ژنتیک نوین
دوره دوازدهم، شماره ۱، بهار ۱۳۹۶
صفحه ۸۹ - ۸۱

بررسی بیان ژن‌های آپوپتوتیک *Bcl-2* و *Bax* در هیپوکامپ مغز موش‌های صحرایی به دنبال تزریق داخل صفاقی کادمیوم

Effects of intraperitoneal administration of cadmium on apoptotic *Bcl-2* and *Bax* genes expression in rat hippocampal cells

سمانه مهدوی لفمجانی[۱]، پروین خدارحمی*[۱]، نسیم حیاتی رودباری[۲]

۱- به‌ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد، استادیار، گروه زیست شناسی واحد پرند، دانشگاه آزاد اسلامی، پرند، ایران

۲- استادیار، گروه زیست شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، دانشکده علوم پایه، تهران، ایران

Mahdavi Lafmejani S[1], Khodarahmi P*[1], Hayati Rodbari N[2]

1- MSc Student, Assistant Professor, Department of biology, Branch of Parand, Islamic Azad University, Parand, Iran
2- Assistant Professor, Department of Biology, Science and Research Branch Islamic Azad University, Tehran, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: khodarahmiparvin@yahoo.com

(تاریخ دریافت: ۹۴/۱۲/۸ - تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۰/۲۶)

چکیده

کادمیوم یکی از عناصر سمی در محیط است و اثرات زیانباری بر روی اندام‌های مختلف بدن از جمله دستگاه عصبی دارد. مسمومیت با کادمیوم باعث تجمع آن در هیپوکامپ و دنوروژنراسیون نورون‌های آن می‌شود. هیپوکامپ جزیی از سیستم لیمبیک است و در سازماندهی اطلاعات نقش داشته و با احساسات و خاطرات در ارتباط است. عنصر کلیدی آپوپتوز که در مغز بیان و تنظیم می‌شود، ژن‌های خانواده *Bcl-2* می‌باشند. لذا در این مطالعه اثرات تزریق داخل صفاقی کادمیوم بر بیان ژن‌های آپوپتوتیک *Bcl-2* و *Bax* در هیپوکامپ مغز موش‌های صحرایی بررسی شد. تعداد ۲۸ سرموش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم انتخاب و به‌صورت تصادفی به چهار گروه تقسیم شدند. گروه کنترل (اول) نرمال سالین و سه گروه تیمار کادمیوم را در دوزهای ۱، ۲ و ٤ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت ۱۵ روز دریافت کردند. شانزدهمین روز بعد از اولین تزریق، موش‌های صحرایی بیهوش، بافت هیپوکامپ خارج و بیان ژن‌های Bcl-2 و Bax به‌روش Real-Time PCR مورد بررسی قرار گرفت. بیان mRNA ژن *Bcl-2* در دوزهای ۱، ۲ و ٤ میلی‌گرم بر کیلوگرم کادمیوم نسبت به گروه کنترل به‌صورت معنی‌دار کاهش نشان داد ($p<0.001$). بیان mRNA ژن *Bax* در دوزهای یک میلی‌گرم بر کیلوگرم ($p<0.05$)، ۲ و ٤ میلی‌گرم برکیلوگرم کادمیوم ($p<0.01$) نسبت به گروه کنترل به‌صورت معنی‌دار افزایش نشان داد. یافته‌های این مطالعه نشان می‌دهد کادمیوم باعث القا آپوپتوز از طریق افزایش بیان ژن *Bax* و کاهش بیان ژن *Bcl-2* در سلول‌های هیپوکامپ موش صحرایی می‌شود.

واژه‌های کلیدی

ژن *Bax*
ژن *Bcl-2*
کادمیوم
موش صحرایی
هیپوکامپ
Real-Time PCR

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.1.9.9]

مقدمه

تقریبا تمام فلزات سنگین در بدن اثرات زیانبار بر جای می‌گذارند اما برخی از این عناصر مانند کادمیوم حتی در مقادیر ناچیز نیز برای انسان سمی و خطرناکند و باعث مشکلات مختلفی مانند تخریب کلیه، مشکلات ریوی، صدمات استخوانی، سرطان و غیره می‌شوند (Zazouli et al. 2010). فلز سنگین کادمیوم از آن دسته عناصری است که در مواد غذایی و محیط به‌عنوان عامل مخاطره انگیز مورد توجه زیاد پژوهشگران قرار گرفته است (Heidari 2013). کادمیوم یک فلز سمی و آلاینده محیطی و صنعتی می‌باشد که علاوه بر این که در اندام‌های مختلف و بافت‌ها به‌عنوان یک ماده سرطان‌زا شناخته شده‌است، توسط آژانس بین‌المللی تحقیقات سرطان (IARC)[1] در گروه I مواد سرطان‌زای انسانی طبقه‌بندی می‌شود(Liu et al. 2007; Roemmich et al. 2009; Mates et al. 2010). کادمیوم به‌طور گسترده در باتری، کود، رنگ، پلاستیک و آبکاری فلزات استفاده می‌شود (Kheradmand 2013). استفاده گسترده از کادمیوم در صنعت و دفع زباله‌های حاوی کادمیوم به افزایش غلظت آن در آب، هوا، خاک و غذا کمک می‌کند (Al-Homaidan 2015).

