

حفاظت هم‌افزای ویتامین D و منیزیم در برابر آسیب ریوی ناشی از کادمیوم در رت ها : نقش VEGF و BMP-4

پریا امان‌پور^۱، زهره افتخاری^{۲*}، اکرم عیدی^۱، پروین خدارحمی^۳

چکیده

کادمیوم (Cd) به عنوان یک آلاینده محیطی با قابلیت ایجاد سمیت ریوی، عمدتاً از طریق خوردن غذا و آب آلوده، استنشاق و سیگار کشیدن وارد بدن می‌شود. از آنجایی که منیزیم نقش کوفاکتور ضروری در سنتز و متابولیسم ویتامین D را ایفا می‌کند، این مطالعه با هدف بررسی مکانیسم‌های حفاظتی ترکیبی ویتامین D و منیزیم در برابر آسیب ریوی ناشی از کادمیوم انجام شد. در این مطالعه تجربی، اثرات تجویز کادمیوم به همراه درمان با ویتامین D، منیزیم و ترکیب هر دو بر روی رت‌های صحرایی مورد بررسی قرار گرفت. شاخص‌های ارزیابی شده شامل وزن بدن، شاخص سمیت، پارامترهای هماتولوژیک، عملکرد کبد (از طریق سطوح آنزیم‌های کبدی ALT، AST، ALP)، بررسی‌های هیستوپاتولوژیک بافت ریه و همچنین سطوح بیان ژن p53 و پروتئین‌های VEGF و BMP-4 بود. مواجهه با کادمیوم منجر به افزایش معنی‌دار سطوح آنزیم‌های کبدی، شاخص سمیت و بیان VEGF و BMP-4 گردید. همچنین، بررسی‌های بافت‌شناسی افزایش نفوذ سلول‌های التهابی، تجمع مخاط و ضخامت دیواره آلوئولی را نشان داد. درمان با ویتامین D، منیزیم و به‌ویژه ترکیب آن‌ها، به طور قابل توجهی این شاخص‌های سمیت و بیان VEGF و BMP-4 را کاهش داده و آسیب بافتی را بهبود کرد. یافته‌های این مطالعه نشان می‌دهد که مکمل‌یاری ترکیبی با ویتامین D و منیزیم می‌تواند از طریق تعدیل مسیرهای سیگنالینگ VEGF و BMP-4، اثرات محافظتی قابل توجهی در برابر سمیت ریوی ناشی از کادمیوم اعمال کند. این نتایج می‌تواند زمینه‌ساز توسعه رهیافت‌های درمانی جدید با استفاده از ریز مغذی‌ها برای مقابله با مسمومیت‌های محیطی باشد.

واژگان کلیدی: موش صحرایی، ریه، کادمیوم، ویتامین D، منیزیم

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۴/۲۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۶/۲۴

مقدمه

در سال‌های اخیر، تعداد مسمومیت‌های ناشی از مواد شیمیایی به دلیل دسترسی بیشتر به این عوامل افزایش یافته است. کادمیوم (Cd) به طور طبیعی در محیط زیست به

عنوان یک فلز سنگین وجود دارد. همچنین Cd به عنوان یک آلاینده از فعالیت‌های صنعتی و کشاورزی تولید می‌شود. استنشاق و بلع به عنوان راه‌های اصلی مواجهه با Cd شناخته شده‌اند، بنابراین رژیم غذایی، سیگار کشیدن و آلودگی هوا از منابع اصلی مواجهه با Cd هستند. سیستم‌های تنفسی و گوارشی، اندام‌های اصلی جذب Cd در بدن هستند (۱). انتقال Cd در سراسر بدن توسط گلبول‌های قرمز و آلبومین انجام می‌شود. تجمع Cd به اندام‌ها و بافت‌های مختلف مانند کلیه، کبد، سیستم تنفسی، اسکلتی، قلبی-عروقی، غدد درون‌ریز، خون‌ساز و سیستم تولید مثل آسیب می‌رساند (۲). مسمومیت با Cd همچنین اثرات سمیت ژنتیکی و سرطان‌زایی نیز دارد. ریه یکی از اندام‌های هدف سمیت Cd از طریق استنشاق است. شواهدی از ارتباط بین مواجهه با Cd و بروز بیماری‌های ریوی، از جمله بیماری انسدادی مزمن ریوی و تخریب پارانشیم ریوی وجود دارد (۳). مواجهه ریوی با Cd منجر به افزایش ضخامت دیواره آلوئولی و کاهش ظرفیت حیاتی ریه می‌شود. علاوه بر این، گزارش شده است که مواجهه با Cd باعث فعال‌سازی تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و آپوپتوز در سلول‌های اپیتلیال ریه می‌شود. آسیب‌های بافتی ناشی از مواجهه با Cd از طریق تحریک مکانیسم‌های زمینه‌ای مانند القای استرس اکسیداتیو، التهاب، آپوپتوز، اختلالات در تکثیر و تمایز سلولی، مهار فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، اختلال عملکرد میتوکندری و تغییرات

۱. گروه زیست‌شناسی، واحد علوم تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲. بخش بیوتکنولوژی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران z_etekhari@pasteur.ac.ir

۳. گروه زیست‌شناسی، واحد پرند، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

اپی ژنتیکی در بیان DNA ایجاد می‌شوند. بنابراین، تجویز داروهای تأیید شده‌ای که قادر به بهبود آسیب‌های بافتی ناشی از Cd از طریق خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی هستند، می‌تواند یک راه‌حل مفید باشد (۴).

کادمیوم (Cd) می‌تواند در متابولیسم ویتامین D اختلال ایجاد کند و باعث افزایش جذب مواد معدنی ضروری و فلزات سمی شود. غلظت ویتامین D یک عامل مهم در تأثیر سمیت این فلزات است. کادمیوم با مسدود کردن سنتز کلوی ۱،۲۵-دی هیدروکسی ویتامین D، در متابولیسم ویتامین D اختلال ایجاد می‌کند. مطالعات نشان می‌دهند که مکمل‌های ویتامین D می‌توانند اثرات سمی Cd را کاهش دهند. ویتامین D به عنوان یک عامل محلول در چربی شناخته می‌شود که دو فرم اصلی آن به نام‌های D_2 و D_3 وجود دارد. این ویتامین در حفظ سلامت با محافظت از سیستم‌های قلبی-عروقی و اسکلتی، تنظیم تکثیر و تمایز سلولی و تقویت پاسخ‌های ایمنی نقش اساسی دارد. کمبود آن با بیماری‌های مختلفی از جمله سرطان، دیابت، بیماری‌های ریوی، قلبی-عروقی و عضلانی-اسکلتی مرتبط است (۵).

رابطه‌ی مهمی بین تکوین ریه و سطح ویتامین D مشاهده شده است که از طریق بهبود عملکرد ریه، سنتز سورفاکتانت و مهار تکثیر عضلات صاف راه‌های هوایی نقش دارد (۶). علاوه بر این، کمبود ویتامین D با افزایش خطر بیماری‌های ریوی، از جمله آسم، بیماری کرونوویروس، عفونت‌های حاد دستگاه تنفسی و بیماری انسدادی مزمن ریه (COPD) همراه است. به نظر می‌رسد که کاهش سطح ویتامین D باعث تخریب سیستم ایمنی و به دنبال آن افزایش خطر بیماری‌های عفونی ریوی می‌شود (۷). منیزیم یک عنصر کمیاب با عملکردهای متعدد، از جمله تأثیر بر کلسیم خارج سلولی، بهبود عملکرد و ترمیم سلولی، سنتز ریبونوکلیک اسید RNA و DNA، فعالسازی آنزیمهای مختلف (به ویژه کینازها)، و افزایش وضعیت

