ارزیابی اثر مولیبدات سدیم بر فیبروز کبدی در مدل انسداد مجرای صفراوی موش صحرایی

مهسا آل‌ابراهیم [۱*]، اکرم عیدی [۲]، پژمان مرتضوی [۳]، سیدمحمد توانگر [۴]، داریوش مینایی‌تهرانی [۵]

چکیده

تجمع اسیدهای صفراوی آبگریز در مدل حیوانی انسداد مجرای صفراوی، نقشی اساسی در القاء فیبروز کبدی ایفا می‌کند. فیبروز کبد کلستاتیک که مشخصه آن تجمع بیش از حد پروتئین‌های ماتریکس خارج سلولی است، با استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپید ناشی از اسیدهای صفراوی، در ارتباط است. مولیبدن یک عنصر کمیاب ضروری است که بعنوان یک کوفاکتور در ساختمان بسیاری از آنزیم های سیستم سم‌زدایی عمل می‌کند. بر اساس نتایج حاصل از مطالعه قبلی ما، مولیبدات سدیم می‌تواند بعنوان یک ماده محافظت کننده کبدی در مسمومیت ناشی از تتراکلریدکربن در موش‌های صحرایی بکار رود. هدف از مطالعه حاضر بررسی اثرات درمانی یا ضد فیبروزی مولیبدات سدیم، در مدل فیبروز القاء شده با انسداد مجرای صفراوی در موش‌های صحرایی می‌باشد. پس از انسداد مجرای صفراوی، موش‌های صحرایی مولیبدات سدیم (۰/۰۵ یا ۰/۱ یا ۰/۲ گرم/کیلوگرم) یا یورسودی اکسی کولیک اسید (۲۵ میلی گرم/کیلوگرم) را بصورت خوراکی و به مدت ٤٥ روز متوالی (یک بار در روز) دریافت کردند. انسداد مجرای صفراوی بطور قابل توجهی تجمع کلاژن، همچنین نفوذ سلول های التهابی، نکروز کبدی و هیپرپلازی مجاری صفراوی را القاء نمود که با رنگ آمیزی تریکروم ماسون تعیین گردید. این اختلالات بطور معنی داری توسط تیمار با مولیبدات سدیم (۰/۱ و ۰/۲ گرم/کیلوگرم) بهبود یافت. مصرف همزمان مولیبدات سدیم می‌تواند فیبروز کبدی را در موش‌های صحرایی کلستاتیک مدل انسداد مجرای صفراوی مهار کند. نتایج حاصل از این تحقیق پیشنهاد می‌کند که مولیبدات سدیم احتمالا با مهار تولید پروتئین‌های ماتریکس خارج سلولی، اثرات ضد فیبروزی خود را اعمال می‌کند.

واژگان کلیدی: *انسداد مجرای صفراوی، کلستاز، فیبروز کبدی، موش صحرایی، مولیبدات سدیم*

تاریخ دریافت: ۹۲/۱۰/۳۰ تاریخ پذیرش: ۹۳/۲/۹

مقدمه

کلستاز (Cholestasis) به معنی مهار جریان صفرا است که می‌تواند منشا داخل کبدی یا خارج کبدی داشته باشد. کلستاز داخل کبدی به دلیل بروز بیماری‌های خودایمنی، متابولیکی، ژنتیکی و همچنین در اثر ایجاد عفونت‌ها و یا استفاده از برخی داروها ایجاد می‌گردد. کلستاز خارج کبدی نیز در نتیجه‌ی تشکیل سنگ‌های مجاری صفراوی و بروز سرطان‌های صفراوی و پانکراسی ایجاد می‌شود (۲). احتباس نمک‌های صفراوی آبگریز تحت شرایط کلستاز، سبب بروز آسیب در هپاتوسیت‌های کبدی و متعاقب آن، فیبروز کبدی می‌گردد. مکانیسم فیبروز در کبد کلستاتیک به خوبی شناخته نشده است، ولی اثرات سمی نمک‌های صفراوی بطور مستقیم و غیر مستقیم در ایجاد فرایندهای التهابی و استرس اکسیداتیو نقش دارند. بنابراین این فاکتورها باید به عنوان اهداف قدرتمندی در پیشگیری و درمان فیبروز کبدی در نظر گرفته شوند (۳). مدل تجربی انسداد مجرای صفراوی(Bile Duct Ligation, BDL) در حیوانات آزمایشگاهی، یک شکل از فیبروز کبدی را القاء می‌کند که از نظر علت‌شناسی و بیماری زایی شبیه به فیبروز کبدی در انسان است. بنابراین این روش بطور گسترده‌ای مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱). کلستاز سبب افزایش اکسیدان‌های کبدی می‌گردد و استرس اکسیداتیو در این بیماری، یک پدیده سیستمیک است که تمام بافت‌ها و اندام‌ها، خصوصا کبد را درگیر می‌کند (۱۰).

