

## اثرات اتانول بر تغییرات کروموزمی سلول‌های فیروپلاست انسانی

پونه امین‌گرام<sup>۱</sup> (Ph.D)، مجید رضایی طاویرانی<sup>۲</sup> (M.D)، مونا زمانیان عضدی<sup>۳\*</sup> (Ph.D)، بهادر باقری<sup>۴</sup> (Ph.D)، رضا نصر<sup>۵</sup> (M.Sc)،  
محمدرضا اکبری عیدگاهی<sup>۵</sup> (Ph.D)

۱- دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران

۲- دانشگاه علوم پزشکی ایلام، دانشکده پزشکی

۳- دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، مرکز تحقیقات پروتئومیکس

۴- دانشگاه علوم پزشکی سمنان، دانشکده پزشکی، دپارتمان فارماکولوژی

۵- دانشگاه علوم پزشکی سمنان، مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی

### چکیده

سابقه و هدف: مصرف اتانول یا الکل اتیلیک منجر به اثرات سمی در بدن می‌شود. مسیرهای متابولیسمی متنوع این ماده در بدن می‌تواند متابولیت‌هایی ایجاد کند که برای بدن سمی هستند. هدف این مطالعه بررسی اثرات اتانول بر تغییرات کروموزمی سلول‌های فیروپلاست انسانی است.

مواد و روش‌ها: سلول‌های فیروپلاست انسانی به مدت ۴۸ ساعت در محیط کشت RPMI حاوی اتانول با دو غلظت ۵۴ و ۱۰۸ میلی‌مولار قرار داده شدند. پس از ۴۸ ساعت انکوباسیون، تغییرات کروموزمی آن به روش کاریوتایپ با رنگ آمیزی گیمسا بررسی و نقشه کاریوتایپ ثبت گردید. سپس نتایج از نظر وجود ناهنجاری‌های کروموزمی با طرح کاریوتایپ سلول‌های فیروپلاست کنترل (بدون الکل) مقایسه شد.

یافته‌ها: مطالعه کاریوتایپ نشان داد که تغییرات انجام شده در غلظت ۵۴ میلی‌مولار به صورت شکستگی در کروموزم گروه C و شماره ۱ بوده و در غلظت بالای الکل یعنی غلظت ۱۰۸ میلی‌مولار شکستگی در کروموزوم شماره ۹، کروماتیدها و هم‌چنین پدیده درون همانندسازی نیز مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد که دوزهای مشخصی از اتانول می‌تواند موجب بروز تغییرات گسترده ساختار کروموزمی سلول‌ها شوند. از این رو، استفاده از این ماده باید با دقت بیش‌تری صورت گیرد و تحقیقات تکمیلی در زمینه اثر آن روی سایر رده‌های سلولی و بررسی تحت شرایط In-vivo نیز می‌تواند سودمند باشد.

واژه‌های کلیدی: الکل اتانول، سلول‌های فیروپلاست انسانی، ناهنجاری‌های کروموزمی، کاریوتایپ

### مقدمه

مصرف اتانول مانند داروهای دیگر می‌تواند اثرات زیان‌بخشی برای بدن داشته باشد [۱]. آسیب عمده آن بر مغز است که می‌تواند کارکرد طبیعی آن را دچار اختلال کند. این تغییرات شامل تاثیراتی است که بر ناقل‌های عصبی گذاشته و کاهش سیگنال‌های مغزی و حتی مرگ سلولی را در بر خواهد

داشت [۲،۳]. متابولیسم الکل بدین صورت است که در یک مسیر آلدئید دئیدروژناز، اتانول به استالدهید و در مرحله بعد به یک ماده جنبی با فعالیت کم‌تر به نام استات تبدیل می‌شود که در نهایت استات به آب و دی‌اکسید کربن شکسته شده و حذف می‌گردد [۴] به علاوه الکل می‌تواند موجب افزایش تولید متابولیت‌های فرعی خطرناکی از جمله گونه‌های اکسیژنی فعال

