Archive

مقاله پژوهشی

تأثیر دراز مدت و کوتاه مدت املاح جیوه بر متابولیسم آهن در رات

دکتر مسیح ا.. طاهر[1]، دکتر محمد جواد ثابت جهرمی[2]، رضوان انتشاری[3]

چکیده

پیش‌زمینه و هدف : آهن از عناصر ضروری بافت‌های زنده می‌باشد که تغییرات آن در سیستم خون‌سازی بدن اثر تعیین کننده دارد. دسترسی مشکل به‌این عنصر، کمبود آن در مواد غذایی، درصد جذب کم در روده و نقش متابولیکی خاص آن موجب شده است تا تأثیر فاکتورها و عناصر دیگر بر آن با دقت بررسی شود. یکی از عناصر مؤثر بر آهن جیوه است، این عنصر از عناصر واسطه جدول تناوبی می‌باشد و به‌عنوان عنصر سمی مطرح است با توجه به‌کاربرد وسیع آن در صنعت، کشاورزی و دندانپزشکی تصمیم به‌مطالعه اثرات آن بر متابولیسم آهن از دو روش in vivo و In vitro گرفته شد. در این مورد رات به‌عنوان مدل حیوانی در نظر گرفته شده است.

مواد و روش‌ها: برای هر آزمایش تعداد پنج رات انتخاب و پس از تزریق داخل صفاقی کلرید جیوه به‌میزان ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به‌مدت ۱۰ روز و یا ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به‌مدت ۳۰ و ۶۰ روز نمونه‌گیری انجام شد و مقدار پارامترهای آهن و TIBC، هموگلوبین، هماتوکریت سرولوپلاسمین اندازه‌گیری و لام خون محیطی مورد مطالعه قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که در مطالعات In vivo تزریق ۵ میلی‌گرم کلرید جیوه به‌مدت ۱۰ روز موجب افزایش سرولوپلاسمین و TIBC به‌ترتیب ۱۴/۵ و ۲۰/۷ درصد و کاهش آهن، هموگلوبین و هماتوکریت به‌ترتیب ۷/۱، ۸/۲ و ۹ درصد شد.

تزریق روزانه ۲ میلی‌گرم کلرید جیوه به‌مدت ۳۰ و ۶۰ روز سبب افزایش TIBC ۲۷/۷ و ۵۸/۸ درصد سرولوپلاسمین ۴۷ و ۷۰ درصد و کاهش هماتوکریت به‌ترتیب ۱۸ و ۲۴ درصد آهن، سرم ۱۹/۵ و ۴۳/۱ درصد به‌ترتیب شده است همچنین، لام خون محیطی هیپوکروم بود. در بررسی In vitro زمان مناسب جهت جذب آهن در (Everted Gut sac) ۴۵ دقیقه تعیین گردید. کمپلکس آهن دوظرفیتی سیتراته ۱۲ درصد بیش از آهن سه ظرفیتی جذب گردید.

در مجاورت املاح جیوه آهن دوظرفیتی کاهشی معادل ۲۲ درصد نشان داد و املاح دو ظرفیتی آهن ۱۲ درصد بیش از املاح سه ظرفیتی در روده جذب گردید.

بحث و نتیجه گیری : چنین استنباط می‌شود که جیوه قادر است در متابولیسم آهن دخالت کند و فاکتورهای مربوط به این مسیر را تغییر دهد. این امر وابسته به‌مقدار و زمان مواجه شدن سلول با املاح جیوه می‌باشد. از طرفی آهن دو ظرفیتی سریع‌تر از آهن سه ظرفیتی جذب می‌گردد. و جذب آهن در روده توسط جیوه کاهش می‌یابد که این اثر احتمالاً به جانشینی جیوه در جایگاه آهن روی ترانسفرین می‌باشد. بنابراین شاید بتوان اظهار کرد افرادی که به‌عللی با جیوه و املاح آن در ارتباط هستند علاوه بر اثرات سمی آن با اختلالات متابولیسمی آهن از جمله آنمی فقر آهن رو به رو هستند.

