AUMJ Alborz University of Medical Sciences Journal
نشریه دانشگاه علوم پزشکی البرز، پاییز ۱۴۰۱ ، سال ۱۱، شماره ۴، صفحه‌های ۴۹۳ - ۵۰۲
مقاله تحقیقی

اثر درمانی ان استیل سیستئین بر تغییرات آنزیم‌های کبدی و آسیب‌های بافتی رت‌های نر نژاد ویستار مواجه شده با دوزهای حاد و مزمن کادمیوم

زهرا آذرمهر[1]، نجمه رنجی[1*]، زینب خزائی کوهپر[2]، هادی حبیب الهی[1]

[1] گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران
[2] گروه زیست شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده علوم زیستی، واحد تنکابن، دانشگاه آزاد اسلامی، تنکابن، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۰/۹/۱۳ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۰/٤

چکیده

زمینه و هدف: کادمیوم یک فلز سنگین سمی موجود در آلاینده های محیطی در کلان شهرها است که از طریق استنشاق وارد بدن می شود که تجمع آن در بدن سبب تولید گونه‌های اکسیژن واکنشی و آپوپتوز و تغییر ساختار پروتئینی می‌شود. هدف از این مطالعه بررسی اثردرمانی ان استیل سیستئین (به دلیل داشتن گروه سولفیدریل وپاکسازی گونه های فعال اکسیژن) بر روی آنزیم‌های کبدی و التهاب رت‌های مواجه شده با دوزهای حاد و مزمن کلرید کادمیوم می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه ۳۰ سر رت نر نژاد ویستار دو ماهه به طور تصادفی به ۵ گروه ۶ تایی تقسیم شدند. گروه کنترل سالم (G1) فقط با آب و غذای استاندارد تغذیه شدند و گروه منفی حاد (G2) در روز اول مطالعه ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کلرید کادمیوم دریافت نمودند. گروه کنترل منفی مزمن(G3) روزانه ۲/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم کلرید کادمیوم به مدت چهار هفته دریافت نمودند. گروه تیمار حاد (G4) روز اول مطالعه ۸۰ میلی گرم بر کیلوگرم کلرید کادمیوم به همراه ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ان استیل سیستئین دریافت نمودند. گروه تیمار مزمن (G5) روزانه به مدت چهار هفته ۲/۵میلی‌گرم بر کیلوگرم کلرید کادمیوم و ۵۰ میلی‌گرم برکیلوگرم ان استیل سیستئین دریافت نمودند. در پایان دوره تیمار پس از بیهوشی از قلب رت‌ها به جهت اندازه‌گیری سطح آنزیم‌های کبدی خون‌گیری انجام شد. سپس کبد آن‌ها انجام آزمایش‌های هیستوپاتولوژی خارج گردید.

یافته‌ها: تیمار با کلرید کادمیوم در دوز پیوسته سبب افزایش معنادار سطح آنزیم‌های ALT، AST، ALP و LDH نسبت به گروه کنترل شد. در سطح آنزیم GGT تغییر معناداری حاصل نشد. کلرید کادمیوم سبب ایجاد التهاب در اطراف عروق و افزایش ضخامت عروق کبدی گردید. پس از تیمار با ان استیل سیستئین در گروه تیمار چهارم (G5) سطح آنزیم‌ها نسبت به گروه تیمار دوم (G3) کاهش معنادار را نشان داد. همچنین از التهابات اطراف عروق و ضخامت عروق نسبت به G3 کاسته شد.

نتیجه‌گیری: تجویز ان استیل سیستئین با دوز پیوسته، از طریق کاهش سطح سرمی آنزیم‌های ALT، AST، ALP و LDH و همچنین التهاب های کبدی، سمیت ناشی از کلرید کادمیوم را در رت‌های مواجه شده با دوز پیوسته کلرید کادمیوم کاهش می‌دهد.

کلمات کلیدی: ان استیل سیستئین، کلرید کادمیوم، کبد، آنزیم‌های کبدی

نویسنده مسئول:

استادیار، ژنتیک مولکولی،گروه زیست شناسی ، دانشکده علوم پایه، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی ، رشت، ایران

