

بررسی اثرات آرسنیک بر تکامل چشم در جنین‌های موش سوری

معصومه زیرک جوانمرد^۱، مجتبی کریمی‌پور^{۲*}، باقر پورحیدر^۳، مریم شاهی^۴

تاریخ دریافت 1392/09/02 تاریخ پذیرش 1392/11/15

چکیده

پیش زمینه و هدف: آرسنیک یکی از مهم‌ترین آلاینده‌های محیطی است که در آب آشامیدنی آلوده وجود دارد. هدف از این تحقیق بررسی اثرات سوء ایجاد شده در تکامل سیستم بینایی جنین موش به دنبال دریافت آرسنیک است.

مواد و روش کار: در این مطالعه از ۳۰ موش سوری در دو گروه کنترل و تجربی (n=15) استفاده گردید. به موش‌های گروه تجربی از روز هشتم بارداری روزانه 40mg/kg سدیم آرسنیک به صورت داخل صفاقی تزریق گردید. موش‌ها در روزهای ۱۰، ۱۶ و ۱۹ بارداری کشته و جنین‌ها از رحم آن‌ها خارج شدند. جنین‌ها از نظر ماکروسکوپی و میکروسکوپی (هیستوپاتولوژی و ایمونوهیستوشیمی برای بیان پروتئین RCF1) مورد بررسی قرار گرفتند. از نرم افزار SPSS برای بررسی کمی داده‌ها استفاده شد.

یافته‌ها: مشاهدات ماکروسکوپی جنین‌های ۱۶ و ۱۹ در گروه تجربی حاکی از نقص بینایی به صورت آنوفتالمی یا عدم تشکیل کره چشم بودند. مطالعات میکروسکوپی با رنگ آمیزی هماتوکسیلین اتوزین نشان داد که در گروه تجربی ۶۰ درصد از جنین‌های ۱۰ روزه، ۶۰ درصد از جنین‌های ۱۶ روزه و ۳۳/۵ درصد از جنین‌های ۱۹ روزه دارای نقص در روند رشد چشم و لایه‌های تشکیل دهنده آن بودند. علاوه بر این میزان بیان پروتئین RCF1-1 در لایه عصبی شبکیه کاهش یافته بود.

بحث و نتیجه گیری: با توجه به نتایج بدست آمده می‌توان گفت که آرسنیک سبب ایجاد اختلال در تکامل سیستم بینایی جنین‌هایی که در معرض آرسنیک قرار می‌گیرند می‌شود.

کلید واژه‌ها: آرسنیک، سیستم بینایی جنین موش، Reduced Folate Carrier (RFC1)

مجله پزشکی ارومیه، دوره بیست و پنجم، شماره اول، ص ۸۳-۷۶، فروردین ۱۳۹۳

آدرس مکاتبه: گروه علوم تشریح دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، تلفن: ۰۴۴۱-۲۷۸۰۸۰۳

Email: mojtaba_karimipour@yahoo.com

مقدمه

معرض رویا رویی جدی با این ماده سمی هستند (۲). از طریق فعالیت‌های روزه‌مره‌ی انسان، این فلز سنگین وارد اتمسفر می‌شود که طول عمری حدود چند روز دارد. نهایتاً در رودها و دریاها تجمع پیدا می‌کند که در این نواحی طول عمری برابر با چندین هزار سال دارد (۱).

ضایعات مربوط به آرسنیک کاملاً در ارتباط با میزان و روش رویاروی با آن است. ورود از طریق دهانی عمدتاً مربوط به آب شرب و مواد غذایی و از طریق استنشاقی مربوط به مشاغلی مانند کشاورزی و کار در معادن است.

آرسنیک از آلاینده‌های محیطی است که به طور گسترده‌ای در دنیا مورد مطالعه قرار می‌گیرد. این ماده، نوروتوکسیک محسوب شده و باعث ایجاد آسیب‌های جدی در سیستم عصبی می‌شود. مطالعات اپیدمیولوژیک نیز بروز این ضایعات را در مناطق آلوده جهان تأیید می‌کند (۱). آب‌های زیرزمینی، خاک، برنج آلوده و بعضی از غذاهای دریایی از منابع آرسنیک محسوب می‌شوند. همین‌طور معدن کاران و کشاورزان از طریق آفت کش و حشره کش‌ها در

^۱ گروه علوم تشریح دانشگاه علوم پزشکی ارومیه

^۲ گروه علوم تشریح دانشگاه علوم پزشکی ارومیه (نویسنده مسئول)

^۳ مرکز تحقیقات نوروفیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه

^۴ دانشجوی کارشناسی ارشد آناتومی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه

به منظور بررسی اثرات سدیم آرسنیک بر تکامل چشم از ۳۰ سر موش ماده بالغ نژاد آلبینو استفاده شد. این حیوانات به مدت دو هفته جدا از یکدیگر نگه داری شدند تا به محیط حیوان خانه عادت کنند. حرارت حیوانخانه در طول مدت نگهداری ۲۰-۲۲ درجه سانتیگراد بود و موشها حدود ۱۲ ساعت در روشنایی و ۱۲ ساعت در تاریکی قرار داشتند. در مرحله‌ی جفت گیری موشهای نر و ماده به صورت یک به دو در قفس کنار هم قرار داده شدند، سپس با تشخیص پلاک وازینال در صبح روز بعد، آن روز به عنوان روز صفر بارداری در نظر گرفته شد. موشهای باردار به دو گروه کنترل و آزمایشی تقسیم شدند (هر گروه ۱۵ سر). در این تحقیق سدیم آرسنیک به صورت داخل صفاقی در روز هشتم بارداری با دوز ۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم تزریق شد. موشهای باردار کنترل در همین روز تحت تزریق آب مقطر قرار گرفتند. مادران باردار متعلق به دو گروه آزمایشی و کنترل (۵ مادر در هر مرحله) در روزهای ۱۰ و ۱۶ و ۱۹ از طریق دررفتگی گردنی کشته و جنینهای مربوط به روزهای ۱۶ و ۱۹ پس از خارج شدن از رحم و کنار زدن کیسه‌ی آمنیون با استفاده از استریو میکروسکوپ تحت مطالعه ماکروسکوپی قرار می‌گیرند و نوع و تعداد نقایص ثبت شد. در مرحله‌ی دوم بررسی‌های میکروسکوپی جهت بررسی دقیق سلولی و مطالعه‌ی ساختار بافتی چشم و مقایسه‌ی دو گروه کنترل و آزمایشی انجام شد. تعداد ۳ جنین از هر مادر به طور تصادفی جهت مطالعه‌ی بافتی وارد روند آماده سازی برای رنگ آمیزی هماتوکسیلین و اتوزین شدند (۱۵ جنین ۱۰ روزه، ۱۵ جنین ۱۶ روزه و ۱۵ جنین ۱۹ روزه).

برای بررسی‌های ایمونوفلورسانس (مارکر RFC) از بلوک‌های پارافینی برش‌های ۵ میکرونی تهیه و پس از پارافین زدائی از دستورالعمل کارخانه سازنده (سانتا کروز آمریکا) برای انجام مراحل استفاده شد. لام‌های تهیه شده با مارکر فوق توسط میکروسکوپ فلورسنت zimens مورد بررسی قرار گرفت و از آنها تصویر برداری به عمل آمد.

یافته‌ها

مشاهدات ماکروسکوپی جنینهای ۱۶ و ۱۹ روزه گروه کنترل حاکی از تشکیل کامل کره چشم و پلک‌های فوقانی و تحتانی است که از قدام کره چشم را می‌پوشانند. در گروه آزمایش ۱۶ روزه ۵/۳ درصد و در نمونه‌های ۱۹ روزه ۵ درصد از جنینها دارای نقص بینایی به صورت آنوفتالمی یا عدم تشکیل کره چشم بودند که در هیچ‌یک از این دو گروه اختلاف معنی‌دار در گروه‌های کنترل و آزمایش وجود ندارد (تصویر ۱، جدول ۱).

میزان مجاز از طریق آب یک صدم میکرو گرم بر لیتر است، اما وجود آرسنیک بالاتر از این حدود در بسیاری از نقاط جهانی دیده می‌شود و امروزه به عنوان یک مشکل بهداشت جهانی محسوب می‌شود. بنگلادش و مناطق شرقی هند از جمله نقاط بسیار آلوده هستند و بیش از ۵۰۰ میلیون نفر از ساکنین آن در معرض خطر هستند. رابطه‌ی مستقیم بین میزان آرسنیک موجود در آب و مواد غذایی و بروز بیماری‌ها در بزرگسالان و نقایص جنینی وجود دارد (۳).

