اثر گالیم بر پارامترهای بیلیروبین و آمینوترانسفرازها در موش صحرایی

مرْ گان قاری پور * ؛ دکتر سید علی اصغر مشتاقی ** ؛ دکتر احمد موحدیان **؛ دکتر بابک ثابت ***

چکیده :

سابقه و هدف: عنصر گالیم در تصویربرداری پزشکی و شیمی درمانی مورد استفاده قرارمی گیرد. از آنجا که تجمع گالیم در کبد به اثبات رسیده است و هنوز گزارشی مبنی بر تأثیر گالیم در پارامترهای فعالیت کبدی از جمله آمینوترانسفرازها و بیلیروبین موجودنیست، مطالعهٔ حاضر برای یافتن چگونگی تأثیرات گالیم در درازمدت و بررسی مکانیسم آن طراحی شده است. مواد و روش ها:مطالعه به شیوه تجربی از نوع شاهددار انجام گرفت. ۷ گروه ۵ تایی موش صحرایی انتخاب شدند و پس از تزریق داخل صفاقی گالیم در دوزهای ۵، ۱۰ و ۱۳ سرسی قرار گرفتند.

یافته ها: نتایج بددست آمده پس از ۳۰ روز تیمار حاکی از افزایش فعالیت آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) در گروه بهمیزان (ALT) برد. استرای اس

كليدواژهها: كاليم، بيليروبين، آمينوترانسفرازها، موش صحرايي.

^{*} فوق ليسانس بيوشيمي باليني، مركز تحقيقات قلب و عروق اصفهان، دانشگاه علوم پزشكي اصفهان.

^{**} PhD بيوشيمي باليني و عضو هيأت علمي گروه بيوشيمي، دانشكدهٔ داروسازي و علوم دارويي و دانشگاه علوم پزشكي اصفهان.

^{***} پزشک عمومی.

^{*} عهده دار مكاتبات: اصفهان، مركز تحقيقات قلب و عروق اصفهان، تلفن: ٤٤٦٠٨٠٧-٢١١٥

مقدمه:

امروزه گالیم، به عنوان عنصری با خواص سیتو توکسیک در درمان انواع تومورها از جمله تومورهای اوروتليال، ريه، كولون، پستان و ... كاربرد دارد (١). از سوی دیگر، این عنصر در شکل رادیواکتیو برای اسكن كردن استخوانها و تومورها مورد استفاده قرارمی گیرد(۲). گالیم به صورت ترکیب با نمکهای مختلف از جمله کلراید، سیترات و نیترات مصرفمی گردد. در مطالعات انجام شده نشان داده شده که گالیم از طریق رودهای به صورت انتقال غیرفعال (بدون صرف انرژی) جذب و آنگاه به پروتئینهای ناقل پلاسمایی از جمله سیدروفورها، لاکتوفرین و ترانسفرین متصل می گردد (۳و٤) که این اتصال تا زمان اشباع شدن پروتئین های مذکور ادامه می یابد. سپس کمپلکس پروتئین_گالیم با واسطه رسپتور سلولی وارد سلول می گردد. در مطالعات نشانداده شده که گالیم پس از ورود به سلول بهترتیب در ليزوزمها، هسته و ميتوكندرى سلولهاى بافت نرمال و سرطانی جای می گیرد(٥). نوع نمک در برداشت گالیم مؤثراست(٦). مشخص شده که پس از پلاسما، كبد دومين بافت مورد انتخاب گاليم مي باشد (٧). گالیم پس از ورود به سلول سبب تداخل در متابولیسم آهن می شود (۸) و از سوی دیگر، با تأثیر در آنزیم ریبونوکلئوتیدردوکتاز سبب مهار پرولیفراسیون سلولها می گردد (۹). گالیم با تمایل به اتصال به گروه سولفهیدریل(SH-) پروتئینها می تواند سبب توقف بسیاری از مکانیسمهای انتقالی گردد (۱۰). باتوجه به تمایل گالیم به تجمع در سلولهای کبدی و اثر افزایندهای که بر مقادیر سرمی

آلکالن فسفاتاز کبدی دارد(۱۱)، در مطالعهٔ حاضر اثر گالیم بر بیلیروبین و آمینوترانسفرازها که ازجمله شاخصهای عملکردکبدی هستند، بررسی میشود. دراین مطالعه سعی شده است مکانیسم مناسبی از نحوه تأثیر گالیم در سلول کبدی ارائه گردد.

