرات ناشی از تولید رادیکال‌های آزاد، پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی و حتی تغییرات DNA هسته باشد.

**کلید واژه‌ها:** کلرید آلومینیوم، کلیه خرگوش، تغییرات فراساختاری، مورفومتری، مورفولوژی

مجله پزشکی ارومیه، دوره بیست و سوم، شماره اول، ص ۴۰-۳۲، فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۱

آدرس مکاتبه: ارومیه، دانشگاه آزاد اسلامی، دانشکده دامپزشکی، صندوق پستی ۹۶۹ تلفن ۰۹۱۴۴۴۱۴۶۱۳

Email: a.amniattalab@iaurmia.ac.ir

### مقدمه

عوامل تراتژون بیشتر در معرض خطر می‌باشند این فلز در همه جا یعنی آب، خاک، هوا و دریا یافت می‌شود و تقریباً در تمام محصولات غذایی از جمله ذرت، پنیر، نمک‌ها، علوفه، ادویه جایت و نیز در وسایل آرایشی و آب‌های معدنی وجود دارد (۵-۱). ترکیبات آلومینیوم به شکل گسترده‌ای در پزشکی استفاده می‌شوند مثل آنتی اسیدها، بایندهای فسفات، آسپرین‌های بافری، واکسن‌ها و آلرژن‌های تزریقی. مشخص شده است که خوردن ترکیبات آلومینیوم همراه با آب میوه‌ها یا اسید سیتریک

آلومینیوم یکی از عناصر بسیار فراوان در محیط و سومین فلز فراوان پوسسته زمین می‌باشد (۸ درصد پوسسته زمین). بنابراین تصور می‌شود که این فلز از محیط، جذب بدن انسان می‌شود. این فلز در جهان اطراف ما هنوز یک فاکتور مهم علیه سلامت انسان به شمار می‌رود به طوری که تقریباً تمام انسان‌ها در تمام سنین مستعد عوارض ناشی از املاح سنگین نظیر سرب و آلومینیوم می‌باشند گر چه کودکان و نوزدان به علت تحمل کم‌تر نسبت به

<sup>۱</sup> استادیار پاتولوژی، گروه دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد یاسوج

<sup>۲</sup> استاد پاتولوژی، دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران

<sup>۳</sup> استادیار پاتولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارومیه (نویسنده مسئول)

<sup>۴</sup> استاد پاتولوژی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه

حیوانات جلوگیری شود. پس از یک دوره درمانی با آنتی بیوتیک به خرگوش‌ها اجازه داده شد که چند روز به محیط و هوای حیوان‌خانه عادت کرده و استراحت کنند. تغذیه آن‌ها از غذاهای پلت شده، کاهو، هویج، بود و آب به مقدار کافی در اختیارشان قرار داده شد. حیوانات در شرایط آزمایشگاهی استاندارد (۲۴-۲۲ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۶۰-۴۰ درصد و دوره تاریکی و روشنی منظم ۱۲/۱۲ ساعت) نگهداری شدند. تعداد ۲۰ سر خرگوش در دو گروه تیمار (n=10) و کنترل (n=10) قرار گرفتند. به گروه تیمار (n=10) مقدار ۱۲/۵ mg/kg کلراید آلومینیوم به صورت داخل صفاقی، به مدت هفت هفته و در شرایط بیهوشی با کتامین (5mg/kg داخل عضلانی) توسط سرنگ انسولین تزریق شد. به گروه کنترل (n=10) با همان دوز و با شرایط گروه تیمار، آب دی‌یونیزه به صورت داخل صفاقی تزریق شد. نمونه‌ها بلافاصله بعد از بی‌حسی جهت آماده سازی میکروسکوپ نوری در محلول ثبوتی بافر فرمالین ۱۰ درصد به مدت ۴۸ ساعت قرار داده شد و برای مطالعه میکروسکوپ نوری بعد از ثبوت بافتی، آگیری با غلظت‌های صعودی اتانول، قالب گیری با پارافین و برش مقاطع ۵ میکرونی توسط دستگاه میکروتوم دوار در نهایت با روش هماتوکسیلین و ائوزین (H&E) رنگ آمیزی شدند. آماده سازی مقاطع میکروسکوپ الکترونی مراحل آماده سازی به روش استاندارد انجام گرفت که به صورت خلاصه مراحل آماده سازی به شرح ذیل می‌باشد. بعد از ثبوت اولیه با گلو تار آلد هاید ۲/۵ درصد به مدت ۶ ساعت و ثبوت ثانویه با تتروکسید اسمیوم ۱ درصد به مدت ۲ ساعت با استون آگیری، با رزین آرالدایت (نوع Medium شرکت Proscitech استرالیا) قالب گیری شدند. از قالب‌های اصلاح شده توسط دستگاه اولترا میکروتوم مدل Reichert - Jung ساخت ژاپن برش گیری شد. مقاطع نیمه نازک (۷۰۰-۵۰۰ نانومتری) با تولوئیدن به لو و مقاطع نازک ۵۰ نانومتری با یورانیل استات و سیترات سرب رنگ آمیزی شدند. تصاویر فراساختاری توسط دستگاه میکروسکوپ الکترونی Jeol ژاپنی مدل JEM - 200CX تهیه شده و در رایانه ذخیره شدند. نتایج حاصل از این تحقیق را از دو جنبه مورد بررسی قرار گرفت

الف- بررسی کیفی (مورفولوژیک):