آنتی اکسیدانی سلول است. یکی از مهمترین عملکردهای منیزیم، مشارکت در فعالسازی ویتامین D و همچنین پشتیبانی از متابولیسم و عملکرد آن است. کمبود منیزیم باعث افزایش سطح کلسیم و در نتیجه تشدید انقباض عضلات صاف برونشی می‌شود. منیزیم به عنوان یک کوفاکتور در فعالسازی ویتامین D نقش دارد (۸). علاوه بر این، منیزیم برای اتصال ویتامین D به پروتئین ناقل آن و بیان گیرنده‌های ویتامین D جهت اثرات سلولی مورد نیاز است. ویتامین D فعال نیز به نوبه خود میتواند جذب روده ای منیزیم را افزایش دهد. بافت ریه مسئول تولید VEGF و FGF 2 است، دو فاکتور رشد حیاتی که نقش مهمی در ساختار بافت ریه ایفا می‌کنند. قرار گرفتن بافت ریه در معرض آلاینده‌های هوایی، دود بیش از حد و سایر گازهای سمی، منجر به بیان بیش از حد VEGF و FGF-2 در ساختار بافت ریه میشود (۹). این بیان بیش از حد، با فعالسازی آشکار التهابی تحریک میشود که یک عامل مهم در ایجاد رگ‌زایی غیرطبیعی در ریه است و در نهایت به بروز سرطان ریه منجر می‌گردد. بنابراین، ضروری است که بررسی نقش VEGF به عنوان یک رویکرد درمانی بالقوه برای درمان اختلالات مختلف ریوی، مورد توجه بیشتری قرار گیرد. از سوی دیگر، BMP-4 به عنوان یک عامل حیاتی در تکوین ریه در مرحله جنینی شناخته می‌شود و در فرآیندهای بازسازی مشارکت دارد. BMP-4 اثر مهاری بر تکثیر فیبروبلاستهای ریوی انسان نشان می‌دهد و در عین حال، تکثیر و تمایز سلولهای اپیتلیال ریوی را تحریک می‌کند (۱۰).

برای بهبود کیفیت زندگی افراد مبتلا به اختلالات ریوی ناشی از استنشاق یا هضم سموم، محققان در حال بررسی رویکردهای دارویی جدید، به ویژه در کشورهای صنعتی هستند. در نتیجه، تحقیق حاضر برای بررسی تأثیر درمانی ویتامین D و منیزیم بر تغییرات ریوی ناشی از مسمومیت با

کادمیوم در رت ها انجام شد تا عوامل حمایتی به عنوان یک درمان اضافی ناشی از مسمومیت پیدا شود.

مواد و روش کار

آزمایش ها توسط کمیته اخلاق پژوهش های علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی تأیید شد (کد اخلاق: IR.IAU.SRB.REC.1400.344). تمام آزمایش های حیوانی مطابق با دستورالعمل های ARRIVE و بر اساس قانون حیوانات (روش های علمی) بریتانیا (۱۹۸۶) و دستورالعمل های مرتبط، دستورالعمل اتحادیه اروپا EU/۶۳/۲۰۱۰ برای آزمایش های حیوانی، یا راهنمای مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی شورای ملی پژوهش انجام شده اند. ۵۰ سر رت صحرایی نژاد ویستار (ماده؛ دو ماهه؛ وزن: 20 ± 250 گرم) از مؤسسه پاستور ایران خریداری شدند و در قفس های استاندارد نگهداری شدند. رت ها در شرایط محیطی مناسب، شامل دمای ثابت (23 ± 2 درجه سانتی گراد)، چرخه های نوری ۱۲ ساعته (روشنایی-تاریکی)، رطوبت نسبی ۵۶٪ و دسترسی آزاد به غذای تجاری استاندارد و آب استریل شده، نگهداری شدند.

طراحی مطالعه و گروه های آزمایشی

مدل مسمومیت با تزریق داخل صفاقی کادمیوم (به صورت $1/2H_2O$ CdCl $2 \cdot 2H_2O$ ؛ شرکت Sigma-Aldrich؛ شماره CAS: ۷۷۹۰-۷۸-۵) با دوز ۲ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن ایجاد شد. این تزریق به مدت ۲۸ روز (۵ روز تزریق در هفته) به رت های ماده به صورت داخل صفاقی انجام شد و با مشاهده علائم بالینی تأیید گردید. سپس، رت ها به طور تصادفی به پنج گروه زیر تقسیم شدند (۱۰ سر در هر گروه) (۱۱):

گروه (۱) رت های سالم که به مدت ۹ روز PBS دریافت کردند (گروه کنترل).

گروه (۲) رت های مسموم شده با کادمیوم (۲ میلی گرم/کیلوگرم) (گروه مدل).

گروه (۳) رت های مسموم شده با کادمیوم (۲ میلی گرم/کیلوگرم) که ویتامین D به عنوان درمان دریافت کردند (شرکت دانا، ایران؛ تجویز خوراکی؛ گاواژ؛ ۱ میکروگرم/گرم وزن بدن؛ به مدت ۹ روز).

گروه (۴) رت های مسموم شده با کادمیوم (۲ میلی گرم/کیلوگرم) که منیزیم به عنوان درمان دریافت کردند (شرکت ناترز اونی، ایران؛ تجویز خوراکی؛ ۱۰۰ میلی گرم/کیلوگرم؛ به مدت ۹ روز).

گروه (۵) رت های مسموم شده با کادمیوم (۲ میلی گرم/کیلوگرم) که ویتامین D تجویز خوراکی؛ ۱ میکروگرم/گرم وزن بدن و منیزیم (تجویز خوراکی؛ ۱۰۰ میلی گرم/کیلوگرم) را به مدت ۹ روز به عنوان درمان دریافت کردند.

سپس، وزن بدن حیوانات در پایان دوره درمان ثبت شد و تمام حیوانات با تزریق کتامین ۱۰٪ (شرکت Kepro B.V، هلند) و زایلازین ۲٪ (شرکت Alfasan) بیهوش و یوتانایز شدند. در نهایت، خونگیری از قلب گرفته شد تا پارامترهای هماتولوژیکی و عملکرد کبد ارزیابی شوند.

ارزیابی پارامترهای هماتولوژیکی

برای ارزیابی پارامترهای هماتولوژیکی، نمونه های خون از قلب رت ها گرفته شد و به لوله های جمع آوری خون حاوی EDTA منتقل شد. سپس، پارامترهای هماتولوژیکی شامل گلبول های قرمز (RBCs)، گلبول های سفید (WBCs)، شمارش پلاکت ها، هماتوکریت (Hct) و هموگلوبین (Hgb) با استفاده از یک دستگاه آنالایزر هماتولوژی خودکار (شرکت NIHON KOHDEN، ژاپن) اندازه گیری شدند.

ارزیابی عملکرد کبد

نمونه‌های خون رت ها از طریق قلبی گرفته شد و سپس سرم خون با سانتریفیوژ کردن به مدت ده دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه جدا شد. پس از آن، پارامترهای عملکرد کبد، شامل آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) (Cat No: BXC0250 Biorexfars, Iran)، آنزیم آلانین آمینوترانسفراز (ALT) (Cat No: BXC0215 Biorexfars, Iran)، و آلکالین فسفاتاز (ALP) (شرکت تجهیزات سنجش، ایران)، به روش اسپکترومتری (دستگاه BT ۳۰۰۰، شرکت Biotechnica Instruments SpA، ایتالیا) با استفاده از کیت‌های تجاری اندازه‌گیری شدند.

ارزیابی‌های رفتاری

از آزمون میدان باز (open-field test) برای بررسی تأثیرات مسمومیت با کادمیوم و درمان‌های ویتامین D و منیزیم بر فعالیت حرکتی رت ها استفاده شد. آزمون میدان باز به طور گسترده‌ای برای ارزیابی رفتار اکتشافی و فعالیت کلی رت ها به کار می‌رود. دستگاه میدان باز (با ابعاد ۴۰×۴۰×۴۰ سانتی‌متر) به شانزده مربع مساوی تقسیم شد که شامل مناطق مرکزی و محیطی بود. فعالیت حرکتی حیوانات به مدت ۵ دقیقه با استفاده از یک دوربین (شرکت سونی، ژاپن) ثبت شد. سپس، رفتار حیوانات و علائم مسمومیت با مشاهده وضعیت پوشش موها (طبیعی یا ژولیده)، ثبت تغییرات در حرکات و بی‌حالی ارزیابی شد (۱۲).

