

تأثیر مصرف خوراکی آلئیسین بر آنزیم‌های سرمی ماهی کپور معمولی در مسمومیت تجربی با سرب

احسان زیادلو^۱ داور شاهسونی^{۲*} حمید رضا کازرانی^۳ محمد رضا اصلانی^۴

(۱) دانش آموخته، دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد-ایران.

(۲) گروه بهداشت مواد غذایی و آبزیان، دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد-ایران.

(۳) گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد-ایران.

(۴) گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد-ایران

(دریافت مقاله: ۱۸ اسفند ماه ۱۳۸۹، پذیرش نهایی: ۲۹ تیر ماه ۱۳۹۰)

چکیده

مسمومیت با سرب در همه جانداران و از جمله در آبزیان از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. آلئیسین یکی از مهمترین مواد مؤثره گیاه سیر می باشد که انتظار می رود با توجه وفور اسیدهای آمینه سولفور دار، اثر پیشگیری کننده در مسمومیت با سرب ایفا نماید. در این تحقیق به بررسی تأثیر آلئیسین بر اثرات سمی سرب با توجه به فعالیت آنزیم‌های سرم خون در ماهی کپور پرداخته شده است. پنج گروه ۴۶ تایی ماهی کپور (۱۰±۱۰ گرمی) مورد مطالعه قرار گرفت. گروه‌های ۵-۲ (آزمون) به مدت ۱۰ روز ۷mg/L استات سرب دریافت نمودند. گروه‌های ۳ و ۴، از ۵ روز قبل از افزودن استات سرب، به ترتیب روزانه به میزان ۵ و ۱۰mg/kg آلئیسین دریافت نمودند. گروه ۵ مشابه گروه ۴ بود اما تنها همزمان با استات سرب، آلئیسین دریافت نمود. در پایان دوره آزمایش، آنزیم‌های سرم شامل ALT، AST، LDH، ALP، اندازه‌گیری گردید. میزان پارامترهای مورد مطالعه در گروه ۲ (دریافت سرب) در مقایسه با گروه شاهد، افزایش قابل ملاحظه‌ای نشان می داد (p<۰/۰۰۱). آنزیم‌های مورد مطالعه در گروه‌هایی که بعلاوه آلئیسین دریافت کرده بودند (گروه‌های ۳-۵)، به طور وابسته به دوز و معنی داری از گروه ۲ کمتر بود. با اینحال تفاوت معنی داری از این نظر بین گروه‌های ۴ و ۵ مشاهده نشد. نتایج پژوهش حاضر حاکی از تأثیر قوی آلئیسین در جلوگیری از ایجاد ضایعات بافتی متعاقب مسمومیت با سرب می باشد.

واژه‌های کلیدی: کپور معمولی، خون، آنزیم، سرب، آلئیسین.

رسوبات در می آید و مقادیری از آن نیز به صورت محلول در آب باقی می ماند. وقتی pH آب به طور ناگهانی پایین می آید، مقادیر زیادی از سرب ته نشین شده آزاد می گردد و به صورت محلول در آب در می آید. بنابراین رسوبات حاوی سرب، منبع بسیار خطرناکی برای موجودات آبی محسوب می شود.

فاکتورهای متعددی وجود دارند که در جذب سرب و همچنین میزان سمیت آن در ماهی ها تاثیرگذار هستند. بعضی از این عوامل عبارتند از: ۱- اشکال آزاد، آلی و غیر آلی سرب: ترکیبات آلی سرب نظیر تترائکیل سرب و تترائیل و تترامیل سرب به سرعت توسط ماهی ها جذب می شوند و برای ماهی ها بسیار سمی هستند.

۲- درجه حرارت آب: افزایش درجه حرارت موجب افزایش سرعت تنفس ماهی و در نتیجه افزایش جذب سرب توسط آن ها می شود.

۳- سختی آب: کلسیم که باعث سختی آب می گردد، به عنوان آنتاگونیست سرب عمل می کند و با افزایش یون کلسیم آب، میزان جذب سرب کاهش می یابد و یون بیکربنات با سرب کمپلکس هایی را تشکیل می دهد که سرب را از دسترس ماهی دور می کند و جذب آن را کاهش می دهد.

pH-4 آب: افزایش یون H+ و کاهش pH سبب افزایش غلظت سرب به شکل آزاد شده و جذب را افزایش می دهد.

مقدمه

سرب یکی از فلزات سنگین با اهمیت و با اثرات مسمومیت زایی بالا برای تمام موجودات زنده از جمله ماهی ها می باشد. موجودات آبی که در مجاورت و نزدیکی مراکز صنعتی، معادن فلزات، پل ها، فاضلاب ها، محل انهدام زباله های صنعتی و مکان های لایروبی زندگی می کنند بسیار در معرض آلودگی با این فلز سمی قرار می گیرند. ماهی ها بخصوص در مراحل اولیه زندگی خود نسبت به اثرات سمی این فلز بسیار حساسند و این امر موجب مرگ و میر وسیع جنین آنها در داخل تخم می گردد (۲۱). ترکیبات آلی سرب از ترکیبات غیر آلی آن سمیت بیشتری دارند. استاندارد آلودگی سرب آب، ۳/۲ میکروگرم در لیتر عنوان شده است. در موارد مسمومیت مزمن مقادیر بالای ۶ میکروگرم در لیتر و در موارد حاد مقادیر بالای ۱۵ میلیگرم در لیتر ذکر گردیده است. البته باید توجه داشت که این مقادیر به فاکتورهای متعددی از جمله گونه ماهی، مرحله زندگی ماهی، خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آب، حضور عناصر و مواد دیگر موجود در آب که به صورت آنتاگونیست و یا سینرژیزم با سرب عمل می کنند و همچنین مدت زمان در معرض قرار گرفتن به این فلز سمی بستگی دارد (۱، ۱۸، ۲۱).

