مجله دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی شهید صدوقی یزد
سال دوازدهم ، شماره دوم ، تابستان ۱۳۸۳، ص ۴۸

مطالعه اثرات هیستولوژیکی و بیوشیمیایی هایپوترمی بر کبد موش صحرایی

زهرا تقی‌پورشول [۱] ، دکتر جعفر سلیمانی‌راد [۲] ، دکتر علی رحیمی‌پور [۳]

چکیده

مقدمه: از هایپوترمی در جراحی های مختلف نظیر جراحی های قلب و عروق ، کبد ، مغز و تیروئید استفاده می گردد. هایپوترمی به روشهای گوناگونی از قبیل خنک سازی سطحی، خنک سازی جریان خون داخلی وهایپوترمی فارماکولوژیک انجام می گیرد. هایپوترمی اثرات مختلفی بر عملکرد ارگانها و بافتهای مختلف بدن از قبیل قلب، ریه، کبد، مغز ، تیروئید و سیستم گردش خون دارد. در مطالعه حاضر اثرات هیستولوژیکی و بیوشیمیایی هایپوترمی بر بافت کبد موش صحرایی بررسی گردیده است.

روش بررسی : این مطالعه از نوع مداخله‌ای ـ تجربی است. هایپوترمی سطحی با کمک دستگاه مولد هایپوترمی مخصوص حیوانات کوچک جثه آزمایشگاهی ایجاد گردید. موش های صحرایی نژاد Wistar با هیدرات کلرال ۱۰٪ بیهوش شدند و سپس تحت هایپوترمی خیلی عمیق (۱± ^{C}۲۰°) به مدت ۴/۵ ساعت قرار گرفتند. از گروه اول (آزمایش) بلافاصله پس از اتمام هایپوترمی، خون‌گیری به عمل آمد. از گروه دوم ۲۴ ساعت پس از اتمام هایپوترمی ، خون‌گیری و نمونه‌گیری از بافت کبد صورت گرفت.

نتایج : بررسی بافت شناسی نشان داد که هسته هپاتوسیتها وزیکولر شده ، فضای سینوزوییدها کاهش یافته و هسته و سیتوپلاسم هپاتوسیتها حجیم گردیده است. افزایش معنی دار آلانین آمینوترانسفراز (GPT) بلافاصله پس از اتمام هایپوترمی مشاهده شد و ۲۴ ساعت پس از اتمام هایپوترمی این افزایش به میزان طبیعی برگشت. سطح سرمی اسپارتات آمینوترانسفراز (GOT) هم بلافاصله و هم ۲۴ ساعت پس از اتمام هایپوترمی افزایش معنی داری را نشان داد.

نتیجه گیری : نتایج مشخص کرد که به علت به صفر نرسیدن متابولیسم حتی در طی هایپوترمی خیلی عمیق ، تغییرات عروقی که منجر به هایپوکسی می‌شود می‌تواند موجب اثرات هیستولوژیکی و بیوشیمیایی در کبد گردد.

واژه‌های کلیدی : هایپوترمی ، رت ، آنزیم آمینوترانسفراز (GPT)، اسپارتات آمینوترانسفراز (GOT)، کبد.

مقدمه

حدود ۳۰۰ سال پیش در ایتالیا Severnia برای بی‌حسی موضعی از برف و یخ جهت سردکردن محل جراحی استفاده می‌کرد[۱]. استفاده کلینیکی جدید از کاهش دمای کل بدن به عنوان یک عامل بیهوشی‌زا به تحقیقات Smith و Fay برمی‌گردد که برای درمان نئوپلاسم‌ها دمای بدن را با احتیاط کاهش دادند[۱]. هایپوترمی به عنوان دمای مرکزی بدن کمتر از۳۵°c تعریف می‌گردد [۲،۱]. در حال حاضر در زمینه جراحی اعصاب ، هایپوترمی سیستمیک به طور کلینیکی جهت دو منظور عمده بکار می‌رود[۳]:

۱- هایپوترمی عمیق (۲۰°c-۱۶)با چندین روش جهت قطع موقت

۱- مربی گروه بافت‌شناسی
۲- دانشیار گروه بافت‌شناسی
۳ - استادیار گروه بیوشیمی
۱- دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی رفسنجان
۲و۳- دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2025-08-23]

جریان خون مغز به منظور جلوگیری از خونریزیهای داخل مغزی غیرقابل کنترل در درمانهای جراحی آنوریسم‌های پیچیده داخل مغزی استفاده می شود.

