

تقييم تأثير الليزينوبريل على مخزون الحديد في الجسم عند الجرذان

جولي رفول¹، أ.د. شذى اللحام²، أ.د. سحر الشماع³

¹طالبة ماجستير في علم تأثير الأدوية، كلية الصيدلة، جامعة دمشق. البريد الالكتروني
²أستاذة دكتوراة رئيسة قسم علم تأثير الأدوية، كلية الصيدلة، جامعة دمشق، البريد الالكتروني
³أستاذة دكتوراة في قسم الكيمياء الحيوية، كلية الصيدلة، جامعة دمشق.

الملخص:

خلفية البحث وهدفه: يتسبب فرط الحديد بأضرار على الصحة. تقترح البيانات تورط الأنجيوتنسين 2 في تخزين الحديد في الجسم. لذلك، هدفت الدراسة الحالية إلى التحقق من تأثير مثبط الإنزيم المحول للأنجيوتنسين "الليزينوبريل" في تخفيف تخزين الحديد الناتج عن فرط تحميل الحديد في الجسم، المحدث بكبريتات الحديدي عند الجرذان. مواد البحث وطرائقه: 23 جرذاً ذكراً من سلالة Wistar Albino، تم تقسيمهم إلى 3 مجموعات؛ الطبيعية: ماء مقطر 1 مل/يوم، المرضية: كبريتات الحديدي 30 ملغ/كغ/يوم، المعالجة بالليزينوبريل: كبريتات الحديدي + الليزينوبريل 1 ملغ/كغ/يوم حقناً داخل الصفاق يومياً لمدة 14 يوم. تم تقييم مستوى الحديد في الجسم عن طريق مقايسة الحديد الكبدي والمصلي.

النتائج: أدى حقن كبريتات الحديدي إلى زيادة تخزين الحديد في الجسم كما يتضح من ارتفاع مستويات الحديد في المصل والكبد. الليزينوبريل لم يخفف من مؤشرات الحديد المرتفعة عند حقنه يومياً لمدة 14 يوماً. ($P > 0.05$) الإستنتاجات: لا يمكن الاعتماد على تثبيط الأنجيوتنسين 2 لتخفيف كمية الحديد في الجسم في ظل فرط تحميل الحديد.

الكلمات المفتاحية: الحديد، أنجيوتنسين 2، الليزينوبريل، مخلبة، الجذور الحرة.

تاريخ القبول: 2022/2/24

تاريخ النشر: 2023/3/5



حقوق النشر: جامعة دمشق -
سورية، يحتفظ المؤلفون بحقوق
النشر بموجب الترخيص
CC BY-NC-SA 04

Evaluation of ACEIs "Lisinopril" Effect on Body Iron Storage in Rats

Julie Raffoul¹, Prof. Shaza Al-Lahham², Prof. Sahar Al-Shammaa³

¹Master's Student, Department of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Pharmacy, Damascus University.

² Professor, Head of the Department of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Pharmacy, Damascus University.

³ Professor in the Department of Biochemistry, Faculty of Pharmacy, Damascus University.

Abstract

Background and aim: Iron overload can have detrimental health effects. Angiotensin II is involved in body iron storage. Therefore, the current study aimed to investigate angiotensin-converting enzyme inhibitor "lisinopril" efficacy in reducing body iron content under iron overload conditions, using an experimental model induced by ferrous sulfate in rats.

Materials and methods: 23 male Albino Wistar rats, divided into three groups; control: distilled water 1ml/day, Iron overload: ferrous sulfate 30 mg/kg/day, treatment with Lisinopril: ferrous sulfate + Lisinopril 1 mg/kg/day intraperitoneal injections daily for 14 days. Body iron stores were evaluated by hepatic and serum iron assay.

Results: Ferrous sulfate increased body iron storage as evidenced by elevated serum and hepatic iron levels. Lisinopril did not cause a significant reduction in iron parameters when injected daily for 14 days ($P > 0.05$).

Conclusions: Angiotensin inhibition may not be beneficial in reducing body iron stores under iron overload conditions.

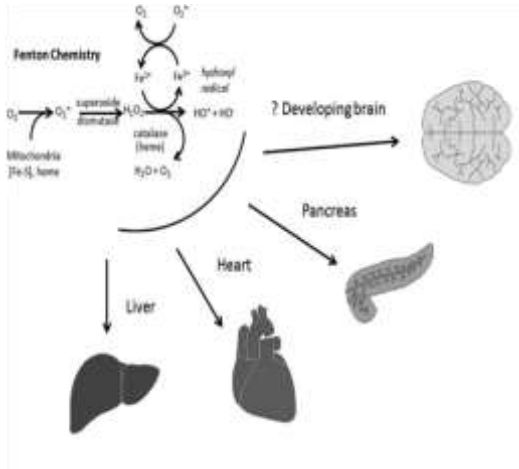
Keywords: Iron, Angiotensin II, Lisinopril, Chelation, Free radicals.

Accepted: 24/2/2022

Published: 5/3/2023



Copyright: Damascus University- Syria, The authors retain the copyright under a CC BY- NC-SA



الشكل (1): آلية الحديد في التسبب بالأذية الخلوية وضرر الأعضاء (Wessling-Resnick, 2017)

في الوقت الحالي، يشمل علاج الحمل الزائد للحديد الفصد والعلاج بمخلبة الحديد، والتي تعوقها آثارها الجانبية وغير المستهدفة (Badria et al., 2015). على سبيل المثال؛ يعتبر ديفيروكسامين Deferoxamine مادة ممخلبة للحديد شائعة الاستخدام. ومع ذلك، لديه قدرة محدودة على دخول الخلايا ويتم استقلابه بسرعة. تزيد مخلبات الحديد الأخرى مثل ديفيريرون Deferiprone من خطر ندرة المحبيات وقلة العدلات، بينما يزيد ديفيراسيروكس Deferasirox من خطر الاضطرابات المعدية المعوية والفشل الكبدي (Badria et al., 2015). علاوة على ذلك، فإن الفصد هو مضاد استطباب لدى مرضى فقر الدم الانحلالي (Sibuor et al., 2018). تسلط هذه القيود العلاجية الضوء على الحاجة إلى تدخلات دوائية بديلة ذات آثار جانبية أقل (Badria et al., 2015).

