

اثرات مقایسه‌ای عناصر منیزیم و سلنیم بر فعالیت آنزیم گاما-گلوتامیل ترانسفراز، آسپارتیک آمینو ترانسفراز و آلانین آمینو ترانسفراز در رت‌های مسموم با سرب در کوتاه و بلندمدت

سیدعلی اصغر مشتاقی^{۱*}، افسون شیرانی^۲، مسعود فولادگر^۳

تاریخ دریافت ۱۴۰۲/۰۲/۰۹ تاریخ پذیرش ۱۴۰۲/۰۴/۱۸

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: سرب یکی از فلزات سنگین و سمی است که مصارف گسترده‌ای دارد و از طریق تنفس و پوست وارد بدن انسان می‌شود. از طرف دیگر، منیزیم و سلنیم با اثرات آنتی‌اکسیدانی خود می‌توانند نقش محافظتی در برابر سمیت با سرب داشته باشند. در این مطالعه به بررسی نقش محافظتی عناصر منیزیم و سلنیم بر فعالیت آنزیم گاما-گلوتامیل ترانسفراز، آسپارتیک آمینو ترانسفراز و آلانین آمینو ترانسفراز در رت‌های مسموم با سرب در کوتاه و بلندمدت پرداختیم. **مواد و روش‌ها:** در این مطالعه تجربی، ۶۰ سر را در ۱۲ گروه پنج عددی تقسیم شدند. ابتدا سرب با غلظت‌های 280mg/kg و 80mg/kg و در بازه زمانی ۱۵ و ۴۵ روز به رت‌ها تزریق گردید. و در گروه‌های مطالعه، نمک سلنیم+سرب و منیزیم+سرب تزریق شد. میزان فعالیت آنزیم‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه و تست دانکن (One way ANOVA, Duncan Test) و توسط نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ بررسی و با سطوح معنی‌دار $P<0.05$, $P<0.01$, $P<0.001$ ارزیابی گردیدند.

یافته‌ها: در هر دو بازه زمانی، تزریق هم‌زمان سرب و سلنیم افزایش معنادار در فعالیت آنزیم ALT نسبت به گروه شاهد مشاهده شد (P به ترتیب متر از ۰/۰۱ و ۰/۰۵)، ولی در مورد آنزیم‌های AST و GGT تغییرات معناداری مشاهده نشدند ($P>0.05$). در گروه‌های دریافت‌کننده هم‌زمان سرب و منیزیم، تغییرات معنادار فعالیت آنزیم‌های ALT و AST نسبت به شاهد مشاهده نشد ($P>0.05$). در کوتاه‌مدت فعالیت آنزیم GGT کاهش معنادار نسبت به شاهد مشاهده شد ($p<0.05$). در بلندمدت در گروه دریافت‌کننده سرب و منیزیم، کاهش فعالیت AST به‌تنهایی مشاهده شد ($p<0.001$). در همین بازه، در گروه دریافت‌کننده سلنیم، کاهش فعالیت GGT به‌تنهایی مشاهده شد ($P<0.05$).

بحث و نتیجه‌گیری: طبق نتایج به‌دست‌آمده، انتظار می‌رود که منیزیم توانایی حفاظت از کبد را در برابر مسمومیت با سرب داشته باشد، باین‌حال، در مورد دریافت‌کنندگان سلنیم همراه با سرب، اثرات تشدید مسمومیت مشاهده گردید.

کلیدواژه‌ها: سرب، آنزیم‌های کبدی، منیزیم، را، سلنیم

مجله مطالعات علوم پزشکی، دوره سی و چهارم، شماره چهارم، ص ۲۱۴-۲۰۶، تیر ۱۴۰۲

آدرس مکاتبه: گروه زیست‌شناسی، واحد فلاورجان، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، تلفن: ۰۹۹۱۰۲۰۵۶۸۱

Email: alimoshtaghie@gamil.com

مقدمه

آنزیمی سلول‌ها است که باعث اختلالات بیوشیمیایی می‌شود. از جمله می‌توان به آنزیم‌های آسپارات آمینو ترانسفراز (AST) آلانین ترانسفراز (ALT) و آلکالین فسفاتاز (ALP) اشاره کرد (۱-۳). سرب یکی از فراگیرترین فلزات است که سمیت آن ثابت شده است، می‌توان بیان کرد که سرب می‌تواند باعث آسیب کبدی شود (۲). سرب پس از جذب سلولی می‌تواند از طریق دستگاه گوارش و سیستم تنفسی وارد خون شود و ۹۹ درصد آن به پروتئین‌های

سرب یکی از فلزات غیر فیزیولوژیک، نرم، سبز-آبی با عدد اتمی ۸۲ و جرم اتمی ۲۰۷/۲ است که به‌وفور در طبیعت پراکنده شده است (۱). سربیک نورو توکسین است که در بافت‌ها و بعضی استخوان‌ها تجمع پیدا می‌کند، سیستم عصبی را تحت تأثیر قرار می‌دهد و عملکرد آنزیم‌های مربوطه را مختل و منجر به مشکلات عصبی می‌شود (۱-۲). سمیت سرب به دلیل اثر آن بر سیستم

^۱ گروه زیست‌شناسی، واحد فلاورجان، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران (نویسنده مسئول)

^۲ گروه زیست‌شناسی، واحد فلاورجان، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران

^۳ گروه زیست‌شناسی، واحد فلاورجان، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران

حدود ۳۰۰ آنزیم ضروری است. منیزیم برای قلب، عضله و کلیه مهم و مفید است. منیزیم به‌عنوان کوفاکتور برای فعالیت تعداد زیادی از آنزیم‌ها ضروری است در بهبود سکت قلبی و تنظیم عملکرد قلبی عروقی نقش دارد (۹). ضرورت وجود میزان مناسب از عناصر ضروری مثل منیزیم از طریق غذا و مکمل‌های خوراکی کاملاً مورد تأکید است (۱۰). منیزیم یک عنصر مهم است که به‌عنوان کوفاکتور برخی آنزیم‌ها به‌ویژه آنزیم‌های دخیل در چرخه کربس به شمار می‌آید. منیزیم در فرآیندهای بسیاری مانند متابولیسم سلولی، ذخیره انرژی، فعال شدن پمپ‌های غشایی نقش دارد (۱۱-۱). جگر یا کبد بزرگترین غده بدن است که در متابولیسم بدن مانند گوارش نقش دارد. خون دستگاه گوارش توسط ورید پورت جمع‌آوری شده و وارد کبد می‌شود و تمام موادی که در لوله گوارش جذب شده از کبد عبور می‌کنند. از دیگر فعالیت‌های کبد به تصفیه سموم و تبدیل کردن آن‌ها به مواد بی‌ضرر می‌باشد، همچنین متابولیسم داروها در بدن بر عهده کبد می‌باشد. آسپارات آمینو ترانسفراز (AST) یک آنزیم موجود در سیتوپلاسم می‌باشد به‌طور طبیعی در بافت‌های مختلف مثل: قلب، کبد، ماهیچه اسکلتی، کلیه‌ها، مغز و به میزان کمتری در گلبول‌های قرمز یافت می‌شود، آلانین آمینوترانسفراز (ALT) هم یک آنزیم سیتوپلاسمی است و به‌طور فراوان در کبد وجود دارد. البته نمی‌توان گفت که این آنزیم به‌طور اختصاصی در کبد قرار دارد، اما کبد جایی است که بیشترین میزان فعالیت این آنزیم در آن رخ می‌دهد. بنابراین از این آنزیم می‌توان به‌عنوان شناساگر ویژه عملکرد کبدی استفاده نمود. گاماگلوتامیل ترانسفراز (GGT) یک پپتیداز است و پپتیدها رابه اسیدهای آمینه یا مولکول‌های کوچکتر هیدرولیز می‌نماید، این آنزیم در گذشته به نام ترانس پپتیداز شناخته شده بوده است لیکن امروزه به نام گاماگلوتامیل ترانسفراز معروف است در غشا سلولی قرار دارد و در بیماری‌های کبد، کیسه صفرا و پانکراس از این بافت‌ها آزاد می‌شود مقادیر زیادی از آنزیم گاماگلوتامیل ترانسفراز در پروستات وجود دارد و فعالیت آن در مردان ۵۰ برابر بیشتر از زنان است، همچنین این آنزیم به‌عنوان یک تست حساس در اعتیاد به الکل مخفی به کار میرود. افزایش این آنزیم در افرادی که در طولانی‌مدت فنوباربیتال و فنی توئین مصرف می‌کنند دیده می‌شود. در حیوانات آزمایشگاهی می‌تواند به درمان سرطان ریه کمک فراوانی بکند و ممکن است در آینده یکی از راه‌های مؤثر برای توقف و درمان سرطان ریه باشد. در این تحقیق اثرات محافظتی مقادیر سلنیم و منیزیم بر فعالیت آنزیم‌های کبدی در برابر مسمومیت با سرب بوده است تا بتواند اطلاعات مهمی در ارتباط با درمان مسمومیت ناشی از سرب با این ترکیبات را ارائه دهد و زمینه‌های افزایش حفاظت در برابر این فلز فراهم گردد.

موجود در گلبول‌های قرمز متصل می‌شود و سپس میان اندام‌ها توزیع می‌شود. محل اصلی تجمع سرب در استخوان‌ها است که به همراه کلسیم در ماتریکس معدنی رسوب می‌کند. از دیگر اندام‌های پذیرنده سرب می‌توان به کلیه، سیستم عصبی، کبد اشاره کرد (۳). سرب جذب‌شده ابتدا توسط کبد کونژوگه شده و سپس به کلیه منتقل می‌شود و مقداری سرب در ادرار ترشح می‌شود، راه اصلی دفع سرب از بدن ادرار است. سرب باقی‌مانده در بدن بر ارگان‌های مختلف تأثیرات برگشت‌ناپذیری گذاشته که از تأثیرات آن می‌توان دخالت در فعالیت‌های فیزیولوژیک در سطح مولکولی، سلولی و درون‌سلولی را نام برد که نتایج حاصل از این تغییرات مورفولوژیک می‌تواند حتی بعد از کاهش سطح سرب باقی‌مانده (۴) سلنیم یک عنصر کمیاب و ماده مغذی ضروری برای انسان‌هاست، سلنیم لازم را می‌توان به‌طور طبیعی در اکثر غذاها و یا به‌صورت افزودنی و مکمل‌های خوراکی استفاده کرد. سلنیم به‌عنوان آنتی‌اکسیدان عمل می‌کند و روند پیری ناشی از رادیکال‌های آزاد را کند می‌نماید.^{۵-۱} آنتی‌اکسیدان‌ها می‌توانند از آسیب سلول‌ها در برابر رادیکال‌های آزاد محافظت کنند. رادیکال‌های آزاد و تنش‌های اکسیداتیو در حقیقت عامل اصلی سرطان‌ها و بیماری‌های قلبی می‌باشند، سلنیم به تولید آنزیم دیگری به نام گلوکوتیون پراکسیداز کمک می‌کند. این آنزیم در دفع مواد زائد از فلزات سمی تا مواد شیمیایی نقش دارد. در خون، سلنیم توسط اریتروسیت‌ها گرفته می‌شود اما سلنیم در پلاسما به پروتئین حاوی سولفیدریل متصل می‌شود. در مواد غذایی سلنیم به اشکال مختلف وجود دارد مانند: سلنومیتوین، سلنوامینواسید، سلنوتیوسولفیدوسلنیم ترکیب با جیوه. میزان سلنیم در رژیم غذایی مستقیماً بستگی به میزان پروتئین موجود در ماده غذایی دارد. با توجه به ویژگی آنتی‌اکسیدانی سلنیم می‌توان آن را به‌عنوان یک عامل ضدالتهاب معرفی کرد. این عنصر می‌تواند سطح آنتی‌اکسیدان‌ها و دوپامین بدن را تنظیم کند (۵-۶) آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی وابسته به سلنیم نیز وجود دارند که آسیب‌های ناشی از ترکیبات فعال را کاهش می‌دهند. رادیکال‌های آزاد با از بین بردن سلول‌های سالم موجب پیری می‌شوند و کمبود آنتی‌اکسیدان‌های مربوطه در مقابل رادیکال‌های آزاد موجب افزایش روند پیری می‌شوند (۶). محل کار مهم‌ترین عامل مؤثر در افزایش و کاهش سرب خون و متعاقب آن تغییر فاکتورهای خونی هست (۷). سرب در محیط زیست بسیار ماندگار است و تقریباً هیچ عملکردی در بدن انسان وجود ندارد که تحت تأثیر سمیت سرب قرار نگیرد (۸).

