بررسی تغییرات غلظت سرمی آنزیم‌های مربوط به فونکسیون کبد (ALT, AST,LDH) متعاقب از مصرف آرسنیک و اثرات محافظتی روی در رت

زیبا رضوانی سیچانی[1]، سیدعلی‌اصغر مشتاقی[2]*

تاریخ دریافت 1394/08/20 تاریخ پذیرش 1394/10/28

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: آرسنیک ازجمله عناصر سمی است. عنصر روی با خاصیت آنتا گونیستی با آرسنیک می‌تواند نقش محافظتی در برابر سمیت این فلز داشته باشد.این مطالعه به بررسی نقش محافظتی روی بر سمیت آرسنیک بر روی پارامترهای سرمی مربوط به عملکرد کبد می‌پردازد.

مواد و روش‌ها: تعداد 60 سر موش صحرایی نر از نژاد ویستار در 10 گروه آزمایشی تقسیم‌بندی شدند. گروه‌های تقسیم‌شده به ترتیب در دوره‌ی کوتاه‌مدت شامل گروه‌های کنترل، آرسنیک به مقدار 40mg/ l و 80، روی به میزان 40mg/ l و 40 mg/l آرسنیک و روی را به‌صورت هم‌زمان دریافت کردند و در دوره‌ی بلندمدت گروها نصف دوز دوره‌ی کوتاه‌مدت را به‌صورت تجویز خوراکی دریافت کردند. و خون‌گیری بعد از اتمام یک دوره‌ی 15 و45 روزه انجام شد و سطح سرمی آنزیم‌های مربوط به عملکرد کبد اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: بررسی نتایج نشان می‌دهد که دوزهای مختلف آرسنات سدیم باعث کاهش فعالیت لاکتات دهیدروژناز، آسپارتات آمینو ترانسفراز و آلانین آمینو ترانسفراز نسبت به گروه کنترل می‌شود. همچنین استفاده هم‌زمان آرسنیک – روی باعث افزایش فعالیت این آنزیم‌ها می‌شود. ($P < 0/05$).

نتیجه‌گیری: یافته‌های حاصل از این تحقیق نشان می‌دهد که روی می‌تواند نقش محافظتی در برابر مسمومیت ایجادشده توسط آرسنیک بر سطح سرمی آنزیم‌های مربوط به عملکرد کبد داشته باشد.

کلیدواژه‌ها: آرسنیک، عملکرد کبد، روی

مجله پزشکی ارومیه، دوره بیست و هفتم، شماره اول، ص 60-51، فروردین 1395

آدرس مکاتبه: گروه بیوشیمی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد فلاورجان، اصفهان، ایران، تلفن: 09131117564

Email: moshtaghie@pharm.mui.ac.ir

مقدمه

آلودگی محیط‌زیست از مسائل عمده‌ای است که امروزه قسمت اعظم تلاش برنامه ریزان اجتماعی را به خود اختصاص داده است (1). آرسنیک عنصری سمی و یکی از خطرناک‌ترین آلوده‌کننده‌های محیطی است (2). دارای 4 حالت اکسیداسیون متفاوت از قبیل (3- ، 3+، 5+، 0) می‌باشد و بسته به شرایط محیطی دارای ظرفیت‌های مختلف است(3). جزء فلزات سنگین (اصولاً به دسته یا گروهی از عناصر اطلاق می‌شود که دارای وزن مخصوص بزرگ‌تر از 7 گرم بر سانتی‌متر مکعب و یا جرم اتمی بیشتر از 50 باشند) است (4). فلزات سنگین جزء آلاینده‌های پایدار محسوب می‌شوند. این فلزات در بدن موجودات زنده تمایل به تجمع زیستی یا تغلیظ زیستی دارند (5،6). مسیرهای جذب آرسنیک در بدن به‌طور عمده مسیرهای تنفسی، گوارشی و پوست می‌باشد(7). قسمت اعظم دفع آرسنیک از طریق کلیه‌ها صورت می‌گیرد و به میزان جزئی نیز از طریق مدفوع و عروق دفع می‌شود(8). آرسنیک بر اندام‌ها و بافت‌های مختلف بدن مانند بافت عصبی، کلیوی، قلبی-عروقی، کبدی،تولیدمثلی، پوست و غیره اثرات زیانباری را بر جای می‌گذارد (9،10). بر اساس آزمایش‌های انجام شده، مشخص شده است که قرار گرفتن در معرض آرسنیک سبب بزرگ شدن کبد و افزایش غلظت آنزیم‌های آلانین آمینو ترانسفراز (ALT) و آسپارتات آمینو ترانسفراز (AST) می‌شود(11). این عنصر باعث افزایش خطر ابتلا به انواع خاصی از سرطان‌های انسانی ازجمله سرطان پوست، سرطان ریه، مثانه و کبد است(12, 13). همچنین آرسنیک سبب کاهش فعالیت‌های S – ترانسفرازها، گلوتاتیون پراکسیداز، گلوتاتیون ردوکتاز و کاتالاز در کبد

[1] گروه بیوشیمی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد فلاورجان، اصفهان، ایران

[2] گروه بیوشیمی ، دانشگاه آزاد اسلامی ، واحد فلاورجان، اصفهان، ایران(نویسنده مسئول)

