Archive of SID

کومش- جلد ۱۸، شماره ۱ (پیاپی ۶۱)، پائیز ۱۳۹۵

# اثر [illegible] دوزهای مختلف [illegible]گنز بر مسمومیت ناشی [illegible] سرب در کلیه [illegible]وش‌های نر بالغ

شبنم محمدی[۱](Ph.D)، محبوبه خاکباز[۲*](M.D Student)، مرضیه شرکا[۲](M.D Student)، سمیرا وکیل[۲](M.D Student)، مریم مقیمیان[۳](Ph.D)، فاطمه محمدزاده[۳](M.Sc)، مریم محمدی[۴](Ph.D)، نجمه جاجرمی[۵](B.Sc)، کامیار توکلی[۶](M.D)، مهدی بصیری‌مقدم[۷](M.Sc)، مهدی کریمی[۸](M.D)

۱- مرکز تحقیقات التهاب نروژنیک، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

۲- کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی گناباد، گناباد، ایران

۳- گروه علوم پایه، دانشگاه علوم پزشکی گناباد، گناباد، ایران

۴- گروه بهداشت عمومی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۵- گروه بیوشیمی، دانشگاه پیام نور مشهد، مشهد، ایران

۶- گروه اورولوژی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

۷- گروه پرستاری، دانشگاه علوم پزشکی گناباد، گناباد، ایران د

۸- گروه علوم بالینی، دانشگاه علوم پزشکی گناباد، گناباد، ایران

## چکیده

[illegible] از جمله فلزات سنگینی [illegible] اثرات مخربی [illegible] سیستم‌های [illegible] با توجه به این‌که مطالعات [illegible] درباره اثر آنتی‌اکسیدان‌ها [illegible] برابر آسیب کلیوی [illegible] از مطالعه حاضر بررسی تاثیر [illegible] زهای مختلف منگنز بر پارامترهای بیوشیمیایی، هیستوپاتولوژی کلیه موش‌های [illegible] نر سرب شود.

[illegible] و روش‌ها: در این مطالعه، ۴۸ [illegible] بالغ نژاد بالب سی [illegible] تصادفی به شش گروه تقسیم شدند. گروه کنترل هیچ تزریقی دریافت نکرد. گروه دوم mg/kg ۱۶۰ استات سرب (۱۳) [illegible] داخل صفاقی دریافت کرد. به گروه‌های سوم تا ششم علاوه بر mg/kg ۶۰ [illegible] داخل صفاقی به ترتیب [illegible] زهای mg/kg ۲/۵-۵-۱۰-۲۰ منگنز [illegible] داخل صفاقی تزریق شد. پس از ۱۴ [illegible] از کلیه موش‌ها بافتی تهیه [illegible] تکنیک استریولوژیک، حجم کلیه [illegible] مرول‌ها به دست آمد. به علاوه اوره و کراتینین [illegible] اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: بررسی بافت کلیه گروه [illegible] کلاپس و [illegible] گلومرول‌ها و نیز [illegible] واکوئلیزاسیون توبول‌ها را نشان داد. در گروه تحت درمان با دوز ۲/۵ میلی‌گرم منگنز آسیب بافتی کاهش یافته [illegible] حجم کلیه [illegible] گروه‌هایی که دوز ۲/۵ و ۵ میلی‌گرم منگنز دریافت کرده [illegible] نسبت به گروه [illegible] افزایش معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵). تعداد گلومرول‌های کلیوی [illegible] گروه‌هایی که دوز ۱۰، ۲۰ میلی‌گرم منگنز دریافت کرده [illegible] به گروه سرب افزایش معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵). [illegible] اوره در کلیه گروه‌های تحت [illegible] با منگنز (P=۰/۰۰۰) [illegible] کراتینین [illegible] گروهی که دوز ۲/۵ میلی‌گرم منگنز دریافت کرده [illegible] نسبت به گروه سرب، کاهش معنی‌داری داشت (P=۰/۰۱).

نتیجه‌گیری: [illegible] با دوزهای ۲/۵ mg/kg و ۵ mg/kg منگنز پس از تزریق استات سرب به مدت ۱۴ [illegible] بهبود علائم هیستوپاتولوژیکی و بیوشیمیایی کلیه موش‌ها می‌شود.

واژه‌های کلیدی: سرب، کلیه، موش، منگنز

## مقدمه

سرب یکی از مهم‌ترین آلاینده‌های زیست محیطی است که با رشد و توسعه صنعت استفاده از مواد شیمیایی حاوی سرب نیز افزایش یافته و در نتیجه حیات انسان را به مخاطره انداخته است [۱]. آلودگی با سرب نه تنها ناشی از دود حاصل از اتومبیل‌های بنزینی می‌باشد بلکه در صنایع باطری‌سازی،

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۵۱-۵۷۲۲۳۰۲۸

Email: Dr.paper57@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱۱/۲۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۲/۲۰