مولیبدن یک عنصر کمیاب ضروری برای گیاهان، جانوران و میکروارگانیسم‌ها است که عمدتاً به شکل آنیون مولیبدات ($MoO4^{-2}$) در بدن موجودات زنده، جذب، منتقل و دفع می‌گردد. این عنصر به تنهایی فعالیت کاتالیتیکی ندارد و پس از

* ۱- دکترای فیزیولوژی جانوری، گروه زیست‌شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
mahsa.alebrahim@yahoo.com
۲- دانشیار، دکترای فیزیولوژی جانوری، گروه زیست‌شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
۳- استادیار، دکترای بافت شناسی، گروه پاتولوژی، دانشکده تخصصی دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی تهران، ایران.
٤- استاد، دکترای تخصصی، گروه پاتولوژی، بیمارستان شریعتی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.
۵- استادیار، دکترای بیوشیمی، گروه زیست شناسی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران.

ورود به بدن باید با کوفاکتور خود باند شود و یا در ساختار آنزیمی قرار گیرد. در پستانداران آنزیم‌های حاوی مولیبدن (مولیبدو آنزیم‌ها) شامل سولفیت اکسیداز، گزانتین دهیدروژناز، آلدهید اکسیداز و جزء احیاء کننده آمیدوکسیم میتوکندریایی (mitochondrial amidoxime reducing component, mARC) می‌باشند (۱۸). این آنزیم‌ها واکنش‌های اکسیداسیون-احیاء را کاتالیز می‌کنند و در سیستم انتقال الکترون میتوکندریایی نقش دارند، بنابراین در مسیرهای متابولیسمی حیاتی در موجود زنده دخیل می‌باشند. مولیبدات سدیم با فعالیت شبه انسولینی خود، از اختلالات ایمنی ناشی از دیابت جلوگیری می‌کند (۱٤). مولیبدات احتمالا این اثر شبه انسولینی خود را از طریق مهار پروتئین فوفوتایروزین فسفاتاز و به دنبال آن تحریک پروتئین تیروزین کیناز سیتوزولی اعمال می‌کند که نهایتا منجر به فعال شدن اثرات زیستی انسولین می‌شود (۱۵). بر اساس تحقیقات انجام شده مولیبدات همچنین می‌تواند از بروز سرطان معده، مری و غدد پستانی که توسط ترکیبات N- نیتروزو در حیوانات آزمایشگاهی القاء می‌شود، جلوگیری کند (۱۲). با توجه به افزایش روزافزون تعداد بیماران مبتلا به کبد کلستاتیک و فیبروز کبدی، استفاده از یک مکمل محافظ کبدی و ضد فیبروزی همسو با درمان‌های اصلی، بسیار ضروری می‌نماید. هدف از این مطالعه بررسی اثر مولیبدات سدیم بر روی فیبروز کبدی در موش‌های صحرایی کلستاتیک می‌باشد.

مواد و روش کار

ترکیب مولیبدات سدیم ($Na_2MoO_4^{-2}$) محصول شرکت مرک آلمان (Merck, Germany) و یورسو دی اکسی کولیک اسید با (نام تجاری Ursobilane) محصول کشور ایتالیا در این تحقیق مورد استفاده قرار گرفت.

مدل حیوانی بکار رفته در تحقیق

در این مطالعه تجربی۸۱ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار (Wistar) با محدوده وزنی ۲۵۰-۲۳۰ گرم از انستیتو پاستور ایران خریداری شده و به اتاق حیوانات مجتمع آزمایشگاهی رازی واقع در واحد علوم و تحقیقات تهران انتقال داده شد. موش‌ها در اتاق حیوانات و تحت شرایط استاندارد با درجه حرارت ۲ ±۲۲ درجه سانتی گراد و سیکل نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و رطوبت نسبی ٦۰-٤۰ درصد نگهداری شدند. در طول آزمایش آب و غذای کافی همواره در اختیار آنها قرار داشت. تمامی مراحل آزمایش برای تمام گروه‌های مورد بررسی در شرایط کاملا یکسان انجام پذیرفت و در طول دوره تحقیق موازین اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی، رعایت گردید. حیوانات به طور تصادفی در ۹ گروه تقسیم شدند. هر گروه شامل ۹ سر موش صحرایی بود.

گروه ۱= شم: حیوانات جراحی شده بدون ایجاد کلستاز (BDL) که روزانه با آب مقطر (حلال دارو) تیمار شدند.

گروه‌های ٤-۲= شم + مولیبدات سدیم: حیوانات جراحی شده بدون ایجاد کلستاز که روزانه به ترتیب با مولیبدات سدیم به مقدار ۰/۰۵، ۰/۱ و ۰/۲ گرم بر کیلوگرم وزن بدن تیمار شدند (٤).

گروه ۵= کلستاتیک: موش‌های صحرایی کلستاتیک که روزانه با آب مقطر تیمار شدند.

گروه‌های ۸-٦= کلستاتیک + مولیبدات سدیم: موش‌های صحرایی کلستاتیک که به ترتیب با مولیبدات سدیم به مقدار ۰/۰۵، ۰/۱ و ۰/۲ گرم بر کیلوگرم وزن بدن تیمار شدند.