می‌شود(14, 15).آلانین آمینو ترانسفراز و آسپارتات آمینو ترانسفراز در واکنش‌های ترانس،عمدتاً در کبد، سلول‌های قلبی و بافت عضله مخطط شرکت می‌کند. که آسیب‌های سلولی سبب آزاد شدن آلانین آمینو ترانسفراز و آسپارتات آمینو ترانسفراز به جریان خون می‌شود و سمیت کبدی را در پی دارد(16, 17). همچنین در معرض قرار گرفتن حیوانات در آب حاوی آرسنیک، سبب می‌شود که سلول‌های کبدی ازنظر بافتی دچار نکروز شود و فضاهای سینوسی کبدی گسترش یابد(16, 18). همچنین بیان شده است که آرسنیک سبب تحریک لاکتات دهیدروژناز (LDH) کبدی می‌شود(19, 20). باوجود اثرات سمی کبدی، مطالعات کمی در اثر سمیت آرسنیک نسبت به کبد صورت گرفته است(21). همچنین تجمع آرسنیک سبب بروز اختلال در وزن کل بدن، وزن مطلق و نسبی کبد موش می‌شود که این ممکن است به دلیل تغییرات احیاء کننده‌ی آرسنیک در سلول‌های کبدی باشد(22, 23). روی عنصر ضروری بعد از آهن شناخته شده است. روی یک عنصر کمیاب ضروری است که برای ساختار آنزیم‌های مختلف و عملکرد آن‌ها لازم است. اهمیت بیولوژیکی روی در ارتباط با شرکت این عنصر در ساختمان متالوآنزیم‌ها است. و تاکنون حدود 70 آنزیم شناخته‌شده‌اند که در ساختمان آن‌ها روی به کار رفته است(24). محققین نشان دادند که در هر دو بیماری حاد و مزمن کبدی، کاهش غلظت روی نقش دارد (25). روی دارای یک پتانسیل آنتی‌اکسیدانی، برای غشاهای زیستی است و اثرات محافظتی این عنصر می‌تواند باعث کاهش تجمع کلاژن در کبد و اعمال نقش فیزیولوژیکی حیاتی را در عملکرد سلولی کبد تنظیم کند(26). همچنین متعاقب مصرف آرسنیک و روی به‌صورت هم‌زمان سبب تعدیل اثرات سمی آرسنیک بر غلظت‌های سرمی و نقش محافظتی روی بر سمیت کبدی ناشی از آرسنیک شده است(27).

هدف مطالعه حاضر بررسی نقش محافظتی روی در جلوگیری از سمیت آرسنیک بر پارامترهای سرمی مربوط به عملکرد کبد (لاکتات دهیدروژناز، آسپارتات آمینو ترانسفراز و آلانین آمینو ترانسفراز) در رت‌های نر نژاد ویستار می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مواد لازم، از کارخانه‌ی اکراس (Acros Organics) ساخت کشور آمریکا تهیه گردیدند. و همگی از نوع خالص آزمایشگاهی بودند. کیت‌های آزمایشگاهی جهت اندازه‌گیری پارامترهای بیوشیمیایی (آنزیم‌های کبدی) از شرکت پارس آزمون تهیه شدند.

در این پروژه از موش‌های صحرایی نر بالغ Rats) (با نام علمی Ratus Norvegicus از نژاد ویستار با میانگین وزنی50±200 گرم استفاده شد. این حیوانات از مرکز آزمایشگاهی موسسه رازی کرج خریداری و پس از انتقال به لانه حیوانات دانشگاه فلاورجان ، به‌منظور جلوگیری از مبتلا شدن حیوانات به عفونت، قبل از انتقال به قفس‌های مربوطه، کلیه‌ی قفس‌ها پس از شستشو با محلول 5 درصد فنول ضدعفونی گردیدند. و آن‌ها به مدت 7 روز تحت رژیم آنتی‌بیوتیک قرار داده شدند.آنتی‌بیوتیک مصرفی، آموکسیسیلین بود که به میزان 1 میلی‌گرم بر_لیتر به آب مصرفی حیوانات اضافه شد.موش‌ها در اتاقی با درجه حرارت 37 درجه سانتی‌گراد و در شرایط 12 ساعت روشنایی و 12 ساعت تاریکی نگهداری شدند. رت‌ها از غذای فشرده‌شده ساخت کارخانه بهپرور و آب تصفیه‌شده لوله‌کشی شهر تغذیه گردیدند.

