



مقاله پژوهشی

تغییرات آنزیم‌های استرس اکسیداتیو و بافت کبد موش‌های نر صحرائی تحت تاثیر ریزگردهای شهرهای مختلف استان خوزستان

نجمه سلیمانی^۱، محمدرضا دایر^۲، طیبه محمدی^۳، حسن فریدنوری^{*۱}

۱- گروه سلولی و ملکولی، دانشکده زیست‌شناسی، دانشگاه دامغان، دامغان، ایران، کد پستی ۳۶۷۱۶۴۱۱۶۷

۲- گروه بیوشیمی، دانشکده زیست‌شناسی، دانشگاه شهید چمران، اهواز، ایران، کدپستی ۶۱۳۵۷۱۳۴۹۶

۳- گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران، کدپستی ۶۷۱۵۶۸۵۴۱۴

*مسئول مکاتبات: faridnouri@du.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۱/۰۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۸/۰۴

چکیده

شهر اهواز به دلیل ورود ریزگردها از کشورهای همسایه، به عنوان آلوده‌ترین شهر در جهان به شمار می‌رود که باعث اهمیت این مطالعه می‌شود. نتایج نشان داده است که هرچه ذرات کوچکتر شوند نفوذپذیری بیشتری پیدا می‌کنند و از فیلترهای تنفسی عبور کرده و باعث بیماری می‌شوند. در این مطالعه، تاثیر ریزگردها در شهرهای مختلف استان خوزستان بر هیستولوژی کبد و آنزیم‌های استرس اکسیداتیو در موش‌های صحرائی نر مقایسه شد. تعداد ۳۰ سر موش صحرائی بالغ نر در قالب شش گروه برابر، شامل گروه‌های کنترل، اهواز، رامهرمز، اندیمشک، آبادان و سوسنگرد تقسیم شدند و به مدت دو ماه تحت تیمار قرار گرفتند. نتایج آنالیز فعالیت آنزیم‌های استرس اکسیداتیو سرمی، فقط افزایش فعالیت آنزیم گلوکوتاتیون پراکسیداز را در گروه‌های رامهرمز و آبادان نشان داد. در بررسی هیستولوژی کبد بروز خونریزی، هاپریمیای خفیف و همچنین تغییراتی در سلول‌های هپاتوسیت مشاهده شد. مساحت هسته در ناحیه ورید مرکزی و مساحت هپاتوسیت در ناحیه باب و ورید مرکزی تغییرات معنی داری را نشان داد. همچنین تعداد سلول‌های کوپفر در منطقه باب کبد گروه‌های اهواز، آبادان و اندیمشک در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی داری داشتند. به نظر می‌رسد که وجود ترکیب متفاوت از نظر فلزات سنگین در ریزگردها تأثیرات متفاوتی بر پارامترهای فعالیت آنزیمی و کبدی دارند که این آثار بسته به مقدار و مدت مواجهه نمونه‌ها با ریزگردها متغیر می‌باشد.

کلمات کلیدی: ریزگردها، ایران، خوزستان، بافت کبد و استرس اکسیداتیو.

مقدمه

می‌شود که به نوبه خود ممکن است به سیستم تنفسی آسیب برساند و مقاومت در برابر عفونت‌های ویروسی و باکتریایی را کاهش دهد (۱۰). در ایران، به عنوان یک کشور در حال توسعه، از ابتدای صنعتی شدن در دهه ۱۹۷۰ سطح آلاینده‌های هوا به تدریج افزایش یافته است (۹) که در این میان شهر اهواز با حضور ریزگردها از کشورهای همسایه، به عنوان

در سال‌های اخیر، تعدادی از مطالعات نشان داده شده که آلودگی هوا می‌تواند یک عامل خطر مهم برای پیامدهای نامطلوب تنفسی و قلبی عروقی باشد. علاوه بر این، شواهدی مبنی بر ارتباط بین آلودگی هوا و عفونت‌های تنفسی وجود دارد. ثابت شده است که قرار گرفتن در معرض آلاینده‌های هوا باعث ایجاد استرس اکسیداتیو و در نتیجه تولید رادیکال‌های آزاد

ساختارهای چند ضلعی تحت عنوان لوبول کبدی که هر لوبول متشکل از طناب‌های سلولی کبدی است که در اطراف ورید مرکزی کبد قرار گرفته‌اند. در حد فاصل طناب‌های کبدی مویرگ‌های خاص کبدی یا سینوزوئیدها قرار دارند. در فواصل لوبول‌های کبدی نواحی باب قرار دارند که محل استقرار شریان کبدی، ورید باب و مجرای صفراوی کبدی است (۱۱ و ۱۶). سلول‌های کبدی هر لوبول بر اساس فاصله نسبت به ناحیه باب به سه منطقه تقسیم می‌شوند. نزدیکترین سلول‌ها به ناحیه باب سلول‌های منطقه ۱ (Z1) و دورترین سلول‌ها مربوط به منطقه ۳ (Z3) هستند. شکل ۱ طرحی از اثر ریزگردها بر کبد را نشان می‌دهد. عناصر نامحلول موجود در ذرات جامد ریزگرد یا نانوذرات ممکن است مستقیماً از لایه اپیتلیال آلوئولی به گردش خون انتقال یابند. نانوذرات هنگامی که در گردش خون هستند می‌توانند با سلول‌های کوبفر، که ماکروفاژهای کبد هستند، ارتباط برقرارکنند و منجر به تولید سیتوکین‌های پیش التهابی از طریق اینترلوکین‌ها مانند IL-6 و IL-1 β شوند و یا از طریق القاء پاسخ استرس سلولی، اثر سمیت سلولی مستقیم بر روی سلول‌های هپاتوسیت داشته باشند (۵ و ۱۶). ریزگردهای تنفس شده ممکن است در تماس با سلول‌های ایمنی یا سلول‌های اپی تلیال هوایی قرار گیرند و منجر به پاسخ ایمنی در ریه‌ها همراه با تحریک ترشح سیتوکین‌های پیش التهابی در جریان خون شوند. چنین محیط التهابی و سمیت می‌تواند اثر مستقیمی بر کبد داشته باشد و باعث بیماری‌های حاد و مزمن کبدی شود (۵).

