

بررسی اثرات مزمن فلز روی (کلرید روی) بر بافت‌های کبد، کلیه و طحال در موش صحرایی نر (RAT)

داود سهرابی*^۱ و محمدرضا غلامی^۲

۱- استادیار گروه بافت شناسی و علوم تشریح، دانشگاه علوم پزشکی زنجان (عهده دار مکاتبات)

sohrabidavood@yahoo.com

۲- مربی گروه آناتومی و علوم تشریح، دانشگاه علوم پزشکی زنجان

چکیده

زمینه و هدف: عوارض ناشی از مسمومیت با فلز روی در برخی گزارش‌ها اشاره شده است. از جمله این عوارض فیروز ریه متعاقب استنشاق روی است. گزارشاتی وجود دارد که روی موجب بسته شدن مجاری غدد چربی (Sebaceous glands) همچنین موجب آگزما و تاول در پوست می‌گردد، کلرید روی موجب زخم‌های پوستی می‌شود. هدف این پژوهش بررسی اثرات مزمن فلز روی بر بافت‌های کبد، کلیه و طحال در موش صحرایی نر بالغ است.

مواد و روش‌ها: در این تحقیق موش‌های صحرایی نر (Rat) از نژاد Wistar مورد تجربه قرار گرفته‌اند. محلول کلرید روی ($ZnCl_2$) به مدت سی روز (یک روز در میان) به صورت دوون صفاقی به مقدار 10 mg/kg محلول در 5 ml سرم فیزیولوژی به گروه تجربی تزریق گردید. به گروه کنترل در همین مدت 5 ml سرم فیزیولوژی تزریق شد. جهت بررسی‌های هیستوپاتولوژی بعد از بیهوشی موش‌ها و کالبد شکافی آنها، کبد، کلیه و طحال آن‌ها برداشته شده و در فرمالدئید ۱۰٪ تثبیت شده و با روش هماتوکسلن و ائوزین رنگ آمیزی شدند.

نتایج و یافته‌ها: نتایج نشان می‌دهد تغییرات وزن حیوانات در بین دو گروه معنی‌دار نیست اما تفاوت وزن کبد در گروه تجربی نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری دارد ($P < 0.01$). در صورتیکه تفاوت وزن کلیه و طحال بین دو گروه تجربی و کنترل معنی‌دار نیست. مطالعات میکروسکوپی نشان می‌دهد، در کبد مختصری **Fatty Change** در هپاتوسیت‌ها دیده می‌شود. تغییرات هیستوپاتولوژیک در کلیه و طحال خیلی چشمگیر نیست. فیروز مختصری در پالپ سفید وجود دارد، اکثر این تغییرات در اثر عامل ثانویه یعنی تزریق کلرید روی ظاهر شده‌اند، برگشت پذیر هستند.

بحث: فلز روی موجب کاهش وزن کبد می‌شود ولی تغییرات میکروسکوپی و هیستوپاتولوژیک قابل توجهی در آن بوجود نمی‌آورد، تغییرات حاصل از روی در کلیه و طحال نیز اندک است.

نتیجه‌گیری: گرچه به نظر می‌رسد اکثر تغییرات در اثر فلز روی بر روی کبد، کلیه و طحال برگشت پذیر باشند ولی برای حصول اطمینان احتیاج به پژوهش‌های تکمیلی است.

واژه‌های کلیدی: روی، کلرید روی، کبد، کلیه، طحال.

