Archive of SID

مجله دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی – درمانی شهید صدوقی یزد
سال دهم ، شماره سوم ، پاییز ۱۳۸۱، ص ۴۲

تداخل جذب منگنز با آهن

تقی حسن زاده قصبه [۱]، مرتضی سدهی [۲]

چکیده

منگنز یکی از عناصر کمیاب ضروری می باشد. این عنصر در ساختمان برخی از متالوآنزیم ها شرکت دارد. کمبود منگنز در انسان بندرت دیده شده ، در حالیکه مسمومیت با آن در موارد متعددی گزارش شده است. چند مرحله در متابولیسم آهن وجود دارد. اولین مرحله جذب روده ای آهن بوسیله سلولهای موکوسی روده می باشد ، که مکانیسم آن هنوز به درستی مشخص نشده است. پیش از این گزارش شده که عنصر منگنز به علت شباهتهای شیمیایی آن با آهن در متابولیسم این عنصر (هم جذب روده ای و هم انتقال پلاسمایی آن) مداخله می نماید. در مطالعه حاضر ارتباط روده ای آهن و منگنز بوسیله E.G.S (Everted Gut Sac) بررسی شده است. انکوباسیون E.G.S در بافر کربس ـ رینگر ـ فسفات محتوی Fe^{2+} یا Fe^{3+} (با pH=7.4) نشان داد که جذب آهن در دقیقه ۶۰ انکوباسیون کامل می شود ، در صورتیکه حداکثر جذب منگنز پس از ۳۰ دقیقه انجام گردید. جذب روده ای یونهای مذکور یک فرآیند وابسته به غلظت می باشد و حداکثر جذب روده ای آهن و منگنز به ترتیب در غلظتهای ۱/۷۸ و ۱/۸۵ میلی مولار بدست آمد. در همین رابطه نشان داده شد که حضور آهن در محیط باعث کاهش جذب روده ای منگنز به مقدار ۴۰ درصد می شود ، در صورتی که حضور منگنز باعث کاهش جذب روده ای آهن به مقدار ۱۵ درصد می گردد. در مطالعه فوق اثر فاکتورهای دیگر نیز روی جذب روده ای منگنز و آهن بررسی شده است.

واژه های کلیدی :آهن ، منگنز ، جذب روده ای آهن ، جذب روده ای منگنز

مقدمه

در طبیعت عناصر بسیاری وجود دارد که علیرغم حضورشان در مقادیر ناچیز در بدن ، نقش متابولیکی خاصی برای آنها مشخص شده است. وجود این عناصر در رژیم غذایی حیوانات و انسان (درمقادیر کمتر از ۱۰۰ میلی گرم در روز) برای رشد و سلامتی ضروری است. نام عناصر کمیاب (Trace Element) برای این عناصر انتخاب شده است. عنصر آهن یکی از این عناصر بوده که در قرن هیجدهم وجود آن در خون مشخص گردید. این عنصر در بسیاری از ترکیبات بویژه حلقه هم در ساختمان هموگلوبین مشاهده می گردد. عنصر منگنز یکی دیگر از عناصر کمیاب بدن بوده و در مراکز تحقیقاتی دنیا مورد بررسی قرار گرفته است. مقدار کل آن در انسان ۲۰-۱۲ میلی گرم می باشد[۱] و به ویژه در دوران رشد و نمو از اهمیت خاصی برخوردار است ، به گونه ای که کمبود این عنصر در طی دوران رشد و نمو با اختلالات تشنج زا همراه می باشد[۲]. کمبود این عنصر در انسان بندرت گزارش شده است [۳]. تنها مورد گزارش شده از کمبود منگنز در انسان در شخصی که یک رژیم غذایی تحقیقاتی سنتتیک مصرف کرده بود ، دیده شده است. این تحقیق به منظور تعیین احتیاجات انسان به ویتامین K انجام گردید[۴]. مسمومیت با عنصر منگنز در موارد متعددی گزارش شده است. مسمومیت این عنصر در انسان و حیوانات اساساً با سیستم عصبی در ارتباط می باشد. این عنصر به طور طبیعی در غلظتهای PPM در مغز وجود دارد و از آن جا که به عنوان یک کوفاکتور برای بسیاری از آنزیمهای مغزی عمل می کند ، برای فعالیت و رشد و نمو مغز لازم می باشد [۵،۶] .