۲- هایپوترمی ملایم تا متوسط در بیماران آسیب مغزی شدید با روش خنک‌سازی سطحی با استفاده از پتوهای خنک‌کننده استفاده می‌شود[۳].

مطالعات آزمایشگاهی در مورد هایپوترمی متوسط در دمای ۲۹°c بیانگر کاهش جریان خون کبد می باشد کاهش جریان خون کبد متناسب با کاهش برونده قلبی می باشد. اما کاهش جریان خون پورتال نسبت به برون ده قلبی بسیار کم است. در این حالت کبد از نظر اندازه بزرگتر شده و حاوی خون بیشتر در طی هایپوترمی می‌باشد[۱]. از بررسی تأثیر هایپوترمی بر روی شاخصهای بیوشیمیایی خاص در هپاتوسیتهای مجزا از کل بدن، به این نتیجه رسیدند که نگهداری سلولهای کبدی تحت هایپوترمی، مانع از آسیب اسموتیک سلولها می شود و زمان ضدمرگ در این هپاتوسیت‌ها در دمای ۴°c طولانی‌تر می‌شود[۴].

واقعیت قابل تأملی که در انجام هایپوترمی وجود دارد این است که در هایپوترمی کل بدن حتی در دماهای خیلی پایین ، مصرف اکسیژن به مقدار نزدیک به صفر تنزل پیدا نمی‌کند. بنابراین فعالیت متابولیک همچنان ادامه دارد[۵]. با توجه به این واقعیت این سئوال مطرح گردید که آیا در روند هایپوترمی کل بدن ، بافت کبدکه فعالیت متابولیک بالایی دارد آسیب می‌بیند یا خیر ؟ تحقیقاتی که قبلاً در مورد هایپوترمی انجام شده حاکی از تاثیرات متعدد فیزیولوژیک و بیوشیمیایی این تکنیک بر روی بافتهای مختلف بوده است. مطالعه اثرات هیستولوژیک هایپوترمی بلافاصله پس از اتمام هایپوترمی بر روی برخی از بافتهای موش صحرایی از جمله بافت کبد صورت گرفته است[۶،۷]. البته این تحقیقات بلافاصله پس از اتمام هایپوترمی صورت گرفته بود. اما از آنجایی که به احتمال دیررس بودن اثرات هیستولوژیک، امکان مشخص‌نشدن برخی تغییرات احتمالی بافتی در این مدت زمانی می رود ، مطالعه حاضر برای ۲۴ ساعت پس از اتمام هایپوترمی طراحی گردید و چون تغییرات بافتی با تغییرات بیوشیمیایی همراه است.در این مطالعه همزمان با بررسی هیستولوژیکی، سطح سرمی آنزیم آمینوترانسفراز (GPT) و آنزیم اسپارتات آمینو ترانسفراز (GOT) نیز اندازه‌گیری گردید.

روش بررسی

این مطالعه یک مطالعه مداخله‌ای ـ تجربی است. رتهای نژاد Wistar مورد مطالعه از جنس نر و حدوداً پنج ماهه با وزن ۲۵۰-۳۰۰gr انتخاب گردیدند. رتها به چهار گروه تقسیم شدند. دو گروه آزمایش و دو گروه کنترل که در هرگروه ۱۰ موش قرار گرفت. هر چهار گروه ۱cc ماده بیهوشی هیدرات کلرال ۱٪ را به طریق زیر جلدی از ناحیه بالای اینگوئینال دریافت نمودند. موشهای گروه کنترل در شرایط آزمایشگاه نگهداری شدند موشهای گروه آزمایش دمای رکتوم آنها اندازه‌گیری گردید وسنسور دستگاه مولد هایپوترمی در رکتوم موشی قرار گرفت که میانگین دما را دارا بود، دمای دستگاه بر روی ۲۰°c تنظیم شد و پس از رسیدن دمای رکتوم به این میزان زمان محاسبه گردید و ۴/۵ ساعت پس از آن هایپوترمی متوقف شد. از رتهای گروه اول آزمایش و کنترل ، بلافاصله پس از اتمام هایپوترمی خون‌گیری به عمل آمد. رتهای گروه دوم آزمایش و کنترل ۲۴ ساعت پس از اتمام هایپوترمی در شرایط آزمایشگاه نگهداری گردیدند و پس از این زمان از این تعداد رت خون‌گیری و نمونه‌برداری از بافت کبد صورت گرفت. دستگاه مولد هایپوترمی ، دستگاه ساخت مرتضی باقرزاده کارشناس ارشد فیزیک پزشکی، که بر اساس خنک سازی سطحی و جهت حیوانات کوچک جثه آزمایشگاهی طراحی شده است[۸] بود. لامهای تهیه شده جهت مطالعه میکروسکوپ نوری با روش H&E رنگ آمیزی گردیدند. اندازه‌گیری سطح سرمهای آنزیم‌ها بر اساس کیت‌های ساخت شرکت درمان کاو صورت گرفت و روش آماری مورد استفاده آزمون t-test بود.