کم و ویژه بافت می‌باشد [۱۸]. الگوی نواحی تیره و روشن و تعداد باندها با توجه به مرحله میتوز متفاوت و ممکن است شامل ۳۰ یا کم‌تر در آخر متافاز و یا ۱۰۰۰ باند بیش‌تر در اوایل پروفاز باشد [۱۹]. از آنجایی که مصرف الکل اتانول در زمینه‌های مختلف صنایع آرایشی، خوراکی و دارویی در دنیا گسترش فراوانی پیدا کرده، تحقیق در زمینه امکان ایجاد عوارضی در بدن مورد اهمیت است. بنابراین در این پژوهش، اثر این ماده آلی را روی کروموزوم‌های متافازی سلول‌های فیبروبلاست انسانی تیمار شده با الکل به عنوان یک سلول کم‌تمایز یافته و مهم با سلول‌های فیبروبلاست سالم مقایسه می‌شوند تا احتمال بروز اختلالات ژنتیکی تعیین گردد.

## مواد و روش‌ها

مواد: مواد استفاده شده به شرح زیر بودند: محیط کشت RPMI1640 و سرم جنین گاو (Fetal bovine serum)، پنی‌سیلین (شرکت سیگما)، استرپتومایسین (شرکت سیگما)، سیکلوسپورین (شرکت سیگما)، تریپسین (شرکت سیگما) سود و اسید کلریدریک (شرکت مرک)، PBS (شرکت سیگما)، رنگ گیمسا (شرکت سیگما)، متانول (شرکت مرک)، اسیداستیک (شرکت مرک)، کلریدپتاسیم (شرکت مرک)، تریپسین (شرکت سیگما)، کلسیم (شرکت سیگما)، فلاسک T25 (شرکت NUNC دانمارک)، فیلتر سر سرنگی ۰/۲۲ میکرومتر (شرکت NUNC دانمارک)، ظروف استریل شامل پیپت پاستور (شرکت NUNC دانمارک)، پیپت مدرج (شرکت NUNC دانمارک)، لوله‌های سانتریفوژ درب‌دار فالکون ۱۵ و ۱۰ میلی‌لیتری (شرکت NUNC دانمارک).

روش کار. سلول‌های فیبروبلاست را در فلاسک حاوی محیط کشت RPMI کشت داده شد و محیط حاوی رقت‌های ۵۴ و ۱۰۸ میلی‌مولار اتانول تهیه شد. پس از ۴۸ ساعت انکوباسیون با شرایط دمایی ۳۷°C، ۰/۰۵ CO<sub>2</sub> و رطوبت ۹۰ درصد به هر فلاسک، کلسیم به مقدار ۰/۴ μg ml<sup>-1</sup> اضافه می‌گردد. به این ترتیب سلول‌های میتوزی در مرحله

(ROS)، کاهش آنتی‌اکسیدان‌ها و فعال شدن مسیره‌های اکسیداتیو به‌طور خاص در کبد شود [۵،۶]. این فاکتور می‌تواند به DNA و پروتئین آسیب‌زده و ترکیبات سرطان‌زا ایجاد کند [۷]. اختلالات دستگاه گوارش از شایع‌ترین مشکلات استفاده از الکل بوده، به‌طوری که سرطان‌های دستگاه گوارش یکی از بدخیمی‌های ناشی از مصرف الکل گزارش شده است [۸]. از سوی دیگر الکل می‌تواند موجب افزایش روند پراکسیداسیون لیپیدها و بروز اختلالات مهمی در کبد شود [۹]. بدین ترتیب که با افزایش تولید اسیدهای چرب، موجب بالا رفتن تراکم چربی در کبد (کبد چرب)، افزایش لیپید در خون و سرانجام ایجاد بیماری سیروز کبدی گردد [۱۰]. بررسی‌ها نشان داده که سلول‌ها در محیط‌های کشت پس از چند بار تقسیم شدن متوقف می‌شوند که این توقف رشد به دلیل تجمع آسیب‌های اکسیداتیو در DNA سلول‌ها می‌باشد [۱۱]. ماده‌ای به نام ۸-oxoguanine وجود دارد که در سلول‌های مسن ۴ برابر بیش‌تر از سلول‌های تازه کشت شده بوده و هم‌چنین سطح پایداری آن در سلول‌های مسن ۳۵ در صد بالاتر از سلول‌های جوان است [۱۲]. اتانول نیز به واسطه نقشی که در افزایش این ماده دارد، در پیر کردن سلول‌ها نقش ایفا می‌کند و موجب کاهش پوشش‌های محافظ کروماتینی، دانسیته کروماتینی و هم‌چنین احتمال شکستگی و ناهنجاری‌های کروموزومی بالا می‌برد [۱۳]. در کل تماس با اتانول چه کوتاه‌مدت و چه بلندمدت امکان تجمع استالدئید و پروتئین‌های تغییر یافته، تغییر وضعیت مکانیسم اکسید و احیاء سلولی، فعالیت سمی میکروزومالی، تخریب فعالیت‌های میتوکندریایی و تجمع سیتوتوکسیک‌ها در لئوسیت‌ها را دارد [۱۴]. G-banding از روش‌های استاندارد کاربوتایپ است که الگویی از نواحی تیره و روشن به ما می‌دهد [۱۵]. این الگو برای هر کروموزوم منحصر به فرد است. نواحی روشن (G-light) مربوط به نواحی غنی از G-C است و نواحی تیره (G-dark) مربوط به نواحی غنی از A-T می‌باشد [۱۶،۱۷]. در اصل نواحی روشن نواحی هستند که در آن‌ها ژن‌های فعال زیادی وجود دارند ولی نواحی تیره نواحی فشرده با تعداد ژن

