تاثیر مکمل روی بر آنزیم‌های کبدی در موش‌های صحرایی سالم

حکیمه دبیری‌نژاد، محمدرضا دایر*، طیبه محمدی

گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران، اهواز، ایران

*مسئول مکاتبات: mrdayer@scu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۲/۹ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۸/۱۱

چکیده

فلز روی دومین عنصر ضروری برای حیات موجودات زنده بوده و برای فعالیت بسیاری از آنزیم‌ها مانند آلکالین‌فسفاتاز و لاکتات دهیدروژناز مورد نیاز است. این عنصر همچنین در فرآیندهائی زیستی متعددی مانند رشد، پاسخ ایمنی، عملکرد اعصاب نقش دارد. کمبود این عنصر در بدن باعث کاهش آنزیم سرمی آلکالین فسفاتاز یا افزایش آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز و آنزیم آلانین آمینوترانسفراز می‌شود. افزایش در این دو آنزیم اخیر به نوبه خود می‌تواند نشانه‌ای از وجود اختلالات بافتی باشد هرچند که بین محققین در این خصوص اختلاف نظر وجود دارد. از این‌رو در پژوهش حاضر تاثیر سولفات روی با غلظت ۰/۶ گرم در لیتر آب به مدت سه ماه را روی میزان آنزیم‌های کبدی در موش‌های صحرایی بررسی کنیم. در این مطالعه تعداد ۲۰ عدد موش صحرایی بالغ ماده در قالب دو گروه کنترل و تیمار استفاده گردید. به مدت سه ماه به گروه تیمار بجای آب معمولی آب محتوی سولفات روی خوراکی به عنوان آب آشامیدنی داده شد و هر دو گروه در این مدت بطور آزاد به غذا دسترسی داشتند. پس از پایان این مدت آنزیم‌های سرمی آسپارتات آمینوترانسفراز، آنزیم آلانین آمینوترانسفراز، آلکالین‌فسفاتاز و لاکتات دهیدروژناز مورد سنجش قرار گرفت. یافته‌های ما نشان می‌دهد که مصرف سولفات روی باعث کاهش معنی‌دار در آنزیم آلانین آمینوترانسفراز سرمی می‌شود در حالیکه روی سه آنزیم دیگر اثر معنی‌داری نداشته است. با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق بنظر می‌رسد که مصرف خوراکی سولفات روی نه تنها اثر مخربی بر کبد ندارد بلکه مصرف آن به صورت یک مکمل غذائی می‌تواند اثرات حفاظتی روی این اندام داشته باشد.

کلمات کلیدی: کمبود فلز روی، سولفات روی، کبد، موش صحرایی.

مقدمه

عنصر روی یکی از عناصر فلزی کمیاب و ضروری در بدن بوده که مقدار متوسط آن در افراد بالغ ۱/٤ تا ۲/۳ گرم می‌باشد. بیشترین مقدار این یون فلزی در بافتهائی مانند بافت ماهیچه‌ای و استخوانی یافت می‌شود و تنها مقدار کمی از آن در کبد و پوست یا سایر بافت‌های دیده می‌شود. یون روی در بدن سه وظیفه بیولوژیکی و مهم بر عهده دارد که عبارتند از نقش ساختاری، تنظیمی و کاتالیزوری. نقش ساختاری آن مربوط به مشارکت آن در ساختار متالوپروتئین‌های مهمی مانند پروتئین‌های دخیل در همانندسازی و رونویسی معکوس می‌باشد. علاوه براین فلز روی به عنوان یک یون فلزی بطور مستقیم اثر تنظیم‌کنندگی روی بعضی پروتئین‌ها داشته و فعالیت آن‌ها را افزایش یا کاهش می‌دهد. یون‌های روی همچنین به عنوان یک کوآنزیم برای فعالیت آنزیم‌هایی از جمله آلکالین‌فسفاتاز، لاکتات‌دهیدروژناز، کربوکسی‌پپتیداز، DNA و RNA پلی‌مراز مورد نیاز می‌باشند (۱، ۱۳، ۱٤، ۲۰).

یون‌های روی همچنین در انجام اعمال حیاتی مانند رشد، فعالیت سیستم ایمنی، تولیدمثل، پاسخ به استرس‌های اکسیداتیو، تولید و ذخیره انسولین در سلول‌های بتا پانکراس نقش دارند (۷، ۱۲، ۱۳، ۱٤). یون‌های روی موجود در رژیم غذایی توسط سلول-های پوششی روده کوچک جذب شده و از طریق اتصال به آلبومین و ترانسفرین در خون منتقل می‌شوند. پژوهش‌های انجام شده نشان می‌دهد که کمبود یون روی سبب اختلال در سیستم دفاع ایمنی، ایجاد زخم‌های مزمن و ترمیم نشده، عقب‌ماندگی در رشد جسمی و ذهنی، اسهال و ضایعات پوستی می‌شود (۷،۸).

