

مطالعه تغییرات تشریحی، بافتی و عملکرد بیوشیمیایی کبد در موش‌های سوری قرار گرفته در معرض فنل

علی لویی منفرد^۱، زهرا طوطیان^۲، سیمین فاضلی پور^۳

^۱ استادیار، گروه علوم پایه، دانشکده پیرادامپزشکی، دانشگاه ایلام
^۲ دانشیار، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران
^۳ دانشیار، گروه آناتومی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد پزشکی تهران

چکیده

سابقه و هدف: کبد از حیاتی‌ترین ساختارهای بدن است که وظیفه متابولیسم بسیاری از مواد مانند فنل را بر عهده دارد. هدف از این مطالعه، مشاهده اثرات فنل بر روی ساختار تشریحی و بافتی و همچنین عملکرد بیوشیمیایی کبد است. روش بررسی: در این مطالعه تجربی، ۸۰ سر موش سوری نر بالغ نژاد Balb/C به طور تصادفی به چهار گروه مساوی شامل یک گروه شاهد و سه گروه تیمار تقسیم گردیدند. گروه شاهد با آب مقطر و گروه‌های تیمار با غلظت‌های ۸۰، ۱۸۰ و ۳۲۰ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن فنل به مدت یک ماه گاوژ شدند. در پایان آزمایش، حیوانات با استفاده از کلروفورم بیهوش و کبد آنها از بدن خارج، سپس وزن مطلق و نسبی کبد اندازه‌گیری شد. نمونه‌های بافتی کبد تهیه و تغییرات ساختاری آن با استفاده از میکروسکوپ نوری بررسی شد. همچنین نمونه‌های خون جمع‌آوری و پس از جدا کردن سرم، میزان فعالیت آنزیم‌های کبد آنالیز شد. یافته‌ها: تجویز فنل سبب افزایش معنی‌دار وزن مطلق و نسبی کبد شد. همچنین تیمار با فنل سبب افزایش معنی‌دار قطر هپاتوسیت-ها، افزایش قطر هسته هپاتوسیت‌ها و افزایش اندازه سینوزوئیدهای کبدی گردید ($P < 0/05$). به علاوه، کبد حیوانات تیمار شده با فنل در مقایسه با گروه شاهد، ارتشاح لوکوسیتی، نکروز، پرخونی در پارانشیم کبد و هیپرپلازی بافت پوششی مجاری صفراوی داشت. تجویز فنل موجب افزایش معنی‌دار مقادیر آنزیم‌های کبدی ALT، AST و ALP گردید ($P < 0/05$). نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان داد که قرار گرفتن در معرض غلظت‌های مختلف فنل می‌تواند سبب ایجاد صدمات شدید در کبد موش سوری شود.

واژگان کلیدی: فنل، کبد، موش، بافت شناسی، بیوشیمیایی.

مقدمه

این ماده می‌تواند از طریق خوراکی، استنشاقی و یا تماس جلدی وارد بدن شده (۳) و بلافاصله پس از ورود به بدن در کبد متابولیزه و از طریق کلیه‌ها دفع گردد (۱،۳). اصلی‌ترین محل متابولیسم فنل وارد شده به بدن موجودات زنده کبد می‌باشد (۴-۶). علاوه بر این، فنل یکی از مهم‌ترین متابولیت‌های بنزن می‌باشد که در اثر اکسیداسیون بنزن در بافت کبد ایجاد و از طریق ادرار دفع می‌گردد (۷). از جمله مطالعاتی که در مورد اثرات فنل بر روی بافت‌های مختلف انجام شده است می‌توان به صدمه رساندن به سلول‌های کبدی در ماهی (۸)،

با توجه به وسعت کاربرد فنل در پزشکی و صنعت، موجودات زنده همواره در معرض خطر آلودگی با آن هستند (۱). این ترکیب شیمیایی به عنوان یکی از اجزاء اصلی سازنده رنگ‌ها، رزین‌ها، چسب‌ها، پلیمرها و برخی داروها به کار می‌رود (۲،۱).