کادمیوم به‌طور معمول از طریق تنفس، گوارش و یا پوست جذب بدن می‌شود و از طریق کلیه‌ها و ادرار و بندرت از راه تعریق دفع می‌شود (Yamano et al. 1998). کادمیوم باعث ایجاد تنش اکسیداتیو در سلول می‌شود، به‌طوری که اثرات سمی آن می‌تواند اکسیداسیون غشاها یا اندامک‌ها و یا فسفولیپیدها را به‌همراه داشته باشد و پس از آن منجر به اختلال در عملکرد سلولی و یا آپوپتوز شود (Linhartova and Sampels 2015). برای مقابله با آسیب اکسیداتیو ناشی از تجمع کادمیوم در بافت‌های مختلف، مولکول‌های آنتی اکسیدانی مانند متالوتیونین (MT)[2]، گلوتاتیون (GSH)[3] و مولکول‌های دیگر غنی از گروه تیول افزایش پیدا می‌کنند. این مولکول‌ها اولین خط دفاعی را در برابر آسیب‌های اکسیداتیو تشکیل می‌دهند (Dorts et al. 2012; Hatem et al. 2014 et al.; Salazar et al. 2009; Sevcikova 2011). مکانیسم آسیب سلولی حاصل از مواجهه با کادمیوم، ناشی از اختلال در عناصر آنزیم‌ها، تغییر در پروتئین تیول[4]، مهار متابولیسم انرژی، تغییر ساختار DNA و غشا، آسیب اکسیداتیو و آپوپتوز می‌باشد (Sampels. 2015 Casalino et al. 2002; Linhartova and). هیپوکامپ جزیی از سیستم لیمبیک است و رابطه نزدیکی با قشر مغز دارد. محل قرار گیری آن در قسمت میانی لوب گیجگاهی بوده و نقش مهمی می‌تواند در حافظه دراز مدت و جهت‌یابی و یادگیری داشته باشد (Wang et al. 2015). هیپوکامپ در سازماندهی اطلاعات نقش داشته و با احساسات و خاطرات در ارتباط است (Meilandt et al. 2004) و در مسمومیت‌های مزمن با کادمیوم، بیش‌ترین سطح این فلز در هیپوکامپ تجمع یافته و در این منطقه باعث دنوروژنراسیون می‌شود (Michalke et al. 2009).

آپوپتوز یا مرگ برنامه‌ریزی شده سلول در واقع مجموعه‌ای از وقایع سلولی است که منجر به آسیب سلول‌ها و محتویات آن‌ها می‌شود و در پاسخ به محرک‌های محیطی رخ می‌دهد (Hashemi. 2015; Sharifi et al. 2015). عناصر کلیدی آپوپتوز که قویا در مغز بیان و تنظیم می‌شوند، ژن‌های *Bcl-2* و *Bax* می‌باشند (Gustavsson et al. 2007). بعد از مواجهه شدن سلول‌ها با عوامل القا کننده آپوپتوز، Bax از سیتوپلاسم به غشا میتوکندری انتقال یافته و تغییراتی در نفوذ پذیری غشا خارجی ایجاد می‌شود. این تغییرات باعث آزاد شدن سیتوکروم C و سایر فاکتورهای پیش برنده آپوپتوز از میتوکندری شده و در نهایت منجر به قطعه قطعه شدن DNA می‌شود (Khazaei Koohpar et al. 2013 et al. 1998; Er ;Zhang et al. 2006). به‌علاوه *Bcl-2* خود باعث فعالیت آنتی اکسیدانی نمی‌شود اما به‌طور غیر مستقیم سطح فعالیت آنتی اکسیدان‌های درون زا مانند گلوتاتیون و سوپراکسید را افزایش می‌دهد (Voehringer and Meyn 2000). لذا در این مطالعه اثر کادمیوم بر بیان ژن‌های آپوپتوتیک *Bcl-2* و *Bax* در هیپوکامپ مغز موش‌های صحرایی به روش Real-Time PCR مورد بررسی قرار گرفت.

[1] International Agency for Research on Cancer
[2] Metallothionein
[3] Glutathione
[4] Thiol

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.1.9.9]

مواد و روش ها

این مطالعه به‌صورت تجربی بر روی ۲۸ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با سن ۸ هفته و با وزن تقریبی ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم تهیه شده از حیوان‌خانه دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران انجام شده‌است. موش‌ها به‌صورت تصادفی به چهار گروه (یک گروه کنترل و سه گروه تجربی) تقسیم شدند و در اتاق مخصوص با درجه حرارت ۲ ±۲۲ درجه سانتی‌گراد با رطوبت نسبی نگهداری و با غذای تجاری مخصوص جوندگان تغذیه شدند. تنظیم نور بر اساس یک سیکل ٢٤ ساعته شامل ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی بود. در کلیه مراحل پروژه ملاحظات اخلاقی طبق NIH guide و اصول اخلاقی کار بر روی حیوانات به‌وسیله دانشگاه آزاد اسلامی واحد پرند رعایت شد.

در این مطالعه از کادمیوم نیترات[1] مایع تهیه شده از شرکت کیمیا تجهیز پارس (نمایندگی مرک آلمان) استفاده شد. به گروه کنترل نرمال سالین و به گروه‌های تجربی کادمیوم با غلظت‌های ۲،۱و٤ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن و به مدت ۱۵ روز به‌صورت درون صفاقی تزریق شد (Kaur and Sharma 2015). شانزدهمین روز بعد از اولین تزریق، موش‌ها را در دسیکاتور با کلروفرم بیهوش کرده و آن‌ها را جراحی نموده و سر را جدا کرده و مغز خارج و سپس هیپوکامپ جداسازی و به فریزر با دمای ۷۰°C- منتقل شد.

با استفاده از محلول ترایزول RNX Plus شرکت سیناژن- ایران بر طبق پروتکل از بافت هیپوکامپ آماده شده، استخراج RNA انجام شد. کیفیت RNA ابتدا با ژل آگاروز یک درصد بررسی شد و سپس با دستگاه نانودراپ خلوص RNAهای استخراج شده تعیین و نسبت جذب نوری[2] ۲٦۰ نانومتر به ۲۸۰ نانومتر سنجیده شد. سپس در این مطالعه از نمونه‌هایی که نسبت جذب نوری آن‌ها بین ۱/۸ تا ۲ بود برای سنتز cDNA استفاده شد.

