مجله دانشگاه علوم پزشکی قم
دوره ششم ـ شماره سوم ـ پاییز ۹۱
صفحه ۹ الی ۱۳

مقاله پژوهشی
(Original Article)

اثر کادمیوم بر تکوین هیپوکامپ جنین رت و نقش حفاظتی ال- کارنیتین

مینا رمضانی[۱]، حسین بهادران[۲]، سهیلا عباسی[۳]

[۱]دانشیار زیست‌شناسی تکوینی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آشتیان، آشتیان، ایران.
[۲]استادیار علوم تشریح، دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا..، تهران، ایران.
[۳]کارشناس ارشد علوم جانوری - تکوینی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: کادمیوم فلزی است سمی که استفاده‌های فراوانی در صنعت دارد. این عنصر بر روی اندام‌های مختلف بدن از جمله دستگاه عصبی اثرات سمی می‌گذارد. این مطالعه با هدف تعیین اثر کادمیوم بر وزن و تکوین هیپوکامپ جنین رت ویستار و بررسی نقش محافظتی ال- کارنیتین به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان بر بهبود اثرات سمی کادمیوم صورت گرفت.

روش بررسی: در این مطالعه از موش‌های ماده نژاد ویستار با میانگین وزنی ۲۵۰-۳۰۰g استفاده شد. ۲۴ ساعت پس از جفت‌گیری با موش‌های نر از همان نژاد، موش‌های ماده جدا شده و اسمیر واژن آنها از نظر وجود اسپرم کنترل گردید. پس از حصول اطمینان از بارداری (روز صفر جنینی)، موش‌های ماده به سه گروه تقسیم شدند: ۱- گروه کنترل که هیچ تزریقی دریافت نکردند؛ ۲- گروه آزمایش ۱ که به میزان ۱mg/kg به آنها کادمیوم داده شد؛ ۳- گروه آزمایش ۲ که به میزان ۱mg/kg کادمیوم به همراه ۵۰۰mg/kg وزن بدن ال- کارنیتین در روزهای هفتم و دهم بارداری دریافت کردند. در روز هفدهم بارداری موش‌ها به‌وسیله دوز بالای کلروفرم کشته شده و جنین‌ها طی عمل جراحی از بدن حیوان خارج شدند. جنین‌ها به مدت یک‌ماه در محلول فیکساتیو فرمالین ۱۰٪ قرار گرفتند. در ادامه، پس از اندازه‌گیری وزن جنین‌ها؛ مراحل پردازش بافتی، برش‌گیری و رنگ‌آمیزی به روش هماتوکسیلین- ائوزین انجام شد. به‌وسیله میکروسکوپ نوری و نرم‌افزار موتیک (MOTIC) برش‌های هیپوکامپ بررسی گردید.

یافته‌ها: وزن جنین‌ها در گروه‌های آزمایش کاهش معنی‌داری داشت که کاهش وزن جنین‌ها در گروه آزمایش ۲؛ یعنی کادمیوم به‌طور معنی‌داری بیشتر بود. همچنین مطالعه برش‌های هیپوکامپ، کاهش معنی‌دار تعداد سلول‌ها و ضخامت لایه‌های هیپوکامپ را تنها در این گروه نشان داد.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد کادمیوم اثرات تراتوژنی بر وزن و تکوین هیپوکامپ جنین دارد که حداقل بخشی از این اثرات ممکن است به‌وسیله ال- کارنیتین مهار شود.

کلید واژه‌ها: کادمیم؛ کارنیتین؛ هیپوکامپ؛ جنین؛ موش صحرایی.

لطفاً به این مقاله به‌صورت زیر استناد نمایید:

Ramezani M, Bahadoran H, Abasi S. The Effect of Cadmium on Hippocampus Development of Rat Embryos and L-carnitine Protective Role. Qom Univ Med Sciences Journal 2012;6(3): 9-13.

