

مقایسه اثرات تجویز خوراکی دی‌پنیسیلامین و عصاره الکلی گیاه خار مریم بر میزان سرب عضلات سینه و ران اردک نژاد Pekin

- حامد زارعی*: گروه فیزیولوژی، دانشکده علوم و فناوری‌های نوین، واحد علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
- صدراله دولت: گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، واحد گرمسار، دانشگاه آزاد اسلامی، گرمسار، ایران

تاریخ دریافت: تیر ۱۳۹۹ تاریخ پذیرش: مهر ۱۳۹۹

چکیده

اردک‌ها با توجه به رفتار کنجکاوانه مخصوص به‌خود و نحوه تغذیه‌شان که شامل لجن‌ها و مواد و اشیاء باقی‌مانده در حاشیه رودخانه‌ها و مرداب‌ها است در معرض ابتلاء به فرم مزمن مسمومیت با سرب هستند. بنابراین هدف از این تحقیق بررسی مقایسه اثر دی‌پنیسیلامین و سیلی‌مارین بر باقی‌مانده سرب در عضلات اردک‌های تحت تاثیر سرب می‌باشد. به‌منظور بررسی اثر دی‌پنیسیلامین و سیلی‌مارین بر میزان سرب در عضلات ران و سینه اردک‌های تحت تاثیر سرب، تعداد ۱۲۰ قطعه اردک یک‌روزه نژاد Pekin به ۴ گروه ۳۰ قطعه‌ای در سه تکرار شامل گروه ۱: دریافت کننده جیره پایه در کل دوره آزمایش (گروه شاهد)، گروه ۲: دریافت کننده جیره پایه + نیترات سرب با دوز ۴۰ میلی‌گرم/کیلوگرم (گروه کنترل)، گروه ۳: دریافت کننده جیره پایه + نیترات سرب با دوز ۴۰ میلی‌گرم/کیلوگرم + دی‌پنیسیلامین با دوز ۲۰ میلی‌گرم/کیلوگرم (گروه درمان دی‌پنیسیلامین)، گروه ۴: دریافت کننده جیره پایه + نیترات سرب با دوز ۴۰ میلی‌گرم/کیلوگرم + عصاره الکلی خار مریم با دوز ۳۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم (گروه درمان سیلی‌مارین) تقسیم‌بندی گردیدند و به‌مدت ۶۰ روز پرورش یافتند. پس از پایان دوره پرورش و کشتار اردک‌ها مطابق پروتکل‌های اخلاقی نمونه‌گیری از عضلات سینه و ران در هر قطعه کشتار شده اخذ (از هر پن ۵ قطعه) و غلظت سرب هر نمونه توسط دستگاه اسپکترومتری جذب اتمی به‌روش کوره اندازه‌گیری گردید. با توجه به نتایج به‌دست آمده در تحقیق حاضر دی‌پنیسیلامین و سیلی‌مارین با خاصیت آنتی‌اکسیدان خود توانستند به‌طور معنی‌داری $p < 0/05$ میزان سرب باقی‌مانده در عضلات ران و سینه کاهش دهند. با این‌حال اثر عصاره الکلی خار مریم نسبت به پنیسیلامین قوی‌تر بود و مقدار سرب موجود در عضله ران تحت درمان با عصاره خار مریم در مقایسه با عضله سینه اندکی کم‌تر بود و می‌توان به‌عنوان داروی موثر در کاهش فلزات سنگین پیشنهاد گردد.

کلمات کلیدی: دی‌پنیسیلامین، سرب، سیلی‌مارین، اسپکترومتری جذب اتمی، اردک نژاد Pekin



مقدمه

سرب بعد از جیوه، دومین فلز سنگین خطرناک است که طی سال‌های گذشته به علت استفاده زیاد از این فلز در صنایع بنزین، صنعت رنگ‌ها، صنعت کشاورزی، صنعت باتری‌سازی، هم‌چنین لوازم آرایشی و سایر صنایع به‌طور گسترده در محیط انتشار یافته است و از طریق آلودگی آب و مواد غذایی، انسان و حیوان را به مسمومیت با این فلز مبتلا می‌کند (Tuormaa, ۱۹۹۵). با افزایش روزافزون جمعیت جهان و افزایش نیاز به منابع پروتئینی، پروتئین‌های حیوانی، به‌عنوان یک منبع تأمین‌کننده پروتئین مورد توجه قرار گرفته است. اردک‌ها از جمله نژاد Pekin از طریق برآوردن نیاز گوشت و تخم اردک برای جامعه نقش مهمی در کمک به بهبود تغذیه دارند. منشأ این نژاد کشور چین است و اولین بار در سال ۱۸۷۳ به‌عنوان یک نژاد مشخص معرفی شده است و در حال حاضر بیش‌تر مزارع پرورش اردک گوشتی در آمریکا از این نژاد استفاده می‌کنند. آب نقش مهمی در زندگی حیوانات به ویژه اردک‌ها ایفا می‌کند. هم‌چنین محل آلودگی از ضایعات صنعتی به‌طور مستقیم یا غیرمستقیم است. به‌خاطر زیستگاه اصیل‌شان، اردک‌ها آسان‌تر از مرغ‌ها تحت تاثیر آلودگی قرار می‌گیرند. بسیاری از مشکلاتی که در این زمینه اردک‌ها با آن روبرو هستند این است که آن‌ها به‌طور وسیع نگهداری می‌شوند و به همین خاطر با فلزهای سنگین هم‌چون سرب روبرو می‌شوند. نتیجه این آلودگی تاثیرات مستقیمی روی اردک‌ها می‌گذارد و به‌طور غیرمستقیم می‌تواند برای مصرف‌کنندگانی که از فرآورده‌ها و محصولات اردک استفاده می‌کنند کشنده باشد (Kamil و همکاران، ۲۰۱۱؛ Ferreyra و Romano، ۲۰۰۹). سرب از طریق غذا و آب آشامیدنی جذب می‌شود. هم‌چنین می‌تواند از راه هوا استنشاق شود و مستقیماً از طریق پوست نفوذ کند (Kamil و همکاران، ۲۰۱۱). اردک‌ها با توجه به رفتار کنجکاوانه مخصوص به خود و شکل تغذیه‌شان که شامل لجن‌ها و مواد و اشیاء باقی‌مانده در حاشیه رودخانه‌ها و مرداب‌هاست در معرض ابتلاء به فرم‌مزم مسمومیت با این فلز سنگین هستند، از آن‌جایی که ضایعات و فاضلاب کارخانه‌ها، مواد سوختی، رنگ‌های ساختمانی و غیره به رودخانه‌ها راه می‌یابند احتمال این مسمومیت و باقی‌ماندن این فلز در عضلات و استخوان‌های این پرندگان بسیار زیاد است و گوشت این پرندگان مانند ماهی‌ها یکی از منابع ورود این فلز به بدن انسان‌های مصرف‌کننده از گوشت آن‌هاست و از این نظر در بهداشت عمومی موثر است (Kamil و همکاران، ۲۰۱۱؛ Ferreyra و Romano، ۲۰۰۹). افزایش التهاب و اکسیداسیون، اختلال در مسیرهای سیگنال‌دهی نیتريت‌اکساید، تغییر سیستم‌های اصلی تنظیم‌کننده عروق، آسیب به پوشش آندوتلیال و جلوگیری از انحلال و شکسته شدن فیبرین، می‌تواند منجر به ایجاد

