Archive of SID

تأثیر گالیم بر پارامترهای مربوط به متابولیسم آهن: نمونه حیوانی

دکتر احمد موحدیان[1]؛ دکتر سید علی‌اصغر مشتاقی

چکیده مقاله.

مقدمه. عنصر گالیم در امور تصویربرداری و درمانی بیماریها خصوصاً سرطانها، سالهاست که در علوم پزشکی مورد استفاده قرار می‌گیرد. احتمال تداخل گالیم در متابولیسم آهن و ممانعت از شرکت آن در متابولیسم سلولی مطرح شده است. مطالعهٔ حاضر برای بررسی این احتمال طراحی شده است.

روشها. به ازای هر آزمایش تعداد ۵ رات انتخاب و پس از تزریق داخل صفاقی نیترات گالیم به میزان ۵۰ mg/kg وزن بدن به مدت ۱۰ روز و ۱۰ mg/kg وزن بدن به مدت ۳۰ و ۶۰ روز نمونه‌گیری انجام و پارامترهای مربوط به متابولیسم آهن با استفاده از تکنیکهای اسپکتروفتومتریک و ایمونوآفینتی کروماتوگرافی مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج. گالیم پس از تزریق داخل صفاقی در سرم خون عمدتاً به صورت متصل به ترانسفرین می‌باشد. تزریق روزانه گالیم به صورت نیترات گالیم به مقدار ۵۰ mg/kg وزن بدن رات به مدت ۱۰ روز باعث کاهش آهن، ظرفیت تام اتصال آهن (Total Iron Binding Capacity) TIBC، هموگلوبین و هماتوکریت به مقدار ۵۷، ۳۷، ۳۰ و ۲۹ درصد نسبت به کنترل گردیده است. درصد اشباع ترانسفرین به میزان ۳۰ درصد کاهش یافته است. تزریق بلند مدت گالیم به میزان ۱۰ mg/kg وزن بدن به مدت ۳۰ و ۶۰ روز نیز باعث کاهش چشمگیر پارامترهای فوق گردیده است.

بحث. گالیم می‌تواند در متابولیسم آهن دخالت نموده و سبب بروز اختلالات متابولیسمی در راههای بیوشیمیایی مربوط به متابولیسم آهن گردد. به هر حال برای پی‌بردن به مکانیسم دقیق اثرات گالیم بر متابولیسم آهن نیاز به تحقیقات وسیعتری مخصوصاً در سطح پلاسما و داخل سلول می‌باشد.

● *واژه‌های کلیدی.* گالیم، آهن، ترانسفرین، ایمونوآفینتی کروماتوگرافی.

مقدمه.

ترانسفرین، پروتئین حامل آهن در پلاسما، دارای دو جایگاه اتصال برای آهن بوده و توانایی متصل کردن سایر فلزات را نیز دارد (۱). در شرایط فیزیولوژیک، تنها $\frac{1}{3}$ ترانسفرین با آهن اشباع شده و بنابراین توانایی آن برای متصل کردن سایر فلزات می‌تواند عاملی برای ایجاد اختلالات کلینیکی باشد (۱). به عنوان مثال، مطالعات انجام شده نشان داده است که عوارض بالینی ناشی از مسمومیت با آلومینیم در بیماران دیالیزی عمدتاً در ارتباط با اتصال آن به ترانسفرین می‌باشد (۲). یکی از عوارض مسمومیت با آلومینیم در این بیماران، کم خونی میکروسیتیک بوده که در نتیجه تداخل آن با متابولیسم آهن می‌باشد (۲). کادمیم نیز با اتصال به ترانسفرین در راه متابولیسمی آهن تداخل می‌نماید (۳).

امروزه از گالیم رادیواکتیو برای تشخیص محل بافت سرطانی استفاده می‌گردد (۴). مطالعات In vitro نشان داده است که گالیم دارای اثر مهاری بر رشد سلولهای سرطانی می‌باشد (۵). قابلیت تجمع گالیم در بافتهای سرطانی همراه با مشاهدات اثرات ضد سرطانی آن باعث گردید که تحقیقات وسیعی برروی اثرات شیمی درمانی نیترات گالیم انجام گرفته و به دنبال آن اثرات ضد سرطانی این عنصر در بسیاری از مدلهای حیوانی به تأیید رسید (۵). مطالعات انجام شده در این مورد حاکی از آن است که نیترات گالیم در درمان بیماریهای سرطانی مختلف، به خصوص آنهایی که همراه با هیپرکلسیمی باشد، مؤثر بوده است (۶-۹). تاکنون مکانیسم‌های متفاوتی برای تجمع گالیم در بافتهای سرطانی و اثرات مهاری آن بر رشد سلولی پیشنهاد شده است. یکی از این مکانیسم‌ها، جلوگیری از شرکت آهن در فرآیندهای متابولیسم سلولی وابسته به آن می‌باشد (۱۰). با توجه به مطالب فوق و اینکه گالیم از نظر خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خصوصاً شعاع یونی، بسیار مشابه با آهن بوده و بنابراین می‌تواند با متابولیسم آهن تداخل نماید، اثرات کوتاه و دراز مدت این عنصر بر پارامترهای مربوط به متابولیسم آهن در رات مورد مطالعه و بررسی قرار گرفت.

