

مجله دانشگاه علوم پزشکی کرمان، دوره هفتم، شماره ۳، ص ۱۲۱-۱۱۵، ۱۳۷۹

مقاله پژوهشی

اثر تزریق آلومینیم داخل هسته کمانی بر تعداد اسپرم، وزن مجاری دفران و اپیدیدیم در موش صحرائی نر

دکتر محمدرضا شهرکی، دکتر صالح زاهدی اصل ۲ و دکتر علیرضا سرکاسی ۳

خلاصه

آلومینیم یک مهارگر کانال های کلسیم حساس به ولتاژ است که می تواند از منابع مختلف وارد بدن شود. این عنصر مخل اعمال بیولوژیکی یون کلسیم است و روندهای بیولوژیک وابسته به این یون را تغییر می دهد. چون ترشح GnRH و روند اسپرماتوژنز وابسته به یون کلسیم است، این بررسی برای تعیین اثر آلومینیم بر تعداد اسپرم، وزن مجاری دفران و اپیدیدیم در موش صحرائی نر انجام شد. پژوهش بر روی ۴۹ سر موش های صحرائی نر انجام شد که پس از کانول گذاری دوطرفه در هسته کمانی به چهار گروه تقسیم شدند. گروه شاهد و سه گروه آزمایش که گروه اول روزانه ۱۰۰ نانولیترا مایع مغزی نخاعی مصنوعی (ACSF) حاوی ۰/۱۵ پیکومول آلومینیوم (به صورت کلرور آلومینیم) را در هر سمت هسته کمانی خود به مدت ۲۰ روز دریافت نمودند. دو گروه دیگر حیوانات ۱۰۰ نانولیترا ACSF را با pH ۷/۲ و ۳/۴ در هسته کمانی خود دریافت نمودند. گروه شاهد بعد از کانول گذاری هیچ ماده ای دریافت نکرد. پس از این مدت حیوانات با تیوپنتال سدیم (نسدونال) بیهوش شدند و مجاری دفران و اپیدیدیم از بدن آنها خارج و وزن گردید. این دو ارگان در سرم فیزیولوژی قرار گرفتند و پس از خرد کردن ورقیق سازی مناسب، شمارش اسپرم با لام هموسیتومتر انجام شد و تعداد اسپرم در گرم بافت این مجاری محاسبه گردید. نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که تعداد اسپرم در گرم بافت مجاری دفران و اپیدیدیم گروه شاهد 67.3×3.7 و 107.9×3.1 میلیون و در گروه آزمایش اول به ترتیب 45.0×2.9 و 67.3×4.9 میلیون بود. وزن این مجاری در گروه شاهد به ترتیب 117.5×2.5 و 515×16.3 میلی گرم و در گروه آزمایش اول 103.5×5.01 و 462.3×19.2 میلی گرم بود. میزان تستوسترون گروه شاهد و گروه

آزمایش اول به ترتیب 0.4×11 و 0.28×0.8 ng/ml بود. این نتایج نشان می‌دهد که مقادیر فاکتورهای تولید مثل در گروه آزمایش کاهش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد پیدا کرده است ($P < 0.05$). تفاوت معنی‌داری بین مقادیر متغیرها بین گروه‌شاهد و دو گروه آزمایش دیگر مشاهده نگردید. این بررسی نشان داد که تزریق کلرور آلومینیوم در هسته کمانی‌موش‌های صحرایی نر موجب کاهش تعداد اسپرم در بافت مجاری دفران، اپیدیدیم و کاهش میزان تستوسترون سرم و وزن این ارگان‌ها می‌شود.

واژه‌های کلیدی: آلومینیوم، هسته کمانی، دفران، اپیدیدیم، شمارش اسپرم، تستوسترون

مقدمه

اثر می‌کند (۲). این عنصر موجب تأخیر بلوغ جنسی در موش صحرایی می‌شود (۷). در کارگران معادن آلومینیوم که سطح سرمی این عنصر بالاست، میزان هورمون‌های TSH و پرولاکتین کاهش می‌یابد (۳).