در چند مدل حیوانی به وضوح نشان داده شده است که قرار گرفتن در معرض ریزگرد می‌تواند به طور مستقیم منجر به سمیت کبدی شود. مطالعات آزمایشگاهی Zhang و Meng بر روی مدل حیوانی،

آلوده‌ترین شهر در جهان به شمار می‌رود (۹). ریزگردها حاوی طیف وسیعی از ترکیبات یونی، فلزی و آلی مانند کاتیون‌ها یا آنیون‌های مختلف، فلزات سنگین از قبیل سرب، جیوه، آرسنیک، کادمیوم و.. می‌باشند (۱۴).

همچنین آلاینده‌های گازی از جمله دی‌اکسید نیتروژن، دی‌اکسید گوگرد، اوزن و مونوکسید کربن نیز در آن‌ها وجود دارد (۸). مکانیسم‌های متعددی برای توضیح اثرات سوء ذرات آلاینده بر سلامت انسان پیشنهاد شده است که شامل مکانیسم‌هایی مانند التهاب، اثرات آندوتوکسین، تحریک گیرنده‌های کپسازین، فعالیت خودکار سیستم عصبی، اثرات پیش انعقادی و تغییرات شیمیایی اجزای سلولی می‌باشد (۱۴). در این میان بیشترین تمرکز متوجه تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و ایجاد استرس اکسیداتیو بوده است. هومئوستازی ردوکس سلولی توسط سیستم دفاعی آنتی اکسیدان حفظ می‌شود که شامل آنزیم‌های آنتی اکسیدان و پروتئین‌ها می‌باشد. تولید بیش از حد ROS یا تضعیف ظرفیت آنتی اکسیدانی منجر به استرس اکسیداتیو می‌شود. استرس اکسیداتیو یک حالت ردوکس غیر تعادلی است که باعث کاهش نسبت گلوتاتیون (GSH)/گلیوتاتیون دی‌سولفید (GSSG) در سلول می‌شود. اما از نظر عملکردی پاسخ سلولی شامل تعدادی از سیگنال‌های حساس به ردوکس است که بطور آبخاری فعال می‌شوند. جفت ردوکس GSSG/GSH موجب تنظیم تعادل ردوکس می‌شود و به عنوان یک حسگر، واکنش استرس اکسیداتیو را در پی دارد که بسته به تغییر در سرعت و میزان این نسبت می‌تواند ماهیت مضر یا محافظ داشته باشد (۱۴ و ۱۶). اگر چه اندام اصلی مورد هدف ریزگردها، سیستم ریوی می‌باشد، اما نظریه‌های متفاوتی برای اثر ریزگردها بر بافت‌های غیر از ریه مانند کبد وجود دارد (۱۱) کبد بافتی است توپر تشکیل شده از

این طریق استرس احتمالی ناشی از تغییر محیط نگهداری و همین‌طور تغییر احتمالی شرایط فیزیولوژیکی حیوان مجدداً به وضعیت اولیه برگردانده شود. در طول مدت انجام این پژوهش حیوانات در شرایط مناسب، با دوره ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، درجه رطوبت مناسب و دمای $2 \pm$ ۲۳ درجه سانتیگراد نگهداری شدند. در این مدت برای تغذیه حیوانات از آب لوله کشی شهری و جو استفاده شد. موش‌ها در قفس‌هایی که از جنس پلی‌کربنات بودند، نگهداری شدند. در این مطالعه کلیه ملاحظات اخلاقی و پروتکل‌های کار بر روی حیوانات آزمایشگاهی رعایت گردید.

طرح آزمایش: حیوانات به‌طور تصادفی به شش گروه مساوی در قفس‌های جداگانه تقسیم شدند (پنج سر در هر قفس) و در پنج گروه کلی به شرح زیر بررسی شدند: گروه کنترل که هیچ تیماری را دریافت نکرده بودند و طی آزمایش فقط توسط آب آشامیدنی شهری و جو تغذیه می‌شدند و گروه‌های تحت تیمار (شامل چهار گروه) که با مقدار ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ریزگرد در ۵ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی به مدت دو ماه تزریق صفاقی شدند. طی این مدت وزن حیوانات هفته‌ای سه بار ثبت می‌شد و آب و غذای حیوانات هر روز مورد بررسی قرار می‌گرفت. همچنین هفته‌ای سه بار قفس حیوانات تمیز و با خاک اره مفروش می‌شد.

جمع‌آوری نمونه‌های خونی: پس از دو ماه تزریق، بعد از یک دوره گرسنگی ۱۲ ساعته تمام حیوانات با استفاده از دی‌اتیل اتر بیهوش شده و خون‌گیری از بطن چپ آن‌ها انجام گردید. برای سنجش پارامترهای سرمی نمونه‌های خون ۱۵ دقیقه پس از خون‌گیری با ۳۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند و سرم نمونه‌ها در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد کمتر از یک هفته ذخیره و نگهداری شد.

اثر سمیت گردوغبار بر کبد را تایید کردند که سبب آسیب اکسیداتیو در کبد می‌شود (۳ و ۱۷). با توجه به اهمیت ریزگردها در بحث سلامت جامعه به خصوص میزان بالای آلاینده‌ها در استان خوزستان، مقاله حاضر برای اولین بار به‌طور مقایسه‌ای به بررسی تأثیر ریزگردها بر روی آنزیم‌های استرس اکسیداتیو و تغییرات هیستولوژی بافت کبدی موش صحرائی نر به عنوان مدل حیوانی در بین شهرهای استان خوزستان می‌پردازد. در ادامه بحث‌های قبلی که به تأثیر ریزگردهای استان خوزستان بر آنزیم‌های کبدی، کلیه و سلول‌های خونی پرداخته شده است (۱)، (۱۸)

مواد و روش‌ها

از مواد و محلول‌های استفاده شده در این پژوهش می‌توان به محلول دی‌اتل اتر، فرمالین ۱۰ درصد و سرم فیزیولوژی اشاره کرد. از دستگاه الیزا، شرکت بایوتک ساخت کشور آمریکا برای سنجش آنزیم‌های استرس اکسیداتیو در این پژوهش استفاده شد.

