مقاله تحقیقاتی

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی ارتش جمهوری اسلامی ایران

سال چهارم ● شماره ۱ ● صفحات ۷۲۵ تا ۷۲۸ ● بهار ۱۳۸۵

بررسی اثرات مزمن سولفور موستارد (گاز خردل) بر روی پارانشیم کبد رت نر

*دکتر احمد ذاکری فر[۱]، لعیا قهاری[۲]

چکیده

سابقه وهدف :سولفور موستارد تحت عنوان گاز خردل در جنگ علیه ایران بکار گرفته شد و این گاز از جمله گروه مواد تاول زا بوده و از طریق آلکیله کردن عوامل موجود در بدن انسان باعث فلج شدن اعمال فیزیولوژیک و اختلال در کارکرد غشاء سلولی و در نتیجه انهدام سلولها میگردد. در این مطالعه تاثیر سه دوز متفاوت از سولفور موستارد بر روی پارانشیم کبد موش بزرگ آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روشها: در این تحقیق ۸۰راس رت نر بالغ، سه ماهه، از نژاد NMARI در ۸ گروه آزمایشی مورد مطالعه قرار گرفت . گروههای مورد بررسی شامل: نرمال، حلال و سولفور موستارد با دوزهای ۲/۵ mg / kg و ۵ mg / kg و ۱۰mg / kg بوده است . تزریقها در ناحیه ایلیاک راست و بصورت داخل صفاقی(IP) صورت گرفت وگروههای مذکور بعد از سپری شدن ۲ و ۸ هفته بیهوش گشته و بعد از نمونه برداری از دو نقطه مشخص و یکسان، در همه نمونه ها در فرمالین ۱۰ درصد قرار داده شد و پس از سپری شدن مراحل پاساژ بافتی با رنگ آمیزهای HE و PASمورد بررسی قرار گرفتند .

یافته ها : یکی ازعوارض قابل مشاهده درگروه آزمایشی ۲/۵ mg / kg دیلاتاسیون و پرخونی ورید مرکز لبولی،محو شدن حدود سیتوپلاسم، هیپرکرومازی هسته هپاتوسیت ها و بعضا متورم شدن سلولها و پرخونی سینوزوئیدها می باشد. در گروه آزمایشی ۵ mg/kg بهم خوردگی نظم سلولهای کبدی و طرح لبولی کبد ، متورم شدن بعضی از هپاتوسیت ها ، پرخونی و دیلاتاسیون چشمگیر سینوزوئیدها می باشد. در گروه آزمایشی۱۰mg / kg بهم خوردن نظم قرار گیری هپاتوسیت ها و آرایش لبولی کبد ، دیلاتاسیون و پرخونی سینوزوئیدها و ورید مرکز لبولی ، پیدایش واکوئل ها ی حاوی چربی در سیتوپلاسم هپاتوسیت ها ، از بین رفتن حالت یکنواختی سیتوپلاسم ، همچنین متورم شدن و پیکنوز هپاتوسیت ها می باشد. این تحقیق، کاهش میزان گلیکوژن را در گروههای آزمایشی ۵ mg / kg و ۱۰mg / kg با رنگ آمیزی PAS نشان میدهد.

نتیجه گیری: سولفور موستارد بعنوان یک عامل آزار رسان بر کارکرد کبد شناخته شد که موجب اختلال عملکرد در آن میشود . نتایج بدست آمده حاکی از آن می باشد که آسیب سلولهای کبدی در دوزها و زمانهای متفاوت ، یکسان نمی باشد و بنظر میرسد هرچه دوز عامل بالاتر بوده و زمان در معرض قرار گیری طولانی تر باشد، آسیب شدید تر خواهد بود.

کلمات کلیدی : سولفور موستارد، رت، کبد

۱ - استادیار، دانشگاه علوم پزشکی ارتش جمهوری اسلامی ایران، دانشکده پزشکی،گروه آسیب شناسی، مرکز آموزشی- درمانی ۵۰۱ (* نویسنده مسئول)

۲- مربی، دانشگاه علوم پزشکی ارتش جمهوری اسلامی ایران، دانشکده پزشکی،گروه بافت شناسی

www.SID.ir

مقدمه

گاز خردل شناخته شده ترین عامل گروه مواد تاول زا می باشد که در سال ۱۸۲۲ توسط Despretz سنتز گردید(۱). گاز خردل بصورت مایع روغنی شکل بی رنگ تا کهربایی با واکنش خنثی می باشد و از لحا ظ فیزیکی و شیمیایی یک ماده تقریبا پایدار است(۲). حلالیت این گاز د ر مواد آلی بسیار خوب است . گاز خردل در نوع خالص بدون بو می باشد ولی به علت همراه بودن با ناخالصی ها مانند سولفور اتیل بوی سیر می دهد.