۰۱۳۳۳۴۲۴۰۸۰
E-mail: n_ranji@iaurasht.ac.ir

مقدمه

کادمیوم یک فلز دو ظرفیتی است که در صنایع آبکاری، باطری‌سازی و جوشکاری استفاده می‌شود. این فلز سمی در آلاینده‌های محیطی و صنعتی و نیز در دود ناشی از وسایل نقلیه و دخانیات وجود دارد [۱،۲]. موارد متعددی از مسمومیت با کادمیوم در انسان و حیوان گزارش شده است. مواجهه حاد با فلزات سنگینی همانند کادمیوم سبب مرگ و مواجهه تدریجی با مقادیر اندک منجر به انباشته شدن آن در بافت‌های مختلف از جمله کبد، ریه، کلیه و روده بزرگ می‌شود [۳]. اثر منفی کلرید کادمیوم بر پارامترهای رشدی و برخی صفات فیزیولوژیک در گیاهان پرورش یافته در خاک های آلوده و تغذیه طیور از این خاک ها به این فلز موید این مطلب است [۴،۵] آبزیان نیز سهم مهمی در رژیم غذایی انسان دارند و در آب های شور و شیرین آلوده می شوند[۶]. مواجهه حاد با فلزات سنگینی همانند کادمیوم سبب مرگ و مواجهه تدریجی با مقادیر اندک منجر به انباشته شدن آن در بافت های مختلف از جمله کبد، ریه، کلیه و روده بزرگ می شود. [۷] استنشاق بخارهای حاصل از کادمیوم باعث ورود این فلز سمی به خون می شود و این امر سبب تولید رادیکال های آزاد و در پی آن استرس اکسیداتیو می گردد. کادمیوم به سبب تمایل بالا به اتصال به گروه های سولفیدریل باعث غیرفعال شدن آنتی اکسیدان های حاوی سولفیدریل می شود و در نتیجه با کاهش قدرت دفاع آنتی اکسیدانی منجر به افزایش استرس اکسیداتیو می گردد[۸]. التهاب ناشی از استرس اکسیداتیو بر ساختار پروتئین ها تاثیرات نامطلوبی دارد. گروهی از پروتئین ها بطور طبیعی در بدن به دلیل داشتن گروه سولفیدریل وظیفه حمل و نقل فلزات را بر عهده دارند. یکی از این پروتئین ها گروه متالوتیونین ها می باشند. متالوتیونین، پروتئینی با وزن مولکولی ۸-۷ کیلودالتون است که دارای چهار زیرواحد می باشد. این پروتئین منحصر به فرد، غنی از گروه های سولفیدریلی است. در پستانداران، متالوتیونین غالبا در سیتوپلاسم سلول و سپس در لیزوزوم، میتوکندری و هسته یافت می شود. مهمترین عملکرد فیزیولوژیکی متالوتیونین، حمل یون های روی ومس و نیز محافظت در برابر سمیت های سلولی از قبیل آلودگی کادمیومی از طریق تامین جایگاه گروه های سولفیدریل برای رادیکال های آزاد مهار نشده در استرس اکسیداتیو است[۹،۱۰].

داروی ان استیل سیستئین به عنوان یک ترکیب غنی از سولفیدریل قادر به پاکسازی رادیکال‌های آزاد است. بطوری که موارد استفاده از ان استیل سیستئین در بیماری‌های مختلف از جمله سرطان، بیماری‌های قلبی و عروقی، مسمومیت با استامینوفن و عفونت‌های ویروسی نقص ایمنی انسان (HIV) قبلا بررسی شده است [۱۱،۱۲]. از آنجا که فلزات سنگین باعث افزایش تولید رادیکال‌های آزاد در سرم و نیز افزایش سطح آلانین ترانسفراز (ALT)، آسپارتات آمینوترانسفراز (AST)، آلکالن فسفاتاز (ALP)، لاکتات دهیدروژناز (LDH)، گاماگلوتامیل ترانسفراز(GGT) می‌شود [۱۳] و با توجه به وجود کلرید کادمیوم در منابع خاک و آب و انتقال این فلز سمی از طریق مواد غذایی در این مطالعه بر آن شدیم که تاثیراسترس اکسیداتیو کلرید کادمیوم با دوزهای حاد و مزمن را از طریق گاواژ بر روی سطح سرمی آنزیم های کبدی ALT، AST، ALP، LDH و GGT و التهاب بافت کبد به روش هیستو پاتولوژیک بررسی کنیم و برای دفع این فلز سنگین از بدن از آنتی اکسیدانی چون ان استیل سیستئین استفاده و تاثیر درمانی آن بر سطح آنزیم های ALT، AST، ALP، LDH و GGT و التهاب بافت کبد مطالعه شود.

مواد و روش‌ها

حیوانات

در این مطالعه تجربی-مداخله‌ای ۳۰ سر رت نر نژاد ویستار با میانگین وزنی ۲۰±۱۸۰ گرم و سن ۸ هفته از مرکز انیستیتو پاستور کرج خریداری و در خانه حیوانات پژوهشکده ژنیران نگهداری شد. حیوانات به جهت سازگاری با محیط جدید به مدت یک هفته (با دمای ۲±۲۵ درجه سانتی‌گراد و با رطوبت نسبی ۵±۵۵ درصد و سیکل ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) در کنار یکدیگر نگهداری شدند. درمدت مطالعه، غذای کافی و آب مناسب در اختیار حیوانات قرار داده شد. اساس این مطالعه مطابق با دستورالعمل کار با حیوانات آزمایشگاهی تنظیم و به تصویب کمیته اخلاق دانشگاه آزاد واحد رشت به شماره IR.IAU.RASHT.REC.1399.008 قرار گرفت.

آماده‌سازی مواد و کیت‌ها

پودر ان استیل سیستئین (شرکت سیگما، کشور آلمان با درجه خلوص ۹۹/۹۹درصد) خریداری شد و غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از آن در بافر فسفات (شرکت بهارافشان pH=7.0) تهیه شد. غلظت‌های ۲/۵میلی‌گرم بر کیلوگرم و ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از پودر کلرید کادمیوم (شرکت سیگما کشور آلمان با درجه خلوص ۹۹/۹۹درصد) نیز در بافر فسفات آماده گردید.

روش مطالعه

۳۰ سر رت نر بالغ نژاد ویستار به ۵ گروه ۶ تایی تقسیم شدند. گروه‌ها به شرح زیر می‌باشند:

۱- گروه کنترل سالم (G1) که روزانه فقط آب و مواد غذایی را به مدت ۴ هفته دریافت نمودند.

۲-گروه کنترل منفی (G2) در روز اول مطالعه ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کلرید کادمیوم دریافت نمودند.

۳-گروه منفی مزمن (G3) روزانه به میزان ۲/۵میلی‌گرم بر کیلوگرم کلرید کادمیوم را به مدت ۴ هفته دریافت نمودند.

۴-گروه تیمار اول (G4) در روز اول مطالعه ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کلرید کادمیوم به همراه ۵۰ میلی‌گرم ان استیل سیستئین دریافت کردند.