یک میکروگرم از RNA با استفاده از کیت مخصوص Fermentas (Thermo scientific, USA) طبق پروتکل به cDNA تبدیل شد. بدین‌ترتیب که به یک میکروگرم RNA، یک میکرولیتر آغازگر oligo dT و یک میکرولیتر آغازگر Random Hexamer اضافه و در آخر حجم محلول به‌وسیله آب DEPS به ۱۲ میکرولیتر رسانده، و محلول برای پنج دقیقه در دمای ۷۰°C در ترموسایکلر قرار داده شد. بعد از طی زمان مذکور، بلافاصله بر روی یخ گذاشته شد.

برای ساخت محلول دوم cDNA تک رشته‌ای، مخلوط چهار میکرولیتر Reaction Buffer، یک میکرولیتر RiboLock، دو میکرولیتر dNTP، یک میکرولیتر Revert Aid آماده و به ویال حاوی RNA اضافه شد. واکنش PCR بر اساس چرخه دمای پنج دقیقه در دمای ۲۵°C، ٦۰ دقیقه در دمای ٤۲°C و در آخر پنج دقیقه در دمای ۷۰°C انجام شد. سپس cDNA به‌دست آمده در دمای ۲۰°C- قرار داده شد.

در این تحقیق از دستگاه Real-Time PCR Illuminar به روش Syber Green برای تعیین میزان بیان ژن‌های مورد نظر استفاده شد. پروتکل مورد استفاده در این تحقیق Ampliqon- Denmark بود. نرم‌افزار BLAST برای طراحی آغازگرها استفاده شد. توالی آغازگرهای ژن *Bcl-2* و ژن *Bax* به‌عنوان ژن‌های هدف و ژن *GAPDH* به‌عنوان کنترل داخلی (کنترل مثبت) در جدول ۱ ارایه شده‌است.

[1] $Cd(NO_3)_2$

[2] OD: Optical Density

جدول ۱- توالی، اندازه و دمای اتصال آغازگر ژن‌های *GAPDH* و *Bcl-2* و *Bax*

ژن	آغازگر (′3→′5)	سایز
GAPDH	F: TGC CAC TCA GAA GAC TGT GGR: GGA TGC AGG GAT GAT GTT CT	85 bp
Bcl-2	F: GAG TAC CTG AAC CGG CAT CTR: GAA ATC AAA CAG AGG TCG CA	102 bp
Bax	F: TTG CTA CAG GGT TTC ATC CAR:GAG TAC CTG AAC CGG CAT CT	112 bp

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.1.9.9]

مواد لازم برای انجام Real-Time PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر شامل ۱۲/۵ میکرولیتر Syber green، ۱۰/۵ میکرولیتر آب، یک میکرولیتر از آغازگرهای رفت و برگشت (غلظت ۵µM)، و یک میکرولیتر cDNA الگو بود.

شرایط PCR به این صورت بود که واسرشته‌سازی اولیه در دمای ۹٤°C به مدت ۵ دقیقه، در هر سیکل، واسرشته‌سازی در دمای ۹٤°C به مدت یک دقیقه، اتصال آغازگر *Bcl-2*، در دمای ۵۳°C به مدت ۵۰ ثانیه، آغازگر *Bax* در دمای ۵۳°C به مدت یک دقیقه و آغازگر *GAPDH* در دمای ۵۳°C به مدت یک دقیقه، با استفاده از دمای گرادیان تعیین شد. دمای مرحله تکثیر برای هر سیکل ۷۲°C به مدت پنج دقیقه بود.

پس از اتمام هر واکنش PCR، به‌منظور بررسی کیفیت تکثیر محصول PCR بر روی ژل آگاروز ۱/۵ الکتروفورز شد. هر واکنش PCR بر اساس آغازگر اختصاصی برای ژن مورد نظر، دارای محصول اختصاصی با اندازه مشخص می باشد.

قبل از انجام Real-Time PCR بر روی نمونه‌ها، منحنی استاندارد برای ژن‌های *Bcl-2*، *Bax* و *GAPDH* رسم شد.

کارایی اتصال آغازگرها به ژن‌های مختلف با استفاده از رسم منحنی استاندارد سنجیده شد. منحنی استاندارد براساس لگاریتم غلظت cDNA (محور افقی) و سیکل آستانه (CT) (محور عمودی) برای هر ژن ترسیم شد. از منحنی استاندارد دامنه غلظت بهینه cDNA و میزان بازده PCR[1] برای هر ژن تعیین شد.

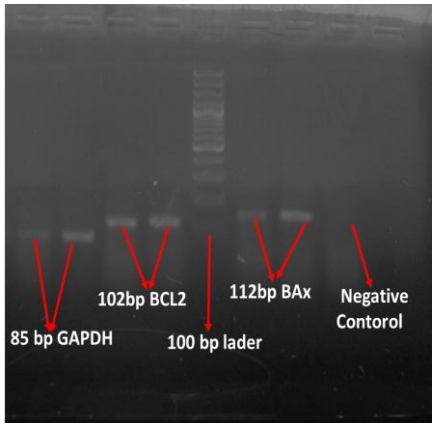
در انتهای سیکل‌های تکثیری، برای اطمینان از اختصاصی بودن و عدم حضور محصولات غیر اختصاصی و جفت شدن آغازگرها منحنی ذوب[2] رسم شد.

صحت تکثیر قطعات اختصاصی هر ژن با استفاده از دمای اختصاصی که برای محصول هر ژن اختصاصی می‌باشد، تایید شد. برای ترسیم منحنی ذوب، دما در هر تکرار از ۵۵ تا ۹۰ درجه سانتی‌گراد هر پنج ثانیه یک درجه افزایش یافت.