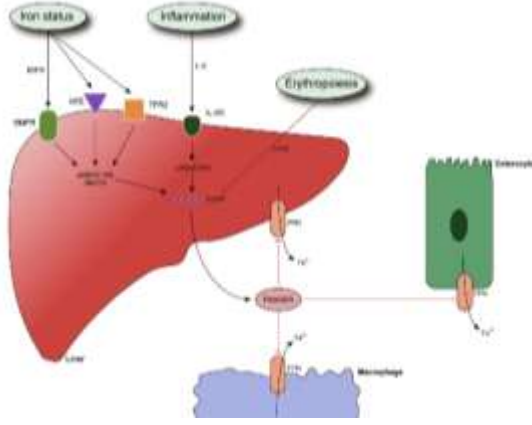
يُنْتَج الهيسيديين، الهرمون الببتيدي المتحكم في توافر الحديد في الجسم، بشكل رئيسي من خلايا الكبد (Coffey & Ganz, 2018) و ذلك استجابةً لزيادة حمولة الحديد في الخلايا (Vela, 2018). يقوم الهيسيديين بتنشيط ناقل الحديد (الفيروبرتين) في الخلايا المعوية الماصة للحديد، مانعاً بذلك من امتصاص

المقدمة Introduction:

يعد الحديد أحد أكثر المعادن وفرة في جسم الإنسان وعنصر أساسي للوظيفية الفيزيولوجية الطبيعية (Sarkar et al., 2015). يحتل الحديد هذا الموقع المهم بفضل دخوله في تفاعلات الأكسدة والإرجاع والفته العالية للأوكسجين (Sarkar et al., 2015)، فهو قادر على الانتقال بشكل عكسي بين حالتي الحديدي (Fe^{+2}) والحديد (Fe^{+3}). هذه الخاصية ضرورية لوظائف الحديد، ولكنها تجعله سمياً للغاية (Sarkar et al., 2015)، لأن الحديد الحر هو محفز قوي لتكوين جذور الهيدروكسيل الحرة وبيروكسيد الدهون، مما يؤدي إلى زيادة الإجهاد التأكسدي، استنفاد المخازن الخلوية لمضادات الأكسدة الإيجابية (Badria et al., 2015)، وبدء أكسدة الدهون في أغشية الخلايا وإحداث الأضرار التأكسدية للبروتين والأحماض النووية (Sarkar et al., 2015).

يعد الحمل الزائد للحديد ظاهرة مرضية يفوق فيها إمداد الجسم بالحديد الحاجة إليه (Wang et al., 2021)، مما يؤدي إلى زيادة تخزين الحديد في بعض الأنسجة والأعضاء (Sarkar et al., 2015). كما يحدث في داء ترسب الأصبغة الدموية الوراثي، أمراض الكبد المزمنة، الأمراض المرتبطة بفقر الدم الانحلالي (Badria et al., 2015) مسبباً أذية وخلل الأعضاء، بما في ذلك التلف الكبدي، التهابات، ضعف وظائف القلب (Sarkar et al., 2015) وخلل الغدد الصماء (Wessling-Resnick, 2017) (الشكل 1).

SMAD4 وبالتالي، تقليل تركيزه النووي وتقليل نسخ الهيبسيدين (Coffey & Ganz, 2018) HAMP (الشكل 2).



الشكل 2؛ دور الحديد والأريثروبويتين في تنظيم التعبير عن الهيبسيدين في خلايا الكبد (Vela, 2018)

BMP6: basic metabolic panel, HFE: Hemochromatosis Gene, TFR2: transferrin receptor2, SMAD: Mothers against decapentaplegic homolog, IL-6: Interleukin-6, JAK 2: janus kinase 2, HAMP: hepcidin antimicrobial peptide, ERFE: Erythroferone. FPN:Ferroportin, Fe: iron

وجدت الدراسات أن الأنجيوتنسين 2 يساهم في زيادة امتصاص الحديد وتخزينه في جميع أنحاء الجسم مع زيادة التعبير عن نواقل الحديد في الجسم (Ishizaka et al., 2005; Tajima et al., 2015). يعود ذلك إلى قدرة الأنجيوتنسين على تحفيز هرمون الأريثروبويتين من خلال تقليل تدفق الدم الكلوي، وتقليل وصول الأوكسجين إلى الخلايا المنتجة للإريثروبويتين، وبالتالي تحفيز إنتاج الإريثروبويتين (Jonaitiene et al., 2021) الذي بدوره يثبط التعبير عن الهيبسيدين ويزيد بذلك من امتصاص وتراكم الحديد في الجسم. (Coffey & Ganz, 2018)

تتجه الدراسات في الآونة الأخيرة إلى البحث عن طرق لتثبيته الهيبسيدين و ذلك لتطوير علاجات جديدة تخفف من تراكم الحديد المتعلقة بأمراض فرط تحميل الحديد. (Casu et al., 2018) في هذا الصدد، اتجهت دراستنا إلى إيجاد طرق جديدة

الحديد في الجسم، و ذلك لضمان بقاء الحديد ضمن الحدود الطبيعية (Vela, 2018).