مقدمه

تهدید قرار داده است. یکی از این عناصر آلوده کننده فلز روی (Zn) از گروه عناصر کمیاب (Trace Elements) است. معادن روی در ژاپن، کانادا، روسیه، آمریکا و از جمله

رشد روز افزون صنایع و آلودگی بی‌رویه محیط زیست به مواد شیمیایی زندگی بشر و سایر موجودات زنده مورد

مواد و روش کار:

حیوانات مورد آزمایش در این تحقیق موش‌های صحرایی (Rat) از نژاد Wistar بودند. درجه حرارت اتاق حیوانات ۲۴-۱۸ درجه سانتی‌گراد و رطوبتی معادل ۵۰ تا ۷۰ درصد داشت و نور اتاق بمدت ۱۲ ساعت روشن و ۱۲ ساعت تاریک تامین می‌شد. وزن متوسط حیوانات در گروه کنترل $227/4 \pm 290/9$ در موقع شروع پژوهش و در گروه تجربی $187/8 \pm 187/2$ بوده است. حیوانات در قفس‌های گالوانیزه نگهداری می‌شدند. موشهای نر با میانگین سنی ۱۲-۱۰ هفته جهت شروع مراحل اصلی آزمایش انتخاب شدند و در گروه ۱۲ تایی به صورت تصادفی قرار گرفتند. به گروه تجربی، کلرید روی از شرکت مرک آلمان به مقدار 10 mg/kg (معادل نصف دوز LD50) محلول در 0.5 ml سرم فیزیولوژی تزریق شد. تزریق در ساعت ۸ صبح و یک روز در میان و به مدت یکماه و با سرنگ انسولینی انجام گرفت. و در پایان، حیوانات بی‌هوشی خفیف با کلروفورم از شرکت مرک آلمان داده شد و بعد از کالبد شکافی کبد، طحال و کلیه آنها برداشته شده و در فرملین ۱۰٪ تثبیت شدند و بامیکروتوم Leitz آلمانی برش‌های ۵-۳ میکرونی از آنها تهیه و به روش هاریس با هماتوکسیلین و ائوزین (H-E) رنگ آمیزی شدند.

نتایج:

۱- وزن بدن: وزن موش‌ها قبل از شروع آزمایشات در گروه شاهد 227.4 ± 290.9 و بعد از اتمام تجربه 295.5 ± 20.5 بود افزایش وزن معنی دار نبود. همچنین وزن موش‌ها قبل از شروع آزمایشات در گروه تجربی 187.8 ± 187.2 و بعد از اتمام تجربه 293.5 ± 19.4 بود افزایش وزن معنی دار نبود. (جدول شماره ۱).

ایران و اطراف زنجان بسیار فراوان است (۱). عناصر کمیاب در بدن با وجود مقادیر بسیار اندک، تأثیرات فیزیولوژیک قابل ملاحظه‌ای ایجاد می‌کنند، کمبود یا افزایش این عناصر باعث بروز بیماری‌های متعدد می‌شود، فلز روی یکی از این عناصر کمیاب بدن محسوب می‌شود که مسمومیت با آن آثار متعددی در اندام‌های مختلف بدن به جای می‌گذارد (۲). اثر سمی حاد آن که به شکل Metal Fume Fever خود را نشان می‌دهد، کاملاً به اثبات رسیده است (۳). ولی در مورد عوارض تماس مزمن با این فلز تحقیقات مختلف عقاید متعددی را مطرح کرده‌اند یکی از گزارش‌ها حاکی از آن است که املاح روی از طریق استنشاق، پوست و دستگاه گوارش وارد بدن می‌شود و می‌تواند موجب تهوع، مسمومیت، استفراغ و آسیب‌های پوستی و ریوی گردد (۴). مطالعات دیگری نشان می‌دهد روی قادر به عبور از سد خونی مغزی می‌باشد، و در فضای خونی مویرگ‌های مغزی می‌تواند ظاهر شود و این می‌تواند در بروز عوارض ناشی از روی در مغز موثر باشد (۵). گزارش دیگری اضافه می‌کند روی موجب کاهش بعضی آنزیم‌های کبدی مانند آلکالین فسفاتاز می‌شود (۶). روی می‌تواند اثرات سوء بر سیستم تناسلی نر داشته باشد (۷). مطالعه دیگر نشان دهنده، آسیب‌های سلول‌های آلونول‌های ریه در کارگرانی است که با بخارات اکسید روی در تماس بودند (۸). مطالعه دیگری نشان دهنده تأثیرات سوء روی بر عملکرد بیضه و هورمون‌های جنسی نر است (۹ و ۱۰). مطالعه قانعی همکاران نشان داد بعد از ۸ سال تماس استنشاقی در معادن روی سیستم قلبی عروقی و سپس سیستم ریوی بیش از سایر اندام‌ها در معرض آسیب قرار می‌گیرد و افزایش میزان فشار خون و آسیب پارانشیم‌ریه از نشانه‌های آن است (۱۱). مطالعه دیگری نشان دهنده آسیب‌های پاتولوژیک دربافت‌های ماهی کپور در اثر سولفات روی است (۱۲). باتوجه به اینکه پژوهش‌ها در مورد اثرات روی دربافت‌های بدن اندک و در مواردی نیز متناقض است انجام این پژوهش ضروری به نظر می‌رسد.