www.SID.ir

Archive of SID



لحیم‌کاری، لوازم رنگ و نقاشی، محافظ نمایشگرهای کامپیوترها، تلویزیون و فیبر نوری نیز استفاده قابل توجهی دارد. این امر باعث شده علی‌رغم حذف سرب از بنزین در خیلی از کشورها، هنوز سطح سرب خیلی بالاتر از حد مجاز تعیین شده از طرف سازمان بهداشت جهانی باشد [۲]. افراد عمدتاً از طریق تنفس هوای آلوده ناشی از صنعت و سوختن بنزین محتوی سرب و نیز غذا و آب تحت تاثیر سرب قرار می‌گیرند. از بین بافت‌های بدن، سرب در بیش‌ترین سطح خود در کلیه تجمع می‌یابد و باعث ایجاد تغییرات هیستوپاتولوژیک در ساختار و عمل‌کرد کلیه می‌شود. کلیه‌ها به علت نقشی که در بدن دارند نسبت به اثرات توکسیک فلزات آلوده‌کننده مثل سرب حساس‌تر و آسیب‌پذیر هستند [۳]. مطالعات نشان می‌دهد که سرب در کلیه حیوانات باعث علائم برگشت‌پذیری مانند سیتومگالی و اینکلوزن بادی داخل هسته و نیز علائم غیر قابل برگشتی نظیر فیبروز بینابینی و نارسایی مزمن کلیه می‌گردد [۵-۳]. مسمومیت با سرب باعث افزایش حجم گلومرول‌ها می‌شود در حالی‌که تعداد آن‌ها کاهش می‌یابد [۶]. پس از تجویز سرب، کلیه‌ها چروکیده می‌شوند و تعداد زیادی از گلومرول‌ها حذف می‌گردد. وزن کلیه افزایش یافته و فیبروز خفیف به همراه کاهش قطر کورتکس مشاهده می‌شود. به علاوه بیش‌تر لوله‌های کلیوی دچار آتروفی و یا اتساع می‌شوند [۷].

منگنز یکی از مهم‌ترین آنتی‌اکسیدان‌ها و عناصر کمیاب است که از طریق غذا وارد بدن انسان می‌شود. مواد غذایی که حاوی مقادیر بالایی از منگنز می‌باشند، عبارت هستند از برنج، سویا، تخم مرغ، آجیل، روغن زیتون، لوبیا سبز، صدف و اسفناج. پس از مصرف غذاهای حاوی منگنز و جذب آن‌ها، منگنز از طریق خون به اندام‌هایی مانند کبد، کلیه‌ها، پانکراس و غدد درون‌ریز وارد می‌شود.

منگنز با شرکت در ساختار آنزیم سوپراکسید دیسموتاز میتوکندری موجب مهار لیپید پراکسیداسیون در محیط سلولی می‌شود. به علاوه، به عنوان کوآنزیمی جهت فعال‌سازی آنزیم‌های هیدرولاز و کربوکسیلاز سلولی به شمار می‌رود [۸].

مطالعات نشان می‌دهد که تجویز آنتی‌اکسیدان‌ها بر رفع مسمومیت ناشی از سرب در بافت کلیه موثر است. از جمله تجویز عصاره زنجبیل که دارای خواص آنتی‌اکسیدانی است باعث کاهش اسید اوریک، کراتینین و پتاسیم خون در موش‌های در معرض سرب شد [۹]. هم‌چنین تجویز ۱۰μmol/kg از آنتی‌اکسیدان سلنیوم باعث افزایش سطح آنزیم‌های گلوتاتیون پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز و نیز کاهش سطح پراکسیداسیون لیپید در بافت کلیه موش‌های صحرایی در معرض سرب گردید [۱۰]. نتایج مطالعه دیگری نشان داد که تجویز ۰/۳ گرم بر لیترسرب به مدت ۱۰ روز باعث از بین رفتن انسجام بافتی کلیه و تخریب آن و نیز کاهش وزن کلیه‌ها شد. درمان با ۰/۴ g/kg عصاره سیر به دلیل ترکیبات فنلی فراوان آناین آسیب ناشی از سرب را کاهش داد [۱۱]. تجویز ۲۰ mg/kg منگنز به مدت یک ماه نیز باعث کاهش لیپید پراکسیداسیون در بافت کبد، غده فوق کلیه و طحال شد [۱۲]. تجویز ۲۰ mg/kg منگنز به مدت یک ماه نیز باعث کاهش لیپید پراکسیداسیون در بافت کبد، غده فوق کلیه و طحال گردید [۱۲].

در مطالعه دیگری تجویز دوز ۵ میلی‌گرم منگنز به مدت دو هفته باعث بهبود هیستولوژیکی بافت بیضه و کاهش علائم ناشی از مسمومیت با فرمالدئید شد [۱۳]. در تحقیق دیگری تجویز ۲۰ میلی‌گرم منگنز به موش‌های که دچار مسمومیت با کادمیوم شده بودند، کاهش پراکسیداسیون لیپید و افزایش سطح آنزیم کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز را به دنبال داشت [۱۴].

با توجه به جستجویی که ما انجام دایم تاکنون تحقیقی در مورد اثرات آنتی‌اکسیدانی منگنز بر مسمومیت با سرب صورت نگرفته است. لذا هدف از تحقیق حاضر، بررسی تأثیر دوزهای مختلف منگنز بررفع مسمومیت ناشی از سرب در کلیه موش‌های نر بالغ نژاد Balb/c بوده است.



www.SID.ir

Archive of SID



## مواد و روش‌ها

این مطالعه از نوع تجربی بود که پس از تصویب کمیته اخلاق بر روی ۴۸ سر موش نر بالغ نژاد Balb/c انجام شد. موش‌ها در شرایط استاندارد ۱۲ ساعت تاریکی، ۱۲ ساعت روشنایی و دمای ۲۳-۲۱ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. به علاوه، آب و غذا به صورت پلیت آزادانه در اختیار آن‌ها قرار گرفت. سپس، موش‌ها به طور تصادفی به ۶ گروه هشت تایی شامل: گروه کنترل، سرب، تجربی ۱، تجربی۲، تجربی ۳ و تجربی ۴ تقسیم شدند. گروه کنترل هیچ تزریقی دریافت نکرد. به گروه سرب ۶۰mg/kg استات سرب (ساخت کمپانی سیگما) به صورت داخل صفاقی تزریق شد [۱۵]. گروه تجربی ۱، ۲، ۳ و ۴ علاوه بر دریافت ۶۰mg/kg سرب به صورت داخل صفاقی دوزهای ۲/۵ mg/kg، ۵mg/kg، ۱۰mg/k و ۲۰mg/kg منگنز را دریافت کردند. تزریقات با سرنگ انسولین و به صورت درون صفاقی، به مدت ۱۴ روز و روزانه یک بار در حدود ساعت ۱۲-۱۰ صبح انجام می‌شد.

