مجلة القادسية للعلوم الصرفة المجلد 20 العدد 1 سنة 2015
احسان ريسان \وجدان مطرود ISSN 1997-2490

* تأثير الحديد في مستوى الدوبامين والاستيل كولين ومؤشرات الاجهاد التأكسدي في ذكور الجرذان المعاملة بكلوريد المنغنيز

تاريخ الاستلام : 2014\4\7 تاريخ القبول : 2014\6\3

أحسان ريسان ابراهيم
جامعة القادسية \ كلية الصيدلة
Ihsanbrhmi@yahoo.Com

وجدان مطرود كاظم العزاوي
جامعة القادسية/كلية التربية
Hamidkamal_2000@yahoo.Com

الخلاصة

إستهدفت هذه الدراسة تحديد التأثيرات السمية للمنغنيز في الدماغ ومؤشرات الاجهاد التأكسدي ، الى جانب ذلك تقييم الدور الذي يمكن أن يؤديه الحديد في تقليل الآثار السمية للمنغنيز في ذكور الجرذان . واستُخدِمَ في هذه التجربة 21 حيواناً من ذكور الجرذان البيض قسمت عشوائياً على ثلاثة مجاميع ، المجموعة الأولى C : عُدت مجموعة سيطرة وجُرعت بالمحلول الملحي الفسيولوجي ، وأعطيت العليقة الإعتيادية ، والمجموعة الثانية G1 : هي التي جرعت كلوريد المنغنيز بتركيز 150 ملغم\ كغم من وزن الجسم يومياً ، والمجموعة الثالثة G2 : هي التي جرعت كلوريد المنغنيز بتركيز 150 ملغم \ كغم من وزن الجسم ، كما أعطيت كبريتات الحديدوز بتركيز 30 ملغم /كغم من العليقة يومياً . واستمرت فترة التجربة على مدى اربعة اسابيع .

وبعد انتهاء مدة التجربة درست المعايير الآتية : النواقل العصبية وشملت (الدوبامين والأستيل كولين في الدماغ) ومؤشرات الأكسدة وشملت (الكلوتاثيون والمالوندالديهايد في الدماغ وسوبر أوكسيد دسموتيز والكاتليز في المصل) في ذكور الجرذان .

وأظهرت النتائج أن تجريع الجرذان بكلوريد المنغنيز قد أدى الى إنخفاض معنوي ($P < 0.05$) في مستوى الدوبامين في الدماغ مع إرتفاع معنوي ($P < 0.05$) في مستوى الأستيل كولين في الدماغ . كما بينت النتائج حصول إنخفاض معنوي ($P < 0.05$) في مستوى الكلوتاثيون في الدماغ يرافقه إرتفاع معنوي ($P < 0.05$) في مستوى المالونداپالديهايد في الدماغ . في حين لوحظ حدوث إنخفاض معنوي ($P < 0.05$) في تركيز سوبرأوكسيد دسموتيز SOD وتركيز الكاتليز CAT في المصل .

وإن إعطاء الحيوانات كبريتات الحديدوز بشكل متزامن مع كلوريد المنغنيز في المجموعة G2 قد أدى الى حصول تحسن ملحوظ في المعايير المدروسة مقارنة مع المجموعة G1 التي جرعت بكلوريد المنغنيز وقريباً في بعض الأحيان من مجاميع السيطرة .

الكلمات الافتتاحية : الحديد ، المنغنيز ، الدوبامين ، الاستيل كولين ، الكاتليز .

Zoology Classification: QP1 –(981).

المقدمة:

تعد العناصر النزرة Trace elements من أهم الملوثات التي تدخل البيئة وذلك بسبب ثبوتيتها العالية وفترات بقائها غير المحددة ، إذ يمكنها أن تنتقل الى مسافات بعيدة عن مناطق نشوئها ، ويمكن أن تتضاعف تراكيز هذه العناصر من خلال السلسلة الغذائية ، لذلك تصبح بعض الحيوانات أو النباتات وبسبب احتوائها لتراكيز عالية من بعض هذه العناصر الخطرة مصدراً للتسمم وخطراً كبيراً على الصحة ، كما لايمكن تحلل هذه العناصر والقضاء عليها بوساطة البكتريا والعمليات الطبيعية الأخرى، إذ يمكن تغيير نوع المركب ولكن العنصر يبقى ويزداد تركيزه تدريجياً (46) .

* البحث مستل من اطروحة دكتوراه للباحث الثاني

ويعد المنغنيز واحداً من العناصر النزرة الأساسية للإنسان والحيوان ،ويشكل المنغنيز نحو 0.10% من القشرة الارضية ويمثل المرتبة الثانية عشرة في المعادن الاكثر وفرة (4) ، إذ أنه يمثل عنصراً غذائياً مهماً لكل من الإنسان والأحياء الأخرى ، إلا أن المنغنيز له تأثيرات خطيرة إذا ما زادت أوقلت تراكيزه عن الحدود المسموح بها ويحدث التسمم بمعدن المنغنيز بسبب وجوده في الهواء والماء نتيجة النشاط الصناعي والتعدين ، ويعد الجهاز العصبي الهدف الأول للمنغنيز ، فقد وجد بأن التعرّض لتراكيز عالية من المنغنيز يؤدي الى تحطم الخلايا الدوبامينية في الدماغ ومن ثم الإصابة بمرض Manganism (12) . كما ذكر(27) بأن المنغنيز يعد من العناصر المسببة لأمراض السرطان للإنسان إذا مازادت كميته في جسم الإنسان ويكون ذلك عن طريق الغذاء أو عن طريق إستنشاق الغبار الحاوي عليه

وقد أستخدم العديد من الوسائل الوقائية لتقليل الآثار السمية لبعض المواد في جسم الكائن الحي ومنها العوامل المضادة للأكسدة Antioxidant ومنها الحديد الذي يعد من أكثر العناصر النزرة انتشاراً في الأنظمة البايولوجية والضروري لجميع خلايا الجسم للمحافظة على فعاليتها الأيضية (53). وتكمن أهمية الحديد في قدرته على التحول بين شكلين أساسين، هما الحديدوز Fe^{+2} والحديديك Fe^{+3} بعمليتي الأكسدة والاختزال (9) وهذا يعتبر مهماً من ناحية دوره في تفاعلات نقل الأوكسجين ونقل الألكترون داخل السلسلة التنفسية ودوره كمرافق انزيمي للعديد من الأنزيمات منها Cytochromes، Oxidase، Peroxidase ، Catalase (28) .

