مقاله تحقیقی

مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی بابل
دوره نوزدهم، شماره ۱۱، آبان ۱۳۹۶، صفحه ۵۷-۵۰

اثر محافظتی روی (Zn) بر سمیت کبدی ایجاد شده توسط آرسنیک (Ar) در طی دوره جنینی و شیردهی نوزاد موش صحرایی

فروزان جعفری (MSc)[۱]، فرشته طالب پور امیری (PhD)[۲]، امیر اسماعیل نژاد مقدم (PhD)[۲*]، مهریار زرگری (PhD)[۲]، حورالعین عرب (MSc)[۲]

۱-کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران
۲-مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران

دریافت: ۹۶/۲/۱۲، اصلاح: ۹۶/۵/۲۴، پذیرش: ۹۶/۷/۱۱

خلاصه

سابقه و هدف: آرسنیک (Ar) بعنوان یک عامل استرس اکسیداتیو در دوره بارداری و شیردهی می تواند موجب ناهنجاری در نوزاد گردد. از سوی دیگر شواهد حاکی از خاصیت آنتی اکسیدانتی روی (Zn) می باشند. مطالعه حاضر با هدف تعیین اثر محافظتی Zn بر سمیت کبدی ناشی از Ar در طی دوره جنینی و شیردهی نوزاد رت انجام گرفت.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی ۲۴ سر رت ماده از بین ۳۵ موش که پس از جفت گیری بارداری آنها تایید شد، بطور تصادفی در ۴ گروه ۶ تایی شامل گروه I- کنترل (بدون مداخله)، II- روی (Zn) (۲۰ mg/kg)، III- آرسنیک (Ar) (۵ mg/kg) و IV- آرسنیک+روی (Ar+Zn) تقسیم شدند. تجویز Zn و Ar روزانه و به طریقه گاواژ در کل طول مطالعه بود. در پایان مطالعه، کبد نوزادان خارج و جهت سنجش فاکتورهای بیوشیمیایی مالون دی آلدئید (MDA) و گلوتاتیون (GSH) و نیزمطالعه هیستوپاتولوژیکی که در یک بازه زمانی واحد جنینی و نوزادی در معرض هر دو ماده مذکور قرار گرفته بودند، استفاده شد.

یافته‌ها: میانگین MDA و GSH در گروه Ar بترتیب ۴۱/۵۶±۷/۲ و ۷/۰۵±۱/۳۶ و نیز در گروه Ar+Zn بترتیب ۲۶/۲۶±۱/۸۴ و ۱۳/۷۹±۱/۳۴ برآورد سد($p<۰/۰۵$). همچنین نتایج هیستوپاتولوژیکی با توجه به سیستم نمره دهی بافتی، در گروه Ar+Zn نسبت به Ar معنی‌دار بود($p<۰/۰۱$).

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که Zn بعنوان یک آنتی‌اکسیدانت می‌تواند اثرات سمی و تراتوژنیکی حاصل از تماس با Ar در طی دوره بارداری و شیردهی را کاهش دهد.

واژه‌های کلیدی: آرسنیک، روی، سمیت کبدی، بارداری، شیردهی.

مقدمه

آرسنیک (Ar) یکی از خطرناک ترین آلاینده های محیطی است که مسمومیت با آن سبب ایجاد ضایعات متعددی می گردد (۱). ترکیبات Ar در محیط و بدن انسان به صورت غیرآلی (AS2O3، آرسنیت) و آلی (AS2O5، آرسنات) وجود دارند. آبهای زیر زمینی، خاک، برنج آلوده و بعضی از غذاهای دریایی از منابع Ar محسوب می شوند (۲). در بسیاری از کشورهای جهان، غلظت های بالای Ar غیر آلی در آب شرب یک نگرانی بزرگ بهداشتی محسوب می شود (۳) و در قاره آسیا نیز مسمومیت مزمن با آن در حال تبدیل شدن به یک اپیدمی جدی است به گونه ای که بیش از ۱۰۰ میلیون نفر در خطر مواجهه با آبهای زیرزمینی آلوده به غلظت بالای این ماده می باشند (۵و۴). در ایران میزان Ar در آب شرب شهر و روستاهای شهرستان هشترود وروستاهای ابراهیم آباد و بابانظر در استان کردستان بالاتر از حد استاندارد بوده است (۶). ترکیبات Ar منجر به صدمه DNA، پراکسیداسیون چربی و کاهش سطح دفاعی آنتی اکسیدان می شوند (۷). همچنین مواجهه طولانی مدت با آن می تواند موجب سرطان های پوست و ارگان های داخلی از جمله کبد، ریه، کلیه و مثانه شده و میزان مرگ و میر را افزایش دهد (۸). در مطالعه Najafzadeh و همکاران مواجهه با آرسنیت سدیم منجر به ناهنجاری های بدو تولد شد (۹). این ماده با کاهش حجم گلبول قرمز و هموگلوبین خون باعث کم خونی می شود (۱۰) و مواجه طولانی مدت با این ماده در مادران باردار نیز باعث کاهش در روند رشد، افزایش مرگ و میر و نقایص لوله عصبی همراه می گردد (۱۰و۹). علت اصلی تراتوژنیک بودن و ایجاد سمیت Ar معدنی یا متابولیتهای آن، القاء استرس اکسیداتیو، تغییر بیان ژن و اختلال در تبادل سیگنال سلولی می باشد (۱۲و۱۱). مطالعه Vergil و همکاران نشان داد که مواجه با دوز بالای آرسنیک (۳۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم) در مادران باردار، موجب مرگ جنین در رحم شود، در حالیکه دوز پایین (۵ تا ۱۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم) خاصیت تراتوژنیکی داشته که یکی از مهمترین ارگانهای هدف، کلیه و کبد به دلیل متابولیسم بالا می باشند (۱۳). اگرچه در مادران باردار، جفت بعنوان یک سد محافظتی از عبور برخی عناصر همچون کادمیوم (Cd) به سمت جنین جلوگیری می کند ولی با این حال بطور کامل قادر نیست در مقابل برخی عناصر دیگر همچون سرب (Pb)، جیوه (Hg) و آرسنیک (Ar) از جنین محافظت کند (۱۴). لذا با توجه به نقش استرس اکسیداتیو در ضایعات ایجاد شده به دنبال مسمومیت با آرسنیک، موجب شد که استفاده از آنتی اکسیدان‌ها جهت اخذ نتایج بهتر درمانی در سمیت حاصل از Ar مورد توجه قرار گیرد (۱۵). روی (Zn) به عنوان یک عامل محافظ در برابر