در این تحقیق از روش کمیت سنجی نسبی برای بررسی تغییرات بیان ژن استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها براساس مقایسه چرخه آستانه (CT) انجام شد. بدین ترتیب که به‌وسیله اختلاف CT به‌دست آمده از نمونه‌های مورد آزمایش (سلول‌های تیمار شده با دارو) و نمونه‌های کنترل (سلول های تیمار نشده با دارو)، ΔCT محاسبه شد. سپس با استفاده از فرمول ΔΔCT، نسبت ژن هدف به ژن کنترل داخلی (*GAPDH*) محاسبه و با استفاده از فرمول $2^{-\Delta\Delta CT}$ میزان بیان ژن[3] محاسبه شد. به‌منظور تجزیه و تحلیل آماری داده ها از نرم‌افزار SPSS 22 و آزمون واریانس یک‌طرفه[4] استفاده شد.

نتایج

در شکل ۱ محصول ژن‌های GAPDH، Bcl-2 و Bax پس از اتمام واکنش PCR بر روی ژل آگاروز نشان داده شده‌است. هر واکنش PCR بر اساس آغازگر اختصاصی برای ژن مورد نظر، دارای محصول اختصاصی با اندازه مشخص بود. باند Negative Control مربوط به محصول دایمر آغازگر و سایر تک باندها، مربوط به محصولات ژن‌های *GAPDH*، *Bcl-2* و *Bax* پس از Real Time می‌باشد.



شکل ۱- ژن‌های *GAPDH*، *Bcl-2* و *Bax* بر روی ژل آگاروز.

در شکل ۲ منحنی استاندارد و منحنی ذوب ژن‌های *GAPDH*، *Bcl-2* و *Bax* نشان داده شده‌است. (A) منحنی استاندارد براساس لگاریتم غلظت cDNA (محور افقی) و سیکل آستانه (CT) (محور عمودی) برای هر ژن ترسیم شده‌است. (B) منحنی ذوب ژن‌های *GAPDH* و *Bcl-2* و *Bax* نشان داده شده‌است. محور عمودی نشان‌دهنده مشتق فلورسانت و محور افقی نشان‌دهنده

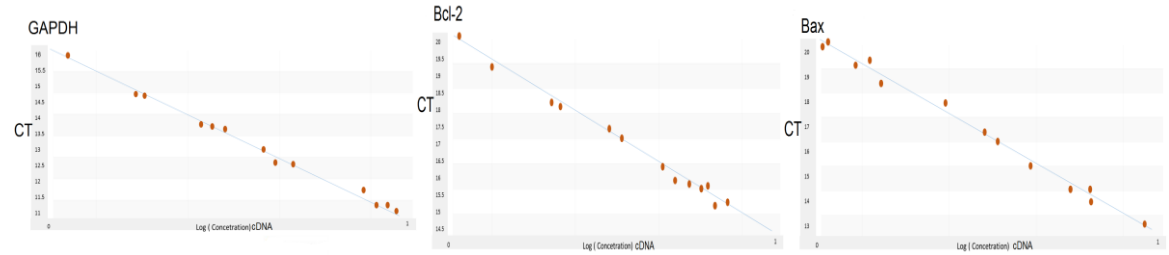
[1] PCR efficiency
[2] Melting curve
[3] Relative Quantitation
[4] One-Way ANOVA

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.1.9.9]

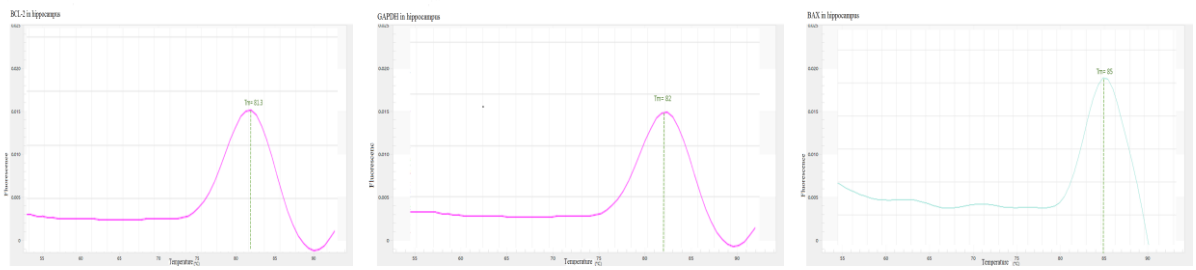
درجـه سانتی‌گراد است. TM دمایی است که نیمی از نمونه‌ها به‌صورت تک رشته‌ای هستند و اختصاصی بودن کار را نشان می‌دهد. شکل ۳ تاثیر غلظت‌های مختلف کادمیوم بر بیان ژن *Bcl-2* را نسبت به گروه کنترل را نشان می‌دهد. بیان ژن *Bcl-2* به‌وسیله کادمیوم در دوزهای ۱، ۲ و ٤ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، کاهش معنی‌دار نشان داد (P<0.001). شکل ٤ تاثیر غلظت‌های مختلف کادمیوم بر بیان ژن *Bax* را نسبت به گروه کنترل را نشان می‌دهد.

بیان ژن *Bax* به وسیله کادمیوم در دوز یک (P<0.05)، ۲ و ٤ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن کاهش معنی‌دار (P<0.001) نشان داد.