در محیط های آبی تقریباً بیشتر سرب به صورت ته نشین شده در



متابولیت‌های فعال می‌باشد. به طور کلی از ترکیبات سولفیدریل به دلیل خواص چلاته‌کنندگی آنها در درمان مسمومیت با سرب استفاده شده است (۲۴، ۲۰، ۱۷، ۱۵، ۷). با توجه به اهمیت بهداشت و سلامتی ماهی، در تحقیق حاضر تغییرات آنزیم‌های سرم در مسمومیت با سرب در ماهی کپور به عنوان یک مدل آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت و به دلیل اینکه تجویز آلیسین بعنوان یکی از روش‌های پیشگیری و درمانی پیشنهاد شده در کاهش ضایعات ناشی از مسمومیت با سرب می‌باشد، اثرات درمانی آلیسین در مسمومیت تجربی با سرب مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش کار

تعداد ۲۲۰ قطعه ماهی کپور معمولی (با میانگین وزن 10 ± 100 گرمی) بعد از ضد عفونی بطور تصادفی در ۱۰ آکواریوم ۲۵۰ لیتری منتقل گردیده و ماهیان در شرایط آزمایشگاهی به مدت یک هفته سازگاری یافتند. درجه حرارت آب در طول آزمایش برای تمام گروه‌ها در بازه 25 ± 1 درجه سانتیگراد، میزان اکسیژن محیط بین $5/5 - 6$ ppm و pH روی $7 \pm 0/5$ تنظیم شد. ماهیان در مدت آزمایش با غذای تجاری ۳ بار در روز به میزان ۲ درصد وزن بدن تغذیه گردیدند. این تحقیق در قالب یک طرح کاملا تصادفی در ۵ گروه (۴۶ تایی) با ۲ تکرار انجام گردید. گروه اول به عنوان گروه شاهد (در محیط پاک) در نظر گرفته شد. به آب آکواریوم سایر گروه‌ها استات سرب (شرکت Merck، آلمان، جعبه‌های ۲۰ کیلویی) به میزان 7 mg/Lit و به مدت ۱۰ روز افزوده شد. گروه‌های ۵-۳ علاوه بر استات سرب، روزانه همراه با غذا، آلیسین (شرکت Nopex، انگلستان، قوطی ۱۵۰ سی سی حاوی 1000 ppm آلیسین) نیز دریافت نمودند. گروه ۳ از ۵ روز قبل از افزودن استات سرب، به مدت ۱۵ روز، روزانه 5 mg/KgBwt آلیسین دریافت می‌نمود. گروه ۴ مشابه گروه ۳ بود با این تفاوت که روزانه 10 mg/KgBwt آلیسین دریافت می‌نمود. گروه ۵ نیز مشابه گروه ۴ بود با این تفاوت که آلیسین را تنها به مدت ۱۰ روز و همزمان با استات سرب دریافت می‌نمود (جدول ۱). شاپان ذکر است طی مدت آزمایش، آب آکواریوم‌ها به صورت یک روز در میان تعویض می‌شد.

بعد از پایان آزمایش غذای ماهیان به مدت ۲۴ ساعت قطع گردید، سپس ۲۲ ماهی از هر گروه (۱۱ ماهی از هر آکواریوم) به صورت تصادفی صید و به وسیله MS222 بیهوش و نمونه‌های خون از قلب توسط سرنگ آغشته به هیپارین اخذ گردید. پس از جداسازی سرم، پارامترهای مورد مطالعه توسط دستگاه اتوآنالایزر توسط کیت‌های تجاری (پارس آزمو، تهران - ایران) مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند.

روش‌های اندازه‌گیری آنزیم‌ها عبارت بودند از: مقادیر ALT و AST توسط روش IFCC؛ ALP؛ باروش DGKC؛ LDH؛ باروش DGKC(P-L) و GGT باروش L-gamma-glutamyl-3-carboxy-4-nitro anilide مورد سنجش قرار گرفتند.

آنالیز آماری و رسم نمودارها توسط نرم افزار آماری گراف پد پریزم

۵- عوامل ترکیبی با سرب: حضور برخی ترکیبات (EDTA)، NTA و ... جذب سرب را کاهش و برخی از ترکیبات (گزامتات‌ها) جذب سرب را افزایش می‌دهند.

۶- شوری آب: افزایش نمک آب از طریق تشکیل فرم کلرید سرب و افزایش pH، باعث کاهش حلالیت سرب در آب می‌گردد (۲۱، ۱۸، ۱۰).