در این بررسی با استفاده از فتومیکروگراف‌های بدست آمده به تغییرات ظاهری پیش آمده پرداخته شد.  
ب: بررسی کمی (مورفومتريک):  
در این قسمت با استفاده از این ایده که اثرات سیتوتوکسیک فلزات سنگین باعث آسیب و آزار سلولی و در نتیجه باعث کاهش اجزای سلول می‌شود اقدام به اندازه‌گیری اندازه ضخامت اجزای سد پالایش گلو مرمول‌های کلیوی (غشای پایه) شامل: ضخامت

سبب افزایش مشخص در جذب معدی- روده‌ای و دفع ادراری آلومینیوم در افراد سالم می‌شود (۶). اخیراً محققان به این نتیجه رسیده‌اند که باران‌های اسیدی ناشی از دود حاوی سولفید کارخانجات می‌توانند کشاورزی و آب را تحت تأثیر قرار دهند. تخمین زده می‌شود که آلومینیوم محلول در آب اسیدی از طریق خوردن غذاها و آب جذب بدن انسان‌ها شود. (۵)

این فلز در سال ۱۸۲۷ کشف و ۲۰ سال بعد محصولات آن تولید شد. قرار گرفتن در معرض آلومینیوم تقریباً اجتناب ناپذیر است چرا که امروزه در آب، هوا و غذا همچنین داروها به عنوان یک ماده فعال یا یک ماده افزودنی موجود است. تا سال ۱۹۷۵ توجه جدی به آلومینیوم نشده بود. تا اینکه اولین مورد از آنسفالو پاتی ناشی از مقادیر بالای آلومینیوم در سلول‌های مغزی گزارش شد. ثابت شده است که وجود آلومینیوم در هیپوتوسیت‌ها حتی در مقادیر جزئی با افزایش گونه‌های اکسیژن واکنشی و پر اکسیداسیون لیپیدی ارتباط دارد (۷). زنبیوتیک‌های محیطی<sup>۱</sup> نیز اشکال مختلف آلومینیوم هستند که باعث القای مسمومیت با واسطه رادیکال‌های آزاد می‌شوند (۸).

آلومینیم از سه طریق خوراکی، استنشاقی، و پوست جذب می‌شوند. متأسفانه ماندگاری آلومینیم در بافت‌ها بالاست. ولی تا حدودی از طریق ادرار و مدفوع دفع می‌شود. آلومینیم سبب طیف وسیعی از اختلالات از جمله باعث آسیب بافت‌های عصبی، استخوان، کبد، کلیه، جنین، بیضه، چشم، قلب و ریه شده و نیز باعث کم خونی می‌شود (۱۲-۷). از آنجا که سد فیلتراسیون از اهمیت بسیار مهمی در بافت‌های کلیوی محسوب می‌شود و عملکرد اولیه تصفیه خون در این سد تعریف می‌شود شاید مهم‌ترین عنصر بافتی کلیه باشد و تقریباً عمده نقص عملکردی مربوط به آن می‌باشد.

تاکنون مطالعاتی در رابطه با اثرات سمی املاح مختلف آلومینیوم بر روی بافت‌هایی مثل کلیه، مغز، کبد، استخوان، خون، جنین و اندام‌های تناسلی انجام شده است. در این مطالعه سعی شده است به صورت همزمان علاوه بر فراساختمان، تغییرات مورفولوژیک و مورفومتريک نیز در ساختارهای بافتی کلیه خرگوش مورد ارزیابی قرار گیرد.

## مواد و روش کار

خرگوش‌های نر سفید نیوزیلندی از انیستیتو پاستور تهران خریداری شد و پس از توزین به حیوان خانه<sup>۲</sup> انتقال یافتند. حتی الامکان سعی شد که از اثرات جانبی حمل و نقل و استرس بر

<sup>۱</sup> environmental xenobiotics

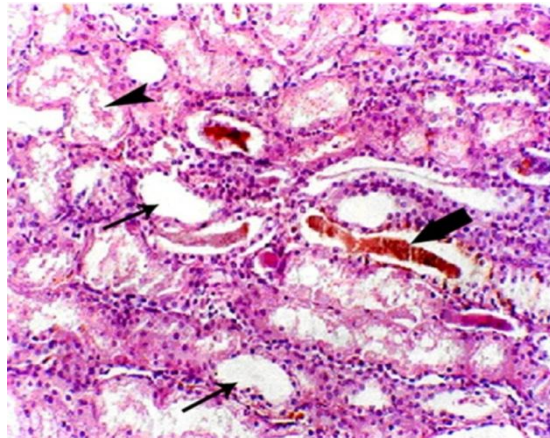
<sup>۲</sup> animal house

مقایسه گردید. سپس میانگین متغیرهای فوق با نرم افزار SPSS و روش‌های آماری Students T-Test و Two way Analysis با هم مقایسه و معنی‌دار بودن و یا نبودن آن‌ها مورد کنکاش قرار گرفت.

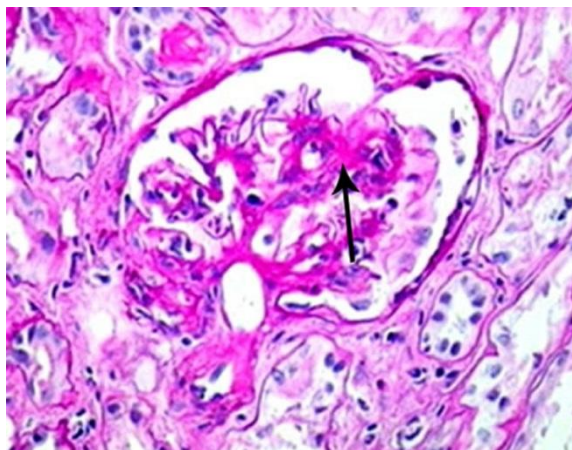
#### یافته‌ها

الف- نتایج مورفولوژیک (بررسی کیفی):

