

مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز  
شماره ۶۲ (تابستان ۱۳۸۳)، صفحات ۸-۵

## اثر منگنز بر انتقال اسید اولئیک در آنتروسیست ها

دکتر محسن آبی: استاد گروه بیوشیمی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان: نویسنده رابط  
دکتر سید علی اصغر مشتاقی: استاد گروه بیوشیمی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان  
دکتر حشمت الله اروچی: استادیار گروه بیوشیمی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان  
کیهان قطره سامانی: کارشناس ارشد گروه بیوشیمی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

### چکیده

**زمینه و اهداف:** جذب مواد مغذی از طریق آنتروسیست ها تحت تأثیر بسیاری از مواد و عناصر فلزی قرار می گیرد. این مواد اغلب با مکانیسم های حامل تداخل می کنند و بر متابولیسم کلی بدن اثر می گذارند. در این مطالعه اثر منگنز بر جذب اسید اولئیک در آنتروسیست های موش بررسی شد.  
**روش بررسی:** EGS<sup>۱</sup> تهیه شده از روده موش در محلول انکوباسیون حاوی اسید اولئیک در شرایط مختلف از نظر دما و غلظت قرار داده شد و سپس اسید اولئیک داخل EGS به روش اسپکتروفتومتری اندازه گیری شد.  
**یافته ها:** نتایج نشان داد که افزایش غلظت منگنز در محلول انکوباسیون باعث کاهش جذب اسید اولئیک می شود که این کاهش به غلظت منگنز در محلول انکوباسیون بستگی دارد. حذف  $Na^+$  از محیط آزمایش باعث کاهش شدید در جذب می شود.  
**نتیجه گیری:** نتایج نشان می دهد که جذب اسید اولئیک وابسته به  $Na^+$  است و منگنز از طریق تداخل با این یون باعث کاهش جذب می شود. این یون نیز به صورت وابسته به دوز بر انتقال اسید چرب تأثیر می گذارد و موجب مهار این فرآیند می شود.

**کلید واژه ها:** منگنز، انتقال اسید چرب، اسید اولئیک، آنتروسیست

### مقدمه

در این مطالعه ۶ گروه پنج تایی موش با وزن ۲۵۰-۲۰۰ گرم انتخاب و از ژوژنوم حیوانات مورد آزمایش EGS تهیه شد. برای مطالعه نقش غلظت در میزان جذب اسید چرب، بافر انکوباسیون حاوی غلظت های مختلف اسید چرب (از ۰/۵ تا ۴ میلی مولار) تهیه گردید و با تعیین غلظت مناسب اسید چرب، زمان انکوباسیون تغییر داده شد تا تأثیر زمان آزمایش نیز بر روی مقدار انتقال اسید چرب مشخص شود. جهت مشخص شدن تأثیر دما بر روی میزان انتقال اسید چرب اندازه گیری میزان جذب در چهار دمای متفاوت ۴ و ۲۵ و ۳۷ و ۴۵ درجه سانتیگراد انجام شد. مقدار اسید چرب داخل EGS با روش تغسیب یافته «فلیکس<sup>۳</sup>» و «باوئر<sup>۴</sup>» از طریق اسپکتروفتومتری و با استفاده از منحنی استاندارد اندازه گیری شد (۸).

در مراحل بعد، بافر انکوباسیون حاوی اسید اولئیک به همراه کلرور منگنز با غلظت های متفاوت (جدول های ۳ و ۲) تهیه و انتقال اسید چرب در مجاورت کلرور منگنز نیز تعیین و با کنترل به دست آمده مقایسه شد. در ادامه جهت ساخت بافر انکوباسیون از کلرور کولین (۲ میلی مولار) به جای NaCl استفاده شد تا نقش سدیم در انتقال اسید چرب و تأثیر منگنز بر محیط فاقد سدیم مشخص شود. جهت مقایسه نتایج به دست آمده از آزمایش های مربوط به موارد شاهد، از آزمون t<sup>۵</sup> برای نمونه های مستقل استفاده شد و سطح معنی