بررسی بیان ژن (Real-Time PCR)

برای بررسی بیان ژن *P53* در رت های در معرض سم، از تکنیک Real Time PCR استفاده شد. ابتدا طراحی پرایمر انجام شد و سپس RNA کل از ریه های چپ و راست جدا شده استخراج گردید و به cDNA تبدیل گردید. سپس cDNA به روش PCR تکثیر شده و از نظر بیان ژن های ذکر شده مورد بررسی قرار گرفت.

این تکنیک دارای ۴ مرحله اساسی می باشد:

(۱) RNA کل از سلول های جمع آوری شده در هر گروه استخراج گردید.

(۲) با استفاده از آنزیم کپی برداری معکوس به cDNA تبدیل شد.

(۳) cDNA حاصل جهت حذف DNA ژنومی با آنزیم DNase I تیمار شد.

(۴) به روش PCR Real time تکثیر گردید.

ابتدا تمامی ظروف و پلپت های مورد استفاده به مدت یک ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و یا ۲۴ ساعت در دمای اتاق در محلول ۱/۰ درصد دی اتیل پیروکربنات (DEPC) قرار داده شدند تا DEPC از بین برود و عاری از آنزیم RNase شوند. وجود DEPC می تواند مانعی در روند بررسی و تجزیه و تحلیل RNA ایجاد کند. در تمامی مراحل کار با RNA از دستکش و ماسک استفاده شد. تمام بافر ها و محلول ها در آب مقطر تیمار شده با DEPC تهیه شدند. مراحل استخراج RNA زیر هودی که نیم ساعت قبل از آن با UV استریل شده بود انجام شد.

جدول ۱: توالی پرایمر مورد استفاده در Real-time PCR

Gen es	Forward primer (5'-3')	Reverse primer (3'-5')
<i>P53</i>	CCAAGAAGGACC AGTCTAC	GAGGCAGTCAGT CTGAGTC
<i>GA</i>	AAGTTCAACGGC	CATACTCAGCAC
<i>PD</i>	ACAGTCAAGG	CAGCATCACC
<i>H</i>		

آنالیز وسترن بلات برای سطوح پروتئین های VEGF و BMP-4

بافت ریه چپ و راست جدا شده با استفاده از بافر RIPA (Radio Immuno Precipitation Assay) حاوی مهارکننده پروتئاز هموژنیزه شد و سپس سانتریفیوژ (۱۰۰۰۰ دور در دقیقه، ۴ درجه سانتی گراد، ۱۵ دقیقه) انجام شد. فاز بالایی

سلول‌های التهابی؛ ۳، تعداد متوسط سلول‌های التهابی با ترشحات کم چند کانونی؛ ۴، تعداد زیاد سلول‌های التهابی با مقادیر متوسط ترشحات و نکروز چند کانونی؛ و ۵، نکروز گسترده و تعداد زیاد سلول‌های التهابی با ترشحات فراوان) تعیین شد.

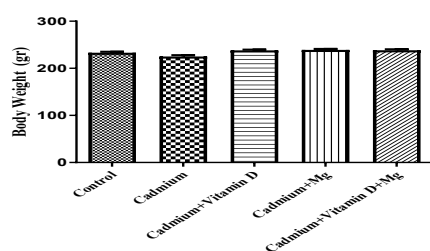
تحلیل آماری

برای تحلیل داده‌ها از آزمون ANOVA یک‌طرفه و آزمون مقایسه‌ای چندگانه توکی به‌عنوان آزمون تعقیبی با استفاده از نرم‌افزار ۵.۰۴ GraphPad Prism استفاده شد. نتایج به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار (Mean $\pm$ SD) بیان شدند. مقدار p کمتر از ۰/۰۵ به عنوان تفاوت معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج

ارزیابی وزن بدن در گروه‌های آزمایشی

تأثیرات مسمومیت با کادمیوم و درمان‌های ویتامین D، منیزیم و ویتامین D + Mg بر وزن بدن رت‌ها در شکل ۱ نشان داده شده است. همان‌طور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود، کاهش وزن بدن در گروه مسموم‌شده با کادمیوم در مقایسه با سایر گروه‌ها و افزایش وزن بدن در گروه‌های درمان‌شده در مقایسه با گروه مدل از نظر آماری معنی‌دار نبود. ($P=0.0882$) بنابراین، درمان با ویتامین D، منیزیم و ویتامین D + Mg تغییرات غیرمعنی‌داری در وزن بدن در مقایسه با گروه مسموم‌شده با کادمیوم ایجاد کرد (شکل ۱).



جمع آوری شد تا غلظت کل پروتئین با استفاده از روش لوری تعیین شود. پروتئین‌ها از ۵۰ میکروگرم نمونه هموژنیزه شده با استفاده از الکتروفورز SDS-PAGE سدیم دودسیل سولفات-پلی‌آکریل‌آمید ۱۲.۵ درصد به غشای پلی وینیلیدین فلوراید PVDF منتقل شدند. غشاها به مدت ۶۰ دقیقه در دمای اتاق در محلول بلوکه کننده انکوبه شدند. سپس، آنتی‌بادی‌های اولیه اختصاصی (آنتی‌بادی پلی‌کلونال خرگوشی BMP-۴ و VEGF؛ شرکت Abcam به مدت ۱۲۰ دقیقه روی شیکر Swing استفاده شدند. پس از آن، غشاها سه بار با بافر Tris-buffer saline شست و شو داده شدند. آنتی‌بادی ثانویه متصل به پراکسیداز ترب کوهی HRP به مدت ۹۰ دقیقه در دمای اتاق به شیکر اضافه شد و بیان پروتئین تأیید شد. شدت باندهای به دست‌آمده از هر استخراج پروتئین نسبت به مقادیر متناظر برای باندهای پروتئین خانگی GAPDH استاندارد شد و چگالی باندهای پروتئین با استفاده از نرم‌افزار Image J مؤسسه ملی سلامت، ایالات متحده کمی‌سازی شد.

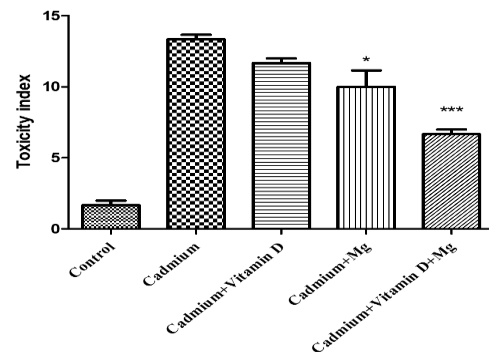
ارزیابی هیستوپاتولوژی

نمونه‌های ریه به دست‌آمده از رت‌ها در محلول ۱۰ درصد فرمالین برای پردازش بافت تثبیت شدند. نمونه‌های تثبیت‌شده در پارافین قرار داده شدند و برش‌های سریالی پارافین (با ضخامت ۴-۶ میکرومتر) برای رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین آماده شدند. نمره التهاب بافت ریه، نمره ترشح مخاط و نمره کلی با استفاده از میکروسکوپ نوری برای بررسی بیشتر هیستوپاتولوژیکی ارزیابی شدند. شدت آسیب بافت ریه بر اساس نمره‌دهی شاخص شدت آسیب (از جمله نفوذ سلول‌های التهابی در سپتوم بین‌آلوئولی، میزان خونریزی، نمره ترشح مخاط و ضخامت دیواره آلوئولی) تحت میکروسکوپ نوری بررسی شد. میزان التهاب و آسیب ریه با نمره التهاب از ۰ تا ۵ (۰، بدون سلول التهابی؛ ۱، سلول‌های التهابی پراکنده؛ ۲، تعداد کم

شکل ۱: بررسی اثر تیمار ویتامین D، منیزیم بر تغییرات وزن بدن در رت های ماده بالغ مسموم شده با کادمیوم.