گاز خردل در گروه مواد آلکیله کننده قرار دارد. این مواد ترکیباتی هستند که از طریق آلکیله کردن عوامل موجود در بدن انسان همچون عوامل نوکلئوفیل(مثل آنزیمها، پروتئین های غشاء سیتوپلاسم و هسته) که در تمام قسمتهای سلول قرار دارند، باعث فلج شدن اعمال فیزیولوژیک ازقبیل وقفه گلیکولیز، سنتز پروتئین واسیدهای نوکلئیک، اختلال درکارکرد غشاء سلولی ودرنتیجه مرگ سلولها می گردند(۲،۱). Sasser LB و همکاران در خصوص اثرات سولفور موستارد در رات مشاهده نمودند که فعالیت میتوتیک سلولها افزایش یافته و از طرفی تغییرات دژنراتیو نظیر متراکم شدن و پیکنوز هسته و همچنین واکوئل های پارانوکلئولا رایجاد میگردد (۵-۳). واز آنجایی که کبد محل دفع برخی از متابولیتهای مواد سمی و غیر سمی می باشند بر آن شدیم تا اثرات سولفور موستارد را در پارانشیم کبد مطالعه نماییم.

مواد و روش ها

حیوان آزمایشگاهی : تعداد ۸۰ راس رت نر از نژاد NMRI از موسسه رازی خریداری شدند که تمامی آنها سه ماهه با حداقل وزن ۲۰۰ گرم بودند .

جهت بدست آوردن دوزهای مختلف از عامل HD میبایست حلالی انتخاب میشد که اثرات سمی و یا تحریک ایمونولوژیک نداشته باشد تا اثر عامل اصلی HD بوضوح مشخص شود . جهت حل این مهم از بافر تیرودز استفاده شد. برای شروع، رتها با مشخصات فوق به ۸ دسته ۱۰ تایی دسته بندی شدند که گروههای مذکورعبارت بودند از :

۱ - گروه حلال

۲ -گروه نرمال

۳ - گروه آزمایشی 1A با دوز ۲/۵ mg/kg عامل در مدت زمان ۲ هفته

۴ - گروه آزمایشی 2 A با دوز ۲/۵ mg/kg عامل در مدت زمان ۸ هفته

۵ - گروه آزمایشی 1 B با دوز ۵ mg/kg عامل در مدت زمان ۲ هفته

۶ - گروه آزمایشی 2 B با دوز ۵ mg/kg عامل درمدت زمان ۸ هفته

۷ - گروه آزمایشی 1C با دوز ۱۰ mg/kg عامل در مدت زمان ۲ هفته

۸ - گروه آزمایشی 2 C با دوز ۱۰ mg/kg عامل در مدت زمان ۸ هفته

بدلیل خطرناک بودن عامل، به واسطه حجم، دوز مورد نظر تنظیم گردید .

بدین ترتیب در یک ویال کوچک ۴ml بافر تیرودز بوسیله سرنگ میکرولیتری مدل MS- ۱۰u آماده نموده ودر آن بمیزان نیاز عامل وارد نموده وبرای تزریق آماده شد .

پس از آماده سازی محلول و تعیین دوز مورد نظر رتها را به صورت کاملا تصادفی انتخاب کرده و در داخل بشری که محتوی پنبه آغشته به اتر است قرار داده پس از آنکه بیهوشی حاصل گشت روی میز کار حیوان به پشت خوابانده شد و تزریق از بالای ران به داخل حفره صفاق انجام شد و سرنگ در محلول هیپو کلریت کلسیم (این پودر دارای خلوص ۶۴٪ بوده و هنگام ترکیب با عامل یک واکنش گرمازای شدید ی ایجاد کرده و ترکیب آن را تغییر میدهد) انداخته شد. جهت اینکه محلول در محوطه شکم قرار گیرد و وارد اعضای دیگر نشود تزریق با زاویه ۴۵ درجه انجام شد .بعد از علامت گذاری رتها درون قفس قرار گرفته و مشخصات آنها روی قفس ثبت گردید. رتها در قفسهای سه تایی و ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی نگهداری شدند و غذا و آب به طور آزادانه در اختیار آنهاقرار گرفت. درجه حرارت ۲۲ درجه سانتیگراد و میزان رطوبت ۴۷ درصد که برای تمامی رتها یکسان بود. زمان تشریح ۲ و ۸ هفته پس از تزریق بود که پس از سپری شدن آن رتها را بیهوش نموده و آنقدر بیهوشی را ادامه داده تا بمیرد سپس رتها را به زیر هود منتقل نموده و دو نمونه از کبد جدا نموده و پس از توزین در محلول فرمالین ۱۰ درصد قرار گرفت. نمونه های آماده پس از طی مراحل بافتی با HE رنگ آمیزی شده و برای مطالعات میکروسکوپی آماده شد .