هرچند که مسمومیت حاد با فلز روی نادر بوده و گزارشات کمی در این زمینه وجود دارد، اما تصور می‌شود که مصرف روزافزون این یون فلزی در قالب مکمل‌های غذائی یا درمانی به ویژه در خانم‌ها برای درمان بیماری‌هائی مانند بیماری‌های پوستی، ریزش مو، اختلالات گوارشی و تاخیر در رشد می‌تواند مشکلات بالقوه را به‌همراه داشته باشد. گزارشاتی مبنی بر وجود ارتباط بین مصرف زیاد این یون و افزایش آنزیم‌های پانکراسی آمیلاز و لیپاز در سرم و نیز ایجاد وقوع تغییراتی ساختاری در سلول‌های پانکراس وجود دارد (۲، ۱٦). همچنین دیده شده که مصرف زیاد این یون‌ها باعث کاهش لیپوپروتئین با چگالی بالا HDL و کلسترول و افزایش لیپوپروتئین با چگالی پایین LDL و کاهش نسبت کلسترول تام به HDL می‌شود که این نسبت شاخصی برای خطر وقوع بیماری قلبی- عروقی تلقی می‌شود (۱٦).

علائم مسمومیت با روی خوراکی شامل تهوع، استفراغ و دردهای شکمی می‌باشند که می‌توانند به سستی، رخوت، سرگیجه و کم‌خونی بیانجامند. بررسی‌های بافتی نشان می‌دهد که مصرف زیاد و طولانی مدت سولفات روی باعث تغییرات ساختاری واضح بر بافت کبد و نیز تغییر در نسبت وزن کبد به وزن بدن می‌شود. در برخی از این مطالعات دیده شده که مصرف دوز بالای سولفات روی باعث افزایش فعالیت سیتوکروم P450 می‌شود که این مسأله می‌تواند آسیب کبدی را توجیه کند هرچند که اظهار نظر قطعی در این خصوص نیازمند تحقیقات بیشتر است (۹، ۱٦).

بر اساس این یافته‌ها و با عنایت به روند روبه افزایش مصرف مکمل‌های روی بررسی اثرات سمی و طولانی مدت یون‌های روی یکی از موضوعات بسیار جذاب و مهم پژوهشی است که در این مطالعه بر آن شدیم تا در یک مطالعه نسبتاً طولانی اثرات یون‌های روی بر پروفایل آنزیم‌های کبدی مطالعه کنیم.

مواد و روش کار

حیوانات: در این پژوهش تجربی که در سال ۱۳۹٦ دردانشکده علوم دانشگاه شهید جمران اهواز انجام شد تعداد ۲۰ موش از نژاد ویستار با وزن ۱٦۰تا ۱۸۰ گرم که از مرکز حیوانات دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز تهیه شد مورد استفاده قرار گرفت. پیش از شروع مطالعه و به منظور تطابق حیوانات با محیط مطالعه حیوانات به مدت چهار روز در خانه حیوانات با شرایط ثابت از نظر دما رطوبت نگهداری شدند. شرایط بکار رفته در این پژوهش شامل دوره ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی دمای ۲±۲۲ نگهداری شدند. کار با حیوانات با رعایت کلیه موازین اخلاقی انجام شد.

داروها و مواد شیمیایی: در این مطالعه نمک سولفات روی در بسته‌بندی نیم‌کیلویی از شرکت سیگما خریداری شد. مقدار ۰/٦ گرم از سولفات روی در ۲ لیتر آب معمولی حل و به عنوان آب نوشیدنی در اختیار حیوانات قرار داده شد. برای سنجش فعالیت آنزیم‌های سرمی از کیت‌های تشخیصی و کمی پارس

آزمون (استاندارد انجمن بیوشیمی آلمان) مورد استفاده شد.

گروه‌بندی حیوانات: در این پژوهش حیوانات به طور تصادفی به دو گروه کنترل و تیمار تقسیم شدند. به گروه کنترل که از ۱۰ موش تشکیل می‌شود آب معمولی و غذای پلت با دسترسی کامل داده شد و به گروه تیمار به جای آب معمولی، آب محتوی سولفات روی با غلظت ۰/٦ گرم در لیتر به عنوان آب آشامیدنی داده شد و مانند گروه اول دسترسی کامل به غذا داشتند.

نگهداری حیوانات: برای بررسی اثر طولانی مدت سولفات روی، حیوانات به مدت سه ماه به این روش تیمار شدند و در این مدت تغییرات وزن و میزان مصرف آب و غذای حیوانات به‌صورت روزانه ثبت گردید.