گروه ۹= کلستاتیک + یورسودی اکسی کولیک اسید (Ursodeoxycholic acid, UDCA): موش‌های صحرایی کلستاتیک که روزانه با ۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن UDCA تیمار شدند.

در این مطالعه از یورسو دی اکسی کولیک اسید به عنوان یک داروی کنترل مثبت استفاده گردید (۱٦). مولیبدات سدیم و UDCA بصورت محلول در ۰/۵ میلی لیتر آب مقطر و با روش گاواژ درون معده ای، یک بار در روز و به مدت ٤۵ روز متوالی به حیوانات خورانده شد. لازم به ذکر است که تیمار داروها به حیوانات از همان روز جراحی صورت گرفت.

القاء کلستاز با استفاده از روش انسداد مجرای صفراوی (Bile Duct Ligation, BDL)

انسداد مجرای صفراوی بر اساس روش استاندارد Uchinami و همکاران (۲۰۰٦) انجام شد (۲۱). پس از بیهوش کردن حیوان با تزریق درون صفاقی (Intraperitoneal, i.p.) مخلوط کتامین (۹۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن)، بخش میانی حفره شکمی در ۳ لایه پوست، عضله و صفاق برش داده شد و مجرای مشترک صفراوی شناسایی شده و در دو قسمت توسط نخ بخیه نایلونی شماره ٤-۰ مسدود گردید. گره اول دقیقا زیر تقاطع مجرای کبدی و گره دوم قبل از ورودی مجرای پانکراسی ایجاد شد. سپس مجرای صفراوی از بین این دو نقطه قطع گردید. ۲ میلی لیتر سرم استریل قابل تزریق (سالین ۱۰٪) به درون حفره صفاقی ریخته شد و سپس لایه های صفاق و عضله و پوست به دقت بخیه زده شد. پس از اتمام جراحی بمنظور جلوگیری از کاهش درجه حرارت بدن، حیوان تا بهوش آمدن کامل بر روی صفحه گرمایشی (heat pad) قرار گرفت. موش‌های صحرایی گروه شم مشابه گروه کلستاتیک، تحت بیهوشی کامل قرار گرفته و بخش میانی حفره شکمی در ۳ لایه پوست، عضله و صفاق برش خورد و بدون ایجاد انسداد مجرای صفراوی (BDL) لایه‌های شکمی با نخ بخیه دوخته شد. پس از گذشت ٤٥ روز حیوانات با اتر کشته شده و کبد آنها جمع‌آوری گردید. نمونه‌های بافت کبد بلافاصله در محلول بافر فرمالین ۱۰٪ تثبیت گردید. سپس مطابق روش‌های متداول پردازش گردید و از آنها بلوک‌های پارافینی تهیه شد و از این بلوک‌ها توسط دستگاه میکروتوم روتاری، برش‌هایی به ضخامت ٥-۳ میکرومتر تهیه شد. برش‌های حاصله بعد از قرار گرفتن بر روی لام، با روش تریکروم ماسون (Massons trichrome) رنگ آمیزی گردید و زیر میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرار گرفت.

روش تجزیه تحلیل آماری

نتایج به دست آمده در این تحقیق به روش آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی تحلیل گردید و بصورت Means±S.E.M ارائه شد و ملاک استنتاج آماری (P< ۰/۰٥) در نظر گرفته شد.

نتایج

فیبروز و آسیب کبدی بر اساس روش اصلاح شده Sant'Anna و همکاران (۲۰۱۱) رتبه بندی شد (۱۹). به این صورت که در هر نمونه بصورت تصادفی ۱۰ ناحیه مورد بررسی قرار گرفت و میانگین آنها بعنوان یک رتبه واحد در نظر گرفته شد. رتبه بندی آسیب به شرح زیر می‌باشد. نکروز: ۰= بدون نکروز، ۱= آسیب موضعی کمتر از ۲۵٪، ۲= آسیب موضعی بین ۵۰-۲۵٪، ۳= نکروز گسترده ولی موضعی، ٤= نکروز وسیع.

نفوذ سلول های التهابی: ۰= عدم التهاب، ۱= التهاب کانونی کمتر از ۲۵٪، ۲= التهاب کانونی بین ۵۰-۲۵٪، ۳= التهاب گسترده ولی موضعی، ٤= التهاب وسیع.

بافت همبند: ۰= فاقد بافت همبند، ۱= رسوب کلاژن بدون تشکیل دیواره، ۲= تشکیل دیواره ناقص، ۳= دیواره کامل و نازک، ٤= دیواره کامل و ضخیم.

هیپرپلازی مجاری صفراوی: ۰= عدم هیپرپلازی، ۱= کمتر از ۲۵٪ هر لبول، ۲= ۵۰-۲۵٪ هر لبول، ۳= گسترده ولی موضعی، ٤= وسیع (٦).