عارضه توسط سرب گردد (Navas- Acien, ۲۰۰۷). پنسیلامین یک سولفور آمینواسید است که از پنسیلین و به‌وسیله هیدرولیز و باز شدن حلقه لاکتونی به دست می‌آید. این ماده ترکیبی مؤثر برای شلاته کردن فلزات سنگین مانند نقره، مس، روی، سرب و جیوه می‌باشد. هم‌چنین این ماده ترکیب مؤثری برای جلوگیری از فرایند ارتباط متقاطع کلاژن و الاستین است (علیشاهی و همکاران، ۱۳۹۷). خارمریم با نام علمی *Silybum marianum* گیاهی است دو ساله از خانواده کمپوزیته به ارتفاع دو متر که به حالت خودرو در کنار جاده‌ها و اراضی متروک در مناطق شمالی ایران می‌روید. میوه این گیاه در پیشگیری و درمان آسیب‌های توکسیک - متابولیک کبد ناشی از مواد مختلف و نیز در درمان هپاتیت حاد از اهمیت خاصی برخوردار است. مواد مؤثره این گیاه از ایزومرهای سیلیبین، سیلی دینین و سیلی کریستین تشکیل شده است که غالباً سیلیمارین نامیده می‌شوند (حقی و پیرعلی، ۱۳۸۲). دی‌پنسیلامین و سیلی‌مارین به عنوان داروهای آنتی‌اکسیدان اثرات مثبتی در کاهش عوارض ناشی از مسمومیت با سرب داشته است. تاکنون مطالعات زیادی در خصوص اثرات آنتی‌اکسیدانی این داروها انجام شده که نشان‌دهنده خصوصیات جمع‌کنندگی رادیکال‌های آزاد است و این خصوصیت می‌تواند در درمان مسمومیت‌های مزمن ناشی از فلزات سنگین و رسوب این فلز در عضلات جلوگیری نماید (Golalipour و همکاران، ۲۰۰۷؛ Lyle, ۱۹۸۱). ابراهیمی و همکاران (۱۳۹۲) دریافتند سیلی‌مارین در شرایط بروز تنش اکسیداتیو القایی توسط سرب دارای نقش حفاظتی می‌باشد و با تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی موجب بهبود عملکرد پرند می‌گردد (ابراهیمی و همکاران، ۱۳۹۲) هم‌چنین علیشاهی و همکاران (۱۳۹۷)، اثر پنسیلامین و EDTA را بر سمیت نانوذرات نقره در ماهی شیربت بررسی نمودند این محققان دریافتند که تجویز خوراکی این دو ماده برای پیشگیری و درمان مسمومیت با نانوذرات نقره در ماهی قابل استفاده بوده و کارایی پنسیلامین بیش‌تر از EDTA می‌باشد (علیشاهی و همکاران، ۱۳۹۷). هدف از این مطالعه بررسی اثرگذاری این دارو در درمان مسمومیت با سرب و کاهش میزان سرب موجود در عضلات ران و سینه اردک که مورد مصرف غذایی انسان قرار می‌گیرد می‌باشد.

مواد و روش‌ها

ابتدا بذره‌های گیاه خارمریم بومی و کشت شده به مدت ۲۴ ساعت در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس با آسیاب به‌صورت کامل پودر گردید و پودر حاصل از الک با مش ۴۵ عبور داده شد. ۱۰ گرم از پودر حاصل درون انگشتی ریخته و در سوکسله با اتر دوتپترول

عنوان شده است. پارامترها برای این روش مشتمل بر پخش اتمی گذاختن برقی است. میزان سرب pb به میکروگرم در هر کیلوگرم فرآورده دریافتی بیان می‌شود. هضم رطوبت مواد آلی نمونه با تزریق بخشی از نمونه هضم شده در حضور ترکیب اصلاح کننده به داخل کوره پخش کننده اتمی با پردازش الکتریکی در دستگاه اسپکترومتری با رایش اتمی ایجاد گردید. اندازه‌گیری رایش در طول موج ۲۸۳/۳ نانومتر و تعیین غلظت سرب در نمونه به وسیله منحنی سنجابی محاسبه گردید (کبیری فرد و همکاران، ۱۳۹۱). قبل از آزمایش برای جلوگیری از آزمون‌هایی که زیاده‌تر از حد واقعی به دست می‌آید باید آلودگی وسایل شیشه‌ای را به کمک اسیدنیتریک زدود و از آلودگی خارجی در جا به جایی فضای آزمایشگاه جلوگیری کرد.

روش تجزیه و تحلیل اطلاعات: داده‌های به دست آمده در برنامه آماری SPSS نسخه ۲۲ با استفاده از روش One Way Anova در بین گروه‌های درمانی، شاهد و کنترل مورد ارزیابی قرار گرفت. در مواردی که احتمال کم‌تر از ۰/۰۵ (p < ۰/۰۵) شد، اختلاف از نظر آماری معنی‌دار تلقی گردید. کلیه نتایج به صورت میانگین ± خطای معیار از میانگین درج شد.