المواد وطرق العمل

حيوانات التجربة

أجريت هذه الدراسة في البيت الحيواني التابع إلى قسم علوم الحياة – كلية التربية/جامعة القادسية. واستعملت في هذه الدراسة ذكور الجرذان البيض Albino rats ، تراوحت أوزانها ما بين 200- 250غرام وأعمارها ما بين 3-4 أشهر. واخضعت حيوانات التجربة إلى ظروف مختبرية مناسبة بدرجة حرارة 20- 25 م°، ومدة إضاءة 14 ساعة و10 ساعة ظلام. وقد زودت الحيوانات بالماء والعليقة خلال مدة التجربة وبصورة حرة *ad libitum*.

تحضير المنغنيز

أستعمل في هذه الدراسة عنصر المنغنيز على هيئة كلوريد المنغنيز $MnCl_2$ الذي تم الحصول عليه من مختبرات قسم الكيمياء التابع لكلية التربية / جامعة القادسية. وأستخدمت الجرعة 150ملغم/كغم من وزن الجسم من مادة كلوريد المنغنيز (32) وبعد إذابة الجرعة اليومية الكاملة من كلوريد المنغنيز في الماء المقطر تم تجريع كل حيوان يومياً بواقع 1 مل عن طريق الفم باستخدام محقنة نبيذة خاصة لهذا الغرض تحوي إبرة معقوفة .

تحضير الحديد

أستعمل في هذه الدراسة عنصر الحديد على هيئة كبريتات الحديدوز $FeSo_4$ التي تمَّ الحصول عليها من مختبرات قسم الكيمياء التابع لكلية التربية / جامعة القادسية ، إذ تم إستخدامه مضافاً مع العليقة بتركيز 30 ملغم /كغم من العليقة (20). تم تحضير العليقة بعد طحنها طحناً جيداً بواسطة طاحونة Blender ، وتم إضافة كبريتات الحديدوز بحسب التركيز المطلوب بعد إذابة الكمية المطلوبة منه في مقدارٍ كافٍ من الماء المقطر ثم مزج مع العليقة المطحونة ثم ترك المزيج لفترة مناسبة لحين تبخر الماء .

.تصميم التجربة **Experiment Design**

أستخدم في هذه التجربة 21 حيواناً من ذكور الجرذان البيض قسمت الى ثلاثة مجاميع ثانوية ضمت كل مجموعة 7 حيوانات. وتم تصميم الدراسة بالشكل التالي:

1- المجموعة الأولى (C) : ضمت (7) حيوانات ، إذ جرعت بالمحلول الملحي الفسيولوجي Nacl بتركيز 0.9% وقد أعطيت العليقة الإعتيادية وعدت كمجموعة السيطرة .
2- المجموعة الثانية (G1) : ضمت (7) حيوانات إذ أعطيت كلوريد المنغنيز بتركيز 150 ملغم / كغم من وزن الجسم عن طريق التجريع الفموي بإستخدام محقنة نبيذة خاصة لهذا الغرض يومياً ولمدة اربعة اسابيع .

3- المجموعة الثالثة (G2) : ضمت (7) حيوانات إذ أعطيت كلوريد المنغنيز بتركيز 150 ملغم / كغم من وزن الجسم عن طريق التجريع الفموي بإستخدام محقنة نبيذة خاصة لهذا الغرض ، كما أعطيت كما أعطيت كبريتات الحديدوز بتركيز 30 ملغم / كغم من العليقة يومياً ولمدة اربعة اسابيع .

جمع العينات Samples Collection

بعد انتهاء التجربة تم سحب الدم من القلب مباشرة بدون تخدير باستخدام طعنة القلب Puncture Heart ، بعد ذلك قتلت الحيوانات بعملية قطع الرأس Decapitation ووضع الرأس في حوض تشريح ثلجي وفتحت الجمجمة واستخرج الدماغ وغسل باستخدام المحلول الملحي المتعادل المبرد ثم جفف بوساطة ورق نشاف وازيل المخيخ والبراعم الشمية ووضع الدماغ المتبقي في عبوات بلاستيكية جافة ونظيفة وحفظت بدرجة حرارة – 80 مo لحين اجراء الاختبارات. ووضع الدم المسحوب في أنابيب اختبار زجاجية نظيفة خالية من المادة المانعة للتخثر، وتركت لمدة 15- 20 دقيقة في درجة حرارة المختبر ثم وضعت العينات داخل جهاز الطرد المركزي Centrifuge بسرعة 3000 دورة/ دقيقة لمدة 15 دقيقة لغرض فصل المصل، عزل المصل وحفظ بدرجة حرارة - 20 مo لحين الاستعمال.

المعايير المدروسة

تقدير تركيز الدوبامين DA في الدماغ

وزن (50 ملغم) من نسيج الدماغ الأوسط ووضع في (1 مل) من المحلول المبرد المتكون من HCL (60%) و EDTA(1%) و Sodium metabisulfite (0.1%) وهرس الخليط جيداً باستعمال الضغط الميكانيكي اليدوي في محيط ثلجي الى أن أصبح لزجاً ثم نقل الناتج الى جهاز الطرد المركزي المبرد Cooling centrifuge ونبذ بسرعة 15000g لمدة 15 دقيقة بدرجة حرارة 40c ، بعدها عزل الراشح ووضع في أنابيب بلاستيكية نظيفة وحفظ بدرجة حرارة – 20 مo لحين الإستعمال (48). وتم تقدير تركيز الدوبامين في راشح الدماغ باستخدام جهاز Elisa وبحسب العدة المصنعة من قبل شركة (ABO, Switzerland) .

