

اثرات آکريل آميد بر تغييرات بافتی، پارامترهای خونی و آنزیمی موش های صحرايي نر

دکتر عبدالرسول نامجو^{۱*}، دکتر محمود رفيعيان کوپايی^۲، دکتر اسفندیار حیدریان^۳

گروه پاتولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران؛ ^۲مرکز تحقیقات گیاهان دارویی؛ دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران؛ ^۳مرکز تحقیقات بیوشیمی بالینی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۱/۱/۱۴ اصلاح نهایی: ۹۱/۴/۳ تاریخ پذیرش: ۹۱/۹/۱۸

چکیده:

زمینه و هدف: آکريل آميد یک ترکیب شیمیایی است و در اثر پخت غذاهای نشاسته ای و سرخ کردن سیب زمینی تولید می شود. این مطالعه با هدف بررسی اثرات خوراکی آکريل آميد بر تعدادی از آنزیم های بیوشیمیایی خون، پارامترهای خونی و تاثیرات پاتولوژیک آن بر بافت های مغز، کبد و کلیه موش های صحرايي نر انجام گرفت.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی ۲۰ موش صحرايي نر در دو گروه تقسیم شدند. گروه مورد، آکريل آميد با دوز روزانه ۲۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن و گروه کنترل، آب مقطر به مدت ۴۰ روز دریافت کردند. در پایان دوره مطالعه، بصورت تصادفی از هر گروه ۶ سر موش انتخاب و پس از بیهوشی، نمونه خون جهت مطالعات خون شناسی و بررسی فعالیت تعدادی از آنزیم های سرمی گرفته شد. همچنین نمونه بافت های کبد، کلیه، مغز و عضلات برای بررسی آسیب های بافتی جمع آوری شدند. برای تحلیل داده ها از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف و آزمون تی مستقل استفاده شد.

یافته ها: آکريل آميد باعث کاهش معنی دار در فعالیت سرمی آلانین آمینوترانسفراز نسبت به گروه کنترل شد ($P < 0/05$)، اما تغییری در پروتئین کل، نیتروژن اوره خون، کراتینین و پارامترهای خونی نسبت به گروه کنترل مشاهده نشد ($P > 0/05$). افزایش فعالیت های آنزیمی کراتین فسفوکیناز و لاکتات دهیدروژناز گروه تیمار نسبت به گروه کنترل معنی دار نبود ($P > 0/05$). مطالعات هیستوپاتولوژیک تغییرات دژنراتیو و نکروز در بافت های کبد، ساقه مغز و عضلات اسکلتی موش های صحرايي نر گروه مورد نشان دادند.

نتیجه گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که مصرف آکريل آميد باعث تغییرات بافتی سیستم عصبی، عضلات اسکلتی و کبد موش های صحرايي می شود. بنابراین می بایستی راهکارهای مناسبی را برای کاهش مواجهه با آکريل آميد در کارهای صنعتی و مصارف غذایی بکار برد.

واژه های کلیدی: آکريل آميد، آسپارات آمینوترانسفراز، آلانین آمینوترانسفراز، کراتین فسفوکیناز، لاکتات دهیدروژناز.

مقدمه:

مقدار متوسط (۵۰-۵ میکروگرم بر کیلوگرم) و غذاهای حاوی کربوهیدرات مثل سیب زمینی، ذرت و گندم به میزان بالا (۴۰۰۰-۱۵۰ میکروگرم بر کیلوگرم) تولید می شود. آکريل آميد در غذاهای گیاهی به میزان بیشتری تولید می شود و این امر به خاطر حضور اسید آمینه آسپارژین در گیاهان است (۴،۳). افرادی که در معرض دود سیگار قرار می گیرند نیز در خطر مواجهه با آکريل آميد هستند (۵). مهمترین راه

آکريل آميد (۲- پروپنآميد یا اکریلیک اسيد آميد) یک آميد غیراشباع با فرمول مولکولی C_3H_5NO است که به صورت کریستال جامد بی رنگ یا سفید رنگ است (۱). آکريل آميد به عنوان یک فراورده صنعتی از ترکیب آب با ماده ای بنام آکريلونیتريل به دست می آید و به طور گسترده در سنتز پلی آکريل آميد ها به کار می رود (۲). آکريل آميد در نتیجه پخت مواد غذایی حاوی پروتئین، به

* نویسنده مسئول: شهرکرد - رحمتیه - دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد - گروه پاتولوژی - تلفن: ۰۳۸۱-۳۳۶۱۰۶۰ E-mail: ar.namjo72@iaushk.ac.ir

ورود آکریل آمید به بدن از طریق مصرف مواد غذایی حاوی آکریل آمید است (۶،۱). به دلیل جذب مناسب این ماده از طریق پوست، آکریل آمید به عنوان یکی از مواد پایه در برخی کرم های پوستی به کار می رود. مقدار جذب پوستی آکریل آمید در محیط آزمایشگاه و در مطالعات تجربی بین ۳ تا ۱۰۰ درصد تخمین زده شده است (۷). آکریل آمید در بدن، سریعاً متابولیز شده و متابولیت های آن به طور معمول از طریق ادرار دفع می شوند. مهمترین مسیر دفع متابولیت های حاصل از جذب آکریل آمید، دفع از طریق ادرار است (۱).