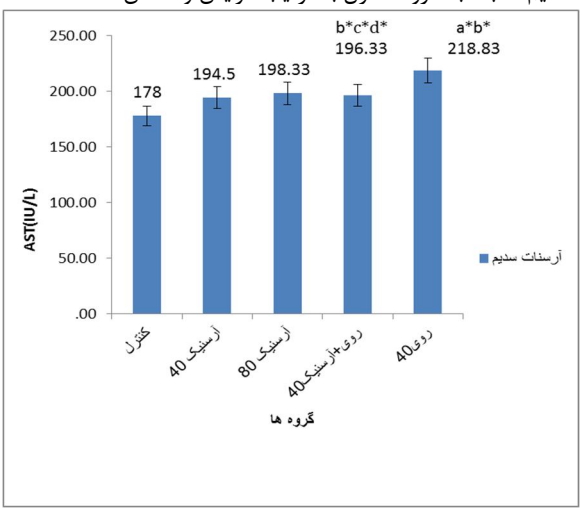
برای آزمایشات In vivo در دوره‌ی کوتاه‌مدت، حیوانات به 5 گروه 6 تایی تقسیم شدند.یک گروه کنترل که روزانه تحت شرایط استاندارد از قبیل آب و غذا قرار گرفتند و دو گروه دیگر به ترتیب40و 80 میلی‌گرم آرسنات سدیم و یک گروه دیگر به‌صورت هم‌زمان 40 میلی‌گرم آرسنات سدیم و کلرید روی و یک گروه دیگر 40 میلی‌گرم کلرید روی را به مدت 15 روز به‌صورت خوراکی دریافت کردند. در دوره‌ی بلندمدت،حیوانات به 5 گروه 6 تایی تقسیم شدند.یک گروه کنترل که روزانه تحت شرایط استاندارد از قبیل آب و غذا قرار گرفتند و دو گروه دیگر به ترتیب 20 و 40 میلی‌گرم بر لیتر آرسنات سدیم و یک گروه دیگر به‌صورت هم‌زمان 20 میلی‌گرم آرسنات سدیم و کلرید روی و یک گروه دیگر 20 میلی‌گرم کلرید روی را به مدت 45 روز به‌صورت خوراکی دریافت کردند. در عمل خون‌گیری، ابتدا رت‌ها با استفاده از تزریق مخلوطی کتامین 0/70 درصد و زایلازین 0/05 درصد بی‌هوش شده و بلافاصله عمل خون‌گیری مستقیم از قلب با استفاده از سرنگ 10 سی‌سی انجام گرفت. بعد از مدتی نمونه‌ها با سرعت3000r.p.m به مدت 10 دقیقه سانتریفوژ گردید و به‌وسیله‌ی سمپلر 1000 میکرولیتر، سرم به‌آرامی از گلبول‌های ته‌نشین شده جداسازی شد.میزان پارامترهای مرتبط با کبد شامل آسپارتات آمینو ترانسفراز، آلانین آمینوترانسفراز و لاکتات دهیدروژناز به‌وسیله‌ی شیوه‌های آزمایشگاهی و به روش‌های گوناگون اندازه‌گیری گردید. برای اندازه‌گیری آنزیم آسپارتات آمینو ترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز از روش آزمایش IFCC(فدراسیون بین‌المللی شیمی بالینی و طب آزمایشگاهی) استفاده گردید. و همچنین برای اندازه‌گیری لاکتات دهیدروژناز از روش آزمایش DGKC (استاندارد انجمن بیوشیمی آلمان) استفاده گردید.آزمایشات بیوشیمیایی توسط دستگاه اتوآنالیزر مدل هیتاچی 902 انجام شد.

تجزیه‌وتحلیل داده‌ها توسط نرم‌افزار SPSS صورت گرفت، بررسی تفاوت معنی‌دار(P<0/05) میانگین‌ها در بین گروه‌ها به لحاظ آماری از آنالیز واریانس یک‌طرفه (one wayANOVA)

استفاده گردید. و برای بررسی تفاوت‌های معنی‌دار هر یک از میانگین‌ها نسبت به هم از آزمون تعقیبی significant difference (LSD, least) استفاده شد. برای تهیه هیستوگرام‌ها از نرم‌افزار (Excel) استفاده گردید.

یافته‌ها

پس از انجام آنالیزهای مربوطه، میزان تغییرات غلظت هر یک از پارامترها در دوره‌ی کوتاه‌مدت و بلندمدت، نسبت به گروه شاهد و گروه‌های دریافت‌کننده‌ی آرسنات سدیم توأم با کلریدروی موردبررسی و تجزیه‌وتحلیل قرار گرفت.همان‌طور که از نمودار 1 برمی‌آید در دوره‌ی کوتاه‌مدت، دوزهای 40 و 80 میلی‌گرم بر لیتر آرسنات سدیم سبب کاهش میزان آلانین آمینو ترانسفراز در سرم خون موش‌ها نسبت به گروه کنترل شده است.که این کاهش ازلحاظ آماری معنی‌دار است. در مورد غلظت آسپارتات آمینو ترانسفراز که در نمودار 2 آمده است دوزهای مختلف آرسنات سدیم سبب افزایش این میزان نسبت به گروه کنترل‌شده‌اند.که این افزایش ازلحاظ آماری معنی‌دار نبوده است. همچنین، میزان غلظت لاکتات دهیدروژناز با توجه به نمودار 3 در دوز 40 و 80 میلی‌گرم آرسنات سدیم نسبت به گروه کنترل به ترتیب افزایش و کاهش داشته است. که ازلحاظ آماری معنی‌دار نبوده است. کلرید روی در گروه‌های مختلف در مقایسه با گروه کنترل سبب کاهش 25 درصدی میزان آلانین آمینو ترانسفراز شده است. همچنین میزان آسپارتات آمینو ترانسفراز را 18 درصد افزایش داده است. در مورد پارامتر لاکتات دهیدروژناز باعث کاهش 22 درصدی آن شده است. ($P < 0/05$). همین‌طور تأثیر اثرات محافظتی روی بر مسمومیت آرسنیک بر آنزیم‌های کبدی و تأثیر توأم روی و آرسنیک بر پارامترهای مذکور موردمطالعه قرار گرفت که نتایج نشان می‌دهد که تجویز خوراکی روی توأم با آرسنیک در دوز 40 میلی‌گرم بر لیتر در دوره‌ی 15 روزه سبب کاهش 44 درصدی غلظت آلانین آمینو ترانسفراز نسبت به گروه کنترل شده است (نمودار 1). همچنین، تجویز خوراکی روی توأم با آرسنیک، افزایش 9 درصدی میزان آسپارتات آمینو ترانسفراز نسبت به گروه کنترل داشته است (نمودار 2). همچنین سبب کاهش 15 درصدی لاکتات دهیدروژناز نسبت به گروه کنترل شده است (نمودار 3) ($P < 0/05$). همان‌طور که از نمودار 4 برمی‌آید در دوره‌ی بلندمدت، دوزهای 20 و 40 میلی‌گرم بر لیتر آرسنات سدیم سبب کاهش میزان آلانین آمینو ترانسفراز در سرم خون موش‌ها نسبت به گروه کنترل شده است. که این کاهش ازلحاظ آماری معنی‌دار است.

