

Antioxidant Effects of Defrasirox, Defpropyrene, and Their Combination on Lead-Induced Nitro-Oxidative Stress in Male Rats

Somaye Keshavarz¹,

Maryam Owjifard²,

Narges Karbalaeei³

¹ Assistant Professor, Department of Physiology, School of Medicine, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

² PhD in Physiology, Clinical Neurology Research Center, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

³ Associate Professor, Histomorphometry and Stereology Research Center, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

(Received May 8, 2023 ; Accepted June 28, 2023)

Abstract

Background and purpose: Lead poisoning induces oxidative stress and causes disorders in several organs. Iron-chelating drugs can form a complex with toxic metals such as lead and lower their content in the blood and tissues. This study aims to examine the antioxidant effects of Deferasirox, Deferiprone, and their combination in rats with subchronic lead exposure.

Materials and methods: In this interventional study, lead poisoning was induced in Sprague-Dawley male rats by gavage administration of 30 mg/kg lead acetate for 60 days. The animals were treated with Deferasirox (140 mg/kg), Deferiprone (300 mg/kg), and their combination through oral gavage from days 47 to 60 of the experiment (14 days). Lead concentration was measured by flame atomic absorption spectroscopy. We examined malondialdehyde (MDA) level, nitric oxide metabolites (NOx) as nitro-oxidative stress markers, glutathione (GSH), and total antioxidant capacity (TAC) in the blood, brain, liver, kidney, and testis. Data analysis was performed in Graphpad Prism software applying one-way variance analysis and Tukey's test.

Results: Lead poisoning increased the concentration of this metal and nitro-oxidative stress and decreased the TAC and GSH in the brain, liver, kidney, and testis ($P < 0.05$). Alone or in combination, Defpropyrene and Defrasirox lowered the lead content in the blood and tissues of rats. In addition, treatment with these two chelators resulted in drops in MDA and NOx levels and increase in TAC and GSH levels ($P < 0.05$), although these effects were most pronounced when the medicines were administered together.

Conclusion: In addition to their antioxidant properties, it seems that Defpropyrene and Defrasirox have synergistic effects in lowering lead content in blood and other tissues.

Keywords: lead, oxidative stress, deferopyron, deferasirox

J Mazandaran Univ Med Sci 2023; 33 (223): 11-24 (Persian).

Corresponding Author: Narges Karbalaeei - School of Medicine, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran.
(E-mail: karbalaeei@sums.ac.ir)

اثرات آنتی اکسیدانی دفراسیروکس و دفریپرون به تنهایی یا ترکیبی بر استرس نیترو-اکسیداتیو القایی سرب در موش‌های صحرایی

سمیه کشاورز¹

مریم اوج فرد²

نرگس کربلایی³

چکیده

سابقه و هدف: مسمویت با سرب از طریق القای استرس اکسیداتیو منجر به اختلال در بسیاری از ارگان‌ها می‌شود. داروهای کیلیتورکننده آهن می‌توانند با تشکیل کمپلکس با فلزات توکسیک مثل سرب، غلظت آن را در خون و بافت‌ها کاهش دهند. هدف از این مطالعه بررسی اثرات آنتی اکسیدانی دفراسیروکس و دفریپرون به تنهایی یا ترکیبی بر سمیت مزمن ناشی از سرب در موش‌های صحرایی است.

مواد و روش‌ها: مطالعه حاضر از نوع مطالعه مداخله‌ای بود که مسمویت با سرب در موش‌های صحرایی نر نژاد اسپراگوداولی با خوردن استات سرب به میزان 30mg/kg طی 60 روز به صورت گاواژ القا شد. حیوانات با دفراسیروکس (140mg/kg)، دفریپرون (300mg/kg) و ترکیب آن دو از طریق گاواژ خوراکی، از روزهای 47 تا 60 آزمایش به مدت 14 روز تیمار شدند. غلظت سرب به روش اسپکتروسکوپی جذب اتمی شعله و سطح مالون‌دی‌آلدئید (MDA) و متابولیت‌های اکسیدانتریک (NOx) به‌عنوان پارامترهای استرس نیترو-اکسیداتیو و متابولیت آنتی اکسیدان گلوتاتیون (GSH) و ظرفیت تام آنتی اکسیدانی (TAC) در خون، مغز، کبد، کلیه و بیضه بررسی شد. جهت بررسی آماری نتایج از نرم‌افزار گراف پد پریم و آنالیز واریانس یک طرفه به همراه تست Tukey استفاده شد.

یافته‌ها: مسمویت با سرب باعث افزایش غلظت این فلز، استرس نیترو-اکسیداتیو و کاهش ظرفیت تام اکسیدانی و GSH در خون و بافت‌های مغز، کبد، کلیه و بیضه شد ($P < 0/05$). تجویز کیلیتورهای دفریپرون و دفراسیروکس به‌صورت مجزا یا ترکیبی، سبب کاهش غلظت سرب در خون و بافت‌های حیوانات شد. هم‌چنین تجویز این دو کیلیتور منجر به کاهش سطوح MDA و NOx و افزایش TAC و سطح GSH شد ($P < 0/05$)، اما بیش‌ترین میزان این تغییرات با مصرف همزمان هر دو دارو به‌دست آمد.

استنتاج: دو داروی دفریپرون و دفراسیروکس در کاهش غلظت سرب در خون و بافت‌های مختلف و هم‌چنین تاثیرات آنتی اکسیدانی خود، اثرات هم‌افزا با یکدیگر دارند.

واژه‌های کلیدی: سرب، استرس اکسیداتیو، دفریپرون، دفراسیروکس

مقدمه

سازمان بهداشت جهانی و سازمان حفاظت محیط زیست ایالات متحده به‌عنوان یک آلاینده مهم و یک نگرانی

سرب یکی از مهم‌ترین فلزات سنگین مشهور سمی و یکی از آلاینده‌های زیست محیطی است که توسط

E-mail: karbalai@sums.ac.ir

مؤلف مسئول: نرگس کربلایی - شیراز، خیابان زند، دانشکده پزشکی، ساختمان شماره 3، گروه فیزیولوژی

1. استادیار، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران

2. دکترای فیزیولوژی، مرکز پژوهشی نورولوژی بالینی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران

3. دانشیار، مرکز تحقیقات هیستومورفومتری و استریولوژی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران

تاریخ دریافت: 1402/2/18 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: 1402/2/31 تاریخ تصویب: 1402/4/7

می تواند یک داروی موثر برای دفع فلزات سنگین باشد (8). کیلیتورهای مانند دفریپرون و دفراسیروکس به دلیل میل ترکیبی بالا برای آهن به عنوان یک پاک کننده برای آن به شمار می آیند و برای درمان مسمومیت حاد با آهن در بیماری هایی چون هموکروماتوز و تالاسمی استفاده می شود (16). در چندین مطالعه، اثرات مفید این کیلیتورها در دفع فلزات سنگینی چون کادمیوم، سرب، آرسنیک و تالیوم از بافت های مختلف بدن، نشان داده شده است (17-20). داهویی و همکاران نشان دادند که مصرف دو داروی دفریپرون و دفراسیروکس به مدت ده روز توانسته باعث حذف سرب از بافت هایی چون قلب، طحال، کبد، روده و کاهش علائم سمیت در بدن شوند (17). یک مطالعه نیز نشان داد که مصرف دفراسیروکس به مدت دو هفته به طور معنی داری سطح خونی سرب را کاهش و سطح خونی آهن را به مقدار طبیعی افزایش داد (21). هم چنین مطالعاتی اثرات آنتی اکسیدانی کیلیتورها در کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از فلزات سنگین و سمی را نیز گزارش کردند (8). در یک مطالعه نشان داده شده است که دفراسیروکس به تنهایی یا با ترکیب با گلیسین باعث کاهش سطح خونی پارامترهای استرس اکسیداتیو ناشی از کادمیوم شد (22). هم چنین نشان داده شده است که دفریپرون تولید رادیکال های هیدروکسیل و استرس اکسیداتیو ناشی از مسمومیت با مس را کاهش داده است (23). یک درمان موثر برای اختلالات ناشی از مسمومیت با سرب، می تواند استفاده از داروهایی باشد که از دو عملکرد، یکی کیلیت کردن سرب و دیگری اثرات آنتی اکسیدانی، برخوردار باشند و به نظر می رسد که این دو کیلیتور هر دو ویژگی را دارا هستند. از آنجایی که تا کنون اثرات آنتی اکسیدانی این دو کیلیتور به تنهایی یا به صورت ترکیبی در موش های مسموم شده با سرب مورد بررسی قرار نگرفته است، بنابراین هدف از این مطالعه بررسی اثرات دو داروی دفریپرون و دفراسیروکس به صورت مجزا و ترکیبی در کاهش استرس نیترو- اکسیداتیو در حیواناتی است که در معرض