آکریل آمید در یکی از مسیرهای متابولیسمی خود ابتدا با گلوکوتایون ترکیب شده و در ادامه به دو ترکیب دیگر به نام های ان-استیل-اس- (۳-آمینو-۳-پروپیل) سیستئین و اس- (۳-آمینو-۳-پروپیل) سیستئین متابولیز می شود. غلظت گلوکوتایون در کبد انسان برابر با ۳ تا ۵ میکرومول در یک گرم وزن مرطوب کبد بوده و عوامل کاهش دهنده آن می توانند باعث کاهش متابولیسم آکریل آمید شوند. به عنوان مثال، سوء تغذیه به دلیل مصرف کم آمینو اسیدهای سولفوردار نظیر متیونین و سیستئین (به دلیل نیاز در سنتز گلوکوتایون)، عوامل اکسیداتیو که باعث اکسید شدن گلوکوتایون می شوند و آسیب های کبدی نظیر هپاتیت الکلی و سیروز کبدی می توانند باعث کاهش سطح گلوکوتایون در کبد شوند (۷،۲،۱). همچنین آکریل آمید توسط سیتوکروم P450 2E1 اکسید شده و به گلایسید آمید که یک مشتق اپوکسید است تبدیل می شود. گلایسید آمید تحت تاثیر گلوکوتایون-اس- ترانسفراز با گلوکوتایون کونژوگه شده و در نهایت به ان-استیل-اس- (۲-کاربامویل-۲-هیدروکسی اتیل) سیستئین و ان-استیل-اس- (۱-کاربامویل-۲-هیدروکسی اتیل) سیستئین (۱-کاربامویل-۲-هیدروکسی اتیل) سیستئین متابولیز می شود. از سوی دیگر گلایسید آمید تحت تاثیر اپوکسید هیدرولاز، با آب ترکیب شده و هیدرولیز می شود و منجر به شکل گیری ۲ و ۳-دی هیدروکسی پروپیونامید می گردد (۸،۷،۲،۱).

تشنج، عدم تعادل، لرزش عضلانی، بی حالی و رخوت، ضعف عمومی و کاهش بازدهی اندام های حرکتی از مهمترین تظاهرات بالینی در ناراحتی های عصبی ایجاد شده توسط آکریل آمید می باشند. همچنین مهمترین ضایعات هیستوپاتولوژیک و مورفولوژیک بوجود آمده در سلول های عصبی در پی مسمومیت با آکریل آمید، دژنره شدن و تورم پایانه های اعصاب، کروماتولیز مرکزی سلول های گانگلیون در پایانه اعصاب و کاهش قطر رشته های عصبی است (۸). به علاوه آکریل آمید باعث کاهش توانایی حرکت اسپرم نیز می شود. آتروفی بیضه و سمینال وزیکول و کاهش توانایی جفت گیری نیز در اثر مسمومیت با آکریل آمید در حیوانات آزمایشگاهی گزارش شده است. تومورهای تیروئید، مزوتلیوما کیسه بیضه، تومورهای غدد پستانی، کارسینوما ریه، پاپیلوما دهان و آدنوکارسینوما رحمی نیز از دیگر عوارض مصرف آکریل آمید می باشند (۹،۳،۱). آکریل آمید می تواند با پروتئین های حاوی گروه سولفیدریل واقع در دم اسپرم و هسته اسپرم (مثل پروتامین) ترکیب شده و از این راه بر باروری تاثیر بگذارد (۱۰). در مطالعه کشت سلولی آکریل آمید و گلایسید آمید با اثر بر DNA باعث شکسته شدن کروموزوم ها و بروز جهش نقطه ای در آن می شوند که این امر باعث اختلالات کروموزومی و قطع میتوز و در نتیجه عدم رسیدن به وضعیت دیپلوئیدی می شود (۱۱،۳). ترکیبات حاصل از واکنش آکریل آمید و DNA در تمامی بافت های سرطانی موش های مواجهه یافته با آکریل آمید، مشاهده شده است (۱۲). Barber و همکاران طی تحقیقی نشان دادند که نیمه عمر این ماده در پلاسما به دنبال مصرف خوراکی با دوز ۲۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در روز و داخل صفاقی با دوز ۵۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در روز برای هر دو در حدود ۲ ساعت است (۱۳). آکریل آمید با کاهش سطح آنتی اکسیدان های طبیعی بدن سبب افزایش اکسیداسیون و به دنبال آن

۱۲ ساعت بعد از آخرین مصرف آکريل آميد و خارج ساختن غذا از دسترس آنها، با توجه به مطالعات مشابه، جهت انجام آزمایشات از هر گروه شش سر موش به طور تصادفی انتخاب (۱) و پس از بیهوشی با کلروفورم و باز کردن حفره صدری و خونگیری توسط سرنگ استریل از قلب (۱۵)، خون در داخل لوله های حاوی ماده ضد انعقاد اتیلین دی آمین تتراسدیک اسید (EDTA) و لوله های فاقد ماده ضد انعقاد جهت جدا کردن سرم ریخته شد، سپس سرم توسط سانتریفوژ با دور ۳۰۰۰ دور در دقیقه بمدت ۱۰ دقیقه جدا شد (۱۵، ۱۶) و نمونه های بافتی کبد، کلیه، مغز و عضلات جهت مطالعات آسیب شناسی در داخل فرمالین بافر ۱۰ درصد قرار گرفتند. مطابق روش های معمول بافت شناسی بلوک های پارافینی تهیه و پس از برش های با ضخامت ۵ میکرون با میکروتوم به روش هماتوکسیلین و ائوزین رنگ آمیزی شدند (۱۵). آزمایشات هماتولوژیک شامل شمارش گلبول های قرمز (RBC)، شمارش گلبول های سفید (WBC)، میزان هموگلوبین خون (Hb)، درصد هماتوکریت (HCT) حجم متوسط سلولی (MCV)، هموگلوبین متوسط سلولی (MCH)، غلظت متوسط هموگلوبین سلولی (MCHC) و تعیین غلظت هموگلوبین با دستگاه سل کاتر Sysmex مدل KX21 ساخت کشور ژاپن پس از کالیبره نمودن با هموگلوبین موش صحرایی استاندارد انجام گرفت. سنجش فعالیت سرمی آنزیم های آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) کراتینین، اوره و اسید اوریک، کراتین - فسفوکیناز (CPK)، لاکتات - دهیدروژناز (LDH) توسط دستگاه اتوالایزر مدل BT-3000 ساخت شرکت بیوتکنیکا کشور ایتالیا، با استفاده از کیت های پارس آزمون انجام شد.