سنجش فعالیت آنزیمی: برای این کار و پس از اتمام مدت سه ماهه حیوانات پس از یک دوره گرسنگی ۱۲ ساعته با استفاده از دی‌اتیل‌اتر بی‌هوش شده و خون‌گیری از بطن چپ قلب آن‌ها انجام می‌شود. پس از گذشت زمان ۱۵ دقیقه نمونه های خونی با دور ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند و سرم حاصل به میکروتیوب منتقل و تا زمان انجام آزمایش‌ها در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. پس از آن فعالیت آنزیمی به روش اسپکتروفتومتری و با استفاده از کیت‌های خریداری شده از شرکت پارس آزمون (استاندارد انجمن بیوشیمی آلمان) مورد سنجش قرار گرفت.

تحلیل آماری: برای اطمینان از توزیع طبیعی داده‌ها آزمون کولموگروف-اسمیرنف روی نتایج انجام گردید و به منظور مقایسه داده‌های و تشخیص وجود یا عدم وجود تفاوت بین گروه‌های مختلف از آزمون تی مستقل وآنالیزهای واریانس انجام گردید. در تمام این مقایسه‌ها p کمتر از ۰/۰۵ به عنوان اختلاف معنی دار تلقی گردید و یافته های به دست آمده به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده است. تمام محاسبات به کمک نرم‌افزار SPSS 13 انجام شد. نمودارها به کمک نرم‌افزار اکسل رسم گردید. نتایج حاصل از سنجش میزان مصرف آب و غذا و نیز تغییرات وزن حیوانات در هر دو گروه کنترل و تیمار و در مدت سه ماهه به کمک تست‌های آماری از جمله تی تست و آنالیز واریانس یک‌طرفه و دوطرفه بررسی گردید.

نتایج

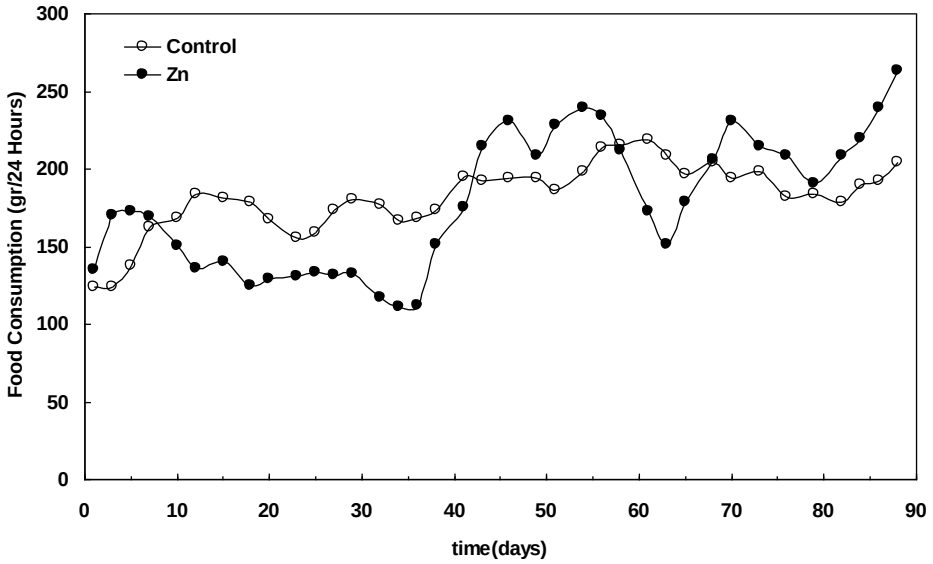
نتایج حاصل از این آنالیز که در جدول ۱ نشان داده می‌شود. همانطوریکه ملاحظه می‌شود مصرف طولانی مدت نمک روی باعث هیچگونه تغییر معنی‌دار در میزان مصرف غذا، آب یا وزن حیوانات نمی‌شود. تفاوت معنی‌داری بین دو گروه وجود ندارد. بنابراین مصرف نمک روی باعث تغییری در وزن حیوانات یا میزان مصرف آب و غذای آن‌ها ندارد. نتایج حاصل از تست همبستگی پیرسون نشان می‌دهد که هیچگونه همبستگی معنی‌دار بین آب و غذای مصرفی با تغییرات وزن حیوانات وجود ندارد و این بدین معناست که تغییرات وزن حیوانات تحت تأثیر میزان مصرف روزانه آب و غذا توسط حیوانات نداشته و صرفاً تحت مراحل مختلف تأثیر رشد طبیعی حیوان می‌باشد و متأثر از آنهاست (جدول ۲).