۱- عضو هیأت علمی گروه بیوشیمی
۲- عضو هیأت علمی – گروه آمار زیستی – دانشکده بهداشت
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی – درمانی همدان

www.SID.ir

Archive of SID

اگرچه منگنز ، به عنوان یک عنصر واسطه با سایر عناصر کمیاب دارای تداخل می باشد ، ولی تداخل آن با آهن ، با توجه به نقش بیوشیمیایی این دو عنصر ، از اهمیت ویژه ای برخوردار است. این دو عنصر می توانند در فرآیندهای جذب روده ای ، انتقال پلاسمایی ، ورود به سلول و حتی جایگزینی در برخی آنزیم های سیتوپلاسمی و میتوکندریایی (به ویژه آنزیم سوپراکسید دسموتاز) با یکدیگر رقابت نمایند.

در پژوهش حاضر تأثیر و ارتباط تداخلی جذب روده ای منگنز و آهن مورد توجه قرار گرفته است. ابتدا جذب آهن و منگنز توسط روده Rat (E.G.S) ، اثرات این دو عنصر بر جذب یکدیگر و در نهایت اثر برخی فاکتورها روی جذب آنها بررسی شده است.

روش بررسی

۱- روش تهیه E.G.S (Everted Gut Sac) : در این پژوهش جهت مطالعه جذب روده ای آهن و منگنز و همچنین اثرات آنها روی یکدیگر و اثرات فاکتورهای مختلف از قبیل زمان ، گلوکز، سیترات روی جذب این دو عنصر از روده ، تکنیک (Everted E.G.S Gut Sac) مورد استفاده قرار گرفت. برای انجام این تکنیک بایستی Rat را به مدت ۲۴ ساعت در حالت ناشتا (Fasting) نگهداری نموده ، پس از انتقال آنها به آزمایشگاه بوسیله اتر آنها را بیهوش کرده و روده را خارج نمود.

در این مرحله بایستی سریعاً روده را به قطعاتی با طول مناسب تقسیم کرده و این قطعات را به طور کامل با سرم فیزیولوژی شستشو داد. از آنجا که جذب آهن عمدتاً در ناحیه دودنوم صورت می گیرد ، برای بررسی جذب این عنصر و اثر فاکتورهای مختلف روی آن ناحیه دودنوم روده انتخاب و به قطعات ۸ سانتیمتری تقسیم می گردد. از طرفی مطالعات قبلی نشان داده است که جذب منگنز در سرتاسر طول روده یکنواخت و مشابه می باشد ، لذا برای بررسی جذب این عنصر و اثر فاکتورهای مختلف روی آن ۸ سانتیمتر از ابتدای دودنوم ، ۱۱ سانتیمتر از ابتدای ژژنوم و ۱۴ سانتیمتر انتهای ایلئوم انتخاب شد[۷].

برای انجام هر مرحله آزمایش ۱۰-۸ قطعه روده رت را انتخاب و در هر مرحله ۳ مرتبه آزمایش را انجام دادیم . پس از انتخاب قطعات روده با طول مناسب بایستی روده را وارونه (Everted) نمود. بوسیله یک میله به طول تقریبی ۱۵-۱۰ سانتیمتر و به قطر ۲ میلیمتر روده را برگردانده به نحوی که سلولهای موکوسی روده که در حالت عادی در داخل قرار دارند به خارج منتقل گردند. سپس با یک سرنگ مخصوص داخل آن را با بافر کربس ـ رینگر ـ فسفات ـ (KRP) پر نموده (۲/۵-۲ میلی لیتر) و نهایتاًانتهای دیگر روده با نخ بخیه محکم گره زده می شود. در این حالت E.G.S آماده شده و مراحل مختلف آزمایش با آن انجام می گردد. دقت لازم جهت عدم پاره شدن روده در هنگام کار ضروری است و این کار احتیاج به تمرین زیاد دارد.