بر اساس نتایج حاصل از آزمون کلموگروف اسمیرنوف جهت برآورد نرمال بودن توزیع داده ها، تمامی داده ها از توزیع نرمال پیروی کردند. داده ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار تنظیم و اختلاف معنی دار بین

تخریب سلول های بدن می شود (۱۴). در مجموع برخی از اثرات سوء تماس با آکريل آميد مورد بررسی قرار گرفته است ولی با توجه به اینکه آکريل آميد در اثر پخت غذاهای نشاسته ای تولید می شود و بخش قابل توجهی از رژیم غذایی انسان را غذاهای نشاسته ای پخته شده تشکیل می دهند؛ بنابراین این مطالعه با هدف بررسی اثرات خوراکی آکريل آميد بر برخی از آنزیم های بیوشیمیایی سرم، پارامتر های خونی و تاثیرات پاتولوژیک آن بر بافت های مغز، کبد، کلیه موش های صحرایی نر طراحی شد.

روش بررسی:

این مطالعه تجربی - حیوانی بر روی ۲۰ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با وزن تقریبی 20 ± 230 گرم انجام گرفت. موش ها از انستیتو پاستور اهواز تهیه و در محل پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد در دمای 2 ± 23 درجه سانتیگراد، دوره نوردهی به صورت ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و به صورت دو تا سه تایی در قفس های پلی کربنه با در پوش سیمی نگهداری شدند. تغذیه حیوانات توسط غذای پلت شده استاندارد و بدون محدودیت در آب و خوراک انجام شد. با توجه به احتمال مرگ و میر موش ها در گروه تست، طی دوره آزمایش، موش های صحرایی بصورت تصادفی در دو گروه مساوی ۱۰ تایی شامل گروه کنترل و گروه تیمار آکريل آميد با دوز ۲۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن (۹) تقسیم شدند. آکريل آميد مورد استفاده در این مطالعه از شرکت شیمیایی مرک (کشور آلمان) تهیه شد. گروه تیمار، آکريل آميد را به شکل محلول در آب مقطر ۱۰ میلی لیتر به ازای هر کیلوگرم وزن بدن (۹)، به طور روزانه و به مدت ۴۰ روز از طریق گاواژ دریافت کردند. تمام دستورالعمل های کار با حیوانات آزمایشگاهی مطابق با دستورات کمیته اخلاق و مقررات محلی دانشگاه انجام گرفت.

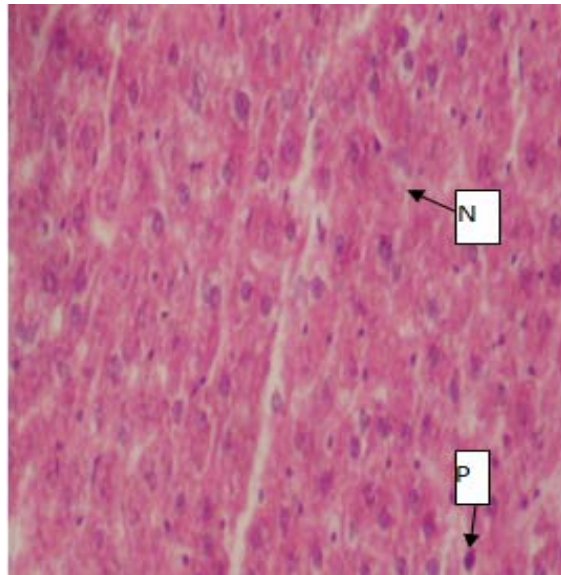
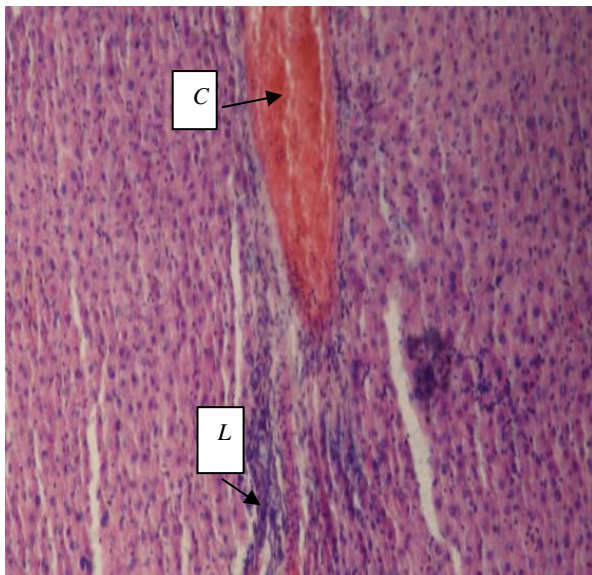
گروه های تحت مطالعه تفاوت معنی داری را نشان نداد ($P > 0/05$). دامنه تغییرات گلبول های سفید در این مطالعه بین ۱۰۰۵۰-۵۹۸۰ عدد در میلیتر مکعب خون بود. تعداد کل گلبول های سفید گروه آکریل آمید نسبت به گروه کنترل کاهش یافته است اما این کاهش شدید معنی دار نبود ($P > 0/05$).

تاثیر آکریل آمید بر تعدادی از شاخص های بیوشیمیایی سرم موش های صحرایی در جدول شماره ۲ ارائه شده است. نتایج نشان می دهد که فعالیت سرمی ALT نسبت به گروه کنترل کاهش معنی داری داشته است ($P < 0/05$). فعالیت آنزیمی CPK و LDH بدنال مصرف آکریل آمید نسبت به گروه کنترل افزایش یافته است اما این افزایش معنی دار نبوده است ($P > 0/05$).