آبشش‌ها، پوست و لوله گوارشی محل‌های جذب سرب می‌باشند. سرب سپس در اندام‌های داخلی پخش می‌شود و برای دفع مجدداً به کبد و کلیه بازگشته و با مکانیسم ترشح دفع می‌گردد. برای نقل و انتقال فلزات ضروری راه‌های اختصاصی و حامل‌های مخصوص وجود دارد، در حالی که جذب فلزات مسمومیت‌زا و غیر ضروری نظیر سرب راه اختصاصی ندارد و مشابه فلزات ضروری صورت می‌گیرد. این انتقال در ماهی از طریق کانال‌های کلسیمی آبشش صورت می‌گیرد. رساندن سرب به اندام‌های داخلی و پخش آن در این اندام‌ها توسط دستگاه گردش خون صورت می‌گیرد. سلول‌های خونی و پروتئین‌های پلاسما در انتقال سرب نقش اساسی دارند (۲۱، ۱۰، ۶).

ترکیبات سرب همانند سایر فلزات سمی، سبب افزایش ترشح موکوس در بدن ماهی می‌گردد. این موکوس در سراسر بدن ماهی‌ها بخصوص در آبشش تولید شده و در عملکرد تنفس ماهیان اختلال ایجاد می‌کند و در موارد پیشرفته سبب آنوکسی و مرگ ماهی می‌گردد. ماهیانی که به طور مکرر در معرض غلظت‌های توکسیک سرب قرار می‌گیرند نشانه‌هایی متنوع از مسمومیت با سرب را نشان می‌دهند. این نشانه‌ها عبارتند از انحنای ستون مهره‌ها، کاهش قدرت و توانایی شنا کردن، آتروفی عضلات، کاهش رشد، افزایش غلظت سرب در خون، استخوان، کبد و کلیه و کاهش میزان گلیکوژن در کبد، کلیه، مغزو عضلات (۲۱، ۱۳).

سیر دارای خواص فراوانی است که از جمله می‌توان به خواص ضد باکتریایی، ضد ویروسی، ضد انگلی، چلاته‌کنندگی و ضد سرطانی آن اشاره کرد. سیر دارای اسیدهای آمینه سولفوردار مانند اس‌آلیل سیستئین، اس‌آلیل مرکاپتوسیستئین، آلبین و ماده‌ای دیگر به نام آلیسین می‌باشد. اثر پیشگیری‌کننده اسید آمینه سولفوردار مانند سیستئین در مسمومیت با سرب گزارش شده است. شاید اثر سیر ناشی از حضور اسیدهای آمینه سولفوردار و ترکیبات حاوی گروه‌های کربوکسیل آزاد (C=O) و گروه‌های آمینی باشد. این ترکیبات فعال بیولوژیکی سرب را چلاته می‌کنند و دفع آن را از بدن افزایش می‌دهند که منجر به کاهش تجمع سرب در بافت‌ها و خون می‌گردد. علاوه بر چلاته کردن، دیگر اجزاء سیر (ترکیبات سیستئین) و بعضی مواد ریز مغذی از جذب سرب از دستگاه گوارش جلوگیری می‌کنند. آلیسین فراوان‌ترین ترکیب تیوسولفینات‌دار است که در سیر یافت می‌شود و با اثر آنزیم‌آلیناز بر آلبین حاصل می‌شود. آلیسین از نظر بیوشیمیایی بسیار واکنش‌پذیر است و تصور بر این است که آلیسین به دنبال جذب، به ویژه در کبد به سرعت به دیگر ترکیبات سولفوردار متابولیزه می‌شود. احتمالاً اثرات مفید آلیسین به واسطه این



سلول دچار اشفتگی شود، آنزیم‌ها به مایعات بین بافتی و از آنجا به سرم خون و مایع مغزی - نخاعی وارد می‌شوند. بنابراین سنجش فعالیت آنزیم‌های مایعات بیولوژیک ما را به درک نحوه کارکرد بافت‌ها و اندام‌های مختلف راهنمایی می‌کند. Svoboda در سال ۲۰۰۱، James و همکاران در سال ۱۹۹۲ و Angelove و همکاران در سال ۲۰۰۲ افزایش میزان فعالیت آنزیم در سرم خون را به عنوان یک نشانه اختلال در عملکرد بافت می‌دانند (۳، ۱۱، ۲۳). در مطالعه حاضر، تغییر در سطوح آنزیم‌های ALT، LDH، AST، ALP و GGT در سرم خون ماهیانی که در معرض مسمومیت تجربی با سرب بودند در مقایسه با گروه کنترل و دیگر گروه‌ها بررسی شد. افزایش در میزان آنزیم‌ها نشان دهنده اختلال در عملکرد بافت‌های کبدی، کلیه، قلب، مغز، آیشش و عضلات ناشی از فلزات سنگین باشد (Yamavaki و همکاران در سال ۱۹۸۶)، Shahsavani و همکاران در سال ۲۰۰۹ در تحقیقی در مسمومیت تجربی با سرب در ماهی حوض ضایعات شدید بافتی کبد، کلیه، مغز و آیشش را گزارش نمودند (۲۱).