▣ این مقاله حاصل پایان نامه فروزان جعفری دانشجوی کارشناسی ارشد رشته آناتومی و طرح تحقیقاتی به شماره ۲۰۷۷ مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی مازندران می باشد.
*مسئول مقاله: دکتر امیر اسماعیل نژاد مقدم
آدرس: ساری، کیلومتر ۱۸جاده فرح آباد، مجتمع دانشگاهی پیامبر (ص)، دانشکده پزشکی. تلفن: ۳۳۵۴۳۷۶۴-۰۱۱
E-mail: mog1339@gmail.com

[DOR: 20.1001.1.15614107.1396.19.11.7.8]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.19.11.50]

استرس اکسیداتیو سلولی، بسیاری از عملکردهای فیزیولوژیکی را تنظیم می‌کند (۱۶). دو مکانسیم اصلی محافظت از گروه های سولفوهیدریل در مقابل اکسیداسیون و مهار تولید اکسیژن فعال (۱۷) با استفاده از تجزیه فلزات (۱۸) برای خاصیت آنتی اکسیدانتی Zn مطرح می باشد. از سوی دیگر طبق مطالعات انجام شده، شواهد حاکی از اثرات مفید این ماده در مقابله با وقایع تراتوژنیک بوده و لذا کمبود آن در دوره بارداری می‌تواند منجربه ایجاد ناهنجاری‌هایی در سیستم عصبی مرکزی و اسکلتی جنین شود (۱۹). از سایر مزایای مطرح برای Zn، تنوع در فعالیت های بیولوژیکی این عنصر می باشد (۲۰). بگونه ای که مطالعات نشان داده اند تجویز مکمل Zn باعث افزایش سطوح گلوتاتیون (GSH) و گلوتاتیون اس ترانسفراز (GST) (۲۱) و کاهش در تولید اکسیدانت هایی همچون مالون دی آلدئید (MDA) و سوپرااکسید دیسموتاز (SOD) (۲۲) می گردد. مصرف Zn در دوران بارداری و شیر دهی می تواند سمیت ناشی از Ar را برطرف نموده و از شدت تغییرات ناشی از آن بکاهد. لذا این مطالعه با هدف بررسی اثر محافظتی Zn بر سمیت کبدی ایجاد شده توسط Ar در طی دوره جنینی و شیردهی نوزاد موش صحرایی انجام شد.

مواد و روش‌ها

آماده سازی حیوانات: در مطالعه حاضر ۳۵ سر موش صحرایی جنس ماده بالغ با وزن ۲۵۰ تا ۲۸۰ گرم از نژاد ویستار از مرکز حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی مازندران دریافت شد. در کلیه مراحل مطالعه، اصول اخلاقی طبق ضوابط اخلاقی مدون دانشگاهی علوم پزشکی مازندران (با کد مصوب اخلاقی: ۲۰۷۷) رعایت گردید. تمامی حیوانات در شرایط استاندارد دمایی ($۲۳\pm۲^{o}C$)، رطوبت، دسترسی آسان به مواد غذایی و ۱۲ ساعت تاریکی و روشنایی در قفس های استاندارد نگهداری شدند. هر کدام از موش های صحرایی ماده بطور جداگانه در داخل قفس با یک موش صحرایی نر قرار داده شدند. یک روز بعد کلیه موش های ماده تحت تست واژینال قرار گرفتند و ۲۴ سر رت ماده از بین ۳۵ موش که پس از جفت گیری بارداری آنها تایید شد، وارد مطالعه شدند و رت های با تست منفی ، از روند مطالعه حذف شدند. موش های ماده با تست مثبت هر کدام مجدد در قفس مخصوص نگهداری قرار گرفته و روز تست واژینال مثبت بعنوان روز صفر بارداری در نظر گرفته شد.

