

بررسی مقدار غلظت سلنیم در سرم خون افراد مبتلا به بیماری لیشمانیازیس در شهر تهران

فریبا فتحی^۱، افسانه سهرابزاده^۱، کاوه سهرابزاده^۲، زهرا زمانی^۳، زهرا رستمی^۴

۱- دکترای شیمی، دانشکده شیمی، دانشگاه صنعتی شریف تهران، ایران

۲- دانشجوی کارشناسی پرستاری، دانشکده پرستاری مامایی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران
afsanehsohrabzadeh@gmail.com

۳- کارشناسی ارشد برق، دانشکده برق، موسسه آموزش عالی غیر انتفاعی و غیر دولتی پیام، گلپایگان، ایران

۴- دکترای بیوشیمی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران

۵- کارشناسی ارشد زیست شناسی، معاونت پژوهشی و فناوری، دانشگاه فرهنگیان، تهران، ایران

چکیده

زمینه و هدف: لیشمانیازیس بیماری انگلی است که توسط انگل‌های تک یاخته‌ای از جنس لیشمانیا ایجاد می‌شود این انگل‌ها از گروه تاژکداران خونی و بافتی هستند که با شکل‌های مختلف بروز می‌کنند به همین دلیل اصطلاح لیشمانیوز به یک طیف بیماری اشاره دارد. سلنیم یک عنصر ضروری با نقش‌های فیزیولوژی مهم در بدن است. هدف از این مطالعه مقایسه غلظت سلنیم موجود در سرم افراد مبتلا به لیشمانیازی جلدی (سالک) و مقایسه آن با افراد سالم می‌باشد.

روش بررسی: غلظت سلنیم موجود در سرم خون افراد مبتلا به لیشمانیازی جلدی و افراد سالم با استفاده از طیف سنجی جذب اتمی بدست آمد. بررسی‌های آماری این مطالعه در نرم افزار MATLAB نسخه ۸ انجام شد.

یافته‌ها: بررسی‌های آماری این مطالعه نشان می‌دهد که تفاوت قابل ملاحظه‌ای بین غلظت سلنیم موجود در سرم افراد مبتلا به لیشمانیازی جلدی و افراد سالم وجود دارد. میانگین غلظت سلنیم موجود در سرم برای افراد لیشمانیازی جلدی $13 \pm 61 \mu\text{g/l}$ و برای افراد سالم $7 \pm 82 \mu\text{g/l}$ می‌باشد.

نتیجه‌گیری: سلنیم دارای ویژگی آنتی اکسیدانی می‌باشد که با توجه به این خاصیت می‌توان از آن به عنوان یک عامل ضد التهاب نیز نام برد. کاهش مقدار سلنیم را می‌توان به کاهش مقدار گلوتانینون پراکسیداز مرتبط دانست.

واژه‌های کلیدی: لیشمانیازی جلدی، سلنیم، سرم خون

مقدمه

لیشمانیازیس نام گروهی از بیماریهای انگلی است که توسط گونه‌های مختلفی از لیشمانیا در انسان، گوشتخواران و جونندگان بوجود می‌آید (۱).

لیشمانیازیس‌ها در اغلب نقاط جهان وجود دارند و از بیماری‌های مشترک انسان و حیوانات به شمار می‌آیند که ممکن است به صورت ضایعات پوستی (سالک) و یا ضایعات احشائی (کالاآزار) و جلدی مخاطی تظاهر نمایند که توسط انگل لیشمانیا ایجاد می‌شود (۱).

انگل‌های لیشمانیا در داخل سلول‌های تک هسته‌ای بیگانه خوار جونندگان، گوشتخواران و خزندگان رشد می‌کنند (۲ و ۳). انگل لیشمانیا توسط عوامل زیادی از جمله ۱- انتقال از طریق نیش پشه خاکی ۲- انتقال مستقیم از شخص بیمار به شخص سالم

۳- انتقال مکانیکی توسط حشراتی مثل مگس خانگی ۴- انتقال از راه خون ۵- انتقال از راه جفت به انسان منتقل می‌شود. مهمترین نوع انتقال، انتقال توسط نیش

پشه‌خاکی می‌باشد. لیشمانیا از نظر شکل بر دو گونه است. شکل پروماستیگوتی Promastigote و شکل درون سلولی آماستیگوتی Amastigote، ۱- ناقل (پشه‌خاکی) موقع خونخواری ماکروفاژها را می‌گیرد.