۵-گروه تیمار دوم (G5) روزانه ۲/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم کلرید کادمیوم به همراه ۵۰ میلی‌گرم ان استیل سیستئین به مدت ۴ هفته دریافت نمودند.دوزهای دریافتی با استفاده از مطالعات قبلی انتخاب شدند [۱۴،۱۵].

۶-حیوانات در مدت مطالعه کلرید کادمیوم و ان استیل سیستئین را بصورت گاواژ دریافت نمودند.

آزمایش های بیوشیمیایی

۲۴ ساعت پس از آخرین گاواژ و ۱۲ ساعت ناشتایی، رت‌ها با استفاده از ۲±۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کتامین و زایلازین ۱±۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم بیهوش شدند. خون گیری از قلب بصورت مستقیم انجام شد. نمونه‌های خون به لوله‌های بدون ماده ضد انعقاد منتقل شده و پس از لخته شدن با سانتریفیوژ (شرکت سلکترا) با دورg× ۶۰۰ سانتریفیوژ شدند و سرم جدا شده به لوله‌های گاما درب‌دار منتقل شدند. سطح سرمی ALT، AST، ALP، LDH، GGT بوسیله دستگاه اتوآنالایزر کوباس 6000 (مدل501-C) طبق دستورالعمل شرکت سازنده (کوباس) اندازه گیری شدند. سطوح سرمی ALT، AST و GGT به روشIFCC (فدراسیون بین المللی شیمی بالینی و طب آزمایشگاهی) و ALP وLDH به روش DGKC (استاندارد انجمن بیوشیمی آلمان) اندازه‌گیری شدند.

آزمایش‌های هیستوپاتولوژی

پس از خون‌گیری، تمامی بافت کبد از شکم خارج و به منظور فیکساسیون به ظرف‌های جداگانه حاوی فرمالین ۱۰ درصد منتقل شدند. نمونه‌ها با دستگاه تیشوپروسسور (شرکت دید سبز مدل DS2080/H) به مدت ۱۹ ساعت پروسس شدند. پس از آن با پارافین قالب‌گیری انجام شد و با میکروتوم (کمپانی ساکورا) برش‌های سریالی به ضخامت ۴ میکرون تهیه گردید. لام‌ها پس از دپارافینه شدن با رنگ هماتوکسیلین-ائوزین رنگ‌آمیزی و با میکروسکپ نوری (المپیوس مدل CX23) بررسی شدند.

تحلیل آماری

محاسبات آماری با نرم‌افزار Origin Pro نسخه ۱۵ انجام شد. نتایج بصورت میانگین انحراف معیار(Mean±SD) نشان داده شدند. برای مقایسه تفاوت معنی داری بین گروه‌ها از تست آنالیز واریانس یکطرفه ANOVA و تست تکمیلی Tukey استفاده شد. ملاک معنی‌دار بودن تفاوت بین گروه‌ها $p<0.05$ در نظر گرفته شد.

نتایج

یافته‌های بیوشیمیایی

نمودار ۱ نتایج حاصل از تیمار با ان استیل سیستئین به دنبال مواجهه با کلریدکادمیوم، بر سطح آنزیمهای ALT، AST، ALP، LDH، GGT را در گروه های مورد مطالعه نشان می‌دهد.

تاثیر ان استیل سیستئین بر فعالیت ALT

مطابق آنچه در نمودار ۱-الف نشان داده شده است، سطح

سرمی ALT در گروه تیمار دوم (G3) نسبت به گروه کنترل، به صورت معنادار افزایش داشت (p <0.05). در گروه تیمار اول (G2) نسبت به گروه کنترل تغییر معناداری مشاهده نشد این در حالی است که پس از تیمار با ان استیل سیستئین در گروه تیمار چهارم (G5) نسبت به گروه G3 سطح سرمیALT کاهش یافت (p <0.001). مطابق نمودار، سطح این آنزیم در گروه G4 نسبت به گروه G2 تغییر معناداری نداشت.

تاثیر ان استیل سیستئین بر فعالیت AST

نمودار ۱–ب سطح سرمی AST را در گروه‌های مختلف نشان می‌دهد. در گروه تیمار دوم (G3) سطح سرمی AST نسبت به گروه کنترل افزایش قابل ملاحظه‌ای داشت (p <0.01). گرچه در گروه G2 نسبت به گروه G1 تغییر محسوس نبود. پس از تیمار با ان استیل سیستئین در گروه G5 نسبت به گروه G3 سطح سرمی AST کاهش یافت (p <0.001).

تاثیر ان استیل سیستئین بر فعالیت ALP

نمودار ۱–ج نمایانگر سطح سرمی ALP است. در گروه تیمار دوم نسبت به گروه کنترل سطح سرمی ALP بطور معناداری افزایش یافت (P <0.05). پس از تیمار با ان استیل سیستئین در گروه G5 نسبت به گروه G3 کاهش سطح سرمی ALP مشاهده شد (p <0.05).