طراحی مطالعه و گروه بندی: حیوانات با تست واژینال مثبت در ۴ گروه ۶ تایی تقسیم بندی شدند: I- گروه کنترل که هیچگونه ماده دریافت نمیکرد؛ II- گروه روی ($ZnSO_4$) حل شده در آب مقطر که روزانه به میزان ۲۰mg/kg به طریق گاواژ دریافت می نمودند(۲۳)؛ III- گروه آرسنیک (Ar) که سدیم متاآرسنات از شرکت (Merck®) خریداری شده بود، در آب مقطر حل شده و با دوز ۵mg/kg از طریق گاواژ دریافت می نمودند (۲۴)؛ IV- گروه تحت درمان با Ar و Zn بصورت همزمان با دوز های مذکور. طول درمان به مدت ۴۲ روز (۲۱ روز مربوط به دوره بارداری و ۲۱ روز دوره شیردهی) بود که موش های ماده باردار تحت مداخله قرار گرفتند و کلیه ترکیبات از همان ابتدای مطالعه به موش‌های مادر تجویز گردید. در پایان مطالعه، پس از ثبت تعداد کل تولد و تعداد تولد مرده ۲ تا ۴ نوزاد موش از هر موش ماده در هر گروه بصورت تصادفی انتخاب شدند. وزن کلی نوزادان ثبت و سپس کبد بچه موش ها تحت شرایط بیهوشی با داروی کتامین و زایلزین خارج گردید و پس از اندازه گیری وزن آن، نیمی از کبد برای مطالعه بیوشیمیایی و نیم دیگر برای مطالعه هیستوپاتولوژیکی خارج و در انتها موش ها با استفاده از دوز بالای داروی بیهوشی، معدوم شدند.

مطالعه بیوشیمیایی: نمونه های کبد گرفته شده پس از شستشو در محلول PBS به منظور پاک سازی دبری، بلافاصله فریز و در دمای منفی ۷۰ درجه سانتی گراد تا زمان آنالیزهای بیوشیمیایی نگهداری شدند. دو مارکر مالون دی آلدئید (MDA) و گلوتاتیون (GSH) به عنوان شاخص های نشان دهنده استرس اکسیداتیو مورد ارزیابی قرار گرفتند.

مطالعه هیستوپاتولوژیکی: نمونه های کبد خارج شده پس از پاک سازی از خون، بلافاصله در محلول فرمالین ۱۰٪ به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شدند. پس از پاساژ از محلول های الکل و گزیلل در داخل پارافین قالب گیری و از هر قالب پارافین با استفاده از دستگاه میکروتوم، سکشن هایی به ضخامت ۵ میکرومتر تهیه و بر روی لام قرار داده شد. به منظور بررسی هیستوپاتولوژیکی، لام های تهیه شده پس از پارافین زدایی و عبور از گزیلل و الکل با استفاده از رنگ هماتوکسیلین و آئوزین (H &E) رنگ‌آمیزی شدند. برای بررسی لام‌های حاصل از میکروسکوپ نوری(DME; Leica Microsystems Inc., Buffalo, NY, USA) استفاده گردید. همچنین برای برآورد کمی میزان آسیب و مقایسه در گروه های مختلف بافت های کبد، از سیستم نمره دهی استاندارد استفاده شد (۲۶و۲۵). در این روش از هر مقطع بافتی بصورت تصادفی از نقاط مختلف ۵ عکس تهیه شد. تغییرات بررسی و براساس نمره دهی استاندارد مورد ارزیابی قرار گرفتند بدین صورت که عدد صفر (برای بافت کاملا سالم و بدون هیچگونه آسیب)، عدد ۱ (برای بافت سالم و تنها با آسیب جزئی شامل پراکنش جزئی لبول های کبدی با ورید مرکزی سالم)، عدد ۲ (بافت کبد با آسیب متوسط شامل پراکنش لبول های کبدی، آسیب به ورید مرکزی، نکروز جزئی سلول ها) و عدد ۳ (برای بافت کبد با آسیب جدی شامل عدم وجود لبول کبدی سالم، پارگی های ورید مرکزی، نکروز گسترده سلول های کبدی، ترياد تحلیل رفته و نبود طناب های رماک سازمان یافته) در نظر گرفته شد.

تجزیه و تحلیل: برای تحلیل داده ها از نرم افزار SPSS ۲۰ استفاده شد. جهت تعیین نرمال بودن توزیع داده ها از آزمون کولموگروف- اسمیرنوف استفاده شد. داده های مورد بررسی همه نرمال بودند. آزمون آماری مورد استفاده، آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA Test) بین آزمودنی بوده و تست Tukey برای آنالیز تفاوت بین دو گروه به کار گرفته شد و $p<۰/۰۵$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

وضعیت عمومی: وزن کلی نوزادان در هر ۳ گروه کنترل، Zn و Ar+Zn در مقایسه با گروه تحت درمان با Ar بالاتر و معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$). در خصوص وزن بافت کبد در گروه‌های مورد مطالعه، گروه Ar نسبت به سایر گروه ها کاهش قابل توجهی مشاهده شد ولی با این حال این مقدار از نظر آماری معنی دار نبود. همچنین در مقایسه با گروه های کنترل، Zn و Ar+Zn در گروه دریافت کننده Ar تعداد کل تولد و نیز تولد نوزاد مرده بطور معنی داری بترتیب کاهش و افزایش یافت ($p<۰/۰۵$) (جدول ۱).

تحلیل بیوشیمیایی: نتیجه آزمون های بیوشیمیایی نشان داد که سطح MDA در گروه Ar نسبت به گروه های کنترل و Zn افزایش معنی داری داشته ($p<۰/۰۵$)

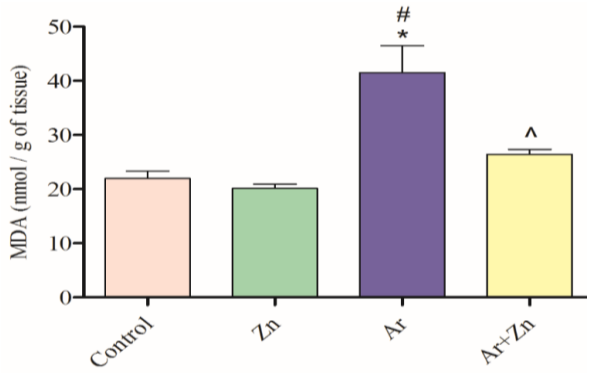
[DOR: 20.1001.1.15614107.1396.19.11.7.8]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.19.11.50]

در حالیکه این تغییر در گروه دریافت کننده Ar+Zn نسبت به گروه Ar کاهش یافته و اختلاف آنها معنی دار بود (p<۰/۰۵) (نمودار ۱). همچنین در خصوص گلوتاتیون (GSH) نتایج نشان داد در گروه دریافت کننده Ar نسبت به سایر گروه ها کاهش معنی دار وجود داشت درحالیکه در گروه تحت درمان با Ar+Zn نسبت به دو گروه کنترل و Zn، تفاوت معنی داری روی نداد (نمودار۲).