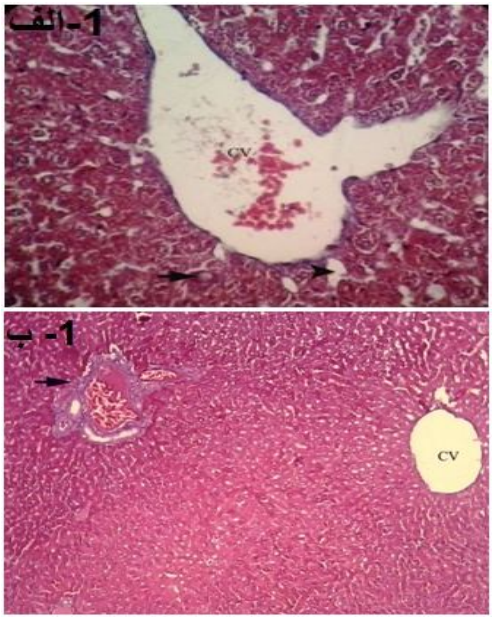
همانطور که جدول ۱ نشان می‌دهد، تفاوت معنی‌داری بین رتبه‌های جراحات آسیب‌شناسی بین گروه شم و گروه BDL وجود دارد، در حالیکه تیمار با سدیم مولیبدات با دوزهای ۰/۱ و ۰/۲ گرم بر کیلوگرم وزن بدن بطور قابل توجهی فیبروز کبدی را در گروه‌های BDL کاهش داد. بررسی‌های آسیب-شناسی بافتی با رنگ‌آمیزی تریکروم، شاخص‌های فیبروز کبدی از جمله نکروز هپاتوسیت‌ها، نفوذ سلول‌های التهابی تک‌هسته‌ای (لنفوسیت‌ها)، تکثیر کلاژن و هیپرپلازی مجاری صفراوی را در گروه BDL نشان داد. در حالیکه در گروه‌های شم+ مولیبدات سدیم (گروه‌های تجربی سدیم مولیبدات) هیچگونه تغییر بافتی نسبت به گروه شم + مولیبدات سدیم مشاهده نشد و ریخت‌شناسی کبد به صورت منظم همراه با

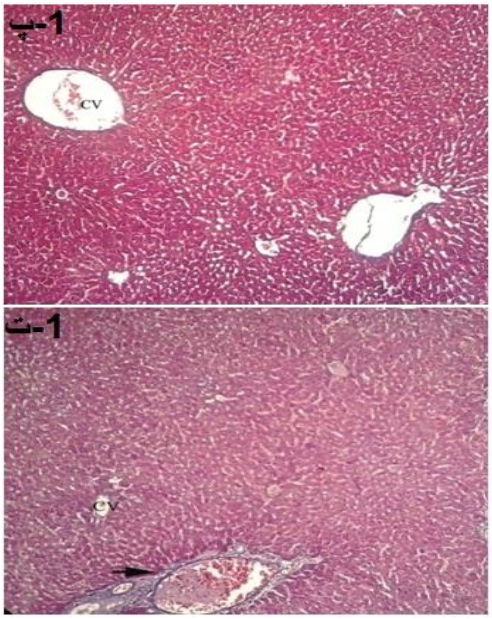
هپاتوسیت‌ها، سینوزوئیدها و مجرای پورتال سالم بود و فیبروز در آن مشاهده نشد (شکل ۱). تیمار موش‌های صحرایی گروه BDL با مولیبدات سدیم بطور معنی داری تمام شاخص‌های فیبروز کبدی را در یک الگوی وابسته به دوز کاهش داد. تیمار با UDCA نیز بطور قابل توجهی (P< ۰/۰۵) آسیب کبدی را کاهش داد ولی هیچ تاثیری بر روی سایر پارامترهای فیبروز کبدی نداشت (جدول ۱).

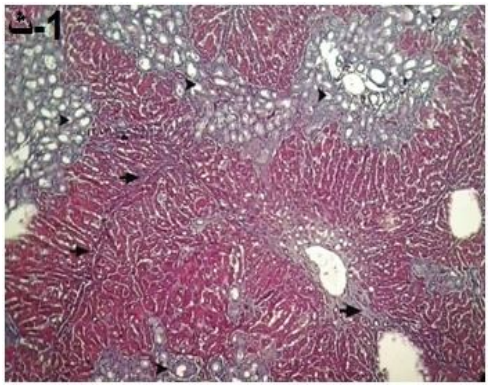
جدول ۱ـ اثر مولیبدات سدیم بر میزان امتیاز آسیب بافت کبدی در موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار. نتایج بر اساس میانگین ± انحراف از معیار می‌باشد. تعداد حیوانات در هر گروه ۹ سر است.

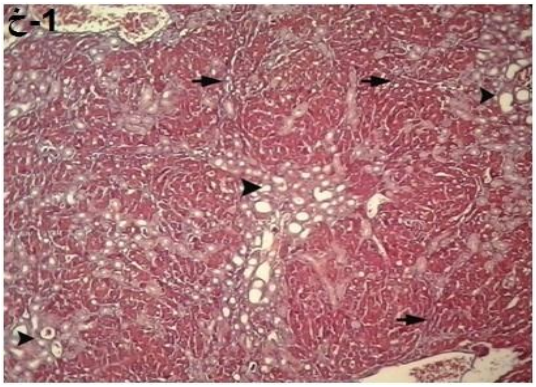
(p< ۰/۰۰۱) ***، اختلاف از گروه شم را نشان می دهد. (p < ۰/۰۵) +، (p< ۰/۰۱) ++،(p < ۰/۰۰۱) +++ اختلاف از گروه کلستاز را نشان می دهد.