تقدير تركيز الاستيل كولين Ach في الدماغ

يسحق نسيج الدماغ الأوسط في محلول بارد متكون من Tris-HCL (50 mM) وسكروز Sucrose (30 mM) ذي PH 7.4= بنسبة 10% (وزن /حجم) باستعمال الضغط الميكانيكي اليدوي في محيط ثلجي الى أن يصبح الخليط لزجاً ثم نقل الناتج الى الى جهاز الطرد المركزي المبرّد Cooling centrifuge ونبذ بسرعة 3000g لمدة 10 دقائق و بدرجة حرارة 4o c ، بعدها عزل الراشح ووضع في أنابيب بلاستيكية نظيفة وحفظ بدرجة حرارة – 20 مo لحين الإستعمال (40) . تم تقدير تركيز الاستيل كولين في راشح الدماغ باستخدام جهاز Elisa وبحسب العدة المصنّعة من قبل شركة (ABO, Switzerland) .

تقدير مستوى الكلوتاثيون في الدماغ

تم تقدير مستوى الكلوتاثيون في نسيج الدماغ بطريقة المان Ellman's method المحورة من قبل (26).

تقدير مستوى المالون ثنائي الالديهايد (MDA) في الدماغ

استخدمت الطريقة المتبعة من قبل الباحث Volken وجماعته(56) لتقدير مستوى MDA في الانسجة.

تقدير تركيز سوبر اوكسيد دسموتيز SOD في المصل

تم تقدير تركيز SOD في المصل باستخدام جهاز Elisa وبحسب العدة المصنعة من قبل شركة (ABO, Switzerland) .

تقدير تركيز الكاتليز CAT في المصل

تم تقدير تركيز الكاتليز في المصل باستخدام جهاز Elisa وبحسب العدة المصنعة من قبل شركة (ABO, Switzerland)

التحليل الإحصائي Statistical Analysis

حللت نتائج التجارب باستعمال برنامج SPSS الإحصائي ، إذْ استخدم اختبار (Anova) للمقارنة بين مجاميع المدروسة ومجموعة السيطرة وتم حساب اقل فرق معنوي (LSD) Least Significant Differences لاختبار معنوية النتائج (1).

النتائج والمناقشة

الدوبامين

أوضحت النتائج وجود إنخفاض معنوي ($P<0.05$) في مستوى الدوبامين في دماغ الجرذان المعاملة بكلوريد المنغنيز مقارنة مع السيطرة . واتفقت هذه النتائج مع ما توصّلت إليه العديد من الدراسات (37 , 39) .

وقد يعود ذلك الى تأثير المنغنيز بعدة آليات في مستوى الدوبامين ، ومنها تأثيره المباشر في الجهاز العصبي المركزي (55) حيث يتراكم المنغنيز في الدماغ وخاصة في المناطق الغنية بالدوبامين كالعقد الذاتية مسبباً تلف خلاياها (51 ,22 ,20) وينقل المنغنيز في الدماغ بواسطة قنوات الكالسيوم ومنها Voltage – gated calcium channels(VGCC) ، وقد لوحظ أن التعبير الجيني للـ VGCC في الخلايا الدوبامينية أكثر من الخلايا غير الدوبامينية وهذا يفسّر زيادة تجمّع المنغنيز في الخلايا الدوبامينية (13) .

كما يسبب المنغنيز تثبيط فعالية أنزيم Tyrosine hydroxylase (Th) المهم في عملية بناء الدوبامين (25) وقد أكد ذلك الباحث (57) إذ لاحظوا أن المعاملة بالمنغنيز تكبح التعبير الجيني للجين Th المسؤول عن بناء أنزيم tyrosine hydroxylase مما يؤدي إلى إنخفاض مستوى الدوبامين من خلال تثبيط إنتاجه .

كذلك ينشط المنغنيز بروتين Caspase–3 والذي بدوره ينشط Protein KinaseC (PKC) والأخير يلعب دوراً مهماً في حث الموت المبرمج apoptosis للخلايا الدوبامينية (30, 35) .

ومن جانب آخر، إن التعّرض للمنغنيز يقلل تدريجياً من تحرر الدوبامين من خلال أن المنغنيز يسبب إنخفاض amphetamine (AMPH) الذي يحفز تحرر الدوبامين (42).

كما يدخل المنغنيز الى النهايات العصبية الدوبامينية بواسطة الناقل الدوبامينيdopamine transporter (DAT) ويتفاعل مع البروتينات قبل التشابكية ويغير من وظيفتها ومنها بروتين α-synuclein (52) والذي يؤثر على بروتينات SNARE التشابكية الأساسية لتحرر النواقل العصبية (21) .

ويحثّ المنغنيز أكسدة الدوبامين في سلسلة من عمليات معقدة تتضمّن تكوين Semi – quinone وaminochrome اللذان يعملان على حث التنكس العصبي (17) .

ومن جانب اخر ، ادى اضافة الحديد في عليقة الجرذان بالتزامن مع المنغنيز الى ارتفاع معنوي في مستوى الدوبامين في الدماغ مقارنة مع الجرذان التي جرعت المنغنيز فقط. وقد يعود السبب في ذلك الى دور الحديد في بناء الدوبامين ، إذ يعمل كعامل مرافق لأنزيم Tyrosine hydroxylase المسؤول عن بناء الكاتيكولامينات ومنها الدوبامين (10,31) . وقد أكد ذلك (23) فقد وجدوا أن نقص الحديد يسبب إضطراب النظام الدوباميني .