جمع‌آوری نمونه: در زمان‌های اوج ورود ریزگردها به استان خوزستان، ذرات گرد و غبار از محیط‌های بسته مانند خانه، مدارس و مساجد در پنج شهر مورد نظر به ترتیب اهواز، رامهرمز، آبادان، اندیمشک و سوسنگرد جمع‌آوری شد. به این صورت که با یک برس نرم ذرات گرد و غبار جمع‌آوری و درون بطری‌های پلاستیکی درب‌دار کوچک ریخته شد. جمع‌آوری این نمونه‌ها تقریباً یک سال به طول انجامید.

نمونه حیوانی: در این پژوهش ۳۰ سر موش صحرائی نر نژاد ویستار با وزن ۱۸۰ تا ۲۵۰ گرم از مرکز حیوانات دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز تهیه شد. پس از انتقال حیوانات به محیط جدید، به مدت یک هفته در این محیط نگهداری شدند تا از

زمان در اثر فعالیت آنزیم کاتالاز موجود در نمونه استوار است. مولیبدات آمونیوم با پراکسید هیدروژن، کمپلکس زرد رنگی را تشکیل می‌دهد. جذب نوری نمونه‌ها و کنترل در مقابل بافر تریس - HCL در طول موج ۴۱۰ نانومتر به وسیله اسپکتروفتومتر میکروپلیت قرائت شد. میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در نمونه‌ها به وسیله معادله (۲) محاسبه شد.

$$(۲) \quad \text{جذب نوری کنترل} = \frac{\text{جذب نوری نمونه}}{\text{جذب نوری کنترل}} \times \text{فعالیت کاتالاز}$$

مقدار فعالیت هر واحد آنزیم طبق تعریف تولید یک میکرومول کمپلکس مولیبدات آمونیوم و پراکسید هیدروژن در مدت زمان یک دقیقه در نظر گرفته شد. اندازه‌گیری فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز به روش دستی و با استفاده از روش Kono انجام شد (۱۲). در این روش در اثر اکسیداسیون خود به خودی هیدروکسیل آمین، آنیون سوپراکسید تولید می‌شود که ترکیب نیتروبلو تترازولیوم (NBT) با سوپراکسید واکنش داده و رنگ قرمز فورمازان را تولید می‌کند. میزان جذب نوری چاهک‌ها در طول موج ۵۶۰ نانومتر خوانده شد. آنزیم SOD اثر مهارتی بر کاهش NBT دارد. در نهایت درصد فعالیت مهارتی این آنزیم با استفاده از معادله (۳) و مقادیر قرائت شده سنجیده شد. (جذب نوری کنترل A(c)، جذب نوری نمونه A(s):

$$(۳) \quad \% \text{Inhibition} = \frac{A(c) - A(s)}{A(c)} \times 100$$

طبق تعریف فعالیت هر واحد آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، تشکیل یک میکرومول کمپلکس آنیون سوپراکسید و نیتروبلو تترازولیوم در مدت زمان یک دقیقه در نظر گرفته شد.

بافت برداری از کبد: بعد از بی‌هوشی محوطه شکمی هر موش باز شد و کبد با استفاده از قیچی جدا گردید. ابتدا به وسیله نرمال سرم فیزیولوژی شستشو

سنجش آنزیم‌های استرس اکسیداتیو: تست برادفورد برای ارزیابی غلظت پروتئین تام در نمونه، مورد استفاده قرار می‌گیرد. اساس این روش، اتصال پروتئین به رنگ کوماسی تحت شرایط اسیدی است که منجر به رنگ قهوه‌ای به آبی می‌شود. در واقع در این روش حضور اسید آمینه بازی، آرژنین، لیزین و هیستیدین، که در شکل‌گیری کمپلکس رنگ-پروتئین نقش دارند، سنجش می‌شود. جذب این تست در ۵۹۵ nm اندازه‌گیری می‌شود (۴).

سنجش فعالیت گلوکاتیون پراکسیداز به روش Paglia و Valentin (۲۰) و با استفاده از کیت آزمایشگاهی Radox انجام گرفت. در این روش آنزیم گلوکاتیون پراکسیداز فرآیند اکسایش گلوکاتیون را به وسیله کومن هیدروپراکسید سرعت می‌بخشد. فرم اکسید گلوکاتیون در اثر فعالیت آنزیم گلوکاتیون ردوکتاز و در حضور NADPH بی‌درنگ به فرم احیا تبدیل و همزمان NADPH به NADP⁺ اکسید می‌گردد. کاهش شدت جذب محلول در طول موج فرابنفش در فاصله‌های زمانی متناوب با میزان فعالیت آنزیم رابطه دارد. پس از ریختن نمونه‌ها در میکروپلیت و انکوبه شدن میکروپلیت به مدت ۱ دقیقه در دمای اتاق، میزان جذب نوری اولیه در طول موج ۳۴۰ نانومتر خوانده شد. سپس با فاصله زمانی ۱ دقیقه، ۲ بار دیگر میزان جذب نوری قرائت شد. سپس با قرار دادن نتایج به دست آمده در فرمول زیر میزان فعالیت آنزیم محاسبه شد. مقدار هر واحد فعالیت آنزیم طبق تعریف تبدیل یک میکرومول NADPH به NADP⁺ طی زمان یک دقیقه بر اساس معادله (۱) محاسبه شد.

$$(۱) \quad \text{GPX (U/L)} = 8412 \times \Delta A_{340} \text{ (nm/min)}$$

اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم کاتالاز به روش Koroliuk و همکاران انجام گرفت (۱۳). اساس این آزمون بر میزان کاهش پراکسید هیدروژن در واحد

تفاوت بین گروه‌های مختلف آزمون تی مستقل و آنالیز واریانس انجام گردید. برای بررسی همبستگی بین گروه‌ها از ضریب پیرسون استفاده شد. در تمام این مقایسه‌ها p کمتر از ۰/۰۵ به عنوان اختلاف معنی دار تلقی گردید و یافته‌های به دست آمده به صورت میانگین \pm انحراف معیار بیان شده است.