Muazzez و همکاران در سال ۲۰۰۹ در تحقیقی بر روی ماهی *Oreochromis niloticus* انجام دادند، اعلام نمودند که در مسمومیت با انواع فلزات سنگین (جیوه، نقره، مس، کادمیوم ...) میزان آنزیم‌های ALT و AST در بافت کبد افزایشی را نشان می‌دهد (۱۶). Almeida و همکاران در سال ۲۰۰۱ در مسمومیت تجربی با کادمیوم در ماهی *tilapia Nile* اعلام کردند که میزان آنزیم‌های ALT و AST شدیداً در بافت و سرم تغییر می‌یابد. (۲). Mcewen و همکاران در سال ۱۹۸۹ گزارش کردند که در مسمومیت با کلراید جیوه در ماهی حوض فعالیت ALP کبدی شدیداً افزایش می‌یابد (۱۴). تحقیقات زیادی نشان می‌دهد ماهیانی که در تماس با فلزات سنگین نظیر مس، روی، سرب و جیوه قرار می‌گیرند، موجب افزایش آنزیم‌های سرم خون می‌گردند که ناشی از آسیب بافت‌های مختلف می‌باشد (۴، ۵، ۱۲، ۱۸).

Flower و Dural در سال ۱۹۹۱ اعلام کردند که کلیه یکی از بافت‌های هدف در مسمومیت با سرب می‌باشد. در این مسمومیت، صدمات به صورت تشکیل کنجیدگی‌های اسیدوفست داخل هسته‌ای و هم چنین تورم سلول‌های پیچیده نزدیک بروز می‌کند (۸). در این مطالعه تغییر در میزان آنزیم‌های ALT، AST، LDH، ALP و GGT در ماهیانی که سرب دریافت کردند در مقایسه با گروه شاهد افزایش معنی‌داری نشان می‌دهد، که افزایش در میزان آنزیم‌ها نشان دهنده آسیب و اختلال در عملکرد بافت‌ها (مغز، آیشش، کبد، کلیه، استخوان و ...) می‌باشد.

اثر درمانی و پیشگیری کننده سیر در مسمومیت با سرب گزارش شده است، شاید این اثر ناشی از حضور اسیدهای آمینه سولفور دار و ترکیباتی که گروه بروکسیدیل آزاد و گروه‌های آمینو در ساختمان آنها باشد. این ترکیبات فعال بیولوژیکی سرب را چلاته می‌کنند و دفع آن را از بدن افزایش

(GraphPad Software, USA) انجام شد. در تمامی موارد، داده‌ها بر اساس میانگین و خطای معیار ($\text{mean} \pm \text{SEM}$) بیان شده‌اند. بر روی داده‌ها آزمون نرمالیتت صورت پذیرفت و با توجه به توزیع نرمال آنها، گروه‌های مختلف توسط آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA one-way) و آزمون تکمیلی بنفرونی (Multiple Comparison Test Bonferroni's) مقایسه شدند.

نتایج

میزان آنزیم ALP در گروه ۲ (تماس با سرب) نسبت به گروه شاهد افزایش قابل توجهی را نشان می‌دهد ($p < 0/001$). میزان این آنزیم همچنین بین گروه‌های ۲ و ۳ ($p < 0/01$) و گروه‌های ۴ و ۵ ($p < 0/001$) اختلاف معنی‌داری را نشان می‌دهد. میزان ALP در گروه ۴ نزدیک به گروه شاهد می‌باشد (نمودار ۱).

میزان آنزیم ALT در بین گروه‌های مختلف تحت آزمایش اختلاف معنی‌داری نشان می‌دهد، بطوریکه میزان آنزیم در گروه ۲ نسبت به گروه شاهد ($p < 0/001$) و گروه ۳ ($p < 0/01$) و گروه ۴ و ۵ ($p < 0/001$) اختلاف معنی‌داری را نشان می‌دهد. میزان ALT در گروه ۴ به میزان زیادی کاهش یافته و تقریباً نزدیک به گروه شاهد می‌باشد (نمودار ۲).

در بین گروه‌های مختلف تحت آزمایش از نظر میزان آنزیم GGT سرمی اختلاف معنی‌داری مشاهده می‌شود، بطوریکه GGT در گروه ۲ نسبت به گروه شاهد و گروه‌های تحت درمان با آلیسین افزایش فراوانی را نشان می‌دهد. میزان GGT در گروه ۲ در مقایسه با گروه‌های ۴ و ۵ ($p < 0/001$) و گروه ۵ ($p < 0/01$) اختلاف معنی‌داری وجود دارد (نمودار ۳).

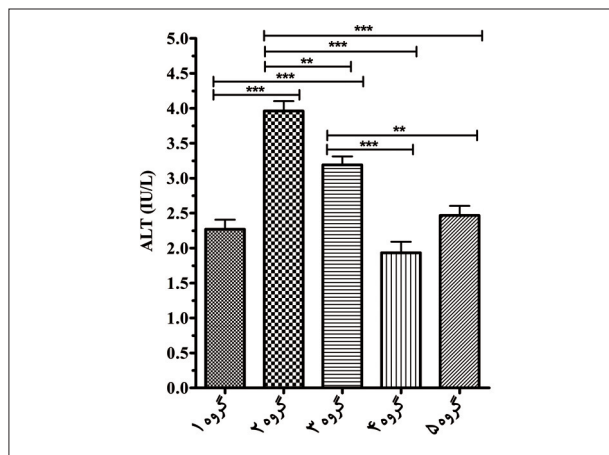
میزان آنزیم AST در بین گروه‌های مختلف آزمایشی اختلاف معنی‌داری نشان می‌دهد. میزان آنزیم AST در گروه ۲ به طور قابل توجهی نسبت به گروه شاهد نشان می‌دهد ($p < 0/001$). میزان آنزیم AST همین طور بین گروه ۲ و گروه‌های تحت درمان با آلیسین (گروه‌های ۳، ۴، ۵) اختلاف معنی‌داری را نشان می‌دهد ($p < 0/001$). میزان آنزیم در گروه ۴ در حد گروه شاهد کاهش یافته است (نمودار ۴).