## نتایج

مطالعات ساختاری سلول‌های مورد بررسی، اطلاعات مناسبی از بروز تغییرات ظاهری و تایید نتایج سایر آزمایشات سلول‌شناسی فراهم می‌نماید [۲۰]. تغییرات مورفولوژی سلول‌های فیبروبلاست انسانی در حضور اتانول با استفاده از میکروسکوپ فاز معکوس در غلظت ۲۰۰ میلی‌مولار الکل بعد از انکوباسیون ۴۸ ساعته مورد سنجش قرار گرفت (شکل ۱).



شکل ۱. تصویر میکروسکوپی فاز معکوس، با بزرگنمایی ۱۰۰۰ در انکوباسیون ۴۸ ساعته. الف: سلول‌های نرمال دوکی شکل فیبروبلاست انسانی ب: سلول‌های فیبروبلاست کروی و دوکی شکل در محیط کشت حاوی ۲۰۰ میلی‌مولار اتانول

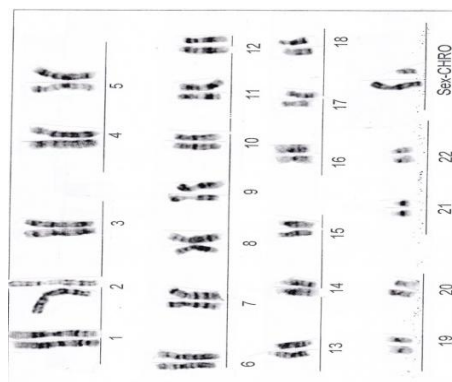
از آن‌جا که بررسی سیتولوژیکی نشان می‌دهد که الکل بر مورفولوژی فیبروبلاست‌ها تاثیر گذاشته است، احتمال می‌رود این تاثیرگذاری در سطوح مولکولی و کروموزومی نیز مشاهده شود. یکی از راه‌های بررسی ناهنجاری‌های کروموزومی استفاده از کاریوگرام است. در بررسی وضعیت کروموزوم‌ها