تمام محاسبات به کمک نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ انجام شد و نمودارها به کمک نرم‌افزار اکسل رسم گردید.

نتایج

شکل ۱ به ترتیب فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) و گلوکاتایون پراکسیداز (GPX) را نشان می‌دهد. فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز در گروه‌های تیمار شده نسبت به گروه کنترل تغییر چشمگیری نداشته است. فعالیت آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز در گروه‌های اهواز و سوسنگرد کاهش یافت که این کاهش از نظر آماری تنها در گروه سوسنگرد با اختلاف کمی معنی‌دار بود، در حالی که فعالیت این آنزیم در گروه‌های رامهرمز و آبادان افزایش معنی‌داری داشت ($p < 0.05$).

همان‌گونه که در تصویر ۲ الف نشان داده شده است، در گروه کنترل تغییر بافتی مشاهده نشد. هپاتوسیت‌ها، سلول‌هایی درشت با هسته کروی یوکروماتین در مرکز و سیتوپلاسم اسیدوفیل مشخص می‌باشند که هسته را احاطه کرده‌اند. نتایج حاصل از هیستومتری کبد در ناحیه باب (Z_1) و ورید مرکزی (Z_3) در جدول ۱ نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود، تغییراتی در اندازه سلول‌های هپاتوسیت ایجاد شده است. مساحت هسته در ناحیه باب، در گروه‌های اهواز، رامهرمز و اندیمشک نسبت به

و سپس لوب بزرگ کبد با تیغ جراحی جدا گردید و پس از قرار دادن در ظرف حاوی فرمالین ۱۰ درصد به آزمایشگاه بافت‌شناسی منتقل شد.

رنگ آمیزی: به منظور مشاهده تغییرات بافتی، آسیب سلولی و تعیین میزان آسیب از رنگ آمیزی هماتوکسیلین و اتوزین استفاده شد. رنگ آمیزی هماتوکسیلین و اتوزین یکی از روش‌های معمول رنگ آمیزی در آزمایشگاه‌های بافت‌شناسی و آسیب‌شناسی است که شرح مراحل آن به ترتیب زیر است:

برش بافت‌ها در رنگ هماتوکسیلین‌هاریس به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه استراحت داده شد. سپس به مدت ۵ دقیقه با آب شستشو داده و به منظور حذف رنگ اضافی از سیتوپلاسم در محلول اسید الکل (اسید کلریدیک ۱ درصد در الکل ۷۰ درصد) به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه قرار داده شد. سپس به مدت ۵ تا ۱۰ دقیقه با آب شستشو و بعد از آن ۳ تا ۵ دقیقه در رنگ اتوزین و ۲ تا ۳ دقیقه در الکل ۵۰٪ قرار داده شد. با استفاده از الکل اتیلیک ۷۰ تا ۱۰۰٪ به مدت ۱۰ دقیقه آب‌گیری و سرانجام توسط گزیلول به مدت ۳ دقیقه بر روی لام شفاف سازی آن انجام شد.

مطالعه بافتی: هپاتوسیت‌های اطراف منطقه باب (Z_1) و اطراف منطقه ورید مرکزی (Z_3) به وسیله نرم‌افزار Image J واکاوی شد. مساحت هپاتوسیت و مساحت هسته برای هر هپاتوسیت اندازه‌گیری گردید. تصاویر بافتی با کمک دوربین دیجیتال متصل به میکروسکوپ نوری گرفته شد، که برای اندازه‌گیری مساحت هپاتوسیت از تصویر با بزرگ‌نمایی ۱۰ و برای هسته از تصویر با بزرگ‌نمایی ۴۰ استفاده شد. حداقل ۵۰ هپاتوسیت از هر منطقه (کل ۱۰۰) اندازه‌گیری شد و داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS تفسیر گردید.

آنالیز آماری: برای اطمینان از توزیع طبیعی داده‌ها آزمون کولموگروف-اسمیرنف روی نتایج انجام گردید. به منظور مقایسه داده‌ها و تعیین معنی‌داری

گروه کنترل افزایش معنی داری داشته است ($p < 0.05$) در ناحیه ورید مرکزی تغییرات معنی داری را در مساحت هیپاتوسیت در ناحیه باب در گروه‌های آبادان و سوسنگرد کاهش معنی داری نشان داد ($p < 0.05$). مساحت هیپاتوسیت در ناحیه ورید مرکزی بافت کبد تنها در گروه اهواز معنی دار بود. مساحت هسته در ناحیه ورید مرکزی تغییرات معنی داری را در گروه‌های تیمار می‌دهد ($p < 0.05$). طبق تصاویر ۳ و ۴ خونریزی و هایپرمیای خفیفی (افزایش گشاد شدن عروق خونی و جریان خونی) در گروه‌های تیمار ایجاد شده است.