نویسنده مسئول مکاتبات: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آشتیان، آشتیان، ایران؛
آدرس پست الکترونیکی: ac.ir.ramezani@mail.aiau

تاریخ دریافت: ۸۹/۱۰/۲۰ تاریخ پذیرش: ۹۰/۱/۱۷

مقدمه

کادمیوم یکی از عناصر سمی است که در محیط اطراف ما وجود دارد و با توجه به نیمه‌عمر طولانی آن، اثرات زیانباری روی بدن انسان می‌گذارد. این عنصر از طریق شستشو توسط آب در رودخانه و دریاها جریان می‌یابد و از طریق آب وارد گیاهان می‌شود. کادمیوم در صنعت استفاده‌های فراوانی دارد که می‌توان از جمله به تولید باتری‌ها، تولید رنگ‌ها، آبکاری فلزات، صنایع نظامی، کودها، مواد ثبات‌بخش در پلاستیک‌ها (pvc) اشاره نمود. همچنین کادمیوم می‌تواند از طریق مواد مصرفی مانند غذا، آب، هوا و دخانیات وارد بدن انسان شود (۱). تجمع کادمیوم در بدن با ایجاد مسمومیت به ارگان‌هایی مانند کبد، ریه، دستگاه تناسلی مردانه آسیب می‌رساند، که عوارض آن شامل: اسهال، شکم‌درد، استفراغ شدید، آسیب به سیستم عصبی مرکزی، آسیب احتمالی DNA و سرطان می‌باشد (۲). گزارش شده است در مسمومیت‌های مزمن با کادمیوم، بیشترین سطح این فلز در هیپوکامپ تجمع یافته و در این منطقه باعث دنوروژنراسیون می‌شود (۳). کادمیوم در میتوکندری با ورود به ساختار آنزیم‌های چرخه فسفریلاسیون اکسیداتیو؛ در چرخه تولید انرژی ایجاد اختلال می‌کند، و می‌تواند در بدن جایگزین عناصر دیگری مثل کلسیم شده و باعث کاهش ورود آن به سلول شود (۴). مطالعات نشان می‌دهد کادمیوم در مراحل ابتدایی بارداری تراتوژنیک و امبریوتوکسیک بوده و در مراحل انتهایی بارداری روی جفت اثرات سمی دارد و جریان خون رحم را کاهش می‌دهد. از این‌رو در تحقیقات انجام‌شده، کادمیوم به‌عنوان یک عامل تراتوژن معرفی شده است (۵). کادمیوم با تولید آنیون‌های سوپراکسیداسیون موجب القای پراکسیداسیون لیپید (LPO) می‌شود. همچنین با مهار آنتی‌اکسیدان‌هایی مثل گلوتاتیون پراکسیداز و سوپراکسیداز دیموستاز باعث تجمع رادیکال‌های آزاد، آسیب به سلول و بیماری‌های مزمن می‌گردد (۶). در گزارشها آمده است که ال- کارنیتین ویژگی‌های یک آنتی‌اکسیدان را دارد (۷). ال- کارنیتین با فرمول شیمیایی B هیدروکسی N-Y تری متیل آمینوبوتیریک اسید (B-hydroxy - N- Trimetyl Aminobutyric Acid) نقش اساسی در بتا اکسیداسیون اسیدهای چرب با زنجیره طویل در میتوکندری و در نهایت تولید انرژی در سلول دارد (۸). ۷۵٪ ال- کارنیتین موجود در بدن از طریق غذا وارد شده و ۲۵٪ آن از اسیدهای آمینه لیزین و متیونین داخل بدن در کبد، مغز و کلیه سنتز می‌شود (۹). بنابراین، به‌نظر می‌رسد با توجه به نیاز بدن به ال- کارنیتین و خواص آنتی‌اکسیدانی آن، این ماده بتواند اثرات حفاظتی در برابر کادمیوم نشان دهد. هیپوکامپ جزئی از سیستم لیمبیک است و رابطه نزدیکی با قشر مغز دارد. محل قرارگیری آن در قسمت میانی لوب گیجگاهی بوده و نقش مهمی می‌تواند در حافظه درازمدت و جهت‌یابی داشته باشد. هیپوکامپ یکی از اولین بخش‌های مغز است که در بیماری آلزایمر دچار آسیب می‌شود (۱۰). با توجه به اینکه هیپوکامپ یک ساختار حیاتی در تشکیل حافظه است، لذا این سؤال وجود دارد که تأثیر در معرض قرارگیری با کادمیوم در دوران جنینی بر تکوین هیپوکامپ به‌عنوان اصلی‌ترین بخش یادگیری و حافظه در مغز چیست؟ و آیا ال- کارنیتین به‌عنوان یک ماده محافظ در کاهش این اثرات مؤثر است؟ این مطالعه برای پاسخ به این سؤالات صورت گرفت.