۲- آماستیگوتها به لوله گوارش ناقل رها می‌شود و تبدیل به پروماستیگوت می‌شود. ۳- میزبان مهره‌دار زمانی که توسط ناقل گزیده می‌شود آلوده به پروماستیگوت می‌شود. ۴- پروماستیگوتها وارد

ماکروفاژهای داخل گردش خون شده و تولید آماستیگوت را می‌کنند. ۵- ماکروفاژها می‌میرند و آماستیگوت‌ها رها شده و ماکروفاژهای گردش خون یا ماکروفاژهای ثابت را آلوده می‌کند (۴ و ۵). دو نوع سالک وجود دارد: نوع شهری و نوع روستایی که از نظر ناقل و تظاهرات بالینی دارای تفاوت‌هایی می‌باشند.

در این بیماری پس از گزش پشه خاکی ماده آلوده و

گذشت ۸-۲ ماه در محل گزش برجستگی به رنگ قرمز ایجاد می‌شود که کمی خارش دارد ولی فاقد درد می‌باشد. با گذشت چند هفته این برجستگی سفت می‌شود و اطراف آن ملتهب و به رنگ قرمز در می‌آید و بعد از ۳-۲ ماه بر روی برجستگی فرو رفتگی به عمق ۱ میلی‌متر ایجاد می‌شود که ترشحات زرد بیماری رنگی از آن به خارج تراوش می‌کند که ترشحات کم کم به صورت دلمه در می‌آیند. دلمه قهوه‌ای می‌شود و سرانجام به صورت زخم سر باز در می‌آید و بتدریج رنگ این زخم دارای حاشیه نامنظم و برجسته می‌شود. اگر دلمه از روی زخم برداشته شود زخم دارای سطحی شفاف و قرمز رنگ می‌باشد که کف آن فرو رفته است، این زخم درد ندارد ولی گاهی اوقات کمی خارش دارد (۶ و ۷).

یکی از املاح معدنی کمیاب و ضروری برای بدن، سلنیم می‌باشد (۸). سلنیم یکی از اجزای مهم پراکسیداز گلوکوتاتیون است (۹). بیشترین غلظت آن در کبد و کلیه می‌باشد. مهمترین روش حذف سلنیم از بدن از طریق دفع از کلیه‌ها می‌باشد. ترکیبات مهم دیگری از سلنیم شامل سدیم سلنات (Sodium Selenate) و سدیم سلنیت (Sodium Selenite) نیز در بدن موجود می‌باشد. سلنوپروتئین نوعی دیگر از اشکال سلنیم است که دارای عملکرد آنزیمی می‌باشد. سلنیم به فلزات متصل می‌شود و خطرات آنها را کاهش می‌دهد. وجود سلنیم (Se) در خون مادر از ورود سم به بدن جنین جلوگیری می‌کند. نقش آنتی‌اکسیدانی سلنیم نقش شناخته شده‌ای است که در سیستم آنزیمی پراکسیداز گلوکوتاتیون (GPx) نقش ویژه‌ای دارد (۱۰ و ۱۱). این سیستم به عنوان سیستم دفاعی عمده‌ی آنتی‌اکسیدانی در بدن معرفی می‌شود. آنزیمهای آنتی‌اکسیدانی وابسته به سلنیم نیز وجود دارند که آسیبهای ناشی از ترکیبات فعال اکسیژن مانند پراکسید هیدروژن

آماری در این مطالعه در نرم افزار MATLAB انجام شد و با استفاده از مقادیر p مقایسه تفاوت دو گروه محاسبه شد. اگر مقادیر p کمتر از ۰/۰۵ باشد در اینصورت به عنوان مقادیری که از نظر آماری تفاوت قابل ملاحظه ای دارند، در نظر گرفته می‌شوند (۱۳).