متافاز خواهند بود. فلاسک‌ها به مدت ۴ ساعت در انکوباتور نگه‌داری شد و در تمام این مدت باید کلسمید با همان غلظت در محیط باقی بماند تا سلول‌ها از حالت میتوز خارج نشوند. به مقدار ۱ میلی‌لیتر تریپسین به محیط اضافه کرده و به مدت ۵ الی ۸ دقیقه در انکوباتور با دمای  $37^{\circ}\text{C}$  قرار داده شد و سپس به آرامی به لوله فالکون انتقال یافت تا به مدت ۸ الی ۱۰ دقیقه با دور ۱۲۰۰ rpm سانتریفوژ شود. پس از عمل سانتریفوژ، مایع رویی که حاوی محیط کشت است دور ریخته شد. در این مرحله هم سوسپانسیون مجدد سلول‌ها در باقی‌مانده محیط کشت انجام شد. پس از برداشتن محیط کشت به مقدار ۸ تا ۱۰ میلی‌لیتر کلرید پتاسیم به سلول‌ها با غلظت ۰/۰۷۵ مولار اضافه شد. بدین ترتیب سلول‌ها در معرض شوک هیپوتونیک قرار داده شدند و سپس به مدت ۱۵ دقیقه در انکوباتور با دمای  $37^{\circ}\text{C}$  قرار گرفتند. برای برداشتن کلرید پتاسیم از روی سلول‌ها دوباره به مدت ۸ دقیقه در دور ۱۲۰۰ rpm سانتریفوژ انجام شد. مایع فوقانی دور ریخته و سلول‌های معلق در کلرید پتاسیم سوسپانسیون شدند. سپس ۵ میلی‌لیتر محلول فیکساتیو (متانول: اسیداستیک به نسبت ۳:۱) به سلول‌ها اضافه شد. حداقل به مدت ۲۰ دقیقه باید سلول‌ها در معرض فیکساتیو قرار گیرند. پس از تثبیت اول، محلول فیکساتیو با عمل سانتریفوژ در دور ۱۲۰۰ rpm به مدت ۸ دقیقه از سلول‌ها جدا شد. حال سلول‌ها دوباره در محلول فیکساتیو شستشو داده شدند. پس از تعلیق سلول‌ها در مقدار کم فیکساتیو، یک یا دو قطره از آن را با پیپت پاستور از فاصله حداکثر ۳۰ سانتی‌متری روی لام میکروسکوپی، پرتاب و لام در دمای اتاق خشک شد. لام تهیه شده از سلول‌ها با رنگ گیمسای ۵ درصد رنگ آمیزی شد. هر لام میکروسکوپی تهیه شده حاوی تعدادی سلول است که در مرحله متافاز متوقف شده‌اند. نتایج به‌دست آمده حاصل مقایسه کروموزوم‌های دو نمونه در شرایط ۳ بار تکرار آزمایش است که توسط شاخص آماری ارزش P تخمین زده شد.

بقا سلول‌های فیروپلاست در حضور غلظت‌های مختلفی از الکل بررسی شده است [۲۴]. در این تحقیق گزارش گردیده است که غلظت‌های ۵۴ و ۱۰۸ میلی‌مولار اتانول بعد از ۴۸ ساعت انکوباسیون سبب تغییرات و بروز ناهنجاری در برخی از سلول‌های فیروپلاست شده است، به همین دلیل در شکل‌های ۳ تا ۵ کاریوگرام تهیه شده برای این سلول‌ها نشان داده شده است.

بروز اندورپلیکیشن که همان همانندسازی ژنوم بدون تقسیم سلول است که موجب افزایش محتوی ژنتیکی هسته و پلی پلوئیدی می‌شود، یکی دیگر از ناهنجاری‌هایی است که در نتیجه اثر اتانول می‌تواند اتفاق بیفتد، این ناهنجاری در شکل ۵ نمایش داده شده است.

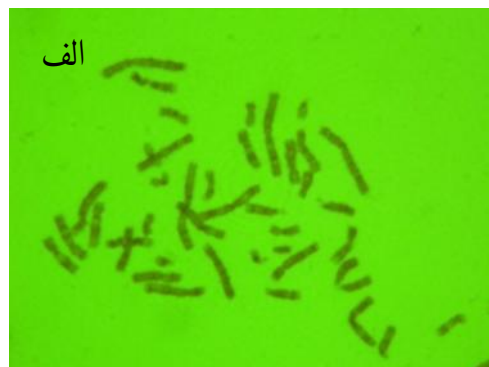
به‌طور متداول از رنگ‌آمیزی گیمسا استفاده می‌شود. Giemsa banding یک روش عمومی رنگ‌آمیزی است که مواد واکنش‌دهنده در آن شامل مخلوطی از رنگ‌های آمینوفنولتیازین مانند متیلن‌بلو، تیونین، آزور C, B, A و رنگ اسیدی ائوزین است [۲۱-۲۳]. در شکل ۲ کاریوگرام به روش G-banding برای سلول‌های سالم فیروپلاست انسانی نمایش داده شده است.