جدول ۱: تغییرات وزن بدن بعد از یک ماه دریافت کلرید روی در موش‌های صحرایی نر بالغ (میانگین \pm انحراف معیار)

گروه‌های آزمایشی	تغییرات وزن بدن (گرم)	وزن بدن در پایان تجربه	وزن بدن در شروع تجربه
شاهد (Group I)	4.6 ± 2.1	295.5 ± 20.5	290.9 ± 22.4
تجربی، 10 mg/kg (Group II)	5.7 ± 2.2	293.5 ± 19.4	187.8 ± 18.2

ب: کلیه: در اثر تزریق کلرید روی افزایشی در وزن کلیه دیده می شود که این افزایش معنی دار نیست.
ج: طحال: مقایسه وزن طحال بین گروه تجربی و شاهد بعد از یک ماه در اثر تزریق کلرید روی کاهش معنی داری را نشان نمی دهد.

۲- اثرات کلریدروی بروزن اندام های کبد، کلیه و طحال به شرح زیر است:
الف: کبد: مقایسه وزن کبد بین گروه تجربی و شاهد بعد از یک ماه در اثر تزریق کلرید روی افزایش معنی داری را نشان می دهد. ($P < 0.01$).

جدول ۲: وزن اندام های کبد، کلیه و طحال بعد از دریافت یک ماه کلریدروی درموش صحرایی نر بالغ (میانگین \pm انحراف معیار)

گروه های آزمایشی	وزن کبد(گرم)	وزن کلیه(گرم)	وزن طحال (گرم)
شاهد (Group I)	۱۱,۶ \pm ۰,۹۶	۰,۹۶ \pm ۰,۰۸	۰,۹۶ \pm ۰,۱۱
تجربی، ۱۰mg/kg (Group II)	*** 13.07 \pm ۰,۲۷	۱,۰۱ \pm ۰,۰۷	۰,۸۹ \pm ۰,۰۹

T-Test

*** $P < ۰,۰۱$

ب: کلیه: در اثر تزریق کلرید روی کاهش تعداد گلوامرول ها در گروه تجربی نسبت به گروه شاهد معنی دار است. ($P < ۰,۰۵$).
ج: طحال: افزایش تعداد پالپ های سفید طحال در گروه تجربی نسبت به گروه شاهد در اثر تزریق کلرید روی معنی دار نیست.

۳- اثرات کلریدروی بر اندام های کبد، کلیه و طحال (مطالعات مورفومتریک) به شرح زیر است:
الف: کبد: تعداد هیاتوسیت ها در گروه تجربی نسبت به گروه شاهد افزایشی را نشان می داد که معنی دار نیست (جدول شماره ۲).