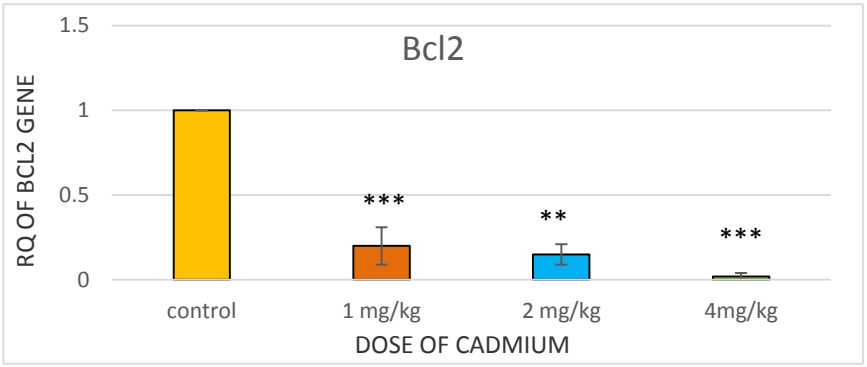
A



B

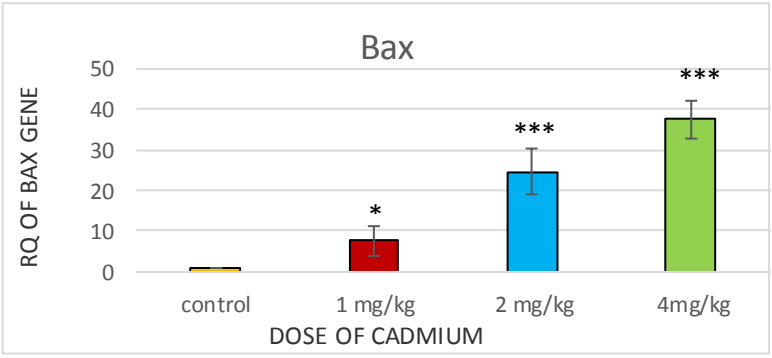


شکل ۲- A) منحنی استاندارد ژن *GAPDH* با بازده ۱۰۰ درصد، ژن *Bcl-2* با بازده ۹۰ درصد و ژن *Bax* با بازده ۱۰۰ درصد. B) منحنی ذوب ژن *GAPDH*، TM= 82Ċ، ژن *Bcl2*، TM= 80Ċ و ژن *Bax*، TM= 85Ċ.



شکل ۳- کاهش معنی‌دار میزان بیان mRNA ژن *Bcl2* نسبت به گروه کنترل.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.1.9.9]



شکل ٤- افزایش معنی‌دار میزان بیان mRNA ژن *Bax* نسبت به گروه کنترل.

بحث

عوامل سیتوتوکسیک با شروع مسیرهای مرگ سلولی، آپوپتوز را القا می‌کنند (Fisher 1994). براساس نتایج به‌دست آمده در این مطالعه، سطح بیان ژن *Bcl-2* در دوزهای ۱، ۲ و ٤ میلی‌گرم بر کیلوگرم کادمیوم نسبت به گروه کنترل کاهش یافت در حالی‌که سطح بیان ژن *Bax* در دوز یک ($P<0.05$)، دو و چهار میلی‌گرم ($P<0.001$) بر کیلوگرم کادمیوم نسبت به کنترل افزایش یافت. این نتایج نشان دهنده‌ی این است که کادمیوم منجر به کاهش بیان ژن آنتی آپوپتوتیک *Bcl-2* و افزایش بیان ژن پروآپوپتوتیک *Bax* به‌صورت وابسته به دوز شده‌است.

کادمیوم در سیکل سلولی، تقسیم سلولی، آپوپتوز و تغییر DNA اختلال ایجاد می‌کند. کادمیوم با ایجاد اختلال در ساختار و عملکرد ژن‌های مسئول تقسیم سلولی سبب مهار تقسیم سلولی و باعث القای غیر طبیعی آپوپتوزیس در بافت‌ها می‌شود (Zhou et al. 2004). تحقیقات دیگری نشان می‌دهد تحریک کادمیوم باعث تولید رادیکال‌های آزاد و در نتیجه آسیب‌های اکسیداتیو لیپیدها، پروتئین‌ها، DNA و آغاز شرایط پاتولوژیک در انسان و مدل‌های حیوانی می‌شود (Ognjanovic et al. 2008; Ognjanovic et al. 2010). کادمیوم از طریق تنظیم بیان ژن و انتقال سیگنالی، دخالت در آنزیم‌های سیستم آنتی اکسیدانی سلولی، تولید گونه‌های اکسیژن فعال (ROS)، دخالت درمکانیسم‌های دفاعی آنتی اکسیدانی، تحریک تولید گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) و تحریک توسعه تومورها، تاثیرات مخرب خود را اعمال می‌کند (Wätjen et al. 2002). همچنین گزارش شده‌است که تولید بالای ROS، بر دفاع آنتی اکسیدانی سلولی غلبه می‌کند و سبب کاهش عملکرد میتوکندری می‌شود. این وقایع تنش اکسیداتیو را افزایش داده و منجر به آسیب سلولی از جمله آپوپتوز میتوکندریایی می‌شود (Xia et al. 2006). تولید بیش از حد ROS و اختلال در دفاع آنتی اکسیدانی مکانیسم اصلی تنش اکسیداتیو در سلول می‌باشد. تنش اکسیداتیو می‌تواند باعث فعال شدن انواع پاسخ‌های سلولی مانند آسیب اکسیداتیو DNA، بیان غیر طبیعی پروتئین، اختلال در میتوکندری و در نتیجه مرگ سلولی شود (Zhang et al. 2015). نتایجی از سمیت کادمیوم در میتوکندری در گونه‌های مختلفی از پستانداران گزارش شده‌است (Nguyen et al. 2015) و عملکرد میتوکندری به شدت تحت تاثیرآسیب‌های ناشی از فلزات سنگین است (Adiele et al. 2010). فلزاتی از قبیل کادمیوم به‌طور قابل ملاحظه‌ای موجب افزایش تولید ROS و در نتیجه پراکسیداسیون لیپیدی و مهار سنتز ATP می‌شوند که باعث آسیب میتوکندری و القای آپوپتوز خواهد شد (Cuypers et al. 2010). به‌علاوه کادمیوم ممکن است کمپلکس CTE III (ubiquinone: cytochrome c oxidoreductase) را در کبد، قلب و مغز مهار و به تحریک تولید ROS در این کمپلکس کمک کند (Wang et al. 2004). مطالعه دیگری نشان می‌دهد کادمیوم در سلول‌های کشت شده به‌صورت وابسته به زمان و غلظت تولید ROS می‌کند (Chen et al. 2008). تنظیم آپوپتوز بسیار پیچیده بوده و خانواده پروتئینی Bcl2، از تنظیم کننده‌های مهم این فرآیند می‌باشند (Skommer et al. 2007; Hashemi et al. 2012; Mirmajidi et al. 2015). ژن‌های *Bcl-2* و *Bax* نقش کلیدی در تنظیم آپوپتوز سلولی دارند (Sharifi et al. 2015). آپوپتوز توسط تعدادی از ژن‌های آنتی آپوپتوتیک