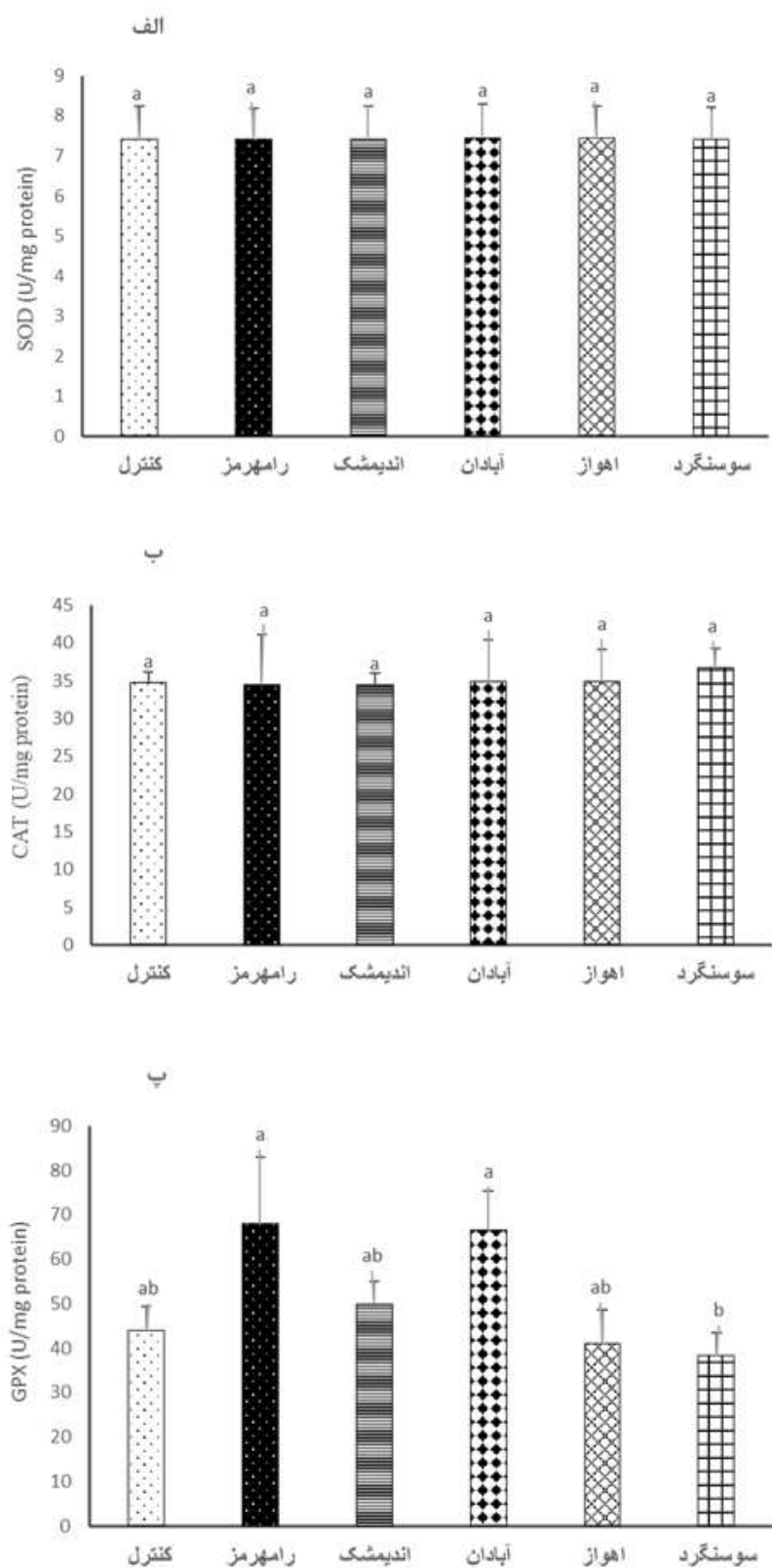
جدول ۱- نتایج هیستومتری بافت کبد در گروه‌های کنترل و تحت تیمار پس از گذشت دو ماه

گروه ها	مساحت هسته		مساحت هیپاتوسیت	
	ناحیه باب (Z_1)	ورید مرکزی (Z_3)	ناحیه باب (Z_1)	ورید مرکزی (Z_3)
کنترل	۲۵۶/۳±۱۲	۲۷۸/۳۰±۷۲	۱۱۰۷/۸۶±۳۳	۱۶۶±۱۲۰۷
رامهرمز	۲۶۰/۲۷±۴۹	*۲۸۸/۴۵±۴۸	۱۰۶۳/۸۷±۹۱	۱۲۳۴/۱۷۳±۵۲
اندیمشک	*۲۷۲/۱۵±۳۶	*۲۴۹/۲۰±۵۱	۱۰۹۸/۱۳۰±۳۴	۱۰۲۹/۴۱±۳
آبادان	*۲۲۲/۱۹±۸۲	*۲۷۵/۴۴±۸۸	*۸۸۹/۲۱±۴۳	۱۰۵۳/۱۲۵±۹۲
اهواز	۲۵۷/۲۹±۳۴	*۲۸۶/۲۲±۹۹	*۱۰۲۲/۱۲۰±۸۵	*۱۳۱۵/۱۴۹±۹۶
سوسنگرد	*۲۲۸/۸±۹۶	*۲۴۶/۲۵±۲۲	*۴۷±۸۵۰	۱۱۲۹/۱۶۰±۳۴

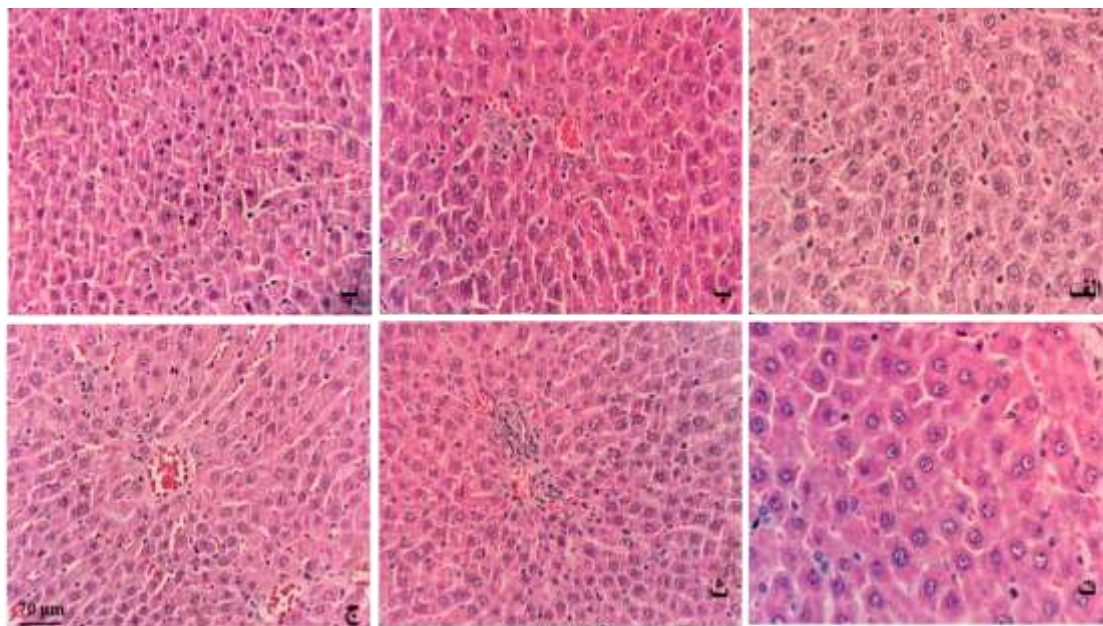
مقادیر به صورت انحراف معیار± میانگین بر حسب μm^2 و * نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه کنترل

جدول ۲- نتایج تغییرات تعداد سلول‌های کوپفر به صورت انحراف معیار± میانگین در گروه‌های کنترل و تحت تیمار (* نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه کنترل).