مطالعه استریولوژیکی بافت کلیه

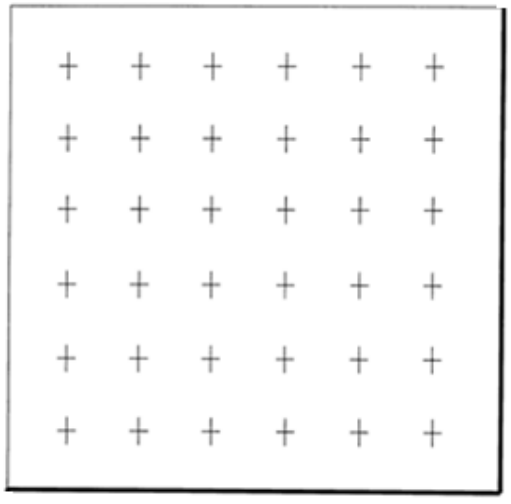
پس از ۱۴ روز، موش‌ها با کلروفرم بی‌هوش شدند. بعد از تهیه نمونه خون، کلیه با ترازوی دیجیتال سارتوریوس وزن شد و در محلول ثابت‌کننده فرمالین ۱۰٪ قرار گرفت. بعد از ۴۸ ساعت، نمونه‌ها وارد مراحل آب‌گیری با الکل، شفاف‌سازی با زایلن، قالب‌گیری با پارافین و رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین شدند. سپس لام‌ها با میکروسکوپ نوری دوربین‌دار بررسی و عکس‌برداری شد.

برای محاسبه حجم کلیه و گلومرول‌های کلیوی از قانون کاوالیه استفاده شد. به این ترتیب که از هر نمونه ۵۰ برش و در هر برش ۵ فیلد به طور تصادفی انتخاب شد. پس از انتخاب برش‌ها به طور تصادفی، یک گرید به طور تصادفی بر روی تصاویر لام‌ها انداخته شد و نقاط برخورد گرید با کلیه شمارش گردید. سپس از فرمول زیر برای محاسبه حجم کلیه استفاده گردید:

$$V = \frac{\sum pi \times a\,(p) \times t}{M^2}$$

$\sum pi$ مجموع نقاط برخوردی با کل کلیه، a/(p) مساحت اطراف هر نقطه از گرید، t ضخامت هر برش و M2 مربع بزرگ‌نمایی تصویر بود. برای محاسبه حجم گلومرول مجموع نقاطی از گرید که با گلومرول‌های کلیوی برخورد کردند را بر تعداد نقاطی که با کورتکس کلیه تلاقی داشتند، تقسیم نمودیم. سپس عدد حاصل را در حجم کورتکس ضرب کردیم. برای محاسبه تعداد گلومرول‌ها، ابتدا برش‌های مرجع و شاهد به طور تصادفی انتخاب شدند و گرید به طور تصادفی بر روی تصاویر قرار گرفت. سپس گلومرول‌هایی که در برش مرجع بودند ولی در برش شاهد وجود نداشت و نیز خطوط ممنوعه را قطع نمی‌کردند، شمارش شدند. سپس از فرمول زیر استفاده شد که در آن $\sum Q$ مجموع نقاط برخوردی با گلومرول‌ها، مدولا و کل کلیه، a/(p) مساحت اطراف هر نقطه از گرید، h ارتفاع دیسکتور و $\sum P$ تعداد فریم‌ها بود.

$$N = \frac{\sum Q}{a(p).h.\sum P} \times V_{Cortex}$$



شکل ۱. تصویر گرید مورداستفاده در روش استریولوژی

اندازه‌گیری فاکتورهای بیوشیمیایی. بعد از اتمام تزریقات، از قلب هر موش خون‌گیری انجام شد. میکروتیوپ‌های حاوی خون، جهت تهیه سرم با دور ۲۵۰۰ و به مدت ۱۰دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند. سپس،



www.SID.ir

Archive of SID



سنجش‌های اوره و کراتینین توسط کیت‌های تجاری شرکت پارس آزمون و دستگاه اتوآنالایزر انجام شد. در این کیت‌ها اوره بر اساس روش کالریمتری و کراتینین بر اساس روش JAFFEمورد سنجش قرار می‌گیرد. هر کیت اوره حاوی چهار محلول R1-R2-R3 و استاندارد بود. در ابتدا یک میلی‌لیتر محلول R2 با ۹۹ میلی‌لیتر محلول R1 مخلوط شد و محلول R´ به دست آمده و کنار گذاشته شد. سپس در دو لوله جداگانه به ترتیب ۱۰ میکرولیتر سرم و ۱۰ میکرولیتر محلول استاندارد ریخته شد. سپس به هر لوله ۱۰۰ میکرولیتر محلول R´اضافه و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. بعد از ۵ دقیقه، به هر ۱۰۰ لوله میکرولیتر محلول R3 اضافه گردید ۱۰ دقیقه دیگر در درجه حرارت ۳۷ درجه قرار داده شد. سپس جذب نوری اوره توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر و در طول موج ۵۷۸ نانومتر قرائت شد.