در جنین آرسنیک از سد جفتی عبور کرده و اختلالاتی را در روند رشد آن ایجاد می‌کند. در این زمینه کاهش در رشد، افزایش مرگ و میر و نقایص لوله عصبی مکرراً گزارش شده است (۴). تحقیقات انجام شده نشان دهنده‌ی بروز اختلال در روند بسته شدن لوله‌ی عصبی به صورت اسپینا بیفیدا، اگزنسفال و مننگو میلو سل می‌باشد (۵). اولین مطالعه در زمینه‌ی تکامل ساختمان چشم در سال ۱۸۱۷ بر روی جنین جوجه انجام گرفت و مشخص شد که حباب‌های بینایی به صورت بیرون زدگی‌هایی از ناحیه‌ی دیانسفال لوله‌ی عصبی هستند. نقایص لوله عصبی به عنوان نقص اصلی و مشترک در تمامی پستانداران است که احتمالاً مربوط به تجمع آرسنیک در سلول‌های نورو اپی تلیال در جنین در حال رشد است. میکروافتالمی، آنوفتالمی و بد شکلی در چشم با تزریق داخل صفاقی ۴۰ MG/KG گزارش شده است (۶). در مطالعه‌ی دیگر افزودن 40 MOL/LI سدیم آرسینیت به مدت ۴۸ ساعت بر محیط کشت جنین منجر به تخریب در سیستم‌های حسی جنین‌های موش و عدم رشد پروانسفال شد (۷).

برای رفع نواقص لوله‌ی عصبی مصرف فولیت به عنوان یک اصل قابل قبول است. اسید فولیک تا ۷۰ درصد باعث کاهش نقایص لوله عصبی و سیستم‌های مشتق از آن می‌شود. وجود این ویتامین جهت تکثیر و رشد طبیعی سلول‌های جنینی ضروری است. یکی از مسیرهایی که فولیت از طریق عشاء می‌تواند وارد سلول شود پروتئین غشائی بنام RFC^۱ است. مشخص شده که این پروتئین در سلول‌های شبکه‌ی بیان می‌شود (۸).

با توجه به مطالب فوق ما در این مطالعه بر آن شدیم تا اثرات سدیم آرسنیک را بر تکامل سیستم بینایی جنین‌های موش از نظر ماکروسکوپی و میکروسکوپی و همچنین بیان پروتئین RFC مورد بررسی قرار دهیم.

مواد و روش کار

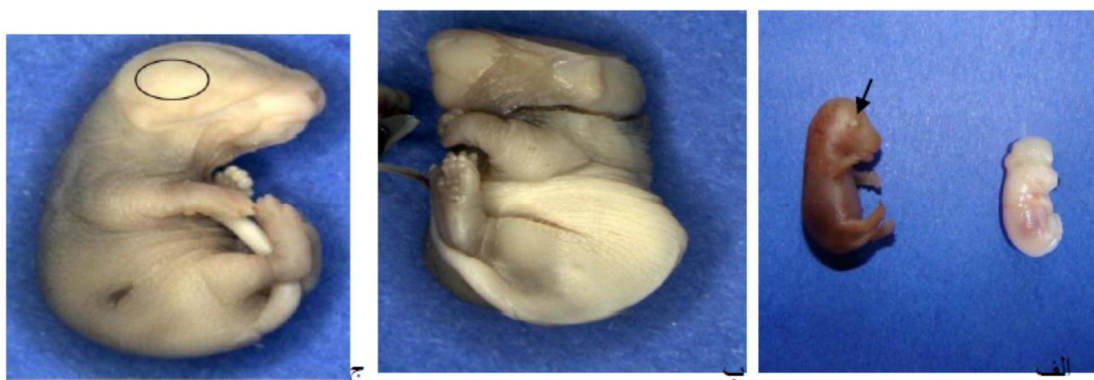
^۱ Reduced Folate Carrier

مشاهدات میکروسکوپی: اختلاف معنی دار بین وقوع این ناهنجاری در گروه های شاهد و آزمایشی وجود دارد.