روش بررسی

در این تحقیق تجربی از کلرید کادمیوم و ال- کارنیتین ساخت شرکت سیگما (آمریکا) و موش‌های بزرگ آزمایشگاهی نژاد ویستار ۳۰۰-۲۵۰g استفاده شد. موش‌ها در قفس‌های ۲ تایی و درجه حرارت محیطی $۲۴^{\circ}c$ و دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند. در طول دوره آزمایش، آب و غذای کافی در اختیار حیوانات قرار گرفت.

موش‌ها به سه گروه تقسیم شدند که هر گروه شامل ۱۰ سر موش بود. گروه اول یا کنترل که هیچ تزریقی دریافت نکردند؛ گروه آزمایش ۱ که به میزان ۱mg/kg کادمیوم و گروه آزمایش ۲ که به میزان ۱mg/kg کادمیوم به همراه ۵۰۰mg/kg وزن بدن ال- کارنیتین در روزهای هفتم و دهم بارداری به‌صورت داخل صفاقی دریافت کردند. در این مطالعه، دوزهای (۱، ۲ و ۴mg/kg) کادمیوم بررسی شد (۵). اما از آنجا که دوزهای ۲ و ۴mg/kg موجب سقط جنین می‌شد، تنها از دوز ۱mg/kg برای بررسی استفاده شد. دوز ال- کارنیتین نیز براساس سایر مطالعات انتخاب گردید (۸). در روز هفدهم بارداری موش‌ها به‌وسیله کلروفرم کشته شده و جنین‌ها طی عمل جراحی از بدن حیوان خارج شدند و در محلول فیکساتیو فرمالین ۱۰٪ قرار گرفتند. سپس وزن جنین‌ها با استفاده از ترازوی دیجیتال اندازه‌گیری شد، و جنین‌ها در دستگاه پردازش بافتی قرارگرفته وآماده قالب‌گیری شدند.

برای قالب‌گیری، جنین‌ها از سمت قدامی خود در انتهای بلوک‌ها و داخل پارافین مذاب قرار گرفتند. سپس مراحل برش‌گیری از بلوک‌ها توسط میکروتوم (FITZ، آلمان) انجام شد و برش‌هایی به ضخامت ۵μm به‌صورت سریال تهیه گردید. این برش‌ها به روش هماتوکسیلین- ائوزین (H & E) رنگ‌آمیزی شدند. (در این روش متداول رنگ‌آمیزی بافتی، هسته سلول‌ها توسط رنگ بازی هماتوکسیلین بنفش رنگ شده و سیتوپلاسم توسط رنگ اسیدی ائوزین صورتی می‌شود).

برش‌های رنگ‌آمیزی‌شده هیپوکامپ به‌وسیله میکروسکوپ نوری و نرم‌افزار موتیک (MOTIC) بررسی شدند. این نرم‌افزار قادر به تعیین طول و مساحت تصاویر براساس بزرگنمایی مشخص‌شده می‌باشد. برای بررسی تعداد سلول‌ها از روش شمارش تصادفی (تعداد سلول‌ها در ۵ مربع ۲cm*۲cm در یک مساحت ۱۰cm*۱۰cm) در تصاویر با بزرگنمایی ۴۰۰ استفاده گردید.

تجزیه و تحلیل نتایج به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون واریانس یک‌طرفه و تست متعاقب توکی صورت گرفت.