یافته‌های رفتاری

همان‌طور که در شکل ۲ نشان داده شده است، مسمومیت با کادمیوم باعث افزایش معنی‌دار شاخص سمیت (شامل بررسی موهای ژولیده، کاهش سرعت حرکات و بی‌حالی) در رت های مسموم‌شده با کادمیوم در مقایسه با گروه کنترل شد (13.33 ± 0.57 در مقابل 1.66 ± 0.57) ($P < 0.005$). درمان رت های مسموم‌شده با کادمیوم با منیزیم به طور معنی‌داری شاخص سمیت را کاهش داد (10 ± 0.57 در مقابل 13.33 ± 0.57) ($P < 0.005$). علاوه بر این، درمان با ویتامین D + Mg به طور معنی‌داری شاخص سمیت را در مقایسه با گروه مسموم‌شده با کادمیوم کاهش داد (6.66 ± 0.57 در مقابل 13.33 ± 0.57) ($P < 0.001$).

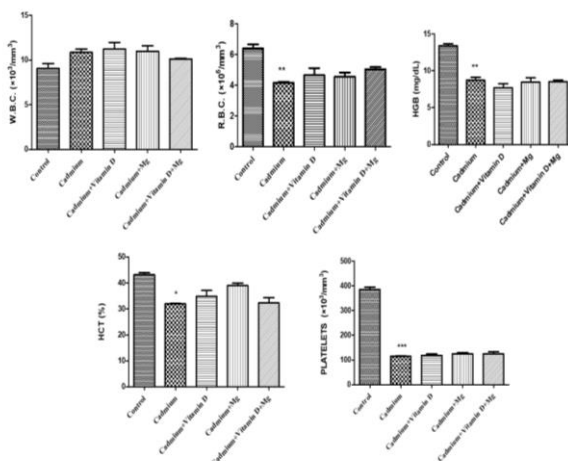


شکل ۲: تأثیر تجویز کادمیوم و تیمار با ویتامین D، منیزیم و ویتامین D + منیزیم بر شاخص سمیت رفتاری رت های صحرایی

پارامترهای هماتولوژیکی

بر اساس نتایج، تجویز کادمیوم به مدت ۲۸ روز منجر به مسمومیت شد که با افزایش قابل توجه تعداد گلبول‌های سفید خون در مقایسه با گروه کنترل (12.35 ± 1.59 در مقابل 6.05 ± 0.63) ($P = 0.0052$) (شکل ۳) نشان داده شد. همچنین کاهش معنی‌داری در تعداد گلبول‌های قرمز

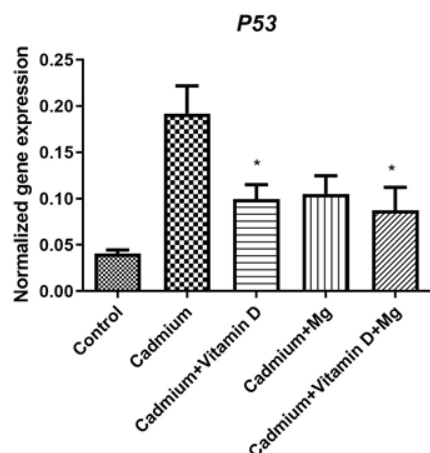
(4.61 ± 0.01 در مقایسه با 6.38 ± 0.37) ($P = 0.0209$)، تعداد پلاکت‌ها (115 ± 1.41 در مقایسه با 385 ± 14.14) ($P < 0.0001$)، هموگلوبین (8.71 ± 0.60 در مقابل 13.4 ± 0.42) ($P = 0.0015$) و هماتوکریت (31.95 ± 0.21 در مقابل 43.15 ± 1.20) ($P = 0.0128$) پس از تجویز کادمیوم در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد. درمان با ویتامین D، منیزیم و D + منیزیم هیچ تأثیر معنی‌داری بر پارامترهای خونی فوق نشان نداد.



شکل ۳: بررسی اثرات تجویز Cd و تیمار با ویتامین D، Mg، و ویتامین D + Mg بر تعداد پلاکت‌ها، گلبول های سفید، هموگلوبین، هماتوکریت و گلبول های قرمز رت های صحرایی

داده‌های عملکرد کبد

سطح سرمی AST (141.2 ± 3.67 در مقابل 72.54 ± 1.47) ($P < 0.001$)، ALT (89.88 ± 2.27 در مقابل 43.11 ± 2.58) ($P = 0.0007$) و ALP (212.5 ± 7.77 در مقابل 130.6 ± 1.52) ($P = 0.0018$) در رت های مسموم‌شده با کادمیوم به طور معنی‌داری در مقایسه با رت های سالم افزایش یافت. با این حال، هیچ تغییر معنی‌داری در فعالیت AST، ALT و ALP در رت های تحت درمان با ویتامین D، منیزیم و ویتامین D + Mg مشاهده نشد.

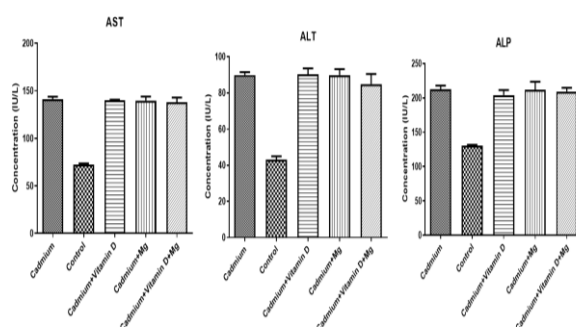


شکل ۵. بررسی بیان ژن P53 در گروه های کنترل، کادمیوم، کادمیوم + ویتامین D، کادمیوم + منیزیم و کادمیوم + ویتامین D + منیزیم در رت.

بیان پروتئین های VEGF و BMP-4

بر اساس نتایج باندهای پروتئینی، مسمومیت با کادمیوم به طور قابل توجهی بیان پروتئین VEGF را در مقایسه با گروه کنترل افزایش داد. درمان با ویتامین D به طور معنی داری بیان پروتئین VEGF را در رت های مسموم شده با کادمیوم کاهش داد ($P < 0.001$). علاوه بر این، درمان با منیزیم نیز به طور قابل توجهی بیان پروتئین VEGF را در مقایسه با گروه درمان نشده کاهش داد ($P < 0.001$). درمان ترکیبی با ویتامین D + Mg نیز به طور معنی داری بیان پروتئین VEGF را کاهش داد ($P < 0.001$).

همچنین، بیان پروتئین BMP-4 پس از مسمومیت با کادمیوم به طور معنی داری در مقایسه با گروه کنترل افزایش یافت. درمان با ویتامین D به طور قابل توجهی بیان پروتئین BMP-4 را در رت های مسموم شده با کادمیوم کاهش داد ($P < 0.001$). علاوه بر این، درمان با منیزیم نیز به طور معنی داری بیان پروتئین BMP-4 را در مقایسه با گروه درمان نشده کاهش داد ($P < 0.001$). درمان ترکیبی با ویتامین



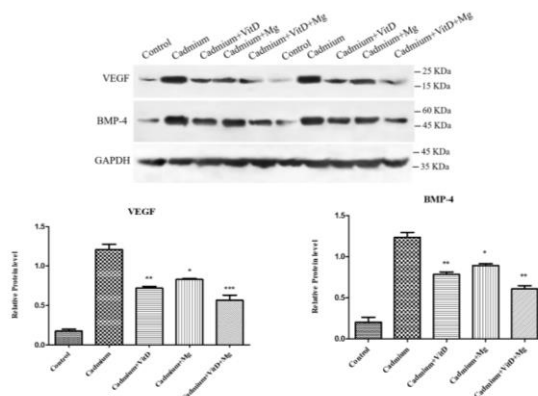
شکل ۴. تأثیر تجویز Cd و تیمار با ویتامین D، Mg و ویتامین D + Mg بر سطح سرمی AST, ALT, ALP رت های صحرایی

بررسی بیان ژن

بیان ژن P53 در بافت ریه رت های تازه متولد شده پس از تیمار با ویتامین D، Mg، یا ویتامین D + Mg اندازه گیری شد و با آن در گروه مدل مقایسه شد. همانطور که در شکل ۵ نشان داده شده است، کاهش معنی داری در بیان ژن P53 در گروه های تحت تیمار با ویتامین D + Mg، ویتامین D یا منیزیم در مقایسه با گروه Cd وجود داشت.