میزان آنزیم LDH در بین گروه‌های مختلف آزمایشی اختلاف معنی‌داری را نشان می‌دهد. میزان این آنزیم در گروه ۲ به طور قابل ملاحظه‌ای در مقایسه با گروه شاهد بیشتر است ($p < 0/001$). میزان آنزیم LDH همین طور بین گروه ۲ و گروه‌های تحت درمان با آلیسین (گروه‌های ۳، ۴، ۵) اختلاف معنی‌داری را نشان می‌دهد ($p < 0/001$). میزان آنزیم LDH در گروه ۴ به طور نسبی به میزان آن در گروه شاهد نزدیک می‌باشد (نمودار ۵).

بحث

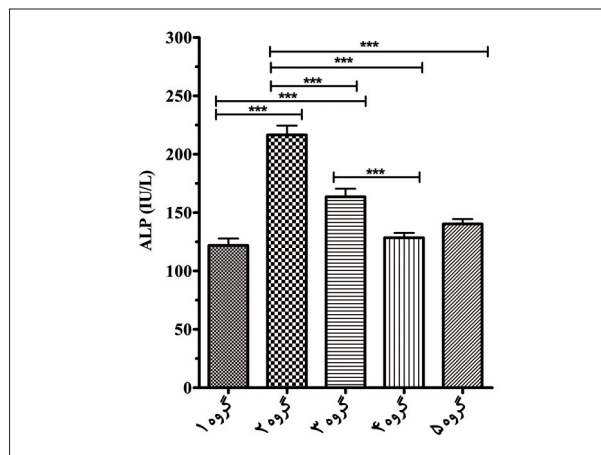
سلول‌های موجود در بافت‌ها حاوی آنزیم‌های می‌باشد که در ارتباط با کارکرد خاص سلول مربوط فعالیت می‌کنند و تمام واکنش‌های بیوشیمیایی داخل سلول‌ها توسط آنها کاتالیزور می‌شوند، هنگامی که





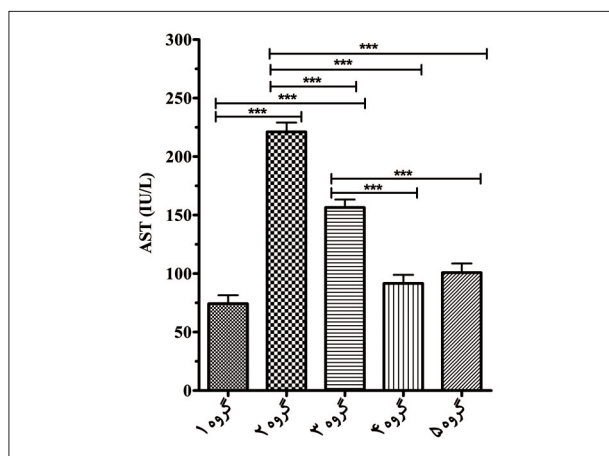
نمودار ۲- میزان آنزیم ALT در سرم خون ماهیان تحت آزمایش در گروههای مختلف. دادهها بر اساس میانگین + خطای معیار نشان داده شده اند. اختلاف معنی دار بین گروهها توسط علامت ستاره مشخص شده است (*: $p < 0.05$ ، **: $p < 0.01$ و ***: $p < 0.001$).

گروه ۵	گروه ۴	گروه ۳	گروه ۲	گروه ۱	
۲/۴۷	۱/۹۳	۳/۱۹	۳/۹۶	۲/۲۷	میانگین
۰/۱۴	۰/۱۶	۰/۱۲	۰/۱۴	۰/۱۴	خطای معیار



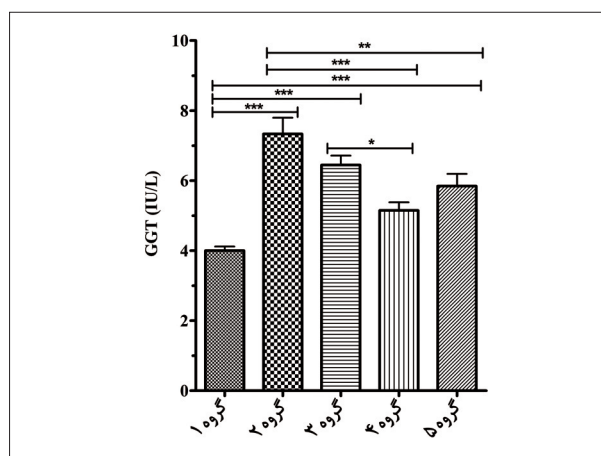
نمودار ۱- میزان آنزیم ALP در سرم خون ماهیان تحت آزمایش در گروههای مختلف. دادهها بر اساس میانگین + خطای معیار نشان داده شده اند. اختلاف معنی دار بین گروهها توسط علامت ستاره مشخص شده است (*: $p < 0.05$ ، **: $p < 0.01$ و ***: $p < 0.001$).