منیزیم به حالت آزاد در طبیعت وجود ندارد؛ می‌توان آن را به‌صورت ترکیب با عناصر دیگری در طبیعت یافت؛ شکل آزاد و فلزی این عنصر به‌صورت مصنوعی قابل تهیه است. منیزیم یازدهمین عنصر فراوان در بدن انسان است و حضور آن برای همه سلول‌ها و

مواد و روش کار

این تحقیق تجربی دارای تأییدیه کمیته اخلاق با شناسه IR.IAU.NAJAFABAD.REC. 1401.153 می‌باشد. در این پروژه از رت‌های بالغ با وزن متوسط ۲۱۷ گرم استفاده گردید. این حیوانات از لانه حیوانات دانشگاه اصفهان سفارش داده شد و به لانه حیوانات دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان منتقل گردید. حیوانات با دسترسی به آب و غذا مطابق بارانهای انستیتوی ملی سلامت نگهداری شدند. در هر قفس ۵ عدد را قرار گرفت و همچنین پوشال آن‌ها (خاک اره) یک روز در میان تعویض شد و میزان آب و غذای دریافتی حیوانات، روزانه مورد بررسی قرار گرفت. هر ۱۰ روز یک بار قفس رت‌ها با ساوین ۱۰ درصد و الکل ۷۰ درصد ضد عفونی شد. قبل از انجام آزمایش رت‌ها وزن و گروه بندی شدند. حدود یک هفته رت‌ها با آنتی‌بیوتیک آموکسی سیلین قرنطینه شدند و بعد از یک هفته، مراحل عملی کار شروع شد. در این مطالعه ۶۰ سر را در ۱۲ گروه پنج تایی تقسیم شدند. غلظت مورد استفاده سرب کلرید عبارت از 280mg/kg در دوره کوتاه‌مدت و 80mg/kg دوره بلندمدت، غلظت منیزیم کلرید عبارت از 37mg/kg در دوره کوتاه‌مدت و 5mg/kg در دوره بلندمدت، غلظت سلنیم سولنیت عبارت از 25mg/kg هم برای دوره کوتاه‌مدت و هم دوره بلندمدت بوده است. محلول‌های فوق از نمک‌های نام برده در سرم فیزیولوژی قابل تزریق تهیه و به‌صورت روزانه توسط سرنگ انسولین به مقدار ۰/۵ میلی لیتر از محلول به‌صورت داخل صفاقی به مدت ۱۵ و ۴۵ روز تزریق گردید. تزریق درون صفاقی، معمول‌ترین و مهم‌ترین روش تجویز داروها در جوندگان می‌باشد، چرا که محوطه‌ی صفاقی علاوه بر وسعت زیاد خود دارای رگ‌های فراوانی می‌باشد و لذا محلول‌هایی که در حجم‌های نسبتاً بالایی تزریق می‌شوند. در مدت کوتاهی بعد از تزریق وارد گردش خون عمومی می‌شوند. بایستی سر سوزن طوری تنظیم شود که نه به‌صورت افقی و نه به‌صورت کاملاً عمودی وارد شود چرا که در این صورت خطر آسیب به کلیه وجود دارد و لذا ورود سر سوزن باید مایل و با زاویه‌ای در حدود ۱۰ درجه صورت پذیرد و علاوه بر این باید عمل تزریق در ۱/۴ پایینی شکم و کمی دورتر از خط وسط انجام گیرد تا از ورود سر سوزن به داخل مثانه خودداری شود.

پس از طی شدن بازه زمانی ۱۵ روز عمل خون‌گیری در ۶ گروه مورد مطالعه در بازه کوتاه‌مدت و پس از گذشت ۴۵ روز از ۶ گروه مورد مطالعه در بازه بلندمدت خون‌گیری انجام شد. عمل خون‌گیری ۲۴ ساعت پس از آخرین تزریق به‌صورت مستقیم از قلب توسط سرنگ انجام می‌شود. قبل از خون‌گیری رت‌ها توسط ترازو وزن شده و در نهایت خون‌گیری از رت‌های بی‌هوش شده توسط کتامین و

زایلزین انجام می‌شود (طبق مطالعات متابولیسمی و آزمایشگاهی نوعی از ماده بی‌هوشی را استفاده می‌کنیم که حداقل تداخل را با آنزیم‌های کبدی از جمله سیتوکروم P450 داشته باشد. عمومی‌ترین ماده‌ی بی‌هوشی دهنده رت‌ها در متد پرفیوژن کبدی پنتوباریتال با دوز 50 mg/kg داخل صفاقی (IP) است ولی با این حال از کتامین (5mg/12) و دیازپام (0/5mg) نیز در حجم ml350 استفاده می‌شود). برای جداسازی سرم خون رت‌ها ابتدا لوله‌ها به دستگاه سانتریفیوژ منتقل شده و با دور 4000 rpm به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. بعد از پایان سانتریفیوژ بلافاصله سرم جدا می‌شود و در میکروتیوب‌ها ریخته می‌شود و تا زمان انجام آزمایش‌ها در دمای ۲۰- قرار گرفتند. برای تعیین پارامترهای مورد بررسی نمونه‌های سرم به آزمایشگاه منتقل شد و تست‌های مربوط به عملکرد کبد AST,ALT,GGT توسط دستگاه اتوآنالایزر (Alpha- classic AT plus) و کیت شرکت پارس آزمون اندازه‌گیری شد. در این پژوهش متناسب با سطح سنجش داده‌ها و فرضیات آزمون‌های آماری از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و تست دانکن (One way ANOVA, Duncan Test) استفاده شده است و سطح خطای مجاز ۰/۰۵ در نظر گرفته شد و در این بررسی‌ها از نرم‌افزار SPSS20, version22 استفاده گردید.