هر کیت کراتینین حاوی سه محلول R1، R2 و استاندارد بود که برای به این ترتیب عمل شد ۱۰۰ میکرولیتر از محلول R1 و ۱۰۰ میکرولیتر محلول R2 مخلوط شد و در دو لوله جداگانه ریخته شد. در ادامه، به هر لوله ۲۰ میکرولیتر سرم اضافه گردید. در لوله سوم هم ۲۰ میکرولیتر ماده استاندارد اضافه گردید. میزان جذب نوری کراتینین توسط دستگاه اسپکتروفتومتر و در طول موج ۵۰۰ نانومتر قرائت شد.

آنالیز آماری نتایج حاصل از آزمایش به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شد. سپس با نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ و آزمون آنالیز واریانس ANOVA و تست تعقیبی Tuckey مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. سطح معنی‌داری P<۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

## نتایج

نتایج هیستوپاتولوژی گروه‌های مورد آزمایش در لام‌های کلیه نمونه‌های کنترل، گلومرول‌ها و توبول‌های طبیعی بودند و هیچ‌گونه آسیب پاتولوژیکی مشاهده نشد. به علاوه بافت بینابینی و عروق کلیه نیز نرمال بودند. در گلومرول نمونه‌های تحت تیمار با استات سرب، کلاپس و اسکلروز و در توبول‌ها نکروز، کاست و واکوئلیزاسیون مشاهده گردید. در بعضی نمونه‌ها پرخونی در بافت بینابینی، عروق کلیه و نیز آماس فوکال خفیف مشاهده گردید. در لام‌های تحت درمان با منگنز در دوز ۲/۵ میلی‌گرم از شدت آسیب اسکلروز در گلومرول‌ها و نیز نکروز در توبول‌ها کاسته و کاست اندکی دیده شد. به علاوه بافت بینابینی طبیعی بود. در دوزهای بالای منگنز افزایش پر خونی عروق کلیوی مشاهده گردید. به علاوه بر میزان کاست افزوده شد، به طوری که در دوز ۲۰ میلی‌گرم به حداکثر خود رسید (شکل ۱).

وزن کلیه گروه‌های مورد آزمایش نسبت وزن کلیه به وزن بدن در گروه کنترل ۰/۰۷±۰/۷۳ بود که این نسبت برای گروه دریافت‌کننده سرب ۰/۰۸±۰/۹۳ بود که آنالیز آماری افزایش معنی‌داری را نشان داد (P=۰/۰۰۰). به علاوه، نسبت وزن کلیه به وزن بدن در گروه‌های تحت درمان با دوزهای ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم منگنز افزایش معنی‌داری را نسبت به گروه کنترل نشان داد (P<۰/۰۵).

نسبت وزن کلیه به وزن بدن در گروه تحت درمان با دوز ۲/۵ میلی‌گرم منگنز ۰/۰۴± ۰/۷۸ بود که تفاوتی نسبت به گروه کنترل مشاهده نشد (P=۰/۶۱).

حجم کلیه، تعداد و حجم گلومرول‌ها در گروه‌های مورد آزمایش جدول ۱ نتایج مربوط به شمارش مرفومتریک کلیه را نشان می‌دهد. حجم کلیه تنها در گروه‌های با دوز ۲/۵ و ۵ میلی‌گرم منگنز نسبت به گروه سرب افزایش معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵).

آنالیز آماری نشان داد که حجم گلومرول‌های کلیه در گروه دریافت‌کننده سرب نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری دارد (P=۰/۰۴۵). به علاوه، حجم گلومرول‌های کلیوی در گروه‌هایی که دوز ۵ میلی‌گرم منگنز دریافت کرده بودند نسبت به گروه سرب افزایش معنی‌داری داشت (P=۰/۰۰۰). حجم گلومرول‌های کلیوی در دیگر گروه‌های تحت درمان با منگنز نسبت به گروه سرب تفاوت معنی‌داری



www.SID.ir

Archive of SID



نداشت (P>۰/۰۵). آنالیز آماری نشان داد که تعداد گلومرول‌های کلیه در گروه دریافت‌کننده سرب نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری دارد (P=۰/۰۰۰). تعداد گلومرول‌های کلیوی در گروه‌هایی که دوز ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم منگنز دریافت کرده بودند نسبت به گروه سرب افزایش معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵).

سطح اوره و کراتینین گروه‌های مورد آزمایش جدول ۲ سطح اوره و کراتینین سرم خون نمونه‌های مورد آزمایش را نشان می‌دهد. آنالیز آماری نشان داد که سطح اوره در گروه دریافت‌کننده سرب نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری داشت (P=۰/۰۰۰). به علاوه، سطح اوره در کلیه گروه‌های تحت درمان با منگنز نسبت به گروه سرب کاهش معنی‌داری داشت (P=۰/۰۰۰).