گروه ۵	گروه ۴	گروه ۳	گروه ۲	گروه ۱	
۱۴۰/۴	۱۲۸/۵	۱۶۳/۶	۲۱۶/۶	۱۲۲/۰	میانگین
۴/۱	۴/۱	۶/۹	۸/۰	۵/۹	خطای معیار



نمودار ۴- میزان آنزیم AST در سرم خون ماهیان تحت آزمایش در گروههای مختلف. دادهها بر اساس میانگین + خطای معیار نشان داده شده اند. اختلاف معنی دار بین گروهها توسط علامت ستاره مشخص شده است (*: $p < 0.05$ ، **: $p < 0.01$ و ***: $p < 0.001$).

گروه ۵	گروه ۴	گروه ۳	گروه ۲	گروه ۱	
۱۰۰/۸	۹۱/۶	۱۵۶/۵	۲۲۱/۲	۷۴/۳	میانگین
۷/۸	۷/۴	۶/۸	۷/۹	۷/۲	خطای معیار



نمودار ۳- میزان آنزیم GGT در سرم خون ماهیان تحت آزمایش در گروههای مختلف. دادهها بر اساس میانگین + خطای معیار نشان داده شده اند. اختلاف معنی دار بین گروهها توسط علامت ستاره مشخص شده است (*: $p < 0.05$ ، **: $p < 0.01$ و ***: $p < 0.001$).

گروه ۵	گروه ۴	گروه ۳	گروه ۲	گروه ۱	
۵/۸۴	۵/۱۵	۶/۴۴	۷/۳۳	۴/۰۰	میانگین
۰/۳۵	۰/۲۳	۰/۲۷	۰/۴۶	۰/۱۲	خطای معیار

کبد، کلیه، مغز شدیداً کاهش نشان می دهد (۸). Hanafy و همکاران در سال ۱۹۹۴ مفید بودن سپرد دفع سرب از جوجه هایی که بطور تجربی دچار مسمومیت با سرب شده بودند را آزمایش کردند. آنها نشان دادند که غلظت سرب در بافت های ماهیچه و کبد جوجه هایی که سرب و سیر را بطور همزمان دریافت داشته اند بطور قابل توجهی کمتر از جوجه هایی است که تنها سرب را دریافت کرده اند (۹).

می دهند که منجر به کاهش تجمع سرب در بافت ها و خون می گردد (۸، ۹، ۲۰).

Najar-nezhad و همکاران در سال ۲۰۰۸ اعلام کردند، گوسفندانی که بطور تجربی مسمومیت با سرب در آنها ایجاد شده، تجویز خوراکی آلئوسین موجب کاهش غلظت سرب در خون و همین طور آلئوسین در حذف سرب از استخوان ها بسیار موثر بوده است. هم چنین میزان سرب در



جدول ۱- مقادیر و زمان دریافت استات سرب و آلیسین در گروه های درمان و کنترل.

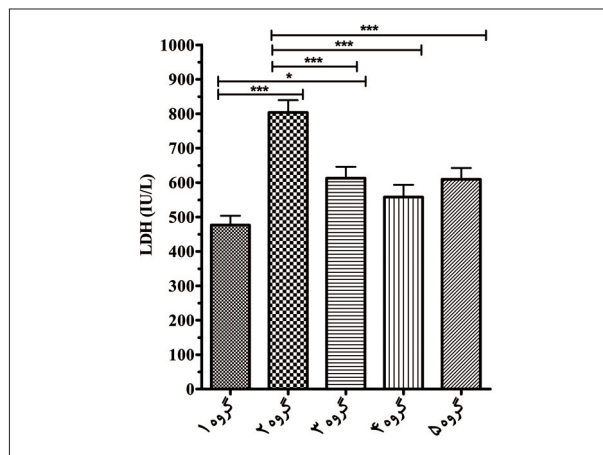
گروه	روز ۵-۱	روز ۱۵-۶
کنترل	-	-
۲	-	استات سرب
۳	آلیسین ۵mg/kg	آلیسین ۵mg/kg، استات سرب
۴	آلیسین ۱۰mg/kg	آلیسین ۱۰mg/kg، استات سرب
۵	-	آلیسین ۱۰mg/kg، استات سرب

معنی دار می باشد. در گروه ۵ (گروه درمانی) آنزیم های AST، LDH، ALP، و ALT ($p < 0.001$) و GGT در مقایسه با گروه ۱ اختلاف معنی دار را نشان می دهد. هم چنین میزان آنزیم ها بین گروه ۴ (پیشگیری) و گروه ۵ (درمانی) اختلاف معنی داری را نشان نمی دهد. بنابراین این می توان اینطور استنباط کرد که مسمومیت با سرب و استفاده همزمان آلیسین می تواند در درمان موثر باشد. بعلاوه روش پیشگیری و حمایتی برای جلوگیری از مسمومیت ضروری نمی باشد.