مواد و روشها:

این مطالعه از نوع تجربی شاهددار می باشد که در آن از موشهای صحرایی نر (Rat) بانام علمی Wistar از نژاد Rattus Norvegicous Allivius استفاده شده است. حيوانات از انستيتو پاستور تهران خریداری و در اطاق حیوانات تحت شرایط استاندارد از لحاظ نور وحرارت و تغذیه نگهداری شدند. گالیم به فرم نمک نیترات گالیم از کارخانه سیگمای آلمان تهیه گشت ومحلول نیترات گالیم درسرم فیزیولوژی باغلظت ۱۰۰ mg/kg (دوز LD₅₀) تهیه و سپس دوزهای مختلف از آن ساخته شد و به صورت داخل صفاقی در دورهٔ بلندمدت ۳۰ و ۲۰ روزه به مقادیر ۵،۰۱و ۱٥mg/kg.B.W (به صورت یک روز در میان) تزریق گردید. در گروه شاهد فقط از سرم فیزیولوژی ۰/۸ ml/kg استفاده شد. حجم نهایی تزریق در کلیه گروهها ۲ml بود. تعداد موشها باتوجه بهمطالعات قبلی در گروههای شاهد و مورد آزمایش ۵ سر بود. پس از پایان تزریقات، حیوانات با اتر بیهوش شدند و خون از طریق زدن شاهرگ جمع آوری گشت. بعد از لخته شدن خون، سرم آن توسط سانتریفوژ جدا شد و برای اندازهگیری پارامترهای بیوشیمیایی مورد استفاده قرار گرفت. فعالیت آمینو ترانسفرازها و میزان انواع بیلیروبین با شیوهٔ اسپکتروفتومتری به وسیله

(11)

دستگاه Perkin-Elmier UV/Vis ساخت آلمان اندازه گیری شد(۱۲و۱۳). میانگین مقادیر بهدستآمده در گروه شاهد و گروههای مورد آزمایش با کمک آزمون آنالیز واریانس (ANOVA) با پسآزمون P<-۱/۰۵ مقایسه شد و از لحاظ آماری ۲۷/۰۵ معنادار تلقی گردید.

يافتهها:

مصرف گالیم در مقادیر ۱۰،۵و ۱۰mg/kg.B.W به مصرف گالیم در مقادیر ۲۰،۵ و مدت ۳۰ روز به ترتیب سبب۱۷٪ کاهش و ۱/۹۵٪ و

۲۰/۲۲ افزایش فعالیت آسپارتات آمینوترانسفراز گردید و به مدت ۲۰ روز بهترتیب سبب ۰/۰٪ افزایر افزایش فعالیت آنزیم نسبت ۱۰/۲۹ برابر و ۱۰/۳برابر افزایش فعالیت آنزیم نسبت به گروه شاهد شد. مصرف گالیم در مقادیر ۱۰٬۵۸۵ و ۱۰/۳۸ به مدت ۳۰ روز به ترتیب سبب ۱۸/۰٬۸۸۸ و ۱۲/۳۸ درصد افزایش فعالیت آلانین آمینوترانسفراز و مصرف همین مقادیر از گالیم به مدت ۲۰ روز سبب ۱۲/۷۷٪، ۱۱/۱برابر و ۱۹/۰۰برابر افزایش فعالیت آنزیم مذکور گردید (۱۰/۰۰)

جدولاً – مطالعه اثرات درازمدت گالیم بر مقادیر آسپارتات آمینوتراسفراز و آلانین آمینو ترانسفراز.