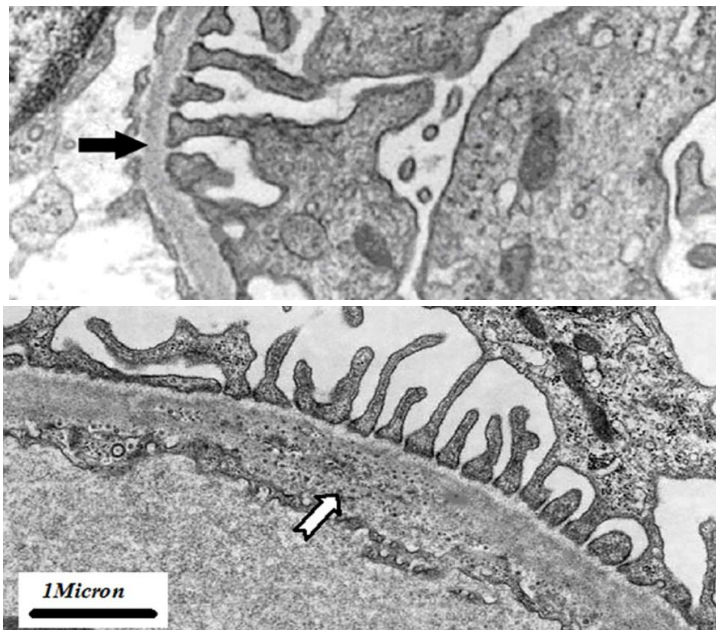
کلی غشاء، ضخامت ناحیه روشن در یک طرف، ضخامت ناحیه تیره و نسبت ضخامت ناحیه تیره به ضخامت کلی غشاء (درصد) با استفاده از نرم افزار Image tool و با مقیاس یک میکرونی اندازه‌گیری گردید. پس از مورفومتری عکس‌ها، میانگین هر یک از قطره‌های اجزای بافتی کلیه و نیز ضخامت غشای پایه برای هر نمونه (از هر نمونه ۱۰ مقطع) به صورت جداگانه محاسبه گردید و سپس میانگین کل نمونه در فاز حاد و مزمن با گروه کنترل



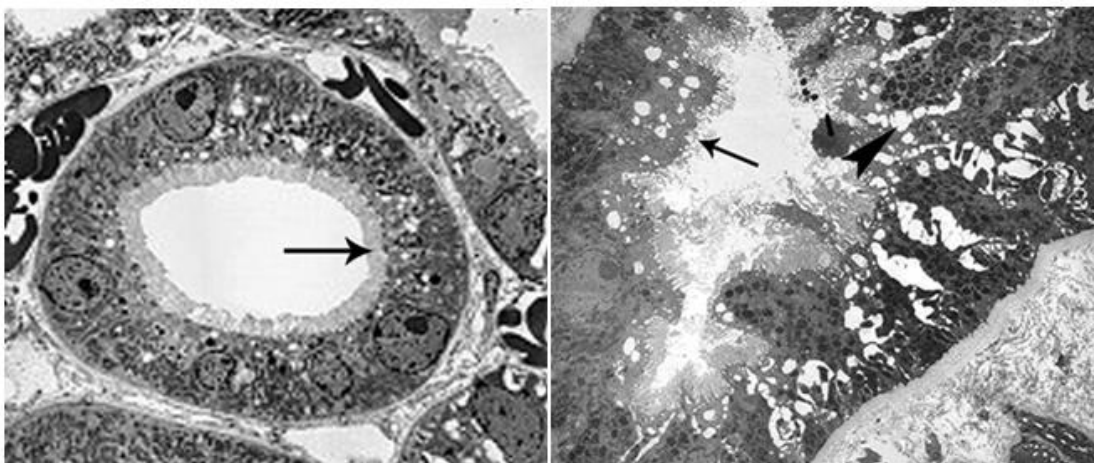
**شکل شماره (۱):** فتومیکروگراف نوری مقطعی از قسمت قشری کلیه گروه تحت مطالعه در خرگوش. در این مقطع تغییرات زیادی از جمله متسع شدن واضح توپول‌ها (پیکان نازک)، بهم خوردن نظم بافتی و ارتشاح لنفوسیتی در بینابین لوله‌ها، همچنین احتقان مختصر (پیکان ضخیم) و تغییرات نکروتیک در برخی توپول‌ها (سر پیکان) دیده می‌شود؛ رنگ آمیزی (H&E) بزرگ نمایی X۴۰۰



**شکل شماره (۲):** فتومیکروگراف نوری مقطعی از قسمت قشری کلیه گروه تحت مطالعه در خرگوش همان‌گونه که ملاحظه می‌شود بافت‌های موجود در این مقطع تغییرات زیادی از جمله فیبروزه شدن واضح نسوج کلیوی بهم خوردن نظم بافتی دیده می‌شود؛ رنگ آمیزی PAS بزرگ نمایی X ۴۰۰



**شکل شماره (۳):** فتومیکروگراف الکترونی مقطعی از فراساختمانی سد فیلتراسیون ادراری (غشای پایه گلومرول کلیوی) گروه کنترل (تصویر بالا) و تحت مطالعه (تصویر پایین) در خرگوش. به ضخیم شدگی کاملاً مشخص و وجود ذرات الکترون دنس (پیکان سفید) غشای پایه در گروه تحت مطالعه نسبت به گروه کنترل (پیکان سیاه) توجه نمایید؛ بزرگ نمایی X۱۵۰۰۰