با توجه به نتایج مطالعه حاضر و مطالعات اخیر سایر محققان در سایر گونه های جانوری از جمله ماهی به نظر می رسد که ترکیبات حاوی سرب باعث ایجاد تغییرات در مقادیر آنزیم های سرم خون می شود که مربوط به تاثیر سمی این ترکیبات روی بافت های ماهی (کبد، کلیه و مغز...) می باشد و استفاده از گیاهی از جمله سیرو عصاره آن آلیسین می تواند به عنوان یک پادزهر برای جلوگیری از مسمومیت بکار رود. اما مطالعات بیشتری در زمینه تداخل عملکرد سرب و آلیسین در مسمومیت با سرب مورد نیاز می باشد.

References

- Abel, P. D (1998). Water Pollution Biology. Taylor and Francis Ltd. London. UK.
- Almeida, J. A., Novelli, E. L. B., Dal Pai Silva, M., Alves Junoir, R (2001). Environmental cadmium exposure and metabolic response of the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). J. Environ. Pollut. 114: 169-175.
- Angelove, A., Hisitev, H., Belchev, L. (2002) Influence of ascorbic acid, thiamine or their combination on lead poisoning albino rats. Bulgarian. J. Vet. Med. 5: 233-239.
- Benson, W. H., Baer, K. N., Stackhouse, R. A., Watson, C. F. (1987) Influence of cadmium exposure on selected hematological parameters in freshwater



نمودار ۵- میزان آنزیم LDH در سرم خون ماهیان تحت آزمایش در گروه های مختلف. داده ها بر اساس میانگین + خطای معیار نشان داده شده اند. اختلاف معنی دار بین گروه ها توسط علامت ستاره مشخص شده است ($p < 0.05$ ، *؛ $p < 0.01$ ، **؛ $p < 0.001$ ، ***).

گروه ۵	گروه ۴	گروه ۳	گروه ۲	گروه ۱	
۶۰۹/۵	۵۵۷/۸	۶۱۳/۰	۸۰۳/۶	۴۷۶/۸	میانگین
۳۲/۸	۳۵/۸	۳۳/۰	۳۵/۷	۲۶/۶	خطای معیار

Senapati و همکاران در سال ۱۹۹۷ نشان دادند که عصاره سیر غلظت سرب را در ارادر و مدفوع موش ها افزایش می دهد (دهد (۱۹). Massadeh و همکاران در سال ۲۰۰۷ نشان دادند تجویز عصاره سیر متعاقب ایجاد مسمومیت با سرب در موش غلظت سرب در بافت های کبد، کلیه، قلب، طحال و خون آنها را به میزان قابل توجهی کم نموده است (۱۳). Senapati و همکاران در سال ۲۰۰۱ اثر عصاره سیر بر کاهش غلظت سرب بافتی در موش های که بطور تجربی مسموم شده بودند را ارزیابی کردند. آنها نشان دادند که استفاده هم زمان عصاره سیر همراه با سرب به مقدار زیادی باعث کاهش غلظت سرب در بافت های کبد، کلیه، مغز، استخوان و خون می شود. هم چنین موش های که مقدار بالاتری از عصاره سیر دریافت کرده بودند، غلظت سرب خون آنها به میزان بیشاری کاهش یافته بود (۲۰).

در بررسی حاضر تجویز خوراکی آلیسین احتمالاً در کاهش ضایعات ناشی از سرب در بافت های مختلف بدن ماهی کپور موثر بوده است، آنزیم های مورد مطالعه در گروهی که تنها سرب دریافت کرده بودند نسبت به گروه شاهد افزایش معنی داری را نشان می دهد. از سویی میزان این آنزیم ها در گروه های ۳ و ۴ (گروه پیشگیری) که آلیسین دریافت کرده بودند، بطور معنی داری نسبت به ماهیان گروه ۲ کاهش نشان می دهد ($p < 0.001$).

با افزایش دوز خوراکی آلیسین در جیره غذایی ماهیان (گروه ۴) مقدار آنزیم ها به میزان بیشتری کاهش نشان می دهند، بطوری که کاهش در میزان آنزیم ها ALP، AST و ALT ($p < 0.001$) و GGT ($p < 0.05$)