یافته‌ها

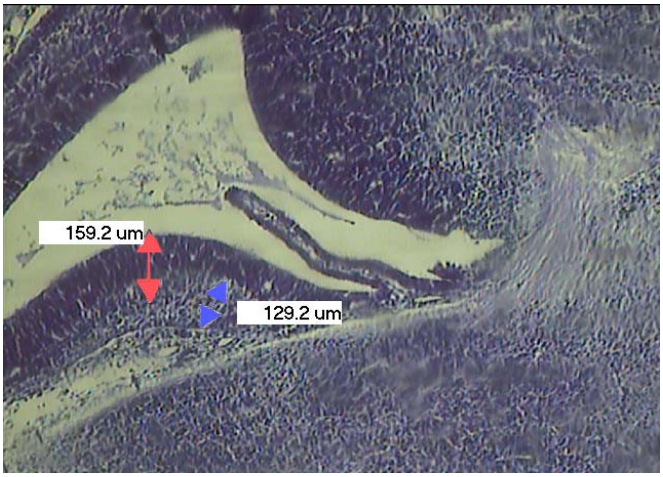
میانگین وزن موش‌ها در گروه کنترل ۰/۴۳ ± ۱۵/۳، گروه آزمایش اول ۰/۵۸ ± ۷ و گروه آزمایش دوم (کادمیوم همراه ال- کارنیتین) ۰/۴۹mg ± ۱۲/۷ برآورد شد. کاهش وزن در گروه آزمایش ۱ و ۲ نسبت به گروه کنترل معنی‌دار بود (p<۰/۰۰۱). همچنین وزن جنین‌ها در گروه آزمایش ۲ (کادمیوم+ال- کارنیتین)، به‌طور معنی‌داری (p<۰/۰۱) بیشتر از گروه آزمایش ۱ (کادمیوم) بود.

ضخامت لایه سطحی (داخلی) و عمقی (خارجی) هیپوکامپ در جنین‌های گروه کادمیوم در مقایسه با گروه کنترل به‌طور معنی‌داری کاهش یافت، اما این کاهش در گروه آزمایش ۲ معنی‌دار نبود. ضخامت لایه عمقی در جنین‌های گروه آزمایش ۲ نسبت به گروه کادمیوم به‌طور معنی‌داری بیشتر بود (شکل شماره ۳-۱). همچنین شمارش تعداد سلول‌ها در لایه سطحی و عمقی نشان داد در گروه آزمایش ۱ تعداد سلول‌ها نسبت به گروه کنترل، به‌طور معنی‌داری کاهش یافته است. تعداد سلول‌ها در هر دو لایه در گروه آزمایش ۲ نسبت به گروه آزمایش ۱، به‌طور معنی‌داری بیشتر بود (جدول).

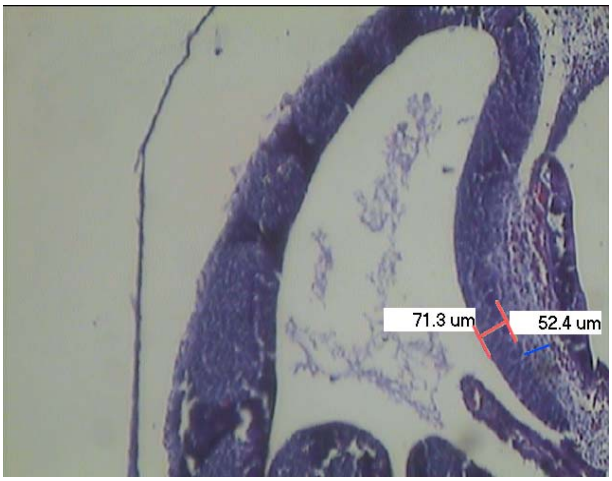
جدول: توزیع موش‌ها براساس گروه‌های مطالعه و ضخامت لایه‌ها و تعداد سلول‌های هیپوکامپ

گروه	ضخامت لایه داخلی (μ)	ضخامت لایه خارجی (μ)	تعداد سلول‌ها در لایه داخلی (μ^2)	تعداد سلول‌ها در لایه خارجی (μ^2)
کنترل	۶/۵۶ ± ۹۵/۷	۴/۵۶ ± ۱۱۴/۷	۰/۶۳ ± ۹	۰/۳۷ ± ۶/۲
آزمایش ۱ (کادمیوم)	۱/۶۸* ± ۷۹/۸۱	۱/۴*** ± ۴۸/۴۱	۰/۵۶*** ± ۶	۰/۵۹** ± ۳/۶
آزمایش ۲ (کادمیوم همراه ال- کارنیتین)	۱/۴ ± ۸۶/۷	۵/۶ +++ ± ۱۰۷/۸	۰/۴۸ + ± ۷/۵	۰/۲۱ + ± ۵/۳