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.1.9.9]

و پرو آپوپتوتیک مانند *Bax* و *Bcl-2* تنظیم می‌شود و تغییر در بیان ژن‌های *Bax* و *Bcl-2* باعث القا آپوپتوز می‌شود. به‌علاوه، نشان داده شده‌است که سرب باعث القای آپوپتوز در هیپوکامپ مغز موش‌های صحرایی، از طریق تغییر بیان این ژن‌ها می‌شود (Sharifi et al. 2002). میتوکندری نقش مهمی در پاسخ‌های تنشی دارد و زمانی‌که آسیب می‌بیند می‌تواند تولید ROS کند. میتوکندری نقش مهمی در پاسخ‌های تنشی دارد و زمانی که آسیب می‌بیند می‌تواند تولید ROS کند. آنزیم COX به‌عنوان یک شاخص از عملکرد میتوکندری است و اختلال در عملکرد COX، تولید ROS را افزایش، ذخایر انرژی و سوخت و ساز انرژی را کاهش می‌دهد (Chen et al. 2008; Chen et al. 2011). پروتئین Bcl2 از طریق اتصال به کانال‌های موجود بر غشای خارجی میتوکندری موجب حفظ یکپارچگی این غشا می‌شود (Cory Adams and 2007). بعد از مواجه شدن سلول‌ها با عوامل القا کننده آپوپتوز، Bax از سیتوپلاسم به غشا میتوکندری انتقال یافته و تغییراتی در نفوذ پذیری غشا خارجی ایجاد می‌کند. این تغییرات باعث آزاد شدن سیتوکروم C و سایر فاکتورهای پیش برنده آپوپتوز از میتوکندری شده و در نهایت منجر به قطعه قطعه شدن DNA می‌شود. (Zhang et al. 2006; et al. 1998; Er Khazaei Koohpar et al. 2013). به‌علاوه Bcl2 خود باعث فعالیت آنتی-اکسیدانی نمی‌شود اما به‌طور غیر مستقیم سطح فعالیت آنتی-اکسیدان‌های درون زا مانند گلوتاتیون و سوپراکسید را افزایش می‌دهد (Voehringer and Meyn 2000). بیان بالای *Bcl-2* می-تواند سلول‌ها را از آپوپتوز حاصل از ROS محافظت کند (Hildeman et al. 2003).

در مطالعه‌ای *in vivo* نشان داده شده قرار گرفتن در معرض کادمیوم (آب آشامیدنی) در جنین‌های تازه متولد شده، باعث می-شود وزن مغز نوزادان کاهش یافته و فعالیت آنزیم‌ها در سیستم عصبی مهار شود (Gupta et al. 1991). به‌علاوه، کادمیوم آزاد سازی استیل کولین را مهار (Desiet et al. 1998) و حساسیت-پذیری نسبت به سروتونین را در مغز افزایش می‌دهد (Herba et al. 2000).

کادمیوم میزان آنتی اکسیدان‌ها و هم‌چنین میزان و تعادل تحریک در سیناپس‌های عصبی را در مغز حیوانات، تحت تاثیر قرار می-دهد (Méndez-Armenta and Ríos 2007). به‌علاوه کادمیوم در جنین تازه متولد شده باعث تغییر رفتار و کاهش توانایی یادگیری می‌شود و توانایی‌های حرکتی و ادراکی کودکانی که زمان جنینی در معرض کادمیوم قرار گرفته‌اند، به‌طور قابل توجهی کاهش می-یابد (Bonithon-Kopp et al. 1985).

قرار گرفتن در معرض کادمیوم در حیوانات آزمایشگاهی باعث نقص رفتاری، تغییرات عصبی شیمیایی و ضایعات مغزی شده است، در حالی‌که در انسان مسمومیت حاد با کادمیوم تولید علائم پارکینسون کرده است (Okuda et al. 1997).

نقص در یادگیری و تغییر فعالیت و رفتار در فرزندانی که در زمان جنینی و یا شیرخواری در معرض کادمیوم قرار گرفته‌اند مشاهده شده‌است. کادمیوم از طریق یک مکانیزم ترکیبی شامل آپوپتوز، نکروز، تولید گونه‌های اکسیژن فعال و پراکسیداسیون لیپیدی می-تواند مرگ نورونی را ایجاد کند (Lopez et al. 2006). بنابراین یافته‌های مطالعه حاضر نشان می‌دهد اثرات سایتوتوکسیک کادمیوم بر بیان ژن‌های *Bcl2* و *Bax* مؤثر بوده است. کادمیوم با کاهش میزان بیان ژن آنتی آپوپتوتیک *Bcl-2* و افزایش بیان ژن پروآپوپتوتیک *Bax* موجب القا آپوپتوز می‌شود.

منابع

Adams JM, Cory S (2007) The *Bcl-2*-regulated apoptosis switch: mechanism and therapeutic potential. Curr Opin Immunol. 19: 488-496.

Adiele R, Stevens D, Kamunde C (2010) Reciprocal enhancement of uptake and toxicity of cadmium and calcium in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) liver mitochondria. Aquat. Toxicol. 96: 319-327.

Al-Homaidan AA, Alabdullatif JA, Amal A, Al-Hazzani AA, Al-Ghanayem AA, Alabbad AF (2015) Adsorptive removal of cadmium ions by Spirulina platensis dry biomass. Saudi Journal of Biological Sciences 22: 795800.

