

## ارزیابی اثر پارآمینوسالیسیلیک اسید بر بهبود عوارض کبدی منگنز در رات های نر نژاد ویستار

دکتر سید محمد حسین رضویان<sup>۱\*</sup>، نرجس تمدن<sup>۲</sup>، محسن اسلامی فارسانی<sup>۳</sup>، دکتر محمدرضا ذوالفقاری<sup>۴</sup>، سارا یادگاری<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم، قم ایران؛ <sup>۲</sup> گروه علوم جانوری، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم، قم ایران؛ <sup>۳</sup> گروه

بافت شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم، قم، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۰/۹/۸ اصلاح نهایی: ۹۱/۳/۱۳ تاریخ پذیرش: ۹۱/۵/۱

### چکیده:

زمینه و هدف: قرار گرفتن انسان در معرض غبارات منگنز می تواند باعث بروز بیماری شبیه به پارکینسون به نام منگانسم شود. برای کاهش عوارض حاصل، داروهای شلات کننده فلزات پیشنهاد شده‌اند. این پژوهش با هدف بررسی، قدرت شلات کنندگی داروی پارآمینوسالیسیلیک اسید انجام شده است.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی بیست رات نر بالغ نژاد ویستار در چهار گروه پنج تایی طبقه بندی شدند (یک گروه کنترل و سه گروه آزمون) و طی دو دوره به ترتیب سالی-سالی، منگنز-سالی، سالی-پاراآمینوسالیسیلیک اسید و منگنز-پاراآمینوسالیسیلیک اسید دریافت نمودند. تزریق داخل صفاقی کلرید منگنز به میزان ۸mg/kg وزن بدن حیوان به مدت یک هفته برای ایجاد مسمومیت و تزریق زیر جلدی یک سی سی پارآمینوسالیسیلیک اسید با غلظت ۱/۵g/l پنج روز در هفته به مدت چهار هفته جهت درمان صورت گرفت. سپس سرم حیوانات برای بررسی فاکتورهای بیوشیمیایی و بافت کبد آنها برای بررسی تغییرات هیستوپاتولوژیک جداسازی و فیکس شدند. داده ها توسط آزمون های آماری آنالیز واریانس یک طرفه و سپس تست توکی تجزیه و تحلیل شدند.

یافته ها: بررسی فاکتورهای بیوشیمیایی بیانگر افزایش معنی دار کلسترول در گروه دوم نسبت به کنترل و کاهش سطح کلسترول خون گروه چهارم نسبت به گروه دوم بود ( $P < 0/01$ ). بیلی روبین مستقیم خون در گروه های دوم و سوم نسبت به کنترل بیشتر بود ( $P < 0/05$ ). بیلی روبین در ادرار حیوانات گروه های دوم و سوم و چهارم مشاهده شد و اوروبیلینوزن در ادرار این گروه ها کاهش داشت ( $P < 0/05$ ). آنزیم های اگزالواستات ترانس آمیناز و پیرووات ترانس آمیناز در گروه سوم و آنزیم آلکالین فسفاتاز در گروه های دوم و چهارم نسبت به کنترل افزایش معنی دار داشتند ( $P < 0/05$ ).

نتیجه گیری: داروی پارآمینوسالیسیلیک اسید در کاهش عوارض مسمومیت با منگنز به خصوص آسیب های کبدی و صفراوی و افزایش کلسترول خون موفق عمل می کند لیکن، استفاده از آن همانند سایر داروها عوارضی را در کبد به همراه دارد.

واژه های کلیدی: پارآمینوسالیسیلیک اسید، عوارض کبدی، منگنز.

### مقدمه:

می باشند. منگنز یکی از عناصر کمیاب و ضروری در بدن است، که معمولاً به مقدار کافی از غذاها دریافت می شود (۲،۱). مقدار طبیعی منگنز خون بین ۲۵ تا ۷۲ نانومول در لیتر است که اگر به ۱۸۰ نانومول در لیتر برسد باعث مسمومیت می شود (۵،۴،۳). برای تهیه منگنز و کاربرد صنعتی آن بایستی سنگ معدن آن استخراج گردد، عملیاتی که منجر به تولید گرد و غبار

پیشرفت کشورها با توسعه صنایع فلزی همراه است و به ناچار هر روزه بر تعداد کارگرانی که با فلزات سروکار دارند افزوده می شود. منگنز یکی از این فلزات است و افرادی که در صنایع مختلف نظیر معادن منگنز، ذوب آهن، جوشکاری، ساخت باتری، رنگسازی، حشره کش ها و ... مشغول به کارند با این فلز برخورد نزدیک داشته و در معرض مسمومیت با آن

کربوکسیل و هیدروکسیل و آمین است که می توانند با فلز منگنز پیوند برقرار کند (۱۷). در ضمن سالیسیلات اثر ضد التهابی دارد و به تنظیم نوروترانسمیترها، سرکوب سنتز نیتریک اکسید (NO) و حفاظت از عامل‌های استرس اکسیداتیو نوروئی کمک می کند (۱۶، ۱۷).