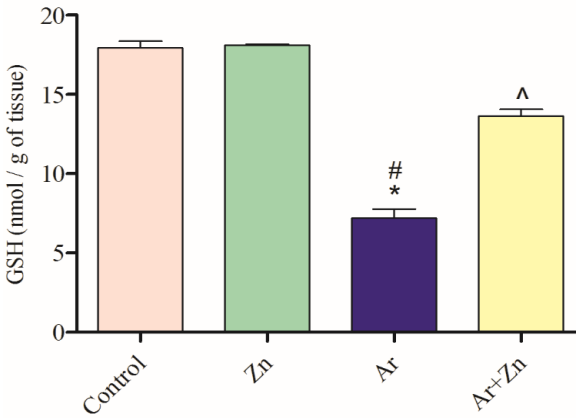
جدول ۱. وضعیت عمومی نوزادان متولد شده در گروه های مورد مطالعه

متغیر	گروه کنترل	Zn	Ar	Ar+Zn
وزن کلی (گرم)	۴۵/۲±۴/۶	۴۶/۴±۶/۶۵	*۳۷/۲±۱/۳	۴۲/۲±۲/۳۸
وزن بافت کبد (میلی‌گرم)	۲۱۸/۲±۳۴/۶۷	۲۳۷/۲±۳۴/۳۵	۱۸۰/۲±۶/۸۲	۲۰۵/۲±۳۵/۶۲
تعداد کل تولد	۹/۳۳±۱/۹۶	۸/۸۷±۲/۶۶	*۴/۶۶±۲/۰۶	۷/۱۶±۱/۸۳
تولد نوزاد مرده	۰/۰±۰/۰	۰/۰±۰/۰	*۱/۱۶±۱/۱	۰/۰۶±۰/۰۱

* p<۰/۰۵ در مقایسه با ۳ گروه کنترل، Zn و Ar+Zn

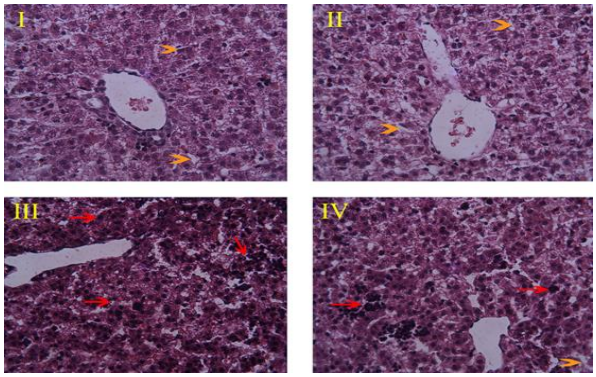


نمودار ۱. بررسی داده های حاصل از اندازه گیری سطح MDA در گروه های مورد بررسی. * بیانگر سطح معنی داری p=۰/۰۰۱ نسبت به گروه کنترل و Zn. # بیانگر سطح معنی داری p<۰/۰۵ نسبت به گروه Ar+Zn. ^ بیانگر سطح معنی داری p>۰/۰۵ نسبت به گروه کنترل و Zn

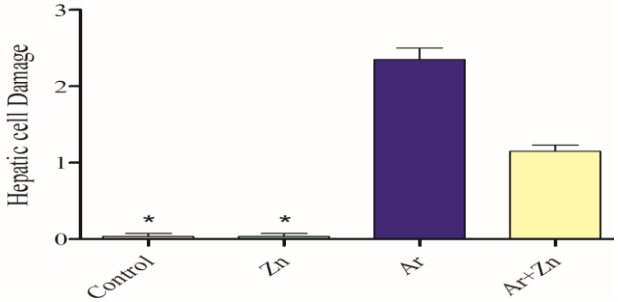


نمودار ۲. بررسی داده های حاصل از اندازه گیری سطح GSH در گروه های مورد بررسی. * بیانگر سطح معنی داری p<۰/۰۰۰۱ نسبت به گروه کنترل و Zn. # بیانگر سطح معنی داری p<۰/۰۳۲ نسبت به گروه Ar+Zn. ^ بیانگر سطح معنی داری p>۰/۰۵ نسبت به گروه کنترل و Zn

تحلیل هیستوپاتولوژیکی: نتایج حاصل از بررسی های هیستوپاتولوژیکی در شکل ۱A نشان داده شده است. بررسی ها در کبد حیوانات گروه کنترل و Zn، ساختار نرمال را نشان داد. بررسی ها در نمونه های بافتی گروه دریافت کننده Ar، چین خوردگی سلول ها، پیکنوتیک شدن هسته ها، لیز شدن هسته بویژه در ناحیه پره سنترال و بهم ریختگی سیستوپلاسم را نشان داد. همچنین کاهش فضای سینوزوئیدها بواسطه تورم سلولی، نکروزه شدن سلول ها به دلیل وجود حالت های هیالینه و نیز بهم ریختگی فرم طبیعی لبول های کبدی مشهود بود. مصرف همزمان Ar و Zn موجب شد که لوبول های کبدی ساختار خود را در مقایسه با گروه دریافت کننده Ar حفظ کنند. نتایج حاصل از ارزیابی براساس سیستم نمره دهی در نقاط مختلف بافتی، تغییرات معنی داری در گروه Ar نسبت به گروه های کنترل و Zn نشان داد (p<۰/۰۵) ولی با اینحال این تغییرات در گروه Ar+Zn نیز نسبت به گروه های کنترل و Zn معنی دار بود (p<۰/۰۵). (شکل ۱B)



