View metadata, citation and similar papers at core.ac.uk
brought to you by CORE
provided by shahrekord university of medical scinces

مجله دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد/ دوره ۱۴، شماره ۴/ مهر و آبان ۱۳۹۱/ ۲۰-۱۱

مقاله پژوهشی

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

دکتر سید محمد حسین رضویان[۱*]، نرجس تمدن[۲]، محسن اسلامی فارسانی[۳]، دکتر محمدرضا ذوالفقاری[۱]، سارا یادگاری[۲]

[۱] گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قم، قم، ایران؛ [۲] گروه علوم جانوری، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قم، قم، ایران؛ [۳] 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 منگانیسم شود. برای کاهش عوارض حاصل، داروهای شلات کننده‌ی فلزات پیشنهاد شده‌اند. این پژوهش با هدف بررسی، قدرت شلات کنندگی داروی پاراآمینوسالیسیلیک 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 سالین-سالین، منگنز-سالین، سالین-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 پاراآمینوسالیسیلیک 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<۰/۰۱). بیلی روبین مستقیم خون در گروه های دوم و سوم نسبت به کنترل بیشتر بود (P<۰/۰۵). بیلی روبین در ادرار حیوانات گروه های دوم وسوم و چهارم مشاهده شد و اوروبیلینوژن در ادرار این گروه‌ها کاهش داشت (P<۰/۰۵). آنزیم های اگزالواستات ترانس آمیناز و پیروات ترانس آمیناز در گروه سوم و آنزیم آلکالین فسفاتاز در گروه های دوم و چهارم نسبت به کنترل افزایش معنی دار داشتند (P<۰/۰۵).

نتیجه گیری: داروی پاراآمینوسالیسیلیک 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: پاراآمینوسالیسیلیک اسید، عوارض کبدی، منگنز.

مقدمه:

پیشرفت کشورها با توسعه صنایع فلزی همراه است و به ناچار هر روزه بر تعداد کارگرانی که با فلزات سروکار دارند افزوده می شـــود. منگنز یکی از این فلزات است و افرادی که در صنایع مختلف نظیر معادن منگنز، ذوب آهن، جوشکاری، ساخت باطری، رنگسازی، حشره کش ها و ... مشغول به کارند با این فلز برخورد نزدیک داشته و در معرض مسمومیت با آن 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 نانو مول در لیتر است که اگر به ۱۸۰ نانو مول 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

*نویسنده مسئول: قم- بلوار ۱۵ خرداد- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قم- تلفن: ۰۲۵۱-۷۷۸۰۰۰۱، E-mail:mh_razavy@yahoo.com

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 12:07 +0430 on Tuesday August 29th 2017

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 12:07 +0430 on Tuesday August 29th 2017

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 منگانیسم شود (۹-۶). تجمع فلز منگنز در هسته های بازال گانگلیا، گلبوس پالیدوس و اجسام مخطط باعث عملکرد نامناسب میتوکندری و در نهایت منجر به نوروتوکسیتی می شود. منگنز به غشاء داخلی میتوکندری اتصال می یابد و در نتیجه روی پمپ های کلسیمی اثر گذاشته و انتشار کلسیم به خارج را دچار اختلال می‌کند که در نتیجه ی آن آپوپتوزیس سلول رخ می‌دهد (۱۰،۹). 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 سیتم حرکتی خارج هرمی می‌شود (۱۴-۱۱). برای کاهش عوارض منگانیسم 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 (۱۶،۱۵). ترکیبات شلات کننده کمپلکس های پایداری هستند که می توانند از چند نقطه بافلزات ترکیبات پایدار ایجاد کنند. یکی از این ترکیبات اتیلن دی آمید تترا 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 نمی‌کند و نمی‌تواند منگنز داخل سلولی را کاهش دهد. کلاتور دیگری که می تواند با افزایش دفع منگنز در کاهش علائم مسمومیت منگانیسم به خصوص در مغز موفق عمل کند پارا آمینو سالیسیلیک اسید است (۱۶،۱۵). این ترکیب دارای گروه های 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 نورونی کمک می کند (۱۷،۱۶).

هر داروی شیمیایی در کنار اثرات درمانی خود، می تواند اثرات ناخواسته بر بدن داشته باشد. از آنجا که پاراآمینوسالیسیلیک 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 بروزآسیب هایی را موجب می گردد (۱۸). در این تحقیق به نقش شلات کنندگی پاراآمینوسالیسیلیک 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 ۲۵°C و دوره های دوازده ساعته نوردهی 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) ۰/۵ سی سی سالین در گروه های اول (کنترل) و دوم آزمون و کلرید منگنز (Mncl2.2H2O، شرکت مرک) به میزان ۸mg 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

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 12:07 +0430 on Tuesday August 29th 2017

اتوکلاو و مصرف شد.