شکل ۲. کاریوگرام سلول‌های سالم فیروپلاست انسانی، کروموزوم‌ها از شماره ۱ تا ۲۳ بصورت جفتی نشان داده شده‌اند.

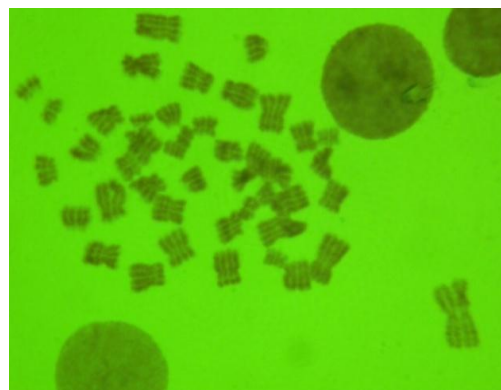


شکل ۳. کاریوگرام سلول‌های فیروپلاست انسانی در حضور غلظت ۵۴ میلی‌مولار اتانول الف: شکستگی در کروماتید گروه C و ب: شکستگی در کروموزوم شماره ۱. بروز این ناهنجاری‌ها با  $p \text{ value} < 0/05$  نسبت به نمونه سالم معنادار است.



شکل ۴. کاریوگرام سلول‌های فیروپلاست انسانی در حضور غلظت ۱۰۸ میلی‌مولار اتانول پس از انکوباسیون ۴۸ ساعته الف: شکستگی در کروموزوم شماره ۹ و ب: شکستگی در کروموزوم و کروماتید(فلش سمت راست شکستگی در کروماتید و فلش سمت چپ شکستگی در کروموزوم را نشان می‌دهد). بروز این ناهنجاری‌ها با  $p \text{ value} < 0/05$  نسبت به نمونه سالم معنادار است.

ترتیب که سلول‌های دوکی شکل فیبروبلاست در نتیجه تیمار با الکل به شکل کروی در آمدند و این تغییرات در دو غلظت ۵۴ و ۱۰۸ میلی مولار به حداکثر مقدار می‌رسد. هم‌چنین نتایج مطالعات بقا سلولی موید آن است که این دو غلظت عامل ایجاد حداکثر کاهش بقا-سلولی هستند [۲۴]. با توجه به شکل ۱، همین تغییرات مورفولوژی در رقت‌های بالای الکل یعنی دوز ۲۰۰ میلی مولار که منطبق با حداکثر غلظت پس از بسیار نوشیدن الکل در بدن است، مشاهده می‌شود اما این تغییرات همراه با فعال شدن سیستم‌های ترمیمی و برگشت برخی سلول‌ها به حالت نرمال می‌باشد. همان‌طور که در قبل اشاره شد، دو غلظت ۵۴ و ۱۰۸ میلی مولار بیش‌ترین تغییرات کیفی و کمی را بر سلول‌های فیبروبلاست اعمال می‌کنند، از این رو در این تحقیق این دو غلظت به عنوان غلظت‌های شاخص تهدیدکننده حیات سلولی برای مطالعات کاربوتایپ در نظر گرفته شدند و ناهنجاری‌های کروموزومی با مقایسه با نمونه شاهد به وسیله نقشه کاریوگرام مشخص شد. بر اساس اطلاعات به‌دست آمده از شکل ۲، غلظت ۵۴ میلی مولار موجب شکستگی در کروموزم گروه C و کروموزم شماره ۱ شده است. به‌طوری‌که در شکل ۳ مشخص است، در غلظت بالای الکل یعنی غلظت ۱۰۸ میلی مولار شکستگی در کروموزوم شماره ۹ و کروماتید دیده می‌شود که این ناهنجاری‌های کروموزومی می‌توانند به تغییرات شدید متابولیکی و در نهایت مرگ سلول شوند. از دیگر اختلالاتی که در مواجهه با غلظت ۱۰۸ میلی مولار اتانول دیده شد بروز پدیده درون همانندسازی بود که در شکل ۵ تشکیل تتراد کروموزومی در آن مشخص است. این پدیده نیز منجر به وقایع پلی‌پلوئیدی می‌گردد که فعالیت و عمل‌کرد سلول‌ها از شکل نرمال خود خارج می‌شوند. بدین ترتیب که افزایش نسخه از ژن‌های خاص ممکن است به مرگ سلول منجر شود. بنابراین با استفاده روز افزون از اتانول در مواد آرایشی، بهداشتی مانند انواع آنتی‌باکتریال‌ها و لوسیون‌ها و اثبات اثرات زیان‌بار اتانول بر سلول‌های فیبروبلاست پوستی و وقوع ناهنجاری‌های کروموزومی پیشنهاد می‌شود، آزمایشات