یافته‌ها

میانگین غلظت سلنیم در سرم افراد مبتلا به لیشمانیا 13 ± 61 میکروگرم بر لیتر می‌باشد که بطور قابل ملاحظه‌ای ($P\text{-value} = 1.7e-009 < 0.001$) کمتر از افراد سالم با مقدار سلنیم 82 ± 7 $\mu\text{g/l}$ می‌باشد. با استفاده از روش ANOVA مقایسه غلظت سلنیم موجود در سرم دو گروه، بیماران مبتلا به لیشمانیا و گروه سالم، انجام پذیرفت. ستون آخر در جدول ANOVA مقدار p را نشان می‌دهد. عدد p خیلی کمتر از ۰/۰۵ است پس این عدد نیز بیان می‌کند تفاوت میان دو گروه از نظر آماری قابل ملاحظه است. نسبت واریانس بین ستونها به واریانس داخل هر ستون کمیت جدیدی به نام F می‌باشد که برابر ۵۰/۸۹ می‌باشد (جدول ۱).

نمودار جعبه‌ای برای هر گروه در شکل ۱ نشان داده شده است. تفاوت میان خطوط مرکز جعبه‌ها می‌تواند کمک دیگری جهت تشخیص تفاوت دو گروه باشد. همانطوری که از شکل مشخص است تفاوت میان دو مرکز جعبه موجب مقادیر بزرگ F و مقادیر کوچک p می‌شود، و این خود دلیل دیگری برای این ادعاست (۱۴) (شکل ۱).

را کاهش می‌دهد. این عامل باعث گردیده تا سلنیم به عنوان کاهش دهنده پیری شناخته شود (۱۲) مطالعات نشان می‌دهد که علت پیری از بین رفتن سلولهای سالم توسط رادیکالهای آزاد می‌باشد و اگر مقدار آنتی-اکسیدانهایی که در مقابل رادیکالهای آزاد از بدن دفاع می‌کنند، کم باشد روند پیری سریعتر اتفاق می‌افتد. با توجه به کاهش سلنیم در بیماران مبتلا به لیشمانیا، هدف اصلی از مطالعه مقایسه غلظت سلنیم موجود در سرم خون دو دسته افراد بیمار مبتلا به لیشمانیا و افراد سالم می‌باشد.