بیان P53 در گروه Cd به طور قابل توجهی بیشتر از آن در گروه تیمار بود. میانگین $\pm$ انحراف معیار در گروه مدل 0.0359 ± 0.0882 و در گروه تیمار با منیزیم 0.0168 ± 0.0338 بود. پس از تیمار با ویتامین D و ویتامین D + Mg، بیان P53 به طور معنی داری کاهش یافت، بنابراین میانگین $\pm$ انحراف معیار در گروه ویتامین D 0.0308 ± 0.0107 و در گروه ویتامین دی و منیزیم 0.0011 ± 0.0056 برآورد شد.

D + Mg نیز به طور معنی داری بیان پروتئین BMP-4 را کاهش داد ($P < 0.0001$).



شکل ۶. بیان پروتئین VEGF و BMP-4 در گروه های کنترل، کادمیوم، کادمیوم + ویتامین D، کادمیوم + منیزیم + کادمیوم + ویتامین D + منیزیم در رت های مادر

یافته های هیستوپاتولوژیکی ریه

همان طور که در شکل ۷ نشان داده شده است، نتایج بررسی مقاطع رنگ آمیزی شده با هماتوکسیلین و ائوزین (E&H) نشان داد که گروه مسموم شده با کادمیوم در مقایسه با گروه کنترل، دارای نفوذ زیاد سلول های التهابی، خونریزی، تجمع مخاط و ضخامت دیواره آلوئولی بود. با این حال، نمره التهابی کلی و ضخامت دیواره سلولی در رت های تحت درمان با ویتامین D، منیزیم و به ویژه ترکیب ویتامین D + Mg در مقایسه با گروه مسموم شده با کادمیوم کاهش یافت. بر اساس نتایج، سپتوم های آلوئولی ضخیم شده که با لنفوسیت ها و ماکروفاژها نفوذ کرده بودند، افزایش ترشح مخاط و خونریزی در گروه مسموم شده با کادمیوم در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد. در حالی که در گروه تحت درمان با ویتامین D + Mg، برونشیول ها طبیعی بودند و میزان خونریزی، نفوذ سلول های التهابی و ضخامت دیواره آلوئولی در مقایسه با گروه های مسموم شده با

کادمیوم، ویتامین D و منیزیم کاهش یافته بود. به طور کلی، یافته های هیستوپاتولوژیکی نشان داد که درمان رت های مسموم شده با کادمیوم با ویتامین D و منیزیم، به ویژه ترکیب آن ها، می تواند التهاب، خونریزی و ضخامت دیواره آلوئولی را در مقایسه با رت های درمان نشده بهبود بخشد.

بررسی های بیشتر هیستولوژیکی نیز انجام شد، از جمله نمره التهاب بافت ریه، نمره ترشح مخاط و نمره کلی. نتایج نمره التهاب بافت ریه نشان داد که مسمومیت با کادمیوم به طور معنی داری نمره التهاب را در حیوانات درمان نشده در مقایسه با حیوانات کنترل افزایش داد. علاوه بر این، مشاهده شد که درمان با ویتامین D + Mg می تواند به طور معنی داری نمره التهاب را در مقایسه با رت های مسموم شده با کادمیوم کاهش دهد ($P = 0.002$). با این حال، درمان جداگانه با ویتامین D و منیزیم نتوانست نمره التهاب را به طور معنی داری کاهش دهد. یافته های نمره ترشح مخاط نشان داد که این نمره در گروه مسموم شده با کادمیوم در مقایسه با گروه کنترل به طور قابل توجهی بالاتر بود. همچنین نمره ترشح مخاط در گروه ویتامین D + Mg در مقایسه با گروه مسموم شده با کادمیوم کاهش یافت، با این حال، تغییر معنی داری در نمره ترشح مخاط در گروه های G2 و G3 در مقایسه با گروه مسموم شده با کادمیوم مشاهده نشد (شکل ۸).

بر اساس نتایج شکل ۷، نمره کلی در رت های مسموم شده با کادمیوم به طور معنی داری بالاتر از گروه کنترل بود. علاوه بر این، این نمره در گروه های ویتامین D و ویتامین D + Mg به طور قابل توجهی کمتر از گروه مسموم شده با کادمیوم بود ($P = 0.002$). با این حال، درمان جداگانه با منیزیم تغییر معنی داری در نمره کلی در مقایسه با گروه مسموم شده با کادمیوم نشان نداد (شکل ۷). بر اساس نتایج

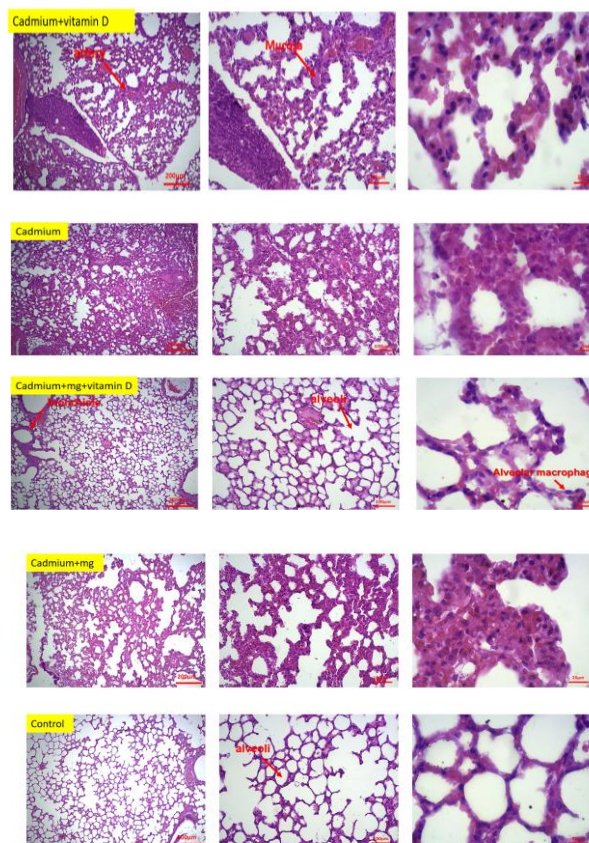
شکل ۸. ارزیابی اسکور التهاب ، ترشح مخاط و اسکور کل در گروه های مختلف مورد ارزیابی.

بحث

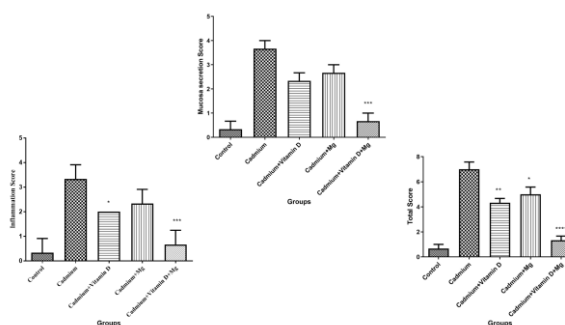
مواجهه با کادمیوم به طور گسترده ای به عنوان عاملی با پیامدهای مضر برای سلامت انسان شناخته شده است که منجر به اختلالات ریوی و افزایش آسیب پذیری نسبت به عوارض تنفسی می شود (۱۳ و ۱۴). هدف این مطالعه، بررسی روش های درمانی غیرتهاجمی برای مدیریت بیماری های مرتبط با کادمیوم از طریق بررسی ارتباط بین درمان با ویتامین D و منیزیم (Mg) و سطح پروتئین فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGF) در ریه های تحت تأثیر سمیت کادمیوم است. این مطالعه تجربی به عنوان اولین گزارش در مورد ارتباط بین سطوح پروتئین های VEGF و BMP-4 و تجویز ویتامین D به همراه منیزیم در ریه های رت های مبتلا به سمیت کادمیوم محسوب می شود. کاهش سطح ویتامین D و منیزیم در رت های در معرض کادمیوم ممکن است ناشی از تعامل بین کادمیوم و عناصر ضروری مانند یون های منیزیم و کلسیم باشد. علاوه بر این، غلظت ویتامین D نقش کلیدی در تعیین سمیت این فلزات با افزایش جذب و حفظ آن ها ایفا می کند.