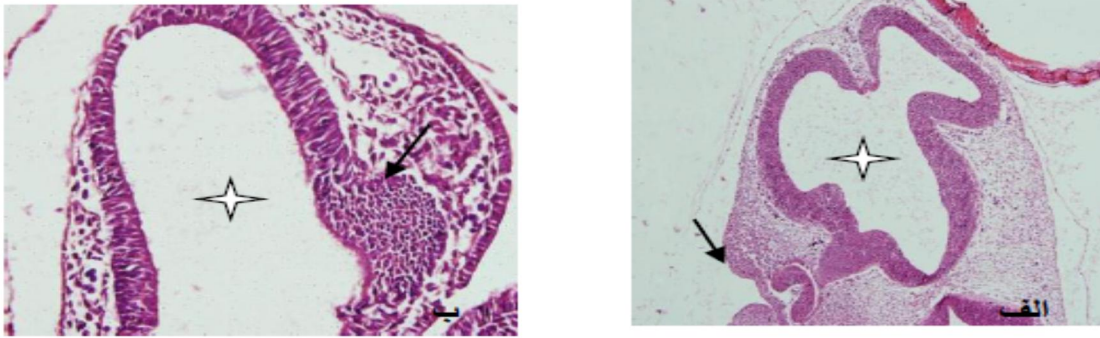
جنین های ۱۹ روزه: در گروه کنترل چشم به صورت کامل رشد کرده و سلول های موجود در لایه های عصبی و رنگدانه ای شبکه به خوبی متمایز شده اند. آکسون سلول های عصبی شکل گرفته و رشته های عصبی به طرف ساقه بینایی رفته و عصب بینایی را به وجود آورده اند. در عین حال لایه عروقی در خلف عدسی تکامل یافته، لیکن در جنین های گروه آزمایشی تکامل چشم به طور طبیعی صورت نگرفته است. سلول های لایه عصبی شبکه به صورت آشکار از هم جدا نشده اند و به نظر می رسد که غشاء سلولی تکامل نیافته و مرز واضحی بین سلول ها وجود ندارد. رشته های عصبی و نهایتاً عصب بینایی تشکیل نشده، عنبیه و جسم مژگانی نیز رشد نکرده اند (تصویر ۲). ۳۳ درصد از جنین های آزمایشی این مرحله ناهنجاری چشمی داشتند. اختلاف معنی دار ($p < 0.05$) بین وقوع این ناهنجاری در گروه های شاهد و آزمایشی وجود داشت (جدول ۲).

رنگ آمیزی ایمونو فلورسانس در دو گروه نشان داد که پروتئین RFC-1 در شبکه چشم گروه کنترل به خوبی بیان شد، اما چشم گروه آزمایشی به دلیل عدم تکامل لایه های تشکیل دهنده، مخصوصاً شبکه که جایگاه بیان این پروتئین می باشد، کاهش معنی داری در گروه های آزمایشی مطابق جدول (۱) داشت.

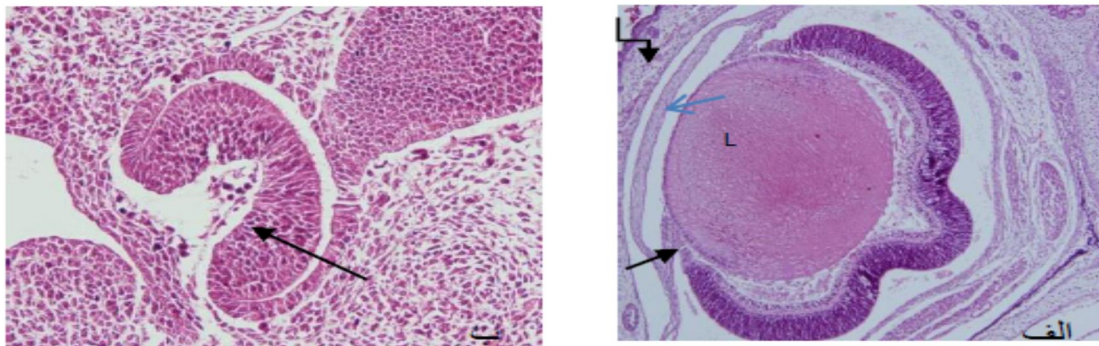
جنین های ۱۰ روزه: برش عرضی از ناحیه مغز قدامی جنین های ۱۰ روزه گروه کنترل نشان می دهد که چشم ها در طرفین مغز قدامی به صورت بیرون زدگی های کیسه ای شکل به نام حباب بینایی (Optic Vesicle) رشد کرده، سپس جام بینایی (Optic cup) به صورت دو لایه درونی و بیرونی شکل گرفته که این دو لایه توسط فضای داخل شبکه از یکدیگر جدا شده اند (تصویر ۲). در تعدادی از جنین های گروه آزمایشی جام بینایی تشکیل شده اما تورفتگی اکتودرم جهت تشکیل عدسی مشاهده نشد. ۶۰ درصد از جنین های این مرحله فاقد جام بینایی بودند. جنین های ۱۶ روزه: در گروه کنترل پلک های فوقانی و تحتانی شکل گرفته و قرنیه را از ناحیه قدامی می پوشانند. جسم زجاجیه (vitreous body) تکامل یافته و در شبکه لایه عصبی و رنگدانه به خوبی تمایز یافته و از یکدیگر قابل تفکیک هستند، عدسی کره ای شکل شده و درون آن رشته هایی از قدام به خلف کشیده شده اند. در این گروه هیچ نقص تکاملی در چشم مشاهده نشد. مشاهدات میکروسکوپی از برش های عرضی گروه آزمایشی نشان دهنده عدم تشکیل پلک ها و قرنیه بود. همین طور لایه های عصبی و رنگدانه ای تکامل نیافته و به صورت تراکمی از سلول های نامنظم دیده می شوند که مرز مشخصی بین این دو لایه وجود ندارد جنین های آزمایشی این مرحله ۶۰ درصد نقص بینایی داشتند که