**شکل شماره (۴):** فتومیکروگراف الکترونی مقطعی از یک لوله خمیده نزدیک گروه کنترل (تصویر سمت چپ) و تحت مطالعه (تصویر سمت راست) در کلیه خرگوش. در گروه تحت مطالعه میکروپرورهاها به شدت کم پشت (پیکان سیاه) و نامنظم شده و اکوتل‌های فراوانی در سیتوپلاسم سلول‌ها (سر پیکان) مشاهده می‌شود و نظم سلولی بهم ریخته است؛ بزرگ‌نمایی X۱۲۰۰

مدت کلرید آلومینیم) را نشان می‌دهد. با دقت در نتایج این جدول ملاحظه می‌شود میانگین قطر لوله‌های خمیده نزدیک، لوله خمیده دور، جسمک کلیوی، لوله جمع‌کننده، بخش ضخیم قوس هنله و نازک هنله در گروه کنترل و تیمار آنالیزهای آماری نشان می‌دهد که میانگین قطر اجزای بافتی را در کل نمونه‌ها طی قرار داشتن در

ب: جنبه‌های مورفومتریک (بررسی کمی)  
جدول شماره (۱) مقایسه میانگین قطر متوسط اجزای بافتی کلیه یعنی میانگین قطر لوله‌های خمیده نزدیک، لوله خمیده دور، جسمک کلیوی، لوله جمع‌کننده، بخش ضخیم قوس هنله و نازک هنله در خرگوش‌های گروه کنترل و تحت مطالعه (تزریق طولانی

(غشای پایه) کلیه در گروه تحت مطالعه و کنترل کلرید آلومینیوم را نشان می‌دهد بیانگر این نکته است که میانگین اندازه ضخامت تمامی اجزای سد پالایش گلوامرول‌های کلیوی (غشای پایه) شامل: ضخامت کلی غشاء، ضخامت ناحیه روشن در یک طرف، ضخامت ناحیه تیره و نسبت ضخامت ناحیه تیره به ضخامت کلی غشاء (درصد) در خرگوش‌های گروه کنترل و تیمار در کل نمونه‌ها در بین دو گروه معنی‌دار می‌باشد ( $P < 0.05$ ).

معرض مزمن کلرید آلومینیوم اختلاف میانگین قطرهای اجزای بافتی کلیه یعنی میانگین قطر لوله‌های خمیده نزدیک، لوله خمیده دور، جسمک کلیوی، مجرای جمع‌کننده، بخش ضخیم قوس هنله و نازک هنله در بین دو گروه معنی‌دار می‌باشد ( $P < 0.05$ ). همچنین آنالیز آماری نتایج مندرج در جدول شماره (۲) که میانگین اندازه ضخامت اجزای سد پالایش گلوامرول‌های کلیوی

**جدول شماره (۱):** مقایسه‌ی میانگین قطر متوسط اجزای بافتی قشر کلیه در گروه تحت مطالعه و کنترل در معرض کلرید آلومینیوم مربوط به کل نمونه‌ها

ارزش P	دامنه بالایی (میکرون)	دامنه پایینی (میکرون)	انحراف معیار	میانگین (میکرون)		متغیر آماری
				تیمار	کنترل	اجزای بافتی
0.003	219.84	206.71	0.44	212.21	تیمار	لوله خمیده نزدیک
	184.71	176.82	0.56	180.28	کنترل	
0.000	213.87	206.79	1.45	210.22	تیمار	لوله خمیده دور
	179.88	171.66	2.32	175.33	کنترل	
0.001	158.86	151.77	0.88	155.22	تیمار	جسمک کلیوی*
	129.73	120.44	0.49	125.13	کنترل	
0.000	288.33	271.11	0.38	279.84	تیمار	لوله جمع‌کننده
	259.83	251.44	0.77	255.05	کنترل	
0.000	138.77	127.72	1.13	133.13	تیمار	قوس هنله (قطعه ضخیم)
	119.74	111.18	2.19	115.69	کنترل	
0.000	84.36	72.18	1.29	78.27	تیمار	قوس هنله (قطعه نازک)
	59.84	51.48	0.93	55.66	کنترل	

\* فقط جسمک کلیوی با درشت‌نمایی ۱۰۰ و بقیه بافت‌ها با درشت‌نمایی ۴۰۰ مورفومتری شده است.

**جدول شماره (۲):** میانگین اندازه ضخامت اجزای سد پالایش گلوامرول‌های کلیوی (غشای پایه) کلیه در گروه تحت مطالعه و کنترل در معرض کلرید آلومینیوم در خرگوش

ارزش P	گروه‌ها		متغیرهای غشای پایه
	کنترل	تیمار	
0.000	219.55±0.001*	679.15±0.521*	ضخامت کلی غشاء
0.000	51.52±0.483*	72.26±0.657*	ضخامت ناحیه روشن در یک طرف
0.000	138.27±0.039*	590.25±0.006*	ضخامت ناحیه تیره
0.000	%62.97±0.328*	%86.91±0.762*	نسبت ضخامت ناحیه تیره به ضخامت کلی غشاء (درصد)

ارقام فوق به صورت Mean + SE می‌باشد

\* ارقام فوق بر حسب نانومتر می‌باشد.

معنی دار بودن اجزای بافتی فوق بر اساس بررسی‌های مورفومتریک نشان می‌دهد که کلرید آلومینیوم در درازمدت تغییرات قابل توجهی ایجاد می‌کند و کاملاً با یافته‌های مورفولوژیک نیز مطابقت دارد. در مجموع یافته‌های مورفولوژیک و مورفومتریک حاصل از این تحقیق نشان می‌دهد که اگر کلیه در معرض طولانی مدت با آلومینیوم کلراید باشد، باعث آسیب‌های وسیع بافتی در سد فیلتراسیون کلیه می‌گردد.