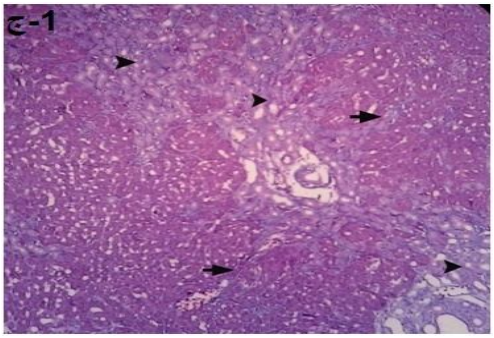
گروه‌ها	رتبه‌بندی آسیب			
	نکروز	التهاب	بافت همبند (کلاژن)	هایپرپلازی مجاری صفراوی
شم	۰	۰	۰	۰
شم + مولیبدات سدیم (g/kg)				
۰/۰۵	۰	۰	۰	۰
۰/۱	۰	۰	۰	۰
۰/۲	۰	۰	۰	۰
کلستاتیک (BDL)	۳***	۳***	۳***	۳***
کلستاتیک + مولیبدات سدیم (g/kg)				
۰/۰۵	۲/٦±۰/۳	۱+++	۲/٦±۰/۳	۲/۳±۱/۲
۰/۱	۱/۸±۰/۷++	۱+++	۱/۸±۰/۲++	۱/۸±۰/۷++
۰/۲	۱/٤±۰/۳+++	۱/۲±۰/۲+++	۱/٤±۰/۳+++	۱/۸±۰/۲۱+
کلستاتیک+ UDCA (25 mg/kg)	۳	۱+++	۲/٦±۰/۳	۳

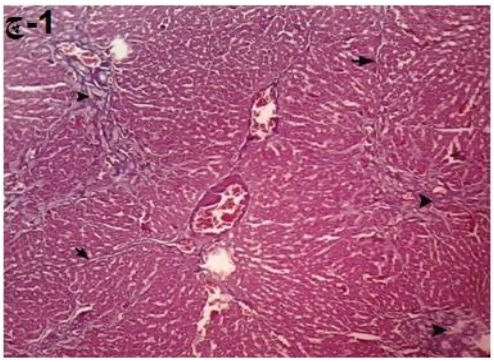


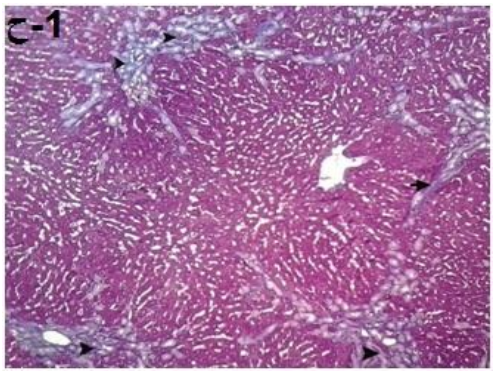












نگاره ۱ـ اثر مولیبدات سدیم بر فیبروز کبد کلستاتیک القاء شده با روش انسداد مجرای صفراوی (BDL) در موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار. ۱- الف. نمونه بافت کبد در گروه کنترل، سیاهرگ مرکزی (CV) و هپاتوسیتهای سالم اطراف آن دیده می‌شود (Trichrome*460) / ۱- ب. نمونه بافت کبد در گروه کنترل مولیبدن ۵۰. سیاهرگ مرکزی (CV) و هپاتوسیتهای سالم اطراف آن و فضای پورتال (پیکان) دیده می‌شود (Trichrome* 160) / ۱- پ. نمونه بافت کبد در گروه کنترل مولیبدن ۱۰۰. سیاهرگ مرکزی (CV) و هپاتوسیتهای سالم اطراف آن دیده می‌شود (Trichrome* 160) / ۱- ت. نمونه بافت کبد در گروه مولیبدن ۲۰۰. سیاهرگ مرکزی (CV) و هپاتوسیت های سالم اطراف آن و فضای پورتال(پیکان) دیده می‌شود (Trichrome* 160) / ۱- ث. نمونه بافت کبد در گروه کلستاز. هیپرپلازی مجاری صفراوی (نوک پیکان) و نفوذ بافت همبندی به صورت دیواره های نازک (پیکان) دیده می‌شود (Trichrome*160) / ۱- ج. نمونه بافت کبد در گروه کلستاز+ مولیبدن ۵۰. هیپرپلازی مجاری صفراوی (نوک پیکان) و نفوذ بافت همبندی به صورت دیواره های نازک (پیکان) دیده می‌شود (Trichrome*160) / ۱- چ. نمونه بافت کبد در گروه کلستاز+ مولیبدن ۱۰۰. هیپرپلازی مجاری صفراوی (نوک پیکان) و نفوذ بافت همبندی به صورت دیواره های ناقص (پیکان) دیده می‌شود (Trichrome*160) / ۱- ح. نمونه بافت کبد در گروه کلستاز+ مولیبدن ۲۰۰. هیپرپلازی مجاری صفراوی (نوک پیکان) و نفوذ بافت همبندی به صورت دیواره‌های ناقص (پیکان) دیده می‌شود (Trichrome*160) / ۱-خ. نمونه بافت کبد در گروه کلستاز+UDCA. هیپرپلازی مجاری صفراوی (نوک پیکان) و نفوذ بافت همبندی به صورت دیواره‌های نازک (پیکان) دیده می‌شود (Trichrome*160).