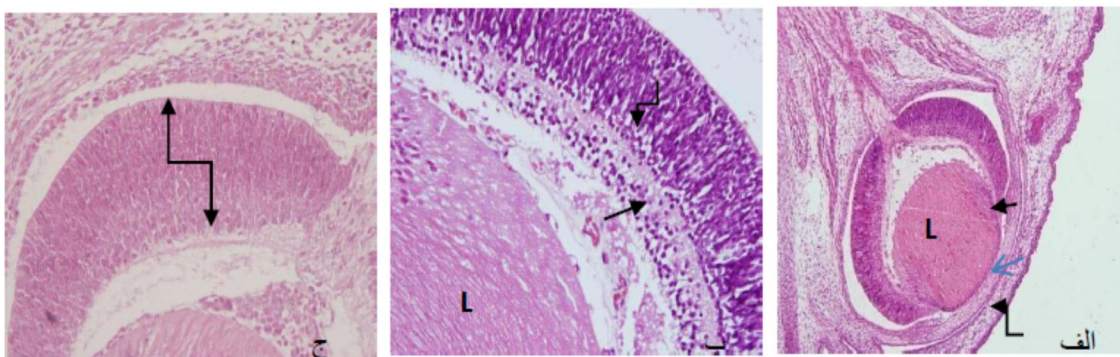
تصویر (۱): مقایسه ی ماکروسکوپی جنین های ۱۶ و ۱۹ روزه گروه های کنترل و آزمایشی: تشکیل چشم در گروه کنترل ۶۱ روزه با فلش نشان داده شده (الف، چپ) جنین گروه آزمایشی دارای نقائص جنینی آنوفتالمیا و اگزنسفالیا است (الف، راست) جنین ۶۱ روزه گروه آزمایشی با نقص آنوفتالمیا (ب) جنین ۶۱ روزه گروه کنترل، چشم تکامل یافته- مشخص شده (ج).



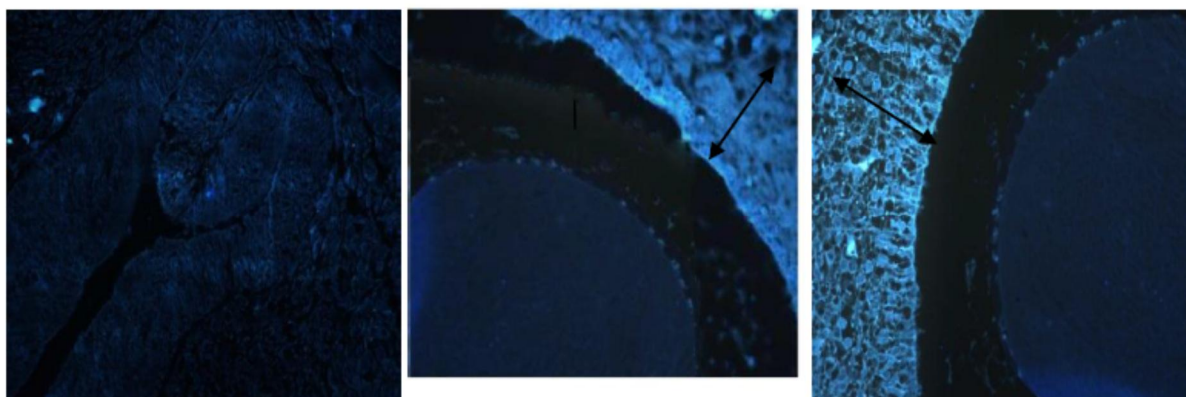
تصویر (۲): برش عرضی از دیانسفال جنین ۱۱ روزه: گروه کنترل وزیکل بینایی با فلش نشان داده شده، فضای درونی دیانسفال با ستاره مشخص شده بزرگنمایی $X100$ (الف) دیانسفال جنین ۱۰ روزه گروه آزمایشی، تجمعی از سلول‌های تمایز نیافته بجای وزیکل بینایی تشکیل نشده مشاهده می‌شود و بزرگنمایی $X400$ (ب).