فضلا عن ذلك ، يسبب الحديد زياد فعالية amphetamine (AMPH) الذي يحفز تحرر الدوبامين (31) ، وهذا ما يفسر زيادة مستوى الدوبامين في مجموعة الجرذان المعاملة بالحديد.

الأستيل كولين

أشارت النتائج الحالية الى حصول إرتفاع معنوي في مستوى الأستيل كولين Ach في دماغ الجرذان المعاملة بكلوريد المنغنيز مقارنة مع السيطرة .

وقد يعزى سبب ذلك الإرتفاع الى تأثير المنغنيز في عملية أيض Ach من خلال تثبيط فعالية أنزيم Acetylcholin esterase (AchE) (19) المسؤول بشكل رئيس عن تحلل Ach وإنهاء الإستجابة الكولينية في مستقبلات Ach النيكوتينية nicotinic والمسكارينية muscarinic في الدماغ (49,44) مما ينتج عن ذلك عدم تحلل Ach ومن ثم زيادة مستواه في الدماغ.

وقد أكد ذلك الباحث (43) إذ أشاروا الى أن المنغنيز يثبط فعالية أنزيم AchE وبذلك يقلّ من تحلل Ach مؤدياً الى زيادة تجمعه في الشق التشابكي ومن ثم زيادة تحفيز مستقبلات Ach النيكوتينية والمسكارينية .

من جانب اخر، أشارت النتائج الى انخفاض مستوى Ach في الدماغ في الحيوانات التي اعطيت الحديد مع العليقة بالتزامن مع المنغنيز مقارنة مع الحيوانات التي جرعت المنغنيز فقط .

ويعود السبب في ذلك الى ان إعطاء الحديد يثبط من إمتصاص المنغنيز في الأمعاء (50) ويقلل من تجمع المنغنيز في الدماغ (24) وبالتالي يخفف من الآثار السمية للمنغنيز ومن ثم المحافظة على مستوى Ach بتراكيزه الطبيعية .

جدول (1): يبين تأثير كبريتات الحديدوز في مستوى الدوبامين والاستيل كولين في ذكور الجرذان المعاملة بكلوريد المنغنيز لمدة اربعة اسابيع

المعايير / المجاميع	الدوبامين (pg/ml)	الاستيل كولين (pmol/L)
المجموعة الاولى (السيطرة)	0.54±20.8 a	0.29±36 d
المجموعة الثانية	0.86±6.3 d	0.36±61.5 a
المجموعة الثالثة	0.66±15.3 c	0.39±49.9 b

- الأرقام تمثل المعدل ± الخطأ القياسي .
- الحروف المختلفة تشير الى وجود فروق معنوية ($P<0.05$) بين المجاميع .

الكلوتاثيون GSH والمالونديالديهايد MDA

أوضحت نتائج الدراسة الحالية حصول إنخفاض معنوي في مستوى الكلوتاثيون GSH يرافقه إرتفاع معنوي في مستوى MDA في أنسجة دماغ الجرذان بعد معاملتها بكلوريد المنغنيز مقارنة مع السيطرة . وهذه النتائج تتفق مع ما توصَّل اليه دراسات اخرى (36,16). في حين لا تتفق مع ما ذكره(15).

كذلك توافقت هذه النتائج مع دراسة (59) والتي اشارت الى انخفاض مستوى GSH مع ارتفاع مستوى MDA في كبد الجرذان وكليتها ودماغها التي حقنت بكلوريد المنغنيز بتركيز (150m mol/kg) لمدة أربعة اسابيع ، وقد يعود سبب ذلك الى الضرر التأكسدي الذي سببه المنغنيز .

وأشارت دراسة (11) الى إنخفاض مستوى GSH مع ارتفاع مستوى Uric acid في دماغ الجرذان التي جرعت كلوريد المنغنيز بتركيز 200 ملغم\كغم من وزن الجسم لمدة ثلاثة أشهر ، وقد فسّر سبب ذلك الى أن المنغنيز حفز زيادة تكوين أصناف الأوكسجين الفعالة ROS .

ويمكن تفسير هذا الانخفاض الى حدوث الاجهاد التاكسدي الذي أحدثه التزويد المستمر بالمنغنيز ، إذ أدى تجمع المنغنيز في الدماغ الى زيادة توليد الجذور الحرة وخاصة أصناف الأوكسجين الفعالة (ROS) (38) ومن ثم زيادة معدل استهلاك الكلوتاثيون الذي يعّد أهم مضادات الأكسدة غير الأنزيمية في إزالة الجذور الحرة ونواتجها ومن ثمّ يتحول الى شكله المؤكسد (GSSG) غير الفعّال (34).

وتعد الحوامض الدهنية المتعددة غير المشبعة للأغشية الخلوية الهدف الرئيس لتفاعلات الجذور الحرة لإمتلاكها أواصر مزدوجة ، وبأكسدة هذه الحوامض الدهنية من خلال تفاعلات الجذور الحرة ينتج MDA كناتج نهائي لعملية بيروكسدة الدهون. وقد لاحظ (7) إن حقن الجرذان بكلوريد المنغنيز بالتراكيز (25 ,50 , 100) ملغم/كغم من وزن الجسم أدى الى زيادة عملية بيروكسدة الدهون وزيادة نواتجها مثل MDA في الدماغ . وقد عزوا سبب ذلك أما الى تجمع المنغنيز في الخلايا وخاصة في المايتوكوندريا مما يحفز تكوين جذر سوبر أوكسيد Superoxide ، أو الى تفاعل المنغنيز مع الكاتيكولامينات كالدوبامين مؤدياً الى تكوين جذر سوبر أوكسيد ، وفي كلتا الحالتين يزداد حدوث الإجهاد التأكسدي في الأنسجة . كما وجد (45) إن حقن دماغ الجرذان بكلوريد المنغنيز يزيد من توليد جذر الهيدروكسيل يتبعه زيادة تركيز نواتج عملية بيروكسدة الدهون .

