Archive of SID

اثر اتانول بر سلول‌های پانکراس در موش بالغ

دکتر حسن مفیدپور[۱]- دکتر مختار جعفرپور[۲]- دکتر سیدعباس طباطبائی یزدی[۳]- دکتر سید حسن علوی[۴]

چکیده

زمینه و هدف: یکی از موادی که به دنبال مصرف بی‌رویه، اثرات سوء و مخربی بر روی اعضای مختلف بدن بر جای می‌گذارد، الکل است. این عوارض بر اندامهایی چون مری، معده، کبد، قلب، سیستم عصبی و ... مورد تحقیق قرار گرفته است و این تحقیقات همچنان ادامه دارد؛ اما در مورد پانکراس، تحقیق کمتری گزارش شده است. مطالعه حاضر با هدف تعیین اثر اتانول بر سلول‌های پانکراس انجام شد.

روش بررسی: در این مطالعه مداخله‌گر و آزمایشگاهی، ۲۰ رأس موش نر بالغ از نژاد Balb/C انتخاب و به طور تصادفی به دو دسته ۱۰تایی (مورد و شاهد) تقسیم شدند. برای نمونه‌های گروه مورد به مدت ۳ هفته هر روز در ساعت ۸ صبح و ۴ بعد از ظهر مقدار ۱۵mg/g الکل به صورت داخل صفاقی تزریق گردید و برای نمونه‌های گروه شاهد طی همین مدت و به اندازه حجم مشابه، نرمال‌سالین تزریق شد. پس از پایان دوره تزریق، پانکراس نمونه‌های هر دو گروه خارج و پس از شستن در سرم فیزیولوژی به مدت ۴۸ ساعت در فرمالین ۱۰٪ جهت فیکس شدن قرار داده شدند. برای شفاف‌کردن نمونه‌ها، از گزیلل و برای آغشته شدن از پارافین مذاب به مدت معین استفاده گردید. برای برش‌زدن از میکروتوم استفاده شد و برشهایی به ضخامت ۵ میکرون از هر نمونه تهیه و مقاطع به روی لام منتقل شدند؛ لام‌ها به روش هماتوکسیلین- ائوزین (H&E) رنگ‌آمیزی و برای مطالعه و بررسی با میکروسکوپ نوری آماده شدند.

یافته‌ها: در لام‌های گروه شاهد، تغییری مشاهده نگردید و طرح کلی بافت پانکراس در نواحی اگزوکرین و اندوکرین طبیعی بودند. در لام‌های گروه مورد، تغییر چربی (Fatty Change) موضعی در نواحی مختلف اگزوکرین پانکراس، به صورت واکوئول‌های چربی در اندازه‌های متفاوت دیده شد؛ همچنین در گروه مورد در اطراف عروق و بافت همبندی لابه‌لای غدد اگزوکرین و جزایر لانگرهانس التهاب مزمن با عروق متسع و ارتشاح لنفوسیت و پلاسموسیت وجود داشت.

نتیجه‌گیری: این پژوهش نشان داد که اتانول به طرق مختلف می‌تواند باعث آسیب و ایجاد استئاتوز در پانکراس شبیه کبد، پانکراتیت حاد، انسداد مجاری توسط توپی‌های پروتئینی، فیبروز و پانکراتیت مزمن گردد.

کلید واژه‌ها: پانکراس؛ اتانول؛ موش؛ پانکراتیت؛ تغییر چربی

افق دانش؛ مجله دانشکده علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی گناباد (دوره ۱۰؛ شماره ۴؛ سال ۱۳۸۳)

---

۱ نویسنده مسؤول؛ استادیار گروه آموزشی علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد

آدرس: مشهد- خیابان دانشگاه- دانشکده پزشکی- گروه علوم تشریحی

تلفن: ۳-۸۵۴۴۰۸۱-۰۵۱۱ دورنگار:: ۸۵۹۱۹۲۲-۰۵۱۱

۲ استادیار گروه آموزشی علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد

۳ استادیار گروه آموزشی آسیب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد

۴ استادیار گروه آموزشی علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

اتانول به عنوان یکی از شناخته‌شده‌ترین عوامل خطرساز در بیماریهای مختلف همواره مورد توجه بوده است. استفاده روزافزون این ماده در کشورهای غربی بخصوص آمریکا و انگلیس میزان ضایعات پانکراس مانند پانکراتیت حاد حاصل از الکلیسم را تا ۶۵٪ بالا برده است (۱)؛ البته عوامل دیگری غیر از الکل در ایجاد پانکراتیت وجود دارد که مورد بحث این مقوله نمی‌باشد.

خوشبختانه در کشور ما به دلیل فرهنگ حاکم بر جامعه و اعتقادات دینی و مذهبی، مصرف الکل شیوع بسیار کمی دارد. الکل بعد از تجویز خوراکی یا تزریقی به سرعت وارد کبد می‌شود؛ ضمن آن که مقداری از آن بدون تغییر از طریق ادرار، عرق و تنفس دفع می‌شود (۱-۳). حدود ۹۰٪ الکل در کبد به استالوئید و سپس به استات متابولیزه می‌شود. اتانول به طور شایع عامل اتیولوژیک اولیه یا یکی از چند عامل مرتبط با دیسفانکشن مری است (۳). مصرف بی‌رویه الکل موجب شکسته‌شدن سدّ مخاطی در معده و نیز گاستریت حاد و مزمن می‌شود (۱). الکل باعث سوء جذب در روده کوچک و اسهال مزمن می‌گردد (۱). اتانول در کبد باعث تغییر چربی و هپاتیت سیروز می‌گردد. الکل یک سرکوب‌گر اولیه سیستم اعصاب مرکزی است؛ بر روی دستگاه قلبی- عروقی اثرات منفی دارد و باعث نارسایی قلبی- عروقی چون آریتمی، کاردیومیوپاتی، سکته هموراژیک و افزایش فشار خون سیستولیک و دیاستولیک می‌شود؛ همچنین باعث کاهش قدرت عضلات اسکلتی و صدمات برگشت‌ناپذیر آنها می‌گردد. الکل باعث احساس گرما و افزایش تعریق می‌شود. اتانول آزادسازی وازوپرسین را از بخش خلفی هیپوفیز مهار می‌کند و باعث افزایش دیورز می‌گردد؛ علاوه بر این موارد الکل باعث فقدان تدریجی پروتئین‌ها، ویتامین‌ها و مواد معدنی می‌شود و بدن را نسبت به عوارضی ناشی از کمبودهای تغذیه‌ای مستعد می‌نماید (۲، ۴-۶). الکل بر جنین، غدد و دستگاه ایمنی تأثیر سوء و مخرب می‌گذارد (۷،۵،۴). در مورد پانکراس باید متذکر شد که شایعترین علل پانکراتیت حاد و مزمن مصرف زیاد الکل است که با درد شکم، تهوع، استفراغ و افزایش سطوح ادراری آنزیم‌های پانکراس مشخص می‌گردد.

پانکراتیت حاد در دو سوم بیماران به مزمن تبدیل می‌شود و یا پانکراتیت هموراژیک ایجاد می‌نماید که عوارضی همچون شوک، نارسایی کلیوی، تنفسی و مرگ به همراه خواهد داشت. بیماران مبتلا به پانکراتیت مزمن به علت درد مزمن ممکن است از اوپیوئیدها استفاده نمایند که این خود خطر ابتلا به اعتیاد را افزایش می‌دهد (۹،۸).

پانکراتیت حاد علل مختلفی دارد ولی آنچه که مربوط به مصرف زیاد الکل می‌باشد، آسیب همیشگی به سلول‌های آسینار است که از نظر بالینی و بافت‌شناسی طیفی از یک پانکراتیت خفیف تا شکل شدیدتر و هموراژیک و مزمن را در بر می‌گیرد؛ به هر حال روند و عللی که به وسیله آن الکل به سلول‌های آسینار صدمه می‌زند و آن را پیش می‌برد، ناشناخته باقی مانده است (۳). مصرف الکل منجر به ترشح شیره لوزالمعده غنی از پروتئین و در نتیجه منجر به رسوب توپی‌های غلیظی از پروتئین می‌شود؛ این امر باعث انسداد مجاری کوچک پانکراس می‌گردد (۱۰،۱).