بحث

فیبروز اختلال اصلی در بیماری‌های مزمن کبدی است که به طور گسترده‌ای عامل مرگ و میر در بسیاری از انسان‌های مبتلا به کلستاز کبدی می‌باشد. به دنبال آسیب کلستاتیک، کبد تحت یک فرایند مدل‌یابی مجدد قرار می‌گیرد که شامل ترمیم و فیبروژنز است. ویژگی اصلی فیبروز، افزایش رسوب ماتریکس خارج سلولی و کاهش تخریب آن است (٦).

در این مطالعه کلستاز بطور معنی‌داری شدت فیبروز کبدی از جمله نکروز، التهاب و رسوب کلاژن را در کبد افزایش داد، درحالیکه تیمار موش‌های صحرایی کلستاتیک با مولیبدات سدیم، سبب کاهش این آسیب ها در یک الگوی وابسته به دوز گردید. تحت شرایط کلستاتیک در اثر تجمع نمک‌های صفراوی سمی در کبد، التهاب بافتی به صورت تجمع لکوسیت‌ها و فعال شدن سلول‌های کوپفر آغاز می‌شود (٧ و ٦). تحت این شرایط سلول‌های التهابی با آزاد کردن مولکول‌های واکنش پذیر مشتق شده از اکسیژن (Reactive Oxigen Species, ROS) از جمله نیتریک اکساید (NO)، سبب بروز استرس بافتی در کبد می‌شوند که به دنبال آن سلول های اقماری (Stellate cells) در کبد فعال شده و تولید کلاژن خصوصا کلاژن نوع ١ و ٤ را در ماتریکس خارج سلولی افزایش می‌دهند (٦). کلستاز به عنوان اختلالی شناخته می‌شود که با افزایش اکسیدان‌های کبدی همراه است. کلستاز سبب ایجاد واکنش‌های التهابی و استرس اکسیداتیو و نهایتا فیبروز کبدی می‌گردند. بنابراین فرایندهای التهابی و استرس اکسیداتیو به عنوان دو هدف اصلی در پیشگیری و درمان فیبروز کبدی در نظر گرفته می‌شوند (٧). بر اساس ارزیابی‌های هیستوپاتولوژیکی در این مطالعه، انسداد مجرای صفراوی در گروه کلستاز بطور قابل توجهی فیبروز ناحیه پورتال را القاء نمود که که در رنگ آمیزی تریکروم بصورت تجمع کلاژن همراه با تکثیر سلول های اپیتلیالی مجاری صفراوی، التهاب و نکروز مشخص گردید. این اثر بطور معنی‌داری با مصرف مولیبدات سدیم کاهش یافت. ما در این مطالعه از یورسو دی اکسی کولیک اسید به عنوان یک داروی کنترل مثبت استفاده کردیم. این ترکیب یک اسید صفراوی ثانویه آبدوست و یک داروی موثر برای بیماران مبتلا به کلستاز یا سنگ کیسه صفرا می‌باشد. یورسو دی اکسی کولیک اسید الحاقی در سرم، کبد و صفرا جایگزین نمک های صفراوی آبگریز می‌شود و می‌تواند تاحدی از تجزیه ی لیپیدهای غشایی توسط نمک های صفراوی جلوگیری کند (١٦). بر اساس نتایج به دست آمده در این مطالعه، اثر تیمار موش‌های صحرایی گروه کلستاز با UDCA ، فقط بر روی کاهش التهاب بافتی معنی دار بود و UDCA هیچ تاثیر مثبتی بر روی نکروز بافتی و هایپرپلازی مجاری صفراوی نداشت. این در حالی است که تاثیر مولیبدات سدیم (دوزهای ٠/١ و ٠/٢ میلی گرم/کیلوگرم وزن بدن) بر کاهش رسوب کلاژن در کبد موش‌های صحرایی گروه کلستاز، بیشتر از اثر UDCA بود. تیمار موش‌های صحرایی دیابتی با مولیبدات، از سلول‌ها در برابر آسیب پراکسیداتیو محافظت می‌کند. میزان متوسط کشنده (median lethal dose, LD50) برای مولیبدات سدیم در موش‌های صحرایی بین ٣٣٠-١٠١ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن گزارش شده است (٩). بر اساس نتایج این تحقیق تیمار موش‌های صحرایی گروه شم با مولیبدات سدیم حتی در غلظت های بالا (٠/٢ میلی گرم بر گیلوگرم وزن بدن) هیچگونه اختلال عضلانی یا رفتاری ایجاد نکرد و سبب مرگ حیوانات نشد. بر اساس معیارهای اتحادیه اروپا برای مواد مضر، سمیت ترکیبات مولیبدن بسیار کم است زیرا با افزایش مصرف مولیبدن، دفع ادراری آن افزایش می یابد. و تقریبا حدود ٩٠-٣٦ ٪ از کل مولیبدن مصرف شده از طریق ادرار، بیش از ١٪ از طریق صفرا و مقدار ناچیزی هم از طریق مدفوع دفع می‌گردد (١٧).