بیماران مبتلا به نارسایی مزمن کلیه که دیالیز می‌شوند و سطح آلومینیوم سرم آنها بالاست، قدرت باروری کمتری دارند (۲۴). بدین ترتیب احتمال دارد که اختلال در ترشح گونادوتروپین‌ها در این بیماران به دلیل غلظت بالای آلومینیوم سرم این افراد باشد (۲۴). کلسیم در آزاد شدن ماده میانجی سیناپسی از انتهای آکسون‌ها نقش اساسی ایفا می‌کند (۶). آلومینیوم از راه‌های مختلف از جمله کانال‌های حساس به ولتاژ (Voltage Sensitive Calcium Channel) VSCC و لیگاندی (Ligand Gated Calcium Channel) LGCC کلسیم وارد سلول‌های بدن می‌شود (۱۳). آلومینیوم قادر است کانال‌های کلسیمی حساس به ولتاژ را مهار نماید (۹، ۱۷). تجربیات نشان داده است که کانال‌های کلسیمی حساس به ولتاژ در ره‌های هورمون آزاد کننده گونادوتروپین‌ها (GnRH: Gonadotropin Releasing Hormone) از انتهای آکسون نورون‌های سازنده آن که بیشتر در هسته کمانی (Arcuate Nucleus) هیپوتالاموس قرار دارند، دخالت دارند (۲۲). در سلول‌های گونادوتروپ دو نوع کانال کلسیم حساس به ولتاژ L و T وجود دارند (۲۱). چون

آلومینیوم فلزی است که در صنایع هواپیما سازی، تهیه ظروف آشپزخانه و ترکیبی از آن به فرمول شیمیایی $Al(OH)_3$ جهت زلال نمودن آب آشامیدنی مورد استفاده قرار می‌گیرد تا ضمن رسوب نمودن، املاح موجود در آب را ته‌نشین نماید (۱). این عنصر از طریق داروها، پوست صدمه دیده و دستگاه تنفس به‌ویژه در کارگران صنایع و معادن آلومینیوم جذب و وارد بدن می‌شود (۸، ۱۵، ۲۳). در بیماران مبتلا به نارسایی مزمن کلیه که دیالیز می‌شوند، این عنصر همراه مایع دیالیز وارد بدن می‌شود (۴). رسوب آن در بافت‌های افراد مبتلا به کم‌خونی بیشتر از افراد سالم است (۱۹). تزریق درون صفاقی کلرور آلومینیوم به موش صحرایی، کلیرانس کراتینین را تغییر داده و غلظت ادراری یون‌های دو ظرفیتی کلسیم و منیزیم را کم می‌کند (۵، ۱۴). افزایش سطح سرمی این عنصر موجب اختلال در کار آنزیم‌هایی می‌گردد که یک عنصر فلزی به عنوان کوآنزیم در ساختمان خود دارند (۱۲). آلومینیوم انتقال پیام از غشاء سلول رانیز دچار اختلال می‌کند (۱۱). مسمومیت با این یون موجب کم‌خونی، اختلالاتی در یادگیری و حافظه می‌شود و یکی از کاندیدهای عامل ایجاد کننده بیماری فراموشی دوران پیری (Alzheimer disease) است (۱۰، ۱۶، ۱۸، ۲۵). آلومینیوم بر سیستم نورواندوکرین

پس از این مدت، هیچ گونه تزریقی به یک گروه از حیوانات انجام نشد (شم کنترل، ۱۲=تعداد). گروه دوم (۱۴=تعداد) ۱۰۰ نانولیتتر مایع مغزی نخاعی مصنوعی (ACSF(Artificial Cerebro Spinal Fluid) که حاوی ۰/۱۵ پیکومول آلومینیوم به صورت کلرور آلومینیوم بود، در هسته کمانی هر سمت به مدت ۲۰ روز (برای پوشش دادن حداقل یک دوره اسپرما توژنز) دریافت نمودند (۲۰). تزریق به صورت روزانه و بین ساعات ۸-۱۱ صبح انجام شد.