تنها مورد جالب توجه در این تست وجود همبستگی مثبت و معنی‌دار بین میزان آب مصرفی با غذای مصرفی اینکه در هر دو گروه با *p-value* کمتر یک صدم معنی می‌باشد و این یافته خود به این معنا است که هرقدر حیوانات غذای بیشتری مصرف کنند نیاز آن‌ها به آب هم بیشتر می‌شود که البته یک امر طبیعی است. برای اطمینان از عدم تأثیر یون‌های روی بر تغییرات وزن و میزان مصرف آب و غذا تست

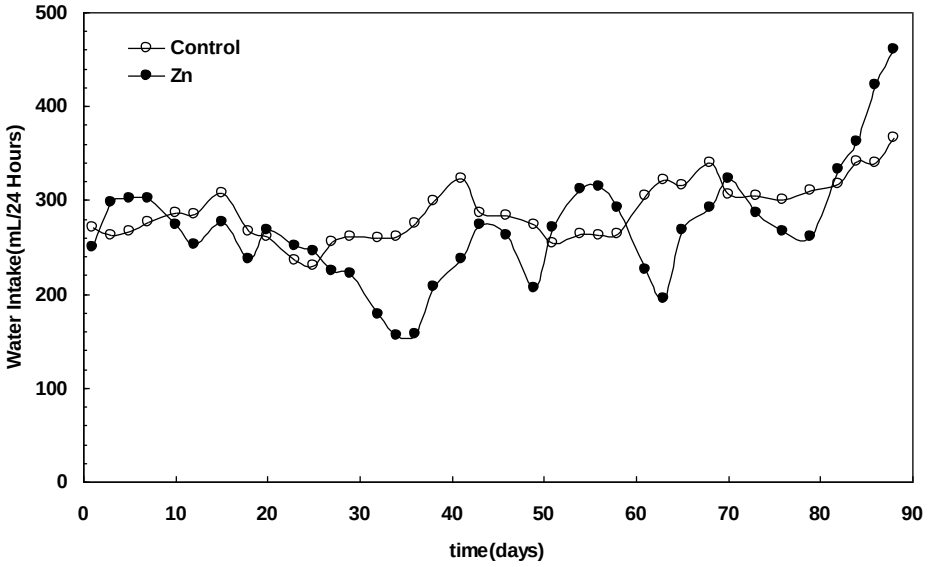
رگرسیون سه‌تائی انجام دادیم که بازهم این یافته تائید گردید و نشان داد که مصرف مکمل‌های روی باعث افزایش وزن یا افزایش مصرف غذا نمی‌شود. نتایج حاصل از سنجش‌های آنزیمی سرمی در دو گروه کنترل و تیمار در نمودارهای ٤ و ٥ و نیز جدول ٣ آمده است. همانطوری که از نمودار ٤ و جدول ٣ ملاحظه می‌شود مصرف نمک روی تاثیر چندانی بر میزان آنزیم سرمی LDH نداشته و میزان متوسط آنرا به میزان ٤/٥ درصد افزایش می‌دهد که این افزایش بر اساس نتایج حاصل از آزمون آنالیز واریانس معنی‌دار نمی‌باشد (p-value>٠/٠٥). این نمودارهمچنین نشان می‌دهد که میزان آنزیم آلکالین فسفاتاز در سرم گروه تیمار کاهش ١٠ درصدی نشان می‌دهد که این کاهش نیز از نظر آماری معنی دار نیست (جدول ٣).

نمودار ٤ و جدول ٣ اطلاعات بدست آمده از سنجش آنزیم‌هایی AST و ALT را نشان می‌دهد.

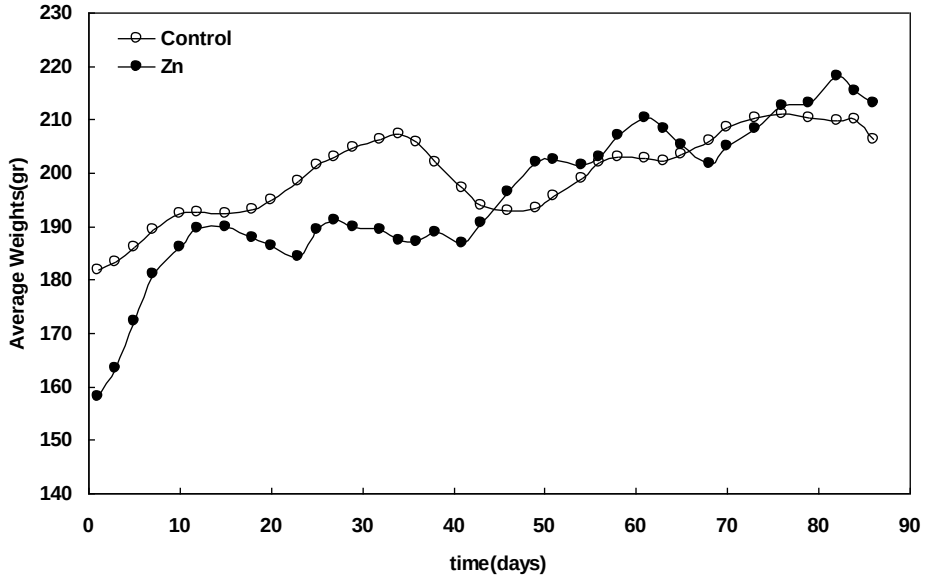
همانطوریکه ملاحظه می‌شود فعالیت آنزیم AST و ALT هر دو در اثر مصرف مکمل روی افزایش نشان می دهد. همانطوریکه ملاحظه می‌شود میزان افزایش AST تنها ١٩ درصد می‌باشد که این افزایش از نظر آماری معنی‌دار نیست (p-value>٠/٠٥). از طرف دیگر میزان آنزیم ALT در اثر مصرف مکمل روی بیش از دو برابر می‌شود و این نشان می‌دهد مصرف این مکمل باعث افزایش آزادسازی این آنزیم از بافت‌ها بویژه بافت کبد یا افزایش طول عمر این آنزیم در سرم می‌شود. این افزایش همانطوری که در جدول ٣ دیده می‌شود از نظر آماری معنی‌دار می‌باشد. بررسی همبستگی بین آنزیم میزان فعالیت آنزیم‌های AST و ALT در گروه کنترل و تیمار نشان می دهد که میزان فعالیت این دو آنزیم در سرم از هم مستقل بوده و هیچگونه همبستگی معنی‌دار بین میزان آنها وجود ندارد. بنابرین مصرف مکمل روی از این لحاظ باعث تغییر همبستگی نشده است. این یافته به این معنی است که مصرف مکمل روی همبستگی جدیدی بین این دو آنزیم ایجاد نکرده یا اینکه به فرض اگر بین این دو آنزیم در گروه کنترل همبستگی وجود دارد را برهم نمی‌زند و از این جهت آثار سوئی روی این دو آنزیم اعمال نخواهد کرد.