گروه کنترل و تیمار توسط آزمون تی مستقل (Independent samples t-test) در سطح معنی داری $P < 0/05$ توسط نرم افزار آماری SPSS 15 تعیین گردید.

یافته ها:

تاثیر آکریل آمید بر پارامترهای خونی موش های صحرایی نر شامل RBC، Hb، HCT، MCV، MCH، WBC و MCHC در جدول شماره ۱ ارائه شده است. مصرف آکریل آمید باعث کاهش تعداد گلبول های قرمز نسبت به گروه کنترل شد اما این کاهش تعداد معنی دار نبود. میزان هموگلوبین، مقدار هماتوکریت، شاخص خونی میانگین حجم هر گلبول قرمز، شاخص میانگین غلظت هموگلوبین در هر گلبول قرمز، تغییر در تعداد پلاکت های خون و تغییرات تعداد سلول های قرمز خون در



تصویر شماره ۱: بررسی میکروسکوپی بافت کبد موش های صحرایی در گروه آکریل آمید با دوز ۲۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن.

سمت چپ بافت کبدی در گروه آکریل آمید ($H&E \times 280$)، سمت راست بافت کبدی در گروه آکریل آمید ($H&E \times 800$)، نواحی نکروز (N)، سلول های پیکنوز (P)، نفوذ سلول های آماسی (L) در اطراف ورید مرکزی کبد و پرخونی سیاهرگ مرکزی (C).

بررسی میکروسکوپی بافت کبد گروه کنترل دارای لبول های واضح بود و هیاتوسیت ها به طور منظم و شعاعی به اطراف کشیده شده بودند. در بین هیاتوسیت های کبد سینوزوئیدهای کبد قرار داشتند و ماکروفاژهای کبدی بصورت هسته کشیده در دیواره سینوزوئیدها مشاهده شد. سلول های کبدی بصورت چند ضلعی با هسته وزیکولار، هستک مشخص و سیتوپلاسم صورتی رنگ قرار گرفته بودند. ساختار و نظم هیاتوسیت های کبد در گروه آکریل آمید تا حدی بهم ریخته بود. نفوذ سلول های تک هسته ای و فیبروبلاست نابالغ در اطراف فضای پورت، هیاتوسیت های با هسته پیکنوزه، نکروز کانونی در قسمت های مختلف بافت و پرخونی وریدهای مرکزی مشاهده شد (تصویر شماره ۱).

بررسی میکروسکوپی بافت کلیه نشان داد در گروه کنترل، کلیه از جسمک مالپیگی که خود از کلافه مویرگی و از اطراف توسط کپسول بومن که از سلول های سنگفرشی با هسته واضح پوشیده می شود. در اطراف کپسول بومن لوله های پیچیده نزدیک با اپی تلیوم مکعبی و حاشیه مسواکی، لوله پیچیده دور با

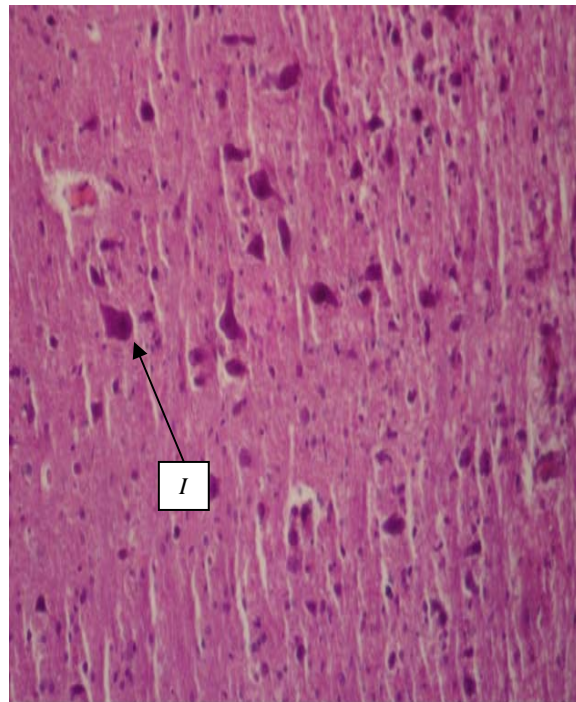
اپی تلیوم مکعبی و هسته های نزدیک و لوله های جمع کننده با اپی تلیوم مکعبی نمایان بود. مصرف آکریل آمید با دوز ۲۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن باعث تغییرات خفیف دژتراسیون توبول ها و ریخته شدن پرزهای حاشیه مسواکی لوله های پیچیده نزدیک به داخل لومن در مقایسه با گروه کنترل شده بود.

از مهمترین تغییرات ایجاد شده در سلول های عصبی ناحیه ساقه مغز و سلول های پورکنز مخچه می توان به تغییرات ایسمیک نوروئال (اوتوزینوفیلیک شدن سیتوپلاسم و چروکیدگی جسم سلولی، تغییرات هسته شامل کوچک شدن، سه گوش شدن یا مثلثی شدن، پیکنوزه شدن و پر رنگ شدن و به رنگ آبی تیره در آمدن و محو شدن یا از بین رفتن هستک در مقایسه با گروه کنترل را نام برد (تصویر شماره ۲). یافته های میکروسکوپی عضلات اسکلتی اندام حرکتی خلفی (ران)، دژتراسیون، نکروز و از هم گسیختگی این عضلات را در اثر مصرف آکریل آمید در مقایسه با گروه کنترل نشان داد (تصویر شماره ۳).

جدول شماره ۱: مقایسه پارامترهای خونی در گروه کنترل و تیمار شده با آکریل آمید در موش های صحرایی نر با استفاده از آزمون تی مستقل.