شکل ۵. وقوع درون همانندسازی (Endoreplication) که در آن کروموزوم‌ها به شکل تتراد آرایش گرفته‌اند. این ناهنجاری در سلول‌های فیبروبلاست انسانی در حضور ۱۰۸ میلی مولار اتانول پس از انکوباسیون ۴۸ ساعته رخ داده است. بروز این ناهنجاری‌ها با  $p < 0.05$  نسبت به نمونه سالم معنادار است.

## بحث و نتیجه‌گیری

از آنجایی که متابولیت‌های حاصل از متابولیسم اتانول می‌تواند برای بدن انسان سمی باشند، بررسی‌های بیش‌تر در این زمینه مورد نیاز است [۲۵]. تاثیر ضد تکثیری اتانول می‌تواند عامل بیماری‌زایی آن باشد، بیماری‌های کبدی ناشی از مصرف الکل نتیجه مستقیم تضعیف فعالیت تکثیری سلول‌های کبدی به دلیل جلوگیری از سنتز DNA وابسته به فاکتور رشد تحریک شده است. اتانول در تکثیر سلول‌های مختلفی از جمله استروسیت‌ها، سلول‌های T انسانی و هیپاتوسیت‌های بنیادی موش در حالت In-vitro تاثیرگذار نشان داده است. طبق قانون شلفورد که در سال ۱۹۱۱ مطرح شد، شدت یک عامل اکولوژیک می‌تواند رشد موجودات زنده را محدود نماید [۲۶]. بنابراین خیلی از مواد که در بدن تا حدی قابل تحمل هستند، اگر مقدار آن‌ها از یک حدی تغییر کند، می‌توانند برای بدن سم محسوب شوند [۲۷]. گاهی این دامنه خیلی پایین است و در دوزهای پایین هم مواد می‌توانند در بدن عوارضی ایجاد کنند [۲۸، ۲۹]. بر اساس نتایجی که از اثر اتانول بر ساختار مورفولوژی سلول‌های فیبروبلاست در غلظت‌های پایین طی تحقیقات گذشته توسط همین گروه به‌دست آمد، مشخص شد که تغییراتی ساختاری بارزی در نتیجه تیمار این ترکیب بر ساختار سلولی تحمیل می‌شود. بدین

[13] Pawlowska E, Janik-Papis K, Rydzanicz M, Zuk K, Kaczmarczyk D, Olszewski J, et al. The Cys326 allele of the 8-oxoguanine DNA N-glycosylase 1 gene as a risk factor in smoking-and drinking-associated larynx cancer. *Tohoku J Exp Med* 2009; 219: 269-275.

[14] Yan M, Zhu P, Liu HM, Zhang HT, Liu L. Ethanol induced mitochondria injury and permeability transition pore opening: role of mitochondria in alcoholic liver disease. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 2352-2356.

[15] Hwang SM, See CJ, Choi J, Kim SY, Choi Q, Kim JA, et al. The application of an in situ karyotyping technique for mesenchymal stromal cells: a validation and comparison study with classical G-banding. *Exp Mol Med* 2013; 45: 68.

[16] Fiorentino F, Caiazzo F, Napolitano S, Spizzichino L, Bono S, Sessa M, et al. Introducing array comparative genomic hybridization into routine prenatal diagnosis practice: a prospective study on over 1000 consecutive clinical cases. *Prenat Diagn* 2011; 31: 1270-1282.

[17] Ademà V, Hernández JM, Abáigar M, Lumbreras E, Such E, Calull A, et al. Application of FISH 7q in MDS patients without monosomy 7 or 7q deletion by conventional G-banding cytogenetics: Does 7/7q- detection by FISH have prognostic value? *Leuk Res* 2013; 37: 416-421.