نتایج

شکل(۱) قسمتی از یک لبول کلاسیک کبد رت (گروه کنترل) را نشان می‌دهد که شکل فضاهای سینوزوییدی کبد

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2025-08-23]

واضح و سلولهای آندوتلیال در دیواره آنها مشخص می باشد.
شکل (۲) فتومیکروگراف مقطعی از کبد رت (گروه آزمایش) است که ساختمان کلی پارانشیم کبد در مقایسه با گروه کنترل تغییر قابل ملاحظه‌ای نشان نمی‌دهد و فقط قطر فضاهای سینوزوییدی کاهش یافته است.
همانطور که در شکل (۳) مشاهده می‌شود با درشت‌نمایی بزرگتر خصوصیات هپاتوسیت‌های کبد موش (گروه کنترل) قابل تشخیص و هسته دارای کروماتین یکنواخت و خشک می‌باشد. شکل (۴) یک فتومیکروگراف است که نشان‌دهنده هپاتوسیت‌های رت در گروه آزمایش است و همانطور که ملاحظه می‌گردد در این شکل هسته و سیتوپلاسم هپاتوسیت‌ها در مقایسه با گروه کنترل بزرگتر و هسته به حالت وزیکولر و با کروماتین نامنظم مشاهده می‌شود. دیواره سلولی این هپاتوسیت‌ها در مقایسه با گروه کنترل نیز مشخص‌تر است .

شکل ۳ : خصوصیات هپاتوسیت‌های کبد موش با درشت‌نمایی بیشتر (گروه کنترل)

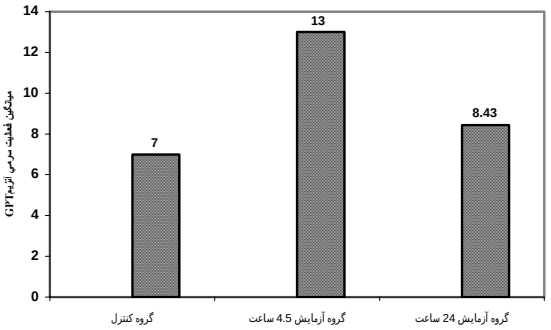
شکل ۱ : قسمتی از یک لبول کبد رت (گروه کنترل)

شکل ۴ : فتومیکروگراف از هپاتوسیت‌های کبد رت (گروه آزمایش)

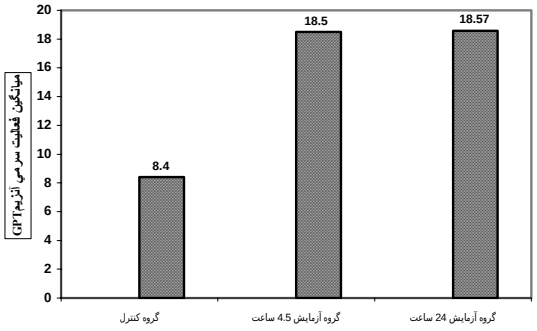
شکل ۲ : فتومیکروگراف مقطعی کبد رت(گروه آزمایش)

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2025-08-23]