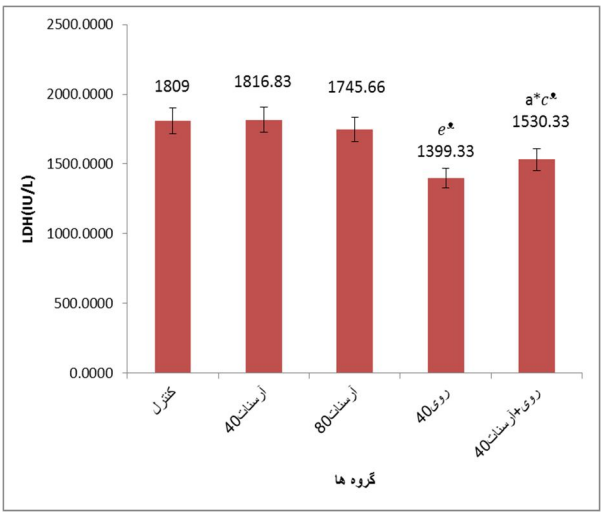


نمودار (2)

نمودار (1)

شکل (۱): اثرات خوراکی آرسنات سدیم (40 و 80 میلی‌گرم بر لیتر) و یا کلرید روی (40 میلی‌گرم بر لیتر) به مدت 15 روز بر غلظت آنزیم‌های آلانین آمینو ترانسفراز و آسپارتات آمینو ترانسفراز مربوط به عملکرد کبد

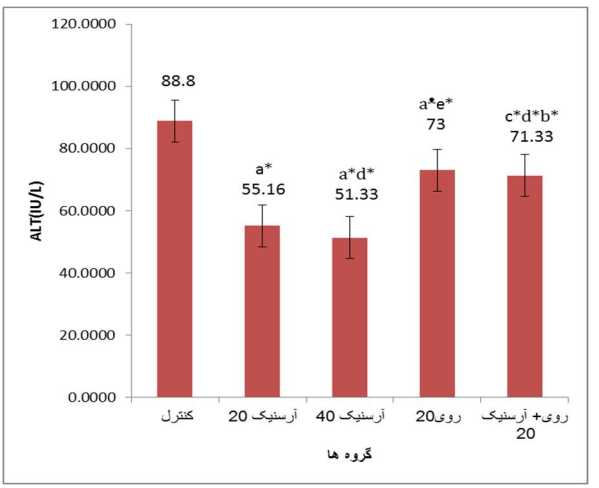
ارقام به‌صورت Mean± SE برای 17 نمونه (One way ANOVA, LSD) نشان داده‌شده‌اند. a: تفاوت معنی‌داری نسبت به گروه کنترل ($P^{**} < 0/001$). b: تفاوت معنی‌داری نسبت به گروه آرسنات 40. ($P^{*} < 0/05$). c: تفاوت معنی‌داری نسبت به گروه آرسنات 80. ($P^{*} < 0/05$). d: تفاوت معنی‌دار با روی ($P^{*} < 0/05$).



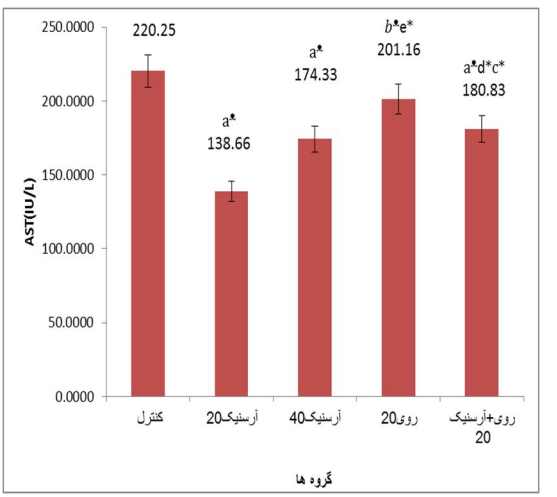
نمودار (3)

شکل (۲): اثرات خوراکی آرسنات سدیم (40 و 80 میلی‌گرم بر لیتر) و یا کلرید روی (40 میلی‌گرم بر لیتر) به مدت 15 روز بر غلظت آنزیم سرمی لاکتات دهیدروژناز مربوط به عملکرد کبد.

ارقام به‌صورت Mean± SE برای 17 نمونه (One way ANOVA, LSD) نشان داده‌شده‌اند. a: تفاوت معنی‌داری نسبت به گروه کنترل (P^* <0/001).c:تفاوت معنی‌داری نسبت به گروه آرسنات 80. (P^* < 0/05). e: تفاوت معنی‌داری نسبت به گروه روی - آرسنیک. (P^*<0/001).



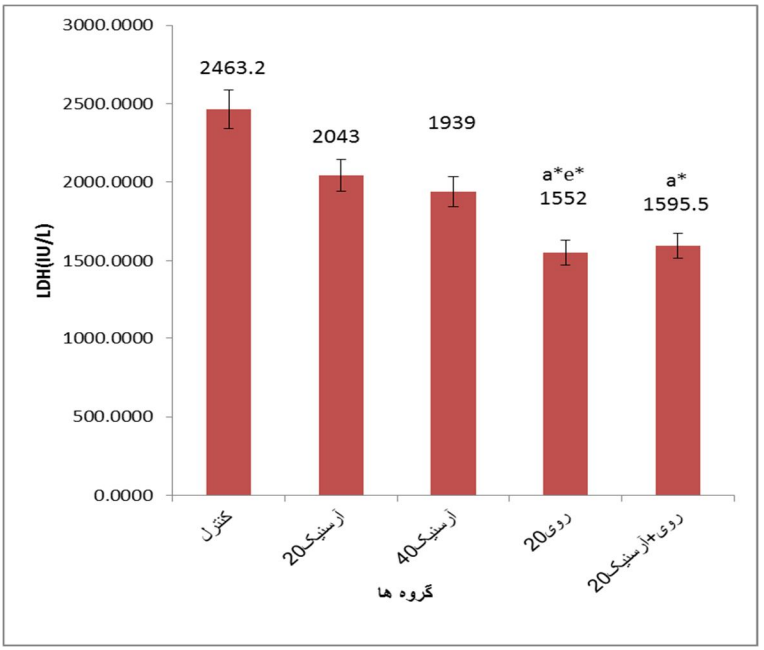
نمودار (4)