۳–۱–۴ تاثیر ان استیل سیستئین بر فعالیت LDH

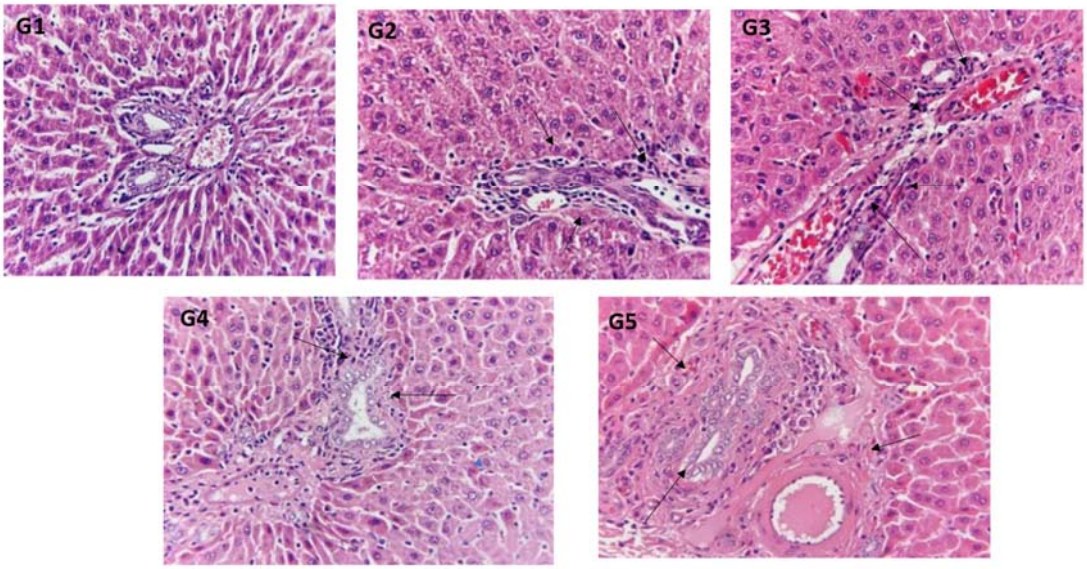
نمودار ۱–د سطح سرمی LDH را در گروه‌های مورد مطالعه آشکار می‌سازد. در گروه تیمار اول (G2) و گروه تیمار دوم (G3) افزایش سطح سرمی LDH نسبت به گروه کنترل مشهود است (به ترتیب p <0.05 و p<0.00). نتایج نشان داد تیمار با ان استیل سیستئین سبب کاهش سطح LDH در گروه تیمار چهارم (G5) نسبت به گروه تیمار دوم (G3) شد (p <0.001).

تاثیر ان استیل سیستئین بر فعالیت GGT

سطح سرمی آنزیم GGT پس از مواجهه با کادمیوم و تیمار با ان استیل سیستئین تغییری نشان نداد. (نمودار ۱–ح)

یافته‌های هیستوپاتولوژی

شکل ۱ یافته‌های هیستوپاتولوژی را در گروه‌های مختلف نشان می‌دهد. همانطور که در تصویر مشخص است در گروه کنترل هیچگونه آسیب بافتی و عروقی مشاهده نشد. در گروه تیمار اول (G2) سلول‌های التهابی در اطراف عروق قابل رویت شدند. در گروه تیمار دوم (G3) تعداد زیادی سلول التهابی در اطراف عروق مشاهده شد که با افزایش ضخامت عروق نیز همراه بود. پس از تیمار با ان استیل سیستئین در هر دو گروه تیمار از سلول‌های التهابی کاسته شد و همچنین در گروه G5 ضخامت عروق نسبت به گروه G3 کاهش چشمگیر داشت.



شکل ۱: یافته‌های هیستوپاتولوژی را در گروه های مختلف نشان می دهد. همانطور که در تصویر مشخص است در گروه کنترل هیچ گونه آسیب بافتی و عروقی مشاهده نشد. در گروه G2 سلول های التهابی در اطراف عروق قابل رویت شدند. در گروه G3 تعداد زیادی سلول التهابی در اطراف عروق مشاهده شد که با افزایش ضخامت عروق نیز همراه بود. پس از تیمار ان استیل سیستئین در هر دو گروه تیمار از سلول های التهابی کاسته شد و همچنین در گروه G5 ضخامت عروق نسبت به گروه G3 کاهش چشمگیر داشت. تصاویر با بزرگنمایی 40x نشان داده شده است.