هر داروی شیمیایی در کنار اثرات درمانی خود، می تواند اثرات ناخواسته بر بدن داشته باشد. از آنجا که پارآمینوسالیسیلیک اسید به راحتی و به صورت محلول در خون حرکت می کند نه تنها با عبور از سد مغزی نخاعی می تواند در دفع منگنز از مغز موثر واقع شود بلکه با نفوذ به سایر بافت ها به خصوص کبد به عنوان ابزار سم زدایی بدن بروز آسیب هایی را موجب می گردد (۱۸). در این تحقیق به نقش شلات کنندگی پارآمینوسالیسیلیک اسید و اثرات جانبی احتمالی آن بر کبد پرداخته شده است تا امکان کاربرد آن با هدف تامین بهداشت حرفه ای مشاغلی که با منگنز سروکار دارند ارزیابی شود.

### روش بررسی:

این مطالعه تجربی بر روی بیست سر رات نر بالغ نژاد ویستار با وزن بین ۲۶۰-۲۸۰ گرم که از زاد و ولد در حیوانخانه دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم ایجاد شده بودند انجام شد. حیوانات پس از یک دوره یک هفته ای یکسان سازی در دمای  $25^{\circ}\text{C}$  و دوره های دوازده ساعته نوردی در چهار گروه پنج تایی شامل یک گروه کنترل و سه گروه آزمون طبقه بندی و در دو مرحله مورد تزریق قرار گرفتند. در اولین مرحله تزریق داخل صفاقی (ip)  $0/5$  سی سی سالین در گروه های اول (کنترل) و دوم آزمون و کلرید منگنز ( $\text{MnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ، شرکت مرک) به میزان  $8\text{mg}$  به ازای هر کیلوگرم وزن بدن حیوان برای مدت یک هفته به منظور ایجاد مسمومیت در گروه های سوم و چهارم آزمون صورت گرفت. غلظت های تهیه شده از کلرید منگنز در شیشه هایی که با اسید نیتریک و آب مقطر شستشو شده بود به مدت یک ساعت

حاوی منگنز می شود و بدون شک می تواند سلامتی کارگران شاغل در این معادن را به خطر بیندازد (۱). منگنز می تواند از طریق پوست، دستگاه گوارش و دستگاه تنفس وارد بدن شود و با گردش خون به اندام های مختلف انتقال یافته و با تجمع در بافت های گوناگون بخصوص مغز موجب بروز عوارضی شبیه به پارکینسون به نام منگانسیم شود (۹-۶). تجمع فلز منگنز در هسته های بازال گانگلیا، گلبوس پالیدوس و اجسام مخبط باعث عملکرد نامناسب میتوکنندری و در نهایت منجر به نورو توکسیتی می شود. منگنز به غشاء داخلی میتوکنندری اتصال می یابد و در نتیجه روی پمپ های کلسیمی اثر گذاشته و انتشار کلسیم به خارج را دچار اختلال می کند که در نتیجه ی آن آپوپتوزیس سلول رخ می دهد (۹، ۱۰). از سوی دیگر ذخیره منگنز در مغز، کورتکس، هسته های پوتامن، هسته های دمی و جسم سیاه موجب کاهش دوپامین جسم سیاه و در نتیجه اختلال در سیتیم حرکتی خارج هرمی می شود (۱۴-۱۱). برای کاهش عوارض منگانسیم نظیر پریشانی، توهم، تحریک پذیری، خشونت، عدم هماهنگی روند عقلی، تپش قلب، رعشه دست، گرفتگی عضلات، اختلال در حرکت، اختلال در نوشتن، اختلال در راه رفتن و ... درمان های متفاوت از جمله داروهای شلات کننده ی فلزات پیشنهاد شده اند (۱۵، ۱۶). ترکیبات شلات کننده کمپلکس های پایدار هستند که می توانند از چند نقطه بافلزات ترکیبات پایدار ایجاد کنند. یکی از این ترکیبات اتیلن دی آمید ترا استات (EDTA) است که می تواند با منگنز ترکیب و باعث افزایش دفع آن در ادرار شده و منگنز خون را کاهش دهد ولی چون ترکیبی هیدروفیل است به خوبی از سد خونی-مغزی گذر نمی کند و نمی تواند منگنز داخل سلولی را کاهش دهد. کلاتور دیگری که می تواند با افزایش دفع منگنز در کاهش علائم مسمومیت منگانسیم به خصوص در مغز موفق عمل کند پارآمینوسالیسیلیک اسید است (۱۵، ۱۶). این ترکیب دارای گروه های

اتوکلاو و مصرف شد.

برای تحلیل داده ها از نرم افزار SPSS و آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA Test) پس از آزمون برقراری شرط برابری واریانس (Test of homogeneity of variance) برای متغیرها و آزمون تعقیبی Tukey با سطح معنی داری  $P < 0/05$  استفاده شد.

### یافته ها:

بررسی پارامترهای بیوشیمیایی اندازه گیری شده حکایت از افزایش معنی دار بیلی روبین کونژوگه خون حیوانات گروه های آزمون ۲ و ۳ نسبت به کنترل و کاهش معنی دار در گروه آزمون ۴ نسبت به گروه های آزمون ۲ و ۳ دارد. افزایش آنزیم های اگزالواسات ترانس آمیناز و پیرووات ترانس آمیناز در سرم حیوانات گروه ۲ نسبت به کنترل معنی دار بود ( $P < 0/05$ )، ولی در سایر گروه ها تغییر معنی داری مشاهده نشد.