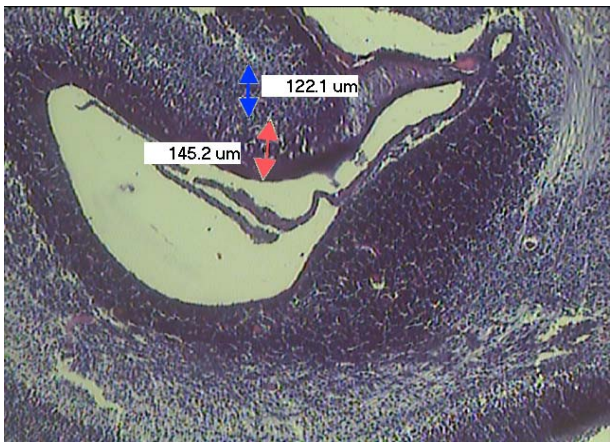
* مقایسه گروه‌های آزمایش با گروه کنترل، + مقایسه گروه‌های آزمایش با یکدیگر،
یک ستاره p<۰/۰۵، ۲ ستاره p<۰/۰۱، ۳ ستاره p<۰/۰۰۱.



شکل شماره ۱: برش عرضی لایه سطحی و عمقی هیپوکامپ در گروه آزمایش ۲ (بزرگنمایی×۱۰)



شکل شماره ۲: برش عرضی لایه سطحی و عمقی هیپوکامپ در گروه کنترل (بزرگنمایی×۱۰)



شکل شماره ۳: برش عرضی لایه سطحی و عمقی هیپوکامپ در گروه آزمایش ۱ (بزرگنمایی×۱۰)

بحث

نتایج به دست آمده نشان داد تجویز کادمیوم باعث کاهش وزن جنین و ایجاد نقص در تکوین لایه‌های داخلی و خارجی هیپوکامپ جنین موش و کاهش تعداد سلول در این لایه‌ها شده است. همچنین ال- کارنیتین تا حدی می‌تواند از اثرات منفی کادمیوم بر هیپوکامپ جلوگیری کند.