تصویر (۳): برش عرضی از چشم جنین‌های ۱۶ روزه: رنگ آمیزی H&E از چشم جنین ۱۶ روزه گروه کنترل شامل لنز L، جسم مژگانی فلش سیاه، پلک فلش سیاه خمیده، قرنیه فلش آبی بزرگنمایی $X100$ (الف) چشم جنین ۱۶ روزه گروه آزمایشی لایه‌ها شکل نگرفتند و چشم ابتدائی بصورت وزیکل بینایی با فلش نشان داده شده- بزرگنمایی $X400$ (ب)



تصویر (۳): برش عرضی از چشم جنین‌های ۱۹ روزه: رنگ آمیزی H&E از چشم جنین ۱۹ روزه گروه کنترل شامل لنز L، جسم مژگانی فلش سیاه، پلک فلش سیاه خمیده، قرنیه فلش آبی بزرگنمایی $X100$ (الف)- چشم جنین ۱۹ روزه گروه کنترل لایه رنگدانه ای شبکیه با فلش و لایه عصبی با فلش مشخص شده، بزرگنمایی $X400$ (ب)- چشم جنین ۱۹ روزه گروه آزمایشی، لایه‌های رنگدانه ای و عصبی شبکیه قابل تفکیک نیستند و شبکیه اولیه با فلش خمیده دو طرفه مشخص شده $X100$ (ج)



تصویر (۴): رنگ آمیزی ایمونوفلورسانس از چشم جنین‌های ۱۶ و ۱۹ روزه: پروتئین Rfc-1 در شبکه جنین‌های ۱۹ (الف) و ۱۶ روزه (ب) بوضوح بیان شده است بزرگنمایی X۴۰۰ (الف) - چشم جنین ۱۹ روزه گروه آزمایشی Rfc-1 بیان نشده است، بزرگنمایی X۴۰۰ (الف)

جدول (۱)

گروه مورد مطالعه	سن جنین	تعداد جنین	آنوفتالمی %	سطح معنی داری
کنترل	۱۶	۱۶	۰ (%۰)	-
آزمایشی	۱۶	۱۶	۲ (%۵/۳)	$\geq 0/05$
کنترل	۱۹	۱۹	۰ (%۰)	-
آزمایشی	۱۹	۱۹	۲ (%۵)	$\geq 0/05$

بروز نقص جنینی آنوفتالمی در گروه‌های کنترل و آزمایشی جنین‌های ۱۶ و ۱۹ روزه. اخت ف معنی دار بین دو گروه وجود ندارد (آزمون فیشر)

جدول (۲)

گروه مورد مطالعه	سن جنین	نقص بینایی (%)	کاهش RFC-1	سطح معنی داری ۱	سطح معنی داری ۱
کنترل	۱۰	۰ (%۰)	۳/۲ %	-	-
آزمایشی	۱۰	۹ (%۶۰)	۶۳/۳ %	$< 0/01$	$< 0/01$
کنترل	۱۶	۰ (%۰)	۰ %	-	-
آزمایشی	۱۶	۹ (%۶۰)	۵۲/۱ %	$< 0/05$	$< 0/01$
کنترل	۱۹	۰ (%۰)	۰ %	-	-
آزمایشی	۱۹	۵ (۳۳/۳)	۴۸/۵ %	$< 0/05$	$< 0/05$

بروز نقص جنینی بینایی و کاهش بیان پروتئین در گروه‌های کنترل و آزمایشی جنین‌های ۱۶ و ۱۹ روزه. اخت ف معنی دار بین دو گروه وجود دارد (آزمون فیشر)

بحث

در این تحقیق مطالعه بر روی بخشی از لوله عصبی به نام دیانسفال صورت گرفته که منشأ تشکیل سیستم بینایی است. با تزریق داخل صفاقی ۴۰ mg/kg در روز هشتم بارداری که بحرانی‌ترین روز برای بسته شدن لوله عصبی است، اختلالاتی در روند تشکیل چشم مشاهده شد. در ۶۰ درصد جنین‌های ۱۰ روزه فاقد جام بینایی بودند، همچنین در جنین‌های ۱۶ روزه عدم تشکیل پلک‌ها، قرنیه، جسم مژگانی، لنز و عدم تکامل و تمایز

آرسنیک به عنوان یکی از مهم‌ترین آلاینده‌های آب آشامیدنی محسوب می‌شود که از طرف سازمان بهداشت جهانی اولین مشکل سلامت بشمار می‌رود. خاصیت تراوتوژنیکی آرسنیک و ایجاد نقایص جنینی به ویژه در لوله عصبی به طور گسترده‌ای مورد مطالعه قرار گرفته لیکن مکانیسم و علل بروز آن‌ها همچنان دارای ابهام است.