يخضع الهيبسيدين لعدة عوامل تتحكم بنسبته في الجسم، وبالتالي فإن درجة التعبير عن الهيبسيدين هي محصلة لعدة إشارات خلوية (Coffey & Ganz, 2018):

- إن ازدياد مخازن الحديد الكبدية وارتفاع تركيز الهولوترانسفيرين (HoloTF) تنبه انتساح الهيبسيدين في خلايا الكبد (Coffey & Ganz, 2018) حيث يؤدي فرط الحديد إلى زيادة مستويات الهولوترانسفيرين المصلية وزيادة إفراز بروتينات العظام المورفولوجية (BMP) بواسطة الخلايا البطانية الحبيبية الكبدية (Coffey & Ganz, 2018; Vela, 2018). تتفاعل BMP مع معقد مستقبلات BMP، بينما يرتبط HoloTF بمستقبلات الترانسفيرين (TFR1) و (TFR2) مما يؤدي لانفصالها عن Hemochromatosis protein (HFE) وتفعيل معقد مستقبلات BMP. وبالتالي، فسفرة SMAD 1/ 5/ 8 وتشكيل معقد مع SMAD4. تنتقل بعدها SMAD4 إلى النواة، حيث تعمل كعوامل نسخ وتتفاعل مع العناصر المستجيبة ل BMP (BRE) في promoter HAMP، مما يزيد من نسخ مرنا الهيبسيدين (Coffey & Ganz, 2018; Vela, 2018) (الشكل 2)

- على العكس من ذلك، في ظل ظروف نقص الأكسجة وفقر الدم يتم زيادة امتصاص الحديد عن طريق قمع التعبير عن الهيبسيدين في الكبد، حيث تطلق الكلية هرمون الإريثروبويتين استجابة لنقص الأكسجة (Bloomer & Brown, 2021) والذي بدوره يثبط التعبير عن الهيبسيدين من خلال تحفيز الأريثروبلاست Erythroblast على زيادة إنتاج بروتين الإريثروفيرون (ERFE). يعمل الإريثروفيرون من خلال مستقبل (مستقبلات) وآلية (آليات) غير معروفة على تقليل فسفرة SMAD1 / 5/ 8 في خلايا الكبد. وتكوين معقد أقل مع

- كبريتات الحديد (HIMEDIA) Ferrous sulphate (laboratories, India)
عتائد المعاييرة Kits:
- عتيدة مقاييرة الحديد (Medichem company, iron kit Aleppo, Syria)
المواد المساعدة المستخدمة Adjuvant used materials:
- الإيثر ثنائي الإيثيل (C2H5)2O Diethyl ether (Merck) استخدم للتخدير.
- ثلاثي كلور حمض الخل (BDH Trichloro- aceticacid laboratories, England)

الأدوات والأجهزة المستخدمة Tools and Devices

- حجرة التخدير: لتخدير الجرذان قبل التضحية
- محاقن: لحقن الجرذان بكبريتات الحديد والليزينوبريل
- أنابيب جمع الدم غير حاوية على مضاد تخثر 5 مل: لجمع عينات الدم قبل تثقيلها
- أنابيب إندروف 2 مل: لوضع عينات الكبد في المجمدة.
- ميزان حساس: للحساب الدقيق لجرعات كبريتات الحديد و الليزينوبريل
- المثقلة المبردة (شركة Selecta): لتثقيل العينات الدموية و أخذ المصل.
- جهاز مقياس الطيف الضوئي UV Spectrophotometer لقياس الامتصاص الأعظمي الحديد وبالتالي حساب تركيز الحديد في العينات المصلية و الكبدية.

تصميم الدراسة Study Design

وُزعت الجرذان على الشكل الآتي:

1. المجموعة (CN) الشاهدة الطبيعية (n=8) تلقت ماء مقطر 1 مل/يوم لمدة 14 يوم (Gholampour & Saki, 2019).
2. المجموعة (Fe) الشاهدة المرضية (n=8) حُرّض لديها فرط تحميل الحديد باستخدام كبريتات الحديد بجرعة 30

لتحفيز التعبير عن الهيسيدين وذلك اعتماداً على تثبيط الأنجيوتنسين 2 باستخدام الليزينوبريل Lisinopril. ينتمي الليزينوبريل إلى عائلة كبيرة من الأدوية الخافضة للضغط، مثبتات الإنزيم المحول للأنجيوتنسين. أثبتت فعاليته في علاج ارتفاع ضغط الدم، أمراض القلب التاجية، اعتلال الكلية المرتبط بالسكري وفشل القلب الاحتقاني (Sio *et al.*, 2019). تم اختيار الليزينوبريل دون غيره من مثبتات الإنزيم المحول للأنجيوتنسين ACEIs ومثبطات مستقبلات الأنجيوتنسين 2 ARBs بسبب قدرته على مخلبة الحديد في المختبر، مما قد يجعله غير نشط في توليد الجذور الحرة (Silva *et al.*, 1999).

الهدف:

تقييم فعالية الليزينوبريل في تخفيف تخزين الحديد في الجسم من خلال تثبيط الأنجيوتنسين 2 في حالات فرط تحميل الحديد، وذلك بهدف إيجاد طرق جديدة لتخفيف الآثار الجانبية للأدوية المخلبة للحديد التقليدية.

مواد البحث وطرائقه Methods and Materials

حيوانات التجربة Experimental Animals

جرى العمل على 23 جرذاً مخبرياً من سلالة Albino Wistar من جنس الذكور البيضاء البالغة، بوزن يتراوح بين 170-300 g. وضعت في حواضن حيوانات التجربة، ضمن أفاص تؤمن وصولاً حرّاً وميسراً للماء والغذاء بحيث لا يحتوي القفص الواحد على أكثر من 4 جرذان. حفظت الحيوانات في بيئة ذات دورة نمطية من النور والظلمة وفي درجة حرارة ثابتة 25 ± 2 درجة مئوية. تركت الحيوانات لمدة أسبوع قبل البدء بالتجربة حتى تتكيف مع بيئة الحواضن.

الأدوية المستخدمة Drugs:

- الليزينوبريل Lisinopril (Nutra Specialties Private Limited, India)

مرجع. ليشكل الحديد الثنائي (Fe^{+2}) معقدًا ملونًا مع Nitro-PAPS يظهر أقصى امتصاص عند 578 نانومتر، ويرتبط الامتصاص مباشرة بتركيز الحديد (Pathak et al., 2019).

مقايسة الحديد الكبدي:

تحضير متجانسات الكبد:

تم مجانسة عينات الكبد (1 g) في 10 ml من الماء المقطر، باستخدام المجانسات Tissue Lysser II. تم إضافة أحجام متساوية (0.5 مل) من كل محلول الجانسة النسيجية الكبدية ومحلول ترسيب البروتين (1N حمض كلور الماء و 10% حمض ثلاثي كلور حمض الخل في ماء مقطر)، تم الحضان عند 85 درجة مئوية لمدة 90 دقيقة. تم تبريد عينات الأنسجة لمدة دقيقتين، ثم ثقلت عند 11000 دورة في الدقيقة لمدة 10 دقائق. تم أخذ الجانسة الطافية لمعايرة الحديد بطريقة مماثلة لمقايسة الحديد في الدم. (Lê et al., 2011).