Pvalue	گروه آکریل آمید (۲۰ mg/kg)	گروه کنترل	پارامترهای خونی
۰/۵۱	۷/۵۶±۰/۶۰	۸/۹۴±۰/۷۸	گلبول های قرمز ($\times 10^6/\mu\text{L}$)
۰/۷۵	۵/۹۸±۰/۳/۹۸	۱۰/۰۵±۳/۶۷	گلبول های سفید ($\times 10^6/\mu\text{L}$)
۰/۴۷	۱۳/۱۸±۳/۳۷	۱۵/۲۵±۰/۹۱	هموگلوبین (g/dl)
۰/۸۵	۴۵/۳۸±۳/۳۷	۵۱/۵۶±۳/۴۸	هماتوکریت (%)
۰/۳۹	۵۹/۹۸±۲/۲۲	۵۷/۷۶±۲/۷۵	حجم متوسط سلولی (FI)
۰/۶۸	۱۷/۴۲±۰/۹۸	۱۷/۰۸±۰/۷۵	هموگلوبین متوسط سلولی (Pg)
۰/۰۶	۲۹/۰۴±۰/۷۶	۳۰/۶۶±۳/۳۸	غلظت متوسط هموگلوبین سلولی (g/dl)
۰/۶۵	۶۶۰/۵۷±۱۳۲/۹۸	۷۷۹/۰۰±۱۶۷/۴۰	تعداد پلاکت ها ($\times 10^3/\text{mL}$)

مقادیر بصورت "میانگین \pm انحراف معیار" می باشد. تعداد نمونه های هر گروه برابر با ۶ سر موش بود، عدم وجود حروف در جدول نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی داری در سطح اطمینان ۹۵ درصد می باشد ($P > ۰/۰۵$).



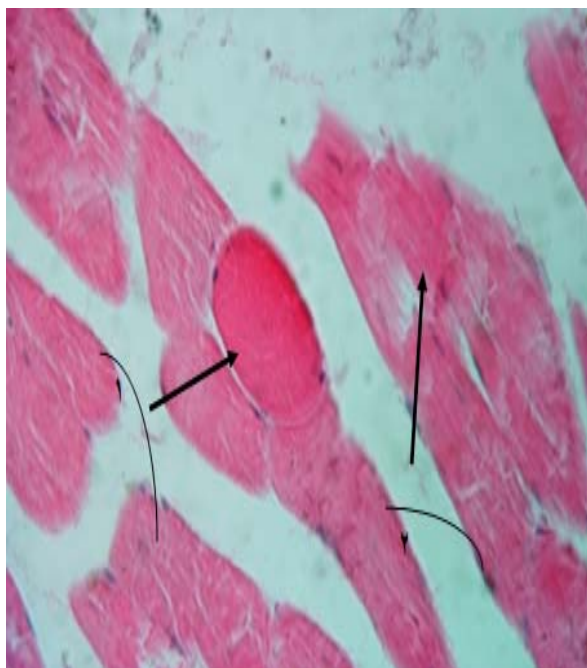
تصویر شماره ۲: تغییرات ایسکمیک و دژنراسیون نورون های ساقه مغز

(I) موش های صحرايي در گروه آکريل اميد با دوز ۲۰ ميلي گرم به ازای هر كيلوگرم وزن (H&E × 400).

جدول شماره ۲: اثر آکريل آميد بر تعدادی از پارامترهای بیوشیمیایی خون در گروه تیمار شده با آکريل آميد با استفاده از آزمون تی مستقل.

مقدار p	گروه آکريل آميد ۲۰ mg/ kg	گروه کنترل	پارامترهای بیوشیمیایی
۰/۰۲۰	*۵۶/۸۵ ± ۱۹/۲۶	۷۴/۱۶ ± ۱۰/۶۲	آلانین آمینوترانسفراز (U/L)
۰/۰۸	۱۵۹/۲۸ ± ۳۰/۴۲	۱۴۵/۱۶ ± ۱۵/۲۳	آسپارات آمینوترانسفراز (U/L)
۰/۱۶	۷۰۰/۷۱ ± ۴۰۳/۹۳	۵۵۱/۶۶ ± ۱۴۱/۷۷	کراتین-فسفوکیناز (U/L)
۰/۷۹	۳۰۵۴/۱۴ ± ۱۶۳۸/۹۱	۲۷۶۸/۱۶ ± ۱۱۸۶/۶۵	لاکتات_دهیدروژناز (U/L)
۰/۲۴	۴۶۵/۱۴ ± ۳۰۲/۴۸	۸۰۶/۶۶ ± ۴۱۱/۲۰	آلکالین فسفاتاز (U/L)
۰/۷۴	۰/۶۲ ± ۰/۰۴	۰/۶۳۳ ± ۰/۰۵۱	کراتینین (mg/dl)
۰/۲۹	۳/۳۴ ± ۲/۱۴	۳/۲۸ ± ۰/۸۹	اوره (mg/dl)
۰/۰۹	۲۲/۷۱ ± ۴/۸۸	۲۷/۳۳ ± ۲/۵۰	نیترژن اوره خون (mg/dl)
۰/۶۶	۶/۵۱ ± ۰/۵۳	۶/۶۸ ± ۰/۴۲	پروتئین (g/dl)

مقادیر بصورت "میانگین ± انحراف معیار" آمده است. تعداد نمونه های هر گروه برابر ۶ سر موش بود.
* نشان دهنده اختلاف معنی داری بین گروه کنترل با گروه تیمار می باشد (P < ۰/۰۵).



تصویر شماره ۳: تصویر میکروسکوپی عضلات اسکلتی اندام حرکتی خلفی در گروه آکریل امید با دوز ۲۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن ($H&E \times 40$).
۱: نکرز قطعه ای عضله اسکلتی در اندام خلفی اطراف عصب سیاتیک، ۲: دژنراسیون و از هم گسیختگی رشته های عضلانی.