إن التوافق بين إنخفاض مستوى GSH وارتفاع مستوى MAD في أنسجة الجرذان ناتج عن عملية تحفيز نشاط أنزيم Fatty acyl- coA oxidase وبدء أكسدة الأحماض الدهنية مما يؤدي الى زيادة إنتاج H_2O_2 الذي يحفز إنتاج بيروكسيدات الدهون إذ تعمل على تغيير نفاذية الأغشية الخلوية مسببة الضرر للخلايا مما ينتج عنه إرتفاع مستوى MDA (5) .

ويتدخل الـ GSH بآليتين لمنع التأكسد في حالات الإجهاد التأكسدي ، أما من خلال الإزالة المباشرة للجذور الحرة ، أو عن طريق ألانزيمات التي تكون مادة أساسية مثل الكلوتاثيون بيروكسيديز(GSH-PX) (47) وبذلك يقلل من حالة الإجهاد التأكسدي وينخفض مستواه .

في حالة الإجهاد التأكسدي يتحول الـ GSH الى شكله المؤكسد GSSG ويستنفذ محدثاً أكسدة الدهون ، وهذا يفسر إرتفاع معدلات الـ MDA بالجرذان المعاملة بكلوريد المنغنيز .

ويعد GSH اهم المركبات الثيولية التي تنتجها الخلايا ، والتي تلعب دوراً رئيساً في الوقاية ضد الأكسدة لقدرتها على إلتقاط الجذور واختزال البيروكسيدات ، وأيضاً الحفاظ على الحالة الرودوكسية للخلايا (53) كما يحافظ على مضادات الأكسدة ذات المصدر الخارجي مثل الفيتامينات C, E في بقائها على شكلها المختزل النشط . ويعمل GSH على حماية عضيات السايتوبلازم من التأثير المدمر لبيروكسيد الهيدروجين ، إذ يقوم باختزال H_2O_2 الى ماء باستمرار مع أكسدة GSH وتحويله الى GSSG وبذلك سوف تزال سمية بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 ومن ثم يقلّ مستوى GSH في حالات الإجهاد التأكسدي لمشاركته الفعالة في منع الأكسدة (54) .

وقد أظهرت النتائج الحالية أن إعطاء الحديد بالتزامن مع المنغنيز قد أدى الى خفض مستوى المالوناالديهايد ورفع مستوى الكلوتاثيون ، اذ يلعب الحديد دوراً مهماً في زيادة تنشيط فعالية بروتين aconitase المسؤول عن تكوين الحامض الأميني L-glutamate الذي يدخل في تركيب GSH مما يسبب زيادة إنتاج GSH (33) وهذا يفسر سبب زيادة مستوى GSH في مجموعة الجرذان المعاملة بالحديد.

الجدول (2): يبين تأثير كبريتات الحديدوز في مستوى الكلوتاثيون والمالونالديهايد في ذكور الجرذان المعاملة بكلوريد المنغنيز لمدة اربعة اسابيع

المعايير / المجاميع	MDA (nmol/mg)	GSH (Mmol/mg)
المجموعة الاولى (السيطرة)	0.13±0.47 d	1.1±0.87 a
المجموعة الثانية	0.01±1.52 a	0.14±0.18 e
المجموعة الثالثة	0.09±0.94 b	0.06±0.51 d

- الأرقام تمثل المعدل ± الخطأ القياسي .
- الحروف المختلفة تشير الى وجود فروق معنوية ($P<0.05$) بين المجاميع .

انزيمي سوبراوكسيد دسموتيز SOD والكاتليز CAT

بيّنت نتائج التحليل الإحصائي حصول إنخفاض معنوي في مستوى أنزيمي SOD وCAT في مصل دم الحيوانات المعاملة بكلوريد المنغنيز ولمدتي الدراسة مقارنة مع السيطرة ، وهذا الانخفاض يزداد بزيادة مدة التجريع بكلوريد المنغنيز. واتفقت النتائج مع ذكره (36) .

وقد يعزى هذا الإنخفاض الى زيادة توليد الجذور الحرة نتيجة الاجهاد التأكسدي الناتج من المعاملة بالمنغنيز (58,14) مما يؤدي الى سرعة إستهلاك الأنظمة الدفاعية المضادة للأكسدة التي تؤدي عملها بإزالة الجذور الحرة وبذلك يقل مستواها في مصل الدم .

إذ يحمي أنزيم SOD الأنسجة من ضرر أصناف الأوكسجين الفعالة ROS بواسطة تحويل جذر Super oxide الى بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 (8) في حين يكون أنزيم CAT مسؤولاً عن تحويل H_2O_2 الى جزيئة ماء و O_2 (3,29) . وقد وجد (41)إنخفاض التعبير الجيني للـ Mn – SOD بعد المعاملة بالمنغنيز .

وسجلت نتائج الدراسة الحالية ان المعاملة الحديد بالتزامن مع المنغنيز ادى الى تحسن واضح في مستوى انزيمي SOD و CAT في المصل .

ويعود ذلك الى دور الحديد في تثبيط امتصاص المنغنيز والتقليل من سميته (18). فضلا عن ذلك ، يدخل الحديد في تركيب انزيم CAT (6,2) لذا فإن اضافته الى عليقة الجرذان يؤدي الى زيادة مستوى هذا الانزيم .

الجدول (3): يبين تأثير كبريتات الحديدوز في مستوى SOD و CAT في ذكور الجرذان المعاملة بكلوريد المنغنيز لمدة اربعة اسابيع

المعايير / المجاميع	SOD (U/ml)	CAT (U/L)
المجموعة الاولى (السيطرة)	0.06±34.22 a	0.15±0.77 a
المجموعة الثانية	0.03±15.4 d	0.11±0.38 e
المجموعة الثالثة	0.09±25.5 c	0.15±0.64 c

- الأرقام تمثل المعدل ± الخطأ القياسي .
- الحروف المختلفة تشير الى وجود فروق معنوية ($P<0.05$) بين المجاميع .