نمودار (5)

شکل (۳): اثرات خوراکی آرسنات سدیم (40 و 20 میلی‌گرم بر لیتر) و یا کلرید روی (20 میلی‌گرم بر لیتر) به مدت 45 روز بر غلظت آنزیم‌های سرمی آلانین آمینو ترانسفراز و آسپارتات آمینو ترانسفراز مربوط به عملکرد کبد.

ارقام به‌صورت Mean± SE برای 16 نمونه(One way ANOVA, LSD) نشان داده‌شده‌اند. a: تفاوت معنی‌داری نسبت به گروه کنترل (P^* <0/001) (P^* < 0/05):b. تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه آرسنات 20 (P^* < 0/05). c: تفاوت معنی‌داری نسبت به گروه آرسنات 40. (P^* < 0/05):d. تفاوت معنی‌دار با گروه روی . (P^* <0/05):e : تفاوت معنی‌داری نسبت به گروه روی – آرسنیک (P^* < 0/05)



نمودار (6)

شکل (۴): اثرات خوراکی آرسنات سدیم (40 و 20 میلی‌گرم بر لیتر) و یا کلرید روی (20 میلی‌گرم بر لیتر) به مدت 45 روز بر غلظت آنزیم سرمی لاکتات دهیدروژناز مربوط به عملکرد کبد.

ارقام به‌صورت Mean± SE برای 16 نمونه(One way ANOVA, LSD) نشان داده‌شده‌اند. a: تفاوت معنی‌داری نسبت به گروه کنترل (P* <0/001).(P* < 0/05). e: تفاوت معنی‌داری نسبت به گروه روی – آرسنیک (P* < 0/05).

در مورد غلظت آسپارتات آمینو ترانسفراز که در نمودار 5 آمده است دوزهای 20 و 40 میلی‌گرم آرسنات سدیم به ترتیب سبب کاهش و افزایش این میزان نسبت به گروه کنترل‌شده‌اند.که ازلحاظ آماری معنی‌دار بوده است. همچنین، میزان غلظت لاکتات دهیدروژناز با توجه به نمودار 6 نسبت به گروه کنترل کاهش داشته است. که ازلحاظ آماری معنی‌دار نبوده است. کلرید روی در گروه‌های مختلف در مقایسه با گروه کنترل در دوره‌ی بلندمدت سبب کاهش 17 درصدی میزان آلانین آمینو ترانسفراز شده است. همچنین میزان آسپارتات آمینو ترانسفراز را 8 درصد کاهش داده است. در مورد لاکتات دهیدروژناز باعث کاهش 35 درصدی آن شده است (P<0/05). تجویز خوراکی روی توأم با آرسنیک در دوز 20 میلی‌گرم بر لیتر در دوره‌ی 45 روزه سبب کاهش 19 درصدی غلظت آلانین آمینو ترانسفراز نسبت به گروه کنترل شده است (نمودار 4). همچنین، تجویز خوراکی روی توأم با آرسنیک، کاهش 17 درصدی میزان آسپارتات آمینو ترانسفراز نسبت به گروه کنترل داشته است (نمودار 5). همچنین سبب کاهش 35 درصدی لاکتات دهیدروژناز نسبت به گروه کنترل شده است (نمودار 6) (P<0/05).

بحث

در حال حاضر به‌خوبی مشخص شده است که آرسنیک سبب اختلالات وسیعی در فعالیت‌های بدن می‌شود(9, 23).داده‌های حاصل از تحقیقات قبلی ما نشان داده است که این عنصر در فعالیت‌های کبد موش‌های آزمایشگاهی تأثیرگذار بوده است(11, 19, 20). و آسیب‌های جدی به عملکرد کبد وارد می‌آورد(14, 15). داده‌های ارائه‌شده در این مقاله نشان می‌دهند که اختلالات کبدی در موش‌هایی که در معرض دوزهای مختلف آرسنیک قرارگرفته‌اند، ممکن است رخ دهد. مطالعات اخیر نشان داده است که قرار گرفتن در معرض آرسنیک، اغلب از طریق آب آشامیدنی آلوده سبب ایجاد بسیاری از بیماری‌ها می‌شود(28). آرسنیک به‌عنوان یک عنصر سمی در محیط‌زیست یافت می‌شود. انسان‌ها و حیوانات در معرض این فلز قرار می‌گیرند و مواجهه با آن باعث وارد شدن آسیب به کبد می‌شود، همچنین گزارش شده است که با افزایش سطوح دوز آرسنیک، آسیب‌های وارده به کبد بیشتر می‌شود(29). نشان داده‌شده است که مواجهه با آرسنیک باعث افزایش میزان فعالیت آنزیم آلانین آمینو ترانسفراز و آسپارتات آمینو ترانسفراز سرم می‌شود(11). در مطالعه‌ی دیگری که بر روی آنزیم‌های کبدی موش صحرایی انجام گرفته است میزان فعالیت آنزیم‌های لاکتات دهیدروژناز، آلانین آمینو ترانسفراز و آسپارتات آمینو ترانسفراز