نتیجه

با توجه به نتایج جدول ۱، میزان سرب باقی‌مانده در عضله ران اردک در گروه‌های درمانی دی‌پنیسیلامین و سیلی‌مارین نسبت به گروه کنترل به طور معنی‌داری کاهش یافته است (p < ۰/۰۵). با این حال میان گروه‌های شاهد و درمان اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (p > ۰/۰۵).

جدول ۱: مقایسه میانگین ± خطای معیار از میانگین میزان سرب میکروگرم/کیلوگرم عضله ران اردک بین گروه‌های کنترل، شاهد و درمانی

عضله ران اردک	نوع نمونه	سن	گروه	(Mean ± SEM)
			شاهد	۰/۰۰۰ ± ۰/۰۰۰ b
		۶۰	کنترل	۴/۴۴۵ ± ۲/۷۳۹ a
		روزگی	درمان دی‌پنیسیلامین	۱/۵۸۶ ± ۰/۰۷۰ b
			درمان سیلی‌مارین	۱/۴۹۵ ± ۰/۱۸۵ b

(a, b) حروف غیرمتشابه نشانه اختلاف معنی‌دار در بین گروه‌ها در یک ستون می‌باشد (p < ۰/۰۵).

با توجه به نتایج جدول ۲ میزان سرب باقی‌مانده در عضله سینه اردک در گروه درمانی دی‌پنیسیلامین و سیلی‌مارین نسبت به گروه کنترل به طور معنی‌داری کاهش یافته است (p < ۰/۰۵). با این حال میان گروه‌های شاهد و درمان اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (p > ۰/۰۵).

به مدت ۱۲ ساعت روغن‌گیری شد. سپس، پودرهای فاقد چربی به مدت ۳۰ دقیقه به وسیله استونیتریل متانول، استون، اتانول و اتیلاستات در حمام اولتراسوند عصاره‌گیری شدند. عصاره‌های به دست آمده در خلا تغلیظ خشک گردیدند (ضیایی و همکاران، ۱۳۸۳).

پرورش اردک: تعداد ۱۲۰ قطعه اردک یک‌روزه نژاد Pekin به ۴ گروه ۳۰ قطعه‌ای در سه تکرار به شرح زیر تقسیم‌بندی گردید:

گروه ۱: دریافت‌کننده جیره پایه در کل دوره آزمایش (گروه شاهد)، گروه ۲: دریافت‌کننده جیره پایه + نیترات سرب با دوز ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از هفت روزگی (گروه کنترل)، گروه ۳: دریافت‌کننده جیره پایه + نیترات سرب با دوز ۴۰ میلی‌گرم/کیلوگرم از هفت روزگی + دی‌پنیسیلامین با دوز ۲۰ میلی‌گرم/کیلوگرم از چهارده روزگی (گروه درمان دی‌پنیسیلامین) گروه ۴: دریافت‌کننده جیره پایه + نیترات سرب با دوز ۴۰ میلی‌گرم/کیلوگرم + خار مریم با دوز ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (گروه درمان سیلی‌مارین) تیمارهای فوق از طریق جیره غذایی در طی ۶۰ روز به اردک‌ها تغذیه شدند. در یک روزگی پس از وزن‌کشی، ۱۰ جوجه اردک برای هر پن به گونه‌ای انتخاب شد که میانگین وزن همه پن‌ها یکسان باشد. جوجه‌ها از ۱ تا ۶۰ روزگی تحت شرایط استاندارد بر روی بستر پرورش یافتند. در کل دوره پرورش آب و دان به طور آزاد در اختیار جوجه‌ها قرار گرفت. شرایط پرورش از قبیل درجه حرارت، رطوبت، تهویه، برنامه نوری و واکسیناسیون برای همه گروه‌ها یکسان بود. تلفات روزانه ثبت شد و پس از توزین جهت بررسی علت مرگ کالبدگشایی گردید. روز شصتم پس از پایان دوره پرورش و کشتار اردک‌ها نمونه‌گیری از عضلات سینه و ران در هر قطعه کشتار شده اخذ (از هر پن ۵ قطعه) و به آزمایشگاه جهت انجام آزمایشات جذب اتمی فرستاده شد. مراحل عضلات ران و سینه نمونه برداری شده با توجه به ضوابط نمونه‌برداری جهت آزمایش انجام پذیرفت.

اندازه‌گیری سرب: نمونه‌های جمع شده به تعداد ۶۰ عدد تا زمان آزمایش به صورت منجمد در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. غلظت سرب هر نمونه توسط دستگاه اسپکترومتری جذب اتمی به روش کوره اندازه‌گیری گردید. جهت اطمینان از دقت آزمایش و نتایج هر نمونه سه مرتبه آزمایش شد و میانگین آن به دست آمد و جهت اطمینان از صحت آزمایش درصد بازیافت نیز مورد ارزیابی قرار گرفت. در این روش ۱۰، ۲۰ و ۳۰ نانوگرم سرب در گرم استاندارد به ۶۰ نمونه از نمونه‌هایی که میزان سرب آن مشخص بود اضافه شد تا میزان سرب بازیافت نمونه‌ها به دست آید. درصد بازیافت سرب به روش اسپکترومتری جذب اتمی ۹۸-۹۵٪ به دست آمد. طبق گزارش شرکت سازنده حساسیت دستگاه آنالیز فلزات سنگین در روش اسپکترومتری جذب اتمی کوره اندازه‌گیری بر روی سرب ۱ نانوگرم در ۱/۵ پیکوگرم