روش بررسی

جمع‌آوری و آماده‌سازی نمونه‌ها

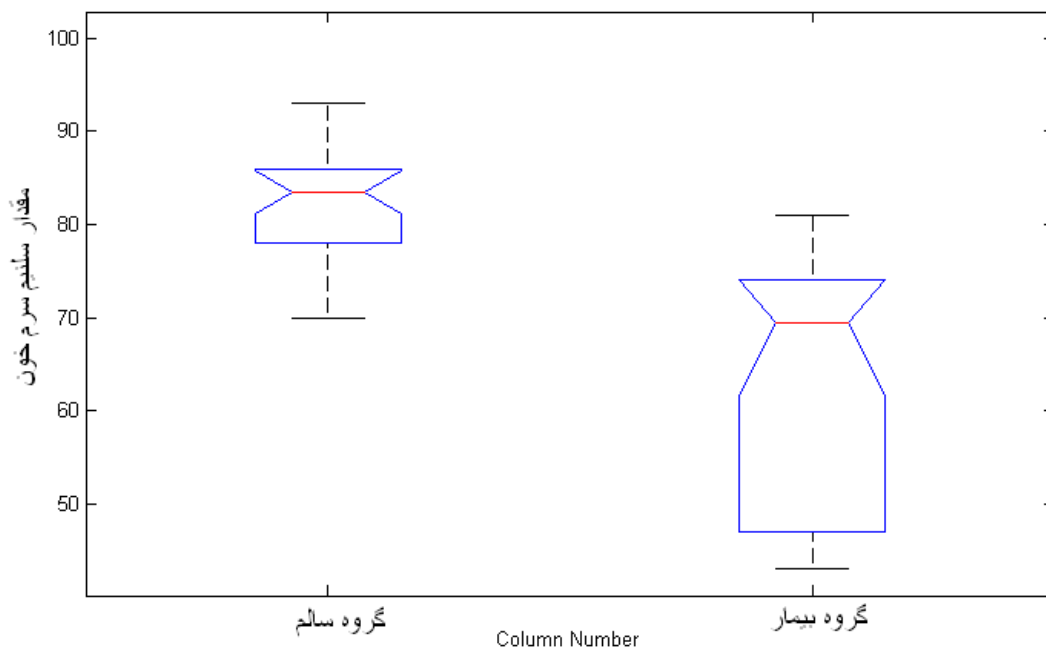
سی نمونه بیمار مبتلا به لیشمانیا جلدی که بیماری آنها در انستیتو پاستور ایران تأیید شده بود، در این بررسی همکاری نمودند. همچنین برای نمونه‌های کنترل (افراد سالم) سی نفر انتخاب شدند که از نظر جنسیت و سن و سال با گروه بیمار متناسب بودند. نمونه‌ها بعد از دوازده ساعت غذا نخوردن در هنگام صبح جمع‌آوری شدند. سرم‌ها پس از منتقل شدن خون به تیوپ‌های مخصوص سانتریفیوژ توسط این دستگاه از سایر ترکیبات خون جدا می‌شدند. دستگاه سانتریفیوژ با سرعت ۲۵۰۰ rpm و مدت زمان ده دقیقه سرم خون را جدا کرد. سپس سرم تا فرا رسیدن زمان آنالیز با طیف‌سنج به صورت منجمد در یخچال نگهداری شدند.

روش آماری

جهت بررسی تفاوت مقدار سلنیم سرم خون دو گروه اندازه‌گیری p-value بکار گرفته شد. این بررسی

جدول ۱: جدول ANOVA برای مقایسه غلظت سلنیم سرم خون بین افراد لیشمانیا و سالم

منبع	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	نسبت f	مقدار p
ستون	۶۱۶۱/۱	۱	۶۱۶۱/۰۷	۵۰/۸۹	۱/۷e-۰۰۹
سطح خطا	۷۰۲۱/۳	۵۸	۱۲۱/۰۶		
کل	۱۳۱۸۲/۳	۵۹			



شکل ۱: نمودار جعبه‌ای حاصل از جدول ANOVA جهت مقایسه مقادیر سلنیم برای دو گروه بیمار و سالم مقادیر غلظت بر حسب $\mu\text{g/l}$ است.

بحث و نتیجه گیری

با توجه به نتایج آماری در این مطالعه می‌توان نشان داد که غلظت سلنیم در افراد مبتلا به لیشمانیا به طور قابل توجهی کمتر از افراد سالم می‌باشد. سلنیم یکی از املاح معدنی ضروری برای تامین سلامتی است. البته با توجه به تمامی خصوصیات ضروری این عنصر کمیاب، نیاز بدن به آن بسیار اندک است. ارتباط کاهش این عنصر کمیاب در بیماران را می‌توان به برای بیشتر بیماریهای عفونی تشکیل گونه‌های فعال اکسیژن گونه-

های فعال اکسیژن نسبت داد. انواع اکسیژن فعال در مجموع با عنوان گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) Reactive oxygen species نامیده می‌شوند (۱۵). بسیاری از آنها رادیکال‌های آزاد هستند (۱۶). ROS همیشه مضر نیست، به عنوان مثال، آنها به وسیله سلولهای خونی مشخصی به نام فاگوسیت‌ها نقش حیاتی در از بین بردن میکروب‌های پاتوژن ایفا می‌کنند و همچنین دارای اثرات مفید دیگری نیز هستند. با این