نسبت به گروه کنترل افزایش داشته است و ازلحاظ آماری معنی‌دار بوده است(30, 31).که این نتایج مطابق نتایج موجود (دوره‌ی کوتاه‌مدت در دوزهای 40 و 80 میلی‌گرم آرسنیک که موجب افزایش غلظت آنزیم آسپارتات آمینو ترانسفراز و لاکتات دهیدروژناز شده است) در این پروژه بوده است. افزایش فعالیت این آنزیم‌ها در دوزهای مختلف آرسنیک ممکن است به این دلیل باشد که آرسنیک باعث افزایش فعالیت سنتز آن‌ها شده که نشان‌دهنده‌ی نشت سلولی و از دست دادن غشاء کبدی است(32, 33). با توجه به تحقیقات گزارش شده میزان پلاسمایی آلانین آمینو ترانسفراز و آسپارتات آمینو ترانسفراز در گونه‌ای از ماهی که در معرض آرسنیک در 20 روز قرار گرفت، به‌طور قابل‌توجهی افزایش یافته است. این گزارش نشان می‌دهد که با افزایش دوز آرسنیک میزان آلانین آمینو ترانسفراز و آسپارتات آمینو ترانسفراز افزایش می‌یابد و سلول‌های کبدی منجر به آسیب‌هایی مانند تغییر شکل، بزرگ شدن، نکروز و انحطاط سلول‌های کبدی شده است(34). فلزات سنگین سبب آسیب بافت کبدی می‌شود و همچنین آسپارتات آمینو ترانسفراز می‌تواند به‌عنوان نشانگر زیستی از آسیب سلولی در پلاسمای خون،تخریب پروتئین و آسیب کبدی استفاده شود(35). همچنین مطابق با نتایج ما، فعالیت سرمی آلانین آمینو ترانسفراز و آسپارتات آمینو ترانسفراز در کبد ماهی پس از قرار گرفتن در معرض آرسنیک با دوز 28/30 میلی‌گرم بر لیتر، افزایش یافته است. این نتایج نشان داد که آرسنیک سبب افزایش سطح آنزیم‌های آلانین آمینو ترانسفراز و آسپارتات آمینو ترانسفراز می‌شود و هر چه بیشتر در معرض آرسنیک قرار بگیرد سمیت آن بیشتر می‌شود درنتیجه خسارات وارده به کبد بیشتر می‌شود و نتایج آن بستگی به دوز و مدت‌زمان آن دارد(36). همچنین محققان گزارش دادند که افزایش آلانین آمینو ترانسفراز و آسپارتات آمینو ترانسفراز سرم به‌عنوان یک نتیجه از تغییرات متابولیکی در کبد می‌باشد که پس از تجویز سم، سیروز کبدی، هپاتیت، سرطان کبد گزارش شده است(37). همچنین مطابق با نتایج ما، هومتسو و همکاران نشان دادند که مواجهه با آرسنیک باعث کاهش فعالیت آنزیم‌های آلانین آمینو ترانسفراز و آسپارتات آمینو ترانسفراز و لاکتات دهیدروژناز در کبد ماهی شده است که این کاهش در غلظت‌های پایین‌تر آرسنیک معنی‌دار نبوده است (15). همچنین در مطالعات مشابه گزارش دادند که اثر آرسنیک سبب کاهش معنی‌دار آنزیم آلانین آمینو ترانسفراز نسبت به گروه کنترل می‌شود(38). به گفته‌ی محققین تنوع فعالیت‌های آنزیمی اعم از کاهش و افزایش در فلزات سنگین، به دلیل افزایش نفوذپذیری سلول و همچنین اثر مستقیم آرسنیک بر بافت است . بنابراین افزایش یا کاهش قابل‌توجهی از آنزیم‌ها را می‌توان به افزایش سطح آرسنیک به بافت نسبت داد(15). درنتیجه آرسنیک می‌تواند سبب مهار آنزیم‌های کبدی شود و فعالیت آن‌ها را کاهش دهد. همچنین کاهش فعالیت‌های آلانین آمینو ترانسفراز و آسپارتات آمینو ترانسفراز و لاکتات دهیدروژناز سبب اختلال در ساختار و یکپارچگی اندامک‌های سلولی مانند شبکه آندوپلاسمی و سیستم حمل‌ونقل غشایی و فرآیندهای غشایی ایجادشده و سبب کاهش فعالیت‌های گلوتاتیون پراکسیداز، گلوتاتیون ردوکتاز و کاتالاز در کبد به‌عنوان نتیجه در معرض قرار گرفتن آرسنیک است(14, 15).روی همچنین نقش مهمی در سم‌زدایی فلزات و ایجاد ثبات در غشاء و فرآیندهای غشایی بازی می‌کند(39, 40). در این مطالعه تجویز خوراکی روی - آرسنیک و روی منجر به افزایش میزان فعالیت آنزیم کاهش یافته شده است که احتمالاً حاکی از آن است که روی اثر محافظتی خود را بر روی آرسنیک گذاشته است و مانع از تخریب بافت کبد توسط آرسنیک شده است.مطابق با نتایج ما، کومار و همکاران نشان دادند که تجویز خوراکی هم‌زمان آرسنیک با دوز 227 میلی‌گرم بر لیتر و روی با دوز 227 میلی‌گرم بر لیتر به مدت 3 ماه به رت‌ها، سبب تعدیل اثرات سمی آرسنیک بر غلظت‌های سرمی و نقش محافظتی روی بر سمیت کبدی ناشی از آرسنیک شده است(27). و همچنین مطابق با نتایج این پروژه روی به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان توانایی مقابله با این مکانیسم را داشته و سبب بهبود فعالیت آنزیم‌های کبدی می‌گردد(26).