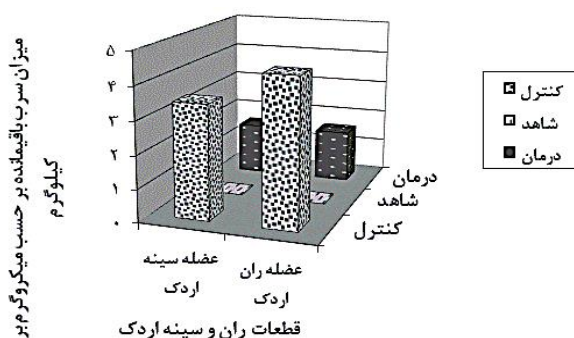
صنعت کشاورزی، صنعت باتری‌سازی، هم‌چنین لوازم آرایشی و سایر صنایع به‌طور گسترده در محیط انتشار یافته‌است و از طریق آلودگی آب و مواد غذایی، انسان و حیوان را به مسمومیت با این فلز مبتلا می‌کند. فلزات سنگین از طریق منابع طبیعی و فعالیت‌های انسانی دائماً در حال وارد شدن به اکوسیستم‌های آبی می‌باشند (Oymak و همکاران، ۲۰۰۹). با توجه به سمیت، پایداری طولانی و تجمع زیستی و خواص تجزیه ناپذیری آن‌ها، فلزات سنگین گروه اصلی آلاینده‌های آبریان در زنجیره مواد غذایی را تشکیل می‌دهند (Uysal و همکاران، ۲۰۰۸). فلزات سنگین برعکس مواد زائد آلی، آلوده‌کننده‌هایی پایداری دارند که معمولاً توسط باکتری‌ها تجزیه نمی‌شوند. اگر هم تجزیه صورت گیرد آن‌قدر کند و بطئی است که می‌توان آن‌ها را به‌عنوان افزودنی‌های پایدار به محیط زیست آبی محسوب نمود. سرب یک سم محیطی است که در همه جا وجود دارد. مطالعات نشان داده که قرار گرفتن در معرض سرب باعث فشار خون بالا، بیماری‌های قلبی عروقی، مشکلات کبدی و کلیوی، آسیب مغزی ... می‌شود که از طریق افزایش شدت اکسیداتیو، محدود کردن دسترسی به نیتریک اکسید، تغییر سیستم رنین آنژیوتانسین، افزایش پروستاگلندین‌های تنگ‌کننده عروق، کاهش پروستاگلندین‌های گشادکننده عروق، افزایش التهاب، اختلال در علامت‌دهی یون کلسیم در عروق عضله صاف و کاهش اثر گشادکنندگی وابسته به اندوتلیوم است. علاوه بر این‌ها سرب نشان داده که به‌علت آسیب به اندوتلیال مانع از ترمیم اندوتلیال، کاهش رشد سلول‌های اندوتلیال، سرکوب تولید پروتوگلیکان، کاهش بافت فعال‌کننده پلاسمینوژن و بالا بردن مهارکننده پلاسمینوژن می‌شود (Nosratola و همکاران، ۲۰۰۸). هم‌چنین سرب با اثر بر سیستم هموپوئیک باعث کاهش قابل توجهی در غلظت هموگلوبین می‌شود و باعث عمر کوتاه گلبول قرمز از طریق افزایش شکنندگی غشا و کاهش سنتز هموگلوبین که در نتیجه کاهش سطح آنزیم‌های دخیل در سنتز آن‌ها است، می‌گردد (WHO، ۱۹۹۹). سینکاکریمی و همکاران در سال (۱۳۹۴) دریافتند میانگین غلظت فلزات در بافت‌های کبد و عضله اردک‌های سرسبز و سرخ‌نایی و هم‌چنین بافت کلیه در اردک‌های سرخ‌نایی از ترتیب $Cr > Cd > Pb > Zn > Fe$ پیروی کرد در صورتی که میانگین غلظت فلزات در کلیه اردک‌های سرسبز از ترتیب $Cd > Cr > Pb > Zn > Fe$ پیروی کرده بود. با توجه به مکانسیم سرب به‌نظر می‌رسد که سرب مانع توانایی بدن برای ساختن هموگلوبین با ایجاد تداخل با آنزیم‌ها در چند مرحله می‌شود و به‌طور خاص سرب باعث کاهش بیوسنتز هم و مهار آمینولینولتیک دهیدراتاز اسید و مهار فعالیت آنزیم فروکلاتاز می‌شود که این آنزیم در انتقال آهن از فریتین به پروتوپروفیرین برای تشکیل هم مؤثر می‌باشد. به‌علت غیرفعال بودن فروکلاتاز پروتوپروفیرین در گلبول‌های قرمز تجمع

میزان سرب باقی‌مانده در عضلات سینه و ران اردک تحت درمان با سیلی‌مارین و پنسیلامین به‌طور معنی‌داری نسبت به نمونه کنترل کاهش یافت ($p < 0.05$). با این‌حال اثر سیلی‌مارین در کاهش میزان سرب در عضلات سینه و ران اردک اندکی مشهودتر بود (شکل ۱ و ۲).

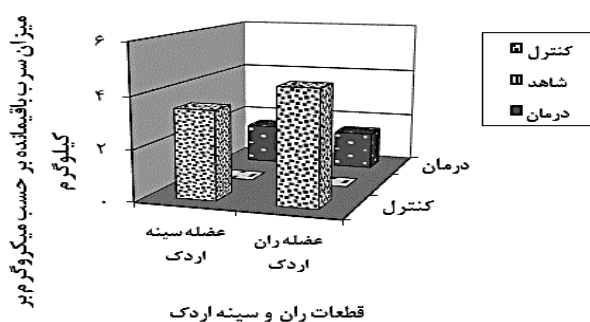
جدول ۲: مقایسه میانگین \pm خطای معیار از میانگین میزان سرب میکروگرم/کیلوگرم عضله سینه اردک بین گروه‌های کنترل، شاهد و درمانی

نوع نمونه	عضله سینه اردک	سن	گروه
	(Mean \pm SEM)		
	۰/۰۰۰ \pm ۰/۰۰۰ b		کنترل
۶۰ روزگی	۳/۴۵۸ \pm ۲/۲۷۲ a		شاهد
	۱/۵۷۳ \pm ۰/۱۰۰ b		درمان دی‌پنسیلامین
	۱/۵۸۳ \pm ۰/۱۷۰ b		درمان سیلی‌مارین

(a,b) حروف غیرمتشابه نشانه اختلاف معنی‌دار در بین گروه‌ها در یک ستون می‌باشد ($p < 0.05$).