گل واژگان : جیوه، آهن، هموگلوبین، TIBC، هماتوکریت، سرولوپلاسمین

مجلهٔ پزشکی ارومیه، سال چهاردهم، شمارهٔ چهارم، ص ۲۷۵ - ۲۷۰، زمستان ۱۳۸۲

آدرس مکاتبه : اصفهان - گروه بیوشیمی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

۱ - استادیار گروه بیوشیمی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

۲ - استادیار گروه بیوشیمی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان

۳ - مربی گروه بیوشیمی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

آهن جزء عناصر کمیاب[1] می‌باشد که تقریباً برای کلیه موجودات زنده ضروری است، اما سلول از نظر دریافت، انتقال و ذخیره آن با مشکلاتی مواجه است(۱) آهن آزاد یکسری واکنش هایی را کاتالیز می‌کند که نتیجه آن ایجاد رادیکال‌های آزاد فعال و خطرناک جهت پروتئین‌ها و چربی‌ها می‌باشد(۲) جایگاه اصلی جذب آهن در دوازدهه است(۳) در انتقال آهن ترانسفرین که نوعی بتاگلوبولین است دخالت دارد، اما در ذخیره آن آهن از کمپلکس $TFCO3^{2-}$. Fe^{3+} آزاد می‌شود و سپس در فریتین جایگزین می‌گردد(۴). جیوه فلز مایع جدول تناوبی از عناصر واسطه و سنگین محسوب می‌شود(۵). کاتیون دو ظرفیتی آن با پیوندهای آلی تشکیل کمپلکس می‌دهد و به‌علت حلالیت در محیط آبکی بسیار سمی می‌باشد(۶). این عنصر در تمام بافت‌های پستانداران به‌خصوص کلیه، کبد، طحال و مغز ذخیره می‌گردد.

املاح جیوه پس از جذب از طریق لولهٔ گوارش به جیوه فلزی تبدیل شده و مسیر آن را طی می‌کند اما ترکیبات آلی جیوه از طریق ریه جذب می‌شوند(۷، ۸).

به‌علت تمایل جیوه کاتیونی برای اتصال به‌گروه‌های SH پروتئین‌ها، فرم‌های فلز - پروتئین گزارش شده است(۹).

جیوه با تولید رادیکال‌های آزاد قادر است بر روند بتا اکسیداسیون اسیدهای چرب اثر گذارد و سبب اختلال ورود اسیدهای چرب به کبد می‌گردد و همچنین با مهار سنتز پروتئین‌ها موجب کاهش HDL گردد(۱۰).

تاکنون بررسی‌های گوناگون برروی این عنصر و ترکیبات آن انجام شده، امّا به‌طور دقیق تأثیر آن بر متابولیسم آهن مورد ارزیابی قرار نگرفته است.

آهن واکنش‌های متفاوت و مهمی را در بدن موجودات زنده کاتالیز کرده یا در تنظیم آنها شرکت دارد و از عناصر حیاتی و تعیین کننده در روند متابولیسم اکثر سلول‌های بدن می‌باشد. از طرفی مصارف فراوان جیوه در کشاورزی، صنعت، آب رودخانه‌ها و پزشکی موجب ارتباط دائم سلول‌های انسان با این عنصر و ترکیبات آن شده است. بنابراین مطالعه فوق به‌منظور دستیابی به‌تأثیر جیوه بر متابولیسم آهن و املاح آن انجام گرفت(۱۱).

مواد و روش

در این مطالعه از موش‌های صحرایی با نام علمی راتوس - نروژیکوس[2] از نژاد ویستار[3] استفاده شد.

حیوانات در اطاق حیوانات دانشکدهٔ داروسازی در شرایط استاندارد (نور، تغذیه و حرارت) نگهداری شدند. کلرید جیوه به‌صورت داخل صفاقی با دوز ۲ میلی‌گرم بر هر کیلوگرم وزن بدن (روزانه) و ۵ میلی‌گرم بر هر کیلوگرم وزن بدن در دوره کوتاه مدت ۱۰ روزه و بلند مدت ۳۰ و ۶۰ روزه تزریق گردید. گروه شاهد فقط از سرم فیزیولوژی استفاده کردند.

تعداد رات‌ها در گروه آزمایش و شاهد ۵ عدد بود پس از پایان تزریقات حیوانات با اتر بیهوش شده و خون به‌طور مستقیم از قلب آنها گرفته شد و سرم آن جدا گردید در قسمتی از خون کامل هماتوکریت و هموگلوبین تعیین مقدار گردید و لام خون محیطی تهیه و مطالعه شد. آهن و TIBC[4] با استفاده از روش فیربنکس[5] اندازه‌گیری شد(۱۲) و سرولوپلاسمین با استفاده از خاصیت آمین اکسیدازی با مصرف پارافنیلن دی آمین به‌عنوان سوبسترا اندازه‌گیری شد(۱۳).