عمده در سلامت عمومی در نظر گرفته شده است که بیش تر ارگان ها در صورت مواجه شدن بدن با غلظت های بالای سرب در خطر بروز مسمومیت با آن هستند (2،1). امروزه به دلیل کاربرد فراوان سرب در صنعت، خروج سرب از آگروز خودروها، جذب سرب توسط گیاهان و یا ریخته شدن به منابع آبی، قرار گرفتن انسان را در معرض این فلز افزایش داده است (3). قرار گرفتن در معرض طولانی مدت سرب باعث انباشته شدن سرب در بافت ها می شود و بر روی ارگان و سیستم های مختلف بدن آثار زیان باری می گذارد (2،1)، چنان که باعث کوتاهی قد و کاهش رشد در کودکان و آسیب های کلیوی، اختلالات گوارشی، آسیب های جدی دستگاه عصبی، استئوپوروز و ایجاد تومور دستگاه تناسلی در بزرگسالان می شود (4،1-6). همچنین این عنصر از طریق جایگزین شدن به جای آهن در هموگلوبین باعث کم خونی نیز می شود (7). استرس اکسیداتیو یکی از مهم ترین مکانیسم های مولکولی است که می تواند زمینه ساز اختلالات ناشی از سمیت فلزات سنگین باشد که در نتیجه عدم تعادل بین تولید و حذف گونه های فعال اکسیژن (ROS) در بافت ها و اجزای سلولی است که باعث آسیب به غشای سلولی، DNA و پروتئین ها می شود (8). گزارش شده است که سرب با تولید ROS و پراکسیدهای لیپیدی باعث استرس اکسیداتیو می شود که نقش مهمی را در پاتوفیزیولوژی اختلالات ناشی از سمیت این فلز توکسیک در ارگان های مختلف دارد (9). مطالعات نشان داده اند که سرب منجر به آسیب اکسیداتیو در ارگان هایی چون مغز (10)، کبد (11)، کلیه و بیضه (12،13) می شود. هم چنین یکی از دلایل اختلال عملکرد و آسیب بافتی ناشی از سمیت سرب را اختلال در تولید نیتریک اکسید (NO) می دانند که در فرایندهای فیزیولوژیک و پاتولوژیک سلول دخالت دارد (14،15). امروزه از کیلیتورها در علم پزشکی در درمان بیماری های ناشی از سمیت فلزات سنگین یا ترکیبات شیمیایی توکسیک استفاده می شود. یک کیلیتور با سمیت کم، توانایی نفوذ به غشای سلولی، حلالیت بالاتر و حذف سریع فلز سمی

مسمومیت با سرب قرار گرفته‌اند. بدین منظور در این مطالعه غلظت‌های MDA به عنوان شاخصی از پراکسیداسیون لیپیدی، متابولیت‌های نیتریک اکسید (NOx)، GSH و ظرفیت تام آنتی اکسیدانی در خون و ارگان‌های مختلف مانند مغز، کبد، کلیه و بیضه مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

مواد

استات سرب از سیگما (سیگما، Lot N:3451)، داروهای دفراسیروکس و دفریپرون از شرکت نواریس (بازل، سوئیس)، کیت‌های تجاری GSH و TAC از کمپانی زل بیو آلمان و سایر مواد از شرکت مرک (مرک، آلمان) خریداری شد.

حیوانات مورد مطالعه

در این مطالعه که از نوع مداخله‌ای تجربی بود، 35 سر موش آزمایشگاهی نر از نژاد Sprague-Dawley در محدوده وزنی 230-200 گرم انتخاب شدند و در شرایط استاندارد با رطوبت نسبی $6 \pm 20\%$ دمای 3 ± 22 درجه سانتی‌گراد و چرخه روشنایی-تاریکی 12 ± 3 ساعت نگهداری شدند. همه حیوانات آزادانه به آب و غذا دسترسی داشتند و استانداردهای لازم اخلاقی در مورد طرز کار با حیوانات آزمایشگاهی که مورد تایید کمیته اخلاق و تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی شیراز است (IR.SUMS.MRD.REC.1395.S236)، رعایت شد.

گروه‌بندی حیوانات مورد مطالعه

پس از سازگاری با محیط آزمایشگاه، حیوانات به صورت تصادفی به 5 گروه (دو گروه 7 سر موش) تقسیم شدند که شامل گروه کنترل (Control) که به مدت 60 روز نرمال سالین را به صورت گاوآژ مصرف می‌کردند، گروه دریافت کننده استات سرب (Pb) که حیوانات این گروه محلول استات سرب با غلظت 30 mg/kgBW به صورت گاوآژ دریافت می‌کردند (24) و سه گروه درمانی که شامل حیوانات مسموم شده با

سرب بودند که از روزهای 47 تا 60 آزمایش به مدت دو هفته از داروهای دفراسیروکس به تنهایی با غلظت 140 mg/kgBW (Pb+DFX)، دفریپرون به تنهایی با غلظت 300 mg/kgBW (Pb+DFP) و ترکیب دفریپرون و دفراسیروکس را با نصف غلظت از هر کدام (Pb+DFX+DFP) به صورت گاوآژ دریافت می‌کردند (18). طی مدت 60 روز مطالعه، وزن حیوانات به صورت هفتگی اندازه‌گیری می‌شد. در پایان آزمایش، حیوانات با تزریق کتامین (80 میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (10 میلی‌گرم بر کیلوگرم) به طور عمیق بیهوش شدند. سپس 2 تا 3 میلی‌لیتر نمونه خون از قلب گرفته و سانتریفیوژ شد، پلاسما جدا و در دمای -80 درجه سانتی‌گراد منجمد شد تا بعداً جهت اندازه‌گیری غلظت سرب و پارامترهای استرس اکسیداتیو مورد استفاده قرار گیرد. پس از خونگیری، حیوانات بسیار سریع کشته شده و نمونه‌های بافت مغز، کبد، کلیه و بیضه جدا و با نرمال سالین سرد شسته شدند. سپس با استفاده از هموزنایزر، بافت‌های موردنظر در محلول بافر فسفات (PH=7) هموزن شدند و مایع هموزن در دور 6000g به مدت 10 دقیقه در 4 درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ و مایع رویی برای اندازه‌گیری غلظت سرب و پارامترهای استرس اکسیداتیو جدا شد و تا زمان انجام آزمایش در فریزر -80 نگهداری شد.