شکل ۱A: رنگ آمیزی (H&E). با بزرگنمایی ۴۰۰*. I) کبد نوزاد موش صحرایی که تنها نرمالین سالین دریافت کردند. II) کبد نوزاد موش صحرایی که روزانه به میزان ۲۰mg/kg روی دریافت کرد. III) کبد نوزاد موش صحرایی که روزانه به میزان ۵mg/kg آرسنیک بصورت غیرمستقیم از طریق جفت در طی دوره بارداری و دوره شیرخوارگی دریافت کرد. IV) کبد نوزاد موش صحرایی که روزانه آرسنیک همراه روی با دوز مذکور در گروه ۲ و ۳ دریافت کرد. پیکان: نشان دهنده هسته های پیکنوزه شده می باشد. سر پیکان: نشان دهنده سینوزوئیدهای موجود در لوبوهای کبدی می باشد.



شکل ۱B. نتایج حاصل از نمره دهی براساس سیستم استاندارد نمره دهی در آسیب کبدی براساس شدت آسیب. * بیانگر سطح معنی داری p<۰/۰۵ نسبت به گروه Ar و Ar+Zn.

بحث و نتیجه گیری

یافته های این مطالعه نشان داد که تجویز Zn در طی دوره بارداری و شیردهی به موش‌های باردار می تواند مانع از تغییرات عمده هیستولوژیکی و استرس اکسیداتیو در نوزادان شود. Ar به عنوان یک سم تاثیرات متعددی بر روی

[DOR: 20.1001.1.15614107.1396.19.11.7.8]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.19.11.50]

فعالیت‌های آنزیمی و همچنین پروتئین های بدن دارد (۷). Ar فعالیت‌های وابسته به انرژی میتوکندری را از طریق رقابت با فسفات در هنگام فسفریلاسیون اکسیداتیو و مهار NAD مختل می کند (۲۷).

همچنین این ماده می تواند آنزیم های میتوکندریایی را تحت تاثیر قرار داده و تنفس غشایی در سلول را مختل نماید. این وقایع به نوعی می تواند با خاصیت سیتوتوکسیک بودن Ar در ارتباط باشد (۲۸و۱۱). آرسنیک با عبور از جفت موجب آسیب های تراتوژنیک و سمیتی در جنین شده و در دوره شیردهی نیز، پستان مادر تنها به میزان جزئی می تواند بعنوان سد محافظتی نقش ایفا کند (۲۹). همچنین Ar آنزیم سوکسینیک دهیدروژناز را مهار کرده و موجب بروز فرآیندهای اکسیداسیون و فسفریلاسیون می شود (۳۰). از آنجایی که استرس اکسیداتیو و تولید رادیکال های آزاد می تواند نقش بسزایی در ناهنجاری های جنینی داشته باشد، لذا به نظر می رسد Ar از این طریق در ایجاد این ناهنجاری ها نقش عمده دارد. Zn بعنوان یک ماده با خاصیت آنتی اکسیدانی (۳۱) می‌تواند با جذب رادیکال های آزاد و کاهش پراکسیداسیون چربی مانع از بروز استرس اکسیداتیو شود (۱۸).

اگرچه بیشترین میزان جذب Zn از راه دهانی و قسمت های ابتدایی روده می باشد (۳۲) اما مطالعات نشان داده اند که Zn از طریق میکروویلوس های موجود در سنسیشیوتروفوبلاست جفت نیز قادر است از جفت جنینی عبور کند (۳۳). ما در مطالعه قبلی هم نشان دادیم که زینک به عنوان آنتی اکسیدانت اگزوژنوس قادر است سمیت کلیوی ناشی از آرسنیک را در دوران بارداری و شیردهی کاهش دهد (۳۴). بنابراین می تواند یکی از مهمترین مزایای تجویز این آنتی اکسیدانت در طی دوره بارداری بشمار بیاید. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تجویز Ar در طی دوره بارداری و شیردهی موجب کاهش رشد وزن جنین و نیز کبد می گردد که این یافته با نتایج حاصل از مطالعات مشابه انجام شده مطابقت داشت (۳۰, ۳۵). با اینحال مشاهده شد که در گروه دریافت کننده Ar+Zn، این کاهش وزن بطور قابل توجهی از گروه Ar کمتر بود. این میزان پیشگیری می تواند ناشی از ویژگی‌های Zn باشد.