در بخش In vitro ابتدا از روده موش .E.G.S تهیه گردید و سپس زمان فعالیت روده جهت جذب آهن II و III، اثر کلرید جیوه بر جذب با غلظت‌های متفاوت در محیط بافری کربس رینگر فسفات تعیین گردید و اختلاف بین میانگین مقادیر به‌دست آمده

1- Trace Element
2- Rattus Norvegicuous
3-Wistar
4-Total Iron Binding Capacity
5-Fairbanks

www.SID.ir

Archive of SID

در دو گروه مورد آزمایش و شاهد با استفاده از آزمون تی‌استیودنت مقایسه و مقادیر $P<0/05$ معنی‌دار تلقی گردید.

نتایج

تزریق روزانه ۵ میلی گرم کلرید جیوه بازای هر کیلوگرم وزن بدن رات در مدت ۵ و ۱۰ روز به ترتیب موجب: افزایش سرولوپلاسمین به‌میزان ۱/۴ و ۱۴/۵ درصد، TIBC ۰/۶ و ۲۰/۷ درصد، کاهش آهن به‌میزان ۲/۳ و ۶/۳۶ درصد و کاهش هماتوکریت به‌میزان ۰/۴ و ۸/۲۶ درصد نسبت به گروه شاهد گردید (جدول شماره ۱).

تزریق روزانه ۲ میلی‌گرم کلرید جیوه به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن رات در مدت ۳۰ و ۶۰ روز به‌ترتیب موجب: افزایش سرولوپلاسمین ۴۷ و ۷۰ درصد، TIBC ۲۷/۷ و ۵۸/۸ درصد، کاهش آهن به‌میزان ۱۹/۷ و ۴۳/۱ درصد و کاهش هماتوکریت به‌میزان ۱۸/۲ و ۲۴/۳ درصد نسبت به گروه شاهد گردید (جدول شماره ۲).

در بخش In vitro: زمان برداشت آهن توسط روده ۴۵ دقیقه تعیین شد آهن دو ظرفیتی و سه ظرفیتی از نظر جذب مقایسه گردید، مناسب‌ترین غلظت آهن دو ظرفیتی ۱۶mM تعیین گشت و با همین غلظت آهن دو ظرفیتی ۱۲درصد بیشتر از آهن سه ظرفیتی جذب و اثر مهاری کلرید جیوه در جذب آهن دو ظرفیتی معادل ۲۲ درصد تعیین گردید.

جدول شماره ۱ : تغییرات غلظت پارامترهای مربوط به سرولوپلاسمین آهن، TIBC و هماتوکریت متعاقب اثرات کوتاه مدت کلرید جیوه

گروه حیوانات	سرولوپلاسمین سرم (انحراف معیار±میانگین) µg/dl	آهن سرم (انحراف معیار±میانگین) µg/dl	TIBC (انحراف معیار±میانگین) µg/dl	هماتوکریت (انحراف معیار±میانگین) نسبت
گروه شاهد	۲۴/۴±۱/۹۶	۱۷۲/۴±۵/۸	۳۸۹±۴/۴	۴۶±۰/۷
گروه پنج روزه	۲۵/۸±۰/۶۸	۱۶۸/۳±۹/۷	۳۹۰/۲±۲/۵	۴۵/۸±۰/۴
گروه ده روزه	*۲۷/۹۴±۰/۹۴	*۱۶۱/۴±۱/۹	*۴۷۰±۵/۸	*۴۲/۲±۱/۴۸

جدول شماره ۲ : تغییرات غلظت پارامترهای مربوط به سرولوپلاسمین آهن، TIBC و هماتوکریت متعاقب اثرات بلند مدت کلرید جیوه

گروه حیوانات	سرولوپلاسمین سرم (انحراف معیار±میانگین) µg/dl	آهن سرم (انحراف معیار±میانگین) µg/dl	TIBC (انحراف معیار±میانگین) µg/dl	هماتوکریت (انحراف معیار±میانگین) نسبت
گروه شاهد	۲۴/۸±۱/۲	۱۷۲/۲±۳/۷	۳۷۹/۶±۷/۶	۴۶±۱/۵
گروه سی روزه	*۳۶/۴±۱/۲	*۱۳۸/۴±۴/۸	*۴۸۵/۱±۱۸/۴	*۳۷/۶±۱/۸
گروه شصت روزه	*۴۲/۴±۳/۹	*۹۷/۹±۱۰/۲	*۶۰۳/۲±۱۶/۹	*۳۴/۸±۰/۸

www.SID.ir

Archive of SID

بحث

عناصری که از نظر تعداد الکترون‌های مدار ظرفیت و ساختمان اتمی مشابه عناصر کمیاب هستند ضمن جانشین شدن آنها به بیوملکول‌ها متصل شده و مسیرهای متابولیکی را مختل می‌کند(۱۴). با توجه به‌مطالعات انجام شده توسط کلارکسون[1] جیوه قادر است به ترکیبات پروتئینی حاوی SH- حمله کرده و از این طریق فعالیت پروتئین را تحت تأثیر قرار دهد و بعضاً مانند یک مهارکننده آنزیمی عمل کند(۱۵).