مطالعه ما نشان داد که اثرات مضر مسمومیت با کادمیوم بر ریه های رت ها می تواند از طریق یک دوره درمان ۹ روزه با ویتامین D، منیزیم و ترکیب ویتامین D + Mg کاهش یابد. پس از تجویز کادمیوم، اثرات نامطلوبی در ریه ها مشاهده شد که به طور کامل بررسی شد. تجویز خوراکی منیزیم و ویتامین D تأثیر مفید بیشتری داشت که می توان آن را به تعاملات بین کادمیوم، منیزیم و ویتامین D نسبت داد.

به دست آمده، مصرف همزمان ویتامین D در ترکیب با منیزیم اثرات بهبودی بیشتری در کاهش نمره التهابی ریه در مقایسه با مصرف جداگانه ویتامین D یا منیزیم داشت.



شکل ۷. تأثیر تجویز و تیمار رت های مسموم شده با کادمیوم با ویتامین D، منیزیم و ویتامین D + منیزیم بر تصاویر میکروسکوپ نوری (LM) از بافت ریه، رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین (H&E) گروه های تجربی. میله های مقیاس نشان دهنده ۲۰۰، ۱۰۰ و ۲۰ میکرومتر هستند.



تغییرات در وزن بدن و اختلالات عملکرد اندام‌ها می‌تواند یکی از پیامدهای مسمومیت با کادمیوم باشد (۱۵). وانگ و همکاران گزارش کردند که سمیت کادمیوم با دوز ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم به طور معنی‌داری وزن بدن را در رت‌های مسموم‌شده در مقایسه با رت‌های سالم کاهش داد. آن‌ها همچنین نشان دادند که سمیت کادمیوم به طور معنی‌داری وزن نسبی بیضه‌ها را در گروه مسموم‌شده در مقایسه با گروه کنترل کاهش داد. وانگ و همکاران بیان کردند که استرس اکسیداتیو و آسیب ناشی از اتوفاژی القا شده توسط سمیت کادمیوم منجر به آسیب بافتی در اندام‌های مختلف می‌شود. مکانیسم کاهش وزن ناشی از مواجهه با کادمیوم به طور کامل درک نشده است، اما احتمالاً به دلیل کاهش پروتئین‌های سرم و اسهال شدید رخ می‌دهد (۱۶). شواهدی درباره اثرات مخرب مواجهه با کادمیوم بر وزن بدن نوزادان وجود دارد. نیشیجو و همکاران نشان دادند که مواجهه مادران با کادمیوم در دوران بارداری منجر به وزن کم نوزادان در هنگام تولد می‌شود (۱۷).

در مطالعه حاضر، اندازه‌گیری وزن بدن رت‌ها نشان داد که القای مدل مسمومیت با کادمیوم نتوانست به طور آماری تغییر معنی‌داری در وزن بدن در مقایسه با رت‌های سالم ایجاد کند. علاوه بر این، پس از تجویز ویتامین D و منیزیم نیز تغییر آماری معنی‌داری در وزن بدن مشاهده نشد. تحقیقات قبلی اثربخشی تجویز ویتامین D در افزایش وزن بدن رت‌ها را ثابت کرده‌اند. منیزیم به عنوان یک کوفاکتور با اثرات مفید بر متابولیسم ماکرومولکول‌ها شناخته شده است. محققان نقش محافظتی منیزیم در سمیت کادمیوم را نشان داده‌اند. بابک نجد و همکاران نقش معنی‌دار منیزیم را

در افزایش وزن رت‌های مسموم‌شده با کادمیوم که با ۱/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم منیزیم درمان شده بودند، نشان دادند. یک مطالعه مشابه نشان داد که تعداد گلبول‌های قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت پس از تجویز داخل صفاقی کادمیوم به طور معنی‌داری کاهش یافت. تغییرات در پارامترهای هماتولوژیکی پس از مسمومیت با کادمیوم ممکن است ناشی از القای آسیب اکسیداتیو در گلبول‌های قرمز رت‌ها باشد. این فرآیند می‌تواند به غشای سلولی گلبول‌های قرمز آسیب برساند، پراکسیداسیون لیپیدها را افزایش دهد، متابولیسم انرژی را تغییر دهد و منجر به کم‌خونی شود. افزایش گلبول‌های سفید خون ممکن است ناشی از نقش سلول‌های ایمنی در مقابله با اثرات سیتوتوکسیک ناشی از کادمیوم باشد (۱۸). پارامترهای هماتولوژیکی در مطالعه ما پس از درمان با ویتامین D، منیزیم و ترکیب ویتامین D + Mg در مقایسه با رت‌های مسموم‌شده با کادمیوم از نظر آماری معنی‌دار نبود. کادمیوم به عنوان یک مهارکننده ایمونوتوکسین، مستقیماً با سلول‌های ایمنی تعامل کرده و وضعیت و عملکرد آن‌ها را تغییر می‌دهد و در نتیجه به سیستم ایمنی آسیب می‌رساند. این آسیب به صورت وابسته به زمان و دوز رخ می‌دهد (۱۹). بنابراین، در مطالعه حاضر، علیرغم اثرات مفید تجویز ویتامین D و منیزیم بر اثرات سمی کادمیوم تزریق‌شده، دوز مصرفی و زمان تجویز نتوانست بر فاکتورهای هماتولوژیکی تأثیر بگذارد.

چندین مطالعه اخیر اثر محافظتی ویتامین D در کاهش استرس اکسیداتیو را توصیف کرده‌اند. ویتامین D از تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) جلوگیری کرده و از غشای سلولی در برابر آسیب‌های ناشی از ROS محافظت می‌کند. محققان نقش محافظتی ویتامین D را در پیشگیری از

کم خونی ناشی از ریباویرین در رت های ویستار از طریق افزایش تولید اریتروپویتین نسبت داده اند (۲۰). علاوه بر نقش منیزیم در فعال سازی ویتامین D، این عنصر می تواند به طور مستقیم بر پارامترهای هماتولوژیکی تأثیر بگذارد. کووال و همکاران نشان دادند که تجویز منیزیم در رت های مسموم شده با کادمیوم می تواند پارامترهای هماتولوژیکی را از طریق کاهش تعداد گلبول های سفید و افزایش تعداد گلبول های قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت بهبود بخشد. به نظر می رسد که خاصیت آنتی اکسیدانی منیزیم باعث این بهبود در پارامترهای هماتولوژیکی شده است (۱۹).

هیپاتوتوکسیسیته (سمیت کبدی) می تواند یکی از پیامدهای مخرب مواجهه با کادمیوم باشد. یافته های ما نشان داد که مسمومیت با کادمیوم به طور معنی داری سطح ALT، AST و ALP را در مقایسه با گروه کنترل افزایش داد. نتایج Kouadria و همکاران با یافته های ما هم سو بود و نشان داد که افزایش فعالیت آنزیمی SGOT و SGPT ناشی از آسیب کبدی و تغییر در نفوذپذیری غشا و در نتیجه نشت آنزیم های کبدی به پلاسما رخ می دهد (۱۹). در مطالعه ما، تجویز ویتامین D و منیزیم نتوانست تأثیر معنی داری بر سطح سرمی ALT، AST و ALP داشته باشد. البوشی و همکاران در مطالعه ای مشابه نشان دادند که ویتامین D تأثیر کاهشی معنی داری بر سطح ALT، AST و ALP دارد. اثرات آنتی اکسیدانی و ضد التهابی ویتامین D در کبد ممکن است با کاهش سطح سرمی ALT، AST و ALP ارتباط مثبت داشته باشد. خاصیت آنتی اکسیدانی منیزیم و رقابت آن با کادمیوم در جذب گوارشی نیز در کاهش سطح سرمی ALT، AST و ALP نقش دارد (۱۹ و ۲۱).