چراکه Zn علاوه بر موارد فوق، در تکثیر سلولی نیز نقش داشته و بر سیستم آنزیمی که بر تقسیم و تکثیر سلولی نقش دارند، تاثیر می گذارد. علاوه بر این، عنصر Zn بر هورمون رشد ، غشای سلولی و پیغام رسان ثانویه سلولی که مسئول تکثیر سلولی اند، اعمال اثر می کند (۳۶). لذا در مطالعه حاضر، عنصر Zn نشان داد می تواند علاوه بر غلبه به خاصیت اکسیدانتی Ar، در پیشگیری از تغییرات آنتروپومتریکی حاصل از سمیت موثر باشد. همچنین نتایج نشان داد که میزان کل تولد نوزاد و نیز مرده زایی در گروه دریافت کننده Ar نسبت به سایر گروه ها بالاتر بود در حالیکه گروه دریافت کننده Ar+Zn، این میزان بسیار ناچیز و در مقایسه با گروه های کنترل و زینک ارتباط معنی داری نداشت که این یافته با نتایج مطالعات مشابه مطابقت داشت (۳۷و۳۰). این یافته نیز می تواند ناشی از خاصیت آنتی اکسیدانی و مهار اثر Zn و نیز تاثیر بر روی رشد جنین باشد. همچنین نتایج در خصوص تغییرات بیوشیمیایی نشان داد که تجویز Ar موجب افزایش پراکسیداسیون چربی (MDA) و کاهش آنتی اکسیدانت اندوژنوس گلوتاتیون (GSH) می شود (۳۸و۳۱). این در حالی بود که این تغییرات در خصوص گروه دریافت کننده Ar+Zn جزئی و در ارتباط با گروه های کنترل و Zn معنی دار نبود. لیپید پراکسیداسیون بعنوان یک عامل پاتولوژیکی اصلی، می تواند باعث ایجاد رادیکال های آزاد و کارکرد نادرست سلولی شود و در دوره جنینی می تواند منجر به فرآیند تراتوژنیکی و سمیتی در ارگان های مختلف بدن گردد (۳۹). نتایج ما نشان داد تجویز Ar باعث افزایش معنی‌دار در میزان MDA شده و متعاقبا تجویز زینک باعث کاهش معنی دار در میزان این عامل مخرب می گردد. همانگونه که در بالا نیز گفته شد، Zn بعنوان یک ماده با خاصیت های آنتی اکسیدانی و توان عبور از جفت جنینی می تواند بعنوان یک جاروب کننده رادیکال های آزاد عمل کند و بروز استرس اکسیداتیو را تا حاد زیادی کاهش دهد. یافته حاضر با نتایج حاصل از مطالعات مشابه در خصوص خاصیت آنتی اکسیدانتی Zn مطابقت داشت (۳۸و۲۵و۲۳و۱۸). از سوی دیگر آنتی اکسیدانت های اندوژنوس که توسط خود سلول تولید می شوند، قادر هستند که از آسیب‌های سلولی حاصل از رادیکال‌های آزاد جلوگیری کنند (۴۰). لذا GSH بعنوان یکی از این آنزیم های مهم مطرح بوده که کاهش آن در اثر تاثیر سموم و در نهایت بروز استرس اکسیداتیو با توان بالا کاهش یافته که در اینصورت سلول در معرض آسیب قرار گرفته و در نهایت بافت ارگان مورد نظر دچار اختلال در عملکرد و نیز از کارافتادگی می شود (۴۱).

این مورد در مطالعه حاضر در خصوص گروه دریافت کننده Ar مشهود بود که میزان GSH بطور معنی داری نسبت به گروه های دیگر کاهش یافته بود. در حالیکه در گروه دریافت کننده Ar+Zn، این ماده آنتی اکسیدانتی تا حدود زیادی از بروز این وقایع سوء جلوگیری کرده بود که این یافته نیز بر خاصیت آنتی اکسسیدانتی Zn تاکید دارد. این یافته نیز با نتایج مطالعات مشابه همسو بود (۴۲و۲۳). همچنین یافته های هیستوپاتولوژیکی حاکی از تغییرات اندکی در گروه دریافت کننده Ar+Zn نسبت به گروه دریافت کننده Ar بود. این یافته با نتایج مطالعات مشابه مطابقت داشت (۴۴و۴۳) و این موضوع را تایید می نمود که تجویز Ar در طی دوره بارداری موجب ایجاد تغییرات تراتوژنیک و آسیب به ساختار بافت می شود و استفاده از یک آنتی اکسیدانت در جهت مهار اثر این سم می تواند از بروز این وقایع تا حدودی جلوگیری نماید.

لذا می توان نتیجه گرفت که Ar موجب ایجاد تغییرات بافتی و تغییر در غلظت آنزیم های شاخص آسیب بافتی کبد در نوزاد موش در معرض با سم در طی دوره بارداری و شیرخوارگی می گردد. همچنین این مطالعه نشان داد که Zn با توجه به ویژگی‌های آنتی اکسیدانی احتمالا می تواند با مکانیسم خنثی سازی رادیکال‌های آزاد ناشی از تقابل با Ar به عنوان یک رویکرد بهبود دهنده، در این شرایط مورد استفاده قرار گیرد. با این وجود این فرضیه برای استفاده های عملی و کلینیکی نیاز به آزمایش های بیشتری دارد.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از ریاست مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی و مرکز تحقیقات حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی مازندران تشکر و قدردانی می گردد.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1396.19.11.7.8]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.19.11.50]

The Protective Effect of Zinc against Hepatotoxicity Induced by Arsenic During Gestation and Lactation in Rat Neonate

F. Jafari (MSc)[1], F. Talebpour Amiri (PhD)[2], A. Esmaeilnejad Moghaddam (PhD)[2*]
M. Zargari (PhD) [2], H. Arab (MSc) [2]

1. Student Research Committee, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, I.R.Iran
2. Cellular and Molecular Biology Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, I.R.Iran

J Babol Univ Med Sci; 19(11); Nov 2017; PP: 50-7
Received: May 2nd 2017, Revised: Aug 15th 2017, Accepted: Oct 3rd 2017.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Arsenic (Ar) by induced oxidative stress in gestation and lactation period can cause teratogenicity properties in the neonate. On the other hand, the evidence suggests the antioxidant effect of zinc (Zn). So, the aim of present study was to evaluate protective effect of Zn against Ar-induced hepatotoxicity during gestation and lactation in rat neonate.