آدرس نویسنده مسئول: ایلام، دانشگاه ایلام، دانشکده پیرادامپزشکی، گروه علوم پایه، دکتر علی لویی منفرد

(email: alm722@gmail.com)

تاریخ دریافت مقاله: ۹۰/۷/۱۰

تاریخ پذیرش مقاله: ۹۱/۲/۱۹

و مورد رنگ آمیزی H&E قرار گرفت. سپس هر گونه تغییر بافتی ایجاد شده در کبد همه گروه‌ها مشاهده و ثبت شد. جهت مطالعه هیستومتری کبد، از مقاطع رنگ آمیزی شده، به صورت تصادفی ۸ مقطع در نظر گرفته شد و از هر مقطع سه میدان دید انتخاب و به کمک فتومیکروسکوپ عکس برداری گردید. با استفاده از تصاویر به دست آمده در هر میدان دید، قطر هپاتوسیت‌ها، قطر هسته هپاتوسیت‌ها و اندازه سینوزوئیدهای کبدی در همه گروه‌ها به طور یکسان با استفاده از نرم افزار Motic اندازه‌گیری و نتایج حاصله مورد تحلیل آماری قرار گرفت. برای تعیین وسعت ارتشاح گلبول‌های سفید تک هسته‌ای در پارانشیم کبد از سیستم Knodell's HAI scores system استفاده شد. در این روش، شدت التهاب با استفاده از چهار مرحله رتبه بندی می‌شود: الف) نکروز در اطراف فضای پورت (درجه ۰ تا ۱۰)، ب) دژنراسانس داخل لوبولی همراه با نکروز موضعی (درجه ۰ تا ۴)، پ) التهاب در نواحی پورتال (درجه ۰ تا ۴) و ت) فیبروز کبدی (درجه ۰ تا ۴). شاخص کل Knodell از طریق محاسبه نمودن مجموع مراحل فوق الذکر (محدوده بین ۰ و ۲۲) محاسبه می‌شود (۱۴).

برای مطالعه بیوشیمیایی، بلافاصله پس از بیهوشی، با استفاده از سرنگ انسولین و روش پانکسیون قلب از حیوانات خون-گیری به عمل آمد. سپس برای جداسازی سرم، نمونه‌های خون با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند. سرم‌ها جهت اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم‌های کبدی AST، ALT و ALP به روش آنزیمی (IFCC) با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Shimadzu, Model AA200 Tokyo, Japan) و کیت‌های کلریمتریک تجاری تهیه شده از شرکت زیست شیمی (تهران، ایران) مورد ارزیابی قرار گرفتند.

برای تحلیل و مقایسه نتایج شاخص‌های کمی مربوط به تشریح، هیستومتری و بیوشیمیایی مربوط به کبد، پس از آنکه داده‌ها از نظر آزمون تطابق با توزیع نظری بررسی شدند و مشخص گردید که دارای توزیع نرمال هستند از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) مورد استفاده قرار گرفته و برای مقایسه وجود اختلاف معنی‌دار بین مشخصه‌های مختلف از آزمون توکی (Tukey) استفاده شد. داده‌ها به شکل میانگین و خطای معیار نشان داده شده و سطح معنی‌دار آنها در حد $P < 0/05$ در نظر گرفته شد.

کاهش میزان فعالیت آلکالین فسفاتاز، در قلب و سرم خون در موش صحرایی (۹)، ایجاد تغییرات هیستومرفومتريک کلیوی در موش سوری (۱۰) و ایجاد تغییرات پاتولوژیک در اندام‌های مختلف (۱۲، ۱۱) اشاره نمود.

نظر به اینکه بسیاری از افراد مخصوصاً دانشجویان، کارشناسان و اساتید رشته‌های آناتومی و آسیب شناسی و همچنین کارگران صنایع شیمیایی، به کرات به صورت مستقیم و یا غیرمستقیم با این ماده شیمیایی سر و کار دارند (۱۳)، مطالعه حاضر با هدف بررسی اثرات قرارگیری در معرض فنل بر روی ساختار تشریحی، بافتی و عملکرد بیوشیمیایی کبد در موش سوری به عنوان مدل حیوانی انجام شد.