نمودار ١- میزان میانگین مصرف غذا برحسب گرم در ٢٤ ساعت در گروه‌های کنترل و تیمار طی مدت سه ماه



نمودار ۲- میزان میانگین مصرف آب برحسب میلی‌لیتر در ۲٤ ساعت در گروه‌های کنترل و تیمار طی مدت سه ماه



نمودار ۳- میزان تغییرات میانگین وزن حیوانات در هر دو گروه کنترل و تیمار طی مدت سه ماه تیمار

جدول ۱- تست آنالیز واریانس روی میزان آب و غذای مصرفی و نیز تغییرات وزن حیوانات در مدت سه ماهه

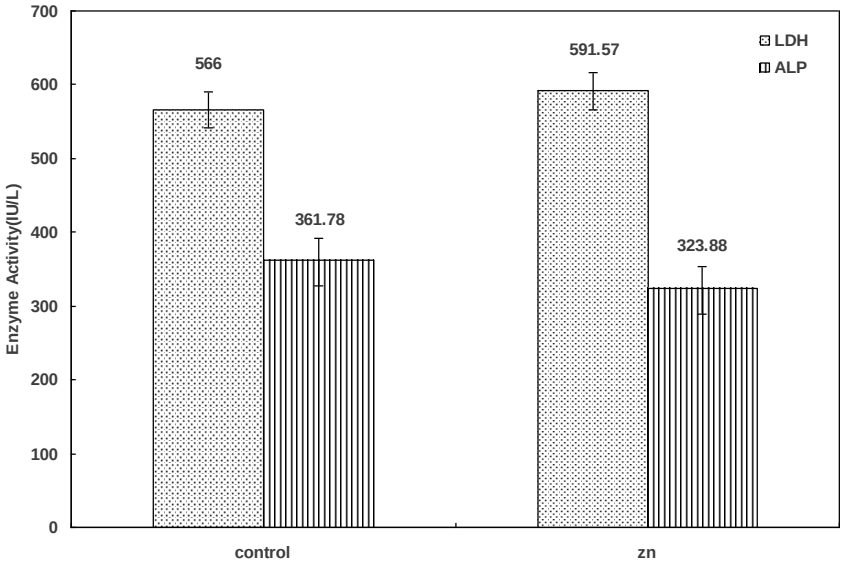
	گروه کنترل	گروه تیمار	p-value
میانگین آب مصرفی(میلی لیتر در ۲٤ ساعت)	۲۸۷/۷±۳۱/۵۷	۲٦۹/٤٦±٦۲	۰/۱۱
میانگین غذای مصرفی (گرم در ۲٤ ساعت)	۱۸۱/۷±۲٤/٤	۱۷۷/۷±٤۳/۸	۰/٦۲
وزن متوسط (گرم)	۱۹۵/۹٦±۲٤/۷	۱۹۱/۵۱±۲۵/۹	۰/٤۵

جدول ۲- تست همبستگی پیرسون روی داده‌های حاصل از میزان مصرف آب، غذا و وزن حیوانات در دوره سه ماهه