برای کنترل اثر حجم، گروه سوم (۱۱=تعداد) در این مدت در هسته کمانی هر طرف ۱۰۰ نانولیتتر ACSF با $pH=7.2$ دریافت نمودند. برای کنترل اثر pH ، گروه چهارم (۱۲=تعداد) برای مدت ۲۰ روز مورد تزریق ۱۰۰ نانولیتتر ACSF با $pH=7.4$ در هسته کمانی هر سمت قرار گرفتند. پس از این مدت حیوانات باتیوپنتال سدیم (نسدونال، Sepia) عمیقاً بیهوش و با برشی مناسب در ناحیه اینگوینال، مجاری دفران، اپیدیدیم راست و چپ خارج شد و وزن گردید. این دو ارگان در سرم فیزیولوژی قرار گرفت و پس از خرد کردن و رقیق سازی مناسب، شمارش اسپرم با لام هموسیتمتر انجام شد (۱۸). خون گیری از عروق گردن حیوان برای اندازه گیری هورمون تستوسترون انجام و پس از جدا نمودن سرم، این هورمون با تکنیک رادیو ایمنونواسی اندازه گیری شد. برای کسب اطمینان از محل تزریق، پس از خروج ارگان‌های مورد مطالعه از بدن حیوان، به کانول جمجمه ۵۰ نانولیتتر رنگ تیونین تزریق و سر حیوان جدا می‌شد. پس از حذف استخوان‌های جمجمه، مغز به داخل فرمالین ۱۰ درصد منتقل می‌شد تا برای برش برداری آماده گردد. سپس محل تزریق با اطلس مقایسه شد.

قدرت باروری در افراد مبتلا به نارسایی مزمن کلیه کم و به دلیل وجود آلومینیوم در مایع دیالیزی، سطح آلومینیوم سرم آنها بالاست، این بررسی جهت نشان دادن اثر تزریق تجربی آلومینیوم در هسته کمانی و اثر آن بر دستگاه تناسلی (مجاری اپیدیدیم، دفران و تعداد اسپرم این ارگان‌ها) انجام شد.

روش کار

موش‌های صحرایی نر آلبینو (Ratus Ratus) ۵-۷ ماهه در محدوده وزنی ۲۳۵ الی ۳۴۷ گرم انتخاب و در شرایط دوازده ساعت روشنایی و دوازده ساعت تاریکی با دمای ۲۵-۳۰ درجه سانتی‌گراد و دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند. حیوانات به مدت ۲۴ ساعت از غذا محروم و پس از وزن شدن با ترازوی دیجیتال BA, 400 (S, Sartorius) آلمان، وزن اولیه، با تزریق درون صفاقی کتامین (Gedeon Richter Chemical Works LTB مجارستان) به مقدار ۱۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن بی‌هوش شدند. حیوان در دستگاه استرو تاکسیک قرار گرفت و با در نظر گرفتن شاخص برگما از سطح استخوان و با استفاده از اطلس Plegirino و با مشخصات:

Δmm (Dorsal Ventral) DV =

$\times mm$ (Medial Lateral) ML = ۰/۴

Δmm (Anterior Posterior) AP =

عمل کانول گذاری به صورت دو طرفه انجام گرفت. جنس کانول راهنما از استیل زنگ‌زن و سر سوزن شماره ۱/۲-۲۰ با قطر خارجی ۰/۹ میلی‌متر بود. کانول راهنما از طریق کاشتن دو عدد پیچ مناسب و با استفاده از سیمان دندان پزشکی در سطح استخوان به جمجمه محکم شد. دوران بهبودی بعد از عمل جراحی بین ۷-۱۰ روز بود (۲۰).