المصادر

1. **الراوي** ، خاشع محمود (2000) . مدخل الى الاحصاء . الطبعة الثانية . كلية الزراعة والغابات. جامعة الموصل .
2. **Alfonso–Prieto, M.;** Vidossich, P.& Rovira, C. (2012). The reaction mechanisms of heme catalases: An atomistic view by ab initio molecular dynamics. Arch. Biochem. Biophys. 1 – 10.
3. **Andringa, K.K.;** Bajt, M.L.; Jaeschke, H.& Bailey, S.M. (2008). Mitochondrial protein thiol modifications in acetaminophen hepatotocicity: effect on HMG–COA Synthase. Toxicol. Lett. 177(3): 188 – 197 .
4. **ATSDR** (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). (2012). Toxicological profile for manganese. Atlanta, GA, US Department of Health and Human Services, Public Health.
5. **Basha, B.J.**& Sovers, J.R. (1996). Atherosclerosis: anupdate. Amer. Heart J. 131: 1192-1202.
6. **Bergmann, N.;** Bonhommeau, S.; Lange, K.; Greil, S.; Eisebitt, S.; Groot, F.; Chergui, M.& Aziz, E. (2012). On the enzymatic activity of catalase: an iron L–edge X–ray absorption study of the active centre. Phys. Chem. Phys. 12: 4827 – 4832 .
7. **Chen, M.;** Cheng, G.; Lin, C.& Huang, Y. (2006). Effects of acute manganese chloride exposure on lipid peroxidation and alteration of trace metals in rat brain. Bio. Trace Elem. Res. 110: 163- 177 .
8. **Chis, I.C.;** Ungureanu, M.I.; Marton, A.; Simedrea, R.; Muresan, A.; Postescu, I.D.& Deca, N. (2009). Antioxidant effect of a grape seed extract in a rat model of diabetes mellitus. SAGE. 6(3): 200-204.

8. **Cord, M.C.** & Sem, J.M. (1998). Iron free radicals, and oxidative injury. Hematol. 35: 5-12.
9. **Cortese, S.;** Lecendreux, M.; Bernardina, B.; Mouren, M.; Sbarbati, A. & Konofal, E. (2008). Attention–deficit/ hyperactivity disorder, Tourette's Syndrome, and rest less legs Syndrome: the iron hypothesis. Med. Hypotheses. 70: 1128 – 1132 .

10. **Desole, S.;** Esposito, G.; Migheli, R.; Fresu, L.; Sircana, S.; Zangani, D.; Miele, M. & Miele, E. (1995). Celluar defence mechanisms in the striatum of young and aged rats subxhronically exposed to manganese. Neuropharmacol. 34(3): 289 – 295 .

11. **Diederich, J.;** brielmeier, M.; Schwerdtle, T. & Michalke, B. (2012). Manganese and iron species in species in Sprague–Dawley rats exposed with $MnCl_2 . 4H_2O$. Microchem. J. 105(1): 115 – 123 .

12. **Ducic, T.;** Barski, E.; Salome, M.; Koch, J.; Bahr, M. & Lingor, P. (2013). X–ray fluore scence analysis of iron and manganese distribution in primary dopaminergic neurons. J. Neurochem. 124: 250 – 261 .

13. **Dukhande, V.;** Malthankar – Phatak, A.; Hugus, J.; Daniels, C. & Lai, J. (2006). Manganese–induced neurotoxicity is differentially enhancedby glutathione depletion in astrocytoma and neuroblastoma cells. Neurochem. Res. 31: 1349-1357 .

14. **Erikson, K.M.;** Dobson, A.W.; Dorman, D.C.& Aschner, M. (2004). Manganese exposure and induced oxidative stress in the rat brain. Science of the total Environment. Bio. Trace Elem. Res. 104(2): 151-63.
15. **Fang–lin, Z.;** Zhao–fa, X. & Jian, G. (2008). Effect of manganese exposure on energy metabolism and oxidative damage of mitochondria in rat brain. Med. Chem. 14(3): 3-9.

16. **Farina, M.;** Avila, D.; daRocha, J. & Aschner, M. (2013). Metals, oxidative stress and neurodegeneation: A focus on iron, mangese and mercury. Neurochem. Inter. 62: 575 – 594 .

17. **Finley, J.W.** (1999). Manganese absorption and retention by young women is associated with serum ferritin concentration. Amer. J. Clin. Nutr. 70: 37–43.

18. **Finkelstein, Y.;** Milatovic, D. & Aschner, M. (2007). Modulation of cholinergic systems by manganese. Neurotoxicol. 28: 1003 – 1014 .

19. **Fitsanakis, V.;** Zhang, N.; Anderson, J.; Erikson, K. & Aschner, M. (2006). Measuring brain manganese and iron accumulation in rats following 14 Weeks of Low–Dose manganese treatment using atomic absorption spectroscopy and magnetic resonance imaging. Toxicol. Sci. 103(1):116-124

20. **Guilarte, T.;** Burton, N.C.; McGlothan, J.L.; Verina, T.; Zhou,Y. (2008). Impairment of nigrostriatal dopamine neurotransmission by manganese is mediated by pre-synaptic

mechanism (s): implications to manganese–induced parkinsonism. J. Neurochem. (107): 1236-1247 .

21. **Gunter, T.;** Gerstner, B.; lester, T.; Wojtovich, A.; Malecki, J.; Gavin, C. & Gunter, K. (2010). An analysis of the effects of Mn^{2+} on oxidative phosphorylation in liver, brain, and heart mitochondria using state 3 oxidation rate assays. Toxicol. Applied pharmacol. 249: 65– 75.