[18] Laevsky I. Karyotype and fluorescent in situ hybridization analysis of human embryonic stem cell and induced pluripotent stem cell lines. *atlas of human pluripotent stem cells*. Springer 2012; 115-126.

[19] Lahlou N, Fennoy I, Ross JL, Bouvattier C, Roger M. Clinical and hormonal status of infants with nonmosaic XXY karyotype. *Acta Paediatr* 2011; 100: 824-829.

[20] Dalilan S, Rezaei-Tavirani M, Nabuini M, Heidari-Keshel S, Zamanian Azodi M, Zali H. Aqueous extract of lavender *angustifolia* inhibits lymphocytes proliferation of hodgkin's lymphoma patients. *Iran J Cancer Prev* 2013; 6: 201-208.

[21] Vadivel S, Vanitha M, Muthukrishnaraj A, Balasubramanian N. Graphene oxide-BiOBr composite material as highly efficient photocatalyst for degradation of methylene blue and rhodamine-B dyes. *J Water Proc Engin* 2014; 1: 17-26.

[22] Mou Z, Dong Y, Li S, Du Y, Wang X, Yang P, Wang S. Eosin Y functionalized graphene for photocatalytic hydrogen production from water. *Intern J Hydrogen Energy* 2011; 36: 8885-8893.

[23] Bates SE. Classical cytogenetics: karyotyping techniques. *human pluripotent stem cells*. Springer 2011; 767: 177-190.

[24] Aminigram P, Heydari KS, Zamanian AM, Rezaei TM, Basati GH, Rezaei Tavirani M. The evaluation of ethanol effects on fibroblast cells viability. *J Ilam Univ Med Sci* 2013; 21: 170-176.

[25] Kaminen-Ahola N, Ahola A, Maga M, Mallitt KA, Fahey P, Cox TC, et al. Maternal ethanol consumption alters the epigenotype and the phenotype of offspring in a mouse model. *Plos Genet* 2010; 6: 1-10.

[26] Salter-Townshend M, Haslett J. Fast inversion of a flexible regression model for multivariate pollen counts data. *Environmetrics* 2012; 23: 595-605.

[27] Sargent F. Ecological implications of individuality in the context of the concept of adaptive strategy. *Int J Biometeorol* 1966; 10: 305-322.

[28] Penniston KL, Tanumihardjo SA. The acute and chronic toxic effects of vitamin A. *Am J Clin Nutr* 2006; 83: 191-201.

[29] Ledl F, Schleicher E. New aspects of the Maillard reaction in foods and in the human body. *Ang Chem Internat Edit Eng* 1990; 29: 565-594.

گسترده‌تری در غلظت‌های بالای اتانول که در مواد آرایشی، بهداشتی مورد استفاده است، روی سلول‌های فیبروبلاست پوستی و دیگر سلول‌های پوست انجام شود و همچنین انجام این آزمایشات در غلظت فیزیولوژیک روی رده‌های سلولی دیگر ضروری به نظر می‌آید.

## تشکر و قدردانی

از مرکز تحقیقات پروتئومیکس به خاطر حمایت از اجرای

این پروژه قدردانی می‌گردد.

## منابع

[1] Bushman BJ. Effects of alcohol on human aggression. *Recent developments in alcoholism*. Springer 1997; 13: 227-243.

[2] Ikonomidou C, Bittigau P, Ishimaru MJ, Wozniak DF, Koch C, Genz K, et al. Ethanol-induced apoptotic neurodegeneration and fetal alcohol syndrome. *Science* 2000; 287: 1056-1060.

[3] Harper C, Matsumoto I. Ethanol and brain damage. *Curr Opin Pharmacol* 2005; 5: 73-78.

[4] Köpke M, Mihalcea C, Bromley JC, Simpson SD. Fermentative production of ethanol from carbon monoxide. *Curr Opin Biotechnol* 2011; 22: 320-325.

[5] Alfonso-Loeches S, Ureña-Peralta JR, Morillo-Bargues MJ, Oliver-De La Cruz J, Guerri C. Role of mitochondria ROS generation in ethanol-induced NLRP3 inflammasome activation and cell death in astroglial cells. *Front Cell Neurosci* 2014; 8: 216.