مورفولوژی پانکراتیت حاد ناشی از عمل آنزیم‌های پانکراس می‌شود که در نسج آن رها می‌شوند و باعث تغییراتی از جمله نشست مایع از عروق کوچک و ایجاد ادم، نکروز چربی توسط آنزیم‌های لیپولیتیک، واکنش‌های التهابی، تخریب پروتئولیتیک بافت پانکراس و عروق و هموراژی می‌گردد که همه این موارد به شدت وضعیت بیماری بستگی دارد؛ در موارد شدیدتر نکروز آسینی‌ها و مجاری و جزایر لانگرهانس نیز مشاهده می‌شود. در نمای ماکروسکوپی نیز بعضی نواحی از هموراژی به رنگ آبی و سیاه و در بین آنها مناطقی از نکروز چربی گچ مانند به رنگ زرد و سفید وجود دارد (۱).

مطالعه حاضر با هدف تعیین تغییرات احتمالی در نسج پانکراس در اثر تزریق و مصرف الکل به عنوان یک ماده آسیب‌رسان انجام شد.

روش بررسی

در این مطالعه مداخله‌گر و آزمایشگاهی، ۲۰ رأس موش نر بالغ از نژاد Balb/C از اتاق حیوانات بخش فیزیولوژی- فارماکولوژی بیمارستان قائم وابسته به دانشگاه علوم پزشکی مشهد انتخاب و از آنها در شرایط استاندارد (۱۲ ساعت نور، ۱۲ ساعت تاریکی با دمای ۲۴± درجه سانتیگراد و آب و غذای کافی) نگهداری شد. موشها به طور تصادفی در دو گروه مورد و شاهد (در هر گروه ۱۰ موش) تقسیم گردیدند.

برای نمونه‌های گروه مورد، به مدت ۳ هفته هر روز در ساعت ۸ صبح و ۴ بعدازظهر مقدار ۱۵mg/g الکل به صورت داخل صفاقی

www.SID.ir

Archive of SID

تزریق گردید و برای نمونه‌های گروه شاهد طی همین مدت و به اندازه حجم مشابه، نرمال سالین تزریق شد (۱۱،۸،۷).

برای تهیه میزان مورد نیاز الکل، مقدار ۳ گرم الکل مطلق با نرمال‌سالین رقیق گردید و به ۱۰۰ سی‌سی رسید؛ در هر سی‌سی از محلول فوق ۳۰ میلیگرم الکل وجود داشت که در دو نوبت صبح و عصر مقدار ۰/۵ سی‌سی به وسیله سرنگ انسولین به موش‌ها تزریق گردید (۱۲).

پس از پایان دوره تزریق، موش‌ها به آزمایشگاه میکروآناتومی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مشهد منتقل و با استفاده از کلروفورم بیهوش شدند؛ موش‌ها پس از باز کردن شکم و سینه و قطع شریان آئورت از قید حیات خارج شدند؛ سپس پانکراس هر دو گروه خارج گردید و پس از شستن در سرم فیزیولوژی به مدت ۴۸ ساعت در فرمالین ۱۰٪ جهت ثابت‌شدن قرار داده شدند. پس از آن جهت آبگیری، نمونه‌ها از الکل‌های با درجات مختلف از کم به زیاد (۷۰–۸۰–۹۰–۱۰۰– ...) عبور داده شدند؛ مدت توقف در هر الکل، ۲ ساعت محاسبه گردید.