P-Value								ميزان گاليم		
شاهد	روزه	آزمایش ۲۰		گروه آزمایش ۳۰روزه			Mean±SD	تزریقی	گروه	آنزيم
•	10	1.	٥	10	١٠	٥		mg/kg .B .W		·
•/٩٩	•/•••	•/•••	•/99	•/•٣٧	•/99	-	VV/\V _* T/\V	٥	آزمایش ۳۰روزه	
•/99	•/•••1	•/•••1	•/9/	٠/٠١٦	-	•/٩٩	٧٦/•٣± ٨/• ١	١.		اسپارتات آمینو ترانسفراز
•/•٣٣	•/•••1	•/•••1	•/1•£	_	•/•17	•/•٣٧	*1・9±٤/۲٦	١٥		
•/99	•/•••	•/•••	_	•/1•£	•/9/	•/99	*A1/0V ±Y /A	٥	آزمایش ۲۰روزه	
•/•••1	•/•••	-	•/•••	•/•••	•/•••	•/•••	*****/•V±*/.\•/o*	١٠		
•/•••1	-	•/•••1	•/•••	•/•••1	•/•••1	•/•••1	* *\\/・・± ٨/٦٧	١٥		
_	•/•••	•/•••1	•/99	•/•٣٣	•/٩٩	•/99	٧٧/٥٤±/.٦٦	•	شاهد	
•/٩٩	•/•••	•/•••1	•/•٣٦	•/9٧	•/٩٩	-	01/10±1/9£	٥	آزمایش ۳۰۰وزه	آلانين آمينوترانسفراز
•/٩٩	•/•••	•/•••1	•/•٤٩	•/9/	_	•/99	0Y/\\±\\\\	١٠		
•/٩٦	•/•••1	•/•••1	•/٢٣	_	•/91	•/9٧	*07/9A <u>+</u> 0/97	١٥		
•/•٣٣	•/•••1	•/•••1	-	•/٢٣	•/•٤٩	•/•٣٦	*V\/AA±/.0/0£	٥	آزمایش ۲۰روزه	
•/•••1	•/•••1	-	•/•••	•/•••1	•/•••1	•/•••1	*1•9/0•±1/91	١٠		
•/•••1	-	•/•••1	•/•••1	•/•••1	•/•••1	•/•••1	***07/70±1*/**	١٥		
_	•/•••	•/•••1	•/•٣٣	•/97	•/99	•/99	0 · / V · ± · / ٤٤	•	شاهد	

P<•/•0 *

جدولY- مطالعه اثرات درازمدت گالیم بر مقادیر بیلیروبین توتال و مستقیم سرمی.

P-Value							بيليروبين	ميزان گاليم		
شاهد	گروه آزمایش ۲۰روزه			گروه آزمایش ۳۰روزه			mg/dl	تزری <i>قی</i>	گروه	
•	10	1.	٥	10	1.	٥		mg/kg .B .W		
•/YEV	•/•••1	•/•••	•/•••1	•/•••1	•/•••1	-	*•/\•\±•/•\٩	٥	آزمايش	
•/•••1	•/•••1	•/•••	•/99	•/•٢٥	_	•/•••1	*•/ \ 9 <u>\</u> ±•/• \ ٦	١٠	يش٠٠٠وزه	
•/•••1	•/•••1	•/•••1	•/•٢	-	•/•٢٥	•/•••1	*•/YOA±•/•\A	10	وزه	ا الم
•/•••1	•/•••	•/•••1	-	•/•٢	•/99	•/•••1	*•/199±•/• ۲ ٣	٥	آزما:	بيليروبين توتال
•/•••1	•/٣٦	-	•/•••1	•/•••	•/•••	•/•••	*•/٦٦•±•/•٤٦	1.	آزمایش ۲۰روزه	على ا
•/•••1	-	•/٣٦	•/•••1	•/•••1	•/•••	•/•••	*•/٦٩• ± •/•٨٦	10	وزه	
_	•/•••1	•/•••1	•/•••1	•/•••1	•/•••1	•/ Y £V	•/• ٦٩±• /•• ٧	•	شاهد	
•/٩•٤	•/•••	•/•••1	•/171	•/•••1	•/٤09	-	*•/9 *± •/•1 *	٥	آزما:	
•/•٥٦	•/•••1	•/•••	·/9A£	•/•••	-	•/٤٥٩	*•/\ ٣ •±•/• ٢ ٢	1.	آزمايش ۳۰روزه	
•/•••1	•/•••1	•/۲۹٣	•/••1	-	•/•••	•/•••	*•/٢٣٥±•/•٢٦	10	وزه	بيليرو
•/••٨	•/•••1	•/•••	_	•/••1	·/9A£	•/١٢١	*•/\٤V±•/• ٣ ٩	٥	آزما:	بيلير وبين مستقيم
•/•••1	•/•• £	_	•/•••1	•/۲۹٣	•/•••	•/•••	*•/٣\٣±•/•٤0	1.	آزمایش ۲۰روزه	يهتا
•/•••1	-	•/••٤	•/•••1	•/•••	•/•••	•/•••	*•/٣ ٧ ٢±•/• ٢ ٢	10	وزه	
-	•/•••1	•/•••	•/••٨	•/•••1	•/•٥٦	•/9•£	•/• ٧ ₹±•/••A	•	شاهد	