عین حال ثابت شده است که این آلایندگی حتی بر سلول‌های عصبی بالغ نیز اثر سوء داشته و مانع رشد آن‌ها می‌شود (۱۳).

به نظر می‌رسد که آرسنیک در زمان شکل‌گیری ویزیکول بینایی بر سلول‌های آن که در حال تقسیم هستند اثر گذاشته و در نتیجه ویزیکول رشد طبیعی خود را نکرده است. همین‌طور تأخیر در روند تشکیل لایه‌های رنگدانه ای و عصبی شبکه مربوط به کاهش رشد سلول‌های عصبی است که Takeuchi نیز آن را گزارش کرده است (۱۴).

ورود آرسنیک از طریق جفت منجر به کاهش محسوس پروتئین سلولی، DNA، RNA، مشود. از طرفی تجمع اصلی آن در سیستم عصبی جنین بوده و مرگ سلولی نخست در سلول‌های نورواکتودرم ظاهر می‌شود که مربوط به تخریب شبکه آندوپلاسمیک، آتروفی هسته و کاهش سنتز RNA هسته‌ای است (۱۵).

در این تحقیق میزان پروتئین RFC-1 موجود در شبکه چشم کاهش یافته و به نظر می‌رسد احتمالاً ورود آرسنیک باعث تخریب در پروتئین‌های غشائی شده و متعاقباً ورود فولیت به داخل سلول دچار اختلال شده است.

تشکر و قدردانی

نتایج این مطالعه حاصل طرح تحقیقاتی مصوب معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه بوده و نویسندگان مقاله از معاونت محترم سپاسگزاری می‌نمایند.

لایه‌های شبکه مشاهده شد. لازم به ذکر است در جنین‌های فول ترم ۱۹ روزه نیز عدم رشد و تمایز لایه‌های رنگدانه ای و عصبی شبکه همچنان با در صد بالایی مشاهده شد.

مطالعات اپیدمیولوژیک و آزمایشگاهی حاکی است که روبروئی با آرسنیک به طور مزمن در دوران جنینی و بعد از تولد باعث بروز نقایص و اختلال در سیستم عصبی می‌شود. این ماده‌ی نوروتوکسیک از طریق القا آزاد کردن مواد اکسیداتیو استرس باعث تخریب و اختلال در روند رشد سیستم عصبی می‌شود. آرسنیک و بعضی از فلزات سنگین از طریق فعال کردن واکنش اکسیداتیو استرس به عنوان عامل نورودژنراتیو محسوب شده و منجر به مرگ سلول‌های عصبی می‌شوند. احتمالاً عدم تکامل لایه‌های تشکیل دهنده‌ی چشم که مشتق از اکتودرم عصبی است مربوط به این ویژگی مخرب آرسنیک باشد (۹).

تأخیر در رشد نوزادان به دنبال ورود میزان بالایی از آرسنیک در دوران بارداری و یک ماه پس از زایمان ثابت شده است. دوز بالا قادر به ورود به جنین از جفت است، درحالی‌که در صورت پایین بودن دوز، اختلال در روند رشد جنین محسوس نمی‌باشد (۱۰).

ورود آرسنیک به بدن جنین از طریق جفت منجر به تأخیر در رشد جنین‌ها و ایجاد اختلال در لوله‌ی عصبی به صورت تأخیر در بسته شدن لوله‌ی عصبی، عدم رشد لایه‌های تشکیل دهنده‌ی طناب نخاعی، مغز و مخچه، کاهش تکثیر سلولی و بروز مرگ سلولی شده است (۱۲، ۱۱). به دلیل سرعت زیاد تکثیر سلولی در جنین نقایص ایجاد شده در لوله‌ی عصبی و سیستم بینایی به صورت ماکروسکوپی و میکروسکوپی بیشتر مشهود است. در

References:

- Rodríguez VM, Jiménez-Capdeville ME, Giordano M. The effects of arsenic exposure on the nervous system. *Toxicol Lett* 2003;145(1):1-18.
- Lantz RC, Chau B, Sarihan P, Witten ML, Pivniouk VI, Chen GJ. In utero and postnatal exposure to arsenic alters pulmonary structure and function. *Toxicol Appl Pharmacol* 2009;235(1):105-13.
- Walvekar RR, Kane SV, Nadkarni MS, Bagwan IN, Chaukar DA, D'Cruz AK. Chronic arsenic poisoning: a global health issue -- a report of multiple primary cancers. *J Cutan Pathol* 2007;34(2):203-6.
- Jin Y, Xi S, Li X, Lu C, Li G, Xu Y, et al. Arsenic speciation transported through the placenta from mother mice to their newborn pups. *Environ Res* 2006;101(3):349-55.
- ZirakJavanmard, M. Sadrkhanlou, R; Hasanzadeh, S.; Effect of arsenic on neural tube in mouse embryo and relation to reduced folate carrier (RFC-1). *Iran J Veterinary Res Shiraz Univ* 2012; 13(3): 40.
- Beaudoin AR. Teratogenicity of sodium arsenate in rats. *Teratology* 1974;10(2):153-7.
- Chaîneau E, Binet S, Pol D, Chatellier G, Meininger V. Embryotoxic effects of sodium arsenite and sodium arsenate on mouse embryos in culture. *Teratology* 1990;41(1):105-12.