یافته ها

یکی از عوارض قابل مشاهده درگروه آزمایشی ۲/۵ mg/kg دیلاتاسیون و پرخونی ورید مرکز لبولی، محوشدن حدود سیتوپلاسم، هیپرکرومازی هسته هپاتوسیت ها و بعضا متورم شدن سلولها و پر خونی سینوزوئیدها می باشد. در گروه آزمایشی ۵ mg/kg بهم خوردگی نظم سلولهای کبدی و طرح لبولی کبد، متورم شدن بعضی از

Archive of SID

www.SID.ir

هپاتوسیت ها ، پرخونی و دیلاتاسیون چشمگیر سینوزوئیدها می باشد .در گروه آزمایشی ۱۰ mg/ kg بهم خوردن نظم قرار گیری هپاتوسیت ها و آرایش لبولی کبد ، دیلاتاسیون و پرخونی سینوزوئیدها و ورید مرکز لبولی ، پیدایش واکوئل های حاوی چربی در سیتوپلاسم هپاتوسیت ها ، از بین رفتن حالت یکنواختی سیتوپلاسم ، همچنین متورم شدن و پیکنوز هپاتوسیت هامی باشد. در بررسی با رنگ آمیزی اختصاصی PAS در گروههای آزمایشی ۵ mg/ kg و ۱۰ mg/ kg میزان گلیکوژن کاهش نشان میدهد.

بحث و نتیجه گیری

سولفور موستارد بعنوان یک عامل آزار رسان بر کارکرد کبد اثر میگذارد. Akitakanonamura وهمکاران در سال ۱۹۹۱ گزارش نمود که اگر در ورید مرکز لبولی دیلاتاسیون و پرخونی مشاهده شود نشاندهنده التهاب در بافت است. درتحقیقات ما نیز دیلاتاسیون وپرخونی دیده شد که با گزارش بالا هماهنگی دارد.

بررسیهای ما وجود هپاتوسیتهای واکوئله را در گروه آزمایشی ۵ mg/ kg و ۱۰ mg/ kg نشان میدهد که نشانگر دژنرسانس در سلولهای کبدی می باشد(۶). Dacre و Goldman با مطالعه ای که بر روی سولفور موستارد انجام دادند گزارش کردند که کروماتین هسته متراکم وپیکنوتیک گشته و در اطراف هسته واکوئل های پارانوکلئر دیده شده است که با نتایج بدست آمده از گروه آزمایشی ۱۰ mg/ kg ما مطابقت دارد (۲).متورم شدن هپاتوسیتها و وجود واکوئل های چربی در گروههای ۵ mg/ kg و ۱۰ mg/ kg ما با نتایج ارائه شده توسط Dacre و همکارانش که گزارش نمودند در اثر سولفور موستارد تورم در هپاتوسیتها و کبد چرب ایجاد می شود ، مطابقت دارد(۲). Sugendran و همکاران تحقیقاتی در مورد میزان گلیکوژن و قند خون بعد از اثر سولفور موستارد انجام دادند و گزارش کردند که در اثر سولفور موستارد مهار گلیکولیز در ناحیه آسیب دیده و مرگ سلولی ایجاد میگردد و همچنین اظهار داشتند که نسبت گلیکوژن در کبد کاهش یافته بدون آنکه تغییری در مغز، عضلات و کلیه بجای گذارد(۷). تحقیقات ما نیز کاهش میزان گلیکوژن را در گروههای آزمایشی ۵ mg/ kg و ۱۰mg/ kg با رنگ آمیزی PAS نشان می دهد. نتایج بدست آمده از مطالعه ما حاکی از این مطلب می باشد که آسیب سلولهای کبدی در دوزها و زمانهای متفاوت ، یکسان نمی باشد و بنظر میرسد هرچه‌دوز عامل بالاتر بوده و زمان در معرض قرار گیری طولانی تر باشد، آسیب شدید تر است.