## بحث و نتیجه گیری

تحقیق حاضر نشان می‌دهد که در گروه تحت مطالعه تغییرات زیادی از جمله متسع شدن واضح لوله‌ها، بهم خوردن نظم بافتی و ارتشاح شدید لنفوسیتی و همچنین احتقان مختصر دیده می‌شود وجود اتساع نشان‌دهنده کاهش عملکرد لوله‌ها در باز جذب مواد فیلتره شده در سد پالایشی محسوب می‌شود این وضعیت بدین‌گونه تفسیر و توجیه می‌شود که آلومینیم با تخریب اندامک‌های سلولی باعث مختل شدن فعالیت سلول‌های پوشاننده سطح لوله‌ها می‌شود که این امر منجر به کاهش جذب ترشحات داخل لوله‌ها شده و در نتیجه ضمن کاسته شدن ارتفاع سلول‌ها، به علت حجم زیاد ترشحات جذب نشده به خصوص باعث اتساع لوله‌ها می‌شود. یافته‌های حاصل از این بررسی با یافته‌های سایر محققان مطابقت دارد (۱۳). آلومینیم در طولانی مدت باعث آسیب فراوان به اجزای سلولی نظیر میکروپرزها، میتوکندری و هسته لوله‌های خمیده دور و در نتیجه سوء بازجذب و از دست دادن آب و املاح می‌شود یافته‌های حاصل از این بررسی با یافته‌های سایر محققان مطابقت دارد (۱۴،۸). از آنجا که تحقیقات نشان می‌دهند املاح فلزی سنگین از جمله آلومینیم باعث اسکروتیک شدن بافت‌های کلیوی می‌شود. در یک بررسی توجیهی، اقدام به رنگ‌آمیزی اختصاصی نمودیم که وضعیت استرومای بافت‌های کلیوی را بهتر نشان دهد که در واقع هدف بررسی بافت‌های همبندی ظریف در نسوج کلیه می‌باشد. بررسی فاز مزمن بر اساس نتایج مورفولوژیک نشان می‌دهد که عناصر بافتی غیرطبیعی دارای واکنش مثبت به رنگ آمیزی PAS افزایش یافته‌اند و نیز تغییرات زیادی از جمله فیبروتیک شدن واضح نسوج کلیوی، بهم خوردن نظم بافتی و ارتشاح لنفوسیتی دیده می‌شود. با دقت در تصاویر به وضوح می‌توان پی‌برد که خوردن آلومینیم با واکنشی فیبروتیک و اسکروتیک شدن استرومای قشر کلیه همراه خواهد بود فیبروتیک و اسکروتیک شدن قشر کلیه نظم لوله‌ها را بهم زده و در نهایت پاسخ برگشت‌ناپذیری را در بافت‌های کلیوی ایجاد خواهد نمود. یافته‌های حاصل از این بررسی با یافته‌های سایر محققین مطابقت دارد (۱۴). از آنجا که سد فیلتراسیون از اهمیت بسیار مهمی در

بافت‌های کلیوی محسوب می‌شود و عملکرد اولیه تصفیه خون در این سد تعریف می‌شود شاید فیلتراسیون مهم‌ترین عنصر بافتی کلیه باشد و تقریباً عمده نقص عملکردی کلیه مربوط به آن می‌باشد در مطالعه حاضر از لحاظ مورفولوژیک و مورفومتریک این قسمت از گلوبمرول‌ها (غشای پایه) با استفاده از فتومیکروگراف الکترونی مورد بررسی دقیق قرار گرفته است. با دقت در فتومیکروگراف‌های الکترونی، ضخیم‌شدگی کاملاً مشخص و وجود ذرات الکترون سخت در غشای پایه در گروه تحت مطالعه نسبت به گروه کنترل مشخص می‌شود و این یافته‌ها نشان می‌دهد در صورتی که بافت‌های کلیوی در مدت طولانی در معرض آلومینیم قرار گیرند باعث تغییرات شدید درسد فیلتراسیون ادراری می‌شود به عبارت دیگر آلومینیم باعث افزایش شدید ضخامت غشای پایه می‌شود. از طرف دیگر رسوبات الکترون سخت در ضخامت غشای پایه به وضوح قابل رؤیت می‌باشد. افزایش ضخامت غشای پایه به دنبال تیمار با آلومینیم شاید یک واکنش دفاعی سلول‌های تولید کننده اجزای غشای پایه باشند این واکنش دفاعی شامل تولید یک بافت شبیه همبند و سرشار از ماتریکس خارج سلول است که این امر به تدریج باعث افزایش ضخامت غشای پایه می‌شود. افزایش ضخامت غشای پایه باعث کاهش در فیلتراسیون ادراری و یا عبور کنترل نشده پلاسما از این سد می‌شود. همچنین وجود رسوبات الکترون سخت در غشای پایه باعث بهم زدن ساختار بیوشیمیایی ظریف عناصر متشکله غشای پایه از جمله هیپارین سولفات می‌شود. یافته‌های حاصل از تحقیق با یافته‌های سایر محققان مطابقت دارد (۱۵،۱۲،۸). نتایج یک بررسی نشان می‌دهد فلوراید آلومینیوم ساختار و اعمال غشاهای سلولی را تحت تأثیر قرار می‌دهد طوری که فلوراید آلومینیوم باعث آشفستگی ساختار<sup>۱</sup> DMPC که نوعی از لیپیدهای موجود در غشای تک لایه خارجی گلبول قرمز می‌باشد شده است در نتیجه می‌تواند شکل گلبول‌های قرمز انسان را تغییر دهد و احتمال دارد انتقال یونی را از طریق تغییرات پیشرفته در ترشح کلر از رأس سلول و ممانعت خفیف از فعالیت ATPase تغییر دهد (۱۶).