شکل ۱: میزان سرب باقی‌مانده بر حسب میکروگرم بر کیلوگرم قطعات ران و سینه اردک تحت درمان با دی‌پنسیلامین



شکل ۲: میزان سرب باقی‌مانده بر حسب میکروگرم بر کیلوگرم قطعات ران و سینه اردک تحت درمان با سیلی‌مارین

بحث

بعد از جیوه، سرب دومین فلز سنگین خطرناک است که طی سال‌های گذشته به‌علت استفاده زیاد از این فلز در صنایع بنزین، صنعت رنگ‌سازی،



زنجیره تنفسی و در میتوکندری صورت می‌گیرد. تولید ROS به شکل پاتولوژیک در بافت، به دنبال استرس اکسیداتیو است که این امر موجب ضایعه به پروتئین‌ها و چربی‌های غشا و اسیدنوکلئیک می‌شود (Marchetti, ۲۰۰۳). دی-پنی سیل آمین و سیلی مارین به عنوان داروهای آنتی‌اکسیدان با تاثیر بر دفع رادیکال آزاد و هم تاثیر باز دارنده بر آزاد شدن رادیکال آزاد اکسیژن توسط بیگانه‌خوارها عمل می‌کند. کارایی دی-پنی سیل آمین در کاهش سطح سرب خون انتخاب خوبی برای درمان مسمومیت مزمن سرب می‌سازد. استفاده دی-پنی سیل آمین دفع ادراری سرب را می‌تواند به خاطر ترکیباتی که با این فلز سنگین تشکیل می‌دهد افزایش دهد. با ارزیابی تاثیرات مسمومیت سرب خوراکی مزمن روی شاخص‌های خونی موش‌های بالغ و کارایی دی-پنی سیل آمین در کاهش این تاثیرات گزارش نمودند که شمار گلبول‌های قرمز خون زیاد و اکثر پارامترها به سطح نرمال رسیدند (Anjum و همکاران، ۲۰۱۱؛ Garza و همکاران، ۲۰۰۶). آنتی‌اکسیدان‌هایی از جمله ویتامین C، ویتامین B، کاروتنوئیدها، لیکوپین‌ها و فلاونوئیدها شامل سیلی‌بین، سیلی‌کریستین، سیلی‌دی‌انین و ایزوسیلی بین در عصاره خار مریم وجود دارند که مسئول اثرات حفاظت نورونی می‌باشند (Yang و همکاران، ۲۰۰۱؛ Schuppan و همکاران، ۱۹۹۹؛ Mitra و همکاران، ۱۹۹۸). فعالیت قوی آنتی‌اکسیدانی سیلی مارین سبب افزایش گلوتاتیون سلولی و تحریک تولید سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) و گلوتاتیون پراکسیداز (GPX)، کاتالاز (CAT) در مغز رت‌ها می‌گردد که موجب جلوگیری از آسیب‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد می‌شوند (Sunil و همکاران، ۱۹۹۹). هم‌چنین خار مریم باعث محافظت مغز در برابر آسیب‌های اکسیداتیو می‌شود و مکانیسم عمل را القاء افزایش سطح گلوتاتیون احیا شده، میزان اسیداسکوربیک و فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در مغز ذکر نمودند (Nencini و همکاران، ۲۰۰۷). نشان داده شده که سیلی مارین غلظت نوراپی نفرین، سروتونین و دوپامین را در برخی مناطق مغز موش کوچک، افزایش داده است (Osuchowski و همکاران، ۲۰۰۴). Kitter (۲۰۰۲) اثرات سیلی مارین بر روی بقاء سلول‌ها را مورد بررسی قرار داد و نتیجه گرفته است که سیلی مارین از آپوپتوزیس سلول‌های PC-12 از طریق تقویت عمل NGF ممانعت می‌کند. ابراهیمی سیریزی و همکاران (۱۳۹۱) به بررسی فلزات سنگین کادمیوم، سرب، مس و روی در بافت عضله اردک ماهی تالاب بین‌المللی انزلی پرداختند نتایج نشان داد میزان فلزات سرب، مس و روی زیر حد استانداردهای تعیین شده توسط سازمان‌های WHO، EPA، FAO و WHO به دست آمده غلظت کادمیوم بالاتر از استانداردهای EPA و WHO ارزیابی شد که این می‌تواند یک هشدار برای مصرف این ماهی در گروه‌های آسیب پذیر جامعه باشد. محاسبات میزان جذب روزانه نشان داد که مصرف یک وعده از این ماهی از نظر

می‌یابد که نشانه خوبی برای تشخیص جذب سرب و مسمومیت با سرب است و در نتیجه کمبود آهن را مشخص می‌کند (Sergio, ۱۹۹۶). سرب از سد خونی مغزی عبور کرده و در مغز تجمع می‌یابد. مکانیسم‌های سمیت عصبی سرب پیچیده بوده و هنوز کاملاً شناخته شده نیستند ولی یافته‌های جدید نشان داده‌اند که رسپتورهای نوروترانسمیترها هدف حمله سرب هستند. سرب روی N-متیل D-آسپارات که نوعی رسپتور گلوتمات است اثر گذاشته سیستم یادگیری و شناخت را درگیر می‌کند. مکانیسم‌های متعددی برای نوروتوکسیسیته سرب بیان شده است. بعضی مطالعات معتقدند که تخریب حاد نورونی که در مسمومیت با سرب دیده می‌شود ممکن است در ارتباط با آپوپتوز باشد (Sharifi, ۲۰۰۲؛ Streiff و همکاران، ۲۰۰۲). آپوپتوز یک پدیده تحت کنترل ژن است که از نظر مورفولوژیک با تراکم کروماتین، مجاله شدن هسته، چین‌خوردگی غشا و قطعه‌قطعه شدن DNA مشخص می‌شود (Glover و همکاران، ۱۹۹۹؛ Jiang و همکاران، ۱۹۹۷). یکی از ژن‌های وابسته به روند آپوپتوز خانواده Bcl-2 است. پروتئین Bcl-2 موجب بقای سلول و Bax موجب تسریع مرگ سلول می‌شود (Huang و همکاران، ۲۰۰۲). نسبت این دو پروتئین به یکدیگر در طول دوران حیات دایم در تغییر است. به عنوان مثال در تومورهای سرطانی افزایش Bcl-2 و کاهش Bax مشاهده می‌شود در حالی که به دنبال انفارکتوسیا ایسکمی Bax شدیداً افزایش می‌یابد. هم‌چنین غلظت‌های بالای سرب باعث التهاب شدید در کبد شده و فرض بر این است که تماس طولانی مدت با سرب ممکن است موجب آسیب‌های کبدی در انسان نیز شود (Miolservic و Maire, ۲۰۰۰). سمیت سرب به‌طور عمده مربوط به تأثیر آن بر سیستم‌های آنزیمی سلول‌هاست که منجر به اختلالات بیوشیمیایی می‌شود. از جمله این‌ها می‌توان به آنزیم‌های آسپارات آمینوترانسفراز (AST)، آلانین ترانسفراز (ALT) و آلکالین فسفاتاز (ALP) اشاره کرد. در ایزوآنزیم‌های میتوکندریایی سیتوزولی وجود دارد و در کبد، ماهیچه، مغز، پانکراس، شش‌ها، گلبول‌های سفید و قرمز یافت می‌شود (Kaplan و Praff, ۲۰۰۰). ALT یک آنزیم سیتوزولی است که در غلظت‌های بسیار زیاد در کبد یافت می‌شود و برای کبد اختصاصی است و آسیب سلول‌های کبدی عامل آزاد شدن این آنزیم‌ها به داخل گردش خون است. هم‌چنین ALP آنزیمی است که در بسیاری از بافت‌ها وجود دارد و به مقدار زیادی از کبد و استخوان آزاد می‌شود و انسداد مجاری صفراوی منجر به افزایش ALP می‌شود. جدیدترین تئوری نحوه اثر توکسیک سرب را از طریق به هم زدن تعادل پرواکسیدان به آنتی‌اکسیدان مطرح می‌کند. مطالعات *In vivo* افزایش تولید ROS (Reactive oxygen species) را به دنبال مصرف سرب نشان داده‌اند. ROS یا رادیکال آزاد، هر مولکولی است که دارای یک یا چند الکترون غیرمزدوج باشد. بخشی از تولید این رادیکال‌ها در