پیشنهاد میگردد که مطالعات وسیعتر بالینی بر روی افراد آسیب دیده با گاز خردل صورت گیرد. با توجه به تاثیر نامطلوب سولفور موستارد بر روی کبد ، جهت افرادی که تحت تاثیر این گاز قرار میگیرند می بایست بطور مرتب آزمایشات آنزیمی کبدی انجام گیرد و در صورت اختلال در تستهای کارکردی کبدی انجام بیوپسی کبد جهت پیگیری و تشخیص ضایعات جدی تر ضروری بنظر می رسد.

References

۱. الیاسی حسین. آسیب بدنی در جنگ خردل گوگردی، چاپ اول، تهران: مرکز اطلاع رسانی و خدمات علمی جهاد سازندگی ، ۱۳۷۲.

2. Dacre JC, Goldman F.Toxicology and pharmacology of sulfur mustard , Pharmacol J. 1996; 2: 290 – 320.

3. Sasser LB , Cushing JA , Dacre JC. Dominant lethal study of sulfur mustard in male and female rats , J Appl Toxicol. 1993; 13(5):359-68.

4. Sasser LB , Cushing JA , Dacre JC. Two-Generation reproduction study of sulfur mustard in rats. Reprod Toxicol. 1996;10(4) : 311-9.

5. Sasser LB , Miller RA , Kalkwarf DR. Sub chronic toxicity evaluation of sulfur mustard in rat. J Appl Toxicol. 1996; 16 (1) : 5-13.

6. Cotan RS, Kumar V, Robbins ST. Robbins pathologic basis of disease, 5th ed, New York:WB Saunders Co., 1994.

7. Sugendran K , Jeevaratnam K , Husain K , Singh R , Srivastava D , Effects of topically applied sulfur mustard on tissue glycogen , blood glucose , lactate and private in mice. Indian J Physiol Pharmacol. 1992; 36(3):219-21.

8. Vojvodic V, Milosavljevic Z , Boskovic B , Bojanic N. The protective effect of different drugs in rats

Archive of SID
www.SID.ir

poisoned by sulfur and nitrogen mustard , fundam. Appl Toxicol. 1985; 5(6 pt 2):S 160-8.

9. Dube SN, Husain K , Sugendran K, Vijayaraghavan R , Somani SM , Dose response of sulphur mustard: behavioral and toxic signs in rats. Indian J Physiol Pharm. 1998; 42(3):389-94.

10. Kim YB, Lee YS, Chol DS, Cha SH, Sok DE. Change in glutathione S-transferase and glyceraldehydes-3-phosphate dehydrogenase activities in the organs of mice treated with 2-chloroethyl ethysulfide or its oxidation products. Food Chem Toxicol. 1996;34(3): 259-65.

Archive of SID

www.SID.ir

Chronic effects of mustard gas on liver parenchyma in rat

*Zakerifard A; MD [1], Ghahari L; MSc[2]

Abstract

Background: Sulfur mustard (bis (2-chloroethyl) sulfide) is a strong alkylating agent with known mutagenic and suspected carcinogenic properties.

Materials and methods: Eighty NMARI male rats, 3 months old, were divided into eight groups (10 in each groups), were injected with 2.5, 5 and 10 mg /kg sulfur mustard plus Tyrods buffer. Rats were kept under optimal hygienic condition, temperature 25°C , relative humidity 40 to 45% and light provided for a 12-h day/12-h night cycle. They were given water and rodent pellets. After 2 and 8 weeks rats were killed. The samples were fixed in formaldehyde solution (%10), were stained with H&E and PAS and were studied with light microscope.

Results: Increased blood cells in hepatic sinusoids, disappearance borders of liver lobules, irregulation of hepatic cord, apoptotic appearance of cells in lobule, and these signs were seen in 2/5 mg/kg (8 weeks), 5mg/kg (2 and 8 weeks) and 10 mg /kg (2 and 8 weeks) groups. Glycogen decreased in 5mg/kg (8 weeks) and 10 mg/kg (2 and 8 weeks) groups.

Conclusions: All of changes were dependent on dosage and time duration.

Key words: Liver, Rat, Sulfur mustard

Archive of SID

1- (*Corresponding author) Assistant professor, Army University of Medical Sciences, Faculty of Medicine, Department of Pathology, 501 Medical Center

2- Instructor, Army University of Medical Sciences, Faculty of Medicine, Department of Histology

www.SID.ir