بحث

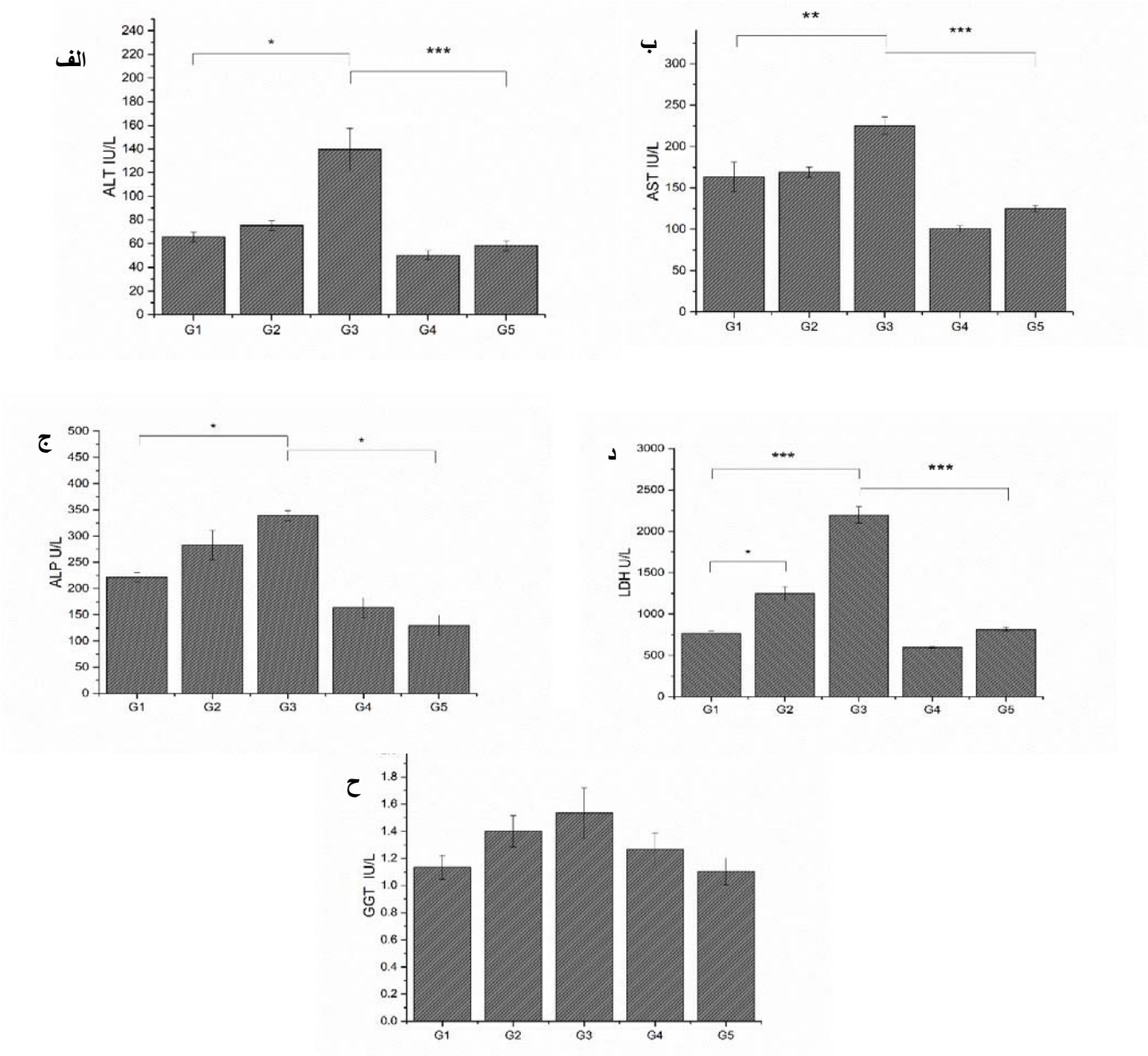
در این مطالعه اثرات سمی کادمیوم با دوزهای حاد و مزمن بر سطح سرمی آنزیم های کبدی و بافت کبد بررسی و تاثیر درمانی ان استیل سیستئین مطالعه شد. افزایش سطح سرمی آنزیم های کبدی نشان دهنده تخریب ساختار کبدی می باشد .اثر هپاتوتوکسیسیتی القا شده توسط کادمیوم و سایر آلاینده‌های فلزی محیطی و تاثیر آن در زنجیره غذایی شناخته شده است [۱۶،۱۷]. به عنوان مثال، مطالعات گزارش نموده اند که قرار گرفتن در معرض مقادیر اندک کادمیوم به صورت خوراکی از طریق فعال سازی مسیر التهاب NLRP3 باعث التهاب بافت کبد و در دوران بلوغ مسبب آسیب بافتی شدیدی می گردد[۱۸]. گزارش ها حاکی از آن است که کلریدکادمیوم سبب افزایش سطح سرمی ALT، AST و ALP می شود [۱۹]. همچنین نشان داده شده است که قرارگیری در معرض استات سرب به عنوان یک آلاینده محیطی به صورت مزمن نیز منجر به افزایش سطح سرمی آنزیم های مذکور می شود [۲۰] . استرس اکسیداتیو به عنوان یکی از دلایل افزایش سطح سرمی آنزیم های کبدی در مواجهه با سمیت های این چنینی از جمله کادمیوم شناخته شده است [۲۱]. انحطاط گرانولار و واکوئولار در سلول های کبدی و همچنین نکروز سلول پارانشیمی، تکثیر آندوپلاسمیک، اتوفاگوسیتوز و تغییرات دژنراتیو میتوکندری، افزایش قطر سینوسی در بافت کبد از دیگر پیامدهای حاصل از این سمیت گزارش شده است [۲۲،۲۳]. همانگونه که ذکر شد میزان ALT،AST ، ALP، LDH، GGT از عوامل مهم در شناسایی آسیب های کبدی به شمار می روند. ALT و ایزوآنزیم های سیتوپلاسمی آن و AST عمدتا در سیتوزول هپاتوسیت یافت می شوند. با آسیب غشایی در هپاتوسلولار حاد، این آنزیم ها آزاد و وارد سینوزوئید می شوند و به این ترتیب سطح آنزیم های AST و ALT در سرم افزایش می یابد.

ALP در بیشتر بافت‌های بدن وجود دارد اما بیشترین غلظت آن در سلول‌های کوپفر کبد می‌باشد. این آنزیم در التهابات کبدی،

انسدادهای صفراوی و سیروز کبدی افزایش می‌یابد.[۲۵] آنزیم GGT عمدتا در سطح کانال های صفراوی و هپاتوسیت‌ها یافت می‌شود و گرچه در بسیاری از اندام‌ها از جمله کبد و کلیه و پانکراس وجود دارد، اما کبد منبع اصلی GGT موجود در خون است. آنزیم GGT معمولا در مواردی که باعث آسیب‌رسانی حاد به بافت کبد یا مجاری صفراوی می‌شوند، افزایش می‌یابد[۱۷]. آنزیم LDH نیز در تمام سلول‌های بدن از جمله کبد، قلب، کلیه، ریه و ماهیچه‌ها یافت می‌شود و در تولید انرژی بدن نقش دارد. بطور طبیعی مقدار LDH در سرم پایین است و زمانی که سلول‌ها از جمله سلول‌های کبدی آسیب می‌بینند سطح LDH افزایش می‌یابد. بنابراین اندازه‌گیری LDH در کنار سایر سنجش‌های آنزیمی کبدی اهمیت می‌یابد.[۲۶]