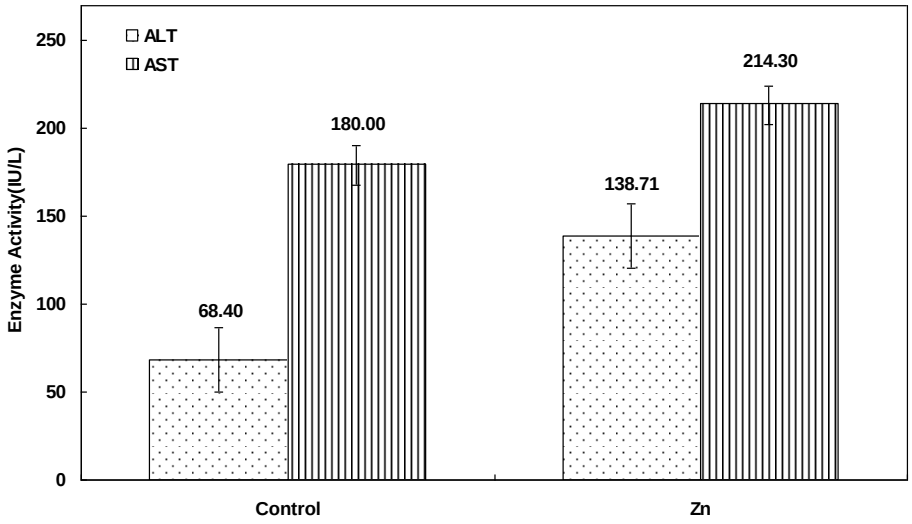
	گروه کنترل (p-value)	گروه تیمار (p-value)
همبستگی بین وزن وآب	۰/۰۰۸ (/۰۹٦)	۰/۰۲(/۸۹)
همبستگی بین وزن وغذا	-۰/۲۹ (/۰۷)	-۰/۲۹ (/۰۷)
همبستگی بین آب و غذا	۰/٤۷ (/۰۰۳)	۰/۷۳(/۰۰۱)

جدول ۳- سنجش آنزیم‌های سرمی در دو گروه کنترل و تیمار پس از گذشت سه ماه

آنزیم مورد سنجش	گروه کنترل	گروه تیمار	p-value
AST	۱۸۰±۱۸/۲	۲۱٤±۵۰/۲	۰/۱٤
ALT	٦۸/٤±۵/۵	۱۳۸/۷۱±۱۱	۰/۰۲
LDH	۵٦٦±۳۰/۸	۵۹۱/۵۷±۳۰/٤	۰/۰٦
ALP	۳٦۱/۷۸±۲۵/۲۷	۳۲۳/۸۸±۲۵/٤	۰/۰۵٦



نمودار٤- سنجش فعالیت آنزیم‌های سرمی آلکالین‌فسفاتاز (ALP) و لاکتات دهیدروژناز (LDH) گروه کنترل و تیمار در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و pH خنثی



نمودار۵- فعالیت آنزیم‌های سرمی AST و ALT در گروه کنترل و تیمار در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و pH خنثی

بحث

مطالعه حاضر به منظور مطالعه اثر طولانی مدت مکمل روی بر آنزیم‌های کبدی در دو گروه کنترل و تیمار انحام شد. مطالعه حاضر نشان می‌دهد که آنزیم آلکالین‌فسفاتاز که یک آنزیم کبدی است و وظیفه هیدرولیز فسفات‌های آلی را در pH قلیایی را برعهده دارد یک آنزیم وابسته به یون روی است. میزان این آنزیم در سرم شاخصی از بیماری‌ها کبدی واستخوانی است که به دلیل آسیب بافتی ایجاد شده مقدار آن در سرم افزایش می‌یابد. نتایج ما نشان می‌دهد که این آنزیم در حضور مکمل روی به میزان متوسط ۱۰ درصد کاهش می‌یابد هرچند که این کاهش از نظر آماری معنی‌دار نمی‌باشد (۳، ۱۰).

مطالعات انجام شده در این زمینه توسط چویانگو و همکاران (٤) نشان می‌دهد که میزان فعالیت سرمی آنزیم آلکالین فسفاتاز در اثر کمبود روی کاهش می‌یابد که با یافته ما مغایر است ولی با یافته دان و همکاران همخوانی دارد (۵).

لاکتات‌دهیدروژناز یک آنزیم اکسیدوردوکتاز بوده که تبدیل لاکتات به پیرووات و بالعکس را انجام می‌دهد. این آنزیم یک متالوآنزیم وابسته به فلز روی می‌باشد که به مقدار کم در بدن سنتز می‌شود و میزان سنتز آن بشدت تحت تاثیر میزان روی در دسترس می‌باشد (٦، ۱۱، ۱۹، ۲۱).