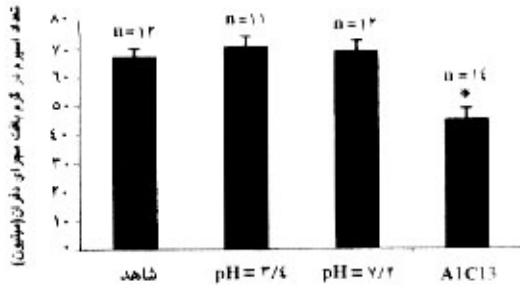
اگر جایگاه تزریق با اطلس مغایر بود، نتایج مربوط به این حیوان حذف می‌شد.

نتایج به صورت $SE \times mean$ بیان شده است و جهت محاسبات آماری از دو نوع آزمون واریانس و student-t-test استفاده گردید و مقادیر $P < 0.05$ معنی‌دار تلقی شد.

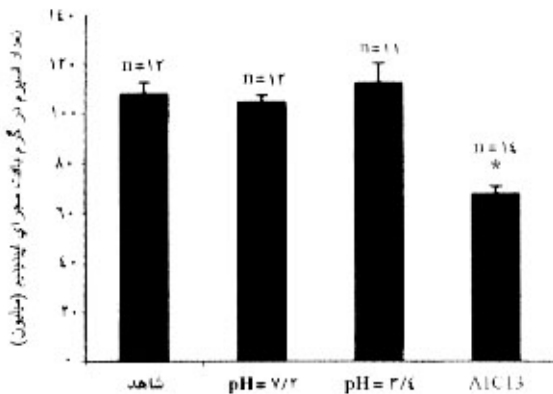
نتایج

نتایج این بررسی نشان داد که تعداد اسپرmatوزوئید در گرم بافت مجرای دفران در گروه کنترل 67.3×3.7 میلیون و در گروه آزمایش که ACSF حاوی AIC13 با غلظت 0.15 پیکومول آلومینیوم به فرم کلرور را در هسته کمانی دریافت نمودند، 45.0×2.9 میلیون بود که نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌داری را نشان می‌دهد ($P < 0.05$). تعداد اسپرmatوزوئید در گرم بافت مجرای دفران گروه‌های آزمایش که ACSF با $pH=7.2$ و ACSF با $pH=3.4$ را در هسته کمانی دریافت نمودند، تفاوت معنی‌داری را نسبت به گروه شاهد نشان نداد (نمودار ۱).

تعداد اسپرmatوزوئید در گرم بافت مجرای اپیدیدیم گروه شاهد، 107.9×3.1 میلیون و در گروه آزمایش که ACSF حاوی AIC13 را به صورت کلرور در هسته کمانی دریافت نمودند، 67.3×4.9 میلیون بود که نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌داری نشان می‌دهد ($P < 0.05$). تعداد اسپرmatوزوئید در گرم بافت مجرای اپیدیدیم گروه‌های آزمایش که ACSF با $pH=7.2$ و ACSF با $pH=3.4$ در هسته کمانی دریافت نمودند، تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد نشان نداد (نمودار ۲).



نمودار ۱: تعداد اسپرم در گرم بافت مجرای دفران گروه شاهد و گروه‌های آزمایش که به مدت ۲۰ روز در هسته کمانی خود مورد تزریق 200 نانولیتتر مایع مغزی-نخاعی مصنوعی با $pH=7.2$ و 3.4 و یا حاوی کلرور آلومینیوم قرار گرفتند. $P < 0.05$ *

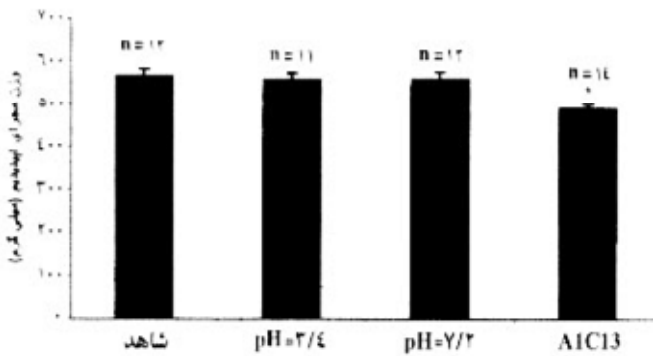


نمودار ۲: تعداد اسپرم در گرم بافت مجرای اپیدیدیم گروه شاهد و گروه‌های آزمایش که به مدت ۲۰ روز در هسته کمانی خود مورد تزریق 200 نانولیتتر مایع مغزی-نخاعی مصنوعی با $pH=7.2$ و 3.4 یا حاوی کلرور آلومینیوم قرار گرفتند. $P > 0.05$ *