نتایج نشان می‌دهد مواجهه با کلرید کادمیوم بصورت مزمن باعث افزایش معنادار سطح سرمی آنزیم‌های ALT، AST، ALP و LDH در گروه تیمار دوم (G3) نسبت به گروه کنترل (G1) می‌گردد. اما در سطح سرمی آنزیم GGT تغییر معناداری مشاهده نشد چرا که آنزیم GGT یک آنزیم مختص کانال های صفراوی می‌باشد و در آسیب‌های مجاری صفراوی و مجاری کبدی افزایش می‌یابد[۱۷]. حضور سلول‌های التهابی اطراف عروق و افزایش ضخامت عروق کبدی در گروه G3 نسبت به گروه G1 نیز در بررسی‌های میکروسکوپی برش‌های بافتی موید التهاب ناشی از کلرید کادمیوم می‌باشد.

ان استیل سیستئین در برابر آپوپتوز نورونی و استرس اکسیداتیو ناشی از کادمیوم به طور قابل توجهی سبب افزایش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز در بافت مغز شده و از تولید ROS ناشی از کادمیوم جلوگیری می نماید[۲۷]. اثر محافظتی این ترکیب در برابر استرس اکسیداتیو ناشی از کادمیوم و آپوپتوز در سلول های زایا مطرح است[۲]. طبق مطالعات، کادمیوم به علت میل ترکیبی بالا برای ترکیب با گروه های تیول و آنتی اکسیدان های حاوی سولفور باعث ضعف سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی شده و رادیکال آزاد تولید می نماید[۲۹] . رادیکال های آزاد تولید شده می توانند بر پتانسیل غشای میتوکندری تاثیر گذاشته و منجر به آپوپتوز شده و در نهایت باعث افزایش التهاب بافت کبد شود. ان استیل سیستئین دارای گروه تیول و پیش ماده L–سیستئین می باشد. ان استیل سیستئین دارای فعالیت ضد التهابی و آنتی اکسیدانی خود، در اثر تعامل با رادیکال آزاد ومنبع گروه های سولفیدریل سبب پاکسازی رادیکال های آزاد می شود و در نتیجه التهاب بافتی و سطح سرمی آنزیم های کبدی کاهش می یابد. با بهره گیری از نتایج این مطالعات و اثر بخشی ان استیل سیستئین، در بهبود التهاب بافت کبدی و کاهش سطح آنزیم های کبدی از این ترکیب برای تیمار رت های مواجه شده با کادمیوم استفاده شد.[۱۵،۳۰] نتایج حاصل از این مطالعه هم نشان داد که پس از استفاده از ان استیل سیستئین در گروه G5 سطح آنزیم های ALT، AST، ALP و LDH بطور معناداری نسبت به گروه G3 کاهش یافت. همچنین بررسی‌های میکروسکوپی برش‌های بافتی نیز اثر ان استیل سیستئین را بر کاهش ضخامت و التهابات اطراف عروق در گروه G5 نسبت به گروه G3 نشان می‌دهد. به نظر می رسد که احتمالا تجویز ان استیل سیستئین با خاصیت ضد التهابی و آنتی اکسیدانی می تواند آسیب های کبدی ناشی از مسمومیت کلرید کادمیوم را در رت های نر نژاد ویستار را کاهش دهد و سطح سرمی آنزیم های کبدی را بهبود بخشد.



نمودار۱: گروه کنترل (G1)رت های گیرنده غذای استاندارد ، کروه تیمار اول(G2) کیرنده دوز حاد کلرید کادمیوم، گروه تیمار دوم (G3) گیرنده دوز پیوسته کلرید کادمیوم، گروه تیمار سوم (G4) گیرنده دوز حاد کلرید کادمیوم بهمراه تک دوز ان استیل سیستئین، گروه تیمار چهارم(G5) گیرنده دوز پیوسته کلرید کادمیوم بهمراه ان استیل سیستئین پیوسته

نمودار۱: a–مقایسه میانگین سطح سرم آنزیمALT در بین گروه‌های مورد مطالعه b– مقایسه میانگین سطح سرمی آنزیم AST در بین گروه‌های مورد مطالعه C– مقایسه میانگین سطح سرم آنزیم ALP در بین گروه‌های مورد مطالعه d– مقایسه میانگین سطح سرم آنزیم LDH در بین گروه‌های مورد مطالعه e– مقایسه میانگین سطح سرم آنزیم GGT در بین گروه‌های مورد مطالعه. میزان معناداری در گروه های مختلف $p<0.05$* و $p<0.01$** و $p<0.001$***

نتیجه‌گیری

یافته‌های مطالعه حاضر نشان می‌دهد که میزان ۲/۵میلی‌گرم بر کیلوگرم و ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کلرید کادمیوم از طریق ایجاد استرس اکسیداتیو در کبد سبب افزایش سطح سرمی آنزیم‌های ALT، AST، ALP و LDH و التهاب بافت کبدی می‌گردد. اما با توجه به عدم تغییر میزان GGT، مواجهه با دوزهای مذکور موجب انسداد کانالیکولرها و مجاری صفراوی نشده است. به نظر می‌رسد ان استیل سیستئین از طریق کاهش سطح آنزیم‌های کبدی و کاهش التهابات اطراف عروق و نیز کاهش ضخامت عروق می‌تواند در تخفیف آسیب‌های ناشی از کلرید کادمیوم در کبد اثربخش باشد.

سپاسگزاری

نویسندگان این مقاله از سرکار خانم دکتر سوگل مکنت خواه از مرکز تحقیقات بیوشیمی و بیوفیزیک دانشگاه تهران، سرکار خانم دکتر ارمغان شیرین سخن از دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت، جناب آقای دکتر علی رهبری از بخش پاتولوژی بیمارستان جم تهران، جناب آقای دکتر محمدمهدی ریاحی از بخش پاتولوژی بیمارستان شهدای گمنام تهران و جناب آقای مسعود سلطانی حلوایی از دانشگاه مالک اشتر گروه بیوتکنولوژی به دلیل همکاری در انجام این پروژه تحقیقاتی کمال تشکر و قدردانی را دارند.

References

1. Almeer RS, Alarifi S, Alkahtani S, et al. The potential hepatoprotective effect of royal jelly against cadmium chloride-induced hepatotoxicity in mice is mediated by suppression of oxidative stress and upregulation of Nrf2 expression. Biomedicine & Pharmacotherapy 2018;106: 1490-1498.
2. Refaie MM, El-Hussieny M, Zenhom NM. Protective role of nebivolol in cadmium-induced hepatotoxicity via downregulation of oxidative stress, apoptosis and inflammatory pathways. Environmental toxicology and pharmacology 2018; 58:212-219
3. Aladeyelu S, Onyejike D, Ogundairo O, et al. Hepatoprotective role of Moringa oleifera ethanolic leaf extract on Liver functions (Biomarker) in cadmium chloride induced hepatotoxicity in Albino wistar rats. International Journal of Basic ,Applied and Innovative Research 2018;7(1): 12-17.
4. Bahmani R, Bihamta M, Habibi D. Evaluation of common bean genotypes tolerance in response to cadmium stress at germination stage. Journal of Crop Production 2015;7(4): 61-80.
5. Gravand F, Rahnavard, Aptin, Mohammad Pour G. Investigation of the Uptake of Heavy Metals in Waste Leachate by Vetiver from a Contaminated Soil. Iranian Journal of Soil Research 2021;35(1): 89-103.
6. Brucka-Jastrzebska E, Protasowicki M. Effects of cadmiun and nickel exposure on haematological parameters of common carp ,Cyprinus carpio L. Acta Ichthyologica et Piscatoria 2005; 35 (1): 29–38.
7. Aladeyelu S, Onyejike D, Ogundairo O, et al. Hepatoprotective role of Moringa oleifera ethanolic leaf extract on Liver functions (Biomarker) in cadmium chloride induced hepatotoxicity in Albino wistar rats. International Journal of Basic, Applied and Innovative Research 2018;7(1): 12-17.
8. Chainani-Wu N. Safety and anti-inflammatory activity of curcumin: a component of tumeric (Curcuma longa). The Journal of Alternative & Complementary Medicine 2003;9(1): 161-168.
9. Wang Y, Mandal AK, Son Y-O, et al. Roles of ROS, Nrf2, and autophagy in cadmium-carcinogenesis and its prevention by sulforaphane. Toxicology and applied pharmacology 2018;353: 23-30.
10. Margoshes M, Vallee BL. A cadmium protein from equine kidney cortex. Journal of the American Chemical Society 1957;79(17): 4813-4814.
11. Aldini G, Altomare A, Baron G, et al. N-Acetylcysteine as an antioxidant and disulphide breaking agent: the reasons why. Free radical research 2018; 52(7):751-762.
12. Jafari M, Salehi M, Asgari A, et al. Effects of paraoxon on serum biochemical parameters and oxidative stress induction in various tissues of Wistar and Norway rats. Environmental toxicology and Pharmacology 2012;34(3): 876-687.
13. Couture P, Kumar PR. Impairment of metabolic capacities in copper and cadmium contaminated wild yellow perch (Perca flavescens). Aquatic Toxicology 2003;64(1): 107-120.
14. Azarmehr Z, Ranji N, Koohpar ZK, Habibollahi H. The

effect of N-Acetyl cysteine on the expression of Fxr (Nr1h4), LXRα (Nr1h3) and Sirt1 genes, oxidative stress, and apoptosis in the liver of rats exposed to different doses of cadmium. Molecular Biology Reports 2021;48(3): 2533-2542.

15. Shirinsokhan A, Koohpar ZK, Ranji N. Effects of N-Acetyl Cysteine on the Expression of Matrix Metalloproteinases 2 and 9 in the Lung Tissue of Rats Exposed to Cadmium. Iranian Red Crescent Medical Journal 2020; 22(11):e163.
16. Goodarzi Z, Karami E, Yousefi S, et al. Hepatoprotective effect of atorvastatin on Cadmium chloride induced hepatotoxicity in rats. Life sciences 2020;254: 117770.
17. Renugadevi J, Prabu SM. Cadmium-induced hepatotoxicity in rats and the protective effect of naringenin. Experimental and Toxicologic Pathology 2010;62(2): 171-181.
18. Li X, Li H, Cai D ,et al. Chronic oral exposure to cadmium causes liver inflammation by NLRP3 inflammasome activation in pubertal mice. Food and Chemical Toxicology 2021;148: 111944.
19. Khastar H, Fakharpour M, Shermeh SM, et al. Reduce the Cadmium-Induced Hepatotoxicity Using Hydro-Alcoholic Extract of Zataria. Journal of Knowledge & Health in Basic Medical Sciences 2019; 13(4):55-61
20. Mohammadi R, Farokhi F, Nejati V, Asri Rezaei S. Assessment of the Amount of Hepatohistopatological and Enzymatic Changes after Chronic Lead Intoxication In Utero and Throughout Life in Rat. Qom Univ Med Sci J. 2013; 7 (2) :27-34.
21. El-Sokkary GH, Nafady AA, Shabash EH. Melatonin administration ameliorates cadmium-induced oxidative stress and morphological changes in the liver of rat. Ecotoxicology and environmental safety 2010;73(3): 456-463.
22. Yazihan N, Kocak MK, Akcil E, et al. Chronic cadmium toxicity induces inflammation and galectin-3 expression whereas suppresses the hypoxia inducible factor mRNA expression in the liver. Trace Elem 2015;32: 1-10.
23. Ramesh G, Madhuri D, Reddy MLAG. Histopathological and ultrastructural changes of liver and kidney induced by lead and cadmium alone and combined exposure in male wistar rat. The Pharma Innovation Journal 2019;8(2): 407.
24. Akomolafe SF, Aluko BT. Protective effect of curcumin on fertility in cyclophosphamide exposed rats: Involvement of multiple pathways. Journal of food biochemistry 2020;44(1): e13095.
25. Fan Y, Du Z, Steib CJ, et al. Effect of SEPT6 on the biological behavior of hepatic stellate cells and liver fibrosis in rats and its mechanism. Laboratory Investigation 2019;99(1): 17-36.
26. Ma H-R, Li Y-Y, Luo Y-P, et al. Effect of Guilingji Capsule on the fertility, liver functions, and serum LDH of male SD rats exposed by 900 mhz cell phone. Zhongguo Zhong xi yi jie he za zhi Zhongguo Zhongxiyi jiehe zazhi= Chinese journal of integrated traditional and Western medicine 2014;34(4): 475-9.
27. Chen S, Ren Q, Zhang J, et al. N-acetyl-L-cysteine protects against cadmium-induced neuronal apoptosis by inhibiting ROS-dependent activation of A kt/m TOR pathway in mouse brain. Neuropathology and applied neurobiology 2014;40(6): 759-777.
28. Ji Y-L, Wang H, Zhang C, et al. N-acetylcysteine protects against cadmium-induced germ cell apoptosis by inhibiting endoplasmic reticulum stress in testes. Asian journal of andrology 2013;15(2): 290.
29. Houston MC. The role of mercury and cadmium heavy metals in vascular disease, hypertension, coronary heart disease, and myocardial infarction. Altern Ther Health Med 2007;13(2): S128-S33.
30. Salama, S. A., Arab, H. H., Hassan, M. H., & Maghrabi, I. A. (2019). Cadmium-induced hepatocellular injury: modulatory effects of γ-glutamyl cysteine on the biomarkers of inflammation, DNA damage, and apoptotic cell death. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, 52, 74-82.

AUMJ Alborz University of Medical Sciences Journal

Alborz University of Medical Sciences Journal, October 2022, Vol. 11, No. 4: 493-502 *Original Article*

Zahra Azarmehr[1], Najmeh Ranji1*, Zeinab Khazaei Koohpar[2] , Hadi Habibollahi[1]

[1] Department of Biology, Faculty of Sciences, Rasht Branch, Islamic Azad University, P.O. Box, 3516-41335, Rasht, Iran
[2] Department of Cellular and Molecular Biology, Faculty of Biological Sciences, Tonekabon Branch, Islamic Azad University, Tonekabon, Iran

***Corresponding Author:**

Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran.

Tel: 01333424080
Email : n_ranji@iaurasht.ac.ir

Therapeutic Effect of N-acetylcysteine on Changes in Liver Enzymes and Tissue Damage in Male Wistar Rats Exposed to Acute and Chronic Doses of Dadmium

Received: 4 Dec 2021 ; Accepted: 25 Dec 2021

Abstract

Background and Aim: Cadmium is a toxic heavy metal found in environmental pollutants in metropolitan areas that enters the body via inhalation and causes the production of reactive oxygen species, apoptosis, and changes in protein structure. The purpose of this study was to see how N-acetyl cysteine (due to its sulfhydryl group and purification of reactive oxygen species) affected liver enzymes and inflammation in rats exposed to acute and chronic cadmium chloride doses.

Materials and Methods: In this study, 30 two-month-old male Wistar rats were randomly divided into 5 groups of 6. The control group (G1) was fed only standard water and food and the first treatment group (G2) received 80 mg / kg cadmium chloride on the first day of the study. The second treatment group (G3) received 2.5 mg / kg cadmium chloride daily for four weeks. The third treatment group (G4) received 80 mg / kg cadmium chloride along with 50 mg / kg n-acetyl cysteine on the first day of the study. The fourth treatment group (G5) received 2.5 mg / kg cadmium chloride and 50 mg / kg N-acetyl cysteine daily for four weeks. At the end of the treatment period, after anesthesia, blood samples were taken from the hearts of rats to measure the level of liver enzymes. Then their liver was removed and histopathological tests were performed.

Results: Treatment with cadmium chloride in continuous dose caused a significant increase in the levels of ALT, AST, ALP and LDH enzymes compared to the control group. There was no significant change in GGT enzyme level. Cadmium chloride caused inflammation around the arteries and increased the thickness of the hepatic arteries. After treatment with N-acetyl cysteine in the fourth treatment group (G5), the level of enzymes compared to the second treatment group (G3) showed a significant decrease. Inflammation around the arteries and the thickness of the arteries were also reduced compared to G3.

Conclusion: Continuous N-acetyl cysteine administration reduces cadmium chloride toxicity in rats exposed to a continuous dose of cadmium chloride by lowering serum levels of ALT, AST, ALP, and LDH enzymes, as well as hepatitis.

Keywords: N-acetyl cysteine, Cadmium chloride, Liver, Liver enzymes