دومین مرحله نیز مشتمل بر تزریق زیرجلدی یک سی سی سالین در گروه های اول (کنترل) و سوم آزمون و پاراآمینوسالیسیلیک اسید (شرکت سیگما) با غلظت ۱/۵g/L پنج روز در هفته به مدت چهار هفته به منظور درمـــان در گروه های دوم و چهارم آزمون بود. محلول های تهیه شده از پاراآمینوسالیسیلیک 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 ۲۰°C- فـــریز و به مرور برای اندازه‌گیری 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 فرمالین۱۰ درصد به ترتیب مراحل پاساژ، قالب گیری، برش گیری و رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین با دستگاه Dia path ایتالیا صورت گرفت. برای ارزیابی توصیفی بافت‌ها فتومیکروگراف هایی با بزرگنمایی مختلف، توسط دوربین دیجیتال CMOS HDCE-10A و نرم افزار DN2 تهیه شد.

برای تحلیل داده ها از نرم افزار SPSS و آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA Test) پس از آزمون برقـــراری شرط برابری واریانس (Test of homogeneity of variance) برای متغیرها و آزمون تعقیبی Tukey با سطح معنی داری P<۰/۰۵ استفاده شد.

یافته ها:

بررسی پارامترهای بیوشیمیایی اندازه‌گیری شده حکایت از افزایش معنی دار بیلی روبین کونژوگه خون حیوانات گروه های آزمـــون ۲ و ۳ نسبت به کنترل و کاهش معنی‌دار در گـــروه آزمون ۴ نسبت به گروه های آزمون ۲ و ۳ دارد. افزایش آنزیم های اگزالواستات ترانس آمیناز و پیروات ترانس آمیناز در سرم حیوانات گروه ۲ نسبت به کنترل معنی دار بود (P<۰/۰۵)، ولی در سایر گروه ها تغییر معنی‌داری مشاهده نشد .

افزایش معنی دار آنزیم آلکالین فسفاتاز در سرم گروه های ۲ و ۴ نسبت به کنترل دیده شد (P<۰/۰۵). کاهش مختصر در آلبومین 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<۰/۰۱) (جدل شماره ۱).

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

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 12:07 +0430 on Tuesday August 29th 2017

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 ٤	Pvalue
کلسترول (mg/dl)	٥٤/٤ ± ٤/٤	٥٥/٤ ± ١١	٧٥ ± ٣/٧	٥٥ ± ٥/٥	٠/٠٠١
بیلی روبین تام (mg/dl)	٨٢/٦ ± ٢/٥	٩٢ ± ٤/١	٩٣/٢ ± ١٠	٨٧ ± ٤/٤	٠/٠٤٨
بیلی روبین مستقیم (mg/dl)	٢٧ ± ١١	٥٣ ± ٤/٥	٥٢ ± ٤/٥	٣٥ ± ٨/٧	٠/٠٥١
بیلی روبین غیرمستقیم (mg/dl)	٥١/٢ ± ١١	٣٦/٢ ± ٩/٦	٣٧/٦ ± ١٥	٣٧/٦ ± ١٥	<٠/٠٠١
اگزالواستات ترانس آمیناز (IU/l) (OT)	١٢٣ ± ٢٧	١٨٨ ± ١٩	١٠٧ ± ١٠	١٣٧ ± ٣٢	<٠/٠٠١
پیروات ترانس آمیناز (IU/l) (PT)	٣٥./٨ ± ٧/٢	٥٥/٢ ± ٨/٣	٣٦/٦ ± ٣	٤٠ ± ١٢	٠/٠٠٦
آلکالین فسفاتاز (IU/l)	٢٣٦ ± ٠٠	٢٦٢ ± ٢٧	٢٣٧ ± ٤٠	٣١٤ ± ٦١	٠/٠١٩
پروتئین تام (g/dl)	٦/٤٨ ± ٠/٢	٦/٠٤ ± ٠/٦	٦/٧ ± ٠/٥	٦/٢٥ ± ٠/٢	٠/٠٦٨
آلبومین (g/dl)	٣/٠٦ ± ٠/١	٢/٩ ± ٠/١	٣/١ ± ٠/١	٣/٢ ± ٠/١٢	٠/٠٠٧
گلوبولین (g/dl)	٣/٤ ± ٠/٣	٣/٢ ± ٠/٣	٣/٦ ± ٠/٣	٣/٠٤ ± ٠/١	٠/٠٢٥
آلبومین:گلوبولین	٠/٩ ± ٠/١١	٠/٩٢ ± ٠/١	٠/٨٧ ± ٠/٠٥	١/٠٥ ± ٠/٠٥	٠/٠٠٦
اوره (mg/dl)	٣٧/٥ ± ٢/٦	٣٩ ± ١/٤	٤٢/٥ ± ٣	٤٢/٤ ± ٥/٧	٠/٩٥

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 منکنز): تزریق منگنز در دوره اول و تزریق سالین در دوره دوم و گروه ٤(گروه درمان): تزریق منگنز در دوره اول و تزریق PAS در دوره دوم.