[6] Wu D, Cederbaum AI. Oxidative stress and alcoholic liver disease. *Semin Liver Dis* 2009; 29: 141-154.

[7] Shield KD, Parry C, Rehm J. Chronic diseases and conditions related to alcohol use. *Alcohol Res* 2013; 35: 155-173.

[8] Cargiulo T. Understanding the health impact of alcohol dependence. *Am J Health Syst Pharm* 2007; 64: 5-11.

[9] Ziech D, Franco R, Pappa A, Panayiotidis MI. Reactive Oxygen Species (ROS)—Induced genetic and epigenetic alterations in human carcinogenesis. *Mutat Res* 2011; 711: 167-173.

[10] Lieber CS. Alcoholic fatty liver: its pathogenesis and mechanism of progression to inflammation and fibrosis. *Alcohol* 2004; 34: 9-19.

[11] Chen Q, Fischer A, Reagan JD, Yan LJ, Ames BN. Oxidative DNA damage and senescence of human diploid fibroblast cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995; 92: 4337-4341.

[12] Bruskov VI, Malakhova LV, Masalimov ZK, Chernikov AV. Heat-induced formation of reactive oxygen species and 8-oxoguanine, a biomarker of damage to DNA. *Nucleic Acids Res* 2002; 30: 1354-1363.

## Ethanol- induced chromosomal abnormalities in human fibroblast cells

Pooneh Aminigram (Ph.D)<sup>1</sup>, Majid Rezaei Tavirani (M.D)<sup>2</sup>, Mona Zamanian-Azodi (Ph.D)<sup>\*3</sup>, Bahador Bagheri (Ph.D)<sup>4</sup>, Reza Nasr (M.Sc)<sup>5</sup>, Mohamad Reza Akbari Eidgahi (Ph.D)<sup>5</sup>

1 - Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

2 - Faculty of Medicine, Ilam University of Medical Sciences, Ilam, Iran

3 - Proteomics Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

4 - Dept. of Pharmacology, Faculty of Medicine, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran

5 - Biotechnology Research Center, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran

(Received: 13 Apr 2014; Accepted: 22 Oct 2014)

**Introduction:** ethanol consumption may impose cytotoxic effects on the human body, by producing toxic metabolites through different pathways. Furthermore, some studies have also linked alcohol consumption to various types of diseases. Therefore, this in vitro study is aimed to assess the ethanol toxic effects on the human fibroblastic chromosome structure.

**Materials and Methods:** G banding staining method was used to determine the karyotype of chromosomal abnormalities of cultured fibroblast cells. Karyogram of ethanol-treated cells after 48 hours of incubation with 54 and 108 mmol of ethanol were assessed against the untreated cultured cells.

**Results:** the comparison between two karyogram models confirmed that lower ethanol concentration (54mmol) caused breakage in chromosome type C and number 1, while with higher concentration (108mmol) breakage was observed in chromosome 9, chromatids as well as endoreplication in some other cells.

**Conclusion:** this study indicates that specific concentrations of ethanol can cause vast alterations in chromosomal structure. Therefore, in general, more care is suggested in consuming this substance. In addition, to confirm the cytotoxic alterations in chromosomal structure in relation to alcohol consumption, using other cell lines and /or in vivo studies, more investigations are warrant.

**Keywords:** Ethanol, Human fibroblast cell, Chromosome abnormalities, Karyotype

\* Corresponding author. Fax: +98 21 22714248; Tel: +98 21 22714248

mona.azodi@gmail.com

### How to cite this article:

Aminigram P, Rezaei Tavirani M, Zamanian Azodi M, Bagheri B, Nasr R, Akbari Eidgahi M. Ethanol-induced chromosomal abnormalities in human fibroblast cells. koomesh. 2015; 16 (2) :254-259

URL [http://koomeshjournal.semums.ac.ir/browse.php?a\\_code=A-10-2478-1&slc\\_lang=fa&sid=1](http://koomeshjournal.semums.ac.ir/browse.php?a_code=A-10-2478-1&slc_lang=fa&sid=1)