جدول ۳: بررسی کمی کبد، کلیه و طحال بعد از دریافت یک ماه کلریدروی درموش صحرایی نر بالغ (میانگین \pm انحراف معیار)

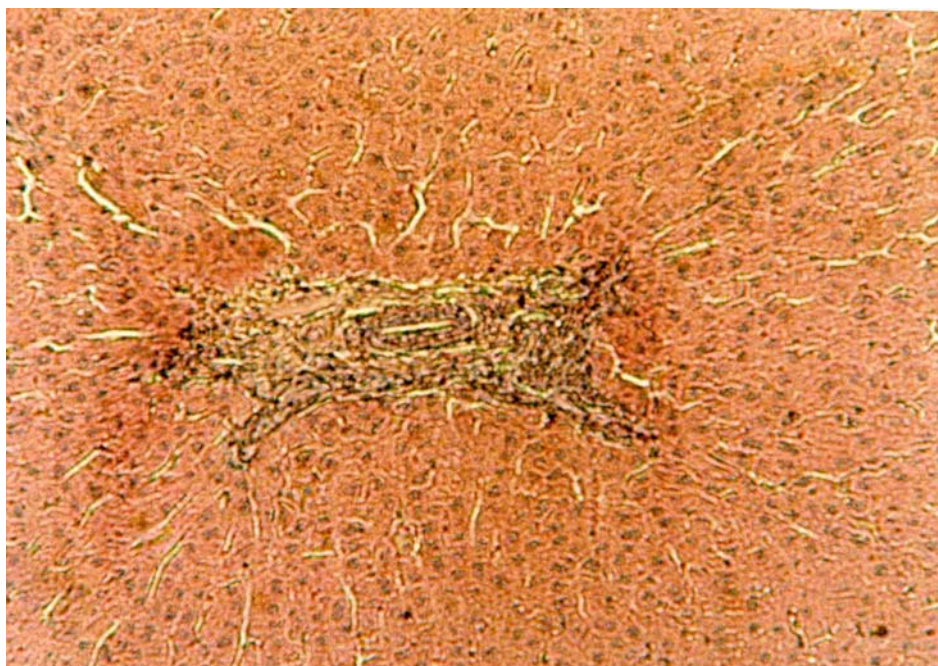
گروه های آزمایشی	تعداد هیاتوسیت ها درمیدان دید میکروسکوپ(کبد)	تعداد گلوامرول ها درمیدان دید میکروسکوپ(کلیه)	تعداد پالپ سفید درمیدان دید میکروسکوپ(طحال)
شاهد (Group I)	۴۵,۴ \pm ۶,۲۸	۲۸,۶ \pm ۵,۰۸	۱۱,۶ \pm ۲,۱۱
تجربی، ۱۰mg/kg (Group II)	47.1 \pm ۷,۲۷	** ۱۹,۷ \pm ۷,۲۷	۱۲,۸ \pm ۲,۱۹

