

بررسی اثر آن استیل سیستئین بر غلظت روی و مس در خون و بافت ریه رت های نر ویستار تیمار شده با کادمیوم

ارمغان شیرین سخن^۱، زینب خزائی
کوهپر^۲، نجمه رنجی^۱ و فاطمه صفری^۳

^۱ گروه زیست شناسی، دانشکده علوم،
واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی،
رشت، ایران
^۲ گروه زیست شناسی سلولی و مولکولی،
دانشکده علوم زیستی، واحد تنکابن،
دانشگاه آزاد اسلامی، تنکابن، ایران
^۳ گروه زیست شناسی، دانشکده علوم،
دانشگاه گیلان، رشت، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۰/۸/۹؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۰/۴

چکیده

زمینه و هدف: کادمیوم دارای خصوصیات شیمیایی و فیزیکی مشابه فلزاتی مانند روی و مس می باشد که طی فرایندی یونی و مولکولی می تواند به سلول ها منتقل شود و عملکردهای بیولوژیکی و هموستاز سلول ها را مختل کند. هدف از این مطالعه بررسی اثر کلرید کادمیوم بر سطح سرمی و بافتی عناصر روی و مس، همچنین بررسی نقش محافظتی آن استیل سیستئین (NAC) در جلوگیری از سمیت و التهاب بافتی ناشی از کادمیوم در بافت ریوی رت های مواجهه یافته با تک دوز و دوز پیوسته کادمیوم می باشد.

مواد و روش ها: در این مطالعه مداخله ای - تجربی ۳۰ سر رت نر ویستار دو ماهه به طور تصادفی به ۵ گروه شش تایی تقسیم شدند. گروه کنترل فقط آب و مواد غذایی استاندارد دریافت نمودند. گروه تیمار اول، در روز اول مطالعه ۸۰ میلی گرم بر کیلو گرم کلرید کادمیوم را به صورت تک دوز دریافت نمودند، گروه تیمار دوم، دوز پیوسته کلرید کادمیوم را بطور یک روز در میان به مدت ۴ هفته به میزان ۲/۵ میلی گرم بر کیلوگرم دریافت کردند. گروه تیمار سوم، تک دوز کلرید کادمیوم را به میزان ۸۰ میلی گرم بر کیلوگرم به همراه ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم آن استیل سیستئین در روز اول دریافت نمودند. گروه تیمار چهارم، ۲/۵ میلی گرم دوز پیوسته کلرید کادمیوم به همراه ۵۰ میلی گرم آن استیل سیستئین را به مدت ۴ هفته دریافت نمودند. حیوانات کلرید کادمیوم و آن استیل سیستئین را به صورت گاوژ دریافت کردند. در پایان دوره تیمار، از قلب خونگیری انجام شد تا سطح عناصر سنجیده شود. بافت ریه هم پس از بیهوشی، از ناحیه قفسه سینه خارج شد و بخشی از آن برای کار بافت شناسی و بخشی هم جهت سنجش سطح عناصر مس و روی استفاده شد.

یافته ها: تیمار با کلرید کادمیوم کاهش سطح سرمی مس را در گروه تیمار دوم نسبت به گروه کنترل نشان داد ($P\text{-value} < 0.01$). علاوه بر این تیمار با کلرید کادمیوم در گروه تیمار دوم نسبت به گروه کنترل، سبب کاهش معنی دار سطح بافتی مس گردید ($P\text{-value} < 0.001$). تیمار با کلرید کادمیوم سبب کاهش سطح سرمی روی در گروه تیمار دوم نسبت به گروه کنترل گردید ($P\text{-value} < 0.01$). سطح بافتی روی در گروه تیمار دوم نسبت به کنترل، کاهش معنی داری را نشان داد ($P\text{-value} < 0.001$). تیمار همزمان کلرید کادمیوم و آن استیل سیستئین در گروه تیمار چهارم به صورت دوز پیوسته نسبت به گروه تیمار دوم سبب افزایش معنی دار سطح سرمی مس گردید ($P\text{-value} < 0.05$). و سطح بافتی مس در گروه تیمار چهارم نسبت به گروه تیمار دوم بطور معنی داری افزایش یافت ($P\text{-value} < 0.001$). همچنین تیمار همزمان دو ترکیب کلرید کادمیوم و آن استیل سیستئین در گروه تیمار چهارم نشان داد که سطح سرمی روی ($P\text{-value} < 0.05$) و سطح بافتی روی ($P\text{-value} < 0.01$) نسبت به گروه تیمار دوم بطور معنی داری افزایش یافت.

نتیجه گیری: تجویز آن استیل سیستئین با دوز پیوسته، سمیت ناشی از کلرید کادمیوم را در رت های مواجهه یافته با دوز پیوسته کلرید کادمیوم کاهش داده و سطح سرمی و بافتی دو عنصر مس و روی را بهبود می بخشد.

کلمات کلیدی: کادمیوم، آن استیل سیستئین، مس، روی

نویسنده مسئول:

گروه زیست شناسی سلولی و مولکولی،
دانشکده علوم زیستی، واحد تنکابن،
دانشگاه آزاد اسلامی، تنکابن، ایران

۰۱۱۵۴۲۷۱۱۰۵

Email: khazaei@toniau.ac.ir

مقدمه

کادمیوم یک فلز سنگین به رنگ سفید متمایل به آبی است. این فلز نسبت به سایر فلزات سنگین به مقدار بسیار بیشتری در پوسته زمین یافت می شود و در طبیعت بیشتر به شکل معدنی بوده و از معادن استخراج می شود^{۱، ۲}. تجمع کادمیوم در بدن با بالا رفتن سن ارتباط مستقیم دارد و نیمه عمر بیولوژیکی بسیار طولانی دارد. نیمه عمر بیولوژیکی آن حدود ۲۰ سال است حتی در مقادیر ناچیز نیز برای انسان سمی و خطرناک بوده و سبب مشکلات مختلفی نظیر تخریب کلیه، مشکلات ریوی و کبدی، صدمات استخوانی، سرطان و غیره می شود^۳.

کادمیوم تاثیرات حاد و مزمن بر سلامتی انسان دارد. سمیت حاد آن بطور عمده به دلیل استنشاق دودهای ناشی از تجزیه مواد حاوی کادمیوم است. سمیت مزمن اغلب تحت شرایطی که کادمیوم وارد زنجیره غذایی می شود اتفاق می افتد^۴. شدیدترین شکل سمیت مزمن کادمیوم در اثر مصرف خوراکی طولانی مدت آن در بیماری با نام ایتای - ایتای دیده می شود. بیماری ایتای - ایتای ناشی از مسمومیت کادمیوم در استان توپاما ژاپن بود که شیوع آن در حدود سال ۱۹۱۲ آغاز شد. اصطلاح ایتای - ایتای توسط مردم محلی برای دردهای شدید ستون فقرات و مفاصل به کار برده می شد^۵. اثرات مزمن ممکن است با تاخیر بعد از گذشت چند سال بعد از آخرین تماس ایجاد گردد. که شامل سوراخ شدن تیغه بینی، کاهش حس بویایی، برونشیت حاد، نفخ، بی اشتها، بی خوابی، افسردگی، آنمی، زردی، خطرات کلیوی، تظاهرات استخوانی استخوان، فیبروز ریوی، سرطان ریه می باشد. Rachel J. طی مطالعه ای بر روی سلول های ریه تیمار شده با کادمیوم نشان داد که قرار گرفتن در معرض کادمیوم به صورت مزمن با تغییر مورفولوژی سلولهای سالم به سلول های نوموری در سلول های اپیتلیال ریه انسان همراه است^۶. این داده ها نشان می دهد که کادمیوم ممکن است به طور مستقیم سلول های اپیتلیال ریه را به شدت تحریک کند. سلول های CCT-LC می توانند الگوی ارزشمندی برای مطالعه سرطان ریه ناشی از کادمیوم باشند^۷.

سرطان زایی کادمیوم با تولید گونه های واکنش پذیر اکسیژن رابطه مستقیم دارد. کادمیوم گونه های فعال اکسیژن ROS را تقویت

می کند و در نتیجه سبب افزایش پراکسیداسیون لیپید می گردد. تاثیرات کادمیوم بر بسیاری از آنزیم های آنتی اکسیدانی سلولی به طور گسترده مورد مطالعه قرار گرفته است^۸. قرار گرفتن در معرض کوتاه مدت با کادمیوم نشان می دهد که تقریباً فعالیت همه آنزیم ها در شرایط *in vitro* و *in vivo* کاهش می یابد، در حالی که با دوزهای بیشتر و قرار گرفتن در معرض کادمیوم به مدت طولانی تر، فعالیت آنزیم ها احتمالاً به دلیل القای سازگاری ژن ها افزایش خواهد یافت. کادمیوم بیان ژنهای زیادی را تحریک می کند، از جمله بعضی از آن ها پروتئین های آنتی اکسیدانی را در شرایط آزمایشگاهی خاص کدگذاری می کنند^۹.

در پستانداران، متالوتیونین (MT) خانواده ای از پروتئین های غنی از گروه سولفیدریل با وزن مولکولی کم (۵ تا ۱۰ کیلودالتون) است. آن هادر غشای دستگاه گلژی قرار دارند. متالوتیونین ها توانایی اتصال به عناصر مفید بدن مانند روی، مس، سلنیوم و فلزات سنگین مانند کادمیوم، جیوه، نقره، آرسنیک را از طریق گروه سولفیدریل دارند. این پروتئینها قادر هستند با شلات کردن فلز سنگین مانند کادمیوم، سلولها را از آسیب غلظتهای سمی این فلزات حفظ نمایند. از دیگر نقش های پیشنهاد شده برای متالوتیونین، پاکسازی رادیکال های اکسیژنی و حفاظت سلول ها در برابر تنش اکسیداتیو می باشد^{۱۰}. در شرایط فیزیولوژیکی، متالوتیونین به روی و مس متصل می شود، در حالی که در مسمومیت های با کادمیوم آنها به کادمیوم متصل می شوند و دیگر در مکانیسم های سلولی نظیر اکسیداتیو و مسیرهای آنتی اکسیدانی شرکت نمی کنند. در نتیجه سلول با کاهش این دو فلز کمیاب مواجه می شود. متالوتیونین در محافظت در برابر سمیت فلز و استرس اکسیداتیو و نیز در تنظیم روی و مس نقش دارد^{۱۱}.

ان استیل سیستئین (NAC) یک N-استیل مشتق شده از آمینواسید L - سیستئین است، که به لحاظ داشتن گروه تیول (SH₂)، دارای ویژگی آنتی اکسیدانی است که موجب مهار فعالیت رادیکال های آزاد و خنثی سازی آن ها می شود و همچنین به عنوان پیش ماده گلوتاتیون (GSH) عمل کرده و موجب افزایش عملکرد درون سلولی آن می شود^{۱۲}. ان استیل سیستئین یک منبع عالی در بدن است که توانایی تحریک سنتز گلوتاتیون را داشته و مستقیماً به عنوان جمع آوری کننده رادیکال آزاد عمل می کند و در وضعیت

تیمار حیوانات

۳۰ سر رت نر نژاد ویستار دو ماهه به ۵ گروه ۶ تایی تقسیم شدند. تعیین دوز کلرید کادمیوم و ان استیل سیستین با رجوع به مقالات انتخاب شدند. ۱۵-۱۹. گروه ها شامل:

۱- گروه کنترل (G1) به مدت چهار هفته با غذای استاندارد و آب تغذیه شدند.

۲- گروه تیمار اول (G2) در روز اول مطالعه به میزان ۸۰ میلی گرم بر کیلوگرم کلرید کادمیوم دریافت نمودند.

۳- گروه تیمار دوم (G3) به مدت چهار هفته بصورت یک روز در میان، ۲/۵ میلی گرم بر کیلوگرم کلرید کادمیوم دریافت نمودند.

۴- گروه تیمار سوم (G4) در روز اول مطالعه ۸۰ میلی گرم بر کیلوگرم کلرید کادمیوم به همراه ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم ان استیل سیستین دریافت نمودند.

۵- گروه تیمار چهارم (G5) به مدت چهار هفته بصورت یک روز در میان، ۲/۵ گرم بر کیلوگرم کلرید کادمیوم و ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم ان استیل سیستین دریافت نمودند.

حیوانات در مدت تیمار، کلرید کادمیوم و ان استیل سیستین را به صورت گاواژ دریافت نمودند.

۴- نمونه گیری و اندازه گیری عناصر در خون و بافت ریه

پس از اتمام دوره تحقیق، تمام حیوانات با شرایط کاملاً مشابه و به دنبال ۱۲ تا ۱۴ ساعت ناشتایی و ۴۸ ساعت پس از آخرین تیمار، با تزریق داخل صفاقی ۶۰ میلی گرم بر کیلوگرم کتامین و زایلازین ۵ میلی گرم بر کیلوگرم با نسبت ۵ به ۲ بی هوش شدند. خون گیری از قلب بصورت مستقیم و با استفاده از سرنگ انجام شد. پس از لخته شدن نمونه ها، لوله ها به مدت ۱۵ دقیقه با دور 600× سانتریفیوژ (سهند طب مدل آزمایشگاهی) شدند. سرم ها در لوله های گاما درب دار تقسیم شدند و جهت اندازه گیری سطح سرمی مس و روی به روش اسپکتروسکوپی اتمی (AAS ; Perkin Elmer model 2380) در فریزر ۲۰- درجه سانتی گراد فریز شدند.

در ادامه قفسه سینه رت ها باز شد، بافت ریه جهت انجام آزمایشات بافت شناسی و تعیین سطح بافتی مس و روی خارج

هایی که همراه با آسیب اکسیداتیو ناشی از تشکیل رادیکال های آزاد گونه های فعال اکسیژن هستند به طور موفقیت آمیزی به کار برده شده است. ان استیل سیستین بیش از ۱۵ سال است که به صورت بالینی در موارد متعدد به کار می رود. ۱۳، ۱۴.

در مطالعه قبلی سطح سرمی و بافتی کادمیوم به روش اسپکتروسکوپی در رت های نر نژاد ویستار اندازه گیری و ان استیل سیستین سبب کاهش معنی دار کادمیوم شد^{۱۵}. از آنجایی که کادمیوم سبب شلاته شدن مس و روی می شود در این مطالعه تاثیر ان استیل سیستین بر روی سطح سرمی و بافتی این عناصر بررسی شد.

مواد و روش ها

حیوانات مورد مطالعه

در این مطالعه تجربی- مداخله ای، تعداد ۳۰ سر رت نر نژاد ویستار دو ماهه با میانگین وزنی ۲۰۰-۱۵۰ گرم از مرکز پرورش و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله تهران تهیه و وارد مطالعه شدند. سپس رت ها به حیوان خانه ای با روشنایی- تاریکی ۱۲ ساعته و دمای 25 ± 2 درجه سانتی گراد انتقال یافتند. آب و غذا به مقدار کافی در اختیار حیوانات قرار داشت. براساس دستور العمل کار با حیوانات آزمایشگاهی، روش های این مطالعه به تصویب کمیته اخلاق دانشگاه آزاد واحد رشت با کد اخلاق: (IR. IAU. RASHT. REC. 1398. 054) قرار گرفت.

آماده سازی مواد

پودر ان استیل سیستین با درجه خلوص ۹۹/۹۹ درصد از شرکت سیگما آلد ریچ (آلمان) خریداری گردید و غلظت ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم با بافر فسفات (PH:7.0) خریداری شده از شرکت بهارافشان رقیق گردید.

پودر کلرید کادمیوم با درجه خلوص ۹۹/۹۹ از شرکت سیگما آلد ریچ (آلمان) خریداری گردید و غلظت ۸۰ و ۲/۵ میلی گرم بر کیلوگرم با بافر فسفات (PH:7.0) خریداری شده از شرکت بهارافشان رقیق گردید.

شد. بخشی از بافت جهت کار بافت شناسی در فرمالین ۱۰٪ گذاشته شد. ۱۰۰ میلی گرم از بافت ریه به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۷۵ درجه سانتی گراد گذاشته شد تا خشک گردد. سپس جهت هضم بافت خشک شده، بافت مذکور به محلول اسید نیتریک ۱۰x (شرکت دکتر مجللی) انتقال داده شد. نمونه هضم شده توسط آب مقطر ۵ بار رقیق گردید تا جهت اندازه گیری سطح مس و روی مورد استفاده قرار گیرد.

نمونه های سرمی فریز شده پس از دفریز کردن ۵ بار در آب مقطر رقیق شد. در تمام نمونه ها، سطح سرمی و بافتی مس و روی با روش اسپکتروسکوپی اتمی (AAS ; Perkin Elmer model 2380) اندازه گیری شد.

۵-آزمایش های بافت شناسی

نمونه های منتقل شده در فرمالین ۱۰ درصد پس از فیکساسیون به مدت ۴۸ ساعت با دستگاه تیشوپروسور (مدل DS 2080/H) پروسس گردید. سپس نمونه ها با پارافین قالب گیری شد. و متعاقب آن از بلوک های پارافینی با استفاده از میکروتوم (DS 9502) برش های ۵ میکرونی تهیه شد. پس از مرحله دیپارافینه کردن، نمونه ها به روش هماتوکسلین و انوزین رنگ آمیزی شدند و برای بررسی اثر سمیت کلرید کادمیوم و اثر درمانی آن استیل سیستین با میکروسکوپ نوری زایس (مدل Primo Star) مورد بررسی قرار گرفتند.

۶-آنالیز آماری

نتایج بصورت میانگین \pm انحراف معیار نشان داده شده اند. برای مقایسه تفاوت معنی دار بین گروهها از تست آنالیز واریانس یکطرفه ANOVA و تست تکمیلی Tukey استفاده شد. ملاک معنی دار بودن تفاوت بین گروه ها $P < 0.05$ در نظر گرفته شد.

نتایج

یافته های اسپکتروسکوپی

نمودار ۱ نتایج حاصل از تیمار با آن استیل سیستین و تیمار با کلرید کادمیوم را بر سطح سرمی و بافتی مس و روی نشان می

دهد. الف سطح سرمی مس در گروه های تیمار اول G2 نسبت به گروه کنترل کاهش یافت ($P\text{-value} < 0.05$) و گروه تیمار دوم G3، نسبت به گروه کنترل کاهش معنی دار نشان داد. ($P\text{-value} < 0.01$) در نمودار اراج سطح بافتی مس در گروه تیمار دوم نسبت به گروه کنترل با کاهش معنی دار همراه بود. ($P\text{-value} < 0.001$) و در اراج و اد سطح بافتی مس و روی در گروه تیمار اول تغییر معنی دار نداشت ($P\text{-value} > 0.05$). در الف، پس از تیمار با آن استیل سیستین سطح سرمی مس در گروه G5 نسبت به G3 افزایش معنی دار داشت. ($P\text{-value} < 0.05$)

با توجه به نمودار ۱ ب سطح سرمی روی در گروه تیمار اول G2 نسبت به گروه کنترل کاهش یافت ($P\text{-value} > 0.05$). و گروه تیمار دوم G3، نسبت به گروه کنترل کاهش معنی داری را نشان داد ($P\text{-value} < 0.01$). همچنین سطح سرمی روی در گروه G5 نسبت به گروه تیمار دوم G3 به طور معنی داری افزایش یافت ($P\text{-value} < 0.05$).

سطح بافتی مس در گروه تیمار دوم G3 نسبت به گروه کنترل با کاهش معنی داری همراه بود ($P\text{-value} < 0.001$). سطح بافتی مس در گروه G5 نسبت به گروه G3 که با آن استیل سیستین درمان شده بودند، افزایش معنی داری را نشان داد ($P\text{-value} < 0.001$). همچنین سطح بافتی مس در گروه تیمار اول G2 تغییر معنی داری نداشت. ($P\text{-value} > 0.05$) (نمودار ۱ ج).

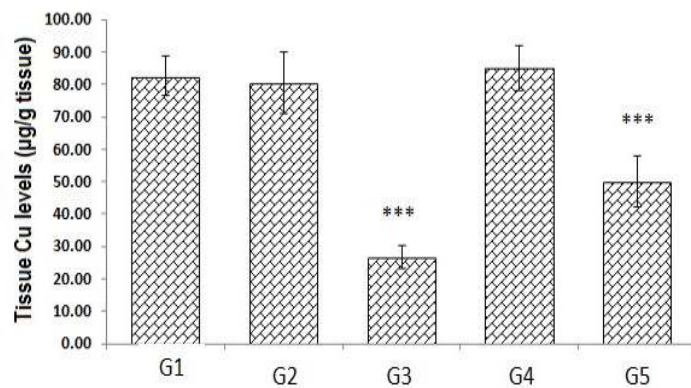
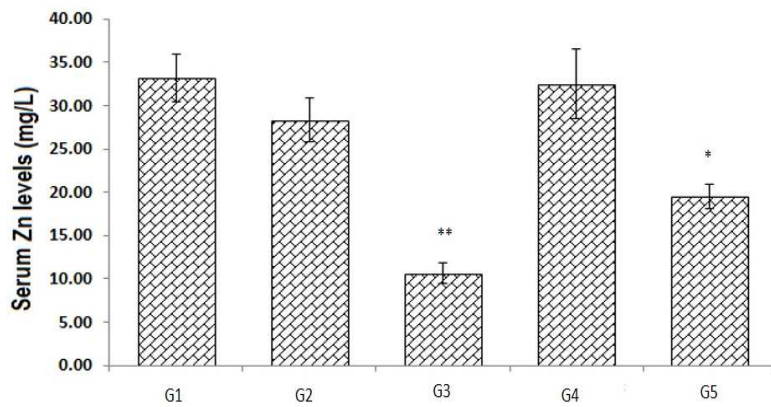
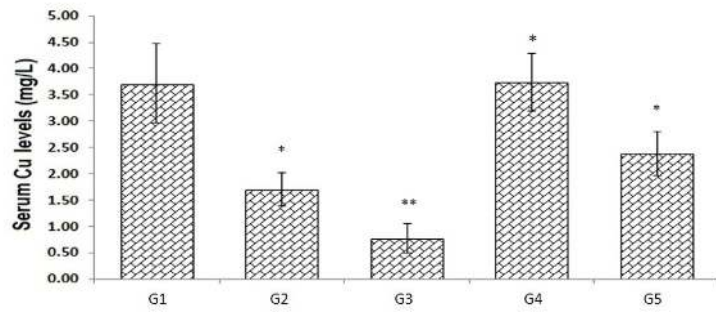
بر اساس نمودار ۱ د سطح بافتی روی در گروه G3 نسبت به کنترل بطور معنی داری کاهش یافت ($P\text{-value} < 0.001$) و سطح بافتی روی در گروه تیمار اول G2 تغییر معنی داری را نشان نداد. ($P\text{-value} > 0.05$) همچنین در سطح بافتی روی مربوط به گروه G5 نسبت به گروه G3 افزایش معنی داری مشاهده شد. ($P\text{-value} < 0.01$).

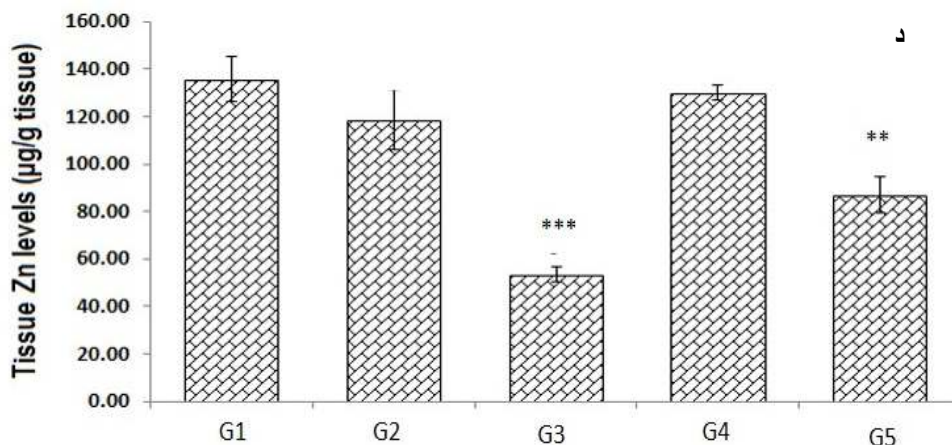
یافته های هیستوپاتولوژیک

شکل یافته های هیستوپاتولوژیک را در گروه های مختلف نشان می دهد. در گروه کنترل، شواهدی از آسیب بافتی و افزایش التهاب عروقی بافت ریه مشاهده نشد. سلول های روی بدون هیچ نوع آسیبی در کنار هم قرار گرفتند و بافت طبیعی مشاهده شد. در گروه تیمار اول G2 سلول های التهابی در اطراف عروق دیده شده

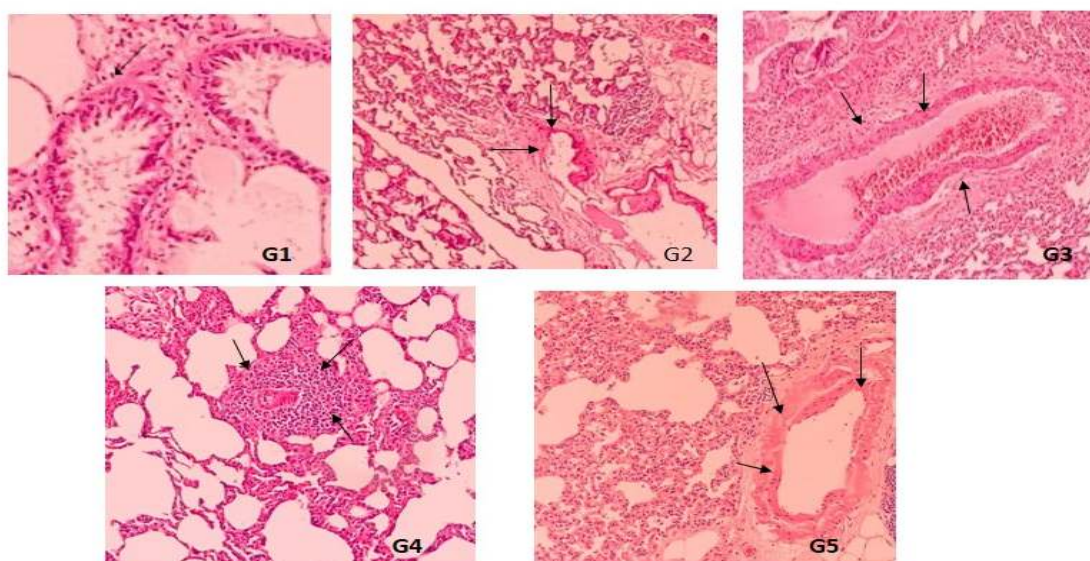
G2 کاهش شد. در گروه G5 که از دوز پیوسته ان استیل سیستین استفاده شد به طور چشمگیری سلول های التهابی و ضخامت عروق کاهش یافت.

که نسبت به گروه کنترل G1 در سلول های التهابی تغییر مشهود بود. در گروه تیمار دوم G3 سلولهای التهابی در اطراف عروق و افزایش ضخامت عروق بافتی نسبت به گروه G1 مشاهده شد. پس از تیمار با ان استیل سیستین سلول های التهابی در گروه G4 نسبت به گروه





نمودار ۱: الف- مقایسه میانگین سطح سرمی مس در بین گروه های مورد مطالعه ب- میانگین سطح سرمی روی در بین گروه های مورد مطالعه ج- میانگین سطح بافتی مس در بین گروه های مورد مطالعه د- میانگین سطح بافتی روی در بین گروه های مورد مطالعه



شکل ۱: تاثیر تیمار با آن استیل سیستئین بر یافته های هیستوپاتولوژیکی در بافت ریه های مواجه شده با کادمیوم گروه کنترل (G1): ساختار طبیعی بافت ریه مشاهده می شود. گروه تیمار اول (G2): حضور سلول های التهابی در اطراف عروق رویت می شود. گروه تیمار دوم (G3): افزایش سلول های التهابی و افزایش ضخامت عروق مشهود است. گروه تیمار سوم (G4): کاهش سلول های التهابی نسبت به گروه (G2) قابل مشاهده است. در گروه تیمار چهارم (G5) کاهش سلول های التهابی و کاهش ضخامت عروق مشاهده می شود.

بحث

بافت ها ایجاد می کند.^{۲۵}

در مطالعه حاضر صدمات بافتی ناشی از دوزهای تک و پیوسته کلرید کادمیوم بررسی گردید. در تک دوز سبب ایجاد التهاب در اطراف عروق ریوی شد و در دوز پیوسته سبب التهابات شدید و افزایش ضخامت عروقی گردید.

کادمیوم یک فلز سنگین سمی و سرطان زا می باشد که به وفور در دود سیگار وجود دارد و یکی از علل بروز بیماری های ریوی ناشی از کشیدن سیگار است. ZIP8 القا شده در اپی تلیال ریه با روشی وابسته به NF-KB منجر به افزایش مرگ سلولی در حضور کادمیوم می شود. ZIP8 به دنبال قرار گرفتن در معرض دود سیگار، نقش مهمی در ارتباط بین متابولسیم ریزمغذی ها به خصوص روی و قرار گرفتن در معرض فلزات سمی مانند کادمیوم در محیط ریه دارند. ZIP8 یک پروتئین انتقال دهنده روی در سلول های اپیتلیال ریه می باشد. به دنبال ورود کادمیوم در بدن در اثر دود ناشی از سیگار و آلاینده های تنفسی کادمیوم جایگاه فعال روی را در ZIP8 اشغال می کند.^{۲۶}

با توجه به مطالعه حاضر و اثرات مخرب کلرید کادمیوم بر روی بافت ریه و کاهش سطح عناصر روی و مس، جهت درمان، از داروی ان استیل سیستئین استفاده شد. ان استیل سیستئین به عنوان یک منبع برای سیستئین و گلو تاتیون عمل کرده و موجب افزایش دفاع آنتی اکسیدانی بدن میگردد. از طرف دیگر این ترکیب می تواند موجب احیای باندهای دی سولفیدی در گلیکوپروتئین ها شده و شکل و ساختار طبیعی پروتئین را حفظ کند، همچنین این ترکیب یک عملکرد آنتی اکسیدانی مستقیم داشته و سبب پاکسازی رادیکال های آزاد ایجاد شده مانند هیدروکسیل ها و نیتریک اکساید می گردد. کلرید کادمیوم با ایجاد استرس اکسیداتیو آنتی اکسیدان های طبیعی بدن مانند مس و روی را مهار می کند.^{۲۷} از آنجایی که ان استیل سیستئین اثر آنتی اکسیدانی دارد، می تواند سبب دفع کادمیوم از جایگاه های فعال مس و روی گردد و در نتیجه سطح این عناصر با دریافت ان استیل سیستئین افزایش میابد. پس از استفاده از دوزهای تک و پیوسته نتایج معنی داری حاصل شد با مصرف تک دوز ان استیل سیستئین التهاب ایجاد شده ناشی از تاثیر کادمیوم، کاهش یافت و مصرف ان استیل سیستئین با دوز پیوسته در گروه پیوسته کادمیوم سبب کاهش التهابات اطراف عروق و

در مطالعه حاضر دریافت کلرید کادمیوم با دوزهای تک و پیوسته، التهاب و افزایش ضخامت عروق ریوی و کاهش سطح سرمی و بافتی مس و روی را دنبال داشت. ان استیل سیستئین با اثر درمانی خود باعث کاهش صدمات بافتی و افزایش سطح سرمی مس و روی گردید. دو عنصر روی و مس از عناصر ضروری بدن می باشند. عنصر روی یک ماده ضروری و مورد نیاز در سیستم آنتی اکسیدانی، سنتز آنزیم ها و سیستم ایمنی بدن می باشد.^{۲۸} آلودگی ها و مسمومیت با فلزات سنگین مانند کادمیوم و سرب در کلان شهرها و استنشاق این عناصر از طریق هوا سبب اختلال در سیستم آنتی اکسیدانی و ایمنی بدن شده و کمبود عناصری مانند روی این فرصت را برای فلزات مضر ایجاد می کند. وجود یون مس در سیستم های بیولوژیکی و آنتی اکسیدانی و اریتروپوئیز در پستانداران ضروری می باشد.^{۲۹} مس به عنوان یک آنتی اکسیدان طبیعی بدن، رادیکال های آزاد را از بین می برد یا خنثی می کند و آسیب های ناشی از آن را کاهش میدهد. مس در متابولیسیم آهن و سیستم عصبی مرکزی و تولید نوروپپتیدها، تنظیم بیان ژن و سنتز ملانین نقش بسزایی دارد. حال اگر عناصر سنگینی چون کادمیوم وارد بدن شود می تواند با اثر رقابتی که با فلزات مفیدی مانند مس و روی دارد، آن ها را تحت تاثیر عوارض مخربش قرار دهد. در مطالعه مشابهی تیمار با کادمیوم به میزان ۰/۶ میلی گرم بر کیلوگرم انجام شد که منجر به کاهش معنی دار غلظت عنصر روی در بافت کورتیکال کلیه موش شد.^{۳۰} اندازه گیری سطح بافتی مس و روی در بافت کبد با کلرید کادمیوم نتایج این مطالعه را تایید می کند.^{۳۱}

Walter. C مطرح کرد که کادمیوم یک آلاینده محیطی نفروتوکسیک است که باعث اختلال عملکرد توبول پروگزیمال عمومی می شود. وی اثرات قرار گرفتن در معرض دوز پیوسته کادمیوم را با تزریق داخل صفاقی بررسی نمود. او نشان داد که سطح بافتی فلزات مس و روی در قشر کلیه موش کاهش یافته است.^{۳۲}

بررسی های مشابه نشان می دهد که کلرید کادمیوم از طریق تشکیل رادیکال های آزاد و افزایش پراکسیداسیون لیپیدی سبب کاهش سطوح روی و مس می گردد و صدمات سلولی زیادی را در

نتیجه گیری

در این مطالعه، تیمار با کلرید کادمیوم باعث تغییرات هیستولوپاتولوژیکی شدید در بافت ریه رت های نژاد ویستار از طریق افزایش التهاب سلولی و کاهش سطوح سرمی و بافتی مس و روی که عناصر آنتی اکسیدان می باشند گردید. با این حال تجویز همزمان ان استیل سیستئین در رت های تیمار شده با کلریدکادمیوم باعث ایجاد اثرات حفاظتی و بهبود بافت ریه شد. به نظر می رسد اثرات حفاظتی ان استیل سیستئین از طریق کاهش استرس اکسیدانیو و التهاب بافتی صورت می پذیرد. بنابراین تجویز همزمان ان استیل سیستئین به عنوان یک مکمل می تواند در رژیم غذایی افرادی که در معرض مسمویت ریوی با کلریدکادمیوم قرار دارند در نظر گرفته شود.

کاهش ضخامت عروق گردید. در مطالعه ای که توسط علیزاده بر روی کبد رت های مواجه شده با کادمیوم انجام شد. برای درمان از ان استیل سیستئین استفاده شد که با کاهش التهاب عروقی همراه بود^۲. کلریدکادمیوم در این مطالعه سبب کاهش سطح سرمی و بافتی مس و روی گردید. از آن جایی که کادمیوم پس از ورود به بدن و قرار گرفتن در جایگاه های فعال روی و مس، سبب کاهش عناصر مفید بدن می شود، جهت درمان از ان استیل سیستئین بخاطر داشتن گروه تیول و جذب کادمیوم به این گروه های تیول استفاده شد. پس از تکمیل دوره درمان در گروه تک دوز سطح سرمی روی افزایش معنی داری نداشت، اما در گروه پیوسته ان استیل سیستئین سبب افزایش سطح سرمی دو عنصر روی و مس شد. جعفرزاده در مطالعه اش پس از درمان رت ها با ان استیل سیستئین سطح بافتی مس و روی را در کبد و سرم اندازه گیری نمود و افزایش سطوح این دو عنصر را در سرم و بافت نشان داد^{۳۳}.

References

- Bernard A. Renal dysfunction induced by cadmium: biomarkers of critical effects. *Biometals* 2004;17(5): 519-23.
- Alizadeh B, Salehzadeh A, Ranji N, Arasteh A. Effects of N-acetyl cysteine on genes expression of c-myc, and Ask-1, Histopathological, oxidative stress, inflammation, and apoptosis in the liver of male rats exposed to cadmium. *Biological Trace Element Research* 2021: 1-8.
- Friberg LT, Elinder G-G, Kjellstrom T, Nordberg GF. Cadmium and health: A toxicological and epidemiological appraisal: Volume 2: Effects and response: CRC press; 2019.
- Yuan G, Dai S, Yin Z, et al. Toxicological assessment of combined lead and cadmium: acute and sub-chronic toxicity study in rats. *Food and chemical toxicology* 2014;65: 260-8.
- Vinceti M, Venturelli M, Sighinolfi C, et al. Case-control study of toenail cadmium and prostate cancer risk in Italy. *Science of the Total Environment* 2007;373(1): 77-81.
- Person RJ, Tokar EJ, Xu Y, et al. Chronic cadmium exposure in vitro induces cancer cell characteristics in human lung cells. *Toxicology and applied pharmacology* 2013;273(2): 281-8.
- Luevano J, Damodaran C. A review of molecular events of cadmium-induced carcinogenesis. *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology* 2014;33(3).
- Waisberg M, Joseph P, Hale B, Beyersmann D. Molecular and cellular mechanisms of cadmium carcinogenesis. *Toxicology* 2003;192(2-3): 95-117.
- Poljsak B, Šuput D, Milisav I. Achieving the balance between ROS and antioxidants: when to use the synthetic antioxidants. *Oxidative medicine and cellular longevity* 2013;2013.
- Sabolić I, Breljak D, Škarica M, Herak-Kramberger CM. Role of metallothionein in cadmium traffic and toxicity in kidneys and other mammalian organs. *Biometals* 2010;23(5): 897-926.
- Himeno S, Sumi D, Fujishiro H. Toxicometalomics of cadmium, manganese and arsenic with special reference to the roles of metal transporters. *Toxicological research* 2019;35(4): 311-7.
- Bavarsad Shahripour R, Harrigan MR, Alexandrov AV. N-acetylcysteine (NAC) in neurological disorders: mechanisms of action and therapeutic opportunities. *Brain and behavior* 2014;4(2): 108-22.
- Skvarc DR, Dean OM, Byrne LK, et al. The effect of N-acetylcysteine (NAC) on human cognition—A systematic review. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 2017;78: 44-56.

14. Minarini A, Ferrari S, Galletti M, et al. N-acetylcysteine in the treatment of psychiatric disorders: current status and future prospects. *Expert opinion on drug metabolism & toxicology* 2017;13(3): 279-92.
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).
16. Andjelkovic M, Buha Djordjevic A, Antonijevic E, et al. Toxic effect of acute cadmium and lead exposure in rat blood, liver, and kidney. *International journal of environmental research and public health* 2019;16(2): 274.
17. Oliveira LDd, Saad KR, Saad PF, et al. Effect of N-acetylcysteine in hearts of rats submitted to controlled hemorrhagic shock. *Brazilian Journal of Cardiovascular Surgery* 2015;30: 173-81.
18. Dickey DT, Muldoon LL, Doolittle ND, et al. Effect of N-acetylcysteine route of administration on chemoprotection against cisplatin-induced toxicity in rat models. *Cancer chemotherapy and pharmacology* 2008;62(2): 235-41.
19. Azarmehr Z, Ranji N, Koohpar ZK, Habibollahi H. The effect of N-Acetyl cysteine on the expression of Fxr (Nr1h4), LXR α (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): 2533-42.
20. Maret W, Sandstead HH. Zinc requirements and the risks and benefits of zinc supplementation. *Journal of trace elements in medicine and biology* 2006;20(1): 3-18.
21. Ames BN, Atamna H, Killilea DW. Mineral and vitamin deficiencies can accelerate the mitochondrial decay of aging. *Molecular aspects of medicine* 2005;26(4-5): 363-78.
22. Burtis C, Ashwood E. DE Bruns, editors. *Tietz fundamentals of clinical chemistry* Philadelphia: Saunders 2001: 1091.
23. Jaafarzadeh M, Ranji N, Aboutaleb E. The effect of N-acetylcysteine on the levels of copper, zinc and expression of matrix metalloproteinases in the liver of rats exposed to cadmium. *Polish Journal of Veterinary Sciences* 2021;24(2): 191-9.
24. Prozialeck WC, VanDreele A, Ackerman CD, et al. Evaluation of cystatin C as an early biomarker of cadmium nephrotoxicity in the rat. *Biometals* 2016;29(1): 131-46.
25. Lopez E, Arce C, Oset-Gasque M, et al. Cadmium induces reactive oxygen species generation and lipid peroxidation in cortical neurons in culture. *Free Radical Biology and Medicine* 2006;40(6): 940-51.
26. Napolitano JR, Liu M-J, Bao S, et al. Cadmium-mediated toxicity of lung epithelia is enhanced through NF- κ B-mediated transcriptional activation of the human zinc transporter ZIP8. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology* 2012;302(9): L909-L18.
27. 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): 751-62.

Armaghan Shirinsokhan¹,
Zeinab Khazaei
Koozpar^{2*}, Najmeh
Ranji¹, Fatemeh safari³

¹ Department of Biology,
Faculty of Sciences, Rasht
Branch, Islamic Azad
University, Rasht, Iran

² Department of Cellular and
Molecular Biology, Faculty of
Biological Sciences,
Tonekabon Branch, Islamic
Azad University, Tonekabon,
Iran.

³ Department of Biology,
Faculty of Sciences,
University of Guilan, Rasht,
Iran

The Effect of N-acetylcysteine on Zinc and Copper Concentrations in Blood and Lung Tissue of Male Wistar Rats Treated with Cadmium

Received: 31 Oct 2021; Accepted: 25 Dec 2021

Abstract

Background and Aim: Cadmium has similar chemical and physical properties to metals such as zinc and copper, can be transferred to cells via an ionic and molecular process, and disrupts cell biological functions and homeostasis. The aim of this study was to investigate the effect of cadmium chloride on serum and tissue levels of zinc and copper. Also, the protective role of N-acetylcysteine (NAC) in preventing cadmium-induced toxicity and tissue inflammation in the lung tissue of rats exposed to single-dose and continuous-dose cadmium.

Materials and Methods: 30 male Wistar rats were randomly divided into five groups of six in this interventional-experimental study. The control group only received regular water and food. The first group received a single dose treatment of 80 mg/kg of cadmium chloride on the first day of the study, while the second group received a continuous dose of 2.5 mg / kg of cadmium chloride every other day for 4 weeks. On the first day of the study, the third group received a single dose of 80 mg / kg cadmium chloride along with 50 mg / kg N-acetylcysteine. For four weeks, the fourth treatment group received a continuous dose of 2.5 mg of cadmium chloride along with 50 mg of N-acetylcysteine. Cadmium chloride and N-acetylcysteine were administered to the animals via gavage. At the end of the treatment period, blood samples from the heart were taken to determine the level of the elements. After anesthesia, lung tissue was removed from the chest and part of it was used for histological work, while the other part was used to measure element levels.

Results: Treatment with cadmium chloride showed a decrease in serum copper levels in the second treatment group compared to the control group (P-value <0.01). In addition, cadmium chloride treatment in the second treatment group compared to the control group caused a significant reduction in copper tissue level (P-value <0.001). Cadmium chloride treatment reduced serum zinc levels in the second treatment group compared to the control group (P-value <0.01). Tissue level of zinc in the second treatment group compared to the control showed a significant decrease (P-value <0.001). Simultaneous treatment of cadmium chloride and N-acetylcysteine in the fourth treatment group as a continuous dose compared to the second treatment group caused a significant increase in serum copper level (P-value <0.05). And copper tissue level in the fourth treatment group increased significantly compared to the second treatment group (P-value <0.001). Also, simultaneous treatment of cadmium chloride and N-acetylcysteine in the fourth treatment group showed that serum zinc level (P-value <0.05) and tissue level of zinc (P-value <0.01) were significantly higher than the second treatment group.

Conclusion: Continuous N-acetylcysteine administration reduces the toxicity of cadmium chloride in rats exposed to a continuous dose of cadmium chloride and improves serum and tissue copper and zinc levels.

Keywords: Cadmium, N-acetylcysteine, Copper, Zinc.

*Corresponding Author:

Department of Cellular and
Molecular Biology,
Faculty of Biological Sciences,
Tonekabon Branch, Islamic
Azad University, Tonekabon,
Iran

Tel: 01154271105
E-mail: khazaei@toniau.ac.ir