نتیجه‌گیری

آرسنیک یک آلاینده‌ی زیست‌محیطی است که سمیت آن به‌طور وسیعی موردمطالعه و بررسی قرار گرفته است. همچنین بر اساس مطالعه‌ی کنونی، درمجموع می‌توان گفت که آرسنیک، بالأخص در دوزهای بالا، دارای اثر سمی بوده و باعث تغییر در سطح سرمی آنزیم‌های مربوط به عملکرد کبد می‌گردد. اما این اثر سمی با تجویز خوراکی روی کاهش می‌یابد.

تشکر و قدردانی

لازم است از آزمایشگاه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان و همچنین از افرادی که در این مطالعه مساعدت و همکاری به عمل آوردند، قدردانی نماییم.

References:

1. Silva A, Novelli E, Fascineli M, Almeida J. Impact of an environmentally realistic intake of water contaminants and superoxide formation on tissues of rats. Environ Pollution 1999;105(2):243-9.
2. Jolliffe D. A history of the use of arsenicals in man. J Royal Soc Med 1993;86(5):287.
3. Tu C, Ma LQ, Bondada B. Arsenic accumulation in the hyperaccumulator Chinese brake and its utilization potential for phytoremediation. J Environ Quality 2002;31(5):1671-5.
4. Mance G, Worsfold P. Pollution threat of heavy metals in aquatic environments. London: Elsevier; 1987.
5. Schulman AE. Arsenic occurrence in public drinking water supplies: Citeseer; 2000.
6. Organization WH. Guidelines for drinking-water quality: recommendations. World Health Organization; 2004.
7. Nico PS, Ruby MV, Lowney YW, Holm SE. Chemical speciation and bioaccessibility of arsenic and chromium in chromated copper arsenate-treated wood and soils. Environ Sci Tech 2006;40(1):402-8.
8. Peraza M, Carter D, Gandolfi A. Toxicity and metabolism of subcytotoxic inorganic arsenic in human renal proximal tubule epithelial cells (HK-2). Cell biology and toxicology 2003;19(4):253-64.
9. Wu MM, Chiou HY, Wang TW, Hsueh YM, Wang IH, Chen CJ, et al. Association of blood arsenic levels with increased reactive oxidants and decreased antioxidant capacity in a human population of northeastern Taiwan. Environ Health Perspectives 2001;109(10):10-1.
10. Hughes MF. Arsenic toxicity and potential mechanisms of action. Toxicol letters 2002;133(1):1-16.
11. RAO KJ, Devaraju K, SuJjatha S. Impact of sodium arsenate on selected enzymes and histopathollogIicaal studies in albino mice. J Pharmacy Biol Sci 2010;1(3):344-54.
12. Tseng WP. Effects and dose-response relationships of skin cancer and blackfoot disease with arsenic. Environ Health Perspectives 1977;19:109-20.
13. Chen CJ, Chuang YC, Lin TM, Wu HY. Malignant neoplasms among residents of a blackfoot disease-endemic area in Taiwan: high-arsenic artesian well water and cancers. Cancer Res 1985;45(11):5895-9.
14. Mazumder DG. Effect of chronic intake of arsenic-contaminated water on liver. Toxicol Appl Pharmacol 2005;206(2):169-75.
15. Humtsoe N, Davoodi R, Kulkarni B, Chavan B. Effect of arsenic on the enzymes of the rohu carp Labeo rohita (Hamilton, 1822). Raffles Bull Zool 2007;14:17-9.
16. Islam K, Haque A, Karim R, Fajol A, Hossain E, Salam KA, et al. Dose-response relationship between arsenic exposure and the serum enzymes for liver function tests in the individuals exposed to arsenic: a cross sectional study in Bangladesh. Environ Health 2011;10(64):1-11.
17. Paliwal A, Gurjar R, Sharma H. Analysis of liver enzymes in albino rat under stress of λ-cyhalothrin and nuvan toxicity. Biol Med 2009;1(2):70-7.
18. Ferzand R, Gadahi JA, Saleha S, Ali Q. Histological and haematological disturbance caused by arsenic toxicity in mice model. Pakistan Jbiological sciences: PJBS 2008;11(11):1405-13.
19. Sharma A, Sharma MK, Kumar M. Protective Effect of Mentha piperita against Arsenic-Induced Toxicity in Liver of Swiss Albino Mice. Basic Clin Pharmacol Toxicol 2007;100(4):249-57.
20. Eze E, Dawud F, Zainab A, Jimoh A, Malgwi I, Isa A. Preliminary studies of effects of vitamin C and zinc on some liver enzymes in alloxan-induced diabetic wistar rats. Asian J Med Sci 2012;4(1):17-22.