T-Test

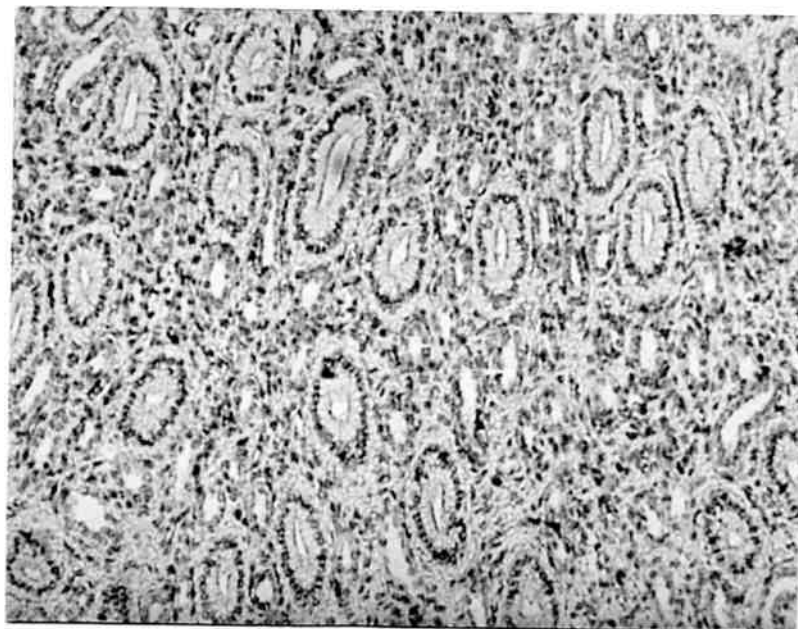
** $P < ۰,۰۵$

یعنی کلریدروی است (شکل ۱). در مطالعه میکروسکوپی کلیه نیز تغییرات عمده ای دیده نشد تعدادی هسته های پیکنوتیک در سلول های گلوامرولی مشاهده می شد. مطالعه میکروسکوپی طحال نیز تغییرات هیستوپاتوژیک مهمی را نشان نمی داد (شکل های ۲ و ۳).

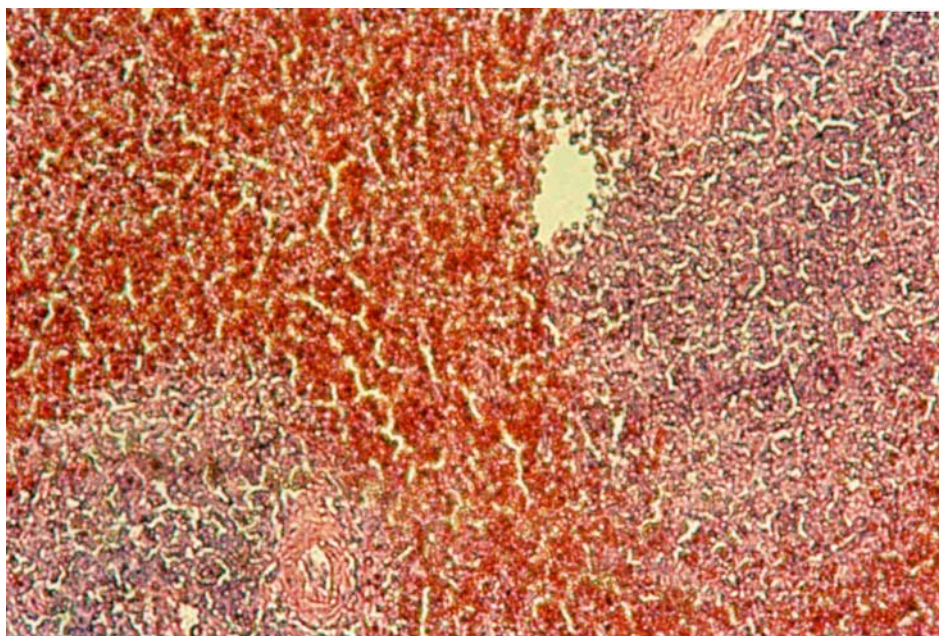
۴- مطالعات سلولی و بافتی (هیستوپاتولوژیک):
در مطالعات میکروسکوپی تغییرات خیلی زیادی در اندام های فوق دیده نمی شود، تغییرات افزایش چربی (Fatty Change) در سلول های کبدی خیلی کم دیده میشود، سلول های التهابی نسبتا فراوان در فضای پورت دیده می شود که می توان گفت مربوط به عامل ثانویه



شکل ۱: بخشی از کبد موش های تجربی و فضای پورت در شکل دیده می شود، ارتشاح سلول های التهابی فراوان در اطراف مجرای صفراوی وجود دارد (بزرگنمایی ۱۷۰۰ برابر، رنگ آمیزی هماتوکسین و ائوزین).