بحث:

توزیع می شود (۲۰). در مطالعه حاضر کاهش معنی داری در فعالیت سرمی آنزیم های آلانین آمینو ترانسفراز گروه تیمار نسبت به گروه کنترل مشاهده شد. کاهش مقادیر سرمی آنزیم آلانین آمینو ترانسفراز ممکن است در اثر آسیب وارد شده توسط گلاسید امید به ساختار DNA و تداخل بیان ژن در سنتز پروتئین باشد. از طرفی آکریل امید باعث افزایش فعالیت پروکسیدازهای لیپید شده به این ترتیب با افزایش واکنش های اکسیداتیو اسیدهای چرب منجر به افزایش سطح رادیکال های آزاد می شود (۱۴). به هنگام ایجاد اولیه ضایعات کبدی، سطح سرمی آنزیم آلانین آمینو ترانسفراز و آلکالین فسفاتاز در سرم افزایش یافته و با توجه به نیمه عمر کوتاه آنزیم ها که حدود چند ساعت در خون است سطح سرمی آنزیم ابتدا افزایش و سپس به مقدار پایه می رسد. همچنین مطالعات نشان داده اند که در آسیب های مزمن کبدی

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که آکریل امید یک ترکیب توکسیک است که توسط محققین دیگر نیز گزارش شده است (۱۷،۳). علائم ظاهری موش های صحرائی گروه تیمار در روز ۲۰ آزمایش شامل پرخونی مخاط، مورخستگی، ضعف و فلجی اندام حرکتی خلفی بود که با مطالعات Chapin و همکاران (۱۸) و Shukla و همکاران (۱۹) مطابقت داشت. در تحقیق حاضر هر چند کاهش مقدار هموگلوبین در گروه آکریل امید در مقایسه با گروه کنترل معنی دار نبود ولی این کاهش نسبی ممکن است بعلت کاهش سنتز هموگلوبین یا افزایش تخریب هموگلوبین باشد و کاهش نسبی مقدار هموگلوبین نیز ممکن است باعث اختلال در ظرفیت حمل اکسیژن خون و متعاقب آن باعث ایجاد ضعف بدن در موش ها شده باشد. آکریل امید با اتصال به هموگلوبین در جریان خون سیر کرده و متعاقباً در ارگان های مختلف

و پیشرفت آسیب، فعالیت ALT کاهش و نسبت AST به ALT بتدریج افزایش می یابد که با مطالعه حاضر مطابقت دارد (۲۱). از طرفی ممکن است کاهش فعالیت آنزیمی ALT در گروه دریافت کننده آکریل آمید به دنبال کاهش ویتامین B6 و افزایش تخریب پیریدوکسال ۵ فسفات باشد (۲۲). عدم مشاهده تغییرات آنزیمی های کراتینین، نیتروژن، اوره خون و اوره بدلیل عدم تاثیر آکریل آمید بر ساختارهای عملکردی کلیه است (تصویر شماره ۲).

در مطالعه ما تغییرات هیستوپاتولوژیک شامل نفوذ سلول های تک هسته ای در اطراف فضای پورت، دژنراسیون و نکروز هپاتوسیت های کبد در قسمت های مختلف بافت و پرخونی وریدهای مرکزی در بافت کبد موش های صحرایی گروه تیمار مشاهده شد که با یافته های دیگر مطالعات همخوانی دارد (۲۴، ۲۳). Barber و همکاران گزارش کردند که آکریل آمید و متابولیت های گلایسید آمید در حالت طبیعی الکتروفیلیک هستند و همین که آکریل آمید جذب شد توسط گلوکوتایون-اس-ترانسفراز به ان-استیل-اس سیستئین کونژوگه می شود و یا با سیتوکروم P ۴۵۰ واکنش داده و تولید گلایسید آمید می کند و گلایسید آمید تشکیل شده به طور مشخص از فعالیت گلوکوتایون اس ترانسفراز جلوگیری می کند (۱۳). گلوکوتایون اس ترانسفراز از آنزیم های سم زدای کبدی است و نقش مهمی در نگهداری عملکرد سلولی دارد. کونژوگه شدن آکریل آمید و یا متابولیت آن یعنی گلایسید آمید با آنزیم گلوکوتایون اس ترانسفراز باعث اختلال در عملکرد سلول و مرگ سلولی می شود. مطالعات نشان داده که اثرات مخرب آکریل آمید و یا گلایسید آمید از طریق تاثیر بر گروه های سولفیدریل هموگلوبین و دیگر پروتئین ها می باشد (۱۳). بنابراین ضایعات هیستوپاتولوژیک مشاهده شده در کبد گروه تیمار می تواند ناشی از واکنش آکریل آمید و یا گلایسید آمید با پروتئین های کبدی باشد. Yousef و همکاران نشان دادند که

مصرف آکریل آمید در آب آشامیدنی به مدت ۱۰ هفته در موش های صحرایی با دوز های ۵، ۰/۵، ۵، ۲۵، ۵۰، ۲۵۰ و ۵۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم وزن بدن، باعث کاهش فعالیت آنزیم کراتین-فسفوکیناز، آسپاراتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز می شود (۲۴). حال آنکه مطالعه حاضر کاهش معنی داری در فعالیت آنزیم آلانین آمینوترانسفراز نسبت به گروه شاهد را نشان داد. از طرفی مطالعات نشان داده که آکریل آمید و متابولیت گلایسید آمید قادر به اتصال به DNA و ایجاد انحراف کروموزومی است (۲۵). بنابراین میزان گلوکوتایون در اثر مسمومیت با آکریل آمید دچار کاهش می شود و قدرت دفاعی بدن در مقابله با رادیکال های آزاد کاهش می یابد و رادیکال های آزاد می توانند باعث از بین رفتن غشاء سلول و انهدام سلول ها شوند که این مکانیسم می تواند منجر به تغییرات بافتی نوروون های سیستم اعصاب مرکزی و عضلات اسکلتی شود (۱۴) که با نتایج بدست آمده در این تحقیق همخوانی دارد. افزایش فعالیت آنزیم کراتین-فسفوکیناز می تواند ناشی از آسیب عضلانی و آسیب به اعصاب محیطی و نوروون های سیستم اعصاب مرکزی باشد (تصویر شماره ۳). متعاقب آسیب به اعصاب محیطی و مرکزی، عصب رسانی به عضله مختل و در نتیجه منجر به آسیب عضلانی و افزایش فعالیت سرمی آنزیم کراتین-فسفوکیناز شده است. از طرف دیگر در مطالعه Yousef و همکاران میزان فعالیت آنزیم لاکتات-دهیدروژناز در مقایسه با گروه شاهد تغییری نکرده بود (۲۴) که با نتایج بدست آمده از این تحقیق همخوانی دارد. در رابطه با اثرات مضر آکریل آمید بر روی بافت عصبی می توان به برخی اثرات نورووتوکسیک آکریل آمید ناشی از پروکسیداسیون لیپیدها، کاهش ظرفیت آنتی اکسیدانی، کاهش سطح گلوکوتایون عصبی و کاهش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان شده و افزایش فعالیت رادیکال های اکسیژن اشاره کرد (۱). علاوه بر این، رادیکال های اکسیژن