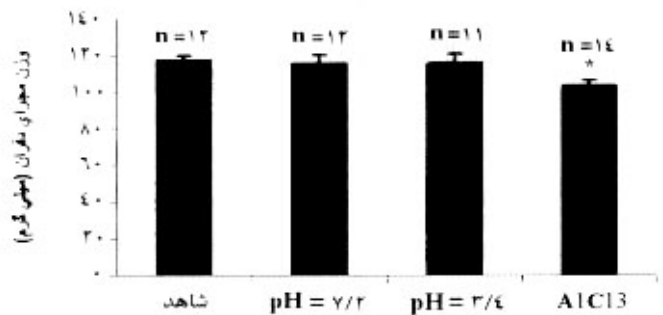
وزن مجرای دفران گروه شاهد 117.5×2.8 میلی‌گرم و در گروه آزمایش که ACSF حاوی AIC13 را در هسته کمانی دریافت نمودند، 103.5×5.01 میلی‌گرم بود که

نسبت به گروه شاهد کاهش معنی داری نشان می دهد (P>0/05). وزن این اندام در گروه های آزمایش که ACSF با pH 7/2 و یا 3/4 در هسته کمانی دریافت نمودند، تفاوت معنی داری نسبت به گروه شاهد نشان نداد (نمودار ۳). وزن مجرای اپیدیدیم در گروه شاهد 515/4 × 16/3 میلی گرم و در گروه آزمایشی که ACSF حاوی AIC13 را دریافت نمودند، 462/3 × 19/2 میلی گرم بود که نسبت به گروه شاهد کاهش معنی داری نشان می دهد (P>0/05). وزن مجرای اپیدیدیم گروه های آزمایش که ACSF با pH 7/2 و ACSF با pH 3/4 دریافت نمودند، تفاوت معنی داری نسبت به گروه شاهد نشان نداد (نمودار ۴).

۰/۸ × ۰/۲۸ ng ml بود که نسبت به گروه شاهد کاهش معنی داری را نشان می دهد (P>0/05). مقایسه ارگان های تناسلی (مجاری دفران و اپیدیدیم) راست و چپ گروه های مورد بررسی تفاوت معنی داری را نشان نداد.



نمودار ۴: وزن مجرای اپیدیدیم گروه شاهد و گروه های آزمایش که به مدت ۲۰ روز در هسته کمانی خود مورد تزریق ۲۰۰ نانولیتتر مایع مغزی-نخاعی مصنوعی با pH 7/2، 3/4 و یا حاوی کلرور آلومینیوم قرار گرفتند. * P>0/05



نمودار ۳: وزن مجرای دفران گروه شاهد و گروه های آزمایش که به مدت ۲۰ روز در هسته کمانی خود مورد تزریق ۲۰۰ نانولیتتر مایع مغزی-نخاعی مصنوعی با pH 7/2، 3/4 و یا حاوی کلرور آلومینیوم قرار گرفتند. * P>0/05

بحث

نتایج این بررسی نشان می دهد که تعداد اسپرماتوزوئید در گرم بافت مجاری دفران و اپیدیدیم، وزن مجاری دفران و اپیدیدیم بیضه در گروه آزمایش که ACSF حاوی کلرور آلومینیوم به مدت ۲۰ روز در هسته کمانی خود، روزانه دریافت نمودند، نسبت به گروه شاهد کاهش معنی داری دارد. اما مقایسه این فاکتورها در گروه های آزمایش که در این مدت ACSF با pH=7/2 و ACSF با pH=3/4 را در هسته کمانی دریافت نمودند، نسبت به گروه شاهد تفاوت معنی داری را نشان نمی دهد. Domingo و