جدول ۱. حجم کلیه، گلومرول و تعداد گلومرول های کلیه در گروه‌های مختلف موش نر نژاد بالب سی پس از تزریق سرب و درمان با منگنز

| گروه های مورد آزمایش | حجم کلیه (میلی متر مکعب) | حجم گلومرول (میلی متر مکعب) | تعداد گلومرول |
|---|---|---|---|
| کنترل | ۴۷۱/۵±۱/۶۰ | **۴/۸۸±۰/۴۸ | ***۳۲۰۱۳±۷۷۷/۴ |
| سرب | ۳۲۹/۷±۱۱/۸۱ | ۳/۹۹±۰/۵۲ | ۲۲۰۲۵±۷۵۷/۳ |
| منگنز+ سرب2/5 mg | *۴۱۰/۷±۰/۴۶ | ۴/۳۹±۰/۱۵ | ۲۰۲۲۵±۱۱۹۶/۵ |
| منگنز+ سرب5 mg | *۴۷۵/۵±3.5 | ***۵/۴۹±۰/۱۵ | *۲۰۵۷۵±۱۷۱۷/۷ |
| منگنز+ سرب10 mg | ۳۹۵±۹/۸ | ۴/۷۶±۱/۱۱ | *۲۱۹۷۵±۴۱۶/۶ |
| منگنز+ سرب20mg | ۳۹۷±۳/۶۴ | ۴/۳۹±۰/۵۲ | *21650±۱۴۲۶/۲ |

P=0.01* اختلاف معنی دار نسبت به گروه سرب، P=0.04 ** اختلاف معنی دار نسبت به گروه سرب و P=0.000 *** اختلاف معنی دار نسبت به گروه سرب

جدول ۲. سطح اوره و کراتینین در گروه‌های مختلف موش نر نژاد بالب سی پس از تزریق سرب و درمان با منگنز

| گروه های مورد آزمایش | سطح اوره (میلی گرم بر دسی لیتر) | سطح کراتینین (میلی گرم بر دسی لیتر) |
|---|---|---|
| کنترل | ***۲۹/۰۶±۳/۵۰ | ۰/۴۸±۰/۰۶ |
| سرب | ۵۷/۵۱±۱/۷۳ | ۰/۷۶±۰/۰۲ |
| منگنز+ سرب2/5 mg | ***۴۸/۴۰±۱/۶۸ | *۰/۶۴±۰/۰۹ |
| منگنز+ سرب5 mg | ***۴۶/۵۹±۳/۷۰ | ۰/۸۱±۰/۰۲ |
| منگنز+ سرب10 mg | ***۵۱/۴۵±۱/۵۸ | ۰/۷۱±۰/۰۲ |
| منگنز+ سرب20mg | ***۴۳/۱۰±۱/۵۲ | ۰/۷۵±۰/۱ |

P=0.01*اختلاف معنی دار نسبت به گروه سرب و P=0.000 *** اختلاف معنی دار نسبت به گروه سرب

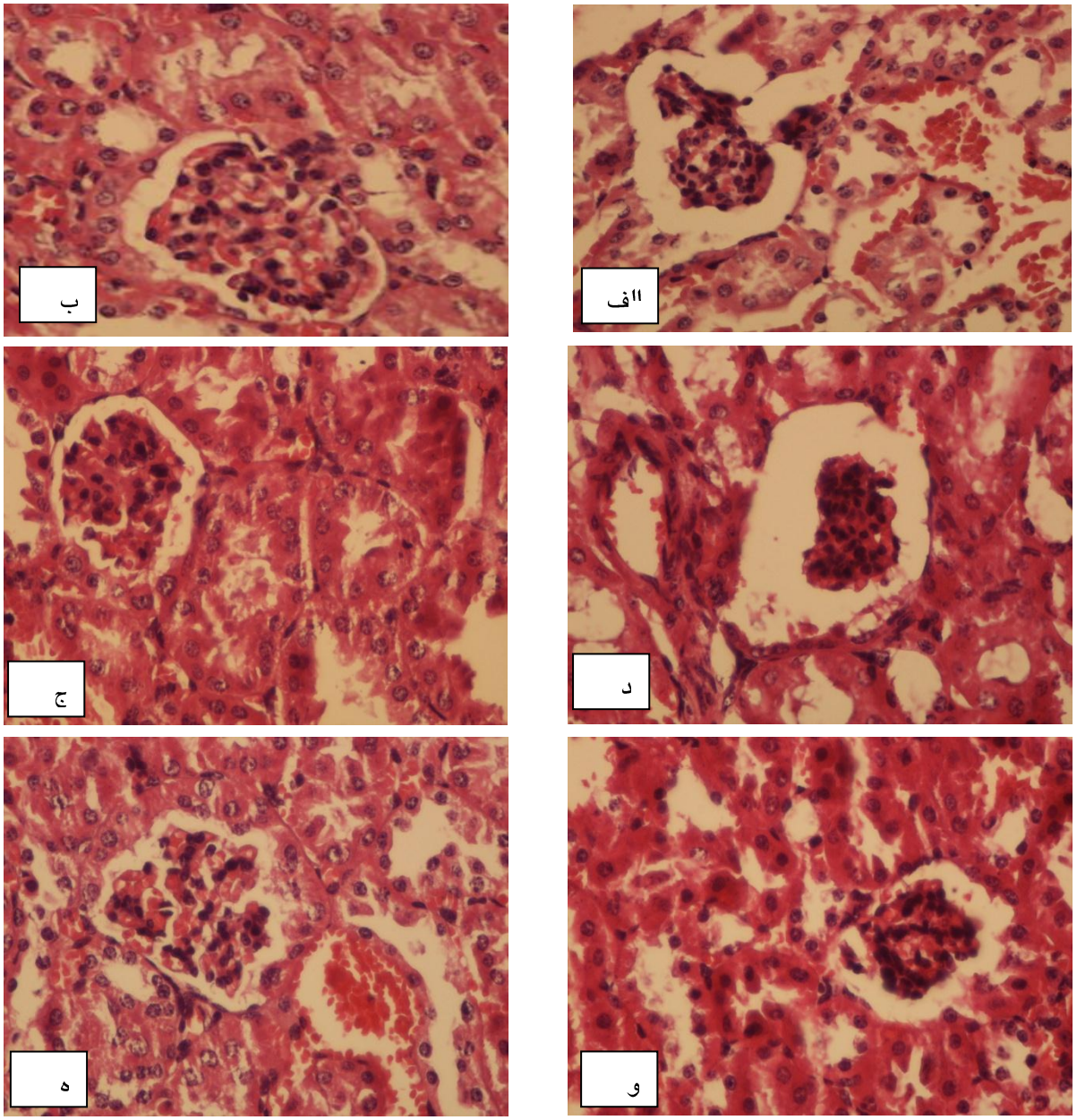
آزمون آماری نشان داد که سطح کراتینین در گروه دریافت‌کننده سرب نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری داشت (P=۰/۰۰۰). به علاوه، سطح کراتینین در گروهی که دوز ۲/۵ میلی‌گرم منگنز دریافت کرده بودند نسبت به گروه سرب کاهش معنی‌داری داشت (P=۰/۰۱). سطح کراتینین در گروهی که دوز ۵ میلی‌گرم منگنز دریافت کرده بودند نسبت به گروه سرب تفاوت معنی‌داری نداشت (P=۰/۶۹). سطح کراتینین در گروهی که دوز ۱۰ میلی‌گرم منگنز دریافت کرده بودند نسبت به گروه سرب تفاوت معنی‌داری نداشت (P=۰/۶۰). سطح کراتینین در گروهی که دوز ۲۰ میلی‌گرم منگنز دریافت کرده بودند نسبت به گروه سرب تفاوت معنی‌داری نداشت (P=۱/۰۰۰).