هیپوکامپ از ساختمان‌های قشری مغز محسوب می‌شود که در یادگیری، حافظه و ایجاد صرع نقش دارد (۱۰). کادمیوم به دلیل نیمه‌عمر طولانی در بدن می‌تواند اثرات جبران‌ناپذیری در مادر و جنین ایجاد کند (۱۱). تحقیقات گذشته نشان داده‌اند کادمیوم باعث ایجاد اثرات نامطلوب در تکامل لوله عصبی می‌شود (۲)، و فرزندان مادرانی که در معرض کادمیوم قرا می‌گیرند وزن کمتری نسبت به فرزندان مادران طبیعی دارند (۱۲). از علائم مسمومیت با کادمیوم کاهش شدید جریان خون جفت و رحم است که این کاهش جریان خون جفت و رحم باعث کاهش خون‌رسانی به جنین و به عبارتی دیگر، کاهش اکسیژن و مواد غذایی مورد نیاز جنین می‌شود که می‌تواند عاملی برای کاهش وزن جنین‌ها باشد. علت دیگر کاهش وزن در گروه‌های کادمیوم، ناشی از اختلال و آسیب‌های وارده به دستگاه گوارش مادر باردار از جمله ایجاد اسهال، استفراغ و حالت تهوع در اثر تماس با کادمیوم، همچنین مصرف پایین آب و غذا در موش آلوده به کادمیوم است (۱۳). در گزارشها آمده است پس از در معرض قرارگیری مادر باردار با کادمیوم، هورمون کورتیکوسترون به‌طور غیرطبیعی در بدن مادر و جنین افزایش می‌یابد (۱۴). با توجه به اینکه گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئیدی هورمون کورتیکوسترون تقریباً در همه جای مغز به‌ویژه در هیپوکامپ وجود دارد و آزمایشها نشان داده‌اند افزایش این هورمون در موش‌های باردار سبب بروز اختلال در رشد و نمو طبیعی دستگاه عصبی شده که این عقب‌ماندگی رشدی در نواحی مختلف دستگاه عصبی از جمله سیستم لیمبیک نیز مشاهده شده است (۱۵)، لذا به‌نظر می‌رسد کادمیوم اثرات خود را از طریق افزایش کورتیکوسترون اعمال می‌کند. کورتیکوسترون خود بر روی بیان ژن‌ها در سلول‌های هدف اثر گذاشته و هرگونه تغییر غیرطبیعی در سطوح این هورمون می‌تواند باعث تغییر در بیان ژن‌های درون سلولی شود (۱۶). کادمیوم بعد از جذب با ورود به خون، با یک پروتئین در وزن مولکولی کم به‌نام متالوتیونن و هموگلوبین باند شده و وارد تمام بافت‌ها می‌شود. در تحقیقات آمده است که مواجه شدن با کادمیوم می‌تواند در سیکل سلولی، تقسیم سلولی، آپوپتوز و تغییر DNA اختلال ایجاد کند. همچنین کادمیوم با ایجاد اختلال در ساختار و عملکرد کالمودولین ژن‌های مسئول تقسیم سلولی سبب مهار تقسیم سلولی (۱۷)، و باعث القای غیرطبیعی آپوپتوزیس در بافت‌ها می‌شود. مطالعات نشان داده است کادمیوم سطح P_{53} را که یک مولکول پره‌آپوپتوتیک است، افزایش می‌دهد و باعث کاهش Bcl_2 که یک مولکول آنتی‌آپوپتوتیک است، می‌شود. به عبارت دیگر، کادمیوم از طریق افزایش P_{53} و کاهش Bcl_2 آپوپتوز را القا می‌کند. دوز بالای کادمیوم نیز موجب القای نکروز در بافت‌ها می‌شود. در ضمن، افزایش استرس اکسیداتیو (کاهش گلوتاتیون، افزایش رادیکال آزاد) حاصل از مواجهه شدن با کادمیوم می‌تواند به غشا و DNA سلول‌ها آسیب رسانده و آنها را دچار مرگ سلولی کند (۱۸،۵). ال- کارنیتین به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان، اثرات کادمیوم را کاهش می‌دهد. محققین با بررسی تأثیر درمانی ترکیبی از استیل ال- کارنیتین و آلفا آمینو اسید به‌عنوان آنتی‌اکسیدان و خنثی‌کننده رادیکال آزاد بر روی موش نشان دادند بهبودی آسیب ایجادشده به‌وسیله این مواد بوده است (۱۹). همچنین در بررسی کشت روی سلول‌های انسانی مشخص گردید مکمل‌های ال- کارنیتین ممکن است به کاهش یا جلوگیری از آپوپتوز لمفوسیت‌ها کمک کنند (۲۰). در نتایج مطالعه حاضر نیز نقش بهبوددهنده تیمار با ال- کارنیتین پس از اثر تخریبی بر هیپوکامپ مشاهده گردید. همچنین تحقیق حاضر نشان داد در گروه کادمیوم تعداد سلول‌ها در لایه عمقی کم شده و کاهش ضخامت در این لایه نسبت به لایه داخلی بیشتر بوده است. همان‌طورکه مشخص است لایه سطحی حاوی نورون‌های در حال میتوز می‌باشد که این سلول‌ها تقسیم شده و به لایه خارجی مهاجرت می‌کنند. کادمیوم

باعث می‌شود سلول‌های لایه سطحی کمتر تقسیم شده و مهاجرت این سلول‌ها نیز با اختلال مواجهه شود.

نتیجه‌گیری

براساس نتایج حاصل از مطالعه حاضر، کادمیوم باعث کاهش وزن جنین‌ها و ایجاد اختلال در تکوین هیپوکامپ می‌شود، به‌طوری‌که ضخامت لایه‌های عمقی و تا حدی نیز سطحی و تعداد سلول‌ها در این لایه‌ها کاهش می‌یابد. این اثرات در جوامع صنعتی که افراد در معرض غلظت‌های بالای کادمیوم قرار دارند، حایز اهمیت است. از آنجا که تیمار توأم با ال- کارنیتین سبب بهبودی نسبی اثرات سوء ناشی از کادمیوم می‌شود، بنابراین به‌نظر می‌رسد بتوان آن را به‌عنوان یک داروی بهبوددهنده اثرات مسمومیت کادمیوم پیشنهاد نمود.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از کمک‌های مالی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آشتیان، همچنین پشتیبانی دانشگاه بقیه‌ا.. تقدیر و تشکر می‌شود.