ساپین[2] و همکارانش در سال ۱۹۷۷ یادآور شدند که جیوه فلزی باعث ایجاد آنتی بادی بر ضد غشاء گلومرولی شده و میزان آهن پلاسما را کاهش می‌دهد(۱۶) که این در تائید مطالعه حاضر است و در اثر کاهش آهن پلاسما میزان TIBC افزایش خواهد یافت. سرولوپلاسمین یکی از متالوآنزیم‌های مهم است که خاصیت فروکسیدازی داشته و در بیماری‌های نئوپلاستیک افزایش غلظت پلاسمایی نشان می‌دهد که متابولیسم و فعالیت آن تحت تأثیر غلظت بعضی از یون‌های فلزی هم قرار می‌گیرد، چنانچه از نتایج این تحقیق بر می‌آید فعالیت سرولوپلاسمین متعاقب تزریق کلرید جیوه دستخوش تغییر می‌شود. اگر حیوان در معرض دوزهای مختلف کلرید جیوه قرار گیرد، فعالیت سرولوپلاسمین تا حدودی افزایش می‌یابد و این افزایش در دوزهای مزمن بیشتر می‌باشد. از آنجاکه بیوسنتز سرولوپلاسمین در کبد صورت می‌گیرد بنابراین هرگونه تحریکی در متابولیسم سلول‌های کبدی بر فعالیت آن اثر می‌گذارد، احتمالاً به علت کاهش آهن در یک پاسخ فیدبکی میزان سرولوپلاسمین توسط سلول‌های کبدی افزایش می‌یابد تا ضمن اکسیداسیون آهن دو به سه ظرفیتی آزاد شدن آهن را از فریتین تسریع کرده و انتقال آن را به ترانسفرین تسهیل کند و به این ترتیب میزان آهن سرم را افزایش دهد(۲).

تزریق کلرید جیوه به‌میزان ۵ میلی‌گرم به کیلوگرم وزن بدن رات در مدت ۵ روز تغییرات معنی دار روی فاکتورها نداشت که این احتمالاً ناشی از کوتاه بودن زمان تزریق بوده است.

هر عاملی که در عمل ویتامین B_{12} اختلال ایجاد کند منجر به اختلال در واکنش متیونین سنتاز می‌گردد و این مسئله موجب اختلال در سنتز DNA و جلوگیری از تقسیم سلولی و تشکیل هسته گلبول‌های قرمز جدید شده و باعث تجمع مگالوبلاست‌ها در مغز استخوان می‌گردد(۱۷).

مدل‌های ویتامین B_{12} که پیوند $CO\text{-}CH_3$ دارند گروه متیل خود را به یون جیوه منتقل می‌کنند. بنابراین وجود یون جیوه باعث می‌شود که ویتامین B_{12} قادر به ایفای نقش بیولوژیکی خود نبوده و تتراهیدروفولات کافی برای قرار دادن ریشه متیل در اختیار تیمیدیلات که یک ماده ضروری برای سنتز DNA و گلبول قرمز است وجود نداشته باشد و در نتیجه مقدار هماتوکریت کاهش یابد که نتایج مطالعه حاضر مؤید این نظریه است.

از طرفی سنتز هم[3] از دو ماده سوکسینیل کوآ و گلیسین احتیاج به ویتامین B_{12} به‌عنوان کوآنزیم دارد و در صورت وجود یون جیوه در محیط و تشکیل CH_3Hg^{2+} ویتامین B_{12} فعالیت کوآنزیمی خود را از دست داده و سنتز هم دچار اشکال می‌شود، بنابراین میزان هموگلوبین کاهش خواهد یافت.

در بخش دیگری از این آزمایش‌ها اثرات جیوه بر متابولیسم آهن به‌صورت In vitro مطالعه شد. اثرات زمان بر جذب آهن به‌صورت کمپلکس سیترات در روده .E.G.S بررسی شد که ماکزیمم جذب در زمان ۴۵ دقیقه صورت گرفت.