نتایج تحقیقی که طی آن موش‌های صحرایی به مدت طولانی در معرض لاکتات آلومینیوم قرار داشتند و چهار روز پس از تولد هیپاتکتومی نسبی (۶۵درصد) شده بودند نشان داد که آلومینیوم و آسیب کبدی باعث بدتر شدن فعالیت‌های کلیوی شده که احتمالاً با افزایش حالت اکسیداتیو در کلیه‌ها می‌باشد. چرا که آلومینیوم و هیپاتکتومی باعث افزایش پراکسیداسیون لیپیدی و کاهش گلوتاتیون (GSH) و فعالیت گلوتاتیون پر اکسیداز (GSH-Px) شد

<sup>۱</sup> dimyristoylphosphatidylcholine

معرض آلومینیوم تغییر یافت. در موش‌های پیر درمان شده با آلومینیوم ضخامت اندوتلیالی افزایش و منافذ آن مثل آکتین اطراف سینوزوئیدی کاهش یافت. بنابراین آلومینیوم رسوب کلاژن و لامینین را تحریک کرده و در نتیجه دریافت طولانی مدت سولفات آلومینیوم روند پیری را در کبد موش‌های سوری بالغ تسریع می‌کند (۱۹).

در بررسی دیگری ضایعات گلمرولی نادر در خرگوش‌های نر متعاقب تزریق وریدی لاکتات آلومینیوم مشاهده شدند. سلول‌های مزانژیال گلمرولی متورم و یافته‌های دیگر در گلمرول‌ها شامل میکروآنوریسم و اسکروزسگمنتال بود. مکانیسم القایی توسط لاکتات آلومینیوم در تغییرات گلمرولی مشخص نیست. با این حال ممکن است سیر بیماری‌زایی در ارتباط با رسوب آلومینیوم در سلول‌های مزانژیال و در نتیجه لیز شدن این سلول‌ها و در نهایت ایجاد میکروآنوریسم باشد. در مورد تغییر اسکلوروتیک می‌توان آنرا نیز نتیجه میکروآنوریسم تعبیر کرد. با توجه به نتایج می‌توان پیشنهاد کرد آلومینیوم سبب ایجاد ضایعات گلمرولی در خرگوش می‌شود (۱۵). در بررسی دیگری اثرات سمی نیتربلوتری استات آلومینیوم بر روی کبد، کلیه و سیستم اعصاب مرکزی موش صحرایی در مقادیر مختلف ارزیابی شد. صدمات کبدی و کلیوی شامل نکروز انعقادی میدزونال منتشر هپاتوسیت‌ها و نکروز حاد توبول‌های پروگزیمال کلیه و در مغز آتروفی سلول‌های عصبی مغز و دمی‌لیناسیون ساقه مغز مشاهده شد. نتایج این تحقیق نشان داد آلومینیوم در دوز پایین می‌تواند مسمومیت تولید کند به شرطی که با شلاتور مشخص آن داده شود (۲۰).

در یک بررسی که بر روی تجمع آلومینیوم در بخش قشری کلیه خرگوش انجام شده است عنوان شده که داروهای مسدود کننده کانال‌های کلسیم مثل وراپامیل<sup>۱</sup>، دیلتازم<sup>۲</sup> و لانتانوم<sup>۳</sup> تجمع آلومینیوم را در قشر کلیه به میزان ۶۵-۷۳ درصد نسبت به گروه کنترل کاهش داده است. با توجه به آن می‌توان پیشنهاد کرد مرحله وابسته به کلسیم در تجمع آلومینیوم در قشر کلیه نقش دارد (۲۱). همچنین در تحقیق دیگری که اثرات محافظتی آلفا توکوفرول (ویتامین E) بر روی آسیب بافتی و فرا ساختاری کلیوی ناشی از تزریق آلومینیوم به موش‌های صحرایی مطالعه شد پیشنهاد شده است که آلومینیوم باعث تولید گونه‌های اکسیژن واکنشی و در نتیجه زوال اکسیداتیو لیپیدهای سلولی، پروتئین‌ها و DNA سلولی می‌شود. در این تحقیق نشان داده شد تجویز ویتامین E می‌تواند اثرات محافظتی بر روی صدمات میکروسکوپی