در عضلات ران و سینه اردک نژاد پکین مسموم شده با سرب بگذارد.

منابع

1. ابراهیمی، ر.؛ محمدآبادی، ط.؛ ساری، م.؛ سالاری، س.؛ ضمیری، م.ج. و بیگی نصیری، م.ت.، ۱۳۹۲. اثر سیلی‌مارین بر تنش اکسیداتیو ایجاد شده توسط سرب در جوجه‌های گوشتی. نشریه پژوهش‌های علوم دارویی ایران. جلد ۵، شماره ۴، صفحات ۳۱۰ تا ۳۱۲.
2. ابراهیمی سیریزی، ز.؛ ساکی‌زاده، م.؛ اسماعیلی‌ساری، ع.؛ بهرامی‌فر، ن.؛ قاسمپوری، س.م. و عباسی، ک.، ۱۳۹۱. بررسی فلزات سنگین کادمیوم، سرب، مس و روی در بافت عضله اردک‌ماهی تالاب بین‌المللی انزلی، انباشتگی و ارزیابی خطرات. مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران. دوره ۲۲، شماره ۸۷، صفحات ۵۷ تا ۶۳.
3. اتفاق‌دوست، م. و علاف‌نویریان، ح.، ۱۳۹۹. مطالعه تجمع بیولوژیک شبه فلزات و فلزات سنگین در بافت عضله اردک‌ماهی (*Esox Lucius Linnaeus*, ۱۷۵۸) رودخانه سیاه درویشان (استان گیلان). مجله تحقیقات دامپزشکی. دوره ۷۵، شماره ۲، صفحات ۱۵۶ تا ۱۶۵.
4. حقی، ق. و پیرعلی، م.، ۱۳۸۲. شناسایی و تعیین مقدار سیلی‌مارین در گیاه خار مریم *Silybum marianum* و چند فراورده دارویی آن. تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. دوره ۱۹، شماره ۱، صفحات ۷۳ تا ۸۶.
5. سینکاگریمی، م.ح.؛ پورخباز، ع. و حسین‌پور، م.، ۱۳۹۴. بررسی استفاده از آب و بافت پرندگان آبی جهت سنجش آلودگی فلزی (مطالعه موردی: تالاب‌های بین‌المللی میانکاله و گمیشان). فصلنامه علمی پژوهشی اکوبیولوژی تالاب دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز. سال ۶، شماره ۲۳، صفحات ۱۵ تا ۲۸.
6. ضیایی، س.؛ فلاح‌حسینی، ح.؛ رجبیان، ط.؛ پورحسینی، ل.؛ نقدی‌بادی، ح. و رضازاده، ش.، ۱۳۸۳. بررسی اثر حلال‌های مختلف در استخراج سیلی‌مارین از بذر گیاه خار مریم. فصلنامه گیاهان دارویی. سال ۴، شماره ۲، صفحات ۱ تا ۶.
7. علیشاهی، م.؛ طولابی‌دزفولی، ز. و اسروش، ا.، ۱۳۹۷. اثر پنسیلامین و EDTA بر سمیت نانوذرات نقره در ماهی شیریت. فصلنامه علمی پژوهشی اکوبیولوژی تالاب. سال ۱۰، شماره ۳۷، صفحات ۱۰۳ تا ۱۱۲.
8. کبیری‌فرد، ح.؛ شیخی‌نژاد، ا. و معصومی، م.، ۱۳۹۱. سنجش مقدار آلودگی فلزات سنگین (آهن، روی، سرب و نیکل) در آب‌های سطحی، خاک و سبزی کشت شده شهرستان پیشوا. پژوهش‌های علوم و فنون دریایی. دوره ۷، شماره ۳، صفحات ۱ تا ۱۲.