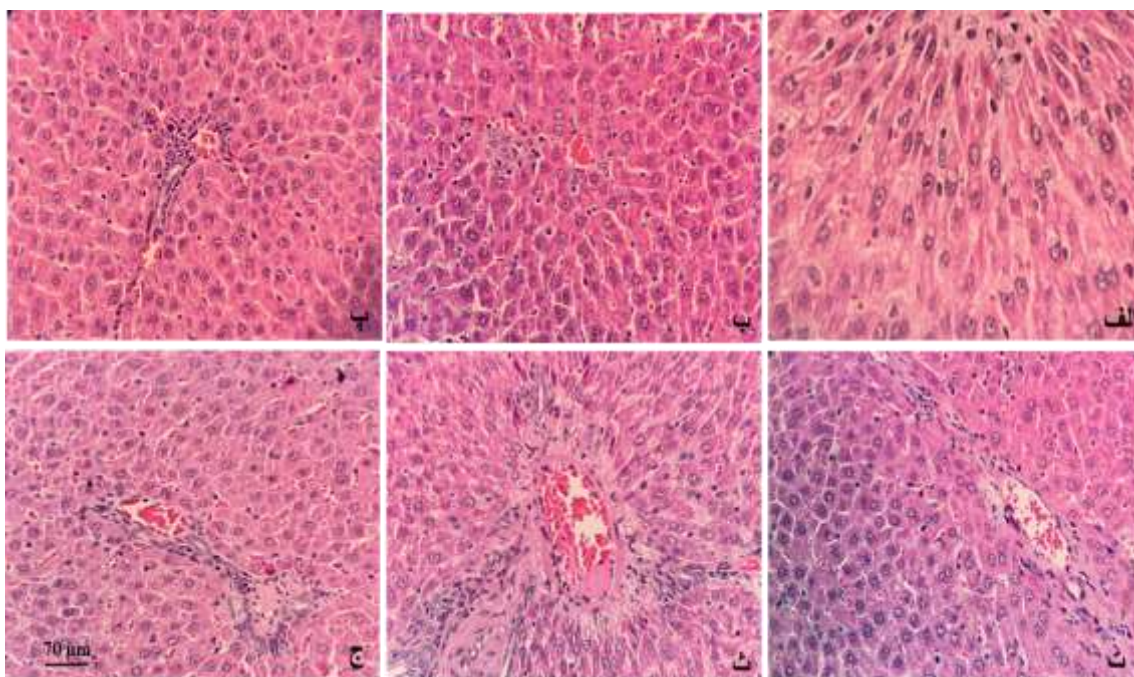
گروه	کنترل	رامهرمز	اندیمشک	آبادان	اهواز	سوسنگرد
سلولهای کوپفر (ناحیه باب)	۳۲±۱	۲۸±۲*	۵۰±۱*	۳۶±۱*	۵۰±۳*	۱۵±۲*
سلولهای کوپفر (ناحیه ورید)	۲±۳۰	۱±۱۷*	۲±۲۰*	۳±۳۷*	۱±۲۶*	۲±۴۰*



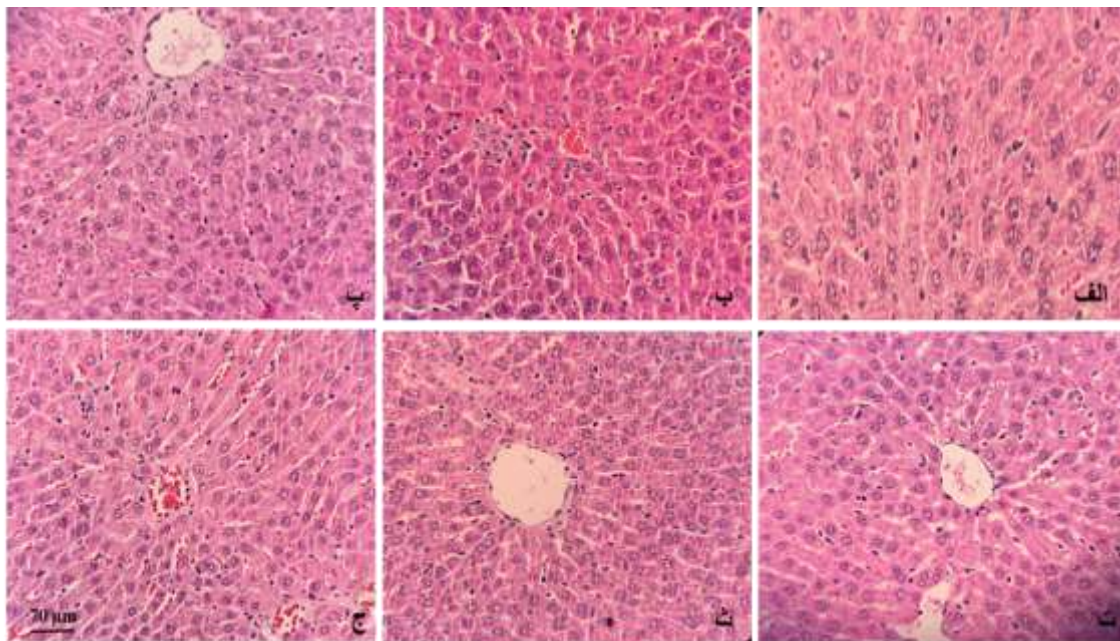
شکل ۱- میانگین فعالیت ویژه آنزیم‌های (الف) سوپر اکسید دیسموتاز (SOD)، (ب) کاتالاز (CAT) و (پ) گلوکوتاتیون پراکسیداز (GPX). حروف ناهمسان نشان‌دهنده معنی داری تفاوت با گروه کنترل در سطح $p < 0.05$ می‌باشد.