در مرحله بعدی جذب غلظت‌های مختلف آهن توسط .E.G.S مطالعه گردید. نتایج حاصل نشان داد که جذب آهن در روده در غلظت‌های ۶ تا ۸ میلی مولار به‌حالت اشباع[4] می‌رسد یعنی افزایش مصرف آهن نمی‌تواند موجب افزایش جذب گردد.

1-Clarkson
2-Sapine
3-Hem
4-Steady state

www.SID.ir

Archive of SID

بالاخره جذب آهن در حضور غلظت‌های مختلف کلرید جیوه II مطالعه گردید که نتایج حاصل گویای اثر کاهنده جیوه بر جذب آهن تا حد ۲۲٪ می‌باشد.

با توجه به‌اینکه ترانسفرین در جذب آهن دخالت دارد و این پروتئین ۸۰ کیلو دالتونی دارای دو لوب C و N می‌باشد که محل اتصال آهن است و ۱۵ پل دی سولفید دارد که آهن در محل این پل‌ها در هر لوب باند می‌شود کاتیون‌های جیوه تمایل بسیار به‌ترکیب با گروه‌های سولفیدریل را دارند. بنابراین احتمالاً جیوه می‌تواند در ترانسفرین جانشین یون‌های آهن شده و از اتصال آهن و انتقال آن به‌داخل سلول‌های موکوسی روده جلوگیری کند.

به‌طور کلی نتایج حاصل از این بررسی حاکی از اثرات تداخلی جیوه بر متابولیسم آهن می‌باشد که به‌دو صورت In vitro و In vivo پی‌گیری شده است شاید بتوان استنباط کرد که جیوه در مواردی جانشین آهن شده اما پی بردن به اثرات دقیق جیوه نیاز به تحقیقات بیشتری دارد تا تأثیر آن بر مراحل مختلف متابولیسم آهن در سطح سلولی روشن‌تر گردد.

References

1- Crichton RR, Charloteaux-wauters M: Iron transport and storage. Eur J Biochem, 1987, 164: 485-506.

2- Herbert L, Lonkousky MD: Iron and liver. Am J Med Sci, 1991, 301(1): 23-43.

3- Duthine H L: The relative important of the deodenum in the intestinal absorption of iron. Br J Haematol, 1964, 10:59-65.

4- Kojima N, Bates G: The reduction and release of Iron from Fe^{3+} transferring CO3. J Biol Chem, 1979, 245(18): 8847-54.

5- Weast R C: Handbook of Chemistry and Physics. 59th ed, florida, The Chemical rubber Co, 1978: 387-390.

6- Berllin M: Handbook on the Toxicology of Metals. 31st ed, Amsterdam, Elsevier, 1989: 387-435.

7- Freutas A J: Effect of Hg^{2+} and CH3 Hg^{+} on Ca^{2+} fluxes inratbrain microsomes. Brain, 1996, 788(2): 257-264.

8- Berger A R, Shaumburg H: Disorders of peripheral nervous system in: Text book of clinical occupational and environmental medicine. 5th ed, Philadelphia, W B Sanders Co, 1994: 482-583.

9- Homer BL, Sundlof M: Mercury distribution in American alligators in Florida. J Med, 1997, 28: 62-70.

10- Strubelt O, Hunter TC: Comparative studies on the toxicity of mercury, cadmium, and copper toward the isolated perfused rat liver. J Toxicol Environ Health, 1996, 47(3): 267-283.

11- Canario J, Vale C, Caetano M, Madireira J: Mercury in contaminated sediments and pore waters enriched in sulfate. Environ poll, 2003, 126: 425-433.

www.SID.ir

Archive of SID

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

13- Titz N W: Fundamentals of Clinical Chemistry. 2nd ed, Philadelphia, W B Saunder Co, 1982: 346-562, 920-924.

14- Tsukkamoto Y: Disturbances of trace element concentration in plasma of patients with chronic renal failure. Nephron, 1980, 26: 174-149.

15- Cllarkson TW: The toxicology of mercury. Crit Rev Clin Lab Sci, 1997, 34(4): 369-403.

16- Sapine C, Eruet E, Dract P: Mercury effect on Glumerular membrane. Clin Exp Immunol, 1977, 28: 173-179.

17- Sichak S, Harsh J, Clarkson T: Kinetics of elemental mercury ordination by a suspension of washed erythrocytes. Toxicol Abster, 1987, 154:51-54.

www.SID.ir