21. Niimi AJ. Review of biochemical methods and other indicators to assess fish health in aquatic ecosystems containing toxic chemicals. J Great Lakes Res 1990;16(4):529-41.
22. Yousef MI, El-Demerdash FM, Radwan FM. Sodium arsenite induced biochemical perturbations in rats: ameliorating effect of curcumin. Food Chem Toxicol 2008;46(11):3506-11.
23. El-Demerdash FM, Yousef MI, Radwan FM. Ameliorating effect of curcumin on sodium arsenite-induced oxidative damage and lipid peroxidation in different rat organs. Food Chem Toxicol 2009;47(1):249-54.
24. Matović V, Buha A, Bulat Z, Đukić-Ćosić D. Cadmium toxicity revisited: focus on oxidative stress induction and interactions with zinc and magnesium. Arhiv za higijenu rada i toksikologiju 2011;62(1):65-75.
25. Stamoulis I, Kouraklis G, Theocharis S. Zinc and the liver: an active interaction. Digestive Diseases Sci 2007;52(7):1595-612.
26. Sidhu P, Garg M, Dhawan D. Protective effects of zinc on oxidative stress enzymes in liver of protein deficient rats. Nutr Hosp 2004;19(6):341-7.
27. Kumar A, Malhotra A, Nair P, Garg M, Dhawan DK. Protective role of zinc in ameliorating arsenic-induced oxidative stress and histological changes in rat liver. J Environ Pathol Toxicol Oncol 2010;29(2):91-100.
28. Barchowsky A, Cartwright IL, Reichard JF, Futscher BW, Lantz RC. Arsenic toxicology: translating between experimental models and human pathology. Environ Health Perspect 2011;119(10):1356-63.
29. Woods JS, Fowler BA. Effects of chronic arsenic exposure on hematopoietic function in adult mammalian liver. Environ Health Perspect. 1977;19:209-13.
30. Mallick P, Mallick JC, Guha B, Khuda-Bukhsh A. Ameliorating effect of microdoses of a potentized homeopathic drug, Arsenicum Album, on arsenic-induced toxicity in mice. BMC Complement Alternative Med 2003;3(1):1-7.
31. Muthumani M, Prabu SM. Silibinin potentially protects arsenic-induced oxidative hepatic dysfunction in rats. Toxicol Mechanisms Methods 2012;22(4):277-88.
32. Gaskill C, Miller LM, Mattoon J, Hoffmann W, Burton SA, Gelens HC, et al. Liver histopathology and liver and serum alanine aminotransferase and alkaline phosphatase activities in epileptic dogs receiving phenobarbital. Veterinary Pathol Online 2005;42(2):147-60.
33. Banerjee P, Bhattacharyya SS, Bhattacharjee N, Pathak S, Boujedaini N, Belon P, et al. Ascorbic acid combats arsenic-induced oxidative stress in mice liver. Ecotoxicol Environ safety 2009;72(2):639-49.
34. Abdel-Hameid N-AH. A protective effect of calcium carbonate against arsenic toxicity of the Nile catfish, Clarias gariepinus. Turkish J Fisheries Aquatic Sci 2009;9(2)191-200.
35. Markovich D, James KM. Heavy metals mercury, cadmium, and chromium inhibit the activity of the mammalian liver and kidney sulfate transporter sat-1. Toxicol Appl Pharmacol 1999;154(2):181-7.
36. Vutukuru SS, Prabhath NA, Raghavender M, Yerramilli A. Effect of arsenic and chromium on the serum amino-transferases activity in Indian major carp, Labeo rohita. Int J Environ Res Public Health 2007;4(3):224-7.
37. Chalasani N, Aljadhey H, Kesterson J, Murray MD, Hall SD. Patients with elevated liver enzymes are not at higher risk for statin hepatotoxicity. Gastroenterol 2004;126(5):1287-92.
38. Karmakar R, Mondal T, Saha B, Ban DK, Dey B, Dastidar PG, et al. Arsenic induced Biochemical perturbation in Swiss Albino Mice and Cytoprotective activities of Curcumin. Int J Environ Sci 2011;2(1):228-38.

39. Vallee BL, Falchuk KH. The biochemical basis of zinc physiology. Physiological Rev 1993;73(1):79-118.

40. Bettger WJ, O'Dell BL. Physiological roles of zinc in the plasma membrane of mammalian cells. J Nutr Biochemis 1993;4(4):194-207.

Original Article

INVESTIGATING THE CHANGES in SERUM CONCENTRATIONS ENZYMES RELATED TO LIVER FUNCTION (ALT, AST, LDH) OF CONTINUED ARSENIC use AND THE PROTECTIVE EFFECT OF ZINC ON LIVER ENZYMES IN RATS

Ziba Rezvanie Sechanie[1] , **Seyed** *Ali Asghar Moshtaghie*[2]*

Received: 11 Nov, 2015; Accepted: 19 Mar, 2016

Abstract

Background & Aims: Arsenic (As) is one of the toxic metals. Zinc (Zn) supplementation could have a protective effect against arsenic toxicity because of their antagonistic properties. In this study, the influence of Zn on toxicity that is caused by As on serum parameters related to liver function has been investigated.

Materials & Methods: In this experimental study, a total of 60 male Wistar rats were randomly allocated into ten groups. In a short-term period: group 1 was the control, group 2, and 3 received 40 and 80 mg/l As sodium, group 4 received 40 mg/l Zn, and group 5 received 40 mg/l As sodium and zinc simultaneously. In a long-term period groups received half the dose of short-term period with oral administration. Blood samples were taken over a 15-day and 45-day period and serum enzymes of the liver were measured.

Results: The result showed that administration of four different doses of As sodium decreased the activity of lactate dehydrogenase, aspartate aminotransferase, and Aalanine aminotransferase compared to the control group. Moreover, the simultaneous use of As sodium with zinc increased the activity of lactate dehydrogenase, aspartate aminotransferase and Aalanine aminotransferase. ($P<0.05$)

Conclusion: Zinc supplementation can have protective effects against the toxicity caused by As on serum enzymes liver.

Keywords: Arsenic, Liver function, Zinc

Address: Department of Biochemistry, Faculty of Basic Science, Falavarjan Branch, Isfahan, Iran
Tel**:** +98 913 111 7564
Email**:** moshtaghie@pharm.mui.ac.ir

SOURCE: URMIA MED J 2016: 27(1): 60 ISSN: 1027-3727

[1] *Department of Biochemistry, Falavarjan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran*
[2] *Department of Biochemistry, Falavarjan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran (Corresponding Author)*