Bonithon-Kopp C, Huel G, Grasmick C, Sarmini H, Moreau T (1985). Effects of pregnancy on the inter-individual variations in blood levels of lead, cadmium and mercury. Biological research in pregnancy and perinatology, 7: 37- 42.

Casalino E, Valzaretti G, Sblano C, Landriscina V, Felice Tecce M, Landriscina C (2002) Antioxidant effect of

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.1.9.9]

Heidari S (2013) Effect of solvent in preconcentration and determination of cadmium in saffron samples by dispersive liquid- liquid microextraction based on solidification of floating organic dropUV- Vis spectrophotometry. Saffron Agronomy and Technology. 1:93-106.

Hildeman A, Mitchell T, Aronow B (2003) Control of Bcl-2 expression by reactive oxygen species. PNAS journals 100: 15035-40.

Kaur S and Sharma S (2015) Evaluation of toxic effect of cadmium on sperm count, sperm motility and sperm abnormality in albino mice. International Journal of Advanced Research, 3: 335-343.

Khazaei Koohpar Z, Hashemi M, Mahdian R, Parivar K (2013) The Effect of Pentoxifylline on *bcl-2* Gene Expression Changes in Hippocampus after Long-term use of Ecstasy in Wistar Rats. Iranian Journal of Pharmaceutical Research. 12: 521-527.

Kheradmand A, Alirezaei M, Dezfoulian O (2013) Cadmium-Induced Oxidative Stress in the Rat Testes: Protective Effects of Betaine. International Journal of Peptide Research and Therapeutics 19:337-344.

Lopez E, Arce C, Oset-Gasque MJ, Canadas S, Gonzalez MP (2006). Cadmium induces reactive oxygen species generation and lipid peroxidation in cortical neurons in culture. Free Radical Biology and Medicine, 40: 940-951.

Linhartova P, Sampels S (2015) Combined incubation of Cadmium, docosahexaenoic and eicosapentaenoic acid results in increased uptake of cadmium and elevated docosapentaenoic acid content in hepatocytes in vitro. Lipids Health Dis.14:156.

Liu Y, Zhang SP, Cai YQ (2007) Cytoprotective effects of selenium on cadmium-induced LLC-PK1 cells apoptosis by activating JNK pathway. Toxicol in Vitro. 21: 677-84.

Mates JM, Segura JA, Alonso JA, Marquez L (2010) Roles of dioxins and heavy metals in cancer and neurological diseases using ROS-mediated mechanisms. Free Rad Biol Med. 49:1328-41.

Meilandt WJ, Barea-Rodriguez E, Harvey SA, Martinez JL Jr (2004) Role of hippocampal CA3 μ-opioid receptors in spatial learning and memory. J Neurosci 24: 2953-2962.

Méndez-Armenta M and Ríos C (2007). Cadmium neurotoxicity .Environmental Toxicology and Pharmacology, 23: 350-358.

Michalke B, Halbach S, Nischwitz V (2009) JME Spotlight: Metal Speciation Related to Neurotoxicity in Humans. J Environ Monit. 11:937-8.

Mirmajidi H, Ataee1R, Barzegar A, Nikbakhsh N, Shaterpour M (2015) Low Expression of the *Bcl2* Gene in Gastric Adenocarcinomas in Mazandaran Province of Iran. APJCP. 16.14.6067.

Nguyen K, Rippstein P, Tayabali A. and Willmore W (2015) Mitochondrial toxicity of cadmium telluride quantum dot nanoparticles in mammalian hepatocytes. Toxicol. Sci. 146: 31-42.

Ognjanovic BI, Markovic SD, Pavlovic SZ, Zikic RV, Stajn A, Saicic ZS (2008) Effect of chronic cadmium exposure on antioxidant defense system in some tissues of rats: protective effect of selenium. Physiol Res 57:403-411.

hydroxytyrosol (DPE) and Mn2+ in liver of cadmium-intoxicated rats. Comp Biochem Physiol. 133:625-32.

Cuypers A, Plusquin M, Remans T, Jozefczak M, Keunen E, Gielen H, Opdenakker K, Nair A, Munters E, Artois T, Nawrot T, Vangronsveld J. and Smeets, K (2010) Cadmium stress: an oxidative challenge. Biometals 23: 927-940.

Chen L, Liu L, and Huang S (2008). Cadmium activates the mitogen-activated protein kinase (MAPK) pathway via induction of reactive oxygen species and inhibition of protein phosphatases 2A and 5. Free Radical Biology and Medicine, 45: 1035-1044.

Chen L, Xu B, Liu L, Luo Y, Zhou H, Chen W, Huang S (2011). Cadmium induction of reactive oxygen species activates the mTOR pathway, leading to neuronal cell death. Free Radical Biology and Medicine, 50: 624-632.

Dorts J, Bauwin A, Kestemont P, Jolly S, Sanchez W, Silvestre F (2012) Proteasome and antioxidant responses in *Cottus gobio* during a combined exposure to heat stress and cadmium. Comp. Biochem. Phy. Part C 155: 318-324.

Desi I, Nagymajtenyi L, Schulz H (1998). Behavioural and neurotoxicological changes caused by cadmium treatment of rats during development. Journal of Applied Toxicology, 18: 63-70.

Elmore S (2007) Apoptosis: A Review of Programmed Cell Death. *Toxicol Pathol*. 35:495-516.

Er E, Oliver L, Cartron PF, Juin P, Manon S, Vallette FM (2006) Mitochondria as the target of the pro-apoptotic protein Bax. *Biochim Biophys Acta*.; 1757:1301-1311.

Fisher DE (1994) Apoptosis in cancer therapy: crossing the threshold. *Cell.*78:539-42.