PAS=پاراآمینوسالیسیلیک

جدول شماره ۲: پارامترهای ادراری حیوانات گروه هـای مختلف آزمون

پارامترها / گروه	گروه ۱	گروه ۲	گروه ۳	گروه ٤
بیلی روبین	-	+	+	++
اوروبیلینوژن	++++	+++	++	++
نیتریت	++++	++	-	+++
پروتئین	++	++	++++	+++

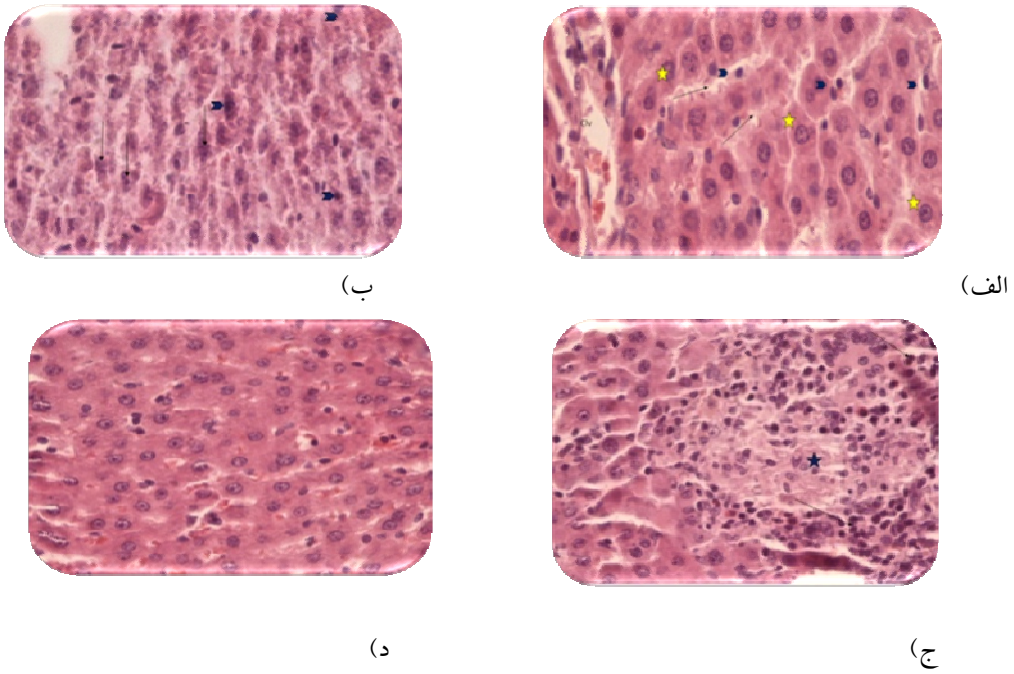
گروه ۱ (گروه کنترل): تزریق سالین در دو دوره تزریق، گـروه ۲ (دریافت دارو): تزریق سـالین در دوره اول و PAS در دوره دوم، گروه ۳ (دریافـت منکنـز): تزریـق منگنـز در دوره اول و تزریق سالین در دوره دوم) و گروه ٤ (گـروه درمـان): تزریـق منگنز در دوره اول و تزریق PAS در دوره دوم.

PAS=پاراآمینوسالیسیلیک

بررســـی های هیستوپاتولوژیک کبد حیوانات گروه کنـــترل، هپاتوسیت ها را به صورت سلول هـای چند وجهی با سیتوپلاسم صورتی رنگ، هسته بزرگ و مدور، کروماتین ظریف نشان داد. سلول‌ها بصورت طناب‌های کبدی و در بین آنها سینوزوئیدهای دارای سلول های 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، شرینکیج سلول‌ها، پیکنوتیک شدن هسته‌ها، کاریورکسیس و کاریولیز کروماتین بویژه در ناحیه پره سنترال، بهم ریختگی سیتوپلاسم را نشان داد. همچنین کاهش فضای سینوزوئیدها بواسطه تورم سلولی، نکروزه شدن سلول ها به دلیل وجود حالت های هیالینه و افزایش تعداد سلول های التهابی مشهود بود.