التحليل الإحصائي Statistical Analysis:

- أجريت الدراسة الإحصائية باستخدام البرنامج الإحصائي GraphPad Prism 8.0.1.
- قُيِّمت البيانات المعلمية باستخدام اختبار تحليل التباين الأحادي One-way Analysis of Variance (ANOVA)، أُجريت المقارنة الثنائية بطريقة الفروق الصغرى ذات الدلالة LSD (Least Significant Difference) لإجراء المقارنات الثنائية بين المتوسطات للمجموعات المدروسة.
- اعتبرت الفروق جوهريّة وذات دلالة إحصائية عند مستوى الدلالة ($p < 0.05$)

ملغ/كغ/يوم لمدة 14 يوم حقناً داخل الصفاق (Gholampour & Saki, 2019)

3. المجموعة (Fe+Lis) المعالجة بالليزنيوبريل (n=7) تلقت الليزنيوبريل بجرعة 1 ملغ/كغ/يوم حقناً داخل الصفاق (Ramalho et al., 2001)، و ذلك بعد 30 دقيقة (EI-Sheikh et al., 2018) من حقن كبريتات الحديدي يومياً لمدة 14 يوم (Gholampour & Saki, 2019).

جمع العينات والتضحية Sampling and Sacrificing

- ضُحي بالحيوانات في اليوم الخامس عشر من بدء التجربة، و ذلك بحجز الحيوان في حجرة مشبعة بالإثير ثنائي الإيثيل Diethyl Ether إلى أن يلاحظ ركون الحيوان وتباطؤ معدّل التنفس وغياب الاستجابة للمنبهات. يُخرج عندها الحيوان من حجرة التخدير وتقطف العينات اللازمة.
- جُمعت عينات الدم بواسطة سحب الدم من القلب، ووضعت في أنابيب لاحتوي على مضاد تخثر.
- نُقِلت عينات الدم وأخذ المصل بهدف إجراء المقايسات الكيميائية الحيويّة للحديد المصلي.
- تم استئصال الكبد و ذلك لإجراء مقايسة الحديد الكبدي.
- حفظت العينات المصلية والكبدية النسيجية في المجمدة بدرجة حرارة -80 درجة مئوية لحين إجراء المقايسات الحيوية.

مقايسة الحديد المصلي:

تم تقييم مستوى الحديد المصلي من خلال مقايسة لونية باستخدام عدة الحديد (Medichem company, Aleppo, Syria). يوجد الحديد في البلازما في الغالب بشكل مرتبط بالترانسفيرين (Fe^{+3})، يتم فصل الحديد عن الترانسفيرين في ظل الظروف الحمضية (درجة الحموضة 4.4-4.5)، يتم بعدها إرجاع الحديد الثلاثي (Fe^{+3}) إلى الشكل الحديدي (Fe^{+2}) باستخدام عامل

الجدول (1): وزن الجسم قبل وبعد انتهاء التجربة عند مجموعات الدراسة، والنسبة المئوية لتغير وزن الجسم. (%)

مجموعات الدراسة	المشاهدة الطبيعية	فرط الحديد	المعالجة بالليزينوبريل
وزن الجسم البدني (g)	243±18.26	226.3±10.09	274.9±20.64
وزن الجسم النهائي (g)	255.5±16.54	196.2±12.43	215.5±20.06
النسبة المئوية لتغير وزن الجسم (%)	+5.796±1.382	13.69±3.044***	22.15±1.900 [^]

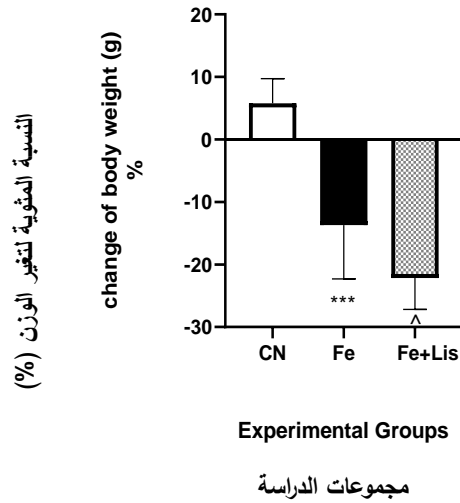
القيم المعطاة تمثل المتوسط (± الخطأ المعياري) $p < 0.001$.
مقابل المجموعة الشاهدة الطبيعية. $p < 0.05$ [^] مقابل مجموعة الحديد الزائد.

تأثير الليزينوبريل على مؤشرات الحديد في جسم الجرذان المحملة بالحديد الناتج عن كبريتات الحديدي
الجدول (2): مستويات الحديد المصلي والكبدية عند مجموعات الدراسة. (µg/g) (µg/dl).

مجموعات الدراسة	الحديد المصلي (µg/dl)	الحديد الكبدية (µg/g)
الشاهدة الطبيعية	81.63±6.997	153.3±14.05
فرط الحديد	192.0±17.00***	318.3±34.57***
المعالجة بالليزينوبريل	155.3±13.29 [#]	325.4±19.14 [#]

القيم المعطاة تمثل المتوسط (± الخطأ المعياري) $p < 0.001$.
مقابل المجموعة الشاهدة الطبيعية. $p > 0.05$ [#] مقابل مجموعة فرط تحميل الحديد.

أدى حقن الحيوانات بكبريتات الحديدي إلى زيادة حمل الحديد، والذي تجلى من خلال ارتفاع مستوى الحديد في المصل بنسبة (135.2%)، وزيادة مخزون الحديد في الجسم من خلال ارتفاع محتوى الحديد الكبدية بنسبة (107.6%) مقارنة بالمجموعة



الشكل (3): تأثير الليزينوبريل على تغير وزن جسم الجرذان المصابة بفرط تحميل الحديد (%)

القيم المعطاة تمثل المتوسط (± الخطأ المعياري). $p < 0.001$.