22. **Hening, W.;** Allen, R.; Earley, C.; Picchietti, D.& Silber, M. (2004). An update on the dopaminergic treatment of Restless Legs Syndrome and periodic Limb movement disorder. Sleep. 27(3): 560 – 83 .

23. **Henn, B.;** Kim, J.; Wessling–Resnich, M.; Jayawardene, I.; Ettinger, A.; Schwaetz, J.; Christian, D.; Hu, H.& Wright, R. (2011). Associations of iron metabolismgenes with blood manganese levels: a population–based. Study with Validation data from animal models. Envir. Heal. 10: 1 – 11 .

24. **Hussain, S.;** Javorina, A.; Schrand, A.; Duhart, H.; Ali, S.& Schlager, J. (2006). The interaction of manganese nanoparticles with PC–12 cells induces dopamine depletion. Toxicol. Sci. 92 (2) 456 – 463 .

25. **James, R.C.;** Goodman, D.R.& Harbison, R.D. (1982). Hepatic glutathione and hpatotoxicity, changes induced by selected marcortics. J. Pharmacol. Therap. 221: 708-714.

26. **John, E.** (1998). The Elements. 3rd ed., Oxford University press. 320.

27. **John, M.D.** & Gregory, A. (2002). Clinical diagnosis and management, W. B. Saunders Company. 20th Ed.

28. **Kangralkar, V.A.;** Patil, S.D.& Bandivadekar, R.M. (2010). Oxidative stress and diabetes: A review. Int. J. Pharmaceutical Appl. 1(1): 38-45.
29. **Kanthasamy, A.G.;** Kitazawa, M.; Karthasamy, A.& Anantharma, V. (2003). Role of proteolytic activation of protein kinase Cdelta in oxidative stress induced apoptosis. Antoxid Redox Signal. 5: 609 – 620 .

30. **Konofal, E.;** Lecendreux, M.; Deron, J.; marchand, M.; Cortese, S.; Zaim, M. ; Mouren, M. & Arnulf, I. (2008). Effects of iron supplementation on attention deficit hyperactivity disorder in Children. Pediatr Neurol. 38: 20 – 26.

31. **Kristensson, K.;** Eriksson, H.; Lundh, B.; Plantin, L.& Heilbronn, E. (1986). Effects of manganese chloride on the rat developing nervous system. Acta. pharmacol. Toxicol. 59: 345- 348 .
32. **Lall, M.;** Ferrell, J.; Nagar, S.; Fleisber, L.& McGaban, M. (2008). Iron regulates L-Cyctine uptake and glutathione levels in lens epithelial and retinal pigment epithelial cells by Its effect on cytosolic aconitase. Ivos. 49(1): 310-319.

33. **Lands, L.C.;** Grey, V.L.& Smountas, A.A. (1999). Effect of supplementation with a cysteine donor on muscular performance. J. Appl. Physiol. 87: 1381-1385.

34. **Latchoumy candane, C.;** Anantharam, V.; Kitazawa, M.; Yang, Y.; Kanthasamy, A.& Kanthasamy, A. (2005). Protein kinase C8 is a key downstream mediator of manganese–induced apoptosis in dopaminergic neuronal cells. J. Pharmacol. Exper. Theapeutics. 313: 46 – 55 .

35. **Li, L.;** Zhao–fa, X.; Jing–hua, Y.; Bin, X.; An–ning, H.J. (2006). Experimental study of the effects of glutathione and alphalipoic acid on oxidative response induced by manganese in rats. Int. Med. Toxicol. 3(2): 15-20 .

36. **Martin, K.;** Huggins, T.; King, C.; Carroll; M.& Catapane, E. (2008). The neurotoxic effects of manganese on the dopaminergic innervation of the gill of the bivalve mollusk, Crassostrea Virginica. Comp. Biochem. Physiol. Toxicol. Pharmacol. 148(2): 152 – 159 .

37. **Martinez–Finley, E.J.;** Gavin, C.E.; Aschner, M.& Gunter, T.E. (2013). Manganese neurotoxicity and the role of reactive oxygen species. Free Radical Bio. Med. 62: 65 – 75 .

38. **McMillan, G.**& Spiegel–Ciobanu, V. (2007). Manganism, Parkinson's disease and welders' occupational exposure to manganese part2: Manganese as a neurotoxicological risk to welders. Welding and Cutting. 6: 220 – 229 .

39. **Mohamd, E.M.;** Ahmed, H.H.; Estefan, S.F.; Farrag, H.& Salah, R. (2011). Windows into estradiol effects in Alzheimers sisease therapy. Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci. 15: 1131-1140 .

40. **Morello, M.;** Zatta, P.; Zambenedetti, P.; Martorana, A.; Melchiorri, G.; Bernardi, G.& Sancesario, G. (2007). Manganese intoxication decreases the expression of manganoproteins in the rat basal ganglia: an immunohisto chemical study. Brain Res. Bull. 74: 406 – 415 .

41. **Roth, J.;** Li, Z.; Sridhar, S.& Khoshbouei, H. (2013). The effect of manganese on dopamine toxicity and dopamine transporter (DAT) in control and DAT transfected HEK cells. Neurotoxicol. 35: 121 – 128 .

42. **Santos, D.;** Milatovic, D.; Andrade,V.; Batoreu, M.; Aschner, M.& Santos, M. (2012). The inhibitory effect of manganese on acetyl cholinesterase activity enhances oxidative stress and neuroinflammation in the rat brain. Toxicol. 292: 90-98 .

43. **Sato, T.;** Abe, T.; Chida, D.; Nakamoto, N.; Hori, N.; Kokabu, S.; Sakata, Y.; Tomaru, Y.; Aiko, K.& Yoda, T. (2010). Functional role of acetylcholine and the expression of cholinergic receptors and components inosteoblasts. FEBS Lett. 584: 817 – 824 .