مواد اولیه‌ای که از آنها تشکیل شده‌اند، جلوگیری می‌کنند. یکی از مهمترین ROS ها، H_2O_2 می‌باشند که توسط گلوکوتانیون پراکسیداز (GPx) از بین می‌رود (۱۹). گلوکوتانیون پراکسیداز یک نام کلی از خانواده آنزیمی است که فعالیت پراکسیداز را انجام می‌دهد که نقش زیستی مهمی برای حمایت از ارگانسیم در برابر ضرر و زیان ROSها دارا می‌باشند. حال به ارتباط این گونه‌ها و سلنیم می‌پردازیم. همچنین مطالعات نشان می‌دهد که سلنیم برای فعالیت این آنزیم‌ها مورد نیاز است. از این رو با توجه به افزایش گونه‌های فعال اکسیژن در افراد بیمار و نیاز این گونه‌ها به سلنیم کاهش قابل توجه سلنیم سرم خون در افراد مبتلا به لیشمانیا غیر قابل انتظار نیست (۲۰). در بررسی دیگر که در کشور ترکیه انجام شده است به این نتیجه دست یافتند که در بیماران مبتلا به لیشمانیا علاوه بر غلظت سلنیم، فعالیت گلوکوتانیون پراکسیداز کاهش یافته است (۱۹).

وجود از آنجایی که خصوصیت اصلی آنها در رابطه با سلامتی این است که این مواد می‌توانند به ترکیبات داخل سلولی و خارج سلولی حمله کنند از این طریق به اعمال سلولی آسیب برسانند؛ لذا تولید و فعالیت این رادیکال‌ها در بدن باید مورد کنترل قرار گیرد. خوشبختانه ROS به طور طبیعی در بدن به وسیله سیستم‌های دفاعی گوناگون و پیچیده مهار می‌شود (۱۷). این سیستم‌ها کامل هستند چرا که آنها به روی ROS های گوناگون و یا در ترکیبات سلولی مختلف عمل می‌کنند. به عنوان مثال سیستم‌های آنزیمی مثل سوپراکسید دیس موتاز، گلوکوتانیون پراکسیداز و کاتالاز، قادر به حذف ROS هستند (۱۸). این آنزیم‌ها همچنین می‌توانند از انتقال ROS ها از یک ترکیب سلولی به ترکیب دیگر جلوگیری کنند و این کار را از طریق به حداقل رساندن آسیب‌های وارده به ترکیبات سلولی DNA، پروتئین و لیپیدها انجام می‌دهند و از تشکیل ROS های فعال‌تر بوسیله حذف

References:

1. Minodier P, Parola P. Cutaneous leishmaniasis treatment. *Travel medicine and infectious disease*. 2007; 5: 150-8.
2. Farahmand M, Assmar M, Nahrevanian H, Farzanehnejad Z, Piazak N. Cutaneous leishmaniasis in patients referred to the Pasteur Institute of Iran during 2003-2006. *The Internet Journal of Parasitic Diseases*. 2008; 3: 2-8.
3. Samady Ja, Schwartz Ra. Old World cutaneous leishmaniasis. *Int J Dermatol*. 1997; 36: 161-66.
4. Grosjean NI, Vrable Ra, Murphy Aj, Mansfield Ls. Seroprevalence of antibodies against *Leishmania* spp among dogs in the United States. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*. 2003; 222: 603-5.
5. Moreno P, Lucena R, Ginel Pj. Evaluation of primary haemostasis in canine leishmaniasis. *Vet Rec*. 1998; 142: 81-3.
6. Chong H, Oriental S. A look at trends in and approaches to the treatment of leishmaniasis. *Int J Dermatol*. 1986; 25: 615-23.
7. Barrett M, Croft S. Management of trypanosomiasis and leishmaniasis. *British medical bulletin*. 2012; 104: 175-96.
8. Korunova V, Skodova Z, Dedina J. Serum selenium in adult Czechoslovak (Central Bohemia) population. *Biol Trace Elem Res*. 1993; 37: 91-9.
9. Ursini F, Bindoli A. The role of selenium peroxidases in the protection against oxidative damage of membranes. *Cem Phys Lipids*. 1987; 44: 255-76.