همچنین تغییرات دژنراتیو نورون های عصبی و تخریب عضلانی، از مهمترین یافته های پاتولوژیک مشاهده شده بودند. بنابراین لازم است در خصوص یافتن راهکارهای مناسب برای کاهش مواجهه با آکریل آمید در کارهای صنعتی و یا کاهش آکریل آمید ناشی از پخت غذاهای ناساخته ای، مطالعات جدیدی انجام گیرد.

تشکر و قدردانی:

این پژوهش در قالب طرح تحقیقاتی و با حمایت مالی معاونت محترم پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد مصوب ۸۹/۱۰/۲۰ مجوز شماره ۶۳ شورای پژوهشی واحد با رویکرد نوآوری و تولید علم انجام شد. بدینوسیله نویسندگان تشکر و قدردانی خود را از آنان اعلام می دارند.

می توانند باعث آسیب به ماکرومولکول های سلولی و دژنره شدن سلول های عصبی گردند (۱) که می تواند از مهمترین دلایل آسیب ایسکمی سلول های عصبی ساقه مغز در مطالعه حاضر باشد. همچنین، متابولیت های آکریل آمید تغییرات قابل توجهی بر ساختار کلیه و اجزاء تشکیل دهنده آن نگذاشته اند که این یافته ها با تغییرات آنزیمی و ساختار طبیعی بافتی کلیه گروه تیمار مطابقت دارد.

نتیجه گیری:

مصرف آکریل آمید موجب تغییرات رفتاری و حرکتی موش های صحرایی نر می شود. در این مطالعه آنزیم سرمی آلانین آمینو ترانسفراز در گروه تیمار کاهش معنی داری نسبت به گروه کنترل نشان داد.

منابع:

1. Rahangadale S, Jangir BL, Patil M, Verma T, Bhandarkar A, Sonkusale P, et al. Evaluation of protective effect of vitamin E on acrylamide induced testicular toxicity in wister rats. *Toxicol Int.* 2012 May; 19(2): 158-61.
2. Friedman M. Chemistry, biochemistry, and safety of acrylamide - A Review. *Agric Food Chem.* 2003; 51(16): 4504-26.
3. Yener Y, Kalipci E. The Carcinogenic effects of acrylamide formed during cooking of some foods. *Academic J Cancer Res.* 2009; 2(1): 25-32.
4. Lingnert H, Grivas S, Jagerstad M, Skog K, Tornqvist M, Aman P, et al. Acrylamide in food: mechanisms of formation and in influencing factors during heating of foods. *Scand J Nutr.* 2002; 46(4): 159-72.
5. Vesper HW, Bernert JT, Ospina M, Meyers T, Ingham L, Smith A, et al. Assessment of the relation between biomarkers for smoking and biomarkers for acrylamide exposure in humans. *Cancer Epidemiol Biomarker Prev.* 2007; 16(11): 2471-8.
6. Kadry AM, Friedman MA, Abdel-Rahman MS. Pharmacokinetics of acrylamide after oral administration in male rats. *Environ Toxicol Pharmacol.* 1999 Apr; 7(2): 127-33.
7. Fennell TR, Sumner SC, Snyder RW, Burgess J, Spicer R, Bridson WE, et al. Metabolism and hemoglobin adduct formation of acrylamide in humans. *Toxicol Sci.* 2005 May; 85(1): 447-59.
8. Sumner SC, Williams CC, Snyder RW, Krol WL, Asgharian B, Fennell TR. Acrylamide: a comparison of metabolism and hemoglobin adducts in rodents following dermal, intraperitoneal, oral, or inhalation exposure. *Toxicol Sci.* 2003 Oct; 75(2): 260-70.
9. Burek JD, Albee RR, Beyer JE, Bell TJ, Carreon RM, Morden DC, et al. Subchronic toxicity of acrylamide administered to rats in the drinking water followed by up to 144 days of recovery. *J Environ Pathol Toxicol.* 1980 Nov; 4(5-6): 157-82.