افزایش معنی دار آنزیم آلکالین فسفاتاز در سرم گروه های ۲ و ۴ نسبت به کنترل دیده شد ( $P < 0/05$ ). کاهش مختصر در آلومین سرم حیوانات گروه ۲ دفع و افزایش پروتئین تام و گلوبولین ها در خون حیوانات گروه ۳ معنی دار نبود. از طرفی به موازات مصرف کلرید منگنز، سطح کلسترول خون حیوانات گروه ۳ نسبت به کنترل افزایش معنی دار داشته و مصرف همزمان پاراآمینو سالیسیلیک اسید، کاهش معنی دار آن را در حیوانات گروه ۴ موجب شده است ( $P < 0/01$ ) (جدول شماره ۱).

در بررسی پارامترهای ادراری حیوانات مشاهده بیلی روبین در ادرار حیوانات گروه های ۲ و ۳ و ۴ کاهش اوروبیلینوژن ادرار این گروه ها قابل توجه بود (جدول شماره ۲).

دومین مرحله نیز مشتمل بر تزریق زیرجلدی یک سی سی سالین در گروه های اول (کنترل) و سوم آزمون و پاراآمینو سالیسیلیک اسید (شرکت سیگما) با غلظت ۱/۵g/L پنج روز در هفته به مدت چهار هفته به منظور درمان در گروه های دوم و چهارم آزمون بود. محلول های تهیه شده از پاراآمینو سالیسیلیک اسید به علت حساسیت حلقه آروماتیک به حرارت به طور روزانه، تهیه و مصرف شد.

تزریق ها با سرنگ انسولین در ساعت ۱۱-۱۰ صبح صورت گرفت. پس از پایان دو دوره تزریق، حیوانات ۲۴ ساعت در قفس متابولیک گذاشته و ادرار آنها جمع آوری شد. سپس مدت ده ساعت غذای موش ها را حذف و تک تک آنها با استفاده از کتامین: زایلزین (۱:۳) با روش تزریق داخل صفاقی بیهوش شدند. پس از خونگیری مستقیم از درون قلب، سرم خون با سانتریفوژ جداسازی شد. نمونه های سرم و ادرار در میکروتیوب های جداگانه در دمای  $20^{\circ}\text{C}$ - فریز و به مرور برای اندازه گیری پارامترهای بیوشیمیایی با کیت های رایج انسانی (شرکت پارس آزمون) و دستگاه اتوآنالایزر و پارامترهای ادراری با استریپ های انسانی (شرکت طب آزما) مورد استفاده قرار گرفتند.

همچنین لوب میانی کبد همه حیوانات جدا و پس از تثبیت در فرمالین ۱۰ درصد به ترتیب مراحل پاساژ، قالب گیری، برش گیری و رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین با دستگاه Dia path ایتالیا صورت گرفت. برای ارزیابی توصیفی بافت ها فتومیکروگراف هایی با بزرگنمایی مختلف، توسط دوربین دیجیتال CMOS HDCE-10A و نرم افزار DN2 تهیه شد.

## جدول شماره ۱: میانگین و انحراف معیار مقادیر پارامترهای بیوشیمیایی در سرم حیوانات گروه های مختلف آزمون

پارامتر	گروه	گروه ۱ (کنترل)	گروه ۲	گروه ۳	گروه ۴	Pvalue
کلسترول (mg/dl)	گروه ۱	۵۴/۴ ± ۴/۴	۵۵/۴ ± ۱۱	۷۵ ± ۳/۷	۵۵ ± ۵/۵	۰/۰۰۱
بیلی روبین تام (mg/dl)	گروه ۱	۸۲/۶ ± ۲/۵	۹۲ ± ۴/۱	۹۳/۲ ± ۱۰	۸۷ ± ۴/۴	۰/۰۴۸
بیلی روبین مستقیم (mg/dl)	گروه ۱	۲۷ ± ۱۱	۵۳ ± ۴/۵	۵۲ ± ۴/۵	۳۵ ± ۸/۷	۰/۰۵۱
بیلی روبین غیرمستقیم (mg/dl)	گروه ۱	۵۱/۲ ± ۱۱	۳۶/۲ ± ۹/۶	۳۷/۶ ± ۱۵	۳۷/۶ ± ۱۵	<۰/۰۰۱
اگزالواسات ترانس آمیناز (OT) (IU/l)	گروه ۱	۱۲۳ ± ۲۷	۱۸۸ ± ۱۹	۱۰۷ ± ۱۰	۱۳۷ ± ۳۲	<۰/۰۰۱
پیروات ترانس آمیناز (PT) (IU/l)	گروه ۱	۳۵/۸ ± ۷/۲	۵۵/۲ ± ۸/۳	۳۶/۶ ± ۳	۴۰ ± ۱۲	۰/۰۰۶
آلکالین فسفاتاز (IU/l)	گروه ۱	۲۳۶ ± ۰۰	۲۶۲ ± ۲۷	۲۳۷ ± ۴۰	۳۱۴ ± ۶۱	۰/۰۱۹
پروتئین تام (g/dl)	گروه ۱	۶/۴۸ ± ۰/۲	۶/۰۴ ± ۰/۶	۶/۷ ± ۰/۵	۶/۲۵ ± ۰/۲	۰/۰۶۸
آلبومین (g/dl)	گروه ۱	۳/۰۶ ± ۰/۱	۲/۹ ± ۰/۱	۳/۱ ± ۰/۱	۳/۲ ± ۰/۱۲	۰/۰۰۷
گلوبولین (g/dl)	گروه ۱	۳/۴ ± ۰/۳	۳/۲ ± ۰/۳	۳/۶ ± ۰/۳	۳/۰۴ ± ۰/۱	۰/۰۲۵
آلبومین: گلوبولین	گروه ۱	۰/۹ ± ۰/۱۱	۰/۹۲ ± ۰/۱	۰/۸۷ ± ۰/۰۵	۱/۰۵ ± ۰/۰۵	۰/۰۰۶
اوره (mg/dl)	گروه ۱	۳۷/۵ ± ۲/۶	۳۹ ± ۱/۴	۴۲/۵ ± ۳	۴۲/۴ ± ۵/۷	۰/۹۵