برای شفاف‌کردن نمونه‌ها، از گزیلل و برای آغشته شدن از پارافین مذاب به مدت معین استفاده گردید تا پارافین پس از نفوذ به داخل بافتها جای آب از دست رفته را بگیرد؛ سپس قالبگیری انجام و در هر قالب یک نمونه جای گرفت؛ در مرحله بعدی برای برش‌زدن از میکروتوم استفاده شد و برشهایی به ضخامت ۵ میکرون از هر نمونه تهیه گردید و مقاطع به روی لام منتقل شدند.

لام‌ها با استفاده از روش هماتوکسیلین– ائوزین (H&E) رنگ‌آمیزی و برای مطالعه و بررسی با میکروسکوپ نوری آماده شدند (۱۳).

یافته‌ها

با توجه به هدف این بررسی، از میان لام‌های تهیه‌شده که متجاوز از ۱۰۰ عدد بودند، ۲۰ عدد از دو گروه مورد و شاهد انتخاب و به وسیله میکروسکوپ نوری مدل Nikon Labophet-2 به دقت مورد ارزیابی قرار گرفتند و تعدادی از آنها برای تصویربرداری انتخاب شدند.

در بررسی لام‌های گروه شاهد که نرمال سالین دریافت کرده بودند، تغییراتی مشاهده نگردید و طرح کلی بافت پانکراس در نواحی اگزوکرین و اندوکرین طبیعی بود (شکل ۱).

در لام‌های گروه مورد، تغییر چربی (Fatty Change) موضعی در نواحی مختلف اگزوکرین پانکراس، به صورت واکوئول‌های چربی در اندازه‌های متفاوت مشاهده شد (شکل ۲)؛ همچنین در اطراف عروق و بافت همبندی لابه‌لای غدد اگزوکرین و جزایر لانگرهانس، التهاب مزمن با عروق متسع و ارتشاح لنفوسیت و پلاسموسیت وجود داشت (شکل ۳ و ۴).

بحث و نتیجه‌گیری

با توجه به بررسی انجام شده، اثرات الکل بر اعضای بدن بویژه پانکراس، ثابت می‌کند که مصرف طولانی و بی‌رویه این ماده، چه به صورت استاندارد و یا دست‌ساز موجب ایجاد عوارض خطرناک و مهلک می‌نماید.

تأثیر این ماده بر روی لوزالمعده به چند طریق می‌تواند صورت گیرد:

اول این که مشابه اثر آن بر کبد می‌تواند سبب استئاتوز در پانکراس شود و با ایجاد انکلوزیون‌های ریز محصور در غشاء (لیپوزوم) که رابطه نزدیکی با رتیکولوم آندوپلاسمیک دارند، شروع شود؛ این عارضه به صورت واکوئول‌های کوچک و بزرگ در سیتوپلاسم سلول‌های آسینار مشخص می‌گردد (۱۳–۱۸)؛ همچنین می‌تواند با فرایندهای مختلفی باعث ایجاد پانکراتیت حاد شود؛ به عنوان مثال باعث ترشح شیره لوزالمعده غنی از پروتئین و رسوب توپی‌های غلیظ شده، شود و در مجاری کوچک نواحی اگزوکرین پانکراس منجر به انسداد مجاری گردد که خود می‌تواند باعث فعال شدن پروآنزیم‌های لوزالمعده و رهایی آنها در بافت بینابینی آن و ایجاد پانکراتیت شود. در این روند به نظر می‌رسد افزایش ترشحات پانکراس و انقباضی اسفنگتر اودی نیز از روندهای احتمالی این عارضه باشد (۱۷،۱۵).

الکل به طرق مختلف دیگری نیز می‌تواند باعث ایجاد پانکراتیت مزمن شود؛ به این ترتیب که منجر به انسداد مجاری کوچک توسط توپی‌های پروتئین و ایجاد سنگهای حاوی رسوبات کربنات کلسیم می‌شود؛ تنش (Stress) اکسیداتیو به وجود آمده ناشی از الکل می‌تواند با ایجاد رادیکال‌های آزاد در سلول‌های آسینار، در نهایت منجر به نکروز سلول‌های آسینار و التهاب و فیبروز در پارانشیوم لوزالمعده گردد (۱۶). با توجه به موارد مذکور پیشنهاد می‌گردد، اثرات مخرب مصرف بی‌رویه

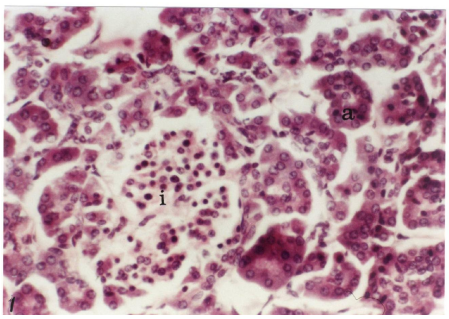
www.SID.ir

Archive of SID

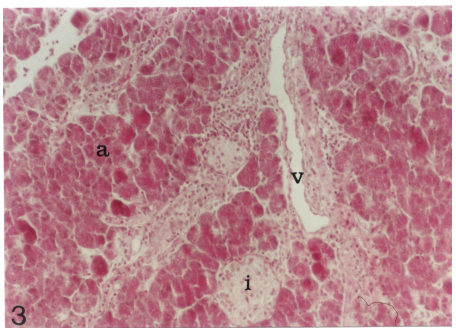
الکل از طریق رسانه‌های گروهی به اطلاع عموم رسانده شود تا از سوء مصرف آن که در طب و صنعت کاربردهای فراوانی دارد، جداً خودداری گردد. خوشبختانه در کشور ما و سایر ممالک اسلامی مصرف الکل حرام و گاهی بسیار کم و به صورت پنهانی انجام می‌گردد؛ در حالی که در کشورهای غربی و ظاهراً پیشرفته مصرف آن به صورت روزافزون رو به ازدیاد است و الکلیسم ناشی از آن متأسفانه موجب عوارض و بیماریهای مختلف جسمی و روحی و اجتماعی فراوانی شده است.

تشکر و قدردانی

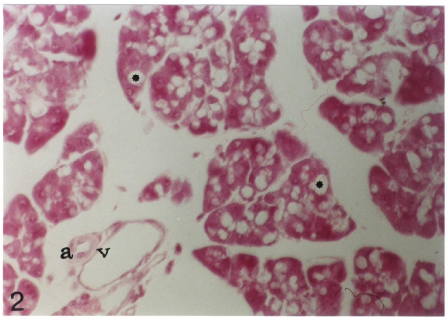
نویسندگان این مقاله بر خود لازم می‌دانند که از سرکار خانم فاطمه متجدد تکنسین آزمایشگاه میکروآناتومی در تهیه لام‌های مربوطه و سرکار خانم میرزایی و ربانی کارشناسان بخش ژنتیک که در تصویربرداری همکاری نمودند، تشکر و قدردانی نمایند.



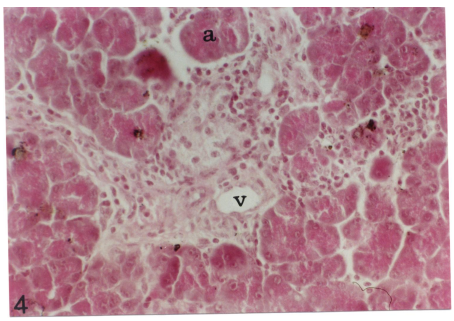
شکل ۱- پارانشیوم پانکراس طبیعی
a: آسینوس ترشحی، I: جزیره لانگرهانس (بزرگنمایی ۴۰۰ برابر)



شکل ۳ - التهاب مزمن در بافت پانکراس
(بزرگنمایی ۲۰۰ برابر)



شکل ۲- بافت پانکراس در نواحی اگزوکرین
وجود واکوئول‌های چربی در اندازه‌های مختلف با علامت ستاره کوچک در سیتوپلاسم سلول‌های آسینار نشانه Fatty Change در آن است.
a: شریان؛ v: ورید
(بزرگنمایی ۴۰۰ برابر)