اندازه‌گیری متابولیت‌های NO (NOx) در پلاسما و بافت

با توجه به آن که NO در بدن بلافاصله با اکسیژن ترکیب شده و ترکیبات نیتريت (NO₂) و نیترات (NO₃) را به وجود می‌آورد، برای ارزیابی NO میزان کل نیتريت و نیترات (متابولیت‌های NO یا NOx) در سرم خون و بافت‌ها با روش رنگ‌سنجی گریس (Griess) اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری غلظت پلاسمایی و بافتی مالون‌دی‌آلدئید (MDA)

تعیین پراکسیداسیون لیپیدی با اندازه‌گیری میزان MDA در پلاسما و بافت‌های هموزنیزه با استفاده از روش کالریمتری TBARS انجام شد. اساس واکنش

یافته‌ها

اثرات دفراسیروکس و دفریپرون بر وزن بدن اثرات مسمومیت ناشی از استات سرب و تاثیر دو داروی کیلیتور به صورت مجزا و ترکیب آن دو با هم بر وزن بدن مورد بررسی قرار گرفت. همان‌طور که در جدول شماره 1 مشاهده می‌شود هیچ‌گونه تفاوت معنی‌داری در وزن بدن بین گروه‌های مختلف در شروع آزمایش وجود نداشت. اما در پایان دوره 60 روزه آزمایش تفاوت معنی‌داری بین گروه دریافت‌کننده سرب با گروه کنترل از نظر وزن نهایی مشاهده شد. چنانچه درصد رشد وزنی در این گروه کم‌تر از گروه کنترل بود ($p < 0/01$). هم‌چنین تنها در گروه Pb+DFX و گروه Pb+DFX+DFP کاهش وزن جبران شده بود و تفاوتی از نظر وزن نهایی و درصد تغییرات وزنی بین این دو گروه و گروه کنترل مشاهده نشد. اما بین گروه‌های کنترل و Pb+DFP تفاوت معنی‌داری از نظر وزن نهایی و درصد تغییرات وزنی وجود داشت ($P < 0/05$).

جدول شماره 1: وزن بدن و درصد تغییرات وزنی در گروه‌های

مختلف آزمایشی

گروه‌های آزمایشی	وزن اولیه (گرم)	وزن نهایی (گرم)	درصد تغییرات وزنی
Control	219/29 ± 4/09	312/71 ± 6/28	43/07 ± 4/78
Pb	224/57 ± 3/51	271/43 ± 6/21	**21/09 ± 3/62
Pb+DFX	223/71 ± 4/61	295/43 ± 3/96	32/38 ± 3/13
Pb+DFP	222/29 ± 4/10	280/57 ± 6/62	* 26/53 ± 4/03
Pb+ DFX+DFP	220/28 ± 4/61	# 301/14 ± 6/36	36/98 ± 3/51

نتایج به صورت میانگین ± خطای استاندارد بیان شده است.

* $P < 0/05$ ، ** $P < 0/01$ نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری با گروه Control،

$P < 0/05$ نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار با گروه Pb است.

تعداد حیوانات در هر گروه 7 سر می‌باشد.

اثرات دفراسیروکس و دفریپرون بر غلظت سرب در بافت همان‌طور که در جدول شماره 2 نشان داده شده است، غلظت سرب در بافت‌های مختلف در گروه Pb در مقایسه با گروه کنترل به صورت معنی‌داری بالاتر می‌باشد. پس از مصرف دفراسیروکس و دفریپرون هم به صورت مجزا و هم به صورت ترکیبی، غلظت سرب

به این صورت است که MDA با معرف تیوبایتوریک اسید (TBA) کمپلکسی رنگی ایجاد می‌کند که میزان جذب نوری آن در طول موج 532 نانومتر خوانده می‌شود.

تعیین ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی (TAC) و میزان GSH در پلاسما و بافت

ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی (TAC) و هم‌چنین متابولیت آنتی‌اکسیدان گلو‌تاتیون (GSH) در پلاسما و بافت‌ها با استفاده از کیت‌های مربوطه و براساس دستورالعمل انجام گرفت. اساس اندازه‌گیری TAC بر مبنای احیای Fe^{3+} به Fe^{2+} توسط ترکیبات آنتی‌اکسیدانی است که به روش رنگ‌سنجی در طول موج 593 نانومتر توسط میکروپلیت ریدر اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری GSH بر اساس واکنش گروه‌های سولفیدریل GSH با معرف Ellman یا DTNB و تولید ماده زرد رنگی به نام TNB است که با اندازه‌گیری جذب نوری TNB در طول موج 412 نانومتر می‌توان غلظت گلو‌تاتیون را به‌طور دقیق محاسبه نمود.

اندازه‌گیری غلظت سرب در پلاسما و بافت

غلظت سرب در پلاسما و بافت‌ها با روش flame atomic absorption spectrometry اندازه‌گیری شد و غلظت سرب بر حسب میکروگرم در هر گرم وزن خشک بافت‌ها و میکروگرم در هر لیتر پلاسما محاسبه شد.

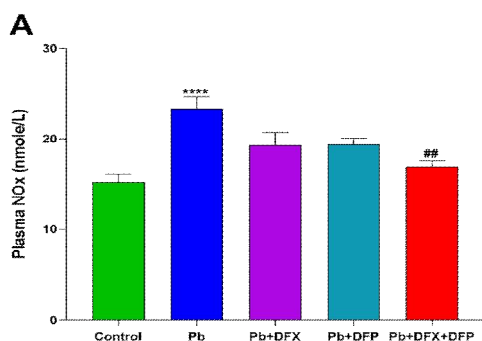
تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

به منظور بررسی نتایج از نرم افزار آماری (GraphPad Prism version 9, California USA) استفاده شد. برای ارزیابی تغییرات متغیرهای بین گروه‌های مورد مطالعه، از آنالیز واریانس یک طرفه به همراه تست Tukey استفاده شد. تمامی نتایج به صورت میانگین ± خطای استاندارد بیان شد. مقادیر $P < 0/05$ از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

در بافت مغز در هر سه گروه مسموم شده با سرب دریافت کننده دفراسیروکس و دفریپرون به تنهایی و به صورت ترکیبی با هم، نسبت به گروه Pb معنی دار شد چنان که غلظت NOx به حد کنترل نزدیک شد (نمودار شماره 1-B).

مصرف داروی دفراسیروکس و دفریپرون غلظت NOx را در بافت کبد، در هر سه گروه Pb+DFX، Pb+DFP و Pb+DFX+DFP به طور قابل توجهی کاهش داد، به صورتی که این گروه‌ها تفاوت معنی داری را با گروه کنترل ندادند (نمودار شماره 1-C). غلظت NOx در بافت کلیه گروه‌های دریافت کننده دفراسیروکس و دفریپرون کاهش معنی داری را نسبت به گروه Pb نشان داد، اما غلظت NOx فقط در گروه Pb+DFX+DFP به حد کنترل نزدیک شد و دو گروه Pb+DFP، Pb+DFX هم چنان تفاوت معنی داری را با گروه کنترل داشتند (نمودار شماره 1-D).

مصرف دو داروی دفراسیروکس و دفریپرون منجر به کاهش غلظت NOx در بافت بیضه شد که این کاهش فقط در دو گروه Pb+DFX و Pb+DFX+DFP نسبت به گروه Pb معنی دار بود. تفاوت معنی داری در غلظت NOx بافت بیضه هر سه گروه دریافت کننده دفراسیروکس و دفریپرون با گروه کنترل مشاهده شد (نمودار شماره 1-E). قابل ذکر است که کاهش غلظت NOx در پلاسما و بافت‌ها در گروهی از حیوانات که توسط دو دارو درمان شده بودند بیش تر از دو گروهی بود که هر کدام از آن‌ها را به تنهایی دریافت کرده بودند.