گروه ۱ (گروه کنترل): تزریق سالین در دو دوره تزریق، گروه ۲ (دریافت دارو): تزریق سالین در دوره اول و PAS در دوره دوم، گروه ۳ (دریافت منگنز): تزریق منگنز در دوره اول و تزریق سالین در دوره دوم و گروه ۴ (گروه درمان): تزریق منگنز در دوره اول و تزریق PAS در دوره دوم.  
پارآمینوسالسیلیک = PAS

## جدول شماره ۲: پارامترهای ادراری حیوانات گروه های مختلف آزمون

پارامترها	گروه ۱	گروه ۲	گروه ۳	گروه ۴
بیلی روبین	-	+	+	++
اوروبیلینوژن	++++	+++	++	++
نیتريت	++++	++	-	+++
پروتئین	++	++	++++	+++

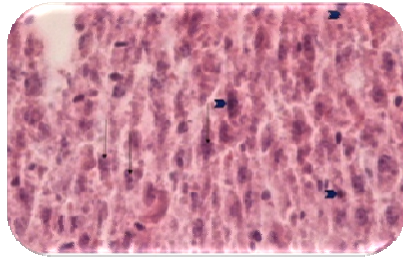
گروه ۱ (گروه کنترل): تزریق سالین در دو دوره تزریق، گروه ۲ (دریافت دارو): تزریق سالین در دوره اول و PAS در دوره دوم، گروه ۳ (دریافت منگنز): تزریق منگنز در دوره اول و تزریق سالین در دوره دوم و گروه ۴ (گروه درمان): تزریق منگنز در دوره اول و تزریق PAS در دوره دوم.  
پارآمینوسالسیلیک = PAS

چند وجهی با سیتوپلاسم صورتی رنگ، هسته بزرگ و مدور، کروماتین ظریف نشان داد. سلولها بصورت طنابهای کبدی و در بین آنها سینوزوئیدهای دارای سلولهای کوپفر و ورید مرکز لبولی، فضای پورت دارای مجرای صفراوی، ورید پورت و شریان فضای پورت به چشم می خورد.

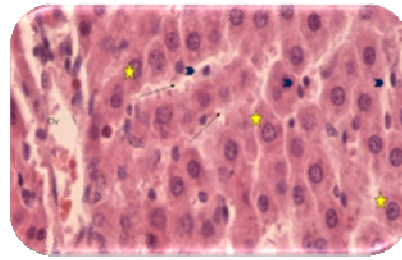
بررسی کبد حیوانات گروه ۲ آزمون، شریکچ سلولها، پیکنوتیک شدن هستهها، کاربوریسیس و کاریولیز کروماتین بویژه در ناحیه پره سنترال، بهم ریختگی سیتوپلاسم را نشان داد. همچنین کاهش فضای سینوزوئیدها بواسطه تورم سلولی، نکروزه شدن سلولها به دلیل وجود حالت های هیالینه و افزایش تعداد سلولهای التهابی مشهود بود.

بررسی های هیستوپاتولوژیک کبد حیوانات

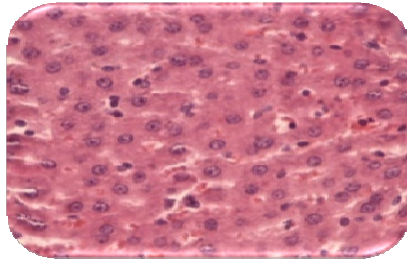
گروه کنترل، هپاتوسیتها را به صورت سلولهای



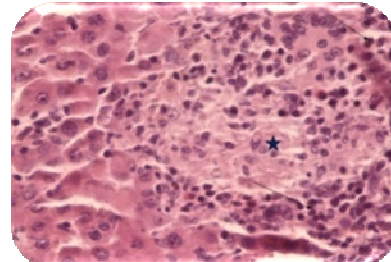
(ب)