روشها.

در این مطالعه از موشهای صحرایی نر (Rat) با نام علمی Rattus Norvegicous Allivius از نژاد Wistar استفاده شد.

حیوانات از انستیتو پاستور تهران دریافت و در اطاق حیوانات با شرایط استاندارد (نور، درجه حرارت و تغذیه) نگهداری شدند. گالیم به فرم ملح نیترات گالیم و به صورت داخل صفاقی در دو دوره کوتاه مدت ۱۰ روزه به مقدار ۵۰ mg/kg وزن بدن (روزانه) و دوره بلند مدت ۳۰ و ۶۰ روزه به مقدار ۱۰ mg/kg وزن بدن (یک روز در میان) تزریق گردید. نیترات گالیم در محلول سرم فیزیولوژی تهیه و در گروه شاهد فقط از سرم فیزیولوژی استفاده شد. تعداد راتها در گروههای شاهد و مورد آزمایش ۵ عدد بود. پس از پایان تزریقات، حیوانات با اتر بیهوش شده و خون به طور مستقیم از قلب آنها گرفته

۱- گروه بیوشیمی، دانشکده داروسازی و علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی استان اصفهان، اصفهان.

www.SID.ir

Archive of SID

شد. پس از لخته شدن خون، سرم آن توسط سانتریفوژ جدا شده و برای اندازه‌گیری پارامترهای بیوشیمیایی بررسی گردید.

آهن، UIBC (Unsaturate Iron Binding Capacity) و TIBC به طریقه اسپکتروفتومتری با استفاده از روش Fairbanks اندازه‌گیری گردید (۱۱). اندازه‌گیری هماتوکریت با استفاده از خون تام و دستگاه میکروهماتوکریت انجام شده و گالیم به روش جذب اتمی بدون شعله (Flameless Atomic Absorption) اندازه‌گیری گردید. فراکسیونهای حاوی ترانسفرین در سرم به روش Immunoaffinity Chromatography جداسازی شدند (۱۲). اختلاف بین میانگین مقادیر به دست آمده در دو گروه مورد آزمایش و کنترل با آزمون Student's t-test مقایسه شد.

نتایج.

● **جداسازی کمپلکس گالیم - ترانسفرین از سرم رات.** به منظور بررسی این موضوع که آیا ترانسفرین سرم پس از تزریق گالیم به راتها، قادر به برداشت آن می‌باشد یا خیر، فراکسیونهای حاوی ترانسفرین در سرم راتهایی که گالیم (به فرم نیترات) به مقدار ۱۰ mg/kg به آنها تزریق شده بود، با استفاده از ستون حاوی آنتی‌ترانسفرین جداسازی شد. نتایج حاصل نشان می‌دهد که در فراکسیونهای حاوی ترانسفرین، با افزایش مقدار ترانسفرین، مقدار گالیم نیز افزایش می‌یابد (نمودار ۱). این موضوع حاکی از آن است که احتمالاً بخشی از گالیم موجود در سرم به ترانسفرین متصل گردیده است.

● **اثرات گالیم بر پارامترهای مربوط به متابولیسم آهن در سرم.** در این بخش از مطالعات، اثرات کوتاه مدت و بلند مدت گالیم بر پارامترهای مربوط به متابولیسم آهن مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل نشان داده است که تزریق داخل صفاقی گالیم به صورت نیترات گالیم با دوز ۵۰ mg/kg به مدت ۱۰ روز باعث کاهش معنی‌دار مقدار آهن، TIBC، هموگلوبین (Hb) و هماتوکریت (Hct) سرم به ترتیب به مقدار ۵۷، ۳۷، ۳۰ و ۲۹ درصد نسبت به گروه کنترل شده است ($P<0/005$).