در بافت‌های مورد مطالعه به طور قابل توجهی کاهش یافته است، چنان که در بیش تر بافت‌ها، دفراسیروکس و دفریپرون هم به صورت مجزا و هم به صورت ترکیبی باعث کاهش معنی داری در غلظت سرب در گروه Pb شد. مقایسه اثرات دفراسیروکس با دفریپرون نشان داد که در بافت‌های بیضه، مغز و کبد دفراسیروکس و در بافت کلیه دفریپرون تاثیر بیش تری در کاهش غلظت بافتی سرب داشتند و اثرات ترکیبی این دو باهم تاثیر بیش تری در کاهش غلظت سرب در بافت‌ها داشته است.

جدول شماره 2: غلظت سرب در بافت‌های مغز، کبد، کلیه و بیضه حیوانات در گروه‌های مختلف آزمایشی

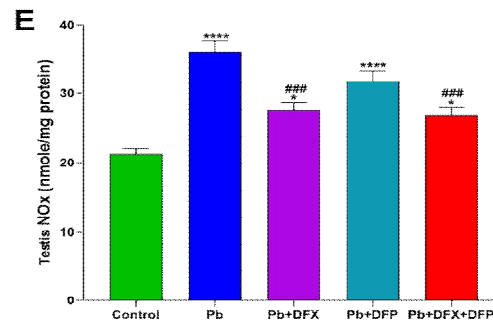
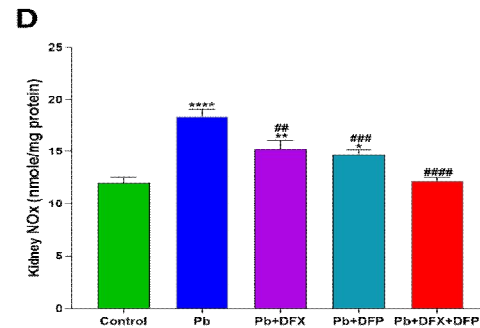
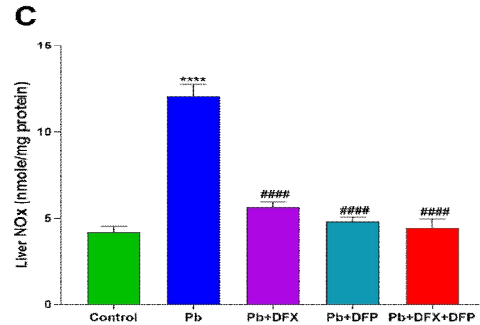
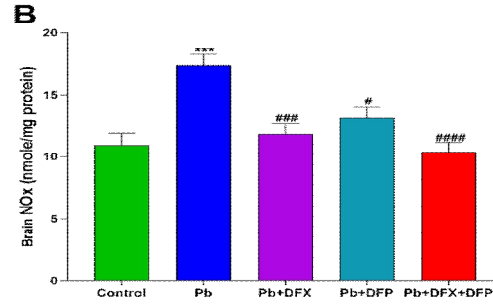
گروه‌های آزمایشی	غلظت سرب در بافت (µg/gr fresh tissue)			
	بیضه	کلیه	کبد	مغز
Control	0.055 ± 0.005	0.031 ± 0.003	0.047 ± 0.004	0.042 ± 0.002
Pb	*0.0845 ± 0.0030	*0.0932 ± 0.0038	*0.0841 ± 0.0021	*0.0551 ± 0.0018
Pb+DFX	##0.0345 ± 0.0023	##*0.0371 ± 0.0019	##*0.0317 ± 0.0014	##*0.0251 ± 0.0019
Pb+DFP	##*0.0435 ± 0.0034	##*0.0302 ± 0.0012	##*0.0337 ± 0.0021	##*0.0291 ± 0.0016
Pb+DFX+DFP	##*0.0303 ± 0.0014	##*0.0261 ± 0.0013	##*0.0269 ± 0.0016	##*0.0179 ± 0.0012

نتایج به صورت میانگین ± خطای استاندارد بیان شده است. $P < 0/05$ * نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه Control، $P < 0/05$ *# نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه Pb است. تعداد حیوانات در هر گروه 7 سر می‌باشد.

اثرات دفراسیروکس و دفریپرون بر متابولیت‌های نیتریک اکسید (NO_x)

نتایج نشان داد که مصرف سرب باعث افزایش معنی داری در غلظت NOx در پلاسما و بافت‌های مغز، کبد، کلیه و بیضه نسبت به گروه کنترل شد ($P < 0/01$). مصرف داروی دفراسیروکس و دفریپرون باعث کاهش غلظت NOx در پلاسما و بافت‌های مغز، کبد، کلیه و بیضه در هر سه گروه Pb+DFX+DFP، Pb+DFP، Pb+DFX شد (نمودار شماره 1) اما این کاهش در پلاسما تنها در گروه‌هایی که داروی دفراسیروکس و دفریپرون را با هم مصرف می‌کردند نسبت به گروه Pb معنی دار شد. هم چنین تفاوت معنی داری بین گروه‌های مصرف کننده کیلوتورهای دفراسیروکس و دفریپرون با گروه کنترل نیز مشاهده نشد (نمودار شماره 1-A). کاهش غلظت NOx

اثرات دفراسیروکس و دفریپرون بر غلظت MDA همان‌طور که در نمودار شماره 2 نشان داده شده، غلظت MDA در پلاسما و بافت‌های مغز، کبد، کلیه و بیضه در گروه Pb نسبت به گروه کنترل به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. مصرف داروی دفراسیروکس و دفریپرون باعث کاهش معنی‌دار غلظت MDA در پلاسما فقط در دو گروه Pb+DFX+DFP و Pb+DFX نسبت به گروه Pb شد، اما هم‌چنان این تفاوت در غلظت MDA پلاسما در این گروه‌ها نسبت به گروه کنترل معنی‌دار بود (نمودار شماره 2-A). مصرف هر دو داروی دفراسیروکس و دفریپرون هم جداگانه و هم ترکیبی باعث کاهش معنی‌داری در غلظت MDA بافت مغز در دو گروه Pb+DFX و Pb+DFX+DFP نسبت به گروه Pb شد اما تنها در گروهی که به‌صورت ترکیبی دو دارو را دریافت کردند این غلظت به سطح کنترل رسید و غلظت MDA در دو گروه Pb+DFX، Pb+DFX+DFP هم‌چنان به‌صورت قابل توجهی بالاتر از گروه کنترل بود (نمودار شماره 2-B). غلظت MDA در بافت کبد هر سه گروه Pb+DFX، Pb+DFX+DFP و Pb+DFX+DFP به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه Pb کاهش نشان داد اما به حد کنترل نرسید چنان‌که هر سه گروه تفاوت معنی‌داری را با گروه کنترل نشان دادند (نمودار شماره 2-C). مصرف داروی دفراسیروکس و دفریپرون باعث کاهش غلظت MDA در بافت کلیه نسبت به گروه Pb شد اما فقط در گروه Pb+DFX+DFP و Pb+DFP این کاهش معنی‌دار شد و هم‌چنین تنها در گروه Pb+DFX+DFP به حد کنترل نزدیک شد و با آن تفاوت معنی‌داری نداشت ولی گروه‌های Pb+DFX و Pb+DFP هم‌چنان تفاوت معنی‌داری در این پارامتر با گروه کنترل نشان دادند (نمودار شماره 2-D). مصرف دو داروی دفراسیروکس و دفریپرون منجر به کاهش غلظت MDA در بافت بیضه شد که این کاهش تنها در گروه‌های دریافت‌کننده دفراسیروکس به‌طور جداگانه و هم به‌صورت ترکیب با دفریپرون نسبت به گروه Pb معنی‌دار بود. هم‌چنین تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های دریافت‌کننده دفراسیروکس



نمودار شماره 1: تغییرات غلظت متابولیت نیتریک اکسید (NOX) در خون و بافت‌های مغز، کبد، کلیه و بیضه در گروه‌های مختلف آزمایشی.