در دهه‌های اخیر توجه بیشتری به استفاده از اکسیدهای فلزی در پزشکی و فارماکولوژی معطوف شده است. مولیبدن یک اکسید فلزی است که مصارف فارماکولوژیکی زیادی از جمله

کاربردهای ضد سرطانی و ضد دیابتی دارد. تا زمانی که تایروزین کینازها و فسفاتازها در فرایندهای بیوشیمیایی بیماری‌های مختلف نقش دارند، اکسیدهای فلزی می‌توانند برای درمان مفید باشند، هرچند که مکانیسم عمل دقیق آن هنوز شناسایی نشده است (۵). مولیبدن یک عنصر کمیاب ضروری برای جانوران و گیاهان است. آنزیم‌های حاوی مولیبدن در واکنش‌های اکسیداسیون-احیاء در چرخه‌ی انتقال الکترون میتوکندریایی نقش دارند (۱۳). مولیبدن از طریق تنظیم وضعیت ردوکس پروتئین‌ها و کاهش حساسیت به رادیکال های سمی، از غشاء سلولی در برابر آسیب اکسیداتیو محافظت می‌کند. این عنصر همچنین با افزایش فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، گلوتاتیون پر اکسیداز و گلوتاتیون ردوکتاز، وضعیت آنتی اکسیدانی سلول را بهبود می‌بخشد (۱۵). آنزیم‌های حاوی مولیبدن از جمله گزانتین دهیدروژناز و آلدهید اکسیداز در سم زدایی کبد از گزنوبیوتیک‌ها، برخی داروها، استرادیول و پروژسترون نقش دارند (۸) همچنین mARC که یک مولیبدوآنزیم است و اخیرا در پستانداران شناسایی شده، در سم زدایی هیدروکسیل آمین‌های سمی و جهش زا نقش دارد. افزایش نیتریک اکساید به عنوان یکی از عوامل موثر در القاء فیبروز کبدی تحت شرایط کلستاز شناخته می‌شود و آنزیم mARC می‌تواند بیوسنتز وابسته به ال-آرژنین نیتریک اکساید را تنظیم کند و نیتریک اکساید اضافی را به مرحله ی قبل احیاء کند. بنابراین آنزیم mARC با کاهش سطح نیتریک اکساید، نقشی اساسی در مهار آسیب کبد کلستاتیک، ایفا می‌کند (۱۱). بروز کمبود مولیبدن در افراد سالم نادر است، با این حال افرادی که تحت استرس‌های فیزیولوژیکی و یا در معرض گزنوبیوتیک‌های بیشتری قرار دارند، احتمالا به مولیبدن بیشتری نیاز دارند (۱۸). بر اساس تحقیق Panneerselvam و همکاران (۲۰۰٤) تیمار خوراکی مولیبدات سدیم به مدت ۳۰ روز در موش‌های صحرایی دیابتی، سطح پراکسیداسیون لیپید را کاهش می‌دهد و عملکرد سیستم ایمنی را بهبود می بخشد (١٤). در بررسی اثر ضد هایپرگلایسمی مولیبدات توسط Thompson و همکاران، در سال ۲۰۰٤ تعیین گردید که مصرف خوراکی مولیبدات سدیم می‌تواند مقدار گلوکز و چربی را در موش‌های صحرایی دیابتی متعادل سازد (۲۰). نتایج مطالعه عیدی و همکاران (۲۰۱۱) اثر محافظت کبدی مولیبدات سدیم بر مسمومیت کبدی القاء شده با تتراکلرید کربن در موش‌های صحرایی را نشان داد (٤).

نتایج حاصل از این مطالعه اثرات ضد فیبروزی مولیبدات سدیم را در کبد موش‌های صحرایی کلستاتیک نشان می‌دهد. مولیبدات سدیم احتمالا با تنظیم وضعیت ردوکس پروتئین‌ها و کاهش حساسیت به رادیکال‌های سمی، از غشاء سلولی در برابر آسیب گونه‌های اکسیژن واکنش پذیر از جمله نیتریک اکساید، محافظت می‌کند. در نتیجه با کاهش استرس اکسیداتیو، تولید کلاژن را مهار می‌نماید. بنابراین شاید بتوان از این عنصر در آینده به عنوان یک مکمل دارویی برای بیماران کلستاتیک استفاده کرد.