Gustavsson M, Wilson MA, Mallard C, Rousset C, Johnston MV, Hagberg H (2007) Global gene expression in the developing rat brain after hypoxic preconditioning: involvement of apoptotic mechanisms? Pediatr Res 61: 444-50.

Gupta A, Gupta A, Chandra SV(1991). Gestational cadmium exposure and brain development: a biochemical study. Industrial health, 29 : 65-71.

Harukuni I, Bhardwaj A (2006) Mechanisms of brain injury after global cerebral ischemia. Neurol Clin; 24: 1-22.

Hashemi M, Mahdian R, Entezari M,Kamyab A (2012) Application of Multiplex Real-Time PCR Assay Using TaqMan MGB Probes on Amniocyte Samples for Prenatal Diagnosis of Trisomy 21.Advanced Studies in Biology. 4:11-17.

Hashemi M (2015) The effect of pentoxifylline drug on bax/Bcl2 gene dosage expression changes following ischemic reperfusion injury in kidney. Department of Pharmacology and Toxicology. 2008-4978.

Hatem E, Berthonaud V, Dardalhon M, Lagniel G, Baudouin-Cornu P, Huang M, Labarre J. and Chédin S (2014) Glutathione is essential to preserve nuclear function and cell survival under oxidative stress. Free Radical Bio. Med. 67:103-114.

Herba E, Pojda-Wilczek D, Pojda SM, Plech A, Brus R (2000). The effect of serotonin on flash visual evoked potential in the rat prenatally exposed to cadmium. Klinika oczna, 103: 81-84.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.1.9.9]

Ognjanovic BI, Markovic SD, Dordevic NZ, Trbojevic IS, Stajn AS, Saicic ZS (2010) Cadmium-induced lipid peroxidation and changes in antioxidant defense system in the rat testes: protective role of coenzyme Q(10) and vitamin E. Reprod Toxicol 29:191-197.

Okuda B, Iwamoto Y, Tachibana H, Sugita M (1997). Parkinsonism after acute cadmium poisoning. Clinical neurology and neurosurgery, 99: 263-265.

Roemmich JN, Lobarinas CL, Joseph PN, Lambiase MJ, Archer Iii FD, Dorn J (2009) Cardiovascular reactivity to psychological stress and carotid intima-media thickness in children. Psychophysiology 46:293-299.

Salazar R, Pérez R, León A, Lemus M, Rojas L (2009) Determinación de tioles totales y tioles solubles en ácido en el pez *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) expuesto a cadmio. Rev. Cient. FCV-LUZ 19: 414-420.

Sevcikova M, Modra H, Slaninova A, Svobodova S (2011) Metals as a cause of oxidative stress in fish: a review. Vet. Med. 56: 537-546.

Sharifi S, Barar J, Hejazi M.S, Samadi N (2015) Doxorubicin Changes Bax /Bcl-xL Ratio, Caspase-8 and 9 in Breast Cancer Cells. Advanced Pharmaceutical Bulletin. 5: 351-359.

Sharifi AM, Baniasadi S, Jorjani M, Rahimi F, Bakhshayesh M. (2002) Investigation of acute lead poisoning on apoptosis in rat hippocampus in vivo. Neurosci Lett 329:45-48.

Shih YL, Lin CJ, Hsu SW, Wang SH, Chen WL, Lee MT, et al. (2005) Cadmium toxicity toward caspase-independent apoptosis through the mitochondria-calcium pathway in mtDNA-depleted cells. Ann N Y Acad Sci. 1042: 497-505.

Skommer J, Wlodkowic D, Deptala A (2007) Larger than life: Mitochondria and the Bcl family. *Leuk Res*. 31:277-286.

Voehringer DW, Meyn RE (2000) Redox Aspects of Bcl-2 Function. Antioxid Redox Signal 2:537-50.

Wang Y, Fang J, Leonard S, Krishna M (2004) Cadmium inhibits the electron transfer chain and induces reactive oxygen species. Free Radical Biol. Med. 36: 1434-1443.

Wang P, Wang Li, Wang Sh, Li Sh, Li Yu, Zhang L (2015) Effects of calcium-sensing receptors on apoptosis in rat hippocampus during hypoxia/re- oxygenation through the ERK1/2 pathway. Int J Clin Exp Med. 8:12858-12865.

Watjen W, Haase H, Biagioli M, Beyersmann D (2002) Induction of Apoptosis in Mammalian Cells by Cadmium and Zinc. Environ Health Perspect. 110:865-867.

Xia T, Kovochich M, Brant J et al.(2006) Comparison of the abilities of ambient and manufactured nanoparticles to induce cellular toxicity according to an oxidative stress paradigm .Nano Lett 6: 1794-807.

Yamano T, Shimizu M, Noda T (1998) Comparative effects of repeated administration of cadmium on kidney, spleen, thymus, and bone marrow in 2-, 4-, and 8-month-old male Wistar rats. Toxicol Sci. 46: 393-402.

Zhang H, Heim J, Meyhack B (1998) Redistribution of Bax from cytosol to membranes is induced by apoptotic stimuli and is an early step in the apoptotic pathway. Biochem Biophys Res Commun .251:454-9.

Zhang T, Hu Y, Tang M, Kong Lu, Ying J, Wu T, Xue Y, Pu Y (2015) Liver Toxicity of Cadmium Telluride Quantum Dots (CdTe QDs) Due to Oxidative Stress in Vitro and in Vivo. Int. J. Mol. Sci. 16: 23279-23299.

Zazouli, MA, Bandpei AM, Maleki A, Saberian M, Izanloo H (2010) Determination of cadmium and lead contents in black tea and tea liquor from Iran. Asia Journal of Chemistry 22: 1387-93.

Zhou T, Jia X, Chapin RE, Maronpot R, Harris MW, Liu J, et al (2004) Cadmium at a Non-toxic Dose Alters Gene Expression in Mouse Testes. Toxicol Lett 154:191-200.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.1.9.9]