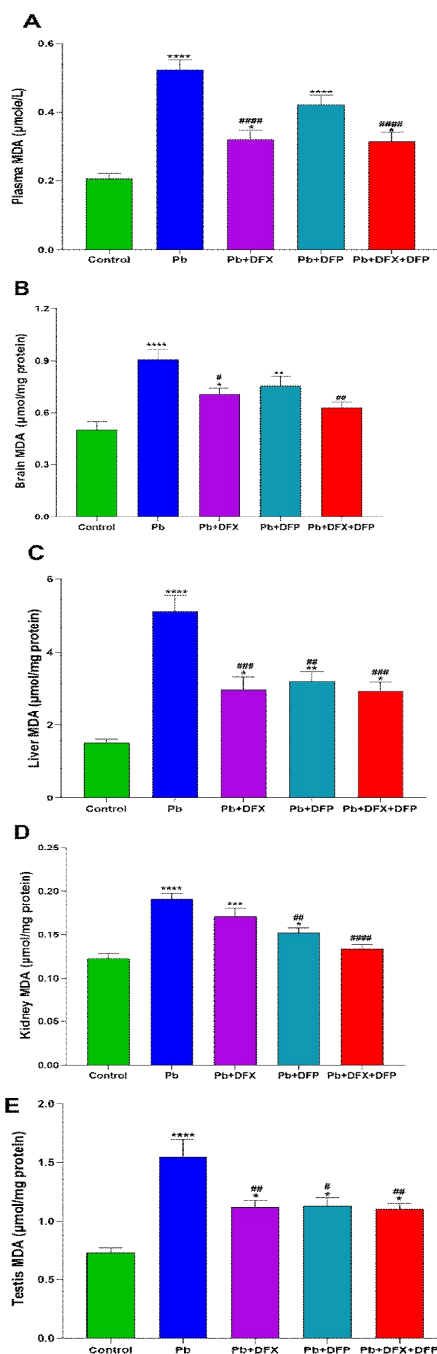
*P<0/05, **P<0/01, ***P<0/001 و ****P<0/0001 نشان‌دهنده

اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل،

#P<0/05, ##P<0/01, ###P<0/001 و ####P<0/0001 نشان‌دهنده

اختلاف معنی‌دار با گروه Pb است.

تعداد حیوانات در هر گروه 7 سر می‌باشد.



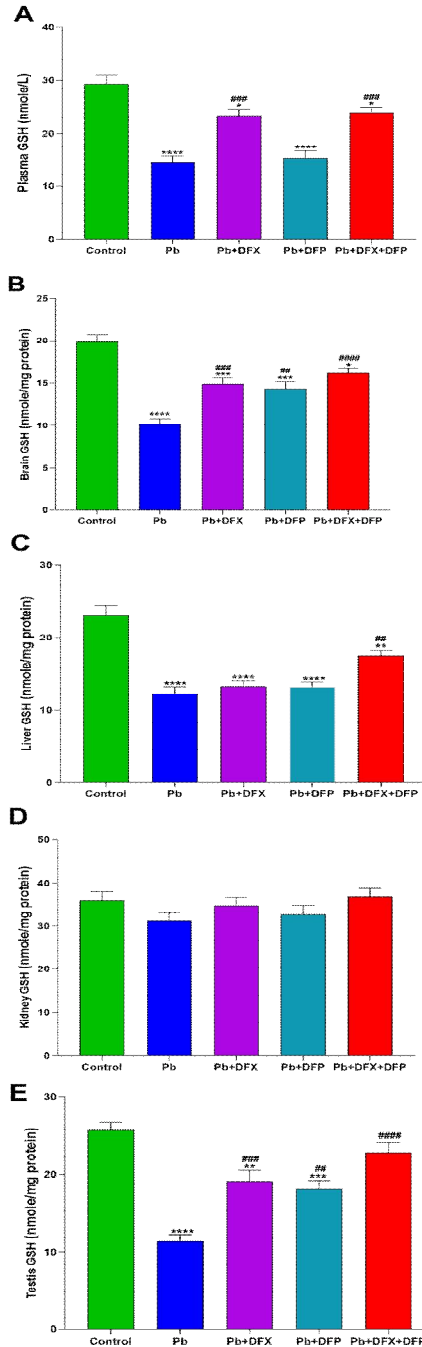
نمودار شماره 2: تغییرات غلظت مالون دی آلدنید (MDA) در خون و بافت های مغز، کبد، کلیه و بیضه در گروه های مختلف آزمایشی. نتایج به صورت میانگین \pm خطای استاندارد بیان می شود. $P < 0/05$ ، $P < 0/01$ ، $P < 0/001$ ، $P < 0/0001$ و $P < 0/0001$ نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه کنترل، $P < 0/05$ ، $P < 0/01$ ، $P < 0/001$ و $P < 0/0001$ نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه Pb است. تعداد حیوانات در هر گروه 7 سر می باشد.

و دفریپرون هم به تنهایی و هم به صورت ترکیبی با گروه کنترل مشاهده شد (نمودار شماره 2-E). در پلاسما و بیش تر بافت ها، کاهش غلظت MDA در گروهی که دو دارو را به صورت ترکیبی مصرف کردند بیش تر از گروه هایی بود که هر کدام از کیلیتورها را به تنهایی دریافت کرده بودند.

اثرات دفراسیروکس و دفریپرون بر سطح گلو تاتیون (GSH) مصرف سرب باعث شد که غلظت GSH در پلاسما و بافت های مغز، کبد و بیضه در گروه Pb نسبت گروه کنترل به طور معنی داری کاهش یابد، اما این کاهش در بافت کلیه معنی دار نبود (نمودار شماره 3). مصرف داروی دفراسیروکس و دفریپرون باعث افزایش سطح GSH در پلاسما و بافت های مغز، کبد و بیضه در هر سه گروه Pb+DFX+DFP، Pb+DFP، Pb+DFX شد اما این افزایش در پلاسما فقط در گروه های Pb+DFX و Pb+DFX+DFP نسبت به گروه Pb معنی دار شد. هم چنین تفاوت معنی داری بین گروه های مصرف کننده کیلیتورهای دفراسیروکس و دفریپرون با گروه کنترل نیز مشاهده شد (نمودار شماره 3-A). افزایش غلظت GSH در بافت مغز در هر سه گروه درمانی نسبت به گروه Pb معنی دار شد ولی به سطح کنترل نرسید (نمودار شماره 3-B). مصرف داروی دفراسیروکس و دفریپرون غلظت کبدی GSH را فقط در گروه Pb+DFX+DFP به طور معنی داری نسبت به گروه Pb افزایش داد اما این افزایش به سطح کنترل نرسید (نمودار شماره 3-C). تفاوت معنی داری در غلظت کلیوی GSH بین گروه Pb با سه گروه درمان شده مشاهده نشد (نمودار شماره 3-D). مصرف دو داروی دفراسیروکس و دفریپرون منجر به افزایش غلظت GSH در بافت بیضه شد که این افزایش در هر سه گروه Pb+DFX+DFP، Pb+DFP، Pb+DFX نسبت به گروه Pb معنی دار شد که تنها در گروهی که هردو دارو را دریافت می کردند به سطح کنترل رسید ولی دو گروه دیگر هم چنان تفاوت معنی داری را با گروه کنترل نشان دادند (نمودار شماره 3-E).