با توجه به نقش اسیدهای چرب در رژیم غذایی، مطالعات زیادی درباره نحوه جذب این مواد صورت گرفته و عوامل مؤثر بر سیستم انتقال اسیدهای چرب در آنتروسیست ها از اهمیت ویژه ای برخوردار شده است. وجود پروتئین های انتقال دهنده اسید چرب در سلولهای کبد و سلولهای چربی به اثبات رسیده (۱) و وجود پروتئین های مشابه نیز در آنتروسیست ها نشان داده شده است (۲). منگنز یکی از عناصر کمیاب است که در متابولیسم چربی و کربوهیدرات دخالت دارد و همچنین برای رشد طبیعی دستگاه اسکلتی بدن مورد نیاز است (۳). منگنز به عنوان جزئی از متالوآنزیم ها و فعال کننده آنزیمی در بدن به کار می رود. این عنصر در ساختمان سوپراکسیددیسموتاز<sup>۴</sup> (۴)، گلوتامین سنتتاز (۵) و پیرووات کربوکسیلاز (۶) به کار رفته است. اگر چه منگنز در مقادیر بسیار کم برای متابولیسم مواد مختلف ضروری است، مقادیر بالاتر از حد طبیعی این عنصر می تواند عوارض سمی شدیدی بر دستگاه های مختلف بدن اعمال کند (۷).  
تأثیر فلزات سنگین مانند کادمیم در جذب اسیدهای چرب قبلاً در همین آزمایشگاه مطالعه شده است. در مطالعه حاضر، تأثیر منگنز بر جذب اسید اولئیک مورد بررسی قرار گرفت.

### مواد و روش ها

1. everted gut sacs  
2. MnSOD  
3. Felix  
4. Bauer

آزمایش به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار در ۴، ۲۵، ۳۷، ۴۵،  
درجه سانتیگراد به ترتیب  $۳/۵ \pm ۴۰$ ،  $۲/۷ \pm ۵۵$ ،  $۲/۴ \pm ۸۳$ ،  
 $۴/۱ \pm ۶۶$  میلی مول بر لیتر بود. مشاهده می شود که افزایش دما تا  
۳۷ درجه سانتیگراد باعث افزایش جذب می شود و افزایش بیشتر  
دما جذب اسید چرب را کاهش می دهد. با توجه به جدول ۱، کلرور  
منگنز باعث کاهش جذب اسید چرب می شود که این کاهش  
متناسب با غلظت کلرور منگنز در محیط است.

به منظور مطالعه نقش سدیم در جذب اسید اولئیک و تأثیر  
منگنز در غیاب سدیم به جای NaCl از کلرور کولین استفاده شد.  
نتایج (جدول ۲) نشان می دهد که در غیاب سدیم جذب اسید چرب  
به شدت کاهش می یابد و کلرور منگنز نیز نقش تداخلی خود را تا  
حدودی از دست می دهد. محاسبات آماری نشان می دهد که هر  
چند در حضور منگنز اختلاف جذب به وجود می آید، ولی ارتباط  
معنی دار بین غلظت های مختلف با نمونه شاهد وجود ندارد.

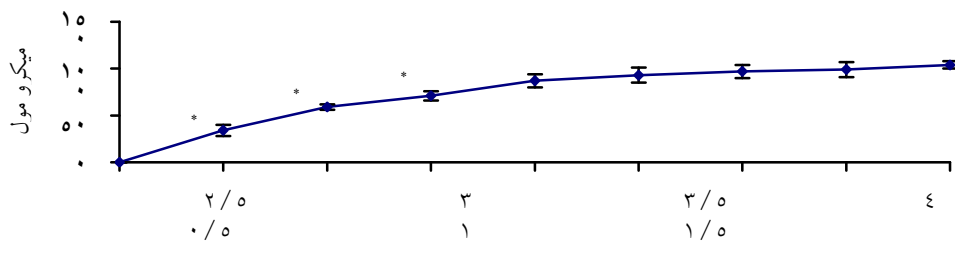
داری یا خطای نوع اول ۰/۰۵ در نظر گرفته شد ( $\alpha = 0/05$ ) که  
در قسمت نتایج مقادیر  $P$  مربوطه ارائه شده است.