METHODS: In this experimental study, 24 adult wistar rats of the 35 mice that their pregnancy was confirmed, randomly divided into four groups including:I) Control group; II) Ar group, (20 mg/kg/day); III) Zn group; (5 mg/kg/day) and IV) Ar+Zn group. Ar and Zn administration was daily with intragasticaly method. At the end of the experimental period (42 days: 21 of gestation and 21 of lactation) after anesthesia hepatic samples were taken for biochemical assessment of malondialdehyde (MDA), glutathione (GSH) and histopathological assessment.

FINDINGS: The MDA and GSH mean±SD in Ar group was 41.56±7.2 and 7.05±1.36, respectively. Also, in Ar+Zn group assessed 26.26±1.84 and 13.79±1.34, respectively. This difference was significant between groups ($P<0.05$). Also, the histopathological finding by using scoring system in Ar+Zn in compare to Ar group was significant ($P<0.01$).

CONCLUSION: Our findings showed that administration of Zn as antioxidant can decreased the toxically and teratogenic effect of Ar during gestation and lactation.

KEY WORDS: *Arsenic, Zinc; Hepatotoxicity, Gestation, Lactation.*

Please cite this article as follows:

Jafari F, Talebpour Amiri F, Esmaeilnejad Moghaddam A, Zargari M, Arab H. The Protective Effect of Zinc against Hepatotoxicity Induced by Arsenic During Gestation and Lactation in Rat Neonate. J Babol Univ Med Sci. 2017; 19(11):50-7.

* **Corresponding author: A. Esmaeilnejad Moghaddam (PhD)**
Address: Faculty of Medicine, Payambar (PUH) Academic Department, Farahabad Street, 18 km, Sari, I.R.Iran
Tel:+98 11 33543764
E-mail: mog1339@gmail.com

[DOR: 20.1001.1.15614107.1396.19.11.7.8]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.19.11.50]

References

1.Rodríguez-Lado L, Sun G, Berg M, Zhang Q, Xue H, Zheng Q, et al. Groundwater arsenic contamination throughout China. Sci. 2013;341(6148):866-8.

2.Fowler BA. Biological and environmental effects of arsenic. 1st ed: Elsevier; 2013.

3.Mandal BK, Suzuki KT. Arsenic round the world: a review. Talanta. 2002;58(1):201-35.

4.Charlet L, Polya DA. Arsenic in shallow, reducing groundwaters in southern Asia: an environmental health disaster. Element. 2006;2(2):91-6.

5.Meharg AA. Arsenic in rice–understanding a new disaster for south-east asia. Trend Plant Sci. 2004;9(9):415-7.

6.Mosaferi M, Yunesion M, Mesdaghinia A, Naidu A, Nasseri S, Mahvi A, et al. Arsenic occurrence in drinking water of IR of Iran: the case of Kurdistan Province. Fate of arsenic in the environment Dhaka: BUET-UNU International Symposium, International Training Network Centre, Bangladesh University of Engineering and Technology, United Nations University, Tokyo; 2003: CiteSeer.

7.Kumar S, Yedjou CG, Tchounwou PB. Arsenic trioxide induces oxidative stress, DNA damage, and mitochondrial pathway of apoptosis in human leukemia (HL-60) cells. J Experiment Clin Cancer Res. 2014;33(1):1.

8.Flanagan SV, Johnston RB, Zheng Y. Arsenic in tube well water in Bangladesh: health and economic impacts and implications for arsenic mitigation. Bull World Health Organiz. 2012;90(11):839-46.

9.DeSesso JM. Teratogen update: inorganic arsenic. Teratol. 2001;64(3):170-3.

10.Hood RD. Effects of sodium arsenite on fetal development. Bullet Environment Contaminat Toxicol. 1972;7(4):216-22.

11.Tyler CR, Allan AM. The effects of arsenic exposure on neurological and cognitive dysfunction in human and rodent studies: a review. Curr Environment Health Rep. 2014;1(2):132-47.

12.Wlodarczyk BJ, Palacios AM, Chapa CJ, Zhu H, George TM, Finnell RH, editors. Genetic basis of susceptibility to teratogen induced birth defects. Am J Med Gen Part C. 2011;157(3):215-26.

13.Ferm VH. Arsenic as a teratogenic agent. Environment Health Perspect. 1977;19:215.

14.Llanos MN, Ronco AM. Fetal growth restriction is related to placental levels of cadmium, lead and arsenic but not with antioxidant activities. Reproduc Toxicol. 2009;27(1):88-9.

15.Messarah M, Klibet F, Boumendjel A, Abdennour C, Bouzerna N, Boulakoud MS, et al. Hepatoprotective role and antioxidant capacity of selenium on arsenic-induced liver injury in rats. Experiment Toxicol Pathol. 2012;64(3):167-74.

16.Haase H, Rink L. Zinc signals and immune function. Biofactors. 2014;40(1):27-40.

17.Villeda-Hernandez J, Barroso-Moguel R, Mendez-Armenta M, Nava-Ruız C, Huerta-Romero R, Rıos C. Enhanced brain regional lipid peroxidation in developing rats exposed to low level lead acetate. Brain Res Bull. 2001;55(2):247-51.

18.Bray TM, Bettger WJ. The physiological role of zinc as an antioxidant. Free Radical Biol Med. 1990;8(3):281-91.