میانگین فعالیت سرمی آنزیم GPT در گروه‌های مورد مطالعه و گروه کنترل در نمودار(۱) آمده است. در این نمودار افزایش آنزیم GPT را در گروه اول که بلافاصله پس از اتمام هایپوترمی مورد ارزیابی قرار گرفته نسبت به گروه کنترل و گروه دوم آزمایش مشاهده می‌گردد. بر اساس آزمون آماری T-test تفاوت در میزان فعالیت سرمی GPT بین گروه اول و گروه کنترل معنی‌دار بود (p=۰/۰۱۵). میانگین فعالیت سرمی آنزیم GOT در گروه های مورد مطالعه و گروه کنترل در نمودار (۲) آمده است. هر دو گروه مورد مطالعه یک افزایش سطح سرمی را نسبت به گروه کنترل نشان می‌دهند مطابق با آزمون آماری t-test تفاوت سطح سرمی GOT بین موشهای گروه دوم آزمایش با گروه کنترل و موشهای گروه اول با کنترل به ترتیب با p=۰/۰۰۱ و p=۰/۰۰۷ معنی‌دار است.



نمودار ۱ : میانگین فعالیت سرمی آنزیم GPT در گروههای آزمایش و کنترل



نمودار۲ : میانگین فعالیت سرمی آنزیم GOT در گروههای آزمایش و کنترل

بحث

از هایپوترمی به عنوان یک عامل کمکی در برخی از شرایط درمانی و جراحی استفاده می شود و در طی ۴۰ سال گذشته گزارشهای بسیاری حاکی از مفید بودن این تکنیک در برخی شرایط کلینیکی منتشر شده است[۱]. هایپوترمی اثرات فیزیولوژیکی بسیاری از قبیل کاهش انرژی مورد نیاز بدن در طی هایپوترمی ، کاهش مصرف اکسیژن ، افزایش مصرف کاته کولامین و نوراپی نفرین [۲] ، افزایش قابلیت حل شدن اکسیژن در خون، اسیدوزمتابولیک و کاهش PH [۹] را موجب می گردد. با کاهش دمای بدن ، برون ده قلبی ،آهنگ ضربان قلب و فشار متوسط شریانی تنزیل پیدا می کند جریان خون کرونری کاهش یافته ولی در حد کافی باقی می‌ماند. با کاهش جریان خون کرونری مصرف اکسیژن میوکارد نیز کم می گردد[۱]. از سوی دیگر کاهش مصرف اکسیژن مغز تقریباً به موازات کاهش جریان خون مغز است.

اختلاف اکسیژن شریانی وریدی تقریباً ثابت می‌ماند. بدین ترتیب دیده شده است که در طی هایپوترمی به شرط سلامت گردش خون، هیچ گونه هایپوکسی ایجاد نمی‌شود.

مطالعه هیستولوژیک کبد نشان داد که سلولهای بافت کبد و فضاهای سینوزوییدی تغییراتی پیدا کرده‌اند. هسته سلولهای کبدی وزیکولر شده و به طور کلی حجم سلولها هم در سیتوپلاسم و هم در هسته افزایش یافته است و فضاهای سینوزوییدی کوچکتر گردیده است باغعلیشاهی[۶] در سال ۱۳۷۷ اثرات هایپوترمی را بلافاصله پس از اتمام هایپوترمی بر روی بافت کبد مورد مطالعه قرار داد. در این مطالعه نیز وزیکولر شدن هسته هپاتوسیت‌ها گزارش گردید که با یافته های ما مطابقت دارد ولی از آنجا که تغییراتی نظیر افزایش حجم سلول را می‌توان به اثرات دیررس هایپوترمی نسبت داد. کاهش قطر سینوزوییدها بیانگر کاهش جریان خون کبدی و افزایش حجم هپاتوسیت ها می‌تواند بیانگر عکس‌العمل سلولها نسبت به کاهش اکسیژن باشد.