منبع اصلی LDH سرمی گلبول‌های قرمز، پانکرانس و کبد می‌باشند. کمبود روی باعث کاهش طول عمر گلبول‌های قرمز و افزایش میزان همولیز آنها می‌شود لذا باعث افزایش LDH سرمی می‌شود. از طرف دیگر روزبه و همکاران (۱۷) و نیز ملانتورا و همکاران (۱۲) نشان دادند که کمبود روی از طریق افزایش استرس اکسیدایتو باعث همولیز گلبول‌های قرمز می‌شود. از این رو انتظار می‌رود که مصرف مکمل روی اثر معنی‌داری در افزایش میزان LDH سرمی نداشته باشد. یافته‌های ما این مسأله را تائید می‌کنند به این معنی که مصرف مکمل روی در این کار پژوهشی اثر معنی‌داری روی مقدار LDH سرمی ندارد. عدم افزایش آنزیم LDH در این مطالعه نشان می دهد که مصرف مکمل هیچگونه آسیبی در بافت‌های کبد، پانکراس و گلبول‌های قرمز ایجاد نمی‌کند که این

یافته با سایر یافته‌های ما در خصوص آلکالین فسفاتاز و دیگر آنزیم‌های کبدی همخوانی کامل دارد.

آمینوترانسفرازها آنزیم‌های بسیار مهم کبدی هستند که در متابولیسم اسیدهای آمینه و انتقال گروه آمین بین یک اسید آمینه و یک آلفا کتواسید نقش دارند. از بین این آنزیم‌ها دو آنزیم آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آسپاراتات آمینو ترانسفراز (AST) از نظر میزان فعالیت اهمیت فوق العاده بیشتری دارند. وجود آنزیم های ALT و AST در سرم و افزایش فعالیت آنها عمدتاً ناشی از وجود آسیب در سلول‌های پارانشیم کبد اتفاق می‌باشند لذا از آنها برای تشخیص اختلالات کبدی استفاده می شود. دیده شده که کمبود مزمن روی سبب افزایش میزان این آنزیم‌ها در سرم می‌شود (۱۸).

نتایج بدست آمده از این تحقیق نشان می‌دهد که مصرف مدت طولانی سولفات روی اثر معنی‌داری روی AST سرمی ندارد در حالیکه مقدار آنزیم ALT به مقدار قابل ملاحظه افزایش می دهد که این یافته ما با نتایج بدست آمده توسط مختاری و همکاران همخوانی دارد. این افراد مشخص کردند که دوز بالا و حاد سولفات روی باعث آسیب غشا پلاسمایی سلول-های کبدی و افزایش آنزیم‌های AST و ALT در سرم موش‌های صحرائی می‌شود (۱۵). البته گزارشاتی هم در رد این یافته‌ها وجود دارد که کمبود روی هم در انسان و هم در سایر حیوانات باعث افزایش فعالیت این آنزیم‌های کبدی می‌شود (۲۱). افزایش حاد یا مزمن نمک‌های روی در بدن نیز می‌تواند عوارض ناخواسته‌ای به دنبال داشته باشد. بر اساس گزارشات متعدد موجود مانند گزارش مختاری (۱۵) مصرف حاد و در غلظت بالای مکمل‌های روی می-تواند آسیب‌های بافتی بدنبال داشته باشد ولی بر اساس نتایج ما مصرف مزمن این مکمل‌ها بنظر می-رسد که آسیب بافتی جدی بدنبال نداشته باشد.

نتیجه‌گیری

بر اساس یافته‌های بدست آمده از این تحقیق و گزارشات متناقضی موجود در این زمینه می‌توان اینگونه استنتاج کرد که فلز روی یکی از فلزات بسیار ضروری برای بدن بوده که کمبود آن می‌تواند از طریق فعال کردن فرآیندهای استرس اکسیداتیو متابولیسم طبیعی بافت‌ها بویژه بافت‌هایی که در متابولیسم بدن نقش بیشتری دارند مانند کبد و پانکراس یا سلول-هایی که بیشتر در معرض استرس اکسیداتیو قرار دارند مانند گلبول‌های قرمز، هموستاز آنها را بهم زده و به تخریب برخی از سلول‌های آن بافت بیانجامد که باعث افزایش این آنزیم‌ها در سرم شود.

از بین چهار آنزیم مورد سنجش فعالیت سه آنزیم از آنها یعنی آلکالین فسفاتاز، لاکتات دهیدروژناز و آسپاراتات آمینوترانسفراز در سرم تغییر معنی‌داری نکرده است و تنها فعالیت، آلانین آمینوترانسفراز افزایش معنی‌داری نشان می‌دهد. بالا بودن میزان این آنزیم می‌تواند در اثر وقوع آسیب بافتی یا در اثر افزایش طول عمر این آنزیم در سرم در اثر غلظت بالای روی استفاده شده باشد بدون اینکه آسیب بافتی واقع شده باشد.