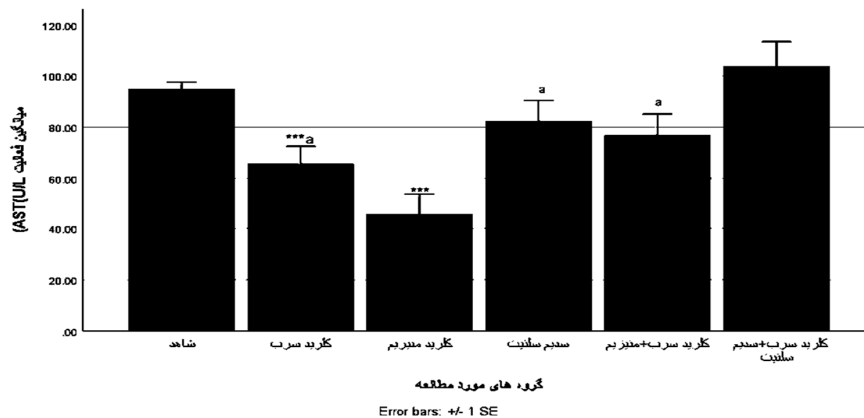
یافته‌ها

بررسی اختلاف در گروه‌های مورد آزمایش میانگین فعالیت آنزیم AST در دو دوره کوتاه و بلندمدت از آزمون آماری آنالیز یک‌طرفه استفاده گردید. نتایج حاصل در قالب نمودار میله‌ای در شکل ۱ قابل مشاهده است. تأثیر تیمارهای مختلف بر سطح AST سرم را طی ۱۵ روز تزریق دوزهای مختلف عناصر به‌تنهایی یا ترکیبی تغییر در فعالیت این آنزیم ایجاد نکرد. مطابق شکل ۱ تأثیر تیمارهای مختلف بر سطح SGOT سرم را طی ۴۵ روز را نشان می‌دهد فعالیت AST در دو گروه دریافت‌کننده سرب کلرید و منیزیم کلرید (باهم تفاوت معنی‌دار نداشتند) به‌طور معنی‌دار کاهش یافت (p<0,001) کاهش فعالیت در گروه دریافت‌کننده کلرید منیزیم شدیدتر و نسبت به سایر گروه‌ها رخ داد و در گروه دریافت‌کننده سرب کلرید فقط نسبت به کنترل و گروه دریافت‌کننده سرب کلرید +سدیم سلنیت مشاهده گردید. جهت بررسی اختلاف در گروه‌های مورد آزمایش میانگین فعالیت آنزیم ALT در دو دوره کوتاه و بلندمدت از آزمون آماری آنالیز یک‌طرفه استفاده گردید. نتایج حاصل در قالب نمودار میله‌ای در شکل ۲ و ۳ قابل مشاهده است. شکل ۲ در بازه ۱۵ روزه در مورد آنزیم ALT را نشان می‌دهد افزایش معنی‌دار (p<0.05) فقط در گروه دریافت‌کننده سرب کلرید +سدیم سلنیت نسبت به سایر گروه‌ها

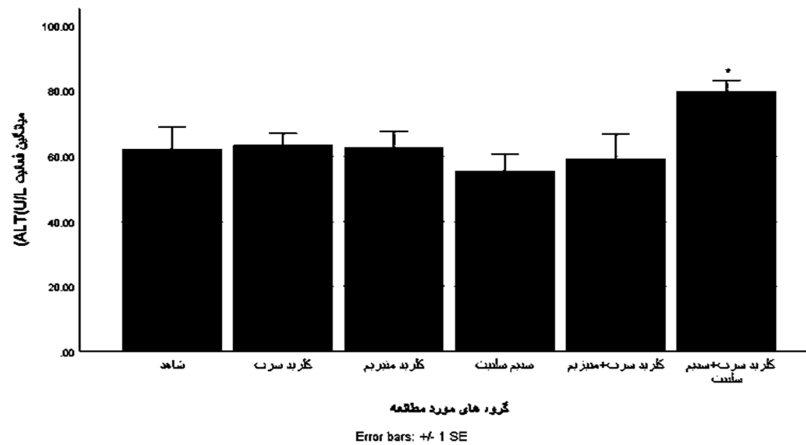
مشاهده گردید و میان سایر تیمارها هیچ اختلاف معناداری مشاهده نشد. طبق شکل ۳ در بازه ۴۵ روزه در مورد ALT افزایش معنی‌دار (p<0/01) فقط در گروه دریافت‌کننده سرب کلرید +سدیم سلنیت نسبت به سایر گروه‌ها مشاهده شد که احتمالاً نشان‌دهنده اثرات سینرژیسم این دو عنصر بر فعالیت آنزیم است. میان سایر تیمارها اختلاف معناداری مشاهده نگردید. جهت بررسی وجود یا عدم وجود اختلاف در گروه‌های موردبررسی در ارتباط با میانگین فعالیت آنزیم GGT در دو دوره کوتاه (۱۵ روزه) و بلندمدت (۴۵ روزه) از آزمون آماری آنالیز یک‌طرفه استفاده گردید. نتایج حاصل در قالب نمودار میله‌ای در شکل ۴ و ۵ قابل مشاهده می‌باشد. شکل ۴ تأثیر تیمارهای مختلف بر سطح GGT سرم را طی ۱۵ روز را نشان می‌دهد. ستون

مشاهده گردید و میان سایر تیمارها هیچ اختلاف معناداری مشاهده نشد.