P<•/•0 *

سبب افزایش بیلیروبین کل به میزان ۵۳/٦٦٪، گردید(P<٠/٠٥) (جدول ۲). ۱/۸۷ برابر و ۲/۷۳ برابر گردید و پس از ۲۰ روز تیمار نیز به مقدار ۲/۲۱برابر ، ۸/۵۵برابر و ۹برابر افزایش بحث: بیلیروبین کل مشاهده شد(P<•/•٥). در گروه آزمایش ۳۰روزه با تزریق گالیم بهمقادیر ۵، ۱۰و ۱٥mg/kg.B.W به ترتیب ۱۸۰/۵۵ (۲۹/۱۷) و ٢/٢٦برابر افزايش بيليروبين مستقيم مشاهده شد و درگروه آزمایش ٦٠ روزه نیز بهازای تزریق همین مقادیر گالیم به تر تیب ۱/۰۶ برابر، ۳/۳۵ برابر

تزریق گالیم در مقادیر مذکور به مدت ۳۰ روز و ۱۷/۶برابر افزایش بیلیروبین مستقیم مشاهده

این مطالعه نشانداد که گالیم سبب افزایش مقاديرسرمى آمينوترانسفرازها و نيز انواع بيليروبين مى شود. نتايج Mathovic و همكارانش نيز درسال ۱۹۹۰ افزایش آلکالنفسفاتاز سرمی را گزارش نمودند(١٤). مطالعهٔ قبلی ما نیز افزایش آلکالن فسفاتاز سرمی را با منشأ كبدى تأييد كرد(١١). هنوز

گزارشی مبنی بر نتیجهٔ اثر گالیم بر فاکتورهای کبدی ارائه نشده است. مطالعات انجام شده نشان میدهند که عناصر مختلف می توانند با اتصال به بیومولکولها و یا به علت شباهت ساختمانی با عناصر کمیاب ضروری با جانشین شدن به جای آنها، مسیرهای متابولیسمی مربوطه را مختلنمایند(۱۵). مکانیسم جایگزینی گالیم در بافت به این صورت است که پس از ورود به بدن با عبور از میان غشای اپی تلیال روده توسط پروتئینهای ناقل انتقال و در بافتهایی که واجد رسپتورهای اختصاصی بیشتری برای این پروتئینهای ناقل از جمله ترانسفرین و سیدروفورها هستند، تجمع می یابد (۱٦). هپاتوسیت های کبدی باتوجه به تراکم بالای رسپتورهای ترانسفرینی در سطح خود یکی از مناطق تراکم گالیم محسوب می شوند (۱۷و ۱۸). مطالعات جدید ترانسفرین را در برداشت گالیم از روده مؤثر می دانند، اما عقیده بر این است که در ورود گالیم به هپاتوسیت نقشی ندارد. گالیم پس از ورود به بافت ابتدا در ماتریکس خارج سلولی و سپس در داخل سلول انباشته می شود. وجود آهن سهظرفیتی در خون باعث كاهش برداشت گاليم توسط هپاتوسيتها مي گردد (۱۹). مهمترین اثر سلولی آن مهار فعالیت آنزیم ريبونو كلئوتيد ردوكتاز است كه باعث كاهش پرولیفراسیون سلولی می شود (۲۰) مطالعات دیگر نیز اثرتخریبی نیترات گالیم را بر کبد نشان دادهاند(۲۱). گالیم از طریق ترانسفرین انتقال می یابد و با اتصال به گروههای سولفهیدریلی SH- پمپ سدیم پتاسیم، عملکرد این پمپ را در سلول کبدی مختل مینماید (١٠). احتمالاً با اين مكانيسم انتقال صفرا بلوكه