شکل ۲: ویژگی هیپاتوسیتی بافت کبد گروه کنترل و گروه‌های تیمار. (الف) گروه کنترل، (ب) اهواز، (پ) رامهرمز، (ت) اندیمشک، (ث) آبادان و (ج) سوسنگرد



شکل ۳: خونریزی کبدی بافت کبد گروه‌های تیمار. (الف) گروه کنترل، (ب) اهواز، (پ) رامهرمز، (ت) اندیمشک، (ث) آبادان و (ج) سوسنگرد



شکل ۴: هایپریمیای بافت کبد گروه‌های تیمار. الف) گروه کنترل، ب) اهواز، پ) رامهرمز، ت) اندیمشک، ث) آبادان و ج) سوسنگرد

بحث

گلوکوتاتیون پراکسیداز شود و طبق تحقیق انجام گرفته، باریوم در گروه رامهرمز بیشترین مقدار را دارد می‌توان این احتمال را در نظر گرفت که فلزات سنگین می‌توانند در مکانیسم‌های همدیگر تداخل ایجاد کنند (۶). باتوجه به نتایج تحقیق انجام شده، باریوم در گروه رامهرمز بیشترین مقدار را داشته است (۱).

آنزیم گلوکوتاتیون پراکسیداز مسئول حفاظت غشای سلولی از آسیب پراکسیداسیون می‌باشد. حضور گروه تیول (-SH) برای فعالیت GPX ضروری می‌باشد. کاهش فعالیت گلوکوتاتیون پراکسیداز می‌تواند در اثر اکسیداسیون گروه تیول تحت تاثیر عوامل اکسید کننده در خون، پس از قرار گرفتن در معرض فلزات سنگین موجود در ریزگرد باشد (۲۰).

کبد بزرگترین عضو متابولیکی بدن است که هومئوستازی سیستم‌های مختلف بدن را تنظیم می‌کند. یکی از کارکردهای مهم کبد سم زدایی داروها و سایر سموم، دفع بیلی روبین و متابولیسم هورمون‌ها است (۱۵). مطالعه میکروسکوپی بافت کبد، تغییرات معنی

محققان دریافتند که آلودگی هوا یک عامل خطر در کنار سایر عوامل دخیل در بیماری‌ها مانند حمله قلبی و سکنه مغزی نقش دارد. مشابه آنچه که یک رژیم غذایی ناسالم و کمبود ورزش می‌تواند منجر به بیماری شود، قرار گرفتن در معرض آلودگی هوا نیز می‌تواند به این لیست فاکتورهای خطر اضافه شود (۷). آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) و گلوکوتاتیون پراکسیداز (GPX) آنزیم‌های مهم کنترل کننده استرس اکسیداتیو هستند که با رادیکال‌های آزاد واکنش می‌یابند و بدن را در مقابل استرس اکسیداتیو محافظت می‌کنند (۶). نتایج مطالعه کنونی نشان داد که فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز در گروه‌های تیمار نسبت به گروه کنترل تغییر چشمگیری نداشته درحالی‌که فعالیت گلوکوتاتیون پراکسیداز در گروه‌های رامهرمز و آبادان افزایش داشته است. مطالعه الوج و همکاران نشان می‌دهد که روی و سلنیوم می‌توانند اثر منفی باریوم را در ایجاد استرس اکسیداتیو در رت کاهش دهند و باعث کاهش

نتیجه‌گیری

طبق مطالعه انجام شده می‌توان به این نتیجه رسید که طوفان‌های گرد و غبار طیف وسیعی از فلزات سنگین، باکتری‌ها و ذرات دیگر را با خود حمل می‌کنند که هر کدام از آنها می‌توانند اثرات متفاوتی بر سلامتی انسان داشته باشند. این اثرات بسته به مدت زمان مواجهه با ریزگردها می‌تواند متفاوت باشد. از آنجا که مطالعه ما بر روی مدل حیوانی بوده است و در کوتاه مدت انجام شد، در نتیجه اثرات جدی بر کبد مشاهده نشد. این از یک سو می‌تواند نتیجه خوبی تلقی شود، در غیر این صورت موجودات زنده و به خصوص انسان دچار آسیب‌های جبران ناپذیری می‌شدند. از آنجایی که سیستم دفاعی انسان واکنش‌های متفاوتی در برابر فلزات سنگین دارد اما مکانیسم اصلی سمیت این فلزات تولید رادیکال‌های آزاد است که باعث استرس اکسیداتیو و آسیب ماکرومولکول‌ها می‌شود. بنابراین آثار برخی از فلزات سنگین موجود در ریزگردها بر فعالیت‌های فیزیولوژیکی در بدن جبران ناپذیر است.

تشکر و قدردانی

مولفین بر خود لازم می‌دانند از همکاری بخش‌های پژوهشی دانشگاه‌های دامغان و شهید چمران به واسطه مساعدت‌های مالی و معنوی و نیز از داوران محترمی که نقطه نظراتشان در بهبود کیفیت مقاله نقش مهمی داشته است تشکر و قدردانی به عمل آورند.

منابع

1. Soleimani N., Dayer M.R., Faridnouri H., 2020. Comparative Study of the Urban Fine Dust's Effects on Blood Cells of Male Rats in Different Cities of Khuzestan Province (Iran). *Journal of Animal Biology*, 13(1): 41-54. [In Persian]
2. Alexander F., Gordon M., Alexander E., 2018. Abnormal liver function tests in inflammatory arthritis: think beyond the