۲- بافر کربس ـ رینگر ـ فسفات (KRP) : pH این بافر ۷/۴ بوده و از مواد زیر تشکیل می گردد :

$(1.2\ mM)Mgso_4 , 7H_2O , (0.8\ mM)\ Cacl_2;(4.7\ mM)\ Kcl;$

$(15.4\ mM)\ Na_2Hpo_2;\ (120\ mM)Nacl$

بعد از تهیه محلول فوق ، بوسیله KH_2PO_4 (۰/۵ گرم در ۵ میلی لیتر آب مقطر) pH محلول به ۷/۴ رسانده می شود. برای جلوگیری از رسوب محلول ، کلرورکلسیم و بافر فسفات در آخرین مراحل کار که حجم بافر نزدیک به انتها باشد ، اضافه می گردند.

نتایج

برای بررسی و مطالعه جذب منگنز از روده ، ابتدا بایستی جایگاه اصلی جذب منگنز در روده را مشخص نمود . نتایج بدست آمده در این قسمت دو نکته مهم را ثابت می نماید اول اینکه جذب منگنز از سرتاسر روده تقریبا" برابر می باشد و دوم اینکه درصد کمی از منگنز جذب می گردد. پایین بودن درصد جذب منگنز ، حدود ۳ درصد ، در تحقیقات قبلی نیز گزارش شده است [۸] .

چنین استنباط می شود که همزمان با افزایش غلظت منگنز در محیط اینکوباسیون ، جذب منگنز نیز افزایش می یابد و در غلظتی از منگنز این جذب ثابت باقی می ماند ، که این غلظت

www.SID.ir

Archive of SID

برابر ۱۰۰ mg/L می باشد . بنابراین غلظت اپتیمم جذب روده ای منگنز ۱۰۰ mg/L (یعنی ۱/۸۵ mM) بوده که از این نظر با آهن مشابه می باشد.

میزان جذب منگنز در حضور سیترات و گلوکز ۲۵ درصد افزایش نشان می دهد . بنابراین جذب منگنز توسط روده احتمالاً از طریق یک مکانیسم انتقال فعال صورت می گیرد . در مورد اثرات آهن بر جذب روده ای منگنز و بالعکس ، گزارشات متعددی ارائه شده و مؤید این می باشد که سیستم انتقال روده ای آهن انحصاری نیست . کمبود آهن چه از طریق رژیم غذایی و چه بواسطه خونریزی ایجاد شده باشد ، جذب منگنز را افزایش می دهد و زمینه ایجاد مسمومیت با این عنصر را فراهم می نماید[۹] .

تغییرات غلظت منگنز نیز تغییراتی را در جذب آهن بوجود می آورد . بر اساس گزارشات انجام شده آهن (به میزان ۵ میلی مولار) جذب منگنز را کاملاً مهار می نماید در حالیکه همین مقدار منگنز (۵ mM) جذب آهن را فقط کم می نماید . تمام این گزارشات مؤید این است که آهن برای جایگاههای اتصال روی پروتئین های جذبی در روده کوچک ، با منگنز رقابت می نماید.

ابتدا اثر منگنز بر میزان برداشت آهن توسط E.G.S انجام گرفته و با استفاده از آزمون همبستگی t زوج (جدول ۲) نشان دهندهٔ این است که در حضور ۱۰۰ mg/L از منگنز میزان جذب آهن ۱۵–۱۲ درصد کاهش می یابد . برای بدست آوردن میزان همبستگی بین دو متغیر غلظت منگنز و میزان جذب منگنز از ضریب همبستگی پیرسیون استفاده شد $p = \frac{6xy}{6x6y}$ مقدار ضریب همبستگی برابر با ۰/۹۲۸۹ بدست آمد که نشان دهنده همبستگی مثبت و هم جهت بین دو متغیر می باشد .

اثرات آهن در برداشت جذب روده ای منگنز از طریق محاسبهٔ ضریب همبستگی با آزمون t – زوجی ومقدار ضریب همبستگی (P = ۰/۹۷۲ و P.Value = ۰/۰۰۱) انجام شود که به طور معنی داری اثر آهن را در جذب منگنز نشان می دهد.