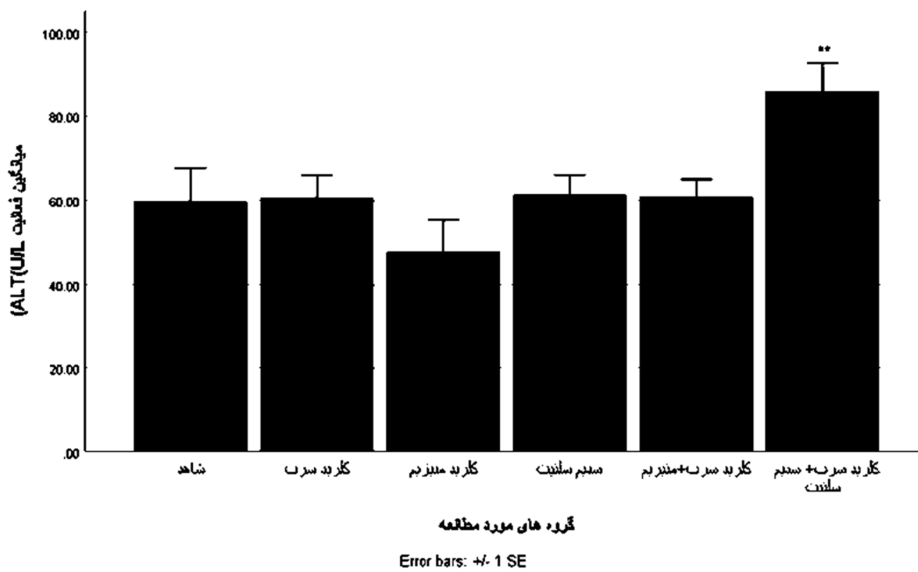
مشاهده گردید و میان سایر تیمارها هیچ اختلاف معناداری مشاهده نشد. طبق شکل ۳ در بازه ۴۵ روزه در مورد ALT افزایش معنی‌دار (p<0/01) فقط در گروه دریافت‌کننده سرب کلرید +سدیم سلنیت نسبت به سایر گروه‌ها مشاهده شد که احتمالاً نشان‌دهنده اثرات سینرژیسم این دو عنصر بر فعالیت آنزیم است. میان سایر تیمارها اختلاف معناداری مشاهده نگردید. جهت بررسی وجود یا عدم وجود اختلاف در گروه‌های موردبررسی در ارتباط با میانگین فعالیت آنزیم GGT در دو دوره کوتاه (۱۵ روزه) و بلندمدت (۴۵ روزه) از آزمون آماری آنالیز یک‌طرفه استفاده گردید. نتایج حاصل در قالب نمودار میله‌ای در شکل ۴ و ۵ قابل مشاهده می‌باشد. شکل ۴ تأثیر تیمارهای مختلف بر سطح GGT سرم را طی ۱۵ روز را نشان می‌دهد. ستون



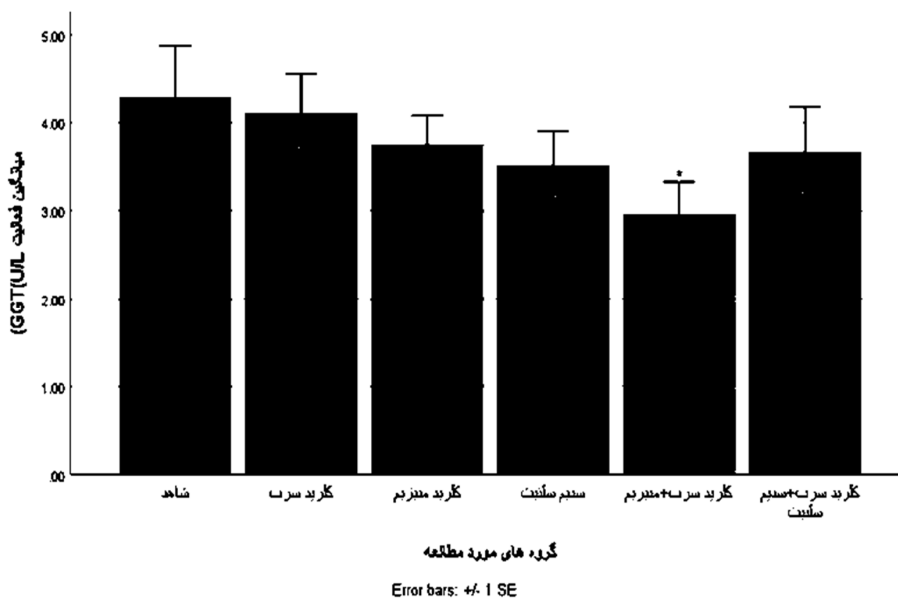
شکل (۱): مقایسه فعالیت آنزیم آسپارات آمینوترانسفراز در بین گروه‌های مختلف دوره بلندمدت (IU/L) ***کاهش معنی‌دار $p < 0.001$ در گروه دریافت‌کننده کلرید سرب و کلرید منیزیم نسبت به سایر گروه‌ها a بین این سه گروه تفاوت معنی‌دار نیست



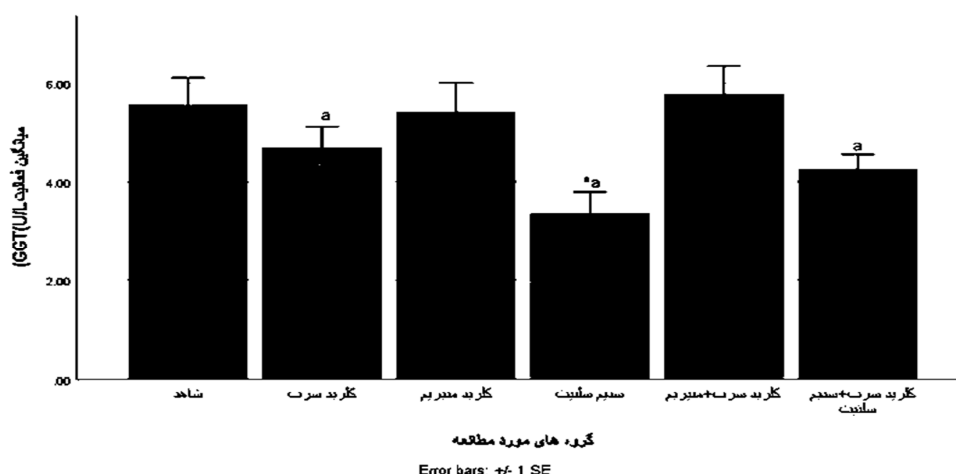
شکل (۲): مقایسه فعالیت آنزیم آلانین آمینوترانسفراز در بین گروه‌های مختلف دوره کوتاه مدت (IU/L) *افزایش معنی‌دار $p < 0.05$ در گروه دریافت‌کننده کلرید سرب +سدیم سلنیت نسبت به سایر گروه‌ها



شکل (۳): مقایسه فعالیت آنزیم آلانین آمینوترانسفراز در بین گروه‌های مختلف دوره بلندمدت (IU/L) ××افزایش معنی‌دار $p < 0.01$ در گروه دریافت‌کننده کلرید سرب+سدیم سلنیت نسبت به سایر گروه‌ها