در مطالعه حاضر، کادمیوم به طور معنی داری شاخص سمیت (شامل بررسی موهای ژولیده، کاهش سرعت

حرکات و بی حالی) را افزایش داد. چندین مطالعه اثر مواجهه با کادمیوم بر وضعیت نورو-رفتاری موجودات زنده را تأیید کرده اند. ایجاد بی حالی، نقص حافظه و رفتارهای شبیه به اضطراب پس از مواجهه با کادمیوم گزارش شده است. نتایج ما همچنین نشان داد که درمان با ویتامین D، منیزیم و ترکیب ویتامین D + Mg می تواند به طور معنی داری شاخص سمیت را کاهش دهد. محققان اثربخشی ویتامین D بر بهبود وضعیت رفتاری، از جمله بی حالی، را نشان داده اند. این کاهش ممکن است ناشی از نقش ویتامین D در کاهش التهاب در مغز باشد. به خوبی شناخته شده است که منیزیم می تواند از رفتارهای مرتبط با افسردگی و اضطراب از طریق کاهش تحریک پذیری نورونی جلوگیری کند (۲۲).

بر اساس نتایج آزمایش ما، مواجهه با کادمیوم باعث افزایش معنی دار در بیان پروتئین VEGF شد، در حالی که پس از تجویز ویتامین D + Mg کاهش معنی داری در بیان پروتئین VEGF مشاهده شد. برخی مطالعات نشان داده اند که ویتامین D از طریق سرکوب آنژیوژنز غیرطبیعی در کاهش VEGF نقش دارد. مطالعات قبلی نشان داده اند که اختلال در تنظیم سطح فاکتور رشد اندوتلیال عروقی منجر به رتینوپاتی نوزادان نارس می شود. مکمل های ویتامین D به عنوان تنظیم کننده VEGF به روش وابسته به اکسیژن ممکن است توانایی تغییر روند و نتیجه بیماری را داشته باشند (۹).

ما همچنین نشان دادیم که مسمومیت با کادمیوم به طور معنی داری بیان پروتئین BMP-4 را افزایش داد. BMP-4 به عنوان یک فاکتور کلیدی در رشد ریه در مرحله جنینی شناخته شده است. علاوه بر رشد ریه، BMP-4 در فرآیندهای ترمیمی نیز مشارکت دارد. BMP-4 تکثیر و

تمایز سلول‌های اپیتلیال ریوی را تحریک می‌کند. مطالعه ما نشان داد که درمان با ویتامین D، منیزیم و به‌ویژه ترکیب ویتامین D + Mg به طور معنی‌داری بیان پروتئین BMP-4 را کاهش داد. مشاهده شده است که بین سطح پروتئین BMP-4 و سطح پروتئین گیرنده ویتامین D (VDR) ارتباط مثبت وجود دارد (۲۳).

فاریا و همکاران نشان دادند که کمبود ویتامین D باعث کاهش بیان BMP-4 به‌عنوان نشانگر تکثیر سلولی می‌شود. تغییرات پس از بیان ژن و تفاوت در بافت‌های مورد بررسی ممکن است مسئول تفاوت‌های بین دو مطالعه باشد. تاکنون هیچ مطالعه‌ای اثر منیزیم بر بیان BMP-4 در بافت ریه را بررسی نکرده است (۲۴). نتایج ما نشان داد که درمان با منیزیم به طور معنی‌داری بیان پروتئین BMP-4 را افزایش داد. اثر محافظتی منیزیم در برابر سمیت کادمیوم ثابت شده است. منیزیم مسئول مهار جذب کادمیوم و تجمع آن در اندام‌ها است. BMP-4 ممکن است با مهار اثرات TGF-β1 در فیبروبلاست‌های ریه، بازسازی مجاری هوایی را تنظیم کند. نتایج قبلی نشان می‌دهد که BMP-4 تکثیر سلولی ناشی از TGF-β1 در فیبروبلاست‌های طبیعی ریه انسان را مهار کرده و تولید پروتئین‌های ماتریکس خارج سلولی توسط این سلول‌ها را مسدود می‌کند. BMP-4 تمایز فیبروبلاست‌ها به میوفیبروبلاست‌ها را مهار کرده و آزادسازی ماتریکس متالوپروتئیناز 13 (MMP) را مسدود می‌کند. منیزیم نیز ممکن است از طریق اثر آنتی‌اکسیدانی خود بر بیان BMP-4 تأثیر بگذارد، زیرا تعامل بین BMP ها و ROS وجود دارد (۲۵).

یافته‌های هیستوپاتولوژیک مطالعه حاضر نشان داد که مواجهه با کادمیوم به طور معنی‌داری منجر افزایش نمره التهاب بافت ریه، نمره ترشح مخاط و نمره کلی آسیب

ریوی گردید. این یافته با این واقعیت که استنشاق یکی از راه‌های اصلی مواجهه با این فلز سنگین است و ریه‌ها را به یک اندام هدف اصلی تبدیل می‌کند، همخوانی دارد. یافته‌های ما با گزارش لگ و همکاران همسو است که نشان دادند کادمیوم باعث القای پاسخ التهابی در بافت ریه می‌شود. مکانیسم این آسیب احتمالاً از طریق القای بیان سیتوکین‌ها و کموکاین‌های پیشالتهابی و نیز از طریق ایجاد استرس اکسیداتیو است که نقش آن به خوبی در سمیت ریوی کادمیوم به اثبات رسیده است. در مقابل، درمان با ویتامین D و منیزیم، به ویژه به صورت ترکیبی (ویتامین D + Mg)، به طور قابل توجهی باعث کاهش نمره التهابی کلی و ضخامت دیواره آلوئولی در مقایسه با گروه مسموم شده با کادمیوم گردید. جالب توجه اینکه، در گروه تحت درمان با ترکیب ویتامین D و منیزیم، ساختار برونشیول‌ها طبیعی به نظر رسید و شاخصهای آسیب از جمله میزان خونریزی، نفوذ سلولهای التهابی و ضخامت دیواره آلوئولی در مقایسه با گروههای درمانی انفرادی (ویتامین D یا منیزیم به تنهایی) نیز کاهش یافته بود. (۲۶).

ما دریافتیم که درمان رت‌های مسموم‌شده با کادمیوم با ویتامین D و منیزیم، به‌ویژه ترکیب آن‌ها، می‌تواند التهاب، خونریزی و ضخامت دیواره آلوئولی را در مقایسه با رت‌های درمان‌نشده بهبود بخشد. ما همچنین کاهش معنی‌داری در نمره التهاب و ترشح مخاط تنها پس از درمان با ویتامین D + Mg مشاهده کردیم. علاوه بر این، کاهش معنی‌داری در نمره کلی پس از درمان با ویتامین D و ویتامین D + Mg مشاهده شد. ویتامین D نقش حیاتی در رشد ریه در مرحله جنینی دارد. ارتباط مثبتی بین کمبود ویتامین D و توسعه بیماری‌های ریوی مانند آسم وجود دارد. اثر آنتی‌اکسیدانی

می تواند به عنوان یک راهکار مکمل غذایی بالقوه، فراتر از مداخلات دارویی صرف، برای غلبه بر اثرات مضر سمیت کادمیوم و بهبود شاخص های هماتولوژیک (CBC) و یافته های هیستوپاتولوژیک ریه عمل کند. بر این اساس، به نظر می رسد هدف قرار دادن مسیرهای VEGF و BMP-4 دارای اهمیت بالایی بوده و می تواند به عنوان یک استراتژی نوین در تحقیقات پیش بالینی و بالینی برای اکتشاف داروهای جدید در جهت درمان سمیت ریوی مدنظر قرار گیرد.