10. Paglia De, Valentine Wn. Studies on quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med.* 1967; 70: 158-9.
11. Biswas T, Ghosh Dk, Nukherjee N, Ghosal J. Lipid peroxidation of erythrocytes in visceral leishmaniasis. *J Parasitol.* 1997; 83: 151-2.
12. Olmsted L, Schrauzer Gn, Flores-Arce M, Dowd J. Selenium supplementation of symptomatic human ymmunodeficiency virus infected patients. *Biol Trace elm Res* 1989; 20: 59-65.
13. Fathi F, Ektefa F, Tafazzoli M, Rostami K, Nejad Mr, Fathi M, Rezaye-Tavirani M, Oskouie Aa, Zali Mr. The concentration of serum zinc in celiac patients compared to healthy subjects in Tehran. *Gastroenterology and Hepatology From Bed to Bench.* 2013; 6: 92-5.
14. Fathi F, Mehrpour M, Akbari Me, Sohrabzadeh K, Fathi S, Joghataie M-T, Nejad Mr. A concentration of serum selenium in multiple sclerosis patients compare to healthy subject in Tehran. *Journal of Paramedical Sciences* 2013 4: 116-8.
15. Granger D, Grisham M, Hernandez L. Reactive oxygen metabolites: mediators of cell injury in the digestive system. *Viewpoints Digestive Dis.* 1986; 18: 13-6.
16. Dr`Oge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol. Rev.* 2002; 82: 47-95.
17. Valko M, Rhodes Cj, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem. Biol. Interact.* 2006; 160: 1-40.
18. Ursini F, Bindoli A. The role of selenium peroxidases in the protection against oxidative damage of membranes. *Cem Phys Lipids.* 1987; 44: 255-76.
19. Koçyigit A, Erel Ö, Gürel Ms, Seyrek A, Aktepe N, Gür S. Decreasing Selenium Levels and Glutathione Peroxidase Activity in Patients With Cutaneous Leishmaniasis. *Tr. J. of Medical Sciences.* 1999; 29: 291-5.
20. Assuey J, Cunha F, Epperlein M. Production of nitric oxide and superoxide by activated macrophages and killing of leishmania major. *Eur J Immunol.* 1994; 24: 672-6.

Original paper

A concentration of serum selenium in leishmaniasis patients compare to healthy subject in Tehran

Fariba Fathi¹, Afsaneh Sohrabzadeh², Kaveh Sohrabzadeh³, Zahra Zamani⁴, Zahra Rostmi⁵

1- PhD of Chemistry, Department of Chemistry, Sharif University of Technology, Tehran, Iran

2- Student in Nursing, Department of Nursing, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran
 afsanehsohrabzadeh@gmail.com

3- MS in Electrical engineer, Department of electrical engineer, Payam nonprofit higher education institution , Golpayegan, Iran

4- PhD of Biochemistry, Department Biochemistry, Institute Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran

5- MS in Biology, Vice Chancellor for research and Technology, Farhangian University, Tehran, Iran

Abstract

Background and Aim: Leishmaniasis is a parasitic disease that cause by protozoan parasites of the type of Leishmania. These parasites include the blood and tissue flagellates that can occur in different forms of leishmaniasis. Based on this, the term of leishmaniasis refers to a spectrum of diseases. Selenium is an essential element with important physiological role in the body. The purpose of this study was to compare serum selenium levels in Leishmaniasis patients in comparison with normal subjects.

Material and Methods: The serum selenium levels of healthy and patient individuals with Cutaneous Leishmania were obtained by means of Atomic Absorption Spectrometry. MATLAB version 8 performs statistical analysis in this study.

Results: Statistical analysis in this research demonstrates that there is a significant difference between selenium concentration in the serum of patients with cutaneous leishmania and healthy people. The serum selenium levels was $61 \pm 13 \mu\text{g/l}$ and $82 \pm 7 \mu\text{g/l}$ for Coetaneous Leishmania and healthy people respectively.

Conclusions: Selenium has antioxidant properties that can be used with respect to this property as an anti-inflammatory agent. Low levels of selenium can reduce the level of Glutathione Peroxides and this factor can reduce the serum selenium levels in leishmaniasis cases.

Keywords: Coetaneous Leishmania, Selenium, Serum