شکل (۴): مقایسه فعالیت آنزیم گاماگلوتامیل ترانسفراز بین گروه‌های مختلف دوره کوتاه‌مدت (IU/L) ×کاهش معنی‌دار $p < 0.05$ در گروه دریافت‌کننده کلرید سرب+منیزیم فقط نسبت به کنترل بر اساس تست LSD



شکل (۵): مقایسه فعالیت آنزیم گاماگلوتامیل ترانسفراز بین گروه‌های مختلف دوره بلندمدت (IU/L)
 × کاهش معنی‌دار $p < 0.05$ در گروه دریافت‌کننده سدیم سلنیت نسبت به سایر گروه‌ها
 a بین این سه گروه تفاوت معنی‌دار نیست

ویتامین میزان فعالیت آنزیم‌های مذکور کاهش می‌یابد از طرفی منیزیم کلرید باعث در دسترس قرار گرفتن ویتامین B6 برای سلول‌های زیستی می‌شود از آنجایی که در تغذیه رت‌ها منبعی برای رساندن ویتامین B6 به آن‌ها وجود نداشته است، این احتمال وجود دارد که کاهش فعالیت AST در حضور منیزیم به دلیل کاهش B6 در آنزیم‌های کبدی باشد.

آنزیم GGT در بازه زمانی کوتاه‌مدت (۱۵ روز) گروه دریافت‌کننده هم‌زمان سرب کلرید و منیزیم کلرید در مقایسه با گروه شاهد کاهش معناداری مشاهده گردید که احتمالاً به نظر می‌رسد کلرید سرب و منیزیم کلرید بر فعالیت GGT دارای اثرات سینرژیسم کاهنده است. در بازه‌ی زمانی بلندمدت (۴۵ روز) گروه دریافت‌کننده سرب کلرید در مقایسه با گروه شاهد کاهش معناداری مشاهده شد که دلیل آن احتمالاً کم‌کاری تیروئید ناشی از کاهش هورمون تحریک‌کننده تیروئید و افزایش تیروکسین تحت تأثیر سرب می‌باشد (۱۳). گروه دریافت‌کننده سدیم سلنیت نسبت به گروه شاهد کاهش معناداری مشاهده گردید که ناشی از خاصیت آنتی‌اکسیدانی این عنصر می‌باشد (۱۴) و طبق نتایج این مطالعه آنزیم AST در دوره ۱۵ روزه با تزریق نمک‌های مذکور به‌تنهایی یا به‌صورت ترکیبی تغییری در فعالیت این آنزیم مشاهده نگردید لیکن در دوره ۴۵ روزه با تزریق منیزیم کلرید و سرب کلرید کاهش فعالیت AST مشاهده گردید کاهش فعالیت در گروه دریافت‌کننده منیزیم کلرید شدیدتر و نسبت به سایر گروه‌ها رخ داد که می‌تواند ناشی از تأثیرات این عنصر بر ویتامین B6 باشد و در گروه دریافت‌کننده کلرید سرب فقط نسبت به کنترل و گروه دریافت‌کننده کلرید

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که تزریق هم‌زمان سرب و سدیم سلنیت منجر به اختلال متابولیسمی در کبدت به‌وسیله اختلال پارامترهای بیوشیمیایی و استرس اکسیداتیو می‌شود با توجه به تغییرات آنزیمی به‌صورت افزایش ALT در دوره‌ی کوتاه‌مدت (۱۵ روز) و بلندمدت (۴۵ روز) می‌گردد، که احتمالاً نشان‌دهنده اثرات سینرژیسم سرب کلرید و سلنیم بر فعالیت ALT می‌باشد. بنابراین اثر محافظتی سدیم سلنیت در برابر سرب کلرید رد می‌شود. با توجه به افزایش نامحسوس فعالیت ALT هنگام تزریق سرب کلرید انتظار می‌رود که علت این امر ناکافی بودن دوز تزریقی یا کم بودن بازه زمانی تزریق باشد. با تزریق منیزیم کلرید به‌تنهایی در بازه کوتاه‌مدت (۱۵ روز) تغییرات معناداری در فعالیت ALT در مقایسه با گروه شاهد مشاهده نشد.

آنزیم AST در دوره کوتاه‌مدت (۱۵ روز) تغییرات معناداری نسبت به گروه شاهد مشاهده نگردید لیکن در دوره بلندمدت (۴۵ روز) گروه دریافت‌کننده سرب کلرید نسبت به گروه شاهد کاهش معناداری مشاهده گردید که کاهش میزان AST در این بازه زمانی به دلیل تأثیر سرب کلرید بر کلیه‌های را و ایجاد بیماری حاد کلیوی حاصل شده است. در گروه دریافت‌کننده منیزیم کلرید در دوره بلندمدت (۴۵ روز) کاهش معناداری نسبت به گروه شاهد و باقی تیمارها مشاهده شد آنزیم‌های AST و ALT برای انجام فعالیت خود به ویتامین B6 احتیاج دارند زیرا این ویتامین به‌عنوان کوآنزیم، عمل انتقال عامل آمین (ترانس آمیناز) از یک اسید آمینه بر روی یک اسید آلفاستونیک را بر عهده دارد (۱۲). در صورت کمبود این