فهرست منابع

1. Haney J. Development of an inhalation unit risk factor for cadmium. Regul. Toxicol. Pharmacol. [Internet] 2016;77:175–83. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0273230016300472>
2. Jomova K, Alomar SY, Nepovimova E, Kuca K, Valko M. Heavy metals: toxicity and human health effects. Arch. Toxicol. 2025;99:153–209.
3. Satarug S. Cadmium sources and toxicity. Toxics 2019;7:25.
4. Taha MM, Mahdy-Abdallah H, Shahy EM, Ibrahim KS, Elserougy S. Impact of occupational cadmium exposure on bone in sewage workers. Int. J. Occup. Environ. Health 2018;24:101–8.
5. Đukić-Čosić D, Baralić K, Javorac D, Djordjevic AB, Bulat Z. An overview of molecular mechanisms in cadmium toxicity. Curr. Opin. Toxicol. 2020;19:56–62.
6. Behnke J, Dippel CM, Choi Y, Rekers L, Schmidt A, Lauer T, et al. Oxygen toxicity

و ضد التهابی ویتامین D احتمالاً مسئول کاهش آسیب ریوی پس از مواجهه با کادمیوم است. تجویز منیزیم برای درمان بیماری های تنفسی سابقه ثبت شده دارد. علاوه بر این، منیزیم می تواند سمیت کادمیوم را در اندام های مختلف بدن کاهش دهد. منیزیم از جذب کادمیوم و تولید استرس اکسیداتیو ناشی از کادمیوم از طریق خاصیت آنتی اکسیدانی خود جلوگیری می کند.

یافته های مطالعه حاضر، اثربخشی درمان با ویتامین D و منیزیم را در کاهش سمیت ریوی ناشی از کادمیوم در موش های صحرایی (رت) نشان داد. ما مشاهده کردیم که تجویز ویتامین D، منیزیم و ترکیب آن ها، قادر به بهبود ناهنجاری های ریوی ناشی از مواجهه با کادمیوم است. به نظر می رسد فعالیت های آنتی اکسیدانی و ضد التهابی ویتامین D و منیزیم، عامل اصلی اثرات مفید آن ها باشد.

علاوه بر این، ویتامین D و منیزیم به واسطه اثرات ضد BMP-4 و کاهش بیان پروتئین VEGF، خصوصیات بازسازی و ترمیم بافت ریه را نشان دادند که این امر منجر به بهبود علائم بالینی و کاهش پیامدهای نامطلوب سمیت کادمیوم شد. ترکیب ویتامین D و منیزیم، اثرات آنتی اکسیدانی معناداری ایجاد کرد و ناهنجاری های ریوی ناشی از کادمیوم را به طور قابل توجهی کاهش داد. مصرف همزمان این دو ماده توانست به طور مؤثری بیان غیرطبیعی پروتئین ها را تنظیم و علائم بالینی را اصلاح کند. این نتایج حاکی از آن است که مکمل ترکیبی ویتامین D و منیزیم

- to the immature lung—part II: the unmet clinical need for causal therapy. *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22:10694.
7. Zhu Y, Jing D, Liang H, Li D, Chang Q, Shen M, et al. Vitamin D status and asthma, lung function, and hospitalization among British adults. *Front. Nutr.* 2022;9:954768.
8. Mohan M, Cherian JJ, Sharma A. Exploring links between vitamin D deficiency and COVID-19. *PLoS Pathog.* 2020;16:e1008874.
9. Hoşgörler F, Kızıldağ S, Ateş M, Argon A, Koç B, Kandis S, et al. The chronic use of magnesium decreases VEGF levels in the uterine tissue in rats. *Biol. Trace Elem. Res.* 2020;196:545–51.
10. Amanpour P, Eftekhari Z, Eidi A, Khodarahmi P. Ameliorative mechanism of dietary vitamin d and magnesium on newborn's pulmonary toxicity induced by cadmium. *J. trace Elem. Med. Biol. organ Soc. Miner. Trace Elem.* 2024;84:127469.
11. Hafez-Amini M, Eidi A, Mortazavi P, Sotoodehnejadnematalahi F. Effect of astaxanthin on testicular damage induced by cadmium chloride in adult male Wistar rats. *Vet. Clin. Pathol. Q. Sci. J.* 2022;16:127–40.
12. Lynchak O, Byelinska I, Dziubenko N, Kuznietsova H, Abramchuk O, Prylutska S. Acute toxicity of C60–Cis-Pt nanocomplex in vivo. *Appl. Nanosci.* 2022;12:439–47.
13. Kardan N, Eftekhari Z, Ozmaie S, Hoseinzadeh HU. The effects of vitamin D on Immunoresponse gene 1 and Krüppel-like Factor 2 protein expression in the lung due to the cadmium poisoning. *Adv. Life Sci.* 2023;9:526–33.
14. Rasin P, Ashwathi A V, Basheer SM, Haribabu J, Santibanez JF, Garrote CA, et al. Exposure to cadmium and its impacts on human health: A short review. *J. Hazard. Mater. Adv.* 2025;100608.
15. Genchi G, Sinicropi MS, Lauria G, Carocci A, Catalano A. The effects of cadmium toxicity. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2020;17:3782.
16. Wang J, Zhu H, Wang K, Yang Z, Liu Z. Protective effect of quercetin on rat testes against cadmium toxicity by alleviating oxidative stress and autophagy. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 2020;27:25278–86.
17. Nishijo M, Nakagawa H, Honda R, Tanebe K, Saito S, Teranishi H, et al. Effects of maternal exposure to cadmium on pregnancy outcome and breast milk. *Occup. Environ. Med.* 2002;59:394–7.
18. Ognjanovic BI, Pavlovic SZ, Maletic SD, Zikic R V, Stajn AS, Radojicic RM, et al. Protective influence of vitamin E on antioxidant defense system in the blood of rats treated with cadmium. *Physiol. Res.* 2003;52:563–70.
19. Kouadria M, Djemli S, Tahraoui A. Hepatoprotective effect of zinc and magnesium against subchronic cadmium toxicity on biochemical, histopathological and neurobehavioral parameters in Wistar rats. *J. Anim. Behav. Biometeorol.* 2020;8:63–73.
20. Alatawi FS, Faridi UA, Alatawi MS. Effect of treatment with vitamin D plus calcium on oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats. *Saudi Pharm. J.* 2018;26:1208–13.
21. Leal LKAM, Lima LA, de Aquino PEA, de Sousa JAC, Gadelha CVJ, Calou IBF, et al. Vitamin D (VD3) antioxidative and anti-inflammatory activities: Peripheral and central effects. *Eur. J. Pharmacol.* 2020;879:173099.
22. Babaknejad N, Moshtaghi AA, Shahanipour K, Bahrami S. The protective roles of zinc and Magnesium in Cadmium-induced renal toxicity in male wistar rats. *Iran. J. Toxicol.* 2015;8:1160–7.
23. Wang G, Xie L, Hu J, Lu H, Liu X, Cao Y, et al. Osteopontin, bone morphogenetic protein-4, and vitamin D receptor gene polymorphisms in the susceptibility and clinical severity of spinal tuberculosis. *Cell. Physiol. Biochem.* 2017;41:1881–93.
24. Domingues-Faria C, Chanet A, Salles J, Berry A, Giraudet C, Patrac V, et al.

- Vitamin D deficiency down-regulates Notch pathway contributing to skeletal muscle atrophy in old wistar rats. *Nutr. Metab. (Lond)*. 2014;11:1–13.
25. Sánchez-de-Diego C, Valer JA, Pimenta-Lopes C, Rosa JL, Ventura F. Interplay between BMPs and reactive oxygen species in cell signaling and pathology. *Biomolecules* 2019;9:534.
26. Låg M, Rodionov D, Øvrevik J, Bakke O, Schwarze PE, Refsnes M. Cadmium-induced inflammatory responses in cells relevant for lung toxicity: Expression and release of cytokines in fibroblasts, epithelial cells and macrophages. *Toxicol. Lett.* 2010;193:252–60.