www.SID.ir

Archive of SID






شکل ۲- تصویر (الف- و) به ترتیب مربوط به گروه کنترل، سرب، تحت درمان با دوز ۲/۵ میلی گرم منگنز، دوز ۵ میلی گرم منگنز، دوز ۱۰ میلی گرم و دوز ۲۰ میلی گرم منگنز. بزرگنمایی ۲۰× رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین.

## بحث و نتیجه‌گیری

در مجموع نتایج مطالعه حاضر نشان داد که استات سرب اثر مخربی بر بافت کلیه به خصوص گلومرول‌های کلیوی دارد. به علاوه میزان اوره و کراتینین که به عنوان شاخص عملکردی کلیه در نظر گرفته می‌شود، پس از مسمومیت با سرب به طور چشمگیری افزایش می‌یابد. تجویز دوز ۲/۵ و ۵ میلی‌گرم آنتی اکسیدان منگنز می‌تواند این اثرات را بهبود بخشد.

مطالعات نشان می‌دهند که مسمومیت با سرب باعث افزایش حجم گلومرول‌ها می‌شود در حالی‌که تعداد آن‌ها کاهش می‌یابد [۶]. پس از تجویز سرب، کلیه‌ها چروکیده می‌شوند و تعداد زیادی از گلومرول‌ها حذف می‌گردد و فیبروز خفیف به همراه کاهش قطر کورتکس مشاهده می‌شود. به علاوه بیش‌تر لوله‌های کلیوی دچار آتروفی و یا اتساع می‌شوند [۷]. نتایج مطالعه دیگری نشان داد که تجویز سرب به صورت گاواژ در موش‌های صحرایی موجب آسیب کلیوی



www.SID.ir

Archive of SID



می‌شود که به صورت ذرات رسوب‌گذاری شده در لوله‌های پیچیده نزدیک کلیه و افزایش کلسیم خون مشاهده می‌شود [۱۸]. به طور مشابه در مطالعه حاضر نیز پس از تجویز استات سرب، کلاپس و اسکلروز در گلومرول‌ها مشاهده گردید. به علاوه در نکروز، کاست و واکوئلیزاسیون در لوله‌های پیچیده کلیه مشاهده گردید. در بعضی نمونه‌ها پرخونی در بافت بینابینی، عروق کلیه و نیز آماس فوکال خفیف مشاهده شد.

Yagminas و همکاران، افزایش وزن کلیه را به دنبال مسمومیت با سرب گزارش کردند [۱۹]. به علاوه Johari و همکاران نیز با تجویز سرب افزایش وزن کلیه را مشاهده نمودند. در مطالعه حاضر نیز تجویز سرب باعث افزایش وزن کلیه شد که ممکن است به دلیل تجمع سرب در کلیه و افزایش آماس و تکثیر سلولی در آن باشد.

مطالعات نشان می‌دهد که تجویز آنتی‌اکسیدان‌ها بر رفع مسمومیت ناشی از سرب در بافت کلیه موثر است. از جمله تجویز عصاره زنجبیل که دارای خواص آنتی‌اکسیدانی است باعث کاهش اسید اوریک، کراتینین و پتاسیم خون در موش‌های در معرض سرب می‌شود [۹]. اثر حفاظتی آن عمدتاً مربوط به ترکیبات فنلی و اتانولی موجود در آن می‌باشد که موجب خنثی کردن رادیکال‌های آزاد و تحریک ترمیم سلول‌های کلیوی به واسطه خواص آنتی‌اکسیدانی آن می‌شود [۹]. هم‌چنین تجویز ۱۰ µmol/kg از آنتی‌اکسیدان سلنیوم باعث افزایش سطح آنزیم‌های گلوتاتیون پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز و نیز کاهش سطح پراکسیداسیون لیپید در بافت کلیه موش‌های صحرایی در معرض سرب شد [۱۰]. نتایج مطالعه دیگری نشان داد که تجویز ۰/۳ گرم بر لیتر سرب به مدت ۱۰ روز باعث از بین رفتن انسجام بافتی کلیه و تخریب آن و نیز کاهش وزن کلیه‌ها شد. درمان با ۰/۴ g/kg عصاره سیر به دلیل ترکیبات فنلی فراوان آن این آسیب ناشی از سرب را کاهش داد [۱۱]. تجویز ۲۰mg/kg منگنز به مدت یک ماه نیز باعث کاهش لیپید پراکسیداسیون در بافت کبد، غده فوق کلیه و طحال شد [۱۲]. سازگار با مطالعات بالا، در تحقیق حاضر نیز تجویز دوز ۲/۵ میلی‌گرم منگنز باعث کاهش آسیب بافتی به همراه کاهش سطح اوره و کراتینین شد. در دوزهای بالاتر آسیب بافتی و سطح اوره و کراتینین افزایش یافت که نشان‌دهنده اثرات وابسته به دوز منگنز می‌باشد. دوز مناسب آن اثرات مطلوبی داشته در صورتی که دوز نامناسب آن اثرات معکوس را به دنبال دارد [۱۹].