## یافته ها

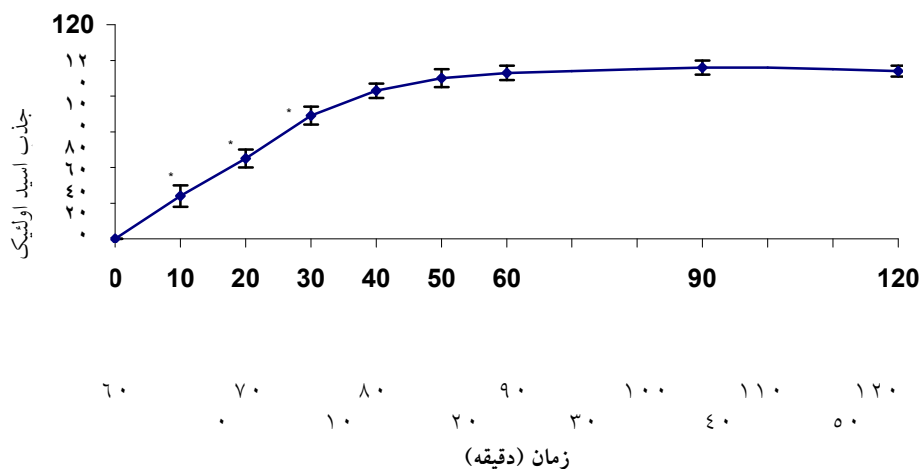
همان گونه که در نمودار ۱ مشاهده می شود به دنبال افزایش  
غلظت اسید اولئیک در بافر انکوباسیون، میزان جذب اسید چرب  
افزایش می یابد و منحنی نه به صورت خطی بلکه به شکل هیپربولیک  
در می آید. مدت زمان آزمایش ۳۰ دقیقه و دما ۳۷ درجه سانتیگراد  
است.

نتایج حاصل از آزمایش ها نشان می دهد که پس از حدود ۳۰  
دقیقه، میزان جذب اسید اولئیک به حداکثر می رسد و پس از آن  
تغییر محسوسی در میزان جذب به چشم نمی خورد و تقریباً ثابت  
می ماند (نمودار ۲).

به منظور مطالعه تأثیر دما بر روی جذب اسید اولئیک آزمایش  
در چهار دمای متفاوت انجام گرفت. نتایج حاصل از پنج بار



نمودار ۱: تغییرات غلظت اسید اولئیک داخل EGS متعاقب افزایش غلظت آن در محلول انکوباسیون در  $pH = 5/5$ .  
اعداد میانگین  $\pm$  انحراف معیار حاصل ۵ بار آزمایش است. نقاط ستاره دار از نظر آماری معنی دار هستند ( $p < 0/05$ ).



نمودار ۲: میزان جذب اسید اولئیک در زمانهای مختلف در  $pH = 5/7$  اعداد به دست آمده میانگین  $\pm$  انحراف معیار حاصل ۵ بار  
آزمایش هستند. نقاط ستاره دار از نظر آماری معنی دار هستند ( $p < 0/05$ ).

جدول ۱: تأثیر کلرور منگنز بر میزان جذب اسید اولئیک توسط EGS

مقدار $p$	درصد کاهش	مقدار جذب بر حسب mmol/L	کلرور منگنز (mM)
-	۰	$101 \pm 4/5$	۰
$p=0/005$	-۱۳/۵	$87 \pm 7/1$	۰/۵
$p=0/004$	-۳۱/۲	$79 \pm 2/4$	۱
$p=0/001$	-۳۵/۷	$75 \pm 8/5$	۴
$p=0/001$	-۵۶/۵	$44 \pm 4/8$	۱۰

جدول ۲: تأثیر کلرور منگنز در محیط کلرورکولین فاقد سدیم بر جذب اسید اولئیک

درصد تغییرات	مقدار جذب بر حسب mmol/L	کلرور منگنز mM
۰	$27 \pm 7/8$	۰
+۳/۷	$28 \pm 10/3$	۰/۵
-۲۲	$21 \pm 6/4$	۱
-۲۵	$20 \pm 8/6$	۴
-۳۳	$18 \pm 8/7$	۱۰

## بحث

های اسید اولئیک حالت اشباع شدن را دارا هستند و این امر مشابه انتقال دهنده های گلوکز از جدار روده است. حالت کینتیک اشباعی در مورد انتقال اسید اولئیک در آنتروسیت ها با مطالعات «برگ» و «کوچوا» مطابقت دارد (۱۸).

اخیراً در مورد اجزای سیستم انتقال دهنده اسیدهای چرب به داخل سلول مطالعات زیادی صورت گرفته و پیشنهاد شده است که در بسیاری از بیماریهایی که متابولیسم اسیدهای چرب دستخوش تغییر می شود، ممکن است در سیستم انتقال دهنده اسید چرب نیز اختلال به وجود آید (۱۹). با مطالعه در غشا باکتری ها معلوم کرده اند که آنزیم آسیل کوآ سنتتاز ممکن است در عمل انتقال نقش داشته باشد (۲۰). نکته جالب توجه این است که این پروتئین ناقل اسید چرب دارای ایزوفرم های مختلفی است که در بعضی موارد وجود ATP را نیز برای فعالیت آنها بی تأثیر نمی داند (۲۱).