جدول ۱ : تعیین غلظت اپتیمم جذب روده ای منگنز در Rat

غلظت منگنز mg/l	۲۵	۵۰	۷۵	۱۰۰	۱۲۵	۱۵۰
مقدار جذب روده ای منگنزدر روده Rat بر حسب µg Mn/gr	۳	٦	۲۳	۳٤	۳۳	۳۵

جدول ۲ : اثرات منگنز در برداشت آهن توسط روده Rat

غلظت آهن mg/l	۲۵	۵۰	۷۵	۱۰۰	۱۲۵	۱۵۰
مقدار جذب آهن روده ای µg Fe/gr Intestion	۱۵	۲۹	۳٦	٤۱	٤۲	٤۳
مقدار جذب آهن روده ای بر حسب µgFe/gr در حضور منگنز	۵	۲۲	۲٦	۳۵	۳٦	۳۵
SD	۰/٦	۱/۱	۱/۵	۱/۹	۲/٤۵	۲/۳

P=۰/۹۹۲ P.Value = 0

جدول ۳ : اثرات آهن در برداشت منگنز توسط روده Rat

غلظت منگنز mg/l	۲۵	۵۰	۷۵	۱۰۰	۱۲۵	۱۵۰
مقدار جذب روده ای منگنز(در غیاب آهن) بر حسب µg Mn/gr	۱۰	۲۱	۲۸	۳۱	۳۲	۳۲
مقدار جذب رود های منگنز(در حضور آهن) بر حسب µg Mn/gr	۵	۹	۱٤	۱۸	۱۹	۱۹
SD	۰/٤	۱/۳	۱/۹۵	۱/۹	۲/۰۵	۱/۹۵

بحث

تداخل منگنز با سایر عناصر در مقالات متعددی گزارش شده است [۱۰،۹]. وجود یک تداخل بین مس و منگنز مشاهده شده ، به گونه ای که اضافه کردن مس به رژیم غذایی Rat غلظت منگنز در بافتها را کاهش می دهد در حالیکه تزریق مزمن مقادیر زیاد منگنز باعث افزایش غلظت بافتی مس در Rat می گردد. اثرات مس روی فعالیت Mn-SoD نیز مورد توجه قرار گرفته است . در یک مطالعه نشان داده شده که کمبود لیتیم (Li) نیز بر متابولیسم منگنز اثر می گذارد[۱۰]. در پژوهش حاضر تأثیر و ارتباط تداخلی جذب روده ای آهن و منگنز بررسی شده است. ابتدا جذب آهن و منگنز توسط روده Rat (E.G.S)، اثرات این دو عنصر بر جذب یکدیگر و نهایتاً" اثر برخی فاکتورها روی جذب آنها بررسی شده است . تحقیقاتی که قبلاً" انجام شده نشان داده است که جایگاه اصلی جذب آهن در روده دودنوم می باشد و فرم فرو (Fe^{2+}) بهتر از فرم فریک (Fe^{3+}) جذب می گردد [۱۱]. آهن مستقیماً" جذب سلولهای مخاطی روده می شود و بدون ورود به سیستم لنفاوی وارد جریان خون می گردد. Dowdle و همکارانش از طریق تهیه E.G.S نشان دادند که

www.SID.ir

Archive of SID

جذب آهن یک فرآیند انتقال فعال می باشد که به متابولیسم اکسید اتیو و پیوندهای پرانرژی فسفات وابسته است . در این آزمایشات ابتدا تعیین غلظت اپتیمم جذب روده ای آهن مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج بدست آمده نشان می دهد که در غلظت ۱۰۰ mg/lit آهن (یعنی ۱/۷۸ mM) میزان جذب ثابت باقی مانده است . ثابت ماندن جذب آهن در غلظتهای فوق احتمالاً به علت اشباع شدن سلولهای مخاطی روده در فرآیند انتقال آهن می باشد. در مرحله بعد جذب منگنز و اثر برخی فاکتورها بر این جذب بررسی گردید. مطالعات قبلی نشان داده است که منگنز احتمالاً به صورت Mn^{2+} از روده کوچک جذب می گردد. Testoolion و همکارانش فرضیه دخالت حامل در انتقال روده ای منگنز را مطرح کردند. طبق این فرضیه جذب منگنز از طریق یک مکانیسم کاریری انجام می گردد، به گونه ای که اشباع پذیر می باشد[۱۲]. نتایج بدست آمده از ثابتهای کینتیکی Vmax و Km نیز دخالت یک حامل باند شده به غشای سلولهای مخاطی را در انتقال روده ای منگنز نشان می دهد . با تعیین غلظت اپتیمم جذب روده ای منگنز در پروژه حاضر (یعنی ۱/۸۵ mM) وجود یک سیستم ناقل اشباع پذیر در انتقال منگنز از دیواره سلولهای مخاطی روده تایید می گردد. برای تعیین مکانیسم جذب منگنز از طریق E.G.S ، اثر گلوکز بر جذب این عنصر بررسی شد. مطابق نتایج بدست آمده جذب روده ای منگنز در حضور گلوکز ۲۵ درصد افزایش نشان می دهد. بنابراین جذب منگنز توسط روده احتمالاً از طریق یک مکانیسم انتقال فعال صورت می گیرد. بوسیله مطالعات In Sito که روی لوپهای ایلئوم انجام گردیده ، اثر لاکتوز در افزایش انتقال روده ای منگنز گزارش شده است[۱۳].