(الف)



(د)



(ج)

### تصویر شماره ۱: فتومیکروگراف بافت کبد (H&E, ×40) در گروه های مورد بررسی

الف (گروه کنترل): سلول ها بصورت طناب های کبدی و بین آنها سینوزوئیدهای دارای سلولهای کوپفر و ورید مرکز لبولی (Clv)، فضای پورت دارای مجرای صفراوی (Bd)، ورید پورت (Pv) و شریان فضای پورت (A) به چشم می خورد (هیپاتوسیت ها: ستاره ها و سینوزوئیدها: فلش ها نازک و سلول های کوپفر: سر فلش ها و وریدهای مرکز لبولی: فلش های ضخیم)، ب (گروه آزمون دوم) (دریافت پارا آمینوسالیسیلیک اسید): شریکیج سلولی، پیکنوتیک شدن هسته ها، کاربوریوکسیس و کاربولیز کروماتین، بهم ریختگی سیتوپلاسم دیده می شود، ج (گروه آزمون سوم) (دریافت منگنز): نکروز کانونی در نزدیک فضای پورت، تجمع سلول های التهابی، هیالینه شدن هیپاتوسیت ها، واکوئل های کوچک و حبابدار شدن هیپاتوسیت ها به چشم می خورد. (تجمع سلول های التهابی: فلش ها و هیالینه شدن هیپاتوسیت ها: ستاره ها)، د (گروه آزمون چهارم) (دریافت منگنز+پارا آمینوسالیسیلیک اسید): هیپاتوسیت های طبیعی تر از گروه دوم، هسته ها طبیعی تر ولی بعضاً کوچکتر از گروه کنترل، فضای سینوزوئیدها تنگتر از گروه کنترل دیده می شود.

سلولی و حباب های سیتوپلاسمی دیده شد ولی نکروز کانونی رویت نشد (تصویر شماره ۱).

### بحث:

بیلی روبین یکی از رنگدانه های صفراوی و محصول شکست هموگلوبین در سلول های رتیکولواندوتلیال کبد است که آن را بر حسب واکنش با واکنشگر دی آزو (Diaz) به دو بخش بیلی روبین مستقیم (کانژوگه) و بیلی روبین غیر مستقیم (غیر کانژوگه) تقسیم می کنند. بیلی روبین غیر کانژوگه به صورت نامحلول و در اتصال با آلبومین در خون حرکت می کند و مستقیماً با

در کبد حیوانات گروه ۳، نکروز کانونی در نزدیک فضای پورت، تجمع سلول های التهابی، هیالینه شدن هیپاتوسیت ها در این ناحیه، واکوئل های کوچک و حبابدار شدن هیپاتوسیت ها به چشم می خورد. همچنین تغییرات چربی و تورم سلولی باعث افزایش حجم هیپاتوسیت و در نتیجه کاهش اندازه سینوزوئیدها شده است.

مصرف همزمان منگنز و دارو در گروه ۴ آزمون موجب شد که هیپاتوسیت ها دارای ساختاری طبیعی تر از گروه مسموم شده با منگنز، هسته ها طبیعی تر ولی بعضاً کوچکتر از گروه کنترل، فضای سینوزوئیدها نیز تنگتر از گروه کنترل، مقداری تورم

حالت طبیعی خود بازگشته بلکه نسبت پیروات ترانس آمیناز به اگزالواستات ترانس آمیناز که افزایش آن بیانگر آسیب های کبدی است نیز حکایت از آن دارد.

خانواده آلکالین فسفاتازها، هیدرولازهایی هستند که در PH قلیایی با دفسفریله کردن سوبسترای خود ایفای نقش می کنند. سلول های ماکوس کبد که وظیفه هدایت صفرا به کیسه صفرا را به عهده دارند محل اصلی تولید آلکالین فسفاتاز در کبد می باشند. با تخریب این سلول ها و یا انسداد مجاری صفراوی سطح آلکالین فسفاتاز خون بالا می رود و شاخصی برای ارزیابی سلامت سیستم کبدی- صفراوی در نظر گرفته می شوند (۲۱،۳). افزایش معنی دار آلکالین فسفاتاز در گروههایی که پاراآمینوسالیسیلیک اسید دریافت کرده اند بروز آسیب های کبدی صفراوی به موازات را نشان می دهد که Dixon نیز به آن اشاره کرده است (۱۸). بنابراین احتمال آسیب های انسدادی مجاری صفراوی (کلستاسیس) و در بلند مدت آسیب کبدی به دنبال مصرف پارا آمینو سالیسیلیک اسید قابل پیش بینی است.

پروتئین تام سرم مشتمل بر دو گروه از پروتئین ها یعنی آلبومین و گلوبولین ها است. کاهش آلبومین سرم با دریافت پاراآمینوسالیسیلیک اسید می تواند به علت پروتئینوری (دفع پروتئین در ادرار) ناشی از آسیب کلیوی حیوانات این گروه باشد (جدول شماره ۱)، چرا که کاهش آلبومین سرم حاصل آسیب های مزمن کبدی است و در اولین مراحل تخریب کبد به چشم نمی خورد (۳). افزایش گلوبولین سرم حیوانات با مصرف منگنز می تواند بیانگر آغاز بروز التهاب و پاسخ ایمنی باشد به خصوص که در گروه تحت درمان کاهش یافته و با مشاهدات Lipe تشابه دارد (۲۲).