بررسی نمودار ۲ نشان می دهد که افزایش جذب تا ۳۰ دقیقه به شکل خطی است ولی پس از آن افزایش محسوسی در میزان جذب صورت نمی گیرد، بدین معنا که گیرنده های اسید چرب در مدت ۳۰ دقیقه اشباع می شود و پس از این زمان عملاً افزایش جذب اتفاق نمی افتد.

افزودن کلرور منگنز به محلول انکوباسیون باعث کاهش انتقال اسید اولئیک به داخل EGS می شود (جدول ۱). این کاهش وابسته به کلرور منگنز غالباً از طریق اثر بر حامل صورت می گیرد. حامل های انتقال اسید چرب وابسته به سدیم هستند. مقایسه غلظت صفر در جدول ۱ با غلظت صفر در جدول ۲ نشان می دهد که انتقال اسید چرب در غیاب سدیم تنها ۲۷٪ موقعی است که سدیم در محیط وجود دارد که وابستگی انتقال اسید چرب به سدیم را ثابت می کند.

افزودن کلرور منگنز به محیط فاقد سدیم از لحاظ آماری تأثیر قابل ملاحظه ای بر جذب ندارد و بیانگر این مطلب است که نقش تداخلی منگنز در جذب اسید چرب در حضور سدیم صورت می گیرد.

جذب بسیاری از مواد نظیر قندها و اسیدهای آمینه نیاز به پروتئین حامل غشایی دارد و مطالعات انجام شده وجود این حامل ها را در غشا ثابت کرده است (۹). بیشترین مطالعه بر روی حامل های گلوکز صورت گرفته و ثابت شده است که گلوکز توسط پروتئین های خاصی از غشا سلولهای روده عبور می کند. پروتئین حامل گلوکز طی مراحل خاصی جدا و مطالعه شده است (۱۳-۱۰).

مکانیسم جذب اسیدهای چرب آزاد از روده هنوز به طور کامل مشخص نشده است و هر چند ورود اولیه آنها به آنتروسیت ها اغلب به صورت غیر وابسته به انرژی توصیف شده است، به هر حال مطالعات قبلی وجود مولکول های ناقل اسید چرب بر روی بافت کبد (LFABP) و بافت چربی (AFABP) را ثابت کرده است (۱۴ و ۱۵).

مطالعات صورت گرفته بر روی بعضی گونه های سلولی خصوصاً در بافت چربی، مکانیسم قابل اشباعی را در جذب اسیدهای چرب آزاد نشان می دهد (۱۶ و ۱۷). فرآیند انتقال FFA در روده نیز احتمالاً روند مشابهی با جذب FFA در سلولهای کبد و سلولهای چربی دارد. آزمایش های مقدماتی نشان داده اند که عمل انتقال وابسته به حامل است و دما نیز در عمل انتقال تأثیر دارد. کمترین مقدار انتقال مربوط به دمای ۴ درجه سانتیگراد است، به طوری که با افزایش دما تا ۳۷ درجه سانتیگراد میزان جذب افزایش می یابد. افزایش بیشتر دما باعث کاهش جذب می شود که بیانگر این مطلب است که انتقال اسیدهای چرب مکانیسمی غیر از انتشار ساده دارد، زیرا با افزایش بیشتر دما انتظار افزایش انتقال از غشا، و در نتیجه، افزایش جذب می رود، اما در عمل دیده می شود که بیشترین مقدار اسید اولئیک در دمای ۳۷ درجه جذب می شود، زیرا فعالیت بیشتر انتقال دهنده های اسید چرب در ۳۷ درجه سانتیگراد افزایش می یابد. افزایش دما به بالاتر از ۳۷ درجه سبب تخریب و کاهش فعالیت انتقال دهنده ها می شود.