$p < 0.001$ مقابل المجموعة الشاهدة الطبيعية. $p < 0.05$ [^] مقابل مجموعة الحديد الزائد. (CN): المجموعة الشاهدة الطبيعية، (Fe): مجموعة فرط الحديد، (Fe+Lis): مجموعة المعالجة بالليزينوبريل.

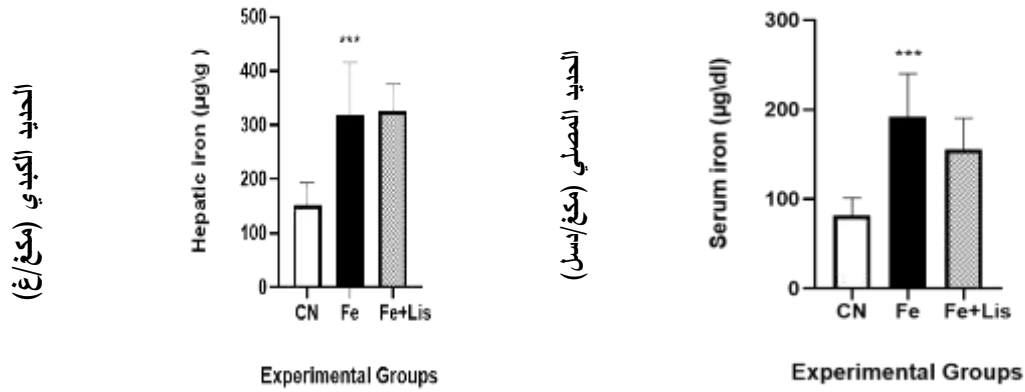
النتائج Results

تأثير الليزينوبريل على وزن جسم الجرذان المحملة بالحديد الناجم عن كبريتات الحديدي:

بعد 24 ساعة من حقن كبريتات الحديدي، ظهرت على الحيوانات أعراض منها: فقدان الوزن بشكل تدريجي مصحوب بضعف وقلة الحركة ونقص في تناول الطعام. لم تتحسن هذه الأعراض في مجموعة الليزينوبريل. تسبب حقن كبريتات الحديدي في فقدان جوهري للوزن ذي دلالة إحصائية في مجموعة الحديد الزائد (-13.69%) مقارنةً بالمجموعة الشاهدة الطبيعية ($p < 0.001$) (الشكل 3).

أظهر وزن الجسم للمجموعة المعالجة بالليزينوبريل فقداناً ملحوظاً في الوزن (-22.15%) مقارنةً بمجموعة الحديد الزائد ($p < 0.05$) (الجدول 1).

الشاهدة الطبيعية ($P < 0.001$) (الجدول 2). لم يتسبب العلاج بالليزينوبريل بجرعة 1ملغ/كغ/يوم في حدوث انخفاض ذي دلالة إحصائية في مستويات الحديد في الكبد والمصل مقارنة بمجموعة الحديد الزائد ($P > 0.05$) (الشكل 4).



مجموعات الدراسة

مجموعات الدراسة

الشكل (4): تأثير الليزينوبريل على مؤشرات الحديد في جسم الجرذان المصابة بفرط تحميل الحديد ($\mu\text{g/g}$) ($\mu\text{g/dl}$) القيم المعطاة تمثل المتوسط (\pm الخطأ المعياري) $p < 0.001$ *** مقابل المجموعة الشاهدة الطبيعية. (CN): المجموعة الشاهدة الطبيعية، (Fe): مجموعة فرط الحديد، (Fe+Lis): مجموعة المعالجة بالليزينوبريل.

المناقشة Discussion:

أظهرت الدراسة الحالية لنموذج الحمل الزائد للحديد عند الجرذان أن كبريتات الحديد أدى إلى زيادة مستوى الحديد في المصل وترسب الحديد في الكبد. تشير النتائج التي توصلنا إليها إلى أن العلاج بالليزينوبريل ليس له تأثير على مؤشرات الحديد في الجسم عند استخدامه يومياً لمدة 14 يوم. يمكن أن ينتج فرط الحديد عن أمراض مختلفة، يتسبب ذلك في تلف الخلية لأن الحديد الحر يعزز إصابة الأنسجة المحفزة بالشدة التأكسدية (Badria et al., 2015). المعالجة الحالية للحمل الزائد للحديد تشمل مخلفات الحديد، لكن آثارها الجانبية تدعو إلى البحث عن تدخلات دوائية بديلة (Badria et al., 2015). يعد الهيبسيدين Hepcidin الهرمون الرئيسي المسؤول عن التحكم بمستويات الحديد في الجسم، حيث يقوم بتنشيط امتصاص الحديد عبر الأمعاء استجابة لارتفاع مستوياته في الجسم. تتجه الأبحاث والدراسات قبل السريرية في الآونة الأخيرة إلى دراسة الهيبسيدين وطرق نقل الإشارة الخاصة به لتطوير علاجات جديدة لأمراض فرط تحميل الحديد (Casu et al., 2018) في هذا الصدد، اتجهت دراستنا إلى إيجاد طرق جديدة لتحفيز التعبير عن الهيبسيدين وذلك من خلال تنشيط الأنجيوتنسين باستخدام الليزينوبريل (متبط للإنزيم المحول للأنجيوتنسين) استناداً إلى الدراسات السابقة التي أوضحت دور الأنجيوتنسين في زيادة تخزين الحديد في الجسم عبر تنشيط الهيبسيدين (Ishizaka et al., 2005; Tajima et al., 2015)، بالإضافة لقدرة الليزينوبريل على مخلبة الحديد في المختبر، مما يجعله غير نشط في توليد هذه الجذور الحرة (Silva et al., 1999). اعتمدت دراستنا لنموذج فرط تحميل الحديد على حقن كبريتات الحديد بجرعة 30 ملغ/كغ يومياً، وذلك لما أظهرته الدراسات السابقة المعتمدة على هذه الجرعة من حدوث أذية في الأعضاء وارتفاع في مستويات الحديد في الجسم بشكل ملائم