داری را در مساحت هسته و هیپاتوسیت گروه‌های تیمار در ناحیه باب و ورید مرکزی کبد نشان می‌دهد همچنین در نمونه گروه‌های اهواز و آبادان خونریزی خفیفی مشاهده شد (شکل‌های ۳ و ۴). در حالی که هایپرمیای خفیفی در تمام گروه‌های تیمار وجود دارد. طبق جدول ۲، سلول‌های کوپفر در منطقه باب گروه اهواز، آبادان و اندیمشک افزایش معنی داری را نشان می‌دهد که می‌توان آن را مرتبط با عوامل خارجی در نمونه‌های ریزگرد اعم از عناصر فلزات سنگین، عوامل بیماری‌زا و... دانست که با یافته‌های لی و همکاران همخوانی دارد (۱۵). بعضی از عناصر مانند مس، روی، کروم و نیکل معمولاً فقط در یک یا چند اندام متمرکز می‌شوند. در مقابل بعضی از فلزات سنگین مانند کادمیوم و جیوه تقریباً در تمام اندام‌های بدن نفوذ می‌کنند. دلیل این پدیده ممکن است این باشد که اندام‌های بدن توانایی لازم برای تنظیم میزان جذب و دفع این عناصر را برای حفظ هموستازی داخلی بدن ندارند. به عنوان مثال کلیه با عمل دفع این فلزات باعث کاهش تاثیرات منفی آنها در بدن می‌شود (۲۱). محققان دریافته‌اند که پروتئین‌های اتصال‌ی به مس مانند CTR1 در حمل و نقل مس نقش دارند و پروتئین ATP7B در کبد باعث دفع مس اضافی در بدن پستانداران می‌شود که این نقش کبد را در این قسمت پر رنگ‌تر می‌کند (۲۲). عملکرد و متابولیسم سلول‌های کوپفر مرتبط با التهاب کبد و بیماری‌های مرتبط با آن از جمله سرطان و بیماری‌های عفونی است. کبد می‌تواند در اثر صدمات مختلفی از جمله عوامل باکتریایی، مواد شیمیایی، سموم و عوامل دارویی دچار آسیب شود که این آسیب باعث فعال شدن سلول‌های کوپفر می‌شود. تعداد سلول‌های کوپفر بسته به نوع آسیب کبدی می‌تواند متفاوت باشد که در این بین سرطان کبد، بیشترین تعداد سلول‌های کوپفر را دارا می‌باشد (۱۹).

Exposure Science and Environmental Epidemiology, 24: 269-278.

11. Kim J.W., Park S., Lim C.W., Lee K., Kim B., 2014. The role of air pollutants in initiating liver disease. *Toxicological Research*, 30: 65-70.

12. Kono Y. 1978. Generation of superoxide radical during autoxidation of hydroxylamine and an assay for superoxide dismutase. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 186(1):189-95.

13. Koroliuk M., 1988. A method of determining catalase activity. *Lab Delo*. 1: 16-19.

14. Li N., Xia T., Nel A.E. 2008. The role of oxidative stress in ambient particulate matter-induced lung diseases and its implications in the toxicity of engineered nanoparticles. *Free Radical Biology and Medicine*, 44: 1689-1699.

15. Lin Y.C., Lian I.B., Kor C.T., Chang C.C., Su P.Y., Chang W.T. 2017. Association between soil heavy metals and fatty liver disease in men in Taiwan: a cross sectional study. *BMJ Open*, 7: 1-8.

16. Ma X., Deng D., Chen W. 2017. Inhibitors and Activators of SOD, GSH-Px, and CAT. *Enzyme Inhibitors and Activators*, 29: 207-224.

17. Meng Z., Zhang Q. 2006. Effects of dust storm fine particles instillation on oxidative damage in hearts, livers, lungs of rats. *Journal of Hygiene Research*, 35: 690-693.

18. Soleimani N., Faridnouri H., Dayer M.R. 2020. The Effect of Dusts on Liver Enzymes and Kidney Parameters of Serum in Male Rats in Khuzestan, Iran. *Journal of Chemical Health Risks*, 10: 315-326.

19. Nguyen-Lefebvre A.T., Horuzsko A. 2015. Kupffer cell metabolism and function. *Journal of Enzymology and Metabolism*, 1:1-26.

DMARDs. *Oxford Medical Case Reports*, 9: 275-277.

3. Bourdon J.A., Saber A.T., Jacobsen N.R., Jensen K.A., Madsen A.M., Lamson J.S. 2012. Carbon black nanoparticle instillation induces sustained inflammation and genotoxicity in mouse lung and liver. *Particle and Fibre Toxicology*, 9: 1-14.

4. Bradford M.M. 1976. Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Annals of Biochemistry*, 72: 248-254.

5. Couinaud C. 1999. Liver anatomy: portal (and suprahepatic) or biliary segmentation. *Digestive surgery*, 16:459-467.

6. Elwej A., Ghorbel I., Chaabane M., Soudani N., Mnif H., Boudawara T. 2018. Zinc and selenium modulate barium-induced oxidative stress, cellular injury and membrane-bound ATPase in the cerebellum of adult rats and their offspring during late pregnancy and early postnatal periods. *Archives of physiology and biochemistry*, 124: 237-346.

7. Engwa G.A., Ferdinand P.U., Nwalo F.N., Unachukwu M.N. 2019. Mechanism and health effects of heavy metal toxicity in humans. *Poisoning in the Modern World- New Tricks for an Old Dog*.

8. Geravandi S, Goudarzi G, Mohammadi MJ, Taghavirad SS, Salmanzadeh S., 2015. Sulfur and Nitrogen Dioxide Exposure and the Incidence of Health Endpoints in Ahvaz, Iran. *Health Scope*, 4:1-16.

9. Ghorani-Azam A, Riahi-Zanjani B, Balali-Mood M., 2016. Effects of air pollution on human health and practical measures for prevention in Iran. *Journal of Isfahan University of Medical Sciences*, 21: 65-72.

10. Habre R, Coull B, Moshier E, Godbold J, Grunin A, Nath A, et al., 2014. Sources of indoor air pollution in New York city residences of asthmatic children. *Journal of*

Journal of Environmental Research and Public Health, 17: 1-15.

22. Winiarska-Mieczan A., 2018. Protective effect of tea against lead and cadmium-induced oxidative stress—a review. *Biomaterials*, 31: 909-926.

20. erythrocyte glutathione peroxidase. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 70(1): 158-169.

21. Wang Y., Tang Y., Li Z., Hua Q., Wang L., Song X. 2020. Joint toxicity of a multi-heavy metal mixture and chemoprevention in sprague dawley rats. *International*