اثرات دفراسیروکس و دفریپرون بر ظرفیت تام آنتی اکسیدانی (TAC)

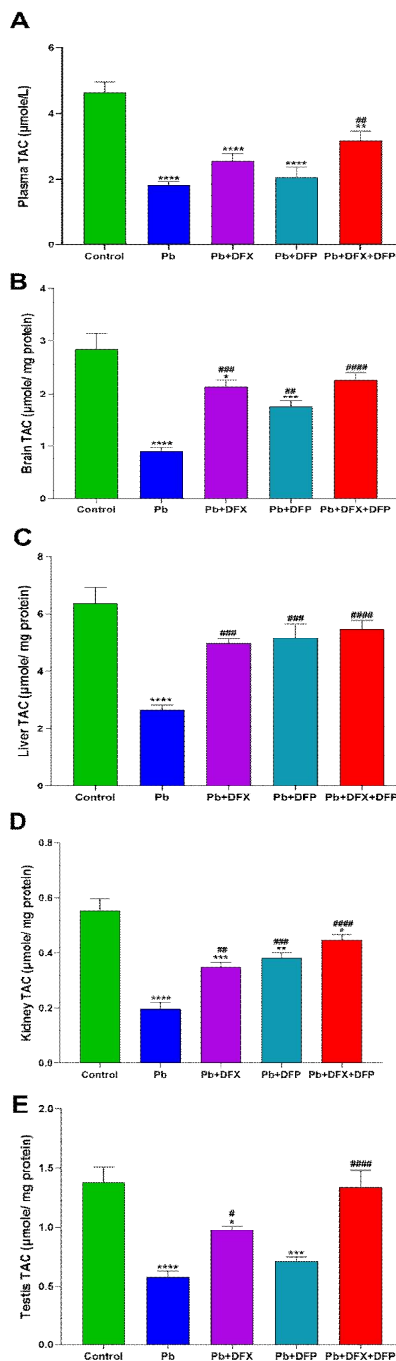
مصرف سرب باعث کاهش معنی داری در TAC پلاسما و بافت های مغز، کبد، کلیه و بیضه در گروه Pb نسبت به گروه کنترل شد. مصرف داروی دفراسیروکس و دفریپرون باعث افزایش معنی داری در TAC پلاسما فقط در Pb+DFX+DFP شد. اما هر سه گروه دریافت کننده این دو کیلیتور با گروه کنترل تفاوت معنی داری را نشان دادند (نمودار شماره 4-A). پس از مصرف دفراسیروکس و دفریپرون، افزایش TAC در مغز هر سه گروه دریافت کننده این دو کیلیتور مشاهده شد که نسبت به گروه Pb معنی داری شد. اما تنها در گروهی که هر دو کیلیتور را با هم مصرف می کردند سطح TAC به سطح کنترل رسید و تفاوت معنی داری را با گروه کنترل نشان نداد (نمودار شماره 4-B). مصرف داروی دفراسیروکس و دفریپرون سطح TAC بافت کبد را در هر سه گروه Pb+DFX، Pb+DFP و Pb+DFX+DFP به طور معنی داری افزایش داد و به حد کنترل نزدیک کرد، چنان که این گروه ها تفاوت معنی داری را با گروه کنترل نشان ندادند (نمودار شماره 4-C). هر چند سطح TAC در بافت کلیه هر سه گروه Pb+DFX، Pb+DFP و Pb+DFX+DFP نسبت به گروه Pb افزایش معنی داری را نشان داد اما به سطح گروه کنترل نرسید و هر سه گروه تفاوت معنی داری را با گروه کنترل نشان دادند (نمودار شماره 4-D). مصرف دو داروی دفراسیروکس و دفریپرون منجر به افزایش سطح TAC در بافت بیضه شد که این افزایش تنها در گروه دریافت کننده دفراسیروکس به طور جداگانه و هم به صورت ترکیب با دفریپرون نسبت به گروه Pb معنی دار شد (نمودار شماره 4-E). در کل نتایج نشان داد مصرف دو دارو به صورت ترکیبی تاثیر بیش تری در افزایش سطح TAC در پلاسما و بافت ها نسبت به مصرف جداگانه آن می گذارد.



نمودار شماره 3: تغییرات سطح گلو تاتیون (GSH) در خون و بافت های مغز، کبد، کلیه و بیضه در گروه های مختلف آزمایشی. نتایج به صورت میانگین \pm خطای استاندارد بیان می شود. $P < 0/05$ ، $P < 0/01$ ، $P < 0/001$ و $P < 0/0001$ نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه کنترل، $P < 0/05$ ، $P < 0/01$ ، $P < 0/001$ و $P < 0/0001$ نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه Pb است. تعداد حیوانات در هر گروه 7 سر می باشد.

بحث

در این مطالعه، اثرات دفراسیروکس و دفریپرون بر غلظت سرب و شاخص‌های استرس اکسیداتیو در سرم و بافت‌های مغز، کبد، کلیه و بیضه موش‌های در معرض سرب مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصله نشان داد که درمان با هر دو کیلتور به تنهایی و یا ترکیبی باعث کاهش غلظت سرب و آسیب اکسیداتیو در این بافت‌ها می‌شود، اما اثرات ترکیبی این دو کیلتور در کاهش استرس اکسیداتیو و سمیت سرب بهتر از اثرات هر کدام از کیلتورها به تنهایی است. با توسعه سریع صنعت مدرن، انسان‌ها در مواجهه با انواع مختلفی از آلاینده‌های زیست محیطی و صنعتی از جمله فلزات سنگینی مثل سرب هستند که موجب به خطر انداختن سلامت و اختلالات در عملکرد فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و رفتاری در حیوانات و انسان می‌شود (25) و عملکرد بسیاری ارگان‌ها و سیستم‌ها از جمله قلب، استخوان، روده، کلیه، سیستم تولید مثل و سیستم عصبی بدن را مختل می‌کند (26، 27). استرس اکسیداتیو یکی از مکانیسم‌های مهم سمیت فلزات سنگین از جمله سرب است. سرب می‌تواند باعث آسیب بافت از طریق تولید ROSها، افزایش پراکسیداسیون لیپیدی و کاهش سیستم‌های آنزیمی و غیر آنزیمی آنتی‌اکسیدانی شود (28، 29). توانایی سرب برای تولید رادیکال‌های آزاد نیز منجر به بیان کموکاین‌ها و سایتوکاین‌های التهابی، اکسیداسیون اسیدهای نوکلئیک، تغییرات اپی‌ژنتیک در بیان DNA، تغییرات جهش‌زا و در نهایت سرطان ناشی از سرب می‌شود (17، 30، 31). سرب ممکن است از طریق پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع، به غشای سلولی آسیب برساند. MDA به عنوان شاخص‌ترین محصول پراکسیداسیون لیپیدی ناشی از استرس اکسیداتیو، در سنجش میزان آسیب به لیپیدهای سلولی اهمیت دارد (32). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که مسمومیت با سرب منجر به افزایش استرس نیترواکسیداتیو در بافت‌های کلیه، مغز، کبد و بیضه شد چنان‌که سطوح MDA و هم‌چنین NO که ممکن است



نمودار شماره 4: تغییرات ظرفیت آنتی‌اکسیدانی (TAC) در خون و بافت‌های مغز، کبد، کلیه و بیضه در گروه‌های مختلف آزمایشی. نتایج به صورت میانگین \pm خطای استاندارد بیان می‌شود. $P < 0/05$ ، $P < 0/01$ ، $P < 0/001$ ، $P < 0/0001$ و $P < 0/0001$ نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل، $P < 0/05$ ، $P < 0/01$ ، $P < 0/001$ و $P < 0/0001$ نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار با گروه Pb است. تعداد حیوانات در هر گروه 7 سر می‌باشد.

پایین کادمیوم و سرب مورد بررسی قرار گرفت و هر دو مطالعه اثرات مثبت این دو کیلیتور در کاهش غلظت این فلزات در بافت‌هایی چون قلب، کلیه، کبد و روده را گزارش کردند (17، 18).