لدراسة أمراض فرط تحميل الحديد الثانوية (Gholampour & Saki, 2019) (Pari et al., 2015). كما تم استخدام دواء الليزينوبريل بجرعة 1 ملغ/كغ لما أظهرته الدراسات السابقة من التأثيرات العلاجية لليزينوبريل عند استخدامه بهذه الجرعة وبشكل خاص في علاج الأذية الكبدية (Ramalho et al., 2001) التي تشكل أهم مضاعفات مرض فرط تحميل الحديد (Sibuor et al., 2018). لوحظ في دراستنا انخفاض جوهري في وزن مجموعة الحديد الزائد. تتفق نتائجنا مع معظم نماذج الحمل الزائد للحديد التي أظهرت انخفاضاً كبيراً في وزن الجرذان المحملة بالحديد (Gao et al., 2013; Gholampour et al., 2017). يعزى ذلك إلى دور فرط الحديد في إحداث خلل في توازن الشحوم في الجسم من خلال تشكيل البيروكسيد المحفز بالحديد عبر عملية (Ma, Jia, Xiong, & Du, 2021). حيث لوحظ انخفاض حجم الخلايا الشحمية وتنشيط عملية تكوين الشحوم الثلاثية مترافقاً مع انخفاض التعبير عن الجينات المسؤولة عن تمايز الخلايا الشحمية، مثل-sterol regulatory binding element 1 (SREBF1) acetyl-CoA carboxylase, protein 1 عند (ACACA) و glucose transport 4 (GLUT4) alpha عند الجرذان المحملة بالحديد. وبالتالي، إلى منع تراكم الدهون في الجسم (Ma, Jia, Xiong, & Du, 2021). بالإضافة إلى ذلك، وجد أن الهيبسيدين يتم التعبير عنه في الأنسجة الدهنية، والذي يحفز بفرط الحديد، حيث تساهم BMPs (البروتينات المسؤولة عن التعبير عن الهيبسيدين) بشكل مباشر في تحويل الخلايا الشحمية البيضاء WAT إلى البنية BAT والتي تحفز تحول الحموض الدسمة والغلوكوز إلى حرارة بعملية توليد الحرارة (Ma, Jia, thermogenesis Xiong, Feng, et al., 2021) أظهرت المجموعة المحملة بالحديد والتي عولجت بالليزينوبريل (Fe + Lis) فقداً أكبر للوزن من المجموعات الأخرى. كانت

الحديد في الكبد بشكل مشابه لمرض فرط الحديد (Zhang et al., 2014). أظهرت الدراسات السابقة بأن حقن الأنجيوتنسين 2 يؤدي إلى تراكم الحديد في الجسم من خلال تنشيط التعبير عن مرنا الهيبيسيدين (Ishizaka et al., 2005; Tajima et al., 2015). علاوة على ذلك، أفادت دراسة Younas وزملائه بأن الليزنيوبريل قادر على تحفيز التعبير عن الهيبيسيدين من خلال تنشيط سبيل إشارة أنجيوتنسين-II إريثروبويتين عند الجرذان الطبيعية (Younas et al., 2017). ومع ذلك، لم يلاحظ أي تغيير في مستويات الحديد الكبدية والمصلية في نموذجنا للجرذان المحملة بالحديد التي عولجت بالليزنيوبريل. قد يعزى الاختلاف في نتيجة دراستنا إلى أن مؤشرات الحديد المرتفعة الناتجة عن حقن كبريتات الحديد قد حفزت بقوة التعبير عن الهيبيسيدين من خلال تأزر عدة إشارات (HFE، BMP، TRF2) والتي استطاعت إلغاء تأثير الأنجيوتنسين 2 المثبط للهيبيسيدين عبر طريق الإريثروبويتين-ERFE. مما أدى لتساوي مستويات الهيبيسيدين عند الجرذان المعالجة بالليزنيوبريل ومجموعة الحديد الزائد. وبالتالي، لن يخفف الليزنيوبريل من تراكم الحديد الناجم عن الحمل الزائد للحديد. لم يستطع الليزنيوبريل إظهار نشاط استخلاصي للحديد كما يتضح من عدم حدوث تغيير في تركيز الحديد المصلي والكبدية. لم تتوافق نتائجنا مع الدراسات التي أجريت *in vitro* وبينت قدرة الليزنيوبريل على مخلبة الحديد في الوسط الخارجي عند استخدامه بتركيز متساوية؛ حديد 1:1 ليزنيوبريل (Silva et al., 1999). قد يعزى ذلك إلى أن تركيز الليزنيوبريل المستخدم في هذه الدراسة (1ملغ/كغ/يوم) (Ramalho et al., 2001) قد لا تكون كافية لمخلبة مستويات الحديد المرتفعة في مرض فرط الحديد.

نتائجنا متوافقة مع الدراسات السابقة التي وجدت بأن الفئران الطافرة الإنزيم المحول للأنجيوتنسين ACE تحتوي على 50-60% دهون أقل (Jayasooriya et al., 2008). و إن حصر نظام الرينين-أنجيوتنسين RAS يؤدي إلى زيادة استهلاك الطاقة (Pahlavani et al., 2017). يعزى ذلك إلى أن الأنجيوتنسين 2 Ang II يتم إنتاجه من الخلايا الشحمية وبدوره يقوم بتحفيز تمايز الخلايا الشحمية عبر زيادة البروستاسيكلين وزيادة تكوّن الدهون في الخلايا الشحمية lipogenesis عن طريق زيادة التنشيط النسخي للإنزيمات المولدة للدهون fatty acid synthase و glycerol-3-phosphate dehydrogenase بطريقة تعتمد على مستقبلات الأنجيوتنسين II من النمط 2 AT2R (Pahlavani et al., 2017) ومنع تحلل الدهون lipolysis في الخلايا الشحمية البيضاء (WAT) بطريقة تعتمد على AT1R التي قد تعزى جزئياً إلى تخفيض جريان الدم المحلي في WAT (Pahlavani et al., 2017). في هذه الدراسة، أظهرت الجرذان التي تم حقنها بكبريتات الحديد أعراضاً ملحوظة للحمل الزائد للحديد، بما في ذلك ارتفاع الحديد في المصل وترسب الحديد في الكبد. كانت نتائجنا لمؤشرات الحديد في المصل في الوفاق مع العديد من الدراسات التي سجلت نماذج مختلفة من الحديد الزائد والتي أظهرت أن إعطاء الحديد عند الجرذان يؤدي إلى ارتفاع معتمد على الجرعة في حديد المصل (El-Sheikh et al., 2018; Helal & El-Kashef, 2020; Zhang et al., 2014). نظراً لأن الكبد هو عضو تخزين الحديد الرئيسي (Camaschella et al., 2020)، ويعكس التغييرات في تخزين الحديد المرتبطة بفرط الحديد، قمنا بمقايسة الحديد الكبدية كمؤشر للحديد المخزن الجسم (Kitamura et al., 2021). في نموذجنا الخاص بالحمل الزائد للحديد، أظهرت الجرذان المحملة بالحديد زيادة كبيرة في ترسب الحديد في الكبد، تأكيداً للدراسات السابقة التي وجدت بأن حقن الحديد يؤدي إلى زيادة تخزين