19.Brenton D, Jackson M, Young A. Two pregnancies in a patient with acrodermatitis enteropathica treated with zinc sulphate. Lancet. 1981;318(8245):500-2.

20.Irwin JJ, Sterling T, Mysinger MM, Bolstad ES, Coleman RG. ZINC: a free tool to discover chemistry for biology. J Chem Info Model. 2012;52(7):1757-68.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1396.19.11.7.8]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.19.11.50]

21.Goel A, Dani V, Dhawan D. Protective effects of zinc on lipid peroxidation, antioxidant enzymes and hepatic histoarchitecture in chlorpyrifos-induced toxicity. Chem-Biolog Interac. 2005;156(2):131-40.

22.Cabré M, Ferré N, Folch J, Paternain JL, Hernàndez M, del Castillo D, et al. Inhibition of hepatic cell nuclear DNA fragmentation by zinc in carbon tetrachloride-treated rats. J Hepatol. 1999;31(2):228-34.

23.Özcelik D, Nazıroglu M, Tunçdemir M, Çelik Ö ,Öztürk M, Flores-Arce M. Zinc supplementation attenuates metallothionein and oxidative stress changes in kidney of streptozotocin-induced diabetic rats. Biolog Trace Element Res. 2012;150(1-3):342-9.

24.Uygur R, Aktas C, Caglar V, Uygur E, Erdogan H, Ozen OA. Protective effects of melatonin against arsenic-induced apoptosis and oxidative stress in rat testes. Toxicol Indust Health. 2016;32(5):848-59.

25.Sankar P, Gopal Telang A, Kalaivanan R, Karunakaran V, Manikam K, Sarkar SN. Effects of nanoparticle-encapsulated curcumin on arsenic-induced liver toxicity in rats. Environment toxicol. 2015;30(6):628-37.

26.Ye X, Feng Y, Tong Y, Ng K-M, Tsao S, Lau GK, et al. Hepatoprotective effects of Coptidis rhizoma aqueous extract on carbon tetrachloride-induced acute liver hepatotoxicity in rats. J Ethnopharmacol. 2009;124(1):130-6.

27.Yen Y-P, Tsai K-S, Chen Y-W, Huang C-F, Yang R-S, Liu S-H. Arsenic induces apoptosis in myoblasts through a reactive oxygen species-induced endoplasmic reticulum stress and mitochondrial dysfunction pathway. Arch Toxicol. 2012;86(6):923-33.

28.Rozman KK, Klaassen CD. Casarett and Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons. McGraw-Hill, New York; 2007.

29.Vahter M. Effects of arsenic on maternal and fetal health. Annual review of nutrition. 2009;29:381-99.

30.Najafzadeh H, Khaksary Mahabady M, Haji A. A comparative study of the effects of sodium arsenite and nanoparticles of sodium arsenite on the apparent and skeletal malformations in rat embryos. J Babol Univ Med Sci. 2015;17(10):60-6. [In Persian]

31.Ahmad M, Wadaa MA, Farooq M, Daghestani MH, Sami AS. Effectiveness of zinc in modulating perinatal effects of arsenic on the teratological effects in mice offspring. Biolog Res. 2013;46(2):131-8.

32.Lubitz J, Cai L, Kramarow E, Lentzner H. Health, life expectancy, and health care spending among the elderly. England J Med. 2003;349(11):1048-55.

33.Donangelo CM, King JC. Maternal zinc intakes and homeostatic adjustments during pregnancy and lactation. Nutrients. 2012;4(7):782-98.

34.Ghabaee DNZ, Amiri FT, Moghaddam AE, Khalatbary AR, Zargari M. Administration of zinc against arsenic-induced nephrotoxicity during gestation and lactation in rat model. Journal of nephropathology. 2017;6(2):74.

35.Carpenter SJ. Developmental analysis of cephalic axial dysraphic disorders in arsenic-treated hamster embryos. Anatomy Embryol. 1987;176(3):345-65.

36.MacDonald RS. The role of zinc in growth and cell proliferation. J Nutrit. 2000;130(5):1500-8.

37.Ahmad SA, Sayed M, Barua S, Khan MH, Faruquee M, Jalil A, et al. Arsenic in drinking water and pregnancy outcomes. Environment Health Perspective. 2001;109(6):629.

38.Koudelova J, Mourek J. The lipid peroxidation in various parts of the rat brain: effect of age, hypoxia and hyperoxia. Physiolog Res Acad Scient Bohem. 1993;43(3):169-73.

39.Yagi K. Lipid peroxides in biology and medicine. 1st ed: Elsevier; 2012.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1396.19.11.7.8]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.19.11.50]

40.Ahmadvand H, Ghabaee DNZ, Malekshah AK, Navazesh A. Virgin olive oil ameliorates deltamethrin-induced nephrotoxicity in mice: A biochemical and immunohistochemical assessment. Toxicol Rep. 2016;3:584-90.

41.Sies H. Glutathione and its role in cellular functions. Free Radical Biolog Med. 1999;27(9):916-21.

42.Rostan EF, DeBuys HV, Madey DL, Pinnell SR. Evidence supporting zinc as an important antioxidant for skin. Int J Dermatol. 2002;41(9):606-11.

43.Bashir S, Sharma Y, Irshad M, Gupta SD, Dogra T. Arsenic-Induced Cell Death in Liver and Brain of Experimental Rats. Basic Clin Pharmacol Toxicol. 2006;98(1):38-43.

44.Roy S, Bhattacharya S. Arsenic-induced histopathology and synthesis of stress proteins in liver and kidney of Channa punctatus. Ecotoxicol Environment Safety. 2006;65(2):218-29.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1396.19.11.7.8]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.19.11.50]