بهداشتی هیچ ممنوعیتی برای یک فرد بالغ ندارد. تحقیقات نشان داد که سیلی‌مارین می‌تواند آسیب‌های شدید به لوله‌های ادراری مانند نکرز لوله‌ای و افت شدید فشارخون را دررت‌ها کاهش دهد (Hamidian و همکاران، ۲۰۲۰). اتفاق‌دوست و علاف‌نویریان (۱۳۹۹) به مطالعه تجمع بیولوژیک شبه‌فلزات و فلزات سنگین در بافت عضله اردک‌ماهی (*Esox Lucius Linnaeus*, ۱۷۸۵) رودخانه سیاه درویشان (استان گیلان) پرداختند نتایج نشان داد میزان کم‌ترین و بیش‌ترین تجمع عناصر به ترتیب: روی ۲۸/۸۰-۲۵/۸۹، آهن ۲۴/۲۶-۲۱/۸۵، مس ۸/۱۵-۶/۷۸، منگنز ۲/۱۲-۱/۷۷، سرب ۰/۷۳-۰/۶۸، سلنیوم ۰/۶۲-۰/۵۹، آرسنیک ۰/۶۲-۰/۵۳، کادمیوم ۰/۴۱-۰/۳۸، نیکل ۰/۲۸-۰/۲۴، کروم ۰/۱۹-۰/۱۷ و جیوه ۰/۰۹۸-۰/۰۸۷ میکروگرم بر گرم وزن خشک، می‌باشد. اتحادیه اروپا و آژانس‌های نظارتی ملی برای دریافت قابل قبول یا قابل تحمل فلزات سنگین و هم‌چنین باقی‌مانده سموم آفات توسط انسان مقادیر مشخصی را تعیین کردند. دریافت قابل تحمل روزانه (Tolerable Daily Intake (TDI) و دریافت قابل تحمل هفتگی (Tolerable Weekly Intake (TWI) مقادیر دریافت بی‌خطر این مواد سمی را تعیین می‌کنند. کمیته مشترک WHO و FAO در افزودنی‌های غذایی (JECFA) اعلام کرد که برای ارزیابی دریافت فلزات سمی مثل سرب در انسان، بایستی از (Provisional Tolerable Weekly Intake (PTWI یا دریافت هفتگی قابل تحمل به‌طور موقت استفاده کرد که این به‌دلیل خاصیت تجمعی این مواد در بدن انسان است (Parent- و Nasreddine، ۲۰۰۲). PTWI برای سرب در انسان ۲۵ میکروگرم به‌ازای کیلوگرم وزن بدن در هفته (معادل ۳/۶ میکروگرم به‌ازای کیلوگرم وزن بدن در روز) می‌باشد. در واقع مقدار قابل تحمل سرب در هفته به‌طور موقت برای یک فرد ۶۰ کیلوگرمی ۱۵۰۰ میکروگرم است (WHO، ۱۹۹۳). مقدار دریافت سرب از طریق عضلات ران و سینه اردک تحت تیمار با دی‌پنسیلامین به‌ترتیب ۱/۴۹۵ و ۱/۵۸۳ میکروگرم بر کیلوگرم و مقدار دریافت سرب از طریق عضلات ران و سینه اردک تحت تیمار عصاره خارمریم به‌ترتیب ۱/۵۸۶ و ۱/۵۷۳ میکروگرم بر کیلوگرم محاسبه شد (جدول ۱ و ۲). این مقدار نسبت به مقدار قابل تحمل هفتگی PTWI برای فرد ۶۰ کیلوگرمی که ۱۵۰۰ میکروگرم در هفته می‌شود (۲۵ میکروگرم/کیلوگرم وزن/هفته) بسیار کم‌تر است. بنابراین دی‌پنسیلامین و عصاره خارمریم توانست به‌طور چشمگیری میزان باقی‌مانده سرب را در سطح قابل قبول استاندارد کاهش دهد. سیلی‌مارین و پنسیلامین هر دو به‌عنوان داروی موثر در کاهش سرب موثرند با این حال عصاره سیلی‌مارین به‌عنوان یک ماده گیاهی تا حدی اثر بخشی بیش‌تری در کاهش سرب داشت.

دی‌پنسیلامین و سیلی‌مارین به‌عنوان یک داروی آنتی‌اکسیدان توانست اثرات مثبت و معنی‌داری در کاهش میزان سرب باقی‌مانده