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 12:07 +0430 on Tuesday August 29th 2017



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 می‌خورد (هپاتوسیت 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): شرینکیج سلولی، پیکنوتیک شدن هسته ها، کاریورکسیس و کاریولیز کروماتین، بهم ریختگی سیتوپلاسم دیده می شود.، ج (گروه آزمون سوم) (دریافت منگنز): نکروز کانونی درنزدیک فضای پورت، تجمع سلول های التهابی، هیالینه شدن هپاتوسیت ها، واکوئل های کوچک و حبابدار شدن هپاتوسیت ها به چشم می خورد. (تجمع سلول‌های التهابی: فلش ها و هیالینه شدن هپاتوسیت ها: ستاره ها)، د (گروه آزمون چهارم) (دریافت منگنز+پارا آمینوسالیسیلیک اسید): هپاتوسیتهای طبیعی تر از گروه دوم، هسته ها طبیعی تر ولی بعضا کوچکتر از گروه کنترل، فضای سینوزوئیدها تنگتر ازگروه کنترل دیده می شود.

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

مصرف همزمان منگنز و دارو در گروه ۴ آزمون موجب شد که هپاتوسیت ها دارای ساختاری طبیعـــی تر از گروه مسموم شده با منگنز، هسته ها طبیعی تر ولی بعضاً کوچکتر از گروه کنترل، فضـــای سینوزوئیدها نیزتنگتر ازگروه کنترل، مقداری تـــورم 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 سلول‌های رتیکولواندوتلیال کبد است که آن را بر حسب واکنش با واکنشگر دی آزو (Diazo) 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 می‌کند و مستقیماً با

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 12:07 +0430 on Tuesday August 29th 2017

واکنشگر دی آزو واکنش نمی‌دهد. باقیمانده بیلی روبین که در سلول‌های 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 هایپربیلیروبینمی کانژوگه را به همراه دارند، علاوه بر بیلی روبین سرم، بیلی روبین ادرار نیز افزایش می‌یابد (۲۰،۱۹،۱۳). افزایش معنی‌دار 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 می‌کند که توسط Dixon (۱۸) و Zwingmann و همکاران (۲۰) نیز گزارش شده‌اند. 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 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 می‌کنند. سلول های موکوس 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 می‌شوند (۲۱،۳). افزایش معنی‌دار آلکالین فسفاتاز در گروه‌هایی که پاراآمینوسالیسیلیک اسید دریافت کرده‌اند بروز آسیب های کبدی صفراوی به موازات را نشان می‌دهد که Dixon نیز به آن اشاره کرده است (۱۸). بنابراین احتمال آسیب‌های 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 کهAmdur منگنز را محرک آنزیم موالونات کیناز و Benedict منگنز را محرک آنزیم

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 12:07 +0430 on Tuesday August 29th 2017

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 Akoume و همکاران (۲۶) نیز آن را به شکل مشابهی گزارش کرده‌اند. به این ترتیب پاراآمینوسالیسیلیک 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 منگانیسم نیز کاهش یابد.

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

در مجموع می‌توان گفت پاراآمینوسالیسیلیک 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 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 پاراآمینوسالیسیلیک 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 پاراآمینوسالیسیلیک اسید به شکل وریدی، استفاده از پاراآمینوسالیسیلیک اسید خوراکی، استفاده از کلات کننده های دیگر با اثرات جانبی کمتر تمرکز یابد.

نتیجه گیری:

داروی پارا آمینوسالیسیلیک 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.

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. 3rd ed. NewYork: 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.

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 12:07 +0430 on Tuesday August 29th 2017

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 manganes 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 manages 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 64Cu, 52Mn and 203Hg in rats. Arch Toxikol. 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 farnecyl pyrophosphate synthetase of pig liver. Arch Biochem Biophys. 1965 Jun; 110(3): 611-21.
25. Roby MJ. Plasma and liver cholestrol in the manganese deficient rat. Fed Prom. 1982; 41: (5): 101-4.

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 12:07 +0430 on Tuesday August 29th 2017

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.

Journal of Shahrekord University of Medical Sciences
(J Shahrekord Univ Med Sci) 2012 Oct, Nov; 14(4): 11-20.

Original article

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 12:07 +0430 on Tuesday August 29th 2017

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

Razavian MH (PhD)[1]*, Tamaddon N (MSc)[2], Eslami-Farsani M (MSc)[3]
Zolfaghari MR (PhD)[2], Yadegari S (MSc)[2]
[1]Microbiology Dep., Qom Branch, Islamic Azad University, Qom, I.R. Iran; [2]Biology Dept., Qom Branch, Islamic Azad University, Qom, I.R. Iran; [3]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*