فهرست منابع

1. Aller, M.A., Arias, J.L., Garcia-Dominguez, J., Arias, J.I., Duran, M. (2008): Experimental obstructive cholestasis. The wound-like inflammatory liver response. Fibrogenesis Tissue Repair. 1(6): 1-17.
2. Arrese, M., Trauner, M. (2003): Molecular aspects of bile formation and cholestasis. Trends in Molecul. Med. 9(12): 558-564.
3. Chen, W.Y., Chen, C.J., Liao, J.W., Mao, F.C. (2009): Chromium attenuates hepatic damage in a rat model of chronic cholestasis. Life Sci. 84: 606–614.
4. Eidi, A., Eidi, M., Al-Ebrahim, M., Haeri Rohani, A., Mortazavi, P. (2011): Protective effects of sodium molybdate on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats. J. Trace. Elem. Med. Biol. 25:67–71.

5. Fraqueza, G., Ohlin, C.A., Casey, W.H, Aureliano, M. (2012): Sarcoplasmic reticulum calcium ATPase interactions with decaniobate, decavanadate, vanadate, tungstate and molybdate. J. Inorg. Biochem. 107(1):82-89.
6. Han, J.M., Kim, H.G., Choi, M.K., Lee, J.S., Park, H.J., Wang, J.H., Lee, J.S., Son, S.W., et al. (2012): Aqueous extract of Artemisia iwayomogi Kitamura attenuates cholestatic liver fibrosis in a rat model of bile duct ligation. Food and Chem. Toxicol. 50:3505–3513.
7. Han, J.M., Kim, H.G., Choi, M.K., Lee, J.S., Park, H.J., Wang, J.H., Lee, J.S., Son, S.W. (2013): Artemisia capillaris extract protects against bile duct ligation-induced liver fibrosis in rats. Exp. Toxicol. Pathol. 65(6):837-44.
8. Huang, D.Y., Furukawa, A., Ichikawa, Y. (1999): Molecular cloning of retinal oxidase/aldehyde oxidase cDNAs from rabbit and mouse livers and functional expression of recombinant mouse retinal oxidase cDNA in Escherichia coli. Arch. Biochem. Biophys. 364(2):264-72.
9. Li, J., Elberg, G., Gefel, D., Shechter, Y. (1995): Permolybdate and pertungstate-potent stimulators of insulin effects in rat adipocytes; mechanism of action. Biochem. 34:6218–25.
10. Ljubuncic, P., Tanne, Z., Bomzon, A. (2000): Evidence of a systemic phenomenon for oxidative stress in cholestatic liver disease. Gut. 47:710-6.
11. Lord, S.J., Epstein, N.A., Paddock, R.L., Vogels, C.M., Hennigar, T.L., Zaworotko, M.J. (1999): Synthesis, characterization, and biological relevance of hydroxypyrone and hydroxypyridinone complexes of molybdenum. Can. J. chem. 77:1249-61.
12. Luo, X.M., Wei, H.J., Yang, S.P. (1983): Inhibitory effects of molybdenum on esophageal and forestomach carcinogenesis in rats. J. Natl. Cancer Inst. 71(1):75–80.
13. Mendel, R.R., Kruse, T. (2012): Cell biology of molybdenum in plants and humans. Biochim. Biophys. Acta. 1823(9):1568–79.
14. Panneerselvam, S., Govindasamy, S. (2003): Sodium molybdate improves the phagocytic function in alloxan-induced diabetic rats. Chem. Biol. Interact. 145(2):159-163.
15. Panneerselvam, S.R., Govindasamy, S. (2004): Effect of sodium molybdate on the status of lipids, lipid peroxidation and antioxidant systems in alloxan-induced diabetic rats. Clinica. Chimica. Acta. 345(1-2):93–98.
16. Paumgartner, G., Pauletzki, J., Sackmann, M., (1994): Ursodeoxycholic acid treatment of Cholesterol Gallstone Disease. Scand. J. Gastroentero. 29(s204)27-31
17. Pennington, J.A., Jones, J.W. (1987): Molybdenum, nickel, cobalt, vanadium and strontium in total diets. J. Am. Diet. Assoc. 87(12)1644-50
18. Plitzko, B., Ott, G., Reichmann, D., Henderson, C.J., Wolf, R., Mendel, R., Bittner, F., Clement, B., Havemeyer, A. (2013): The Involvement of Mitochondrial Amidoxime Reducing Components 1 and 2 and Mitochondrial Cytochrome b5 in N-reductive Metabolism in Human Cells. *J. Biol. Chem.* 288: 20228-20237
19. Sant'Anna, L.B., Cargnoni, A., Ressel, L., Vanosi, G., Parolini, O. (2011): Amniotic membrane application reduces liver fibrosis in a bile duct ligation rat model. Cell. Transplant. 20:441-453
20. Thompson, K.H., Chiles, J., Yuen, V.G., Tse, J., McNeill, J.H., Orvig, C. (2004): Comparison of antihyperglycemic effect amongst vanadium,molybdenum and other metal maltol complexes. J. Inorg. Biochem. 98:683–90.
21. Uchinami, H., Seki, E., Brenner, D.A., D'Armiento, J. (2006): Loss of MMP 13 attenuates murine hepatic injury and fibrosis during cholestasis. Hepatol. 44:420–429.