نتایج این مطالعه اثرات آنتی‌اکسیدانی دو کیلیتور را در کاهش استرس نیترو-اکسیداتیو در خون و بیش‌تر بافت‌ها نشان داد. چنان‌که سطوح MDA و NO در گروه‌های در معرض سرب دریافت‌کننده کیلیتورها به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه در معرض سرب بدون کیلیت درمانی کاهش و میزان TAC و GSH افزایش یافت. گزارش‌هایی مبنی بر اثرات آنتی‌اکسیدانی این دو کیلیتور در کاهش بیومارکرهای استرس اکسیداتیو وجود دارد. چنان‌که دفراسیروکس به تنهایی یا با ترکیب با گلیسین منجر به کاهش سطح خونی MDA ناشی از فلز کادمیوم شد (22). هم‌چنین دفریپرون با مهار تولید رادیکال‌های آزاد هیدروکسیل، سبب کاهش استرس اکسیداتیو در حیوانات مسموم شده با مس شد (23). به نظر می‌رسد که این کیلیتورها با تشکیل کمپلکس با سرب منجر به جلوگیری از تجمع آن، کاهش غلظت سرب و جلوگیری از اثرات توکسیک و استرس اکسیداتیو ناشی از آن در خون و بافت‌های بدن شدند (38). در مقایسه بین این دو کیلیتور مشاهده شد که به‌طور کلی کیلیتور دفراسیروکس، به دلیل مزایایی چون نیمه عمر و پایداری بالا و نفوذپذیری بهتر در غشای سلولی (17) توانسته در بعضی از بافت‌های مورد بررسی، کمی بهتر از کیلیتور دفریپرون در دفع عنصر سمی سرب و رادیکال‌های آزاد اکسیژن و نیتروژن ناشی از آن عمل کند. هم‌چنین در همه بافت‌ها اثرات حفاظتی و کاهش‌دهنده استرس اکسیداتیو در هنگامی که دو کیلیتور به صورت ترکیبی استفاده شد چشمگیر و موثرتر بود. علت آن، توانایی هر یک از کیلیتورها در دفع سرب در یک بافت ویژه است به طوری که کیلیتور دفراسیروکس در خون و بافت‌های مغز، کبد و بیضه و کیلیتور دفریپرون در بافت کلیه قابلیت بیش‌تری را در دفع سرب دارا بودند. به‌طور کلی نتایج این

با تشکیل گونه‌های فعال نیتروژن منجر به اثرات توکسیک شود، در پلاسما و بافت‌های کلیه، کبد، مغز و بیضه افزایش یافت. در مقابل باعث کاهش ظرفیت تام اکسیدانی و سطح متابولیت آنتی‌اکسیدان GSH این بافت‌ها شد. مطابق با این مطالعه، دیگر مطالعات نیز نشان دادند که در معرض سرب قرار گرفتن سبب افزایش غلظت سرب و پراکسیداسیون لیپیدی یا کاهش مکانیسم دفاعی آنتی‌اکسیدانی در بافت‌های مختلف بدن می‌شود. هم‌چنین، این مطالعات گزارش کردند که با مصرف سرب، در خون و بافت‌های کبد و کلیه، فعالیت آنزیم‌ها و سطح متابولیت‌های آنتی‌اکسیدانی کاهش و غلظت MDA و NO افزایش می‌یابد (35-33). هم‌چنین BaSalamah و همکارانش، افزایش غلظت MDA و کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را در بافت‌های کلیه و بیضه حیوانات در معرض آلودگی با سرب، گزارش کردند (13). علاوه بر این Moniem و همکارانش نیز نشان دادند که استات سرب با کاهش همزمان سیستم آنزیمی آنتی‌اکسیدانی، پراکسیداسیون لیپیدی و تولید NO را در سرم و بیضه‌ها افزایش می‌دهد (36). بسیاری از مطالعات، جذب/توزیع بالا، اثربخشی و ایمنی طولانی مدت دفراسیروکس و دفریپرون در حذف برخی یون‌های فلزی سمی و درمان اضافه بار آهن در بیماران تالاسمی ماژور را گزارش کرده‌اند (18، 37). نتایج این مطالعه نشان داد که پس از درمان با دفراسیروکس و دفریپرون به‌طور مجزا و ترکیبی، مقدار سرب موجود در بافت‌های کبد، کلیه، مغز و بیضه موش‌های تحت درمان، به‌طور قابل ملاحظه‌ای کاهش یافت. مشخص شده که این کیلیتورها قادر به تشکیل کمپلکس‌های قوی با سرب بوده و در نتیجه می‌توانند باعث حذف این فلز از بدن شوند (17).

در مطالعه‌ای صالحی و همکارانش نشان دادند که دفریپرون و دفراسیروکس در غلظت‌های 300 و 140 میلی‌گرم منجر به کاهش سطح سرمی و بافتی فلز توکسیک تالیوم شدند (20). در دو مطالعه دیگر نیز اثرات این دو دارو در موش‌های مسموم شده با دوزهای بالا و

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ گونه تضاد منافی درباره پژوهش حاضر وجود ندارد.

سپاسگزاری

این مقاله حاصل از نتایج استخراج شده از پروژه تحقیقاتی با کد 9359 است. بدین وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شیراز به جهت تصویب و حمایت مالی این تحقیق و هم‌چنین از همکاری کارشناسان آزمایشگاه شیمی دانشکده بهداشت تقدیر و تشکر می‌شود.

مطالعه نشان می‌دهد استفاده ترکیبی دو کیلیتور، اثرات مفیدتری در کاهش غلظت خونی و بافتی سرب و هم‌چنین آسیب اکسیداتیو ناشی از آن نسبت به هر کدام از آن‌ها به تنهایی داشتند چرا که هر کیلیتور توانایی دفع عنصر سمی را از یک بافت ویژه دارد. از آن‌جا که عوارض مختصر، قابل کنترل و برگشت‌پذیر دفریپرون نمی‌تواند مانعی بر سر راه تجویز آن باشد و نیز نظر به نتایج مطالعه حاضر مبنی بر تاثیر درمان ترکیبی در بهبود عملکرد کیلیتورها، در مواردی که افزایش بار حجمی سرب به قدر کافی با هر کدام از کیلیتورها به تنهایی کنترل نمی‌شود، مصرف ترکیبی دو داروی دفراسیروکس و دفریپرون توصیه می‌شود.