Heilmann و همکاران گزارش کردند که با کاهش تعداد گلومرول‌ها، حجم آن‌ها افزایش می‌یابد [۲۰]. در مطالعه حاضر نیز با کاهش تعداد گلومرول‌ها، حجم آن‌ها افزایش یافت. این امر ممکن است به منظور جبران عملکردی گلومرول‌های از دست رفته باشد.

به نظر می‌رسد مکانیسم منگنز به این صورت است که در برخورد با آنیون سوپراکساید و یا پراکسیل به طور مستقیم وارد عمل شده و ضمن تبدیل به $Mn^{3+}$ موجب حذف رادیکال‌های آزاد از محیط عمل سلول‌ها می‌گردد. هم‌چنین به طور غیر مستقیم با شرکت در ساختار آنزیم سوپراکسید دیسموتاز میتوکندری موجب مهار لیپید پراکسیداسیون در محیط سلولی می‌شود. به علاوه، منگنز جهت فعال‌سازی آنزیم‌های هیدرولاز و کربوکسیلاز سلولی لازم و ضروری است [۲۱،۸].

با بررسی که ما انجام دادیم این مطالعه برای اولین بار اثرات منگنز را بر مسمومیت سرب در کلیه بررسی کرد که از نقاط قوت آن به شمار می‌رود. از جمله کاستی‌های این تحقیق در نظر نگرفتن گروهی که فقط منگنز دریافت کرده بود تا اثرات خود منگنز به تنهایی مورد ارزیابی قرار گیرد. به علاوه بهتر بود سطح مارکرهای استرس اکسیداتیو و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام در گروه‌های مختلف بررسی می‌گردید.

نتایج هیستوپاتولوژی نشان داد که استات سرب اثرات مخربی بر بافت کلیه موش‌های نر نژاد بالب سی دارد. به علاوه باعث افزایش سطح اوره و کراتینین می‌شود. درمان با دوزهای ۲/۵ mg/kg و ۵ mg/kg منگنز پس از تزریق استات سرب به



www.SID.ir

Archive of SID



مـدت ۱۴ روز باعـث بهبـود علائـم هیسـتوپاتولوژیکی و بیوشیمیایی کلیه موش‌ها می‌شود.

## تشکر و قدردانی

این مطالعه حاصل طرح پژوهشی مصوب شورای پژوهشی کمیته تحقیقات دانشجویی دانشگاه علوم پزشکی گناباد است که بدین‌وسیله از مساعدت‌های به عمل آمده، تشکر می‌گردد.

## منابع

[1] Pande M, Flora SJ. Lead induced oxidative damage and its response to combined administration of alpha-lipoic acid and succimers in rats. Toxicol 2002 ; 177: 187-196.

[2] Heidari Z, Sagheb H, Dezfoulian A, Barbarestani M, Noori H. A stereological analysis of renal glomeruli following chronic lead intoxication in rat during a continuous period of 8 weeks. Acta Med Iran 2002; 40: 73-78.

[3] Sanchez S, Aguilar RP, Genta S. Renalextracellular matrix alterations in lead –treatedrats. J Appl Toxicol 2001; 21: 417-423.

[4] Loghman H. Renal effects of environmental & occupational lead exposure. Environ Health Prespect 1997; 105: 928-939.

[5] Khalil Manesh F, gonick HC, Cohen AH, et al. Experimental model of lead nephropathy IIeffect of removal from lead exposure and chelation treatment with dimercaptosuccinic acid (DMSA). Environ Resear 1992; 58: 35-54.

[6] Mahmoudzadeh Sagheb HR, Heidari Z, Dezfulian A, Chitsazian Nice P, Nouri SM. Stereological analysis of glomeruli in chronic poisoning by lead in laboratory rats over a period of 12 weeks. J Yazd Univ Med Sci 2002; 1: 80-86. (Persian).

[7] Vyskocil A, Cizkova M, Tejnorova I. Effect of prenatal and postnatal Exposure to lead on kidney function in male Rats. J Appl Toxicol 1995; 15: 327-328.

[8] Macmillan-Crow LA, Cruthirds DL. Invited review: manganese superoxide dismutase in disease. Free Radic Res 2001; 34: 325-336.

[9] Johari H, Sharifi E, Delirnasab F, Hemayatkhah V, Kargar H, Nikpoor M. The effect of hydro-alcoholic extracts of ginger on lead detoxification of kidney in the immature wistar rats. J Rafsanjan Univ Med Sci 2013; 12: 417-424. (Persian).

[10] Othman AI, El Missiry MA. Role of selenium against lead toxicity in male rats. J Biochem Mol Toxicol 1998; 12: 345-349.

[11] Johari H. The effect of garlic (allium sativum) extract on lead detoxification in kidney tissue of neonatal rat. J Kerman Univ Med Sci 2013; 20: 31-39. (Persian).