- teleost, *Notemigonus chrysoleucas*. *Ecotoxicol. Saf.* 13: 92-96.
5. Chandravathy, V. M., Reddy, S. L. M. (1996) Lead nitrate exposure changes in carbohydrate metabolism of freshwater fish. *J. Environ. Biol.* 17:75-79.
 6. Crow, A., Morgan, E. H. (1996) Interaction between tissue up take of lead and iron in normal and iron deficient rats during development. *J. Trace Elem. Res.* 52:249-261.
 7. Dey, S., Swarup, D. (1995) Treatment of lead toxicity in calves. *Vet. Hum. Toxicol.* 37:230-232.
 8. Flower, B. A., Dural, G. (1991) Effects of lead on the kidney, role of high affinity lead-binding proteins. *J. Environ. Health. Perspect.* 91:77-80.
 9. Hanafy, M. S. M., Shalaby, S. M., Elfonly, M. A. (1994) Effect of garlic on lead contents in chicken tissue. *Deutscha- Tierarztlide- Wochenschrift.* 101: 157-158.
 10. Heath, A. G. (1995) *Water Pollution and Fish Physiology.* (2nd ed.) CRC Press, New York. USA.
 11. James, R., Sampath, K., Jancy Pattu, V., Devakiamma, G. (1992) Utilization of *Eichhorina crassipes* for the reduction mercury toxicity on food transformation in *Heteropneustes fossilis*. *J. Aqua. Trop.* 7:189- 196.
 12. Karan, V., Vitorovic, S., Tutundzic, H., Polksie. V. (1998) Functional enzymes activity and gill histology of carp after copper sulfate exposure and recovery. *J. Ecotoxicol. Environ. Saf.* 40:49-55.
 13. Massadeh, A. M., Al-Safi, S. A., Momani, I. F. (2007) Garlic (*Allium sativum*) as a potential antidote for cadmium and lead intoxication: cadmium and lead distribution and analysis in different mice organs. *Biol. Trace Elem. Res.* 120:227-234.
 14. Mcewen, D., Teichert - Kuliszewsk, K., Girgis, G. R. (1989) Effect of chronic mercuric chloride exposure on liver and muscle enzymes in fish. *J. Comp. Biochem. Physiol.* 94:265-270.
 15. Miron, T., Sivaraman, H., Rabinkov, A. (2006) A method for continuous production of allicin using immobilized allinase. *Analyt. Biochem.* 351:152-154.
 16. Mauzzez, O., Guluzar, A., Mustafa, C. (2009) Effects of metal (Ag, Cd, Cr, Cu, Zn) exposure on some enzymatic and non-enzymatic indicator in the liver of *Oreochromis niloticus*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 82:317-321.
 17. Najar- Nezhad, V., Aslani, M. R., Balali Mood, M. (2008) Evaluation of Allicin for the treatment of experimentally induced subacute lead poisoning in sheep. *J. Biol. Trace Elem. Res.* 126:141-147.
 18. Rai, L. E., Raizada, M. (1988) Impact on chromium and lead on *Nostoc Muscorum* regulation of toxicity by ascorbic acid, glutathione, sulfur containing amino acids. *J. Ecotoxicol. Environ. Safety.* 15:195-205.
 19. Senapati, S. K. (1997) Evaluation of medicine herbs in amelioration of plumbism in rats. *Indian. Vet. Res. Institute.* 107:160-165.
 20. Senapati, S. K., Dey, S., Dwivedi, S. K. (2001) Effect of garlic (*Allium sativum*) extract on tissue lead level in rats. *J. Ethnopharmacol.* 76:229-232.
 21. Shahsavani, D., Movassaghi, A. R., Omidzahir, SH. (2009) Protective effect of thiamine on the induced lesions caused by experimental lead poisoning in Gold fish (*Carassius auratus*). *Iran. J. Vet. Res.* 3: 237-242.
 22. Singh, H. S., T. V. Reddy. (1990). Effect of copper sulfate on hematology, blood chemistry and hepatosomatic index of an Indian catfish, *Heteropneustes fossilis* (Bloch) and its recovery. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 20: 30-35
 23. Svoboda, M. (2001). Stress in fish - review. *Bul. VURH Vodnany.* 37: 69- 191.
 24. Tandon, S. K., Sahrma, B. C., Singh, S. (1988) Chelation in metal intoxication: chelating agents containing vicinal thioether groups as antidotes of lead toxicity. *Drug. Chem. Toxicol.* 11:71-84.
 25. Yamawaki, K., Hashimoto, W., Fujii, K., Koyama, J., Ikeda, Y., Ozaki, H. (1986) Hematological changes in carp (*Cyprinus carpio*) exposed to low cadmium concentration. *Bull of the Japanese. Soc. Sci. Fish.* 59:459- 466.



THE EFFECTS OF ORALLY ADMINISTERED ALLICIN ON SERUM ACTIVITY OF SOME ENZYMES IN EXPERIMENTAL LEAD POISONING IN COMMON CARP (*CYPRINUS CARPIO*)

Ziadloo, E.¹, Shahsavani, D.^{2*}, Kazerani, H.R.³, Aslani, M.R.⁴

¹Graduated from the Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad - Iran.

²Department of Food Hygiene and Aquatic Animal Health, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

³Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

⁴Department of Veterinary Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

(Received 8 March 2011, Accepted 20 July 2011)

Abstract:

Lead poisoning in aquatic animals is of special importance, as is also true for all living creatures. Alicin, one of the main active components of garlic, is expected to play a protective role against lead poisoning, due to its abundant sulfur amino acids. This research studied the toxic effects of lead in Common Carp focusing on blood serum enzyme activities. The study focused on five groups each including 46 Common Carp (100±10g). The groups 2-5 received lead acetate at 7mg/L for 10 days. Group 3 received 5mg allicin/KgBwt; and Group 4 received daily amounts of 10mg allicin/KgBwt, beginning 5 days before lead acetate was added. Group 5 received the same as Group 4, but received allicin for the same period as it received lead acetate. At the end of the experimental period a measurement was made of serum enzymes including GGT, ALT, AST, LDH and ALP. The studied parameters in Group 2, which was exposed to lead, were significantly higher when compared to the Control Group ($p<0.001$). The enzyme activities in groups receiving allicin (Groups 3-5) were significantly, and dose dependently, less than those of Group 2. However, no significant differences were observed between Groups 4 and 5. The results of the present research suggest a potent effect for allicin in alleviating tissue injuries following lead poisoning.

Key words: common carp, blood, enzyme, lead, allicin.

*Corresponding author's email: shahsavani@ferdowsi.um.ac.ir, Tel: 0511-8763656, Fax: 0511-8763852