44. **Sloot, W.;** Korf, J.; Koster, J.; De Wit, L.& Gramsbergen, J. (1996). Manganese induced hydroxyl radical formation in rat striatum is not attenuated by dopamine depletion or iron chelation in vivo. Exp. Neurol. 138: 236-245 .

45. **Smalinskiene, A.;** Gaileviciute, R.; Lesaukaite, V.; Sadauskiene, I.; Abdrakhmano, O.& Ivanov, L. (2005). Effect of cadmium and zinc ions on mitotic activity and protein synthesis in mouse. Med. 41(6): 506 - 510.

46. **Suleyman, D.;** Mustafa, Y.; Mchmet, K.; Natan, A.; Divler, A.& Ahmet, A. (2003). Role of free radicals in peptic ulcer and gastritis. Turk. J. Gastroenterol. 14(1): 39 – 43 .

47. **Tan, S.;** Lam, W.; Wai, M.; Yu, W.&Yew, D. (2012). Chronic ketamine administration modulates midbrain dopamine system in mice. Plos one. 7(8):1-7 .

48. **Taylor, P.;** Camp, S.& Radic, Z. (2009). Acetyl Cholinesterase. Encyclopedia of Neurosci. 5 – 7 .

49. **Tuschl, K.;** Clayton, P.; Gospe, S.; Gulab, S.; Ibrahim, S.; Singhi, P.; Aulakh, R.; Ribeiro, R., Barsottini, O.; Zaki, M.& Mills, P. (2012). Syndrome of hepatic cirrhosis, Dystonia, Polycythemia, and Hypermanganesemia caused by mutations in SLC30AlO, a manganese transporter in man. Amer. J. Hum. Genet. 90: 1 – 10 .

50. **Tuschl, K.;** Mills, P.& Clayton, P. (2013). Manganese and the Brain. Int. Rev. Neuro. 110: 277 – 312 .

51. **Uversky, V.;** Li, J.& Fink, A. (2001). Metal–triggered structural transformations, aggregation, and fibrillation of human alpha–Synuclein. A possible molecular NK between Parkinson's disease and heavy metal exposure. J. Bio. Chem. 276: 44284 – 96 .

52. **Valko, M.;** Morres, H.& Cronin, M. (2005). Metals, toxicity and oxidative stress. Current Med. Chem. 12: 1161-1208 .

53. **VanderJagt, D.J.;** Harrison, J.M.; Rattiff, D.M.; Hunsaker, L.A.& Vanden Jagt, D.L. (2001). Oxidative stress indices in IDDM subjects with and without long–term diabetic complication. Clin. Biochem. 34(4): 265-270 .

54. **Verhoeven, W.M.;** Egger, J.I.& Kuijpers, H.J. (2011). Manganese and acute paranoid psychosis: a case report. J. Med. Rep. 5(146): 1-4 .

55. **Volken, E.;** Nurperi, G.& Ahmet, B. (2001). N-acetyl cystine reduces cerebral lipid peroxidation in a rat model of infantile hydrocephalus. J. Neurol. Sci. 1302-1310.

56. **Wang, J.;** Rahman, M.; Duhart, H.; Newport, G.; Patterson, T.; Murdock, R.; Hussain, S.& Ali, S. (2009). Expression changes of dopaminergic system–related genes in PC12 cells induced by manganese, Silver, or copper nanoparticles. Neurotoxicol. 30: 926 – 933 .

57. **Zhang, S.;** Zhou, Z.& Fu, J. (2003). Effect of manganese chloride exposure on liver and brain mitochondria function in rats. Envir. Res. 93(2): 149 – 157 .

58. **Zhao–fa, X.;** Bin, X.; An–ning, H.; Li, L.; Ke, J.& Jing, L. (2007). Effect of sodium Selenite and N–acetylcysteine in oxidative damage of rat induced by manganese. Med. Clin. 5(1): 1-6.

* Effect of iron in the levels of dopamine and acetylcholine and oxidative stress indicators in male rats treated with manganese chloride

Receved :7\4\2014 **Accepted :3\6\2014**

Ihsan R. Ibrahim **Wejdan M. kadhem**
Ihsanbrhmi@yahoo.Com **Hamidkamal_2000@ yahoo.Com**
university alqadisiya for college education

Abstract

The aim of this study was to determine the toxic effects of manganese in the brain as well as assess the role that could be played by iron to reduce the toxic effects of manganese in male rats .In this experiment (21) animals of male rats were divided randomly into three groups , the first group(C): it as control group was given saline physiological and given bush normal , the second group(G1): that given manganese chloride concentration of 150 mg / kg of body weight per day , the third group(G2): which given manganese chloride concentration of 150 mg / kg of body weight was also given ferrous sulfate concentration of 30 mg / kg of diet per day.

After the end of experiment the following parameters were studied: neurotransmitters included dopamine and acetylcholine in the brain antioxidants included Glutathione and MDA in the brain and superoxide dismutase and Catalase in serum .

The results showed that given manganese chloride in rats has led to a significant decrease ($P < 0.05$) in the level of dopamine in the brain with significant increase ($P < 0.05$) in the level of acetylcholine in the brain .

Also these results were showed a significant decrease ($P < 0.05$) in the level of Glutathione in the brain , accompanied by a significant increase ($P < 0.05$) in the level of MDA in the brain.

While there was a significant decrease ($P < 0.05$) in SOD concentration and CAT concentration in serum .

Animals that given of ferrous sulfate simultaneously with manganese chloride in groups G2 has led to obtain a significant improvement in studied parameters compared with the group G1 which given manganese chloride and soon sometimes for control group.

Key word : iron , manganese, dopamine, acetylcholine, catalase .

Zoology Classification: QP1 –(981).

***The Research is apart of on Ph.D. dissertation in the case of the Second researcher**