نمودار ۱ نشان می دهد که افزایش غلظت اسید اولئیک در محیط انکوباسیون باعث افزایش مقدار جذب می شود. منحنی افزایش جذب به شکل هیپربولیک است، بدین معنا که انتقال دهنده

## References

1. Li. Cata. V.J. ; Bernlohr. D.A. Surface properties of adipocyte-lipid binding-protein response to lipid binding and comparison with homologous proteins. *Arch. Biochem. Biophys.* 1998 ; 359(2): 199-208.
2. Zhu. L. ; Kurian. E. ; Prendergast. F.G. ; Kemple. I.D. Dynamics of palmitic acid complexed with rat intestinal fatty acid binding protein. *Biochem.* 1999 Feb 2; 385 (154- 61).
3. Liu. A.C; Heinrichs. B.S. and Leach. R.M. Influence of manganese deficiency on the characteristics of proteoglycans of avian epiphyseal growth plate cartilage. *Poult. Sci.* 1994; 73(5):663-9.
4. Hapkin. K.A; Papazian. M.A.; and Steinman. H.M. Functional differences between manganese and iron superoxid dismutases in escherchia coli K-12. *J. Biol. Chem.* 1992; 267(34):24253-8.
5. Michael. Aschner. Maureen. Gannon. Manganese(Mn) transport across the rat blood brain barrier. Saturable and transferring-dependent transport mechanisms. *Brain Research Bulletin.* 1994; 33:345-349
6. Scrutton. M.C. ; Utter. M.F. and Mildren. A.S. Pyruvate carboxylase; the presence of tightly bound manganese. *J Biol Chem.* 1966; 241(15) : 3480.
7. Davis C.D. ; Schafer D. ; Finley J.W. Effect of biliary ligation of manganese accumulation in rat brain. *Biol. Trace Elem. Res.* 1998; 64 , 61-74
8. Trout. D.L., Ester. J.R., Friedberg. S.J. Titration of free fatty acid in plasma; s study of current methods and a new modification. *J. Lipid. Res.* 1960:1 199-202.
9. Fam M.Z. ; Adeola O. ; Asem K. Estimation of apparent L-amino acid diffusion in brush border membrane vesicles. *Physiological research* 2001, 50 , 373 – 381
10. Garrige C. ; Moret M. Hexose transport in the apical and basolateral membranes of enterocytes in chickens. *J.Physiology.* 1999, 514(1), 189-199
11. Garri ga C. ; Rovira N. Expression of Na<sup>+</sup>/glucose co-transporter in brush border membrane of the chicken intestine. *Am.J. Physiol* ; 1999, 276, 627-631
12. Dyer J; Wood I.S; Shirazi-Beechey S.P.Expression of monosaccharide transporters in the intestine of human diabetics. *Am. J. Physiol* 2002;282:241-248
13. Vayro S. ; Silverman M. PKC regulates turnover of rabbit intestinal Na<sup>+</sup>/glucose transporter. *Am. J. Physiol* ; 1999, 276, 103- 1060
14. Stremmel W. ; Strohmeyer G. ; Borchard F. ; Kochwa S. and Berk P.D. Isolation and partial characterization of a fatty acid binding protein in rat liver plasma membrane. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1985;82.
15. Stremmel W. ; Hodtke R. ; Strohmeyer G. and Berk D. Hepato cellular uptake of oleate in energy dependent, sodium coupled is inhibited by antibody to the liver plasma, membrane and FABP. *Hepatology Baltimore* 1984;4:1067-68.
16. Abumrad N. ; Coburn C. ; Ibrahimi A. Membrane proteins implicated in long –chain fatty acid uptake by mamalion cells. *Biochim Biophys Acta.* 1999, 1441, 4-13
17. Abumrad N. Harmon C. ; Ibrahimi A. Membrane transport of long chain fatty acid; evidence for a fascilitated process. *J. lipid research.* 1998, 39 12 2309-2318.
18. Strommed. W. ; Kochwa. S. ; Berck. P.D. Studies of oleate binding to rat liver plasma membrane *Biochem. Biophys. Res Common* 1983; 112:88-95.
19. Weimar J.D. ; Dirusso C.C. ; Delio R. ; Black P.N. Functional role of fatty acyl-CoA synthetase in the transmembrane movement of long-chain fatty acids. *J. Biol. Chem.* 2002,277, 29369-29376
20. Black P.N. ; Faergeman N.J. Long-chain acyl COA dependent regulation of gene expression in bacteria yeast and mammals. *J. Nutri.* 2000, 130,305S-309S
21. Faergeman N.J. Ballegaard T.; Black P.N. Possible roles of long-chain fatty acyl CoA esters in fusion of biomembranes. *Subcellular Biochem.* 2000, 34 175-231