شکل ۲: قسمتی از بخش مرکزی (Medulla) کلیه موش های تجربی در شکل دیده می شود، همانطور که مشاهده می کنید تغییرات قابل توجهی وجود ندارد و لوله های هنله نرمال هستند (بزرگنمایی ۱۸۰۰ برابر، رنگ آمیزی هماتوکسین و ائوزین)



شکل ۳: قسمتی از طحال بابخش هایی از پالپ سفید و قرمز موش های تجربی در شکل دیده می شود، ساختمان طحال طبیعی است و تغییرات هیستوپالوژیکی در آن وجود ندارد (بزرگنمایی ۱۷۲۰ برابر، رنگ آمیزی هماتوکسیلین وائوزین)

بحث:

مطالعات نشان می دهد در اثر تزریق سولفات روی در موش صحرائی اختلالاتی در ترشح آنزیم های آلکالین فسفاتاز واسپاراتات آمینو ترانسفراز و آلانین ترانسفراز دیده می شود، حاکی از آسیب سلول های کبدی است (۱۴). گرچه در این مطالعه آنزیم های فوق سنجش نشده اند ولی آسیب سلول های کبدی در فوتومیکروگراف ها مشهود بود و با یافته های آنها موافق است. در این مطالعه اثرات روی بر بافت کلیه و طحال بسیار ناچیز بود مطالعات دیگر نیز نشان می دهد که روی آسیب های جدی به کلیه یا طحال وارد نمی کند فقط موجب افزایش وزن طحال می شود (۱۲). مطالعات ما نیز فقط تغییرات اندکی را در کلیه نشان می داد و آن عبارت از کاهش تعداد گلومرول ها در کلیه که می توان به خطا های پژوهش نسبت داد اما برای حصول نتایج دقیق تر نیاز به مطالعات تکمیلی به ویژه با میکروسکوپ الکترونی را توصیه می کنیم.

نتیجه گیری

در یک جمع بندی کلی می توان گفت: عنصر روی به عنوان Trace Elements برای واکنش های بدن ضروری است، ولی مقادیر بیش از اندازه آن در محیط زیست و بدن می تواند بافت هایی مانند کبد راتحت تاثیر

در این پژوهش اثرات مزمن فلزروی بر بافت های کبد، کلیه و طحال مطالعه شده است. نتایج مطالعه نشان می دهد در اثر تزریق کلرید روی بعد از یک ماه تفاوت وزن بدن موشها در گروه های تجربی و شاهد معنی دار نیست، شاید این عدم تاثیر کلرید روی را بر روی وزن بدن از امتیازات آن به شمار آورد. مطالعات نشان می دهد افزایش روی در بدن موجب افزایش وزن اندام هایی مانند کبد و فوق کلیه می شود (۱۳). در این مطالعه نیز افزایش وزن کبد در گروه تجربی نسبت به گروه شاهد معنی دار است. مطالعات میکروسکوپی اندام های مورد مطالعه نیز نشان داد که آسیبهای هیستوپاتولوژیک در کبد بیشتر است و بیافته های محققین فوق همخوانی دارد. با توجه به نقش بسیار مهم کبد در خنثی سازی سموم در داخل بدن اینگونه تغییرات دور از انتظار نبود. تغییرات بافتی و سلولی بیشتر از نوع آزار سلولی (Cell Injury) و برگشت پذیر هستند. از جمله این تغییرات عبارتند از: پیکنوزه شدن هسته سلول ها، افزایش سلول های التهابی، که با برداشتن عامل پاتولوژیک سلولهای می توانند دوباره فعالیت فیزیولوژیک خود را از سر بگیرند البته در طولانی مدت ممکن است تغییرات برگشت پذیر نباشند و سلول از بین برود. همچنین