از آنجایی که Amdur منگنز را محرک آنزیم موالونات کیناز و Benedict منگنز را محرک آنزیم

واکنشگر دی آزو واکنش نمی دهد. باقیمانده بیلی روبین که در سلول های کبدی به دو مولکول گلوکورونیک اسید متصل و به شکل محلول در آب در آمده و می تواند مستقیماً با واکنشگر دی آزو واکنش دهد، بیلی روبین کانژوگه نام دارد. بیلی روبین کانژوگه مولکولی محلول تر و کوچک تر است که به راحتی از غشاهای مختلف عبور و در ادرار و صفرا دفع می شود. بنابراین در بیماری های کبدی و صفراوی که هایپر بیلیروبینمی کانژوگه را به همراه دارند، علاوه بر بیلی روبین سرم، بیلی روبین ادرار نیز افزایش می یابد (۲۰،۱۹،۱۳). افزایش معنی دار بیلی روبین کانژوگه خون حیوانات مورد آزمایش در کنار تغییرات سطح آنزیم های کبدی اگزالواستات ترانس آمیناز و پیروات ترانس آمیناز و افزایش سطح آنزیم آلکالین فسفاتاز موید آسیب مجاری صفراوی و کبد است. مشاهده بیلی روبین در ادرار حیوانات گروه های آزمون (جدول شماره ۱) حکایت از افزایش بیلی روبین مستقیم خون و تایید عوارض انسدادی مجاری صفراوی یا آسیب به هپاتوسیت ها دارد بخصوص که اوروبیلینوژن ادرار نیز کاهش یافته است و بر نتایج بررسی های Davis و همکاران منطبق است (۱۳). از طرفی مصرف پاراآمینو سالیسیلیک اسید به دنبال منگنز موجب بهبودی این عوارض شده است.

دو آنزیم اگزالواستات ترانس آمیناز و بخصوص پیروات ترانس آمیناز شاخص مرگ و میر سلول های کبدی می باشند (۳). افزایش این دو آنزیم با مصرف پاراآمینوسالیسیلیک اسید اثرات هپاتوتوکسیک دارو به عنوان بخشی از عوارض جانبی و ناخواسته آن تایید می کند که توسط Dixon (۱۸) و Zwingmann و همکاران (۲۰) نیز گزارش شده اند. از طرفی ایفای نقش شلات کنندگی پاراآمینو سالیسیلیک اسید و اتصال آن به منگنز از میزان این اثرات جانبی ناخواسته کاسته است، بطوری که نه تنها سطح این آنزیم ها در مصرف همزمان آنها تقریباً به

شد اثرات شلات کنندگی پارا آمینو سالیسیلیک اسید را Marreilha و همکاران (۱۶)، Zheng و همکاران (۲۸)، Lu و همکاران (۲۹)، Nelson و همکاران (۱۷) و اثرات سمی آن را Dixon (۱۸) نیز گزارش کرده‌اند. به هر حال پارا آمینو سالیسیلیک اسید علیرغم اثرات جنبی می تواند داروی مفیدی برای دفع منگنز از بدن باشد که تحقیقات بیشتری را می طلبد.

پیشنهاد می شود پژوهش های بعدی در زمینه دوزهای مختلف پارا آمینو سالیسیلیک اسید به شکل وریدی، استفاده از پارا آمینو سالیسیلیک اسید خوراکی، استفاده از کلات کننده های دیگر با اثرات جانبی کمتر تمرکز یابد.

### نتیجه گیری:

داروی پارا آمینو سالیسیلیک اسید در کاهش عوارض مسمومیت با منگنز به خصوص آسیب های کبدی و صفراوی و افزایش کلسترول خون موفق عمل می کند لیکن استفاده از آن همانند سایر داروها عوارضی را در کبد به همراه دارد.

### تشکر و قدردانی:

در پایان از کلیه پرسنل دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم به خصوص سرکار خانم دکتر صفرپور، مدیریت گروه فیزیولوژی جانوری به دلیل همکاری بی شائبه شان کمال تشکر را داریم.

فارنسیل پیرو فسفات سنتتاز اعلام نموده اند، می توان افزایش سطح کلسترول خون حیوانات با مصرف کلرید منگنز را نتیجه تحریک این دو آنزیم دانست (۲۴،۲۳). از طرف دیگر افزایش کلسترول تام به موازات مصرف منگنز می تواند مربوط به کلستاسیس و ممانعت از دفع کلسترول سنتز شده در کبد از راه مجرای صفراوی باشد که Zwingmann و همکاران (۲۰) و Roby (۲۵) و همکاران (۲۶) نیز آن را به شکل مشابهی گزارش کرده‌اند. به این ترتیب پارا آمینو سالیسیلیک اسید به نوبه خود یکی از عوارض مجاورت با منگنز یعنی هیپرکلسترولمی و متعاقب آن آرترواسکلروز را بهبود بخشیده است. آسیب مغزی ناشی از مجاورت با منگنز به افزایش سنتز کلسترول نسبت داده شده است (۲۷) لذا انتظار داریم با کاهش کلسترول علائم منگانسم نیز کاهش یابد.