منابع

1. Asri-Rezaei S., Tamaddonfard E., Ghasemsoltani-Momtaz B., Erfanparast A. , Gholamalipour S., 2015. Effects of crocin and zinc chloride on blood levels of zinc and metabolic and oxidative parameters in streptozotocin-induced diabetic rats. *Phytomedicine*, 5(5):403

2. Cai L., Li X.K., Song Y., Cherian M.G., 2005. Essentiality, toxicology and chelation therapy of zinc and copper. *Current medicinal chemistry*, 12(23):.2753-2763

3. Chevalier C.A., Liepa G., Murphy M.D., Suneson J., VanBeber A.D., Gorman M.A,. Cochran C., 2002. The effects of zinc supplementation on serum zinc and

dehydrogenase-A gene. *Cell biology international reports*, 13(7): 619-624

12. Malhotra A. , Dhawan D.K., 2008. Zinc improves antioxidative enzymes in red blood cells and hematology in lithium-treated rats. *Nutrition research*, 28(1): 43-50

13. Maret W., 2000. The function of zinc metallothionein: a link between cellular zinc and redox state. *The Journal of nutrition*, 130(5): 1455S-1458S

14. Mocchegiani E., Muzzioli M. , Giacconi R., 2000. Zinc and immunoresistance to infection in aging: new biological tools. *Trends in Pharmacological Sciences*, 21(6): 205-208

15. Mokhtari M., Shariati M., Goshmandi N., 2005. Effects of zinc on the concentration of thyroid hormones and liver enzymes in male rats. *Zanjan jornal of research in medical sciences*, 13(51):7-12

16. Plum L.M., Rink L., Haase H., 2010. The essential toxin: impact of zinc on human health. *International journal of environmental research and public health*, 7(4): 1342-1365

17. Roozbeh J, Sharifian M., Karimi M., Hamidian Jahromi AR., Afshariani R.,2009. Effect of zinc supplementation on red blood cell osmotic fragility in hemodialysis patients. *Shiraz Journal of Medical Sciences*, 10(4):186-189

18. Sirat sabet M., shir ouzhan sllakhouri PS. ,2007. Effects of electromagnetic field with 25,50 and100 hz frequency on serum alanine transaminase and Aspartate transaminase activity in mice. *Zahedan jornal of research in medical sciences*, 9(3):163-170

19. Tanada S., Higuchi T., Nakamura T., Imaki M., Matsumoto K., Miyoshi T., 1993. Evaluation of exercise intensity indicated by serum lactate dehydrogenase activity in healthy adults. *Acta Biologica Hungarica*, 44(2-3): 153-160

cholesterol concentrations in hemodialysis *patients. Renal Nutrition*, 12(3):183-189

4. Cho Y.E., Lomeda R.A.R., Ryu S.H., Sohn H.Y., Shin H.I., Beattie J.H. ,Kwun, I.S., 2007. Zinc deficiency negatively affects alkaline phosphatase and the concentration of Ca, Mg and P in rats. *Nutrition research and practice*, 1(2):.113-119

5. Dean R.L., 2002. Kinetic studies with alkaline phosphatase in the presence and absence of inhibitors and divalent cations. *Biochemistry and Molecular Biology Education*, 30(6): 401-407

6. Derouiche S., Kechrid Z., 2016. Zinc Supplementation Overcomes Effects of Copper on Zinc Status, Carbohydrate Metabolism and Some Enzyme Activities in Diabetic and Nondiabetic Rats. *Canadian journal of diabetes*, 40(4):.342-347

7. Devi T., Hijam D., Dubey A., Debnath S., Oinam P., Devi N.G, Singh G., 2016. Study of Serum Zinc and Copper Levels in Type 2 Diabetes Mellitus. *International Journal of Contemporary Medical Research*, 3:1036-1040

8. El Hendy H.A., Yousef M.I, El-Naga N.I.A., 2001. Effect of dietary zinc deficiency on hematological and biochemical parameters and concentrations of zinc, copper, and iron in growing rats. *Toxicology*, 167(2): 163-170

9. Goldhaber S.B., 2003. Trace element risk assessment: essentiality vs. toxicity. *Regulatory toxicology and pharmacology*, 38(2):.232-242

10. Jahromi ES., Jahromi SZ., Jahromi HK.,2014. Histopathological investigation of the effect of alkaline phosphatase on adult male rats' liver tissue based on enzyme inhibition. *Journal of Jahrom University of Medical Sciences*, 12(3):59-65

11. Li S.S.L., Hou E.W., 1989. Estrogen-induced expression of mouse lactate

20. Vakili R., Yazdan Bakhsh M., Vahedian M., Mahmoudi M., Saeidi M. , Vakili S., 2015. The Effect of Zinc Supplementation on Linear Growth and Growth Factors in Primary Schoolchildren in the Suburbs Mashhad, Iran. *International Journal of Pediatrics*, 3(2.1):1-7

21. Zhang L., Buchet R., Azzar G., 2004. Phosphate binding in the active site of alkaline phosphatase and the interactions of 2-nitrosoacetophenone with alkaline phosphatase-induced small structural changes. *Biophysical journal*, 86(6): 3873-3881.