(۱۷). نتایج نشان می‌دهد که تغییرات متعددی ممکن است در عملکرد کلیوی موش‌های صحرایی که به مدت طولانی در معرض آلومینیوم قرار گرفته‌اند ایجاد شود بدون اینکه نارسایی کلیوی مشخص و ترشح مقدار زیادی پروتئین صورت گرفته باشد با وجود اینکه مقدار زیادی آلومینیوم در بافت کلیوی این موش‌ها اندازه‌گیری شده بود. کاملاً مشخص است که این گونه نارسایی‌ها در حالات استرس و یا آزمایشات تنظیم یونی به وجود می‌آیند که به همین دلایل قسمت‌های کلیوی متفاوت به عنوان اهداف واقعی پیشنهاد می‌گردد و نشان می‌دهد که دستگاه‌های انتقال توبولی کلیه می‌توانند مسمومیت کلیوی القا شده با آلومینیوم تحت تأثیر قرار گیرند. از طرف دیگر دفع بیشتر پروتئین‌ها همراه با فعالیت بالاتر آلکالین فسفاتاز در ادرار در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد. فعالیت بالاتر آلکالین فسفاتاز می‌تواند نشانه از دست دادن غشاهای لبه مسوای رأس سلول‌های توبول‌های پیچیده نزدیک باشد. همچنین آن‌را به عنوان یک اثر سیتوتوکسیک مزمن کلیوی آلومینیوم در استفاده از میکروسکوپ نوری و الکترونی گزارش کرده‌اند. این نتایج وجود آتروفی تعدادی از توبول‌ها، فیبروز بینایی و در تعدادی از گلمرول‌ها اسکروزیس نسبی را نشان داد (۶). نتایج نشان می‌دهد وقتی ترکیبات آلی آلومینیوم مثل مالات، تارترات و ایزوسیترات به موش‌های سوری تزریق شدند غلظت‌های کبدی و کلیوی آلومینیوم بیشتر از وقتی است که از سیترات آلومینیوم تزریقی استفاده شده باشد. همچنین ترشح از ادرار آلومینیوم در استفاده از اسیدهای آلی بیشتر است (۵). همچنین با توجه به نتایج مورفولوژیکی تغییرات لیزوزومی در بافت‌های کبدی حیوانات تحت مطالعه در اثر تجویز آلومینیوم زیاد مشابه فلزات لیزوزوموتروپیک مثل مس، آهن، جیوه، طلا (Au) و تیتانیوم (Ti) می‌باشد. این تغییرات لیزوزومی نه تنها توسط فلزات بلکه داروهای مثل آنتی بیوتیک‌ها، مشتقات فنوتیازینی و داروهای ضد التهابی و ضد انگلی دارای چنین اثراتی هستند از این نظر این تغییرات طرحی مشابه بیماری‌های ذخیره لیزوزومی دارند. در بین اندامک‌های داخل سلولی در سلول‌های مختلف لیزوزوم مهم‌ترین اندامکی است که اعمال آن دفاع از حیات سلول در برابر مسمومیت با سموم مثل فلزات می‌باشد (۱۸). در بررسی دیگری که موش‌های صحرایی مورد تزریق داخل صفاقی آلومینیوم قرار گرفتند چون ضایعات بافت کبد در همه قسمت‌های آن مشاهده شد می‌تواند نشانه رسیدن آلومینیوم به تمام ساختارهای کبد باشد و می‌توان پیشنهاد کرد که تعدادی از ذرات فلزی از سد ماکرو فاگوسیت‌ها عبور کرده‌اند (۷). همچنین نتایج میکروسکوپ الکترونی نگاره نشان داد رسوب آلومینیوم، آهن و نیز بیان گیرنده ترانسفرین به صورت معنی‌دار در کبد موش‌های بالغ متعاقب قرار گرفتن در

<sup>1</sup> verapamil

<sup>2</sup> diltiazem

<sup>3</sup> lanthanum

پروتئین‌های اسکلت سلولی در سیستم عصبی (۲۶،۲۵،۲۴). غشای پایه و غشای سلولی در کلیه، کبد و گلبول‌های قرمز (۱۹،۱۶،۱۵)، هسته سلول و میکروپرزها در کلیه (۱۴)، غشای هسته و میتوکندری و شبکه اندوپلاسمیک دانه دارو ریوزوم در بیضه و کلیه (۲۶،۸). علاوه بر این شدت مسمومیت و ضایعات ناشی از آن بستگی به دوز، مدت زمان قرار داشتن در معرض آن، نوع ترکیب و شلاتور آلومینیوم دارد. نتایج فراساختاری و مورفومتری کلیه در این بررسی نشان دهنده تأثیر و تجمع آلومینیوم در غشای پایه گلمرولی، صدمه و کاهش میکروپرزهای سلول‌های پوششی لوله‌های خمیده نزدیک موثر در کاهش باز جذب مواد و یون‌ها، و اکوتوله شدن سیتوپلاسم سلول‌های توبولی (نشانه تغییرات غیر قابل برگشت سلولی) می‌باشد. در ضمن توصیه می‌شود به منظور جلوگیری از اثرات آلومینیوم از وسایل حاوی آن کمتر استفاده شود و از آنتی اکسیدان‌ها مثل ویتامین E به منظور کاهش اثرات رادیکال‌های آزاد ناشی از آلومینیوم استفاده شود.

#### تشکر و قدردانی

نویسندگان کمال تشکر را از مرکز میکروسکوپ الکترونی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز دارند.

و فرا ساختاری ناشی از آلومینیوم داشته باشد. در گروهی که فقط آلومینیوم دریافت کرده بودند در گلمرول‌ها و توبول‌های پروگزیمال و کپسول‌های بومن تورم، چسبندگی، خونریزی، افزایش در ماتریکس مزانژیال و فیبروز مشخص در بافت بینابینی وجود داشت. در گروهی که آلومینیوم و ویتامین E دریافت کرده بودند سلول‌های توبولی کلیوی تقریباً ظاهری نرمال داشتند (۹). استنوز جزئی در ناحیه کپسولی جسمک‌های کلیوی مشاهده شد. ساختار توبولی و بازوفیلی سیتوپلاسمیک و شفافیت مجرای قابل مشاهده در اغلب توبول‌های قشری کلیه مشابه گروه کنترل بود (۲۲).