References:

1. Mantau H, Baudo R. Sources of Cadmium, Its Distribution Turnover in the Freshwater Environment. IARC Sci Publ 1992;118:133-48.

2. Paniagua-Castro N, Escalona-Cardoso C, Mmadrigal-Bujaidar E, Martinez-Galaero E, Chamorro-Cevallos G. Protection Against Cadmium-Induced Teratogenicity in Vitro by Glycine. Toxicol In Vitro 2008;22(1):75-79.

3. Michalke B, Halbach S, Nischwitz V. JME Spotlight: Metal Speciation Related to Neurotoxicity in Humans. J Environ Monit 2009;11(5):937-8.

4. Hardman JG, Limbied LE. Goodman Gilmans, the PharmacoLogical Basis on Therapeutics. 9th ed. New York: Mc Grow Hill; 1996. p. 1650-62.

5. Thompson J, Bannigan J. Cadmium: Toxic Effects on the Reproductive System and the Embryo. Reprod Toxicol 2008;25(3):304-315.

6. Koyuturk M, Yanardag R, Blokent S, Tundi S. Influence of Combined Antioxidants Against Cadmium Induced Testicular Damage. Environ Toxicol Pharmacol 2006;21(3):235-240.

7. Acetyl-L-carnitine Monograph. Altern Med Rev 2010;15(6):76-83.

8. Dokmeci D, Inan M, Basaran U, Yalcin O, Aydogdu N, Turan FN, et al. Protective Effect of L-carnitine on Testicular Ischaemia Repercussion Injury in Rats. Cell Biochem Funct 2007;25(6):611-8.

9.Blanco A, Moyano R, Joaquin V, Flores Acuna R, Molina A, Carmen B, et al. Quantitative Changes in the Testicular Structure in Mice Exposed to Low Doses of Cadmium. Environ Toxicol Pharmacol 2007;23(1):96-101.

10. Eichenbaum H, Yone Linas AP, Ranganath C. The Medial Temporal Lobe and Recognition Memory. Annu Rew Neurosci 2007;30:132-52.

11. Warren S, Patel S, Kapron CM. The Effect of Vitamin E Exposure on Cadmium Toxicity in Mouse Embryo Cells in Vitro. Toxicology 2000;142(2):119-126.

12. Ronco AM, Urrutia M, Montenegro M, Lanos MN. Cadmium Exposure During Pregnancy Reduces Birth Weight and Increases Maternal and Foetal Glucocorticoids. Toxicol Lett 2009;188(3):186-91.

13. Baejer HP. Earth Due to Cadmium Oxides Fumes. Ind Med Surg 1969;3:363-369.

14. Odermatt A, Atanasov AG. Mineralocorticoid Receptors: Emerging Complexity and Functional Diversity. Steroids 2009;74(2):163-171.

15. Michael AE, Papageorghion AT. Potential Significance of Physiological and Pharmacological Glucocorticoids in Early Pregnancy. Hum Reprod Update 2008;14(5):497-517.

16. Van den Bergh BR, Mulder EJ, Mennes M, Glover V. Antenatal Maternal Anxiety and Stress and the Neurobehavioral Development of the Fetus and Child: Links and Possible Mechanism: A Review. NeuroSci and Biobehav Rev 2005;29(2):237-258.

17. Zhou T, Jia X, Chapin RE, Maronpot R, Harris MW, Liu J, et al. Cadmium at a Non-toxic Dose Alters Gene Expression in Mouse Testes. Toxicol Lett 2004;154(3):191-200.

18. Rigon AP, Cordova FM, Oliveira CS, Posser T, Costa AP, Silva IG, et al. Neurotoxicity of Cadmium on Immature Hippocampus and a Neuroprotective Role for p38 MAPK. Neurotoxicology 2008;29(4):727-34.

19. Jeulin C, Lewin LM. Role of Free L-carnitine and Acetyle L-carnitine in Post Gonabal Maturation of Mammalian Spermatozoa. Human Reproduction Update 1996;2(2):87-102.

20.Martelli A, Rousselet E, Dycke C, Bouron A, Moulis JM. Cadmium Toxicity in Animal Cells by Interference with Essential Metals. Biochimie 2006;88(11):1807-14.