میزان هورمون تستوسترون در گروه شاهد 2/11 × 0/47 ng ml و در گروه آزمایش که ACSF حاوی AIC13 در هسته کمانی دریافت نموده بود،

همکاران در سال ۱۹۸۷ اثر تجویز خوراکی آلومینیوم بر تولید مثل موش صحرایی را بررسی نمودند (۷) که با نتایج حاصل از این بررسی هم‌خوانی ندارد. احتمالاً به این دلیل که ترکیب مورد استفاده آنهائیترات آلومینیوم از طریق آب آشامیدنی بوده است، اما ترکیب به کار گرفته شده در این بررسی کلرور آلومینیوم از طریق تزریق مرکزی انجام شده است. بررسی‌های انجام شده نشان داد که اثر تزریق آلومینیوم در هسته کمانی بر روی این فاکتورها تاکنون گزارش نشده است. اما تجویز عناصر سنگین، از جمله آلومینیوم در سایر نقاط سیستم عصبی کمابیش مطالعه شده است. کاربرد آلومینیوم و سرب در محیط کشت سیناپتوزوم‌های حاوی استیل‌کولین، مانع رهایش این ماده میانجی شده است (۹). تزریق کلرور آلومینیوم در هیپوکامپ موش‌های صحرایی منجر به کاهش یادگیری آنها نسبت به گروه شاهد شده است (۶). علت این کاهش را دخالت آلومینیوم در رهایش گلوتامات و میانجی‌های نورونی دیگر دخیل در روند یادگیری عنوان نموده‌اند (۶). پس با توجه به وجود کانال‌های حساس به ولتاژ کلسیم موجود در نورون‌های هسته کمانی و دخالت کلسیم در سنتز و رهایش هورمون آزاد کننده گونادوتروپین‌ها و اثر آلومینیوم به عنوان مهارگر این کانال‌ها در سایر مناطق مغز (۶)، کاهش معنی‌دار این فاکتورها را این گونه می‌توان توجیه کرد:

۱- تزریق آلومینیوم در هسته کمانی، احتمالاً موجب مهار کانال‌های حساس به ولتاژ کلسیم موجود در نورون‌های سازنده هورمون GnRH شده است و میزان سنتز این هورمون را کاهش داده است. شاید آلومینیوم از این طریق یا دخالت در روند پیدایش تغییرات خود به خودی پتانسیل‌های غشاء این نورون‌ها که وابسته به کلسیم است،

در ترشح GnRH ایجاد اختلال نموده است (امکان اندازه‌گیری این هورمون وجود نداشت).

۲- آلومینیوم احتمالاً با ورود به داخل این سلول‌ها توانسته است بر مولکول DNA اثر نموده و از طریق مهار روند نسخه برداری، سنتز این هورمون را در این مرحله و یا ترجمان m-RNA در سطح ریبوزوم را دچار اختلال نموده و از این طریق موجب کاهش این هورمون شود که خود نیاز به بررسی بیشتر دارد. کاهش احتمالی میزان سنتز این هورمون از طریق کاهش احتمالی گونادوتروپین‌ها موجب تغییرات ذکر شده در حیوانات مورد مطالعه گردیده است، که مکانیسم دقیق آن نیاز به مطالعه بیشتر دارد.

این بررسی نشان داد که تزریق آلومینیوم به صورت کلرور در هسته کمانی موش‌های صحرایی منجر به کاهش تعداد اسپرم در گرم بافت مجاری دفران، اپیدیدیم و کاهش میزان تستوسترون سرم و کاهش وزن این ارگان‌ها می‌شود.

با توجه به نتایج حاصل از این بررسی پیشنهاد می‌شود جهت کاهش یا حذف اثر سمیت آلومینیوم بر شاخص‌های باروری در بیماران مبتلا به نارسایی مزمن کلیه از ترکیباتی جهت خنثی نمودن اثر این یون استفاده شود و یا به گونه‌ای مایع دیالیز را تغییر داد تا فاقد آلومینیوم و یا میزان کمتر این یون باشد.