قرار گرفتن در معرض آلومینیوم می‌تواند باعث آسیب در اکثر بافت‌های بدن شود. در کلیه‌ها آلومینیوم علاوه بر گلمرول‌ها می‌تواند باعث صدمه به توبول‌های پروگزیمال، دیستال و جمع کننده شود که نتایج مورفومتریک این مطالعه آن‌را تأیید می‌کند. با نگرش در مطالعات پیشین و حاضر به نظر می‌رسد مکانیسم اثر سلولی ترکیبات آلومینیوم در بافت‌های مختلف تا حدودی متفاوت است به این مفهوم که ارگان‌های خاصی در بافت‌ها هدف اثر آلومینیوم قرار می‌گیرند مثل: میتوکندری در استخوان و کلیه (۲۳،۱۴)، لیزوزوم در کبد (۱۸)، شبکه اندوپلاسمیک و

#### References:

- Bentur Y. The three most common occupational exposures reported by pregnant women: an update. *Am J Obstet Gynecol* 1991; 165: 429-37.
- Yousef MI. Aluminium-induced changes in hemato-biochemical parameters, lipid peroxidation and enzyme activities of male rabbits: protective role of ascorbic acid. *Toxicology* 2004; 199: 47-57.
- EI-Demerdash FM. Antioxidant effect of vitamin E and selenium on lipid peroxidation, enzyme activities and biochemical parameters in rats exposed to aluminium. *J Trace Elem Med Biol* 2004; 18:113-21.
- Sharma P, Mishra KP. Aluminium-induced maternal and developmental toxicity and oxidative stress in rat brain: Response to combined administration of Tiron and glutathione. *Reprod Toxicol* 2006; 21:313-21.
- Kametani K, Nagata T. Aluminum accumulation in several organs of mice orally administered with aluminum chloride as detected by EDX-HVTEM. *Ann Microsc* 2007; 7: 84-94.
- Khatab IKF. Histological and ultrastructural studies on the testis of rat after treatment with aluminium chloride. *Aust J Basic Appl Sci* 2007; 1: 63-72.
- Bogdanovic M, Janeva BA, Bulat P. Histological changes in rat liver after a single high dose of aluminium. *Arh Hig Rada Toksikol* 2008; 59: 97-101.
- Kutlubay R, Oguz OE, Can B, Guven CM, Sinik Z, Tuncay LO. Vitamin E protection from testicular damage caused by intraperitoneal aluminium. *Int J Toxicol* 2007; 26: 297-306.
- Lu ZY, Gong H, Amemiya T. Aluminum chloride induces retinal changes in the rat. *Toxicol Sci* 2002; 66: 253-60.



10. Domingo LJ. Reproductive and developmental toxicity of aluminum: a review. *Neurotoxicol Teratol* 1995; 17: 515-21.
11. Cannata-Andia JB, Fernandez-Martin JL. The clinical impact of aluminium overload in renal failure. *Nephrol Dial Transpl* 2002; 17:9-12.
12. Moshtaghie AA. Aluminium distribution in rat liver sub cellular fractions in relation to neurological disease in hemodialyzed patients. *J Islam Acad Sci* 1994; 7:215-20.
13. Jattar BM. Histological and histochemical alterations in the kidney induced by Aluminium. *Ann Saudi Med* 2003; 23(1-2):10-5.
14. Gluszek J, Adamczak H. Aluminum in chronic renal failure: *Rocz Panstw Zakl Hig* 1993; 44:43-8.
15. Hong CB, Fredenburg AM, Dickey KM, Lovell MA, Yokel RA. Glomerular lesions in male rabbits treated with aluminium lactate: with special reference to microaneurysm formation. *Exp Toxicol Pathol* 2000; 52:139-43.
16. Suwalsky M, Norris B, Villena F, Cuevas F, Sotomayor P, Zatta P. Aluminum floride affects the structure and functions of cell membranes. *Food Chem Toxicol* 2004; 42:925-33.
17. Mahieu S, Millen N, Gonzalez M, Contini CM, Elias MM. Alteration of the renal function and oxidative stress in renal tissue from rats chronically treated with aluminum during the initial phase of hepatic regeneration. *J Inorg Biochem* 2005; 99:1858-64.
18. Kametani K, Nagata T. Quantitative elemental analysis on aluminum accumulation by HVTEM-EDX in liver tissues of mice orally administered with aluminum chloride. *Med Mol Morphol* 2006; 39: 97-105.
19. Stacchiotti A, Lavazza A, Ferroni M, Sberveglieri G, Bianchi R, Rezzani R et al. Effects of aluminium sulphate in the mouse liver: similarities to the aging process. *Exp Gerontol* 2008; 43:330-8.
20. Ebina Y, Okada S, Hamazaki S, Midorikawa O. Liver, kidney, and central nervous system toxicity of aluminum given intaperitoneally to rats: a multiple-dose subchronic study using aluminum nitrilotriacetate. *Toxicol Appl Pharm* 1984; 75: 211-18.
21. Cacini W, Yokel RA. Accumulation of aluminum by rabbit renal cortex. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* 1988; 59:93-105.
22. Kutlubay R, Oguz OE, Guven C, Can B, Sinik Z, Tuncay LO. Histological and ultrastructural evidence for protective effects on aluminium-induced kidney damage by intraperitoneal administration of  $\alpha$ -tokopherole. *Int J Toxicol* 2007; 26:95-101
23. Plachot JJ, Witmer CG, Halpern S, Mendes V, Bourdeau A, Fritsch J et al. Bone ultrastructure and x-ray microanalysis of aluminum-intoxicated hemodialyzed patients. *Kidney Int* 1984; 25: 796-803.
24. Forbes SM, Ghribi O, Herman MM, Savory J. Aluminum-induced dendritic pathology revisited: cytochemical and electron microscopic studies of rabbit cortical pyramidal neurons. *Ann Clin Lab Sci* 2002; 32: 75-86.
25. Malluche HH. Aluminium and bone disease in chronic renal failure. *Nephrol Dial Transpl* 2002; 17:21-4.
26. Meshitsuka M. Biochemical and molecular biological insights into aluminum toxicity in biology and medicine. Greece: WSEAS Press; 2011. P. 411-14.