الاستنتاج:

بناءً على النتائج التي توصلنا إليها، تشكل هذه الدراسة أول بحث لتحري تأثير الإنزيم المحول للأنجيوتنسين على مستوى الحديد في الجسم في ظل فرط تحميل الحديد، والذي أظهر أن مؤشرات الحديد الكبدية والمصلية المرتفعة عند الجرذان المحملة بالحديد الناجم عن كبريتات الحديدي لا يمكن تخفيفها عن طريق استخدام الليزينوبريل.

نقترح بأن أحد أدوية مثبطات الإنزيم القالب للأنجيوتنسين، وهو الليزينوبريل لم تفلح في تخفيف تراكم الحديد في الجسم، نوصي بإجراء دراسات إضافية لأدوية أخرى تملك تأثيراً مثبطاً للأنجيوتنسين 2 كأدوية الحاصرة لمستقبلات الأنجيوتنسين 2، ودراسة تأثيرها المحتمل على مخزون الحديد في الجسم، كما نوصي بزيادة مدة التجربة لدراسة الجدوى الممكنة للاستخدام المزمع لهذه الأدوية.

References:

1. Badria, F. A., Ibrahim, A. S., Badria, A. F., & Elmarakby, A. A. (2015). Curcumin attenuates iron accumulation and oxidative stress in the liver and spleen of chronic iron-overloaded rats. *PLoS ONE*, *10*(7), 1–13. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0134156>
2. Bloomer, S. A., & Brown, K. E. (2021). Hecpidin and Iron Metabolism in Experimental Liver Injury. *American Journal of Pathology*, *191*(7), 1165–1179. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2021.04.005>
3. Camaschella, C., Nai, A., & Silvestri, L. (2020). Iron metabolism and iron disorders revisited in the hepcidin era. *Haematologica*, *105*(2), 260–272. <https://doi.org/10.3324/haematol.2019.232124>
4. Casu, C., Nemeth, E., & Rivella, S. (2018). Hecpidin agonists as therapeutic tools. *Blood*, *131*(16), 1790–1794. <https://doi.org/10.1182/blood-2017-11-737411>
5. Coffey, R., & Ganz, T. (2018). Erythroferrone: An Erythroid Regulator of Hecpidin and Iron Metabolism. *HemaSphere*, *2*(2), e35. <https://doi.org/10.1097/hs9.0000000000000035>
6. El-Sheikh, A. A., Ameen, S. H., & AbdEl-Fatah, S. S. (2018). Ameliorating Iron Overload in Intestinal Tissue of Adult Male Rats: Quercetin vs Deferoxamine. *Journal of Toxicology*, *2018*. <https://doi.org/10.1155/2018/8023840>
7. Gao, Y., Wang, N., Zhang, Y., Ma, Z., Guan, P., Ma, J., Zhang, Y., Zhang, X., Wang, J., Zhang, J., & Chu, L. (2013). Mechanism of protective effects of Danshen against iron overload-induced injury in mice. *Journal of Ethnopharmacology*, *145*(1), 254–260. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.10.060>
8. Gholampour, F., Behzadi Ghiasabadi, F., Owji, S. M., & Vatanparast, J. (2017). The protective effect of hydroalcoholic extract of Ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) against iron-induced functional and histological damages in rat liver and kidney. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, *7*(6), 542–553. <https://doi.org/10.22038/ajp.2017.22297.1831>
9. Gholampour, F., & Saki, N. (2019). Hepatic and renal protective effects of quercetin in ferrous sulfate-induced toxicity. *General Physiology and Biophysics*, *38*, 27–38. https://doi.org/10.4149/gpb_2018038
10. Helal, M. G., & El-Kashef, D. H. (2020). Krill oil alleviates oxidative stress, iron accumulation and fibrosis in the liver and spleen of iron-overload rats. *Environmental Science and Pollution Research*, *27*(4), 3950–3961. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-06983-1>
11. Ishizaka, N., Saito, K., Noiri, E., Sata, M., Ikeda, H., Ohno, A., Ando, J., Mori, I., Ohno, M., & Nagai, R. (2005). Administration of ANG II induces iron deposition and upregulation of TGF- β 1 mRNA in the rat liver. *American Journal of Physiology - Regulatory Integrative and Comparative Physiology*, *288*(4 57-4), 1063–1071. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00281.2004>
12. Jayasooriya, A. P., Mathai, M. L., Walker, L. L., Begg, D. P., Denton, D. A., Cameron-Smith, D., Egan, G. F., McKinley, M. J., Rodger, P. D., Sinclair, A. J., Wark, J. D., Weisinger, H. S., Jois, M., & Weisinger, R. S. (2008). Mice lacking angiotensin-converting enzyme have increased energy expenditure, with reduced fat mass and improved glucose clearance. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *105*(18), 6531–6536. <https://doi.org/10.1073/pnas.0802690105>
13. Jonaitiene, N., Ramantauskaitė, G., & Laukaitienė, J. (2021). Anaemia in heart failure patients, associated with angiotensin – Renin – aldosterone system altering medications. *Heart Views*, *22*(3), 196. https://doi.org/10.4103/heartviews.heartviews_211_20
14. Kitamura, N., Yokoyama, Y., Taoka, H., Nagano, U., Hosoda, S., Taworntawat, T., Nakamura, A., Ogawa, Y., Tsubota, K., & Watanabe, M. (2021). Iron supplementation regulates the progression of high fat diet induced obesity and hepatic steatosis via mitochondrial signaling pathways. *Scientific Reports*, *11*(1), 1–17. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-89673-8>