Summary

The Effect of Aluminium Chloride Injection in Arcuate Nucleus on Sperm Count and the Weight of VasDeferens and Epididymis in Rat

MR. Shahraki, PhD¹., S. Zahedi Asl, PhD²; and AR. Sarkaki, PhD³

1. Assistant Professor of Physiology, Zahedan University of Medical Sciences and Health Services, Zahedan, Iran

2. Professor of Physiology, 3. Assistant Professor of Physiology, Ahwas University of Medical Sciences and Health Services, Ahwaz, Iran

The weight of these organs in AlCl₃ group were 103.5×5.01 and 462.3×19.2 mg, and in control group were 117.5×2.5 and 515×16.3 mg respectively. The value of testosterone in control and test groups were 2.11×0.4 and 0.8×0.28 ng/ml (P<0.05). Overall the results indicate that injection of aluminium in male rat arcuate nucleus, can decrease sperm count in vas deferens and epididymis. In addition the weight of these organs and serum testosterone were also decreased.

Journal of Kerman University of Medical Sciences, 2000; 7(3): 115-121

Key Words: Aluminium, Arcuate nucleus, Deferens, Epididymis, Sperm count, Testosterone

منابع

۱. واسر، جی: شیمی عمومی توصیفی. مترجم: غیاثی، مهران: جلد دوم، انتشارات دانشگاه صنعتی اصفهان، ۱۳۶۸، ص ۵۷۲-۵۶۷.

2. Agarwal SK, Ayyash L, Gourley CS, Levy J and Faber K. Evaluation of developmental neuroendocrine and reproductive toxicology of aluminium. *Fd Chem toxicol* 1995; 34(1): 49-53.
3. Alessio L, Apostoli P, Ferioli A, et al. Behavior of biological indicators of internal dose and some neuro-endocrine test in aluminium workers. *Med Lav* 1989; 80(4): 290-300.
4. Altman P, Plowman D, Marsh F and Cunningham J. Aluminium chelation therapy in dialysis patients: Evidence for inhibition of hemoglobin synthesis by low levels of Aluminium. *Lancet* 1988; 1(8593): 1012-1015.
5. Busselberg D, Platt B, Michael D, Carpenter DO and Hass HL. Mammalian voltage-activated calcium channel currents are blocked by Pb²⁺, Zn²⁺ and Al³⁺. *J Neurophysiol* 1994; 71(4): 1491-1497.
6. Carlos A and et al. Mechanism of aluminium induced microcytosis. Lessons from accidental aluminium intoxication. *Kid Inter* 1995; 47: 164-168.
7. Domingo JL, Paternain JL, Liobet JM and Corbella J. The effects of aluminium ingestion

Aluminium is a blocker of voltage sensitive calcium channels which enter the body from different sources. This ion interferes with biological function of Ca⁺⁺ ion. Because GnRH synthesis, secretion and spermatogenesis are dependent on calcium ion, this study was performed to investigate the effect of aluminium on vas deferens and epididymis sperm count and weight of these organs in male rats. The study was performed on four groups of rats (n=49), in whom the arcuate nucleus was bilaterally cannulated by stereotaxic surgery. Test group received 100 nl ACSF containing 0.15 pmol aluminium in each side of the arcuate nucleus for 20 days. Two groups of animals were received the same volume of ACSF with pH=7.2 and 3.4. The sham control group did not receive any agent after cannulation. At the end of experiment, animals were anesthetized with nesdonal (sodium thiopental) and then vas deferens and epididymis were removed and weighted. These organs were cut and diluted with normal saline. Sperms were counted by hemocytometer and calculated per gram of tissue. Results showed that sperm count per gram of tissue in vas deferens and epididymis control group were 107.9×3.1, 76.2×3.7 million and in test group 45.0×2.9, 67.3×4.9 million respectively (P<0.05).