8. Maddox DM, Manlapat A, Roon P, Prasad P, Ganapathy V, Smith SB. Reduced-folate carrier (RFC) is expressed in placenta and yolk sac, as well as in cells of the developing forebrain, hindbrain, neural tube, craniofacial region, eye, limb buds and heart. *BMC Dev Biol* 2003;3:6.
9. Liu S, Piao F, Sun X, Bai L, Peng Y, Zhong Y, et al. Arsenic-induced inhibition of hippocampal neurogenesis and its reversibility. *Neurotoxicology* 2012;33(5):1033–9.
10. Faita F, Cori L, Bianchi F, Andreassi MG. Arsenic-induced genotoxicity and genetic susceptibility to arsenic-related pathologies. *Int J Environ Res Public Health* 2013;10(4):1527–46.
11. ZirakJavanmard M, Kaul JM, Paul S. Embryotoxicity of sodium arsenate in mouse. *Int J Med Toxicology & Legal Medicine* 2011; 13(3)
12. Zirak Javanmard M, Kaul JM, Paul S. Neurotoxic Effect Of Sodium Arsenate On The Brain Of Mice Embryo. *Int J Med Toxicology & Legal Medicine* 2011; 13(4).
13. Liu S, Piao F, Sun X, Bai L, Peng Y, Zhong Y, et al. Arsenic-induced inhibition of hippocampal neurogenesis and its reversibility. *Neurotoxicology* 2012;33(5):1033–9.
14. Takeuchi IK. Embryotoxicity of arsenic acid: light and electron microscopy of its effect on neurulation-stage rat embryo. *J Toxicol Sci* 1979; 4(4):405-16
15. Fisher DL. Cultured rat embryo accumulation of DNA, RNA, and protein following maternal administration of sodium arsenate. *Environ Res* 1982;28(1):1–9.

THE EFFECTS OF ARSENIC ON DEVELOPMENT OF EYES IN MICE EMBRYOS

Masoome Zirak Jacanmard¹, Mojtaba Karimipour^{2*}, Bagher Pourheidar³, Maryam Shahi⁴

Received: 23 Nov , 2013; Accepted: 4 Feb , 2014

Abstract

Background & Aims: arsenic is an important environmental toxicant which is usually found in drinking water. The aim of this study was to evaluate the effects of arsenic on development of visual system on mouse embryos.

Materials & Methods: In this study 30 albino mice were used in controls and experimental groups (N=15). The experimental group received 40 mg/kg intraperitoneally sodium arsenic on the 8th day of gestation. On the 10th, 16th and 19th days of the gestation the pregnant mice were sacrificed and the embryos were removed from uterus. All embryos of the groups were examined macroscopically and microscopically by H&E and immunofluorescence staining for detection of Reduced Folate Carrier 1 (RFC1).

Results: Macroscopic observations of the 16th and 19th days in the experimental group showed anophthalmia or defect in eye ball formation. Histological examination by H&E revealed that 60% of experimental embryos belonged to (E10), 60% (E16) and 33.5% (E19) showed defects in development of different layers of eye. Furthermore, the expression of retina layer RCF 1 in the experimental group decreased in compared control.

Conclusion: These results demonstrated the association between prenatal exposure to inorganic arsenic and eye defects and more likely related to a defect in RFC1.

Keywords: Arsenic, Mouse, RFC 1, Eye

Address: Anatomy Department, Faculty of Medicine, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran **Tel:** +98 441 2780803

Email: mojtaba_karimipour@yahoo.com

SOURCE: URMIA MED J 2014; 25(83): 20 ISSN: 1027-3727

¹ Anatomy Department, Faculty of Medicine, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran

² Anatomy Department, Faculty of Medicine, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran
(Corresponding Author)

³ Neurophysiolog Research Center, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran

⁴ MSc Student, Anatomy Department, Faculty of Medicine, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran