



بهبود استرس اکسیداتیو و عملکرد کلیوی در سمیت کلیوی ناشی از استات سرب در موش‌های صحرائی به‌دنبال مصرف آسکوربیک اسید

بهزاد گرمابی^۱، مسلم جعفری‌ثانی^۲، حسین خواستار^{۳*}

۱- دانشکده پزشکی - دانشگاه علوم پزشکی شاهرود - شاهرود - ایران.

۲- کمیته تحقیقات دانشجویی - دانشکده پزشکی - دانشگاه علوم پزشکی شاهرود - شاهرود - ایران.

۳- دانشکده پزشکی - دانشگاه علوم پزشکی شاهرود - شاهرود - ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۱/۰۶، تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۷/۰۶

چکیده

مقدمه: سرب یکی از فلزات سنگین می‌باشد که موجب سمیت در بافت‌های مختلف از جمله کلیه‌ها می‌گردد. هدف مطالعه حاضر بررسی اثرات محافظتی آسکوربیک اسید بر روی سمیت کلیوی ناشی از سرب می‌باشد.

مواد و روش‌ها: تعداد ۲۴ سر رت نر با وزن ۲۵۰-۲۰۰ گرم از نژاد ویستار به شکل تصادفی به سه گروه تقسیم شدند: ۱- گروه کنترل که آب آشامیدنی معمولی مصرف کردند، ۲- گروه تیمار با استات سرب که با دوز ۶۰۰ mg/liter استات سرب در آب آشامیدنی دریافت کردند و ۳- گروه تیمار با استات سرب و آسکوربیک اسید که علاوه بر استات سرب مقدار ۱ gr/liter آسکوربیک اسید نیز در آب آشامیدنی دریافت کردند. پس از این هشت هفته تیمار، موش‌ها کاملاً بی‌هوش شده و نمونه خون و بافت کلیه جمع‌آوری گردید.

نتایج: استات سرب موجب افزایش BUN و کراتینین پلاسما نسبت به گروه کنترل گردید. همچنین در گروه استات سرب مالون دی‌آلدهید (MDA) بافت کلیه افزایش و غلظت گلوکاتینون توتال (GSH) کاهش یافت. در گروه تیمار با استات سرب و آسکوربیک اسید، BUN و کراتینین پلاسما و MDA بافت کلیه نسبت به گروه استات سرب کاهش و غلظت GSH/افزایش معنی‌دار نشان داد.

نتیجه‌گیری: باتوجه به داده‌های این پژوهش، مصرف آسکوربیک اسید خوراکی موجب کاهش آسیب عملکردی و استرس اکسیداتیو بافت کلیه به‌دنبال سمیت با سرب می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: استات سرب، آسکوربیک اسید، سمیت کلیوی، استرس اکسیداتیو.

نویسنده مسئول: شاهرود- میدان هفت تیر- دانشگاه علوم پزشکی - دانشکده پزشکی. تلفن: ۰۲۲۳۲۳۹۵۰۵۴، نمابر: ۰۲۲۳۲۳۹۵۰۵۴، Email: h_khastar@yahoo.com

ارجاع: گرمابی بهزاد، جعفری‌ثانی مسلم، خواستار حسین. بهبود استرس اکسیداتیو و عملکرد کلیوی در سمیت کلیوی ناشی از استات سرب در موش‌های صحرائی به‌دنبال مصرف آسکوربیک اسید. مجله دانش و تندرستی در علوم پایه پزشکی ۱۳۹۸؛ ۱۴(۲): ۳۳-۳۷.

مقدمه

برخی فلزات سنگین مانند آهن، کبالت، مس، منگنز، مولیبدن و روی در بدن انسان نقش فیزیولوژیک دارند اما برخی دیگر مانند سرب، کادمیوم و آرسنیک نه تنها نقش فیزیولوژیک شناخته شده ای ندارند بلکه تجمع این فلزات در بخش‌های مختلف بدن مسمومیت ایجاد می‌کند (۱). سرب یک فلز غیر فیزیولوژیک، نرم، به‌رنگ سبز-آبی و سنگین با عدد اتمی ۸۲ و وزن مولکولی ۲۰۷/۲ است که به‌طور وسیع در طبیعت توزیع شده است (۲). در فرآیند هضم و جذب، یون سرب از طریق سیستم انتقال فلزات دوظرفیتی همراه با آهن و کلسیم به سلول‌های اپیتلیال روده کوچک وارد می‌شود. این سیستم انتقالی در غشاء گلبول‌های قرمز، سلول‌های کبدی و سلول‌های لوله پروکسیمال نفرون‌ها هم وجود دارد. در صورت کمبود آهن در رژیم غذایی جذب سرب از طریق این سیستم افزایش می‌یابد. با این حال این سیستم تنها مسیر جذب سرب نیست زیرا در محیط کشت سلول‌هایی که فاقد این سیستم هستند باز هم سرب را جذب می‌کنند (۱). سرب پس از جذب سلولی چه از طریق دستگاه گوارش و چه از طریق سیستم تنفسی وارد خون می‌شود و ۹۹٪ آن به پروتئین‌های موجود در گلبول‌های قرمز متصل شده و سپس بین اندام‌های مختلف توزیع می‌شود. محل اصلی تجمع سرب در استخوان‌ها است که همراه با کلسیم در ماتریکس معدنی رسوب می‌کند. کلیه‌ها، سیستم عصبی و کبد سایر اندام‌های پذیرنده سرب هستند (۳). سرب جذب شده ابتدا در کبد کونژوگه شده و سپس به کلیه منتقل می‌شود و مقداری سرب هم در ادرار ترشح می‌شود. در واقع راه اصلی دفع سرب از بدن ادرار است. باقیمانده سرب در بدن بر ارگان‌های مختلف اثر گذاشته و تأثیرات زیادی در فعالیت‌های فیزیولوژیک در سطح مولکولی، سلولی و درون سلولی دارد که نتایج حاصل از این تغییرات مورفولوژیک می‌تواند حتی بعد از کاهش سطح سرب هم باقی بماند (۴).

از آنجا که میزان خونی که در واحد زمان به کلیه می‌رسد به نسبت وزن این اندام بسیار زیاد است، کلیه در مقابل عوامل سمی موجود در خون بسیار حساس است. گزارش‌های متعددی نیز در مورد آثار نفروتوکسیک سرب بر روی کلیه‌ها در دسترس است. مسمومیت حاد با سرب اثر مشخصی بر روی کلیه به‌جا نمی‌گذارد اما بروز نارسایی کلیوی از مهمترین عوارض کلیوی مسمومیت مزمن با سرب محسوب می‌شود که با نقرس و فشار خون بالا مشخص می‌شود. وارد شدن گلوکز و اسیدهای آمینه به ادرار و افزایش فسفات ادرار نیز از سایر عوارض کلیوی مسمومیت با سرب است که به‌واسطه اثر این فلز بر روی توبول پروگزیمال بروز می‌کند (۵ و ۶).

یکی از مکانیسم‌های دخیل در آثار سمی سرب در بدن جانوران تغییراتی است که در خواص بیوفیزیک غشاء اعمال می‌کند و به این

ترتیب باعث بروز استرس اکسیداتیو می‌شود (۷). سرب توانایی به اشتراک‌گذاری الکترون و در نتیجه ایجاد پیوند کوالانسی را دارد. این پیوند بین سرب گروه‌های سولفیدهدریل موجود در آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان رخ می‌دهد، در واقع سرب از طریق تشکیل پیوند با گروه‌های سولفیدهدریل، گلوکاتایون را غیرفعال می‌کند و از سنتز GSH از سیستمین از طریق چرخه Y-glutamyl جلوگیری می‌کند. از دیگر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی که از طریق سرب غیرفعال می‌شوند می‌توان SOD (Super oxid dismutase) و CAT (catalase) را نام برد (۸). ویتامین ث یا آسکوربیک اسید یکی از آنتی‌اکسیدان‌های محلول در آب است که موجب رفتگری رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌گردد. این ویتامین موجب خنثی کردن هیدروکسیل، سوپراکسید و پراکسید هیدروژن گردیده و همچنین از پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی و آسیب به زنجیره DNA جلوگیری می‌کند (۹).

در این تحقیق که با شروع تیمار بر روی موش‌های نر جوان آغاز شده و تا هشت هفته ادامه داشته تغییرات بافتی کلیه در موش‌های نابالغ در شرایط مسمومیت با سرب و تیمار با آسکوربیک اسید مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق از تعداد ۲۴ سر رت نر با وزن ۲۵۰-۲۰۰ گرم از نژاد ویستار استفاده شد. حیوانات در شرایط ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی در دمای 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. حیوانات به شکل تصادفی به سه گروه تقسیم شدند: ۱- گروه کنترل که آب آشامیدنی معمولی مصرف کردند، ۲- گروه تیمار با استات سرب که با دوز 600 mg/liter استات سرب در آب آشامیدنی مصرف کردند و ۳- گروه تیمار با استات سرب و آسکوربیک اسید که علاوه بر استات سرب مقدار 1 gr/liter آسکوربیک اسید نیز در آب آشامیدنی دریافت کردند. همه حیوانات به غذا دسترسی آزادانه داشتند. این تیمارها به مدت ۸ هفته ادامه یافت. پس از این مدت موش‌ها کاملاً بی‌هوش شده و نمونه خون و بافت کلیه جمع‌آوری گردید. در نمونه‌های خون که با روش خونگیری از قلب جمع‌آوری گردید میزان BUN و کراتینین پلاسما با کیت‌های آزمایشگاهی مورد سنجش قرار گرفت.

نتایج

مصرف استات سرب موجب افزایش BUN و کراتینین (Cr) پلاسما نسبت به گروه کنترل گردید (جدول ۱). همچنین مصرف استات سرب موجب افزایش مالون دی‌آلدید و کاهش گلوکاتایون بافت کلیه گردید (جدول ۲).

مصرف آسکوربیک اسید به همراه استات سرب موجب بهبود آسیب عملکرد کلیوی گردید. BUN و کراتینین در گروه استات سرب +

آسیب توپول‌های کلیوی و آپوپتوز مشاهده گردید. تولید متابولیت‌های فعال اکسیژن و التهاب نیز در این حیوانات افزایش یافت (۱۳).

محققان در سال ۲۰۱۸ نشان دادند که آلودگی با سرب موجب ایجاد استرس اکسیداتیو کلیه و بیضه می‌گردد. آنها میزان سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون، کاتالاز و مالون دی‌آلدید را در این بافت‌ها بررسی نمودند. همچنین شاخص‌های عملکرد کلیوی نیز نقص در عملکرد کلیه‌ها را نشان داد. همچنین فیروز کلیوی نیز به دنبال سمیت با سرب مشاهده گردید (۱۴).

در مطالعه ما مصرف آسکوربیک اسید تا حدی موجب بهبود اثرات سرب در کلیه‌ها گردید. میزان BUN و کراتینین پلاسما نسبت به گروه سرب کاهش معنی‌داری نشان داد اگرچه هنوز با گروه کنترل نیز تفاوت داشت. همچنین بررسی‌های بافتی نیز نشان داد که آسکوربیک اسید با کاهش میزان مالون دی‌آلدید و افزایش گلوتاتیون بافت کلیه موجب کاهش استرس اکسیداتیو در بافت کلیه شده است.

آسکوربیک اسید یک آنتی‌اکسیدان قوی می‌باشد که موجب کاهش استرس اکسیداتیو در بافت‌ها و بهبود آنتی‌اکسیدان‌های بافتی در ارگان‌هایی مانند کلیه، کبد و مغز می‌گردد (۱۵). در سال ۲۰۱۹ کانگ و همکاران در مطالعه خود نشان دادند که آسکوربیک اسید با کاهش استرس اکسیداتیو و آپوپتوز در سلول‌ها موجب آنتاگونیسم کردن آسیب ناشی از نانوپارسیکل‌های نیکل در بافت بیضه می‌شود (۱۶). یان و همکاران در مطالعه خود بر روی موش‌های سوری مبتلابه کولیت اولسراتیو دریافتند که آسکوربیک اسید موجب کاهش استرس اکسیداتیو و واکنش‌های التهابی در بافت روده می‌گردد. آنها برای اندازه‌گیری استرس اکسیداتیو از سنجش مالون دی‌آلدید، گلوتاتیون، سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز استفاده نمودند (۱۷). در پژوهشی که دلرایی و همکاران در سال ۲۰۱۹ انجام دادند دریافتند که به دنبال استرس اکسیداتیو و اختلال در حافظه که در موش‌های سوری یائسه رخ می‌دهد مصرف خوراکی آسکوربیک اسید موجب بهبود وضعیت استرس اکسیداتیو و فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز (BDNF) در بافت مغز می‌گردد (۱۸).

باتوجه به داده‌های این پژوهش، مصرف آسکوربیک اسید خوراکی موجب کاهش آسیب عملکردی و بهبود استرس اکسیداتیو کلیه‌ها به دنبال سمیت با استات سرب می‌گردد.

References

- Sabath E, Robles-Osorio ML. Renal health and the environment: heavy metal nephrotoxicity. *Nefrologia* 2012;32:279-86. doi: 10.3265/Nefrologia.pre2012.Jan.10928.
- Gordon J, Taylor A, Bennett P. Lead poisoning: case studies. *British Journal of Clinical Pharmacology* 2002;53:451-8. doi: 10.1046/j.1365-2125.2002.01580.x

آسکوربیک اسید کاهش معنی‌داری نسبت به گروه استات سرب نشان داد (جدول ۱).

همچنین میزان مالون دی‌آلدید در گروه درمان با آسکوربیک اسید کاهش معنی‌دار نسبت به گروه استات سرب داشت و گلوتاتیون نیز در گروه درمان افزایش معنی‌دار نسبت به گروه استات سرب نشان داد (جدول ۲).

جدول ۱- مقایسه غلظت پلاسمایی BUN و کراتینین (Cr) در گروه‌ها

BUN	Cr	
۱۵/۴۲±۱/۱۹	۰/۲۴±۰/۰۸	گروه کنترل
۴۶/۱۹±۴/۰۸*	۰/۴۴±۰/۰۹*	گروه استات سرب
۳۱/۰۹±۴/۱۱**	۰/۳۰±۰/۰۹**	گروه استات سرب+ آسکوربیک اسید

* P<۰/۰۱ اختلاف معنی‌دار را نسبت به گروه کنترل در سطح P<۰/۰۱ نشان می‌دهد. ** اختلاف معنی‌دار را نسبت به گروه استات سرب در سطح P<۰/۰۵ نشان می‌دهد.

جدول ۲- تغییرات شاخص‌های استرس اکسیداتیو بافت کلیه در گروه‌های مختلف

GSH	MDA	
۱,۲۱ ± ۲۶,۵	۰/۶۰ ± ۰/۰۶	گروه کنترل
۱۶/۳۰ ± ۰/۸۸	۱/۱۲ ± ۰/۱۵*	گروه استات سرب
۲۲/۰۹ ± ۱/۱۱**	۰/۸۹ ± ۰/۱۱**	گروه استات سرب+ آسکوربیک اسید

* اختلاف معنی‌دار را نسبت به گروه کنترل در سطح P<۰/۰۱ نشان می‌دهد. ** اختلاف معنی‌دار را نسبت به گروه استات سرب در سطح P<۰/۰۵ نشان می‌دهد.

بحث

سرب یکی از فلزات سنگین می‌باشد که موارد استعمال بسیار دارد. سرب چه به صورت غبار و چه به صورت نمک‌های مختلف، از طریق دودکش کارخانه‌های مختلف و اتومبیل وارد هوا می‌گردد. با همه این احوال خطرناک‌ترین و وسیع‌ترین مرکز پخش این ماده سمی از محیط زیست، اتومبیل است. انسان‌ها، حیوانات و گیاهان سرب را به صورت مختلف به بدن خود راه می‌دهند. سرب می‌تواند از طریق آب‌های آلوده وارد نتایج آب‌های نوشیدنی گشته، از طریق دودکش کارخانه‌ها و آگزوز اتومبیل‌ها وارد هوا و بالاخره وارد ریه گردد و یا وارد مواد غذایی می‌شود (۱۰-۱۲).

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که مسمومیت مزمن با سرب باعث افزایش BUN و کراتینین پلاسما می‌شود که بیانگر اختلال عملکرد کلیوی به دنبال مصرف سرب می‌باشد. همچنین کاهش گلوتاتیون و افزایش مالون دی‌آلدید بیانگر ایجاد استرس اکسیداتیو در بافت کلیه به دنبال مصرف استات سرب می‌باشد.

وانگ و همکاران در سال ۲۰۱۶ نشان دادند که مسمومیت با سرب از طریق آب آشامیدنی موجب اختلال در عملکرد کلیه موش‌های صحرایی می‌شود. میزان اوره و کراتینین پلاسما به دنبال مصرف سرب افزایش قابل ملاحظه‌ای داشته است. همچنین در بررسی‌های بافت‌شناسی نیز

3. Ekong EB, Jaar B, Weaver V. Lead-related nephrotoxicity: a review of the epidemiologic evidence. *Kidney International* 2006;70:2074-84. doi:10.1038/sj.ki.5001809
4. Jarrar BM. Histological and histochemical alterations in the kidney induced by lead. *Annals of Saudi Medicine* 2003;23:10-5. doi: 10.5144/0256-4947.2003.10
5. Flora G, Gupta D, Tiwari A. Toxicity of lead: a review with recent updates. *Interdisciplinary toxicology* 2012;5:47-58. doi: 10.2478/v10102-012-0009-2
6. Flora SJ, Pande M, Mehta A. Beneficial effect of combined administration of some naturally occurring antioxidants (vitamins) and thiol chelators in the treatment of chronic lead intoxication. *Chemico-Biological Interactions* 2003;145:267-80. doi:10.1016/s0009-2797(03)00025-5
7. Verstraeten SV, Aimo L, Oteiza PI. Aluminium and lead: molecular mechanisms of brain toxicity. *Archives of toxicology* 2008;82:789-802. doi: 10.1007/s00204-008-0345-3
8. Flora SJ. Structural, chemical and biological aspects of antioxidants for strategies against metal and metalloid exposure. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2009;2:191-206. doi: 10.4161/oxim.2.4.9112
9. Kobori Y, Ota S, Sato R, Yagi H, Soh S, Arai G, et al. Antioxidant cosupplementation therapy with vitamin C, vitamin E, and coenzyme Q10 in patients with oligoasthenozoospermia. *Archivio Italiano di Urologia e Andrologia* 2014;86:1-4.
10. Harvey P, Handley H, Taylor M. Widespread copper and lead contamination of household drinking water, New South Wales, Australia. *Environmental Research* 2016;151:275-85.
11. Laidlaw MA, Filippelli GM, Brown S, Paz-Ferreiro J, Reichman SM, Netherway P, et al. Case studies and evidence-based approaches to addressing urban soil lead contamination. *Applied Geochemistry* 2017;83:14-30.
12. Tirima S, Bartrem C, von Lindern I, von Braun M, Lind D, Anka SM, et al. Food contamination as a pathway for lead exposure in children during the 2010-2013 lead poisoning epidemic in Zamfara, Nigeria. *Journal of Environmental Sciences* 2018;67:260-72.
13. Wang H, Li D, Hu Z, Zhao S, Zheng Z, Li W. Protective effects of green tea polyphenol against renal injury through ROS-mediated JNK-MAPK pathway in lead exposed rats. *Molecules and cells* 2016;39:508. doi:10.14348/molcells.2016.2170
14. BaSalamah MA, Abdelghany AH, El-Boshy M, Ahmad J, Idris S, Refaat B. Vitamin D alleviates lead induced renal and testicular injuries by immunomodulatory and antioxidant mechanisms in rats. *Scientific reports* 2018;8:4853. doi:10.14348/molcells.2016.2170
15. HOUNKPATIN AS, Roch C, SENOU M, DOVONON L, Chibuisi G, ALIMBA SG, et al. Protective effects of vitamin C on kidney, liver and brain: a study in wistar rats intoxicated with mercury. 2017.
16. Kong L, Hu W, Lu C, Cheng K, Tang M. Mechanisms underlying nickel nanoparticle induced reproductive toxicity and chemo-protective effects of vitamin C in male rats. *Chemosphere* 2019;218:259-65. doi: 10.1016/j.chemosphere.2018.11.128
17. Yan H, Wang H, Zhang X, Li X, Yu J. Ascorbic acid ameliorates oxidative stress and inflammation in dextran sulfate sodium-induced ulcerative colitis in mice. *International journal of clinical and experimental medicine* 2015;8:20245.
18. Delrobaei F, Fatemi I, Shamsizadeh A, Allahtavakoli M. Ascorbic acid attenuates cognitive impairment and brain oxidative stress in ovariectomized mice. *Pharmacological Reports* 2019;71:133-8. doi:10.1016/j.pharep.2018.10.001



Improvement of Renal Oxidative Stress and Function in Lead Acetate-Induced Renal Toxicity in Rats Followed by Ascorbic Acid Consumption

Behzad Garmabi (Ph.D.)¹, Moslem Jafarisani (Ph.D.)², Hossein Khastar (Ph.D.)^{3*}

1- School of Medicine, Shahroud University of Medical Sciences, Shahroud, Iran.

2- Student Research Committee, School of Medicine, Shahroud University of Medical Sciences, Shahroud, Iran.

3- School of Medicine, Shahroud University of Medical Sciences, Shahroud, Iran.

Received: 26 January 2019, Accepted: 28 September 2019

Abstract:

Introduction: Lead is a heavy metal that causes toxicity in various tissues, including kidneys. The aim of this study was to evaluate the protective effects of ascorbic acid on lead-induced renal toxicity.

Methods: 24 rats were divided into three groups: 1- Control group that consumed normal water, 2- Lead acetate group (mg/liter 500) in drinking water and 3- Lead acetate + Ascorbic acid group (1 gr/liter). After 8 weeks, the rats were completely anesthetized and blood and kidney tissues were collected.

Results: Lead acetate caused increase in BUN and creatinine compared to control group. In addition, in Lead acetate group malondialdehyde (MDA) was elevated and glutathione (GSH) was decreased in renal tissues. In Lead acetate + Ascorbic acid group, MDA was decreased and GSH was increased in contrast to Lead acetate group.

Conclusion: According to this data, oral ascorbic acid consumption reduces the renal functional injury and oxidative stress following lead toxicity.

Keywords: Lead acetate, Ascorbic acid, Renal toxicity, Oxidative stress.

Conflict of Interest: No

*Corresponding author: H. Khastar, Email: h_khastar@yahoo.com

Citation: Garmabi B, Jafarisani M, Khastar H. Improvement of renal oxidative stress and function in lead acetate-induced renal toxicity in rats followed by ascorbic acid consumption. Journal of Knowledge & Health in Basic Medical Sciences 2019;14(2):33-37.