این نتایج نشان می‌دهد که درصد اشباع ترانسفرین و نیز مقدار ترانسفرین سرم نسبت به گروه شاهد به مقدار ۳۰ و ۳۷ درصد کاهش یافته است (جدول ۱).

تزریق داخل صفاقی گالیم به صورت نیترات گالیم با دوز ۱۰ mg/kg به مدت ۳۰ روز باعث کاهش آهن، TIBC، Hb و Hct سرم به ترتیب به مقدار ۳۷، ۲۲، ۲۵ و ۲۵ درصد گردیده ($P<0/005$) و به مدت ۶۰ روز باعث کاهش فاکتورهای فوق در سرم به ترتیب به مقدار ۴۸، ۳۱، ۳۵ و ۳۴ درصد گردیده است. درصد اشباع ترانسفرین و همچنین مقدار آن در سرم گروههای مزمن نیز کاهش یافته است (جدول ۲).

جدول ۱. مقایسه اثرات کوتاه مدت گالیم بر فاکتورهای خونی مربوط به متابولیسم آهن نسبت به کنترل.

گروه حیوانات	Fe (μg/dl)	TIBC (μg/dl)	UIBC (μg/dl)	Hb (g/d)	Hct (%)	Tr (mg/dl)	اشباع (%)
گروه کنترل	۱۴۹±۱۴	۴۹۰±۴۶	۳۴۱±۳۸	۱۵/۱±۱/۷	۴۵±۴	۳۴۳±۳۲	۳۰
گروه آزمایش	۶۴±۹*	۳۰۹±۳۱*	۲۴۵±۳۱*	۱۰/۵±۱/۳*	۳۲±۳*	۲۱۶±۲۱*	۲۱

گالیم به صورت نیترات گالیم با دوز mg/kg ۵۰ بمدت ۱۰ روز تزریق گردیده است. * ($P<0/005$)

جدول ۲. مقایسه اثرات دراز مدت گالیم بر فاکتورهای خونی مربوط به متابولیسم آهن نسبت به کنترل.

گروه حیوانات	Fe (μg/dl)	TIBC (μg/dl)	UIBC (μg/dl)	Hb (g/d)	Hct (%)	Tr (mg/dl)	اشباع (%)
کنترل	۱۵۱±۱۳	۴۸۵±۴۳	۳۴۱±۳۱	۱۴/۹±۱/۵	۴۴±۳	۳۳۹±۳۲	۳۱
آزمایش (۳۰ روزه)	۹۴±۱۱*	۳۸۲±۳۲*	۲۸۸±۳۱*	۱۱/۳±۱/۵*	۳۴±۴*	۲۶۷±۲۸*	۲۵
آزمایش (۶۰ روزه)	۷۷±۸*	۳۳۸±۲۹*	۲۶۱±۲۷*	۹/۸±۱/۷*	۳۰±۳*	۲۳۷±۲۳*	۲۲

گالیم به صورت نیترات گالیم با دوز mg/kg ۱۰ برای مدت ۳۰ و ۶۰ به صورت یک روز در میان تزریق گردیده است. * ($P<0/005$)

بحث.

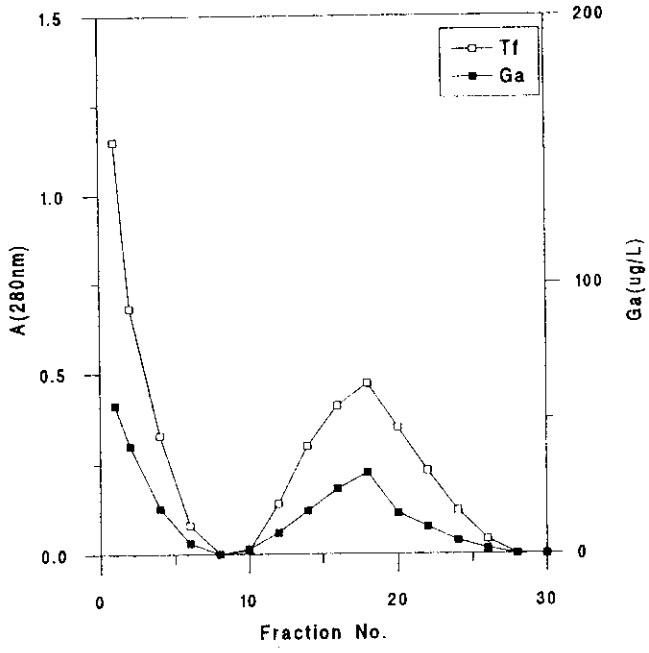
مطالعات انجام شده نشان می‌دهد که عناصر مختلف می‌توانند با اتصال به بیومولکولها و یا به علت شباهت ساختمانی با عناصر کمیاب ضروری با جانشین شدن به جای آنها، مسیرهای متابولیسمی مربوط را مختل نمایند (۱۳). تأثیر متقابل بعضی از این عناصر نظیر آلومینیم و کادمیم بر فرایندهای متابولیسمی حاکی از ارتباط مستقیم آنها با بیماریهای استخوانی، عصبی و آنمی در بیماران مزمن کلیوی (CRF) می‌باشد (۲، ۳).