سرب+سلنیت مشاهده شد که می‌توان نتیجه گرفت که سرب و سلنیم اثرات سینرژیک افزایشی بر روی فعالیت آنزیم دارند. آنزیم ALT در دوره ۱۵ روزه با تزریق سرب کلرید همراه با سدیم سلنیت افزایش فعالیت این آنزیم مشاهده گردید که ناشی از تأثیرات سینرژیک افزایشی این دو عنصر بر فعالیت این آنزیم است، همچنین در دوره ۴۵ روزه با تزریق منیزیم کلرید کاهش فعالیت این آنزیم مشاهده گردید و با تزریق سرب کلرید همراه با سدیم سلنیت افزایش فعالیت ALT مشاهده گردید. آنزیم GGT در دوره ۱۵ روزه با تزریق سرب کلرید همراه با منیزیم کلرید کاهش فعالیت این آنزیم نسبت به گروه دریافت‌کننده سرب کلرید مشاهده گردید که می‌تواند ناشی از تأثیرات سینرژیک کاهش‌دهنده این دو عنصر یا اثرات محافظتی منیزیم در برابر سرب باشد همچنین در دوره ۴۵ روزه با تزریق سدیم سلنیت کاهش فعالیت این آنزیم مشاهده گردید که می‌تواند ناشی از خاصیت آنتی‌اکسیدانی این عنصر باشد. با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه تجربی می‌توان نتیجه گرفت که عناصر منیزیم و سلنیم در حضور سرب، تنها منیزیم خاصیت محافظتی از خود نشان داد و سلنیم موجب تشدید مسمومیت گردید لذا از جمله مشکلات و محدودیت‌های طرح در حین اجرا می‌توان به دسترسی دشوار ترکیبات شیمیایی به‌خصوص سلنیم اشاره کرد همچنین دقت و محاسبات دقیق در ساخت غلظت محلول‌ها زیرا ساخت محلول با غلظت بالا موجب از بین رفتن رت‌ها و محلول‌هایی با غلظت کم عدم مشاهده‌ی نتیجه را در بر دارد. پیشنهاد می‌شود برای بررسی دقیق‌تر مطالعاتی در دوزهای بالاتر سرب انجام پذیرد.

شکرزاده و همکاران (اسفند ۱۳۹۱) در مطالعه‌ای به بررسی نقش محافظتی سلنیم در جلوگیری از آسیب بافتی ناشی از دیازینون در موش‌های صحرایی پرداخته و نشان دادند که دیازینون توانایی ایجاد آسیب در بافت کبد را داراست هرچند در بافت کلیه آسیب کمتری ایجاد کرد و نشان داده شد که سلنیوم در دوز ۰/۵MG/KG قادر به کاهش این آسیب بود ولی زمانی که دوز آن افزایش می‌یافت خود به‌عنوان یک عامل آسیب‌زا عمل کرده و منجر به نکروز و فیبروز می‌شود (۱۵).

مشتاقی و همکاران (بهار ۱۳۹۴) در مطالعه‌ای به بررسی اثرات مقایسه‌ای سرب و روی بر غلظت سرمی پارامترهای مرتبط با عملکرد کبد در رت‌ها پرداختند و نشان دادند که تغییرات ایجادشده توسط سرب بر فعالیت آنزیم‌های اندازه‌گیری شده به مدت‌زمان تأثیر بستگی دارد. این تغییرات بیانگر آسیب سلول کبدی یا اختلالات ایجادشده در متابولیسم بافت کبد می‌باشد. از سوی دیگر افزایش دوز تزریقی روی اثرات توکسیسیته در سنتز برخی از این آنزیم‌ها از جمله LDH (۵۳/۳ درصد) از خود نشان داد (۱۶).

مختاری و همکاران (تابستان ۱۳۸۶) در مطالعه‌ای به بررسی تأثیر خوراکی سرب بر غلظت هورمون‌های تیروئیدی و آنزیم‌های کبدی در موش صحرایی پرداختند و نشان دادند بررسی‌های آماری نشان داد غلظت هورمون T4 و آنزیم‌های ALT و AST به دنبال دریافت مقادیر مختلف اسات سرب نسبت به گروه کنترل اختلاف معنی‌داری نشان نمی‌دهند درحالی‌که غلظت هورمون T4 افزایش معنی‌دار و غلظت هورمون TSH و آنزیم ALP کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل نشان دادند با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق، می‌توان نتیجه گرفت سرب بر فعالیت غده تیروئید اثر منفی دارد و احتمالاً از طریق مهار یدیناسیون T4 باعث آسیب غده تیروئید می‌شود. سرب مهار جذب دوپامین آزادسازی هورمون TSH را نیز کاهش می‌دهد همچنین سرب با اثر بر روی نفوذپذیری غشاء سلول‌های کبدی غلظت سرمی آنزیم‌ها را تغییر می‌دهد و به نظر می‌رسد سرب اثر سمی بر فعالیت غده تیروئید و کبد دارد (۲-۳).

حاجی‌وندی و همکاران (آبان ۱۳۸۸) در مطالعه‌ای به بررسی اثرات هیستوکمیکال اسات سرب بر کبد موش صحرایی پرداخته و نشان دادند که اسات سرب اگر در معرض طولانی‌مدت باشد، باعث آسیب وسیع در بافت‌های کبدی شده و همچنین موجب تأثیرات قابل‌ملاحظه‌ای بر میزان آنزیم‌های کبدی می‌شود (۱۷).

مردای و همکاران (آبان ۱۳۹۳) در مطالعه‌ای به بررسی اثرات آنتی‌اکسیدانی منیزیم در کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از تزریق درون صفاقی تتراکلریدکربن در موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار پرداختند و نشان دادند در گروه مسموم شده با تتراکلریدکربن، میزان آنزیم‌های آسپاراتات آمینوترانسفراز، آلکالین فسفاتاز، گاماگلوتامیل ترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز افزایش معنی‌دار و میزان آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز کاهش معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل سالم را نشان داده است در گروه تیمار با سولفات منیزیم و با دوز ۰/۱۵ گرم بر کیلوگرم وزن بدن میزان آنزیم‌های آسپاراتات آمینوترانسفراز، آلکالین فسفاتاز، گاماگلوتامیل ترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز کاهش معنی‌دار و میزان آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز افزایش معنی‌داری را نسبت به گروه کنترل مسموم نشان داده است. سولفات منیزیم با دارا بودن خاصیت آنتی‌اکسیدانی اثرات اکسیداتیو کبدی ناشی از تتراکلرید کربن را بهبود بخشیده است (۱۱-۲).

تشکر و قدردانی

مطالعه حاصل پایان‌نامه مقطع کارشناسی ارشد از دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان بوده است. از کارکنان آزمایشگاهی دانشگاه فلاورجان که نهایت همکاری را در انجام این پروژه داشته‌اند کمال تقدیر و تشکر را داریم.