[12] Chen MT, Sheu JY, Lin TH. Protective effects of manganese against lipid peroxidation. J Toxicol Environ Health A 2000; 61: 569-577.

[13] Tajaddini Sh, Ebrahimi S, Shirinbayan P, Bakhtiyari M, Behnam B, Joghataei MT. Protective effects of manganese on the testis structure and sperm parameters of formalin treated mice. J Isfahan Med Sch 2013; 31: 1018-1032. (Persian).

[14] Eybl V, Kotyzova D. Protective effect of manganese in cadmium-induced hepatic oxidative damage, changes in cadmium distribution and trace elements level in mice. Interdisc Toxicol 2010; 3: 68-72.

[15] Mohammadi S, Zamani E, Mohadeth Z, Mogtahedi F, ChopanH, MoghimiF, et al. FernsG. Effects of different doses of simvastatin on lead-induced kidney damage in Balb/c male mice. Pharm Sci 2015; 20: 157-162.

[16] Mohammadi S. Protective effect of N-Acetyl cysteine against formaldehyde-induced neuronal damage in cerebellum of mice. Pharmaceutical Sci 2014; 20: 61-65.

[17] Mohammadi S, Pakrouh Z, Teimouri M, Hagi pour S, Karimi M, Mohammadi M, et al. Effects of drug substance crystal (methamphetamine) on histopathology and biochemical parameters of kidney in adult male mice. J Kurdestan Univ Med Sci 2015; 20: 83-90. (Persian).

[18] Missoun F, Slimani M, Aoues A. Toxic effect oflead on kidney function in rat wistar. African J Biochem Res 2010; 4: 21-27.

[19] Yagminas AP, Franklin CA, Villeneuve DC, Gilman AP, Little PB, Valli VE. Subchronic oral toxicity of triethyl lead in the male weanling rat, Clinical, biochemical, hematological and histopathological effects. Fundam Appl Toxicol 1990; 15: 580-596.

[20] Heilmann M, Neudecker S, Wolf I, Gubhaju L, Sticht C, Schock-Kusch D, et al. Quantification of glomerular number and size distribution in normal rat kidneys using magnetic resonance imaging. Nephrol Dial Transplant 2012; 27: 100-107.

[21] Santamaria AB, Sulsky SI. Risk assessment of an essential element: manganese. J Toxicol Environ Health A 2010; 73: 128-155.



www.SID.ir

Archive of SID



# Effects of different doses of manganese on lead poisoning in the kidney of adult male mice

Shabnam Mohammadi (Ph.D)[1], Mahbobeh Khakbaz (M.D Student)[*2], Marzieh Shoraka (M.D Student)[2], Samira Vakil (M.D Student)[2], Maryam Moghimian (Ph.D) [3], Fatemeh mohammadzadeh(M.Sc)[3], Maryam Mohammadi (Ph.D) [4], Naghmeh jajarmi (M.Sc)[5], Kamyar Tavakkoli (MD)[6], Mehdi Basiri Moghadam (M.Sc)[7], Mehdi Karimi (MD)[8]

*1- Neurogenic Inflammation Research Center, School of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran*
*2 - Student Research Committee, Faculty of Medicine, Gonabad University of Medical Sciences, Gonabad, Iran*
*3 – Dept. of Basic Sciences, Faculty of Medicine, Gonabad University of Medical Sciences, Gonabad, Iran*
*4 - Dept. of Public Health, School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran*
*5 – Student of Biochemistry, PayameNoor University, Mashhad, Iran*
*6 - Dept. of Urology, School of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran*
*7 - Dept. of Nursing, Faculty of Nursing, Gonabad University of Medical Sciences, Gonabad, Iran*
*8 - Dept. of Clinical Sciences, Faculty of Medicine, Gonabad University of Medical Sciences, Gonabad, Iran*

(Received: 17 Feb 2015; Accepted: 9 May 2016)

***Introduction**:* Lead is one the heavy metals that cause negative effects on the body systems. However, there is little data about the effect of antioxidants on kidney damage induced by the lead. Therefore, the aim of the present study was to evaluate the effects of different doses of manganese on biochemical and histopathological parameters of kidney in mice.

***Materials and Methods**:* In this study, 48 adult Balb/C male mice were randomly divided into six groups. Control group did not receive any injection. Second group received 60 mg/kg lead acetate intraperitoneally. Third to sixth groups were injected 60 mg/kg lead acetate and 2.5-5-10-20 mg/kg manganese intraperitoneally, respectively. After 14 days, slides from kidney of mice prepared and the volume of kidney and volume and number of glomeruli were measured by stereological method. Besides, levels of serum urea and creatine were measured.

***Results**:* Evaluation of the kidney tissue in lead poisoning group showed collapse and glomerulosclerosis as well as tubular vacuolization and necrosis. In the 2.5 mg/kg manganese-treated group less tissue damage occurred. A significant increase in volume of kidney was observed in 2.5, 5 mg/kg manganese-treated and lead poisoning groups ($P < 0.05$). The number of glumeruli in 5, 10 and 20 mg treated manganese groups showed significant increase in compare to the lead poisoning group. Urea level in all groups under treatment with manganese ($P = 0.000$) and creatinine level in 2.5 mg treated manganese group were significant reduced in compare to those in the lead poisoning group ($P = 0.01$).

***Conclusion**:* Treatment with 2.5 mg/kg and 5 mg/kg of manganese after injection of lead acetate for 14 days caused improvement in histopathology and biochemical signs of kidney tissue damage in mice.

***Keywords**:* Lead, Kidney, Mice, Manganese

* Corresponding author. Tel: +98 515 7223028
Dr.paper57@gmail.com



www.SID.ir