نتایج مطالعات قبلی همراه با نتایج ارائه شده در این پژوهش تداخل آهن و منگنز در فرآیند جذب روده ای را ثابت می نماید. تداخل جذب روده ای آهن و منگنز بوسیله موارد زیر قابل توضیح می باشد:

۱- وجود یک مسیر جذبی مشترک برای این دو عنصر که از طریق کاریر انجام می گردد.

۲- و یا وجود حالت شلاتیون رقابتی بین آهن و منگنز ، بدین معنی که هر دو عنصر یک عامل شلاتینگ مشترک دارند و محدود بودن ذخایر این عامل شلاتینگ خود باعث ایجاد رقابت بین منگنز و آهن می گردد.

www.SID.ir

Archive of SID

References

1- Guillermo. E and et al : ***Preclinical evaluation of Mn DPDP: New paramagnetic hepatoobiliary contrast Agent for MR Imaging .*** Radiology , 1991; 178: 73-78.

2- Micheal. A , Maureen . G***. Manganese (Mn) transport Across the rat blood-brain barrier : Saurable and transferrin-dependent trasport mechanisms.*** Brain Research Bulletin , 1994; 33: 345-349.

3- Lonnerdal.B,Keen.C.L, Hurleg. L.S. ***Mangenese binding proteins in human and cow's milk.*** Am J Clin Nutr 1985; 41: 550-559.

4- Georges. A. Leichtmann , and Micheal D. Sutrin. ***Update on trace elements.*** Comperhensive therapy. 1991; 17(1): 42-48.

5- Oliver . R , Lajos .H , Jean-Marie. B , and Quentin. R .Smith . ***Rapid Brain uptake of menganese (II) Across the Blood-Brain Barrier.*** Journal of Neurochemisrty 1993; 61: 509-517.

6- Narma . S and Haken . E . ***Receptor - Mediated endocytosis of a manganese complex of transferrin into neuroblastoma (SHSY5Y) cells in calture.*** Journal of Neurochemistry 1993;61:127-131.

7- Thomson.A.B.R,Olaon.B. D, and Valberg .L. S. ***Interrelation of intestinal system for manganese and Iron.*** J Lab Clin Med 1971; 78(4): 642-655.

8- Rdavidson .L , Cederblad. A , Lonnerdal .B , and Andstrom . M. ***Manganese retention in man : A method for estimating Manganese absorption in man .*** Am J Clin Nutr 1989; 49: 170-179.

9- Phyllis. E , Johnson and Eugene. D. Korynta. ***Effect of copper , iron , and ascorbic acid on manganese avilability to rats.*** P.S.E.B.M 1992; 199: 470-480.

10- Scharuzer. G.N , and et al. ***Lithium in scalp Hair of adults , student and violent criminal : Effects of supplementation and evidence for interaction of lithium with vitamin B_{12} and with other trace element.*** Biological trace element Research 1992; 34: 161-176.

11- Fundamental of clinical chemistry. Third edition. Norbert. W.Tietz 1987:818-825.

12- Testolin. G , Ciappellano. S ,Alberrio. A , Piccinini. F , Jotti. A , Parachini. L***. Intestinal absorption of manganese : an invivo study.*** Ann Nutr Metab 1993; 37(6): 289-94.

13- Dupis .Y , Porembska. Z , Tardivel. S , Fournier. A, Fournier . P. ***Intestinal transfer of manganese : resemblance to and competition with calcium.*** Reprod Nutr Dev 1992; 32 (5-6): 453-60.

www.SID.ir