شکل ۴- التهاب مزمن در بافت پانکراس
افزایش استروما با بافت فیبروتیک و عروق (v) متسع و ارتشاح لنفوسیت و پلاسموسیت در اطراف عروق و لابه‌لای بعضی آسینوس‌ها a: جزایر لانگرهانس؛ I: نشانه التهاب مزمن در پانکراس می‌باشد.
(بزرگنمایی ۴۰۰ برابر)

منابع:

1- Cotran R, Kumar V, Collins T. Robbins Pathologic Basis of Disease. 6th ed. Philadelphia: WB Saunders; 1999. P. 904-909.

2- Fleming M, Mihic SJ, Harris RA. In: Hardman J, Limbird L, Goodman Gilman A. The Pharmalogical Basis of Therapeutics. 10th ed. New York: McGraw-Hill; 2001. P. 429-36.

3- Bode JC, Bode C. Alcohol, the gastrointestinal tract and pancreas. Ther Umsch 2000; 57 (4): 212-19.

4- Harper JC, Littleton JM. Development of tolerance to ethanol in cultured adrenal chromaffin cells. Alcohol Clin Exp Res 1990; 14 (4): 508-12.

www.SID.ir

Archive of SID

5- Fink IJ, Girton M, Doppman JL. Absolute ethanol injection of the adrenal artery: hypertensive reaction. Radiology 1985; 154 (2) :357-58.

6- Pohorecky LA, Jaffe LS, Berkeley HA. Effects of ethanol on the adrenal medulla of the rat. Pharmacology 1974; 12 (6): 340-46.

7- Milovanovic T, Budec M, Balint-Peric L, Koko V, Todorovic V. Effects of acute administration of ethanol on the rat adrenal cortex. J Stud Alcohol 2003; 64 (5): 662-68.

8- Khisti RT, Kumar S, Morrow AL. Ethanol rapidly induces steroidogenic acute regulatory protein expression and translocation in rat adrenal gland. Eur J Pharmacol 2003; 473 (2-3): 225-7.

9- Emanuele MA, Wezeman F, Emanuele NV. Alcohol's effects on female reproductive function. Alcohol Res Health 2002; 26 (4): 274-81.

10- Chaturvedi M, Mali PC, Ansari AS. Induction of reversible antifertility with a crude ethanol extract of Citrullus colocynthis Schrad fruit in male rats. Pharmacology 2003; 68 (1): 38-48.

11- Eid NA, Shibata MA, Ito Y, Kusakabe K, Hammad H, Otsuki Y. Involvement of Fas system and active caspases in apoptotic signalling in testicular germ cells of ethanol-treated rats. Int J Androl 2002; 25 (3): 159-67.

12- Takizawa T, Imai T, Mitsumori K, Takagi H, Onodera H, Yasuhara K, et al. Gonadal toxicity of an ethanol extract of Psoralea corylifolia in a rat 90-day repeated dose study. J Toxicol Sci 2002; 27 (2): 97-105.

13- Bancroft JD, Stevnes A. Theory and Practice of Histological Techniques. 2nd ed. London: Churchill Livingston 1982.

14- Apte MV, Wilson JS. Stellate cell activation in alcoholic pancreatitis. Pancreas 2003; 27 (4): 316-20.

15- Wilson JS, Apte MV. Role of alcohol metabolism in alcoholic pancreatitis. Pancreas 2003; 27 (4): 311-5.

16- Purohit V, Russo D, Salin M, Brown R. Mechanisms of alcoholic pancreatitis: introduction and summary of the symposium. Pancreas 2003; 27 (4): 281-85.

17- Pandol SJ, Gukovsky I, Satoh A, Lugea A, Gukovskaya AS. Emerging concepts for the mechanism of alcoholic pancreatitis from experimental models. J Gastroenterol 2003; 38 (7): 623-28.

18- Stephan J, Gukovsky L. Alcohol and Pancreas. Alcohol Clin Exp Res 2001; 25 (5); 244-50.

www.SID.ir