سنتایج بافت شناسی نیز یافته های بیوشیمیایی را تایید می نماید. گسیختگی بافتی و سنتز واکوئل چربی در کبد گروه مسموم شده با منگنز و کاهش چشمگیر آن در گروه تحت درمان اثرات درمانی پارا آمینو سالیسیلیک اسید بر اثر تخریبی منگنز بویژه در هیپاتوسیت ها را نشان می دهد.

در مجموع می توان گفت پارا آمینو سالیسیلیک اسید اثرات جنبی و تخریبی به خصوص روی کبد داشته که این اثرات خوشبختانه در مجاورت و اتصال آن به منگنز کاهش داشته است. همانطور که اشاره

### منابع:

1. Santamaria AB. Manganese exposure, essentiality & toxicity. Indian J Med Res. 2008 Oct; 128(4): 484-500.
2. Gunnar F. Nordberg Bruce AF, Nordberg L. Handbook on the Toxicology of Metals. 3<sup>rd</sup> ed. New York: AP Press Co; 2005.
3. Charles H, Aurelio P. Manganese intoxication. West J Med. 1975; 123: 101-7.
4. Lauwerys R, Buchet JP, Roels H, Bernard A, Gennart JP. Biological aspects of occupational exposure to codmium and several other metals. Rev Epidemiol Sante Publique. 1986; 34(4-5): 280-5.
5. Bienvenu P, Nofre C, Cler A. The comparative general toxicity of metal ions. Relation with the periodic classification. CR Hebd Seances Acad Sci. 1963; 258: 103-4.

6. Wang JD, Huang CC, Hwang YH, Chiang JR, Lin JM, Chen JS. Manganese induced Parkinsonism: an outbreak due to an unrepaired ventilation control system in a ferromanganese smelter. *Br J Ind Med*. 1989 Dec; 46(12): 856-9.
7. Crossgrove J, Zheng W. Manganese toxicity upon overexposure. *NMR Biomed*. 2004 Dec; 17(8): 544-53.
8. Elbetieha A, Bataineh H, Darmani H, Al-Hamood MH. Effects of long-term exposure to manganese chloride on fertility of male and female mice. *Toxicol Lett*. 2001 Mar; 119(3): 193-201.
9. Smargiassi A, Baldwin M, Savard S, Kennedy G, Mergler D, Zayed J. Assessment of exposure to manganese in welding operations during the assembly of heavy excavation machinery accessories. *Appl Occup Environ Hyg*. 2000 Oct; 15(10): 746-50.
10. Bowler RM, Mergler D, Sassine MP, Larribe F, Hudnell K. Neuropsychiatric effects of manganese on mood. *Neurotoxicology*. 1999 Apr-Jun; 20(2-3): 367-78.
11. Levy BS, Nassetta WJ. Neurologic effects of manganese in humans: a review. *Int J Occup Environ Health*. 2003 Apr-Jun; 9(2): 153-63.
12. Wennberg A, Iregren A, Struwe G, Cizinsky G, Hagman M, Johansson L. Manganese exposure in steel smelters a health hazard to the nervous system. *Scand J Work Environ Health*. 1991 Aug; 17(4): 255-62.
13. Davis CD, Schafer DM, Finley JW. Effect of biliary ligation of manganese accumulation in rat brain. *Biol Trace Elem Res*. 1998 Summer; 64(1-3): 61-74.
14. Rabin O, Hegedus L, Bourre JM, Smith QR. Rapid brain uptake of manganese across the blood brain barrier. *J Neurochem*. 1993 Aug; 61(2): 509-17.
15. Lipe GW, Duhart H, Newport GD, Slikker W Jr, Ali SF. Effect of manganese on the concentration of amino acids in different regions. *J Environ Sci Health B*. 1999 Jan; 34(1): 119-32.
16. Marreilha AP, Dos Santos Rui L Lucas, Andrade V, Luísa Mateus M, Milatovic D, et al. Protective effects of ebselen (Ebs) and para-aminosalicylic acid (PAS) against manganese (Mn)-induced neurotoxicity. *Toxic Appl Pharmacol*. 2011; 3: 36.
17. Nelson M, Huggins T, Licorish R, Carroll MA, Catapane EJ. Effects of p-Aminosalicylic acid on the neurotoxicity of manganese on the dopaminergic innervation of the cilia of the lateral cells of the gill of the bivalve mollusc, *Crassostrea virginica*. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*. 2010 Mar; 151(2): 264-70.
18. Dixon WM. Toxic reactions to para-amino-salicylic acid. *Br J Tuberc Dis Chest*. 1954 Apr; 48(2): 102-10.
19. Maleki EA, Radzanowski GM, Radzanowski TJ, Gallahar DD, Greger JL. Biliary manganese excretion in conscious rats is affected by acute and chronic. *J Nutr*. 1996; 126(2): 489-98.
20. Zwingmann C, Leibfritz D, Hazell AS. Spectroscopic analysis of region-selective changes in brain energy metabolism in a subacute rat model of manganese neurotoxicity. *Glia*. 2007; 55: 1610-17.
21. Cikrt M. Enterohepatic circulation of  $^{64}\text{Cu}$ ,  $^{52}\text{Mn}$  and  $^{203}\text{Hg}$  in rats. *Arch Toxicol*. 1973 Aug; 31(1): 51-9.
22. Lipe GW, Duhart H, Newport GD, Slikker W Jr, Ali SF, Marreilha AP et al. Batoreu, P-aminosalicylic acid(PAS) attenuates manganese neurotoxicity in the rat 6th International Congress of Toxicology Spain Barcelona; 2010.
23. Amdur BH, Rilling H, Bloch K. The enzymatic conversion of mevalonic acid to squalene. *J Am Chem Soc*. 1997; 79: 2647-8.
24. Benedict CR, Kett J, Porter JW. Properties of farnesyl pyrophosphate synthetase of pig liver. *Arch Biochem Biophys*. 1965 Jun; 110(3): 611-21.
25. Roby MJ. Plasma and liver cholesterol in the manganese deficient rat. *Fed Prom*. 1982; 41: (5): 101-4.