- of zinc oxide fumes. *Nihon Kokyuki* 2003; 41(7):447-450 .
- 9- Park JD, Habeebu SS, Klaassen CD. Testicular toxicity of di-(2-ethylhexyl) phthalate in young Sprague-Dawley rats. *Toxicology*. 2002; Feb 28;171(2-3):105-115
- 10- Chen L, Ren WH, Zhu SL, Gao W, Zhou J, Jiang YZ, Gu Y. Effects of chronic cadmium loading on the testis and endocrine function of reproduction in male rats. *Sheng. Li Xue. Bao*. 2002; 54 (3) :258- 262
- ۱۱- دکتر مصطفی قانع، دکتر سید علی اصغر مشتاقی، دکتر زهرا چنگیزی، دکتر منیژه تختی، دکتر سید حسن سعادت. تأثیر استنشاق فلز روی در معدن بر عملکرد بعضی از دستگاه های بدن. فصلنامه دانشگاه علوم پزشکی لرستان (یافته): سال پنجم، شماره ۱۹ زمستان ۱۳۸۲
- ۱۲- دکتر مینا رستمی بشار، دکتر مهدی سلطانی و دکتر فرهنگ ساسانی. مطالعه اثرات هیستوپاتولوژی برخی از فلزات سنگین (سولفات مس، سولفات روی و سولفات جیوه - کلرید کادمیوم) بر بافت های ماهی کپور معمولی. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران؛ دوره ۵۵ شماره ۴؛ سال ۱۳۷۹
- 13- Waalkes MP. An ecotoxicological study of population of the white foot mouse (*Peromyscus Leucopus*) in haluting a polychlorinated biphenyls contaminated area. *Arch. Environ. Contam. Toxicol*. 1900;19 (2):283-290
- ۱۴- دکتر مختار مختاری، دکتر مهرداد شریعتی و نوشین گشمردی. تأثیر روی بر غلظت هورمون های تیروئیدی و آنزیم های کبدی در موش صحرايي نر بالغ مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی زنجان؛ دوره ۱۳ شماره ۴۵۱؛ سال ۱۳۸۴
- قرار دهد. اکثر این آسیب ها از نوع *Cell injury* هستند اگر عامل آسیب سلول برداشته شود برگشت پذیر خواهد بود و سلول ها می توانند ارگانل های آسیب دیده را ترمیم کنند و دوباره فعالیت فیزیولوژیک خود را از سر گیرند. حتی می توان گفت روی (Zn) بعلت رقابت با عناصری مانند آهن و مس می تواند جانشین آنها شود و اثرات پاتولوژیک خود را در اثر رقابت با فلزات مذکور یا عناصر دیگر دوظرفیتی مانند Ca^{+2} و Na^{+2} نشان دهد .

References:

- 1- Barceloux DG. Zinc. *J. Clin. Toxicol*. 1999; 37 (2):279 – 292
- 2- Donmez H, Dursun N, Ozkul Y, Demiratas H. Increased sister chromatid exchange in workers exposed to occupational lead and zinc. *Biol. Trace Elem. Res*. 1993; 61(1): 105-109
- 3- Batra N, Nehru B, Bansal MP. Reproductive potential of male portan rats exposed to various levels of lead with regard to zinc status . *Br. J. Nutr*. 2004 ; 91(3):387-391
- 4- Ajavi OB, Oduyuga A. Effect of low – zinc status and essential fatty acid deficiency of activities of aspartate aminotransferase and alanine amino transferase in liver and serum of albino rats. *Nahrung*. 2004; 48(2):88-90
- 5- Rodriguez, H. 65 Zn uptake from Blood in to brain and other tissues in the Rat. *Neurochem .Res*. 1990; 15 (10): 1003 – 1008
- 6- Batra N, Nehru B, Bansal MP .Influence of lead and zinc on rat male reproduction at, biochemical and histopathological levels. *J. Appl. Toxicol*. 2002; 1(6); 507-512
- 7- Limdi J, Hyde G. Evaluation of abnormal liver function tests. *Postgrad. Med. J*. 2003 ; 79:307-312
- 8- Taniguchi H, Suzaki K, Fujisaka S. Diffuse alveolar damage after inhalation