10. Tyl RW, Friedman MA. Effects of acrylamide on rodent reproductive performance. *Reprod Toxicol.* 2003 Jan-Feb; 17(1): 1-13.
11. Schouten LJ, Hogervorst JG, Konings EJ, Goldbohm RA, van den Brandt PA. Dietary acrylamide intake and the risk of head-neck and thyroid cancers: results from the Netherlands Cohort Study. *Am J Epidemiol.* 2009 Oct; 170(7): 873-84.
12. Weber DK, Danielson K, Wright S, Foley JE. Hematology and serum biochemistry values of dusky-footed wood rat (*Neotoma fuscipes*). *J Wildl Dis.* 2002 Jul; 38(3): 576-82.
13. Barber DS, Hunt JR, Ehrich MF, Lehning EJ, Lopachin RM. Metabolism, toxicokinetics and hemoglobin adduct formation in rats following subacute and subchronic acrylamide dosing. *Neurotoxicology.* 2001; 22(3): 341-53.
14. Sumner AJ, Asbury AK. Acrylamide neuropathy: selective vulnerability of secondary fibers. *Trans Am Neurol Assoc.* 1974; 99: 79-83.
15. Namjoo AR, Kargar A, Heidarian E, Ashje A, Malki S. The toxicity effect of methyl mercury chloride on newborn rat: Enzymatic, histology change and mercury accumulation. *J Shahrekord Univ Med Sci.* 2012; 14(2): 101-11.
16. Weiss DJ, Wardrop KJ. *Schalm's veterinary hematology.* 6th ed. Blackwell Publishing Ltd. 2010; 852-80.
17. Igisu H, Matsuoka M. Review Acrylamide Encephalopathy. *J Occup Health.* 2002; 44: 63-8.
18. Chapin RE, Fail PA, George JD, Grizzle TB, Heindel JJ, Harry GJ, et al. The reproductive and neural toxicity of acrylamide and three analogues in Swiss albino mice, evaluated using the continuous breeding protocol. *Fundam Appl Toxicol.* 1995; 27(1): 9-24.
19. Shukla PK, Khanna VK, Ali MM, Maurya RR, Handa SS, Srimal RC. Protective effect of *Acorus calamus* against acrylamide induced neurotoxicity. *Phytother Res.* 2002; 16(3): 256-60.
20. Sumner SC, Williams CC, Snyder RW, Krol WL, Asgharian B, Fennell TR. Acrylamide: a comparison of metabolism and hemoglobin adducts in rodents following dermal, intraperitoneal, oral, or inhalation exposure. *Toxicol Sci.* 2003; 75(2): 260-70.
21. Kim WR, Flamm SL, Di Bisceglie AM, Bodenheimer HC. Serum activity of alanine aminotransferase (ALT) as an indicator of health and disease. *Hepatology.* 2008; 47(4): 1363-70.
22. Labadarios D, Rossouw JE, McConnell JB, Davis M, Williams R. Vitamin B6 deficiency in chronic liver disease--evidence for increased degradation of pyridoxal-5'-phosphate. *Gut.* 1977 Jan; 18(1): 23-7.
23. Chinoy NJ, Memon MR. Beneficial effects of some vitamins and calcium on fluoride and aluminium toxicity on gastrocnemius muscle and liver of male mice. *Fluoride.* 2001; 34(1): 21-33.
24. Yousef MI, El-Demerdash FM. Acrylamide-induced oxidative stress and biochemical perturbations in rats. *Toxicology.* 2006; 219(1-3): 133-41.
25. Abramsson-Zetterberg L. The dose-response relationship at very low doses of acrylamide is linear in the flow cytometer-based mouse micronucleus assay. *Mutat Res.* 2003; 535(2): 215-22.

The effect of acryl amide on tissue changes, blood and enzymatic parameters in male rats.

Namjoo AR (PhD)^{1*}, Rafieian –Kopaei M (PhD)², Heidarian E (PhD)³

¹Pathobiology Dept., Islamic Azad University, Shahrekord Branch, Shahrekord, I.R. Iran;

²Medical Plants Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, I.R.

Iran; ³Clinical Biochemistry Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, I.R. Iran.

Received: 2/Apr/2012

Revised: 23/Mar/2012

Accepted: 8/Dec/2012

Background and aims: Acrylamide is a usual chemical compound which is produced in both industrial and laboratory processes. It is formed in fried starchy foods especially potato products. The aim of the present study was to evaluate the effects of acrylamide on some blood biochemical enzymes, blood parameters and pathological effects on brain, renal and hepatic tissues in male rats.

Methods: In this study, twenty mature male Wistar rats were divided in to two groups; the first group daily received 20 mg/kg acryl amide orally for 40 days. The second group received distilled water the same route and duration. At the end of the experimental period (40 days), six mice from each group were randomly selected and anesthesia. The blood samples were collected from the rats to determine some enzyme activities and hematology parameters. Also, the brain, liver, kidney and muscle samples were prepared for histopathologic assessment. Data were analyzed using Kolmogrov-Smirnov test and t-test.

Results: The results revealed that in experimental group which received 20 mg/kg acrylamide orally for 40 days, the serum concentration of alanine aminotransferase showed a significant decrease ($P < 0.05$), but no significant differences were observed in the total protein, urea nitrogen, creatinine and parameters in experimental group compared to control group ($P > 0.05$). Elevated activity of creatine phosphokinase and lactate dehydrogenase in the experimental group was not significant as compared to the control group ($P > 0.05$). It was not significant changes in hematological parameters of the treated group as compared to the control group. Histopathological investigation, however, revealed necrotic and degenerative changes in the liver, brain stem neuron and muscle fibers of acrylamide treated rats.

Conclusion: The results of this survey suggest that acrylamide exposure causes tissue changes in nervous system, skeletal muscles and liver tissues. Therefore, it needs to study for reducing acrylamide exposure either industrial work or dietary regime.

Keywords: Acryl amide, Alanine aminotransferase, Aspartate aminotransferase, Creatine phosphokinase, Lactate dehydrogenase.

Cite this article as: Namjoo AR, Rafieian-Kopaei M, Heidarian E. The effect of acryl amide on tissue changes, blood and enzymatic parameters in male rats. J Shahrekord Univ Med Sci. 2013 Feb, March; 14(6): 27-37.

***Corresponding author:**

Pathology Dept, Islamic Azad University, Shahrekord Branch, Rahmatieh, Shahrekord, I.R. Iran.

Tel: 00983813361060, E-mail: ar.namjo72@iaushk.ac.ir