گالیم به علت شباهت ساختمانی زیاد با آهن پس از ورود به بدن

www.SID.ir

Archive of SID

از راههای مختلف، احتمالاً به پروتئینهای پلاسما از جمله ترانسفرین متصل شده و به بافتهای مختلف می‌رسد. در این مطالعه، نتایج حاصل از آزمایشات Immunoaffinity Chromatography نشان داده است که در فراکسیونهای سرم حاوی ترانسفرین، مقدار گالیم نیز افزایش یافته است، لذا می‌توان گفت احتمالاً بخش اعظم گالیم موجود در سرم به مولکول ترانسفرین اتصال یافته است (نمودار ۱).



نمودار ۱. جداسازی ترانسفرین از سرم رات مورد تزریق با گالیم توسط کروماتوگرافی میل ترکیبی (Immuno Affinity Chromatography)

مطالعات انجام شده در این مورد حاکی از آن است که گالیم پس از جذب، وارد جریان خون شده و به وسیله اتصال به پروتئین‌های پلاسما انتقال می‌یابد (۱۴). این مطالعات نشان داده است که گالیم می‌تواند به لاکتوفرین، سیدروفورها و یک گلیکوپروتئینی با وزن 5×10^4 دالتون که در بافتهای سرطانی موجود است، اتصال یابد (۱۴). بنابراین، با توجه به شباهت فیزیکی و شیمیایی لاکتوفرین و ترانسفرین این احتمال وجود دارد که گالیم نیز بتواند به مولکول ترانسفرین اتصال یابد. محققان معتقدند که آهن اهمیت بسیار زیادی در فعالیت آنزیم ریبونوکلئوتید ردوکتاز در هسته سلولی دارد. این آنزیم یک واکنش محدود کننده سرعت در سنتز DNA را کاتالیز می‌نماید (۱۵). مطالعات انجام شده نشان داده است که اثر مهاری گالیم بر رشد سلول می‌تواند از طریق ممانعت رسیدن آهن به داخل سلول و در نتیجه کاهش ورود آن به داخل هسته سلولی و بالاخره کاهش فعالیت آنزیم فوق باشد (۱۰). نتایج حاصل از این تحقیق اثرات تداخلی گالیم با متابولیسم آهن را به خوبی نشان می‌دهد. نتایج مندرج در جدولهای ۱ و ۲ حاکی از کاهش شدید فاکتورهای مربوط به متابولیسم آهن، نظیر آهن، TIBC، هموگلوبین و هماتوکریت در سرم راتهایی که به صورت حاد و مزمن مورد تزریق داخل صفاقی با گالیم بوده‌اند، می‌باشد. کاهش آهن سرم متعاقب تزریق گالیم به احتمال زیاد مربوط به تداخل گالیم با متابولیسم آهن در سطح پلاسما می‌باشد به طوری که احتمالاً گالیم پس از ورود به خون به ترانسفرین متصل شده و جایگاههای اتصال آهن را در آن اشغال می‌نماید. در نتیجه آهن به صورت آزاد و یا به صورت کمپلکس با مولکولهای با وزن مولکولی کم (LMW) در آمده که سریعاً از طریق کلیه‌ها دفع می‌گردند. با وجود اینکه معمولاً کاهش آهن سرم همراه با افزایش TIBC می‌باشد، نتایج حاصل از این تحقیق حاکی از کاهش توأم آهن و TIBC است (جدول ۱ و ۲). کاهش توأم آهن و TIBC احتمالاً به خاطر اثرات گالیم بر میزان سنتز پروتئین در کبد می‌باشد. از طرفی با وجود این که مقدار آهن سرم کاهش یافته است، باید در نظر داشت که مقدار آهن قابل فیلتر شده بیشتر گردیده و احتمالاً همین افزایش ممکن است به صورت پس نورد منفی باعث کاهش سنتز ترانسفرین شود. کاهش هموگلوبین و هماتوکریت متعاقب مصرف گالیم در دوره‌های کوتاه مدت و بلند مدت نیز نشان از تداخل گالیم بر متابولیسم آهن در محل سنتز Heme می‌باشد (جدول ۱ و ۲). این نتایج حاکی از آنستکه تغییرات ایجاد شده وابسته به دوز و زمان تجویز گالیم نیز می‌باشد (جدول ۱ و ۲).