Fugita و همکارانش در سال ۱۹۹۳ با ارزیابی نیاز اکسیژن طی هایپوترمی در کبد، گزارش کردند که به علت بالا بودن متابولیسم کبد ، هپاتوسیتها نسبت به اثرات منفی هایپوکسی و

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2025-08-23]

آنوکسی حساس می‌باشند[۱۰] . این یافته ها، تغییراتی را که در سلولهای کبدی مشاهده کردیم توجیه می کند. البته افزایش حجم سلولها می تواند احتمالاً جهت جبران کاهش ذخیره انرژی در طی هایپوترمی نیز باشد. با توجه به اینکه آنزیم GOT در مشکلات کبدی ، قلبی و عضلانی افزایش پیدا می کند افزایش سطح سرمی GOT در هر دو گروه آزمایش یعنی در هر دو فاصله زمانی و معنی دار بودن این افزایش ها در مقایسه با گروه کنترل می‌تواند نشان‌دهنده پایدار بودن مشکل در بافتها در ۲۴ ساعت پس از اتمام هایپوترمی و با وجود تغییرات بافتی مشاهده شده کبد وجود مشکل در این بافت بیشتر مورد توجه قرار می گیرد ، افزایش سطح سرمی GPT نیز می‌تواند دال بر وجود مشکل در کبد باشد. البته چون این افزایش را فقط در گروه اول آزمایش داریم و در ۲۴ ساعت پس از اتمام هایپوترمی به حالت طبیعی بر می گردد نمی‌تواند دلیل مشکل کبدی غیرقابل برگشت باشد.با وجود این ذکر این نکته ضروری است که در مشکلات کبدی ، افزایش سطح سرمی GOT در مقایسه با افزایش سطح سرمی GPT بیشتر مشخص‌کننده بیماری است. بر اساس یافته‌های بدست آمده از بررسی حاضر و مقایسه این یافته‌ها با سایر مطالعات می‌توان نتیجه گرفت که هایپوترمی به همانطور که تأثیرات فیزیولوژیکی بوجود می آورد می‌تواند موجب تأثیرات هستیولوژیکی نیز شود. هر چند که این تاثیرات با کمک میکروسکوپ نوری به خوبی مشاهده نشد. پایداری برخی از این تغییرات تا ۲۴ ساعت از هایپوترمی و تغییرات آنزیمی مشاهده شده وجود این مشکلات را تأیید می کند البته ذکر این نکته ضروری است که با موافقت کامل در هنگام بکارگیری هایپوترمی و فراهم‌آوردن شرایط مطلوب جهت بازگرمایش صحیح می‌توان از اثرات سوء هایپوترمی کاست و یا حتی مانع از ایجاد آنها شد.

References

۶- باغعلیشاهی فرزانه. «**بررسی تغییرات بافتی ناشی از هیپوترمی در قلب، کلیه، کبد، معده رت**» پایان نامه کارشناسی ارشد ، .۱۳۷۷

۷- لاهوتیان حسین. «**بررسی تغییرات ناشی از هیپوترمی در سیستم اعصاب مرکزی و غدد آدرنال**» پایان نامه کارشناسی ارشد، ۱۳۷۷.

۸- باقر زاده مرتضی « **طراحی و ساخت دستگاه هیپوترمی برای حیوانات آزمایشگاهی** » پایان نامه کارشناسی ارشد ، .۱۳۷۶

1- Collins Vincent J , Chap 34, Lea & Febiger, ***Principles of anesthesiology,*** philadelphia, 1993, Vol 2, 3 rd ed : 1096-1116.

2- Nunn JF, Utting Brown JE, Chap: 45 and 51, ***General anesthesia Butter worth international*** Edit 1988,Vol 2 , 5 th ed : 579-586 ,650-653.

3- Tomio O , Terumasa K , Chiro S, Nobuy O, Keita M. ***Neurosurgery,*** 1996, Vol 38, No 6 : 1211-1223.

4- Karavchenko LP, Velus AM , Shanina IV. ***The effect of hypotermia on certain biochemical indicators of isolated hepatocytes .*** Ukr.Biokhim, 1994 , Vol 66, No 4:108-1013.

5- Kriklin John W, Barrat Brain G & Boyes. ***Cardiac Surgery.*** Churchil & Livingstone, NewYork , 1993 , Vol 2 nd ed : 62-73 .

9- Stayer Stephen A , Steven James M , Nicolson Susan C, Jobes David R. Staley Charles & Boumgart Stephen, ***The metabolic effects of surface cooling Neo nates Prior to cardiac surgery,*** Journal of Anesth,1994,Vol.79, No.5: 834-839.

10- Fujita S, Hamatomto I, Nakamara K, Tanak K, Ozowak . ***Evalution of oxygen neccessity during hypotermy liver perfusion ,*** Nippon Geka Hokan, 1993, Vol 62, No: 5 : 228-240.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2025-08-23]