References

1. Wani AL, Ara A, Usmani JA. Lead toxicity: a review. *Interdiscip Toxicol* 2015; 8(2): 55-64.
2. Collin MS, Venkatraman SK, Vijayakumar N, Kanimozhi V, Arbaaz SM, Stacey RGS, et al. Bioaccumulation of lead (Pb) and its effects on human: A review. *Journal of Hazardous Materials Advances* 2022; 7: 100094.
3. Jaishankar M, Tseten T, Anbalagan N, Mathew BB, Beeregowda KN. Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals. *Interdiscip Toxicol* 2014; 7(2): 60-72.
4. Sansar W, Ahboucha S, Gamrani H. Chronic lead intoxication affects glial and neural systems and induces hypoactivity in adult rat. *Acta Histochem* 2011; 113(6): 601-607.
5. Nemsadze K, Sanikidze T, Ratiani L, Gabunia L, Sharashenidze T. Mechanisms of lead-induced poisoning. *Georgian Med News* 2009; (172-173): 92-96.
6. Khalil N, Cauley JA, Wilson JW, Talbott EO, Morrow L, Hochberg MC, et al. Relationship of blood lead levels to incident nonspine fractures and falls in older women: the study of osteoporotic fractures. *J Bone Miner Res* 2008; 23(9): 1417-1425.
7. Jang WH, Lim KM, Kim K, Noh JY, Kang S, Chang YK, et al. Low level of lead can induce phosphatidylserine exposure and erythrophagocytosis: a new mechanism underlying lead-associated anemia. *Toxicol Sci* 2011; 122(1): 177-184.
8. Flora SJ, Mittal M, Mehta A. Heavy metal induced oxidative stress & its possible reversal by chelation therapy. *Indian J Med Res* 2008; 128(4): 501-523.
9. El-Nekeety AA, El-Kady AA, Soliman MS, Hassan NS, Abdel-Wahhab MA. Protective effect of *Aquilegia vulgaris* (L.) against lead acetate-induced oxidative stress in rats. *Food Chem Toxicol* 2009; 47(9): 2209-2215.
10. Mansour LAH, Elshopakey GE, Abdelhamid FM, Albukhari TA, Almehmadi SJ, Refaat B, El-Boshy M, Risha EF. Hepatoprotective and Neuroprotective Effects of Naringenin against Lead-Induced Oxidative Stress, Inflammation, and Apoptosis in Rats. *Biomedicines* 2023; 11(4): 1080.
11. Fang JY, Wang PW, Huang CH, Hung YY, Pan TL. Evaluation of the hepatotoxic risk caused by lead acetate via skin exposure

- using a proteomic approach. *Proteomics* 2014; 14(21-22): 2588-2599.
12. Gandhi J, Hernandez RJ, Chen A, Smith NL, Sheynkin YR, Joshi G, et al. Impaired hypothalamic-pituitary-testicular axis activity, spermatogenesis, and sperm function promote infertility in males with lead poisoning. *Zygote* 2017; 25(2): 103-110.
 13. BaSalamah MA, Abdelghany AH, El-Boshy M, Ahmad J, Idris S, Refaat B. Vitamin D alleviates lead induced renal and testicular injuries by immunomodulatory and antioxidant mechanisms in rats. *Scientific Reports* 2018; 8(1): 4853.
 14. Heydari A, Norouzzadeh A, Khoshbaten A, Asgari A, Ghasemi A, Najafi S, et al. Effects of short-term and subchronic lead poisoning on nitric oxide metabolites and vascular responsiveness in rat. *Toxicol Lett* 2006; 166(1): 88-94.
 15. Vaziri ND, Ding Y. Effect of lead on nitric oxide synthase expression in coronary endothelial cells: role of superoxide. *Hypertension* 2001; 37(2): 223-226.
 16. Kontoghiorghes GJ, Kontoghiorghes CN. Iron and Chelation in Biochemistry and Medicine: New Approaches to Controlling Iron Metabolism and Treating Related Diseases. *Cells* 2020; 9(6): 1456.
 17. Balooch FD, Fatemi SJ, Iranmanesh M. Combined chelation of lead (II) by deferasirox and deferiprone in rats as biological model. *Biometals* 2014; 27(1): 89-95.
 18. Jamilaldin Fatemi S, Saljooghi AS, Balooch FD, Iranmanesh M, Golbafan MR. Chelation of cadmium by combining deferasirox and deferiprone in rats. *Toxicol Ind Health* 2011; 27(4): 371-377.
 19. Amiri A, Mirhoseiny Z. Beneficial role of deferasirox and deferiprone in the mobilization of arsenic and recovery of iron in rat tissues. *Main Group Chemistry* 2017; 16(1): 1-5.
 20. Salehi S, Saljooghi AS, Badiiee S, Moqadam MM. Chelation of Thallium (III) in Rats Using Combined Deferasirox and Deferiprone Therapy. *Toxicol Res* 2017; 33(4): 299-304.
 21. Zahmati M, Shokooch Saljooghi A. The Evaluation of Deferasirox on Hematological Parameters after Lead Administration. *Asia Pac J Med Toxicol* 2016; 5(4): 124-129.
 22. Najamezhad V, Asri Rezaei S. Therapeutic Effect of Deferasirox and Glycine on Chronic Cadmium Toxicosis in Rats. *Int J Adv Biol Biom Res* 2015; 3(3): 231-236.
 23. Timoshnikov VA, Kobzeva T, Selyutina OY, Polyakov NE, Kontoghiorghes GJ. Effective inhibition of copper-catalyzed production of hydroxyl radicals by deferiprone. *J Biol Inorg Chem* 2019; 24(3): 331-341.
 24. Elgawish RAR, Abdelrazek HMA. Effects of lead acetate on testicular function and caspase-3 expression with respect to the protective effect of cinnamon in albino rats. *Toxicol Rep* 2014; 1: 795-801.
 25. Timbrell JA. Biochemical mechanisms of toxicity: Specific examples". *Principles of Biochemical Toxicology*. 4th ed. Informa Health Care. 2009.
 26. Pearce JM. Burton's line in lead poisoning. *Eur Neurol* 2007; 57(2): 118-119.
 27. Singh R, Gautam N, Mishra A, Gupta R. Heavy metals and living systems: An overview. *Indian J pharmacol* 2011; 43(3): 246-253.
 28. Fan Y, Zhao X, Yu J, Xie J, Li C, Liu D, Tang C, Wang C. Lead-induced oxidative damage in rats/mice: A meta-analysis. *J Trace Elem Med Biol* 2020; 58: 126443.
 29. Babiker F, Al-Kouh A, Kilarkaje N. Lead exposure induces oxidative stress, apoptosis, and attenuates protection of cardiac myocytes

- against ischemia–reperfusion injury. *Drug Chem Toxicol* 2019; 42(2): 147-156.
30. Olaleye SB, Adaramoye OA, Erigbali PP, Adeniyi OS. Lead exposure increases oxidative stress in the gastric mucosa of HCl/ethanol-exposed rats. *World J Gastroenterol* 2007; 13(38): 5121-5126.
31. Chen P, Bornhorst J, Diana Neely M, Avila DS. Mechanisms and Disease Pathogenesis Underlying Metal-Induced Oxidative Stress. *Oxid Med Cell Longev* 2018; 2018: 7612172.
32. Gawel S, Wardas M, Niedworok E, Wardas P. Malondialdehyde(MDA) as a lipid peroxidation marker. *Wiad Lek* 2004; 57(9-10): 453-455.
33. Wang J, Yang Z, Lin L, Zhao Z, Liu Z, Liu X. Protective effect of naringenin against lead-induced oxidative stress in rats. *Biol Trace Elem Res* 2012; 146(3): 354-359.
34. Mohammadi M, Ghaznavi R, Keyhanmanesh R, Sadeghipour HR, Naderi R, Mohammadi H. Caloric Restriction Prevents Lead-Induced Oxidative Stress and Inflammation in Rat Liver. *Sci World J* 2014; 2014: 821524.
35. Ghareeb DA, Hussien HM, Khalil AA, El-Saadani MA, Ali AN. Toxic effects of lead exposure on the brain of rats: Involvement of oxidative stress, inflammation, acetylcholinesterase, and the beneficial role of flaxseed extract. *Toxicol Environ Chem* 2009; 92(1): 187-195.
36. Behairy A, Hashem MM, Abo-El-Sooud K, El-Metwally AE, Hassan BA, Abd-Elhakim YM. Quercetin Abates Aluminum Trioxide Nanoparticles and Lead Acetate Induced Altered Sperm Quality, Testicular Oxidative Damage, and Sexual Hormones Disruption in Male Rats. *Antioxidants* 2022; 11(11): 2133.
37. Cappellini MD. Long-term efficacy and safety of deferasirox. *Blood Rev* 2008; 22(Suppl 2): S35-S41.
38. Flora SJS, Pachauri V. Chelation in Metal Intoxication. *Int J Environ Res Public Health* 2010; 7(7): 2745-2788.