البته کاهش آهن سرم خود موجب کاسته شدن سنتز Heme و در نتیجه کاهش بیوسنتز هموگلوبین می‌گردد. با این وجود، ممکن است گالیم مستقیماً بر سنتز آنزیمهای شرکت کننده در متابولیسم Heme اثر گذاشته و بیوسنتز آن را مختل نماید. مطالعات انجام شده نشان می‌دهد که فعالیت آنزیم فروکلاتاز میتوکندریایی که یکی از آنزیمهای کلیدی در بیوسنتز Heme می‌باشد، توسط بعضی از عناصر، مانند کبالت، روی ، سرب و منگنز مهار می‌گردد (۱۶). مطالعات دیگر انجام شده در این مورد نیز نشان داده است که تولید هموگلوبین توسط سلولهای اریتروسیت در شرایط آزمایشگاهی توسط گالیم مهار گردیده است ولی این که آیا این اثر مهاری از طریق تأثیر در بیوسنتز Heme یا کاتابولیسم آن و یا هر دو باشد، مشخص نیست (۱۷).

به طور کلی نتایج حاصل از این پروژه حاکی از اثرات تداخلی گالیم بر متابولیسم آهن می‌باشد. با این وجود، برای پی‌بردن به مکانیسم دقیق این اثرات نیاز به تحقیقات بیشتری مخصوصاً مراحل مختلف متابولیسم آهن در سطح پلاسما و داخل سلول می‌باشد.

www.SID.ir

Archive of SID

مراجع

1- De Jong G, Van Dijk JP, Van Eijk HG. The biology of transferrin. Clinica Chemica Acta 1990; 190: 4-6.

2- Moshtaghie AA. Al toxicity: A review in relation to chronic renal failure patients maintained on regular hemodialysis. Med JIRI 1993; 7: 63-71.

3- Moshtaghie AA, Taghikhani M, Sandughchin M. Cd interaction with Fe metabolism, In vitro and In vivo studies. Clin Chem Enzym Com 1997; 7: 307-16.

4- Foster BJ, Clagett K, Leyland B. Gallium nitrate: The second metal with clinical activity. Cancer Treat 1988; 70: 1311-19.

5- Johnston GS. Clinical application of gallium in oncology. Int J Nucl Med Biol 1981; 8: 249-55.

6- Warrell Jr, Isaacs M, Bockman RS. Metabolic effects of Ga-nitrate administered by prolonged infusion. Cancer Treat Rep 1985; 69: 653-55.

7- Warrell RP, Bosco B, Weinerman S. Ga-nitrate for advanced paget disease of bone. Ann Int Med 1990; 113: 847-51.

8- Collery P, Morel M, Millart H. Oral administration of Ga in conjunction with Pt in lung cancer treatment. In: Metal ions in biology and medicine. Parris: John Libbey Eurolext 1990: 437-42

9- Warrell RP, Murphy WK, Schulman P. A randomized double-blind study of Ga-nitrate compared to etidronate for acute control of cancer - related hypercalcemia. J Clin Oncol 1991; 19: 1467-75.

10- Chitambar CR, Narasimhan J, Guy J. Inhibition of rebonucleotide reductase by Ga in murine leukemic L120 cells. Cancer Res 1991; 51: 6199-201.

11- Fairbanks VF. Laboratory testing for iron status. Hosp Pract 1991; 26:17-24.

12- Moshtaghie AA, Jahromi M. Identification of transferrin in cytosol isolated from intestinal mucosal cells. Biochem Soc Trans 1992; 21: 71-4.

13- Tsukkamoto Y. Disturbances of trace element concentration in plasma of patients with chronic renal failure. Nephron 1980; 26: 174-9.

14- Hayes RL. The interaction of Ga with biological systems. Int J Nucl Med Biol 1983; 10: 257-61.

15- Engstrom Y, Eriksson S, Thelander L. Ribonucleotide reductase from calf thymus. Purification and properties, Biochemistry 1979; 18: 2941-46.

16- Labbe RF, Hubbard N. Properties of the Fe-protoporphyrin chelating enzyme. BBA 1991; 52: 130-5.

17- Christopher R, Chitambar CR, Zivkovic Z. Inhibition of hemoglobin production by transferrin-Ga. Blood 1987; 69: 144-9

www.SID.ir