References

- 1- Sadeghi Hashjin G, Dehnavie M, Arab HA, Mohammadyar L. Effects of choronic lead poisoning on risky behaviors in mice. *J Shaheed Sadoghi Univ Med Sci* 2010;18(3): 159-63 (Persian)
- 2- Moshtaghi AA, Ani M, Mirhashemi SM. Comparative effects of lead on serum, liver and brain high molecular weight alkaline phosphatase in rats. *Pak J Biol Sci* 2006;9(12): 2278-82
- 3- Mokhtari M, Shariati M, Gashmardi N. The effect of oral lead on the concentration of thyroid hormones and liver enzymes in rats. *Hormozgan Med J* 1386;11(2): 115-20 (Persian)
- 4- Garmabi B, Jafarisan M, Khastar H. Improvement of renal oxidative stress and function in lead acetate- induced renal toxicity in rats followed by ascorbic acid consumption. *J Knowledge Health* 2019;14(2): 33-7 (Persian)
- 5- Fathi F, Mehrpour M, Arefi Oskoui A. Investigating the role of serum selenium in parkinsons disease. *Res Med* 1392;37(2): 90-2 (persian)
- 6- Moshtaghi AA. modern clinical biochemistry. isfahan: academic jihad (2017).
- 7- Aminipor M, Barkhordari Firouz Abadi A, Ehram Poush Mh, Hakiman Am. Determining blood lead concentration of lead and zinc mine works. *J Med Res* 1999;16(2)24-30
- 8- Wani AL, Ara A, Usmani JA. Interdiscipline *Toxicol Pub Online* 2015;8(2)55-64
- 9- Akbaeadeh S, Aani M, Moshtaghi AA, Et Al. Effects of magnesium on erythrocyte sodium-lithium countertransport and some of plasma biochemical parameters in rabbit. *Iran South Med J* 2009;11(2): 116-22 (Persian)
- 10- Ramezan Zadeh Late Roudi T, Moshtaghi AA. Comparative effects of lead and magnesium on serom parameters related to kidney function in male wistar rats. *Iranian Congress Of Trace Elements Hamadan-Iran.* 2005;22(1): 107 (Persian)
- 11- Moradi F, Eidi A, Mortazavi P. Antioxidant effects of magnesium in reducing oxidative stress by injected via an intraperitoneally carbon tetrachloride in the wistar male adult rats. *Yumsj* 2014;19(8): 91 (persian)
- 12- Ebrahmi Daryani N, Taher M, Shirzad S. Liver enzyme disorder. *J Med Organ Islam Rep Iran* 2002;30(1): 119.
- 13- Nouri S, Zoghi A, Sharifi M R, Et Al. Evaluation of thyroid hormones in patients with lead poisoning. *Tehran Univ Med J* 2018;76(7): 477-83 (Persian)
- 14- El-Demerdash F. Antioxidant effect of vitamin e and selenium on lipid peroxidation, enzyme activities and biochemical parameters in rats exposed to aluminum. *J Trace Elem Med Biol* 2004;18(1): 113-21
- 15- Shokrzadeh M, Abbasi A, Shadborestan A, Omid M, Jivad F. The protective role of selenium in preventing tissue damage induced by diazinon in rats. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2013;23(98): 92-8 (Persian)
- 16- Moshtaghi E, Moshtaghi AA, Nayeri H, Investigating the comparative effects of lead and zinc on the serum concentration of parameters related ti liver function in male rats. *Iranian Congress Of Trace Elements Hamadan-Iran.* 2005;22(1): 16 (Persian)
- 17- Hajivandi A, Movahed A, Akbarzadeh S. Investigating the histochemical effects of lead acetate on rat liver. *Iran South Med J* 2010 (Persian)

COMPARATIVE EFFECTS OF MAGNESIUM AND SELENIUM ELEMENTS ON GAMMA-GLUTAMYL TRANSFERASE, ASPARTIC AMINOTRANSFERASE, AND ALANINE AMINOTRANSFERASE ACTIVITY IN RATS POISONED WITH LEAD IN THE SHORT AND LONG TERMS

Aliasghar Moshtaghi^{1*}, Afsoon Shirani², Masoud Fouladgar³

Received: 29 April, 2023; Accepted: 09 July, 2023

Abstract

Background & Aim: Lead is one of the heavy element and toxic metal with wide uses. It may enter the human body through breathing and skin. On the other hand, magnesium and selenium can play a protective role against lead toxicity with their antioxidant effects. In this study, we investigated the protective role of magnesium and selenium elements on the activities of gamma-glutamyl transferase, aspartic aminotransferase, and alanine aminotransferase in rats poisoned with lead in the short and long term.

Materials & Methods: In this experimental study, 60 male rats were divided into 12 groups of 5 each. First, lead was injected into the rats with concentrations of 280mg/kg and 80mg/kg in periods of 15 and 45 days. In the experimental groups, selenium + lead and magnesium + lead salts were injected. The level of enzyme activity was analyzed using one-way ANOVA and Duncan Test by SPSS version 22 software and evaluated with significant levels of $P < 0.05$, $P < 0.01$, and $P < 0.001$.

Results: In both time periods, the simultaneous injection of lead and selenium showed a significant increase in ALT enzyme activity compared to the control group (P values = 0.01 and 0.05, respectively), but no significant changes were observed in AST and GGT enzymes. ($P > 0.05$). In the groups receiving lead and magnesium simultaneous, no significant changes in ALT and AST enzymes activity were observed compared to the control ($p > 0.05$). In the long term, in the groups receiving lead and magnesium, a decrease in AST activity alone was observed ($p < 0.001$). In the same period, in the groups receiving selenium, a decrease in GGT activity alone was observed ($P < 0.05$).

Discussion: According to the obtained results, it is expected that magnesium has the ability to protect the liver against lead poisoning, however, in the case of recipients of selenium along with lead, the effects of poisoning exacerbation were observed.

Keywords: Lead, Liver Enzymes, Magnesium, Rat, Selenium

Address: Department of Biology, Flowerjan Branch, Islamic Azad University, Isfahan

Tel: +98 9910205681

Email: alimoshtaghi@gamil.com

SOURCE: STUD MED SCI 2023: 34(4): 214 ISSN: 2717-008X

This is an open-access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution-noncommercial 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/) which permits copy and redistribute the material just in noncommercial usages, as long as the original work is properly cited.

¹ Department of Biology, Flowerjan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran (Corresponding Author)

² Department of Biology, Flowerjan Branch, Islamic Azad University, Isfahan

³ Department of Biology, Flowerjan Branch, Islamic Azad University, Isfahan