26. Akoume MY, Perwaiz S, Yousef IM, Plaa GL. Synergistic role of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme a reductase and cholesterol-7-alpha-hydroxylase in the pathogenesis of manganese bilirubin- induced cholestasis in rats. *Toxicol. Sci.* 2003; 73(2): 378-85.
27. Sentürk UK, Oner G. The effect of manganese-induced hypercholesterolemia on learning in rats. *Biol Trace Elem Res.* 1996 Mar; 51(3): 249-57.
28. Zheng W, Zhao Q, Slavkovich V, Aschner M, Graziano JH. Alteration of iron homeostasis following chronic exposure to manganese in rats. *Brain Res.* 1999 Jun; 833(1): 125-32.
29. Lu L, Zhang LL, Li GJ, Guo W, Liang W, Zheng W. Alteration of serum concentrations of manganese, Iron, Ferritin, and Transferrin Receptor following exposure to welding fumes among career welders. *Neurotoxicology.* 2005 Mar; 26(2): 257-65.

## Evaluation of 4-Amino salicylic acid chelating effect on healing of manganese induced intoxications in male Wistar rat's liver

Razavian MH (PhD)<sup>1\*</sup>, Tamaddon N (MSc)<sup>2</sup>, Eslami-Farsani M (MSc)<sup>3</sup>

Zolfaghari MR (PhD)<sup>2</sup>, Yadegari S (MSc)<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Microbiology Dep., Qom Branch, Islamic Azad University, Qom, I.R. Iran; <sup>2</sup>Biology Dept., Qom Branch, Islamic Azad University, Qom, I.R. Iran; <sup>3</sup>Histology Dept., Qom Branch, Islamic Azad University, Qom, I.R. Iran.

Received: 28/Nov/2011 Revised: 21/Jun/2012 Accepted: 27/Jul/2012

**Background and aims:** Manganese related jobs (Mn miners) may cause Manganism, a Parkinson like disease. Chelators are suggested to reduce these effects. This study was carried out to investigate the effect of 4-Amino Salicylic acid chelating effects.

**Methods:** This experimental study was done on 20 adult male Wistar rats. The rats were classified into four groups, 5 in each group, as follows: one control and three experimental groups. In two phases the groups received Salin-Salin, Manganese-Salin, Salin-4-Amino acid and Manganese -4-Amini acid, respectively. Eight mg/kg of manganese chloride i.p. injection for 1 week and 1.5g/l of PAS s.c injection five-day in a week for four weeks, were used for intoxication and treatment, respectively. Serum and liver tissues were separated. Data were analyzed using ANOVA and Tukey's tests.

**Results:** Biochemical factors showed cholesterol increment in group 2 compared with group 1 and decrement of cholesterol level in the blood of group 4 compare with group 2 ( $P<0.01$ ). Also increasing the direct billirubin in the Mn and PAS groups was more significant compared with control group ( $P<0.05$ ). Billirubin was observed in the urine of the Mn, PAS, Mn+PAS groups and urobilinogen declining was decreased in the urine of these groups ( $P<0.05$ ). There was a significant increase ( $P<0.05$ ) of OT, PT enzymes in the serum of PAS and ALP in the Mn and Mn+PAS groups compared with control group.

**Conclusion:** PAS can play a significant role in reducing destructive effects of Mn, especially on liver but has different side effects, like other chemical drugs.

**Keywords:** Manganese, Para amino salicylic acid, Liver intoxication.

**Cite this article as:** Razavian MH, Tamaddon N, Eslami-Farsani M, Zolfaghari MR, Yadegari S. Evaluation of 4-Amino salicylic acid chelating effect on healing of manganese induced intoxications in male wistar rat's liver. J Sharekord Univ Med Sci. 2012 Oct, Nov; 14(4): 11-20.

**\*Corresponding author:**

Qom Branch, Islamic Azad University, 15 Khordad Boulevard, Qom, I.R.. Iran. Tel: 00982517780001.  
E-mail: mh\_razavy@yahoo.com