- herbal formulatin, against various hepatotoxic agents in rats. J. Ethnopharmacology. Vol. 63, pp: 181-186.
۲۱. **Nencini, C.; Giorgi, G. and Micheli, L., 2007.** Protective effect of silymarin on oxidative stress in rat brain. Phytomed. Vol. 14, pp: 129-135.
۲۲. **Nasreddine, L. and Parent-Massin, D., 2۰۰۲.** Food contamination by metals and pesticides in the European Union. Should we worry? Toxi letters. Vol. 127, No. 1, pp: 29-41.
۲۳. **Narayana, K. and Al-Bader, M., 2011.** Ultrastructural and DNA damaging effects of lead nitrate in the liver. Exp andTox Path. Vol. 63, pp: 43-51.
۲۴. **Navas-Acien, A.; Guallar, E.; Silbergeld, E.K. and Rothenberg, S.J., 2007.** Lead exposure and cardiovascular disease - A systematic review. Environ Health Perspect. Vol. 115, pp: 472-482.
۲۵. **Nosratola, D. and Vaziri, A.M., 2008.** Mechanisms of lead induced hypertension and cardiovascular disease. J Physiol Heart Circ Physiol. Vol. 295, pp: H454-H465.
۲۶. **Osuchowski, M.F.; Johnson, V.J.; He, Q. and Sharma, R.P., 2004.** Alteration in regional brain neurotransmitters by silymarin, a natural antioxidant flavonoid mixture, in BALB/c mice. Pharm Biol. Vol. 42, pp: 384-389.
۲۷. **Oymak, S.A.; Karadede-Akin, H. and Dogan, N., 2009.** Heavy metal in tissues of *Tor grypys* from Ataturk Dam Lake, Euphrates River Turkey. Biologia. Vol. 64, pp: 151-155.
۲۸. **Schuppan, D.; Jia, J.D.; Brinkhaus, B. and Hahn, E.G., 1999.** Herbal products for liver diseases. Hepat. Vol. 30, No. 4, pp: 1099-1104.
۲۹. **Sergio, P., 1996.** Lead poisoning in: Nelson text book of pediatrics, Nathen and Oski. WB Saunders, Philadelphia, U.S.A.
۳۰. **Sharifi, A.M.; Baniasadi, S.; Jorjani, M.; Rahimi, F. and Bakhshayesh, M., 2002.** Investigation of acute lead poisoning on apoptosis in rat hippocampus in vivo. Neurosci Lett. Vol. 329, pp: 45-48.
۳۱. **Streiff, M.B.; Smith, B. and Spivak, J.L., 2002.** The diagnosis and management of polycythemia vera in the era since the Polycythemia Vera Study Group: a survey of American Society of Hematology members' practice patterns. Blood. Vol. 9, pp: 1144-1449.
۹. **Anjum, M.R.; Sainath, S.B.; Suneetha, Y. and Reddy, P.S., 2011.** Lead acetate induced reproductive and paternal mediated developmental toxicity in rats. Ecotoxicol Environ Saf. Vol. 74, No. 4, pp: 793-799.
۱۰. **Bahaa, E.A.; Saleh, M.C. and Taich, M.C., 2007.** Fundamentals of Photonics, Wiley Interscience.
۱۱. **Ferreya, H.; Romano, M and Uhart, M., 2009.** Recent and Chronic Exposure of Wild Ducks to Lead in Human Modified Wetland in Santa Fe Province. Argentina. J Wildl Dis. Vol. 45, No. 3, pp: 823-927.
۱۲. **Garza, A.; Vega, R. and Soto, E., 2006.** Cellular mechanisms of lead neurotoxicity. Med Sci Monit. Vol. 12, No. 3, pp: 57-65.
۱۳. **Golalipour, M.; Roshandel, D.; Roshandel, G.; Ghafari, S. and Kalavi, M., 2007.** Effect of Lead Intoxication and D Penicillamine Treatment on Hematological Indices in Rats Int J Morphol. Vol. 25, No. 4, pp: 717-722.
۱۴. **Hamidian, G.; Mirdar, S.; Raee, P.; Asghari, K. and Jarrahi, M., 2020.** Silymarin protects the structure of kidney in the neonatal rats exposed to maternal cadmium toxicity: A stereological study. Veterin Res For. Vol. 11, No. 2, pp: 143-152.
۱۵. **Kamil, K.A.; Kartasudjana, R.; Iskandar, S. and Latipudin, D., 2011.** Effect of Phytate in Diet and Lead in Drinking Water on Blood Mineral and Growth of Ducks. International Scientific Symposium-۱۰ Years of Animal Science Higher Education in Moldova.
۱۶. **Kitter, S.; Wilasrusmee, S.; Pedresen, W.A.; Mattson, M.P.; Strabe-West, K.; Wilasrusmee, C.; Lubelt, B. and Kittur, D.S., 2002.** Neurotrophic and neuroprotective effect of milk thistle (*Silybum marianum*) on neurons in culture. J Molec Neurosci. Vol. 18, pp: 265-269.
۱۷. **Lyle, W.H., 1981.** Penicillamine in metal poisoning. J Rheumatol Suppl. Vol. 7, pp: 96-99.
۱۸. **Marchetti, C., 2003.** Molecular targets of lead in brainneurotoxicity. Neurotox Res. Vol. 5, No. 3, pp: 221-236.
۱۹. **Miolservic, N. and Maire, P., 2000.** Lead stimulates intracellular signaling between hepatocytes and kupffer cells. Enr J Pharmacol. Vol. 401, pp: 317-328.
۲۰. **Mitra, S.K.; Venkataranganna, M.V.; Sundaram, R. and Gopumadhavan, S., 1998.** Protective effect of HD-03, an



۳۲. Sunil, K.M.; Asok, M.; Nguyen, T.V. and Bharat, B.A., 1999. Silymarin suppresses TNF induced activation of NFκB, c-Jun N-Terminal Kinase, and Apoptosis. *J Molecul Biol.* Vol. 18, pp: 6800-6809.
۳۳. Tuormaa, T.E., 1995. The adverse effects of lead. *J Orthomol Med.* Vol. 10, No. 3-4, pp: 149-164.
۳۴. Uysal, K.; Emre, Y. and Kose, E., 2008. The determination of heavy metal accumulation ratios in muscle, skin and gills of some migratory fish species by inductively coupled plasma-optical emission spectrometry (ICP-OES) in Beymelek Lagoon (Antalya/Turkey). *Microchem. J.* Vol. 90, pp: 67-70.
۳۵. WHO. 1999. Treatment technique and results, lead poisoning over view, world health organization. www.leadpoisoning.net/treat/workshop.html.
۳۶. WHO. 1993. Evaluation of certain food additives and contaminants (41st Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives). Geneva: World Health Organization, WHO Technical Report Series. (837 p).
۳۷. Yang, Ch.S.; Landau, J.M.; Huang, M.T. and Newmark, H.L., 2001. Inhibition of carcinogenesis by dietary polyphenolic compounds. *Annu. Rev. Nut.* Vol. 21, pp: 381-406.



Comparison of D-Penicillamine and silymarin effects on lead level in the pectoral and quadrata muscles of Pekin ducks

- **Hamed Zarei***: Department of Physiology, Faculty of Modern Sciences and Technologies, Tehran Branch of Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran
- **Sadrollah Doulat**: Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, Garmsar Branch, Islamic Azad University, Garmsar, Iran

Received: June 2020

Accepted: September 2020

Key words: D-Penicillamine, Silymarin, Pekin ducks, Lead nitrate, Atomic absorption

Abstract

Ducks due to their own curious behavior and diet which includes sludge, materials and objects left on the banks of rivers and swamps. They are prone to chronic forms of lead poisoning. Therefore, the aim of this study was to determine the effect of dipenicillamine and silymarin on lead residue in lead affected duck muscles. To study the effect of dipenicillamine and silymarin on lead residue in lead affected duck muscles, 120 one-day old ducks of Pekin breed into 4 groups of 30 pieces in three replications, including group 1: receiving the basic diet in the whole experimental period, group 2: receiving basic diet+lead nitrate at a dose of 40 mg/kg (control), group 3: receiving basic diet+lead nitrate at a dose of 40 mg/kg+dipenicillamin at a dose of 20 mg/kg, group 4: receiver of basal diet+lead nitrate at a dose of 40 mg/kg +sage extract at a dose of 300 mg/kg was divided and raised for 60 days. After the end of breeding and slaughter period of ducks according to ethical protocols, sampling of chest and thigh muscles in each slaughtered piece was done. The lead concentration of each sample was measured by atomic absorption spectrophotometry by furnace method. According to the results, dipenicillamine and silymarin with their antioxidant properties, they were able to significantly ($p<0.05$) reduce the amount of lead remaining in the thigh and chest muscles.

* Corresponding Author's email: h.zarei@iautmu.ac.ir