- on reproduction and postnatal survival in rats. *Life Sci* 1987; 41(9): 1127-1131.
8. Domingo JL, Gomez M, Sanchez DJ, Llobet JM and Corbella J. Effect of various dietary constituents on gastrointestinal absorption of aluminium from drinking water and diet. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* 1993; 79(3): 377-380.
9. Golub MS, Keen CL and Greshwin ME. Neurodevelopmental effect of aluminium in mice. *Neurotoxicol Teratol* 1992; 14(3): 177-182.
10. Greger JL, Chang MM and Macneil GG. Tissue turnover of aluminium and Ga-67: Effect of iron status. *Proc Soc Exp Biol Med* 1994; 207(1): 89-96.
11. Haug A, Shi B and Vitorello V. Aluminium interaction with phosphoinositide-associated signal transduction. *Arch Toxicol* 1994; 68(1): 1-7.
12. Jones DL and Kochian LV. Aluminium interaction with plasma membrane lipids and enzyme metal binding sites and its potential role in Al cytotoxicity. *FEBS Lett* 1997; 400(1): 51-57.
13. Koenig ML and Jope RS. Aluminium inhibits the fast phase of Voltage-Dependent Calcium

- influx into synaptosome. *J Neurochem* 1987; 49(1): 316-320.
14. Liu GX and Nordberg GF. Nephro-toxicities of aluminium and/or cadmium-metallothionein in rats: Creatinine excretion and metabolism of packages. *Food Addit Contam* 1992; 9(3): 213-223.
16. Mills LR, Niesen CE, So AP, Carlen PL, Spigelman I and Jones OT. N-type Ca²⁺ channels are located on somata, dendrites and a subpopulation of dendritic spines on live Hippocampal pyramidal neurons. *J Neurosci* 1994; 14(11 pt 2): 6815-6824.
17. Miyake A. Role of Calcium ion in reproductive physiology. *Nippon Sanka Fujinka Zasshi* 1992; 44(8): 976-981.
18. Pant N, Stivastava SC, Prasad AK, Shankar R and Srivastava SP. Effects of carbaryl on the rat's male reproductive system. *Vet Hum Toxicol* 1995; 37(5): 421-425.
19. Rosenlof K, Fyhrquist F and Tenhunen R. Erythropoietin, Aluminium and anemia in patients on hemodialysis. *Lancet* 1990; 335(8684): 247-249.
20. Solomon PR, Koota D and Pendlebury WW. Disrupted retention of the classically conditioned nictitating membrane response in the aluminium-intoxicated rabbit using electrical stimulation of the selected essential metals. *Pharmacol Toxicol* 1995; 77(2): 155-160.
15. Liukkonen Lilja H and Piepponen S. Leaching of aluminium from aluminium dishes and brain as a conditioned stimulus. *Neurobiology Aging* 1990; 11(5): 523-528.
21. Stutzin A, Stojikovic SS, Catt KJ and Rojas E. Characteristics of two types of calcium channels in rat pituitary gonadotrophs. *Am J Physiol* 1989; 257(5pt 1): c865-c874.
22. Tse A, Tse FW, Almers W and Hille B. Rhythmic exocytosis stimulated by GnRH-induced calcium oscillations in rat gonadotropes. *Science* 1993; 260(5104): 82-84.
23. Whitehead MW, Farrar G, Christie GL, Blair JA, Thompson RP and Powell JJ. Mechanisms of aluminium absorption in rats. *J Clin Nutr* 1997; 65(5): 1446-1452.
24. Yamamoto Y, Sofikitis N and Miyagawa I. Effects of chronic renal failure on hypothalamo-pituitary-testicular axis function and fertility in rats. *Int J Urol* 1996; 3(6): 484-490.
25. Yokel RA, Allen DD and Meyer JJ. Studies of aluminium neurobehavioral toxicity in the intact mammal. *Cell and Mol Neurobiol* 1994; 14(6): 791-808.