15. Lê, B. V., Khorsi-Cauet, H., Villegier, A. S., Bach, V., & Gay-Quéheillard, J. (2011). New rat models of iron sucrose-induced iron overload. *Experimental Biology and Medicine*, 236(7), 790–799. <https://doi.org/10.1258/ebm.2011.010298>
16. Ma, W., Jia, L., Xiong, Q., & Du, H. (2021). Iron overload protects from obesity by ferroptosis. *Foods*, 10(8). <https://doi.org/10.3390/foods10081787>
17. Ma, W., Jia, L., Xiong, Q., Feng, Y., & Du, H. (2021). The role of iron homeostasis in adipocyte metabolism. *Food and Function*, 12(10), 4246–4253. <https://doi.org/10.1039/d0fo03442h>
18. Pahlavani, M., Kalupahana, N. S., Ramalingam, L., & Moustaid-Moussa, N. (2017). Regulation and functions of the renin-angiotensin system in white and brown adipose tissue. *Comprehensive Physiology*, 7(4), 1137–1150. <https://doi.org/10.1002/cphy.c160031>
19. Pari, L., Karthikeyan, A., Karthika, P., & Rathinam, A. (2015). Protective effects of hesperidin on oxidative stress, dyslipidaemia and histological changes in iron-induced hepatic and renal toxicity in rats. *Toxicology Reports*, 2, 46–55. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2014.11.003>
20. Pathak, D., Srivastava, A. K., Gulati, S., & Rajeswari, M. R. (2019). Assessment of cell-free levels of iron and copper in patients with Friedreich's ataxia. *BioMetals*, 32(2), 307–315. <https://doi.org/10.1007/s10534-019-00186-4>
21. Ramalho, F. S., Ramalho, L. N. Z., Castro-E-Silva, O., Zucoloto, S., & Corrêa, F. M. A. (2001). Angiotensin-converting enzyme inhibition by lisinopril enhances liver regeneration in rats. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 34(1), 125–127. <https://doi.org/10.1590/S0100-879X2001000100016>
22. Sarkar, R., Hazra, B., & Mandal, N. (2015). Amelioration of iron overload-induced liver toxicity by a potent antioxidant and iron chelator, Emblica officinalis Gaertn. *Toxicology and Industrial Health*, 31(7), 656–669. <https://doi.org/10.1177/0748233713483195>
23. Sibuur, W. O., Gwala, F. O., Munguti, J. K., & Obimbo, M. M. (2018). Alpha-lipoic acid attenuates iron-overload-induced structural changes in the liver of the laboratory mouse (*Mus musculus*). *Anatomy*, 12(3), 118–123. <https://doi.org/10.2399/ana.18.074>
24. Silva, C. M. L., Duarte, M. F., Mira, M. L., Florêncio, M. H., Versluis, K., & Heck, A. J. R. (1999). Copper and iron interactions with angiotensin-converting enzyme inhibitors. A study by fast-atom bombardment tandem mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 13(12), 1098–1103. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0231\(19990630\)13:12<1098::AID-RCM618>3.0.CO;2-Y](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0231(19990630)13:12<1098::AID-RCM618>3.0.CO;2-Y)
25. Sio, T. T., Atherton, P. J., Pederson, L. D., Zhen, W. K., Mutter, R. W., Garces, Y. I., Ma, D. J., Leenstra, J. L., Rwigema, J. C. M., Dakhil, S., Bearden, J. D., van der Veen, S. J., Ganti, A. K., Schild, S. E., & Miller, R. C. (2019). Daily Lisinopril vs Placebo for Prevention of Chemoradiation-Induced Pulmonary Distress in Patients With Lung Cancer (Alliance MC1221): A Pilot Double-Blind Randomized Trial. *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics*, 103(3), 686–696. <https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2018.10.035>
26. Tajima, S., Ikeda, Y., Enomoto, H., Imao, M., Horinouchi, Y., Izawa-Ishizawa, Y., Kihira, Y., Miyamoto, L., Ishizawa, K., Tsuchiya, K., & Tamaki, T. (2015). Angiotensin II alters the expression of duodenal iron transporters, hepatic hepcidin, and body iron distribution in mice. *European Journal of Nutrition*, 54(5), 709–719. <https://doi.org/10.1007/s00394-014-0749-1>
27. Vela, D. (2018). Low hepcidin in liver fibrosis and cirrhosis; A tale of progressive disorder and a case for a new biochemical marker. *Molecular Medicine*, 24(5), 1–18. <https://doi.org/10.1186/s10020-018-0008-7>
28. Wang, X., Li, Y., Han, L., Li, J., Liu, C., & Sun, C. (2021). Role of Flavonoids in the Treatment of Iron Overload. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 9(July), 1–12. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.685364>

29. Wessling-Resnick, M. (2017). Excess iron: Considerations related to development and early growth. *American Journal of Clinical Nutrition*, 106, 1600S-1605S. <https://doi.org/10.3945/ajcn.117.155879>
30. Younas, F., Aslam, B., Muhammad, F., Mohsin, M., Raza, A., Faisal, M. N., Shamshud-Ul-Hassan, & Majeed, W. (2017). Haematopoietic effects of angelica sinensis root cap polysaccharides against lisinopril-induced anaemia in albino rats. *Pharmaceutical Biology*, 55(1), 108–113. <https://doi.org/10.1080/13880209.2016.1230635>
31. Zhang, Z., Liu, D., Yi, B., Liao, Z., Tang, L., Yin, D., & He, M. (2014). Taurine supplementation reduces oxidative stress and protects the liver in an iron-overload murine model. *Molecular Medicine Reports*, 10(5), 2255–2262. <https://doi.org/10.3892/mmr.2014.2544>.