می گردد. با باقی ماندن صفرا در فضای کانالیکولار، فشای هپاتوسیت به علت اثر دتر جنتی صفرا تخریب و نهایتاً منجر به افزایش آلانین آمینو ترانسفراز در سرم می شود. باادامهٔ مجاورت صفرا، غشای میتوکندری نیز دچار نشت شده، مقادیر افزوده ای از آسپارتات آمینو ترانسفراز از منابع سیتوزولی و میتوکندریایی به سرم رها می گردد. نتایج ما نشان داده است که در دورهٔ گروه های ۵ و ۱۰mg/kg.B.W نسبت به گروه شاهد گروه های ۵ و ۱۰ سبب ۱۰mg/kg.B.W مصرف ۱۰ میناداری نداشته اسب ۶/۰ برابر افزایش فعالیت آنزیم گردید. در دورهٔ ۲۰ روزه در مقادیر آنزیم گردید. در دورهٔ ۲۰ روزه در مقادیر ۱۰ مینادری به ترتیب ۱۰ مینادری ۱۰ مینادری در مقادیر مقادیر مقادیر ۱۰ مینادری به ترتیب ۱۰ مینادری در مقادیر مقادیر ۱۰ مینادری به ترتیب ۱۰ مینادری ۱۰ مینادری در مقادیر مقادیر ۱۰ مینادری به ترتیب ۱۰ مینادری ۱۰ مینادر مقادیر ۱۰ مینادر به ترتیب ۱۰ مینادر مقادیر ۱۰ مینادر به ترتیب ۱۰ مینادر در مقادیر ۱۰ مینادر به ترتیب ب

۳٬۰۱ برابر افزایش فعالیت آنزیم مذکور دیده شد. آلانین آمینوترانسفراز نیزدرهمین گروهها در دورهٔ ۲۰ روزه بهترتیب سبب ۱٬۱۲ و ۱٬۱۲ و ۱٬۹۲ و ۱٬۱۲ و ۱٬۲۲ و ۱٬۲ و ۱٬۲۲ و ۱٬۲ و ۱٬۲۲ و ۱٬۲۲ و ۱٬۲۲ و ۱٬۲۲ و ۱٬۲۲ و ۱٬۲ و ۱٬

برای درمان بیماری پاژه نشان دادهاند(۱۹). مقایسهٔ افزایش بیلیروبین و افزایش ساخت آلکالن فسفاتاز را دوز مصرفی ۱۰mg/kg.B.W نیز تأثیرات تجمعی به همراه دارد(۲۲). در مطالعه ما مشخص شد که گالیم را تأیید می کند. با ثابت نگه داشتن دارو و بیلیروبین کل تا حداکثر ۹ برابر و بیلیروبین مستقیم نیز دوبرابرکردن زمان تیمار، آنزیمهای ذکرشده تا ۱۷/۶برابر افزایش مییابد و تغییرات بیلیروبین به صورت تصاعد هندسی افزایش می یابند. دوز توتال و بیلیروبین مستقیم در کلیه گروه ها معنادار ۱٥mg/kg.B.W نيز همين نكته را تأييد مي كند. است. نتايج اين مطالعهٔ نشان داد كه گاليم مي تواند مطالعهٔ ما نشان می دهد که نکتهٔ مهم در مصرف تغییرات معنادار در مقادیر شاخصهای عملکرد درمانی گالیم در بیماری های بدخیم علاوه بر رعایت کبدی به وجود آورد. پیشنهادمی شود برای یافتن دوز دارو، توجه به مدت زمان تیمار نیز می باشد. از مکانیسم اختصاصی، تأثیر گالیم در هپاتوسیتها

سوی دیگر صفرا با تأثیرمیتوژنی خویش سبب تحت شرایط "In Vitro" موردمطالعه قرار گیرد. تغییرشکل هپاتوسیت به سلول صفراوی می شود که

References:

- 1. Farrar G, Morton A P, Blair JA. In proceedings of conference, heavy metal in the environment. 1987; 14: 535-537.
- 2. Foster BJ, Clagett K, Lryland B. Gallium nitrate: the second metal with clinical activity. Cancer Treat 1988; 70: 1311-19.
- 3. Chitambor CR, Sax D. Regulatory effects of Gallium on transferrin independent iron uptake by human leukemic HL60 cells. Blood 1992; 80: 505-11.
- 4. Bockman RS, Isreal R, Alcocken K, Ferguson R, Warrell RP. Gallium nitrate stimulated bone collagen synthesis. Clin Res 1987; 35: 620-5.
- 5. Berry JP, Escaig F, Poupon MF, Golle P. Localization of Ga in tumor cells. Int J Nucl Med Boil 1983; 10: 199-204.
- 6. Radunovic A, Delves HT, Bradbwory MW. Uptake of Aluminum and Gallium into tissues of the rat: influence of antibody against the transferrin receptor. Boil Trace Elem Res 1989; 62: 51-64.
- 7. Saito S, Shimizu N. Stimulatory effects of low power lazer irradiation on bone regeneration in midpalatal structure during expansion in the rat. Am J Orthod Dentafacial Orthop 1997; 111: 525-32.
- 8. Christopher CR, Chitambor CR, Narasimihan CJ, O'Brien W J. Inhibitation of ribonucleotide reductase by Gallium in murine leukemic L1210 cells. Cancer Res 1991; 51: 6199-201.

- 9. Chitambor CR, Nawasimhan J. Targeting iron dependent DNA synthesis with Gallium and transferrin-Gallium. Pathobiol 1991; 59(1): 3-10.
- Williams RJ. Structural aspects of metal toxicity: In: Nriagu JO, editir. Changing metal cycles and human health. Springer Varlag NY; 1984; P. 251-63.
- ۱۱. مشتاقی ع، قاری پور م، موحدیان الف. بررسی اثر گالیم بر فونکسیون کبدی در رت. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، سال دوازدهم، شماره ۳ ، پائیز ۸۰، ۲۰۵–۱۹۷.
- 12. Balistrreri WF, Suchy FJ. Pathologic versus physiologic cholestasis. Elevated serum concentration of a secondary bile acid in the presence of hepatobiliary disease. J Pediatr 1981; 98: 399-402.
- 13. Jemry KN. Clinical diagnosis and mangement by laberatory methods. 19th ed. WB Saunders Co; 1996; P. 279-280.
- 14. Matkovic V, Apseloff G, Gerber N. Use of Gallium to treat paget's disease of bone: a Pilot study. Lancet 1990; 335:72-75.
- 15. Tukkamoto Y. Disturbances of trace element concentration in plasma of patients with chronic renal failure. Nephron 1980; 26: 174-9.
- 16. Lange H, Warrell RP. Concentration of Gallium in human tissue. Nucl Med 1973; 112: 113-35.
- 17. Christopher R, Chitambar CR, Wereley JP. Resistance to the anti tumor agent Gallium nitrate in human leukemic cells is allied with decreased Gallium/Iron uptake, increased activity of iron regulatory protein 1, and decreased Ferritin production. J Biol Chem 1997; 272: 12151-57.
- 18. Larson SM, Resoy JS, Silen OR. Common pathway for tumor cell uptake of Gallium–67 and Iron–59 via transferrin receptor. J Natl Cancer 1980; 64: 41-53.
- 19. Abe S, Hasegawa S, Nirasawa M, Sasaki M, Ohkubo Y. Transferrin is not involved in the entry of 67-GA into hepatocytes from regeneratating live of partially hepatectomized rats. Boil 2001; 24(12):1343-6.
- 20. Chitambor CR, Matthaeus WG. Inhibition of leukemic HL60 cell growth by transferrin– Gallium: effects on ribonucleoutide reductase and demonstration of drug synergy with hydro utra. Blood 1988; 72:1930-6.
- 21. Krecic L. Shapared ME, Muller D, Apseloff G, Weisbrode SE, Geber N. Gallium nitrate suppresses the production of nitric oxide and liver damage in a murine model of LPS- included septic shock. Life Sci 1999; 6S(13): 1359-71.

بهبود – سال ششم، شماره چهارم، زمستان ۸۱– فصلنامه علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه (۱۷)

22. Blanckaert M. Analysis of bilirubin and bilirubin mono and diconjugate. Biochem J 1980; 185:115-28.