مواد و روشها

برای انجام این تحقیق تجربی، ۸۰ سر موش سوری نر بالغ نژاد Balb/C، با وزن اولیه ۳۶-۳۰ گرم و سن ۳/۵ ماه از موسسه سرم سازی رازی کرج تهیه گردید و پس از فراهم کردن شرایط زیستی مناسب (۱۲ ساعت روشنایی، ۱۲ ساعت تاریکی، دمای ۲۴-۲۲ درجه سانتی گراد، آب و غذا به طور نامحدود) به مدت یک هفته به منظور عادت کردن به محیط، نگهداری شدند. جهت انجام آزمایشات تجربی موش‌ها به طور تصادفی به چهار گروه مساوی ۲۰ سری شامل یک گروه شاهد و سه گروه تیمار تقسیم شدند. گروه شاهد حیواناتی بودند که به مدت یک ماه تنها آب مقطر فاقد هر گونه ماده افزودنی را به روش گاواژ و با استفاده از سوند معدی شماره ۴ دریافت کردند. گروه‌های تیمار شامل موش‌هایی بودند که به مدت یک ماه فنل را در غلظت‌های ۸۰، ۱۸۰ و ۳۲۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به روش گاواژ و با استفاده از سوند معدی شماره ۴ دریافت کردند. برای مطالعه شاخص‌های تشریحی مربوط به کبد، یک روز پس از پایان آخرین روز گاواژ، موش‌ها وزن‌گیری شدند سپس توسط کلروفورم بیهوش و پس از باز کردن حفره شکم و خارج کردن کبد و شستشوی آن در سرم فیزیولوژی، به وسیله ترازوی الکترونیکی با دقت ۰/۰۰۱ گرم، وزن مطلق و نسبی کبد حیوانات تعیین گردید.

برای مطالعه بافت شناسی در مورد همه گروه‌ها بلافاصله پس از خارج کردن کبد، نمونه‌هایی به ضخامت حداکثر ۰/۵ سانتی‌متر از لوب مربعی آن تهیه و جهت ثبوت در فرمالین ده درصد قرار داده شد. با استفاده از روش‌های متداول تهیه مقاطع بافتی، از نمونه‌ها برش‌هایی به ضخامت ۵ میکرون تهیه

گلبول های سفید تک هسته ای مشاهده نگردید. در تمامی گروه های تیمار، ارتشاح گلبول های سفید تک هسته ای مشاهده شد (شکل های ۱ و ۲) (جدول ۴).

فنل مورد استفاده در این تحقیق کریستال سفید رنگ با فرمول شیمیایی C_6H_6O و CAS-NO:108-95-2 بود که از شرکت بازرگانی مرک تهیه گردید.

یافته ها

نتایج مشاهدات تشریحی کبد نشان داد که تجویز فنل در غلظت های مختلف سبب افزایش وزن نسبی و مطلق کبد در مقایسه با گروه شاهد می گردد ($P < 0/05$) (جدول ۱).

جدول ۱- اثرات قرارگیری در معرض غلظت های ۸۰، ۱۸۰ و ۳۲۰ میلی گرم به ازای کیلوگرم فنل به مدت یک ماه بر روی تغییرات وزن مطلق و نسبی کبد موش های سوری در مقایسه با گروه شاهد

شاهد	۸۰ میلی گرم به ۱۸۰ میلی گرم به ۳۲۰ میلی گرم به	ازای کیلوگرم فنل ازای کیلوگرم فنل ازای کیلوگرم فنل		
وزن بدن (گرم)	۳۵/۱±۰/۱۸ ^a	۳۵/۱±۰/۱۳ ^a	۳۴/۹±۰/۲۲ ^b	۲۵/۷±۰/۴۱ ^c
وزن مطلق کبد (میلی گرم)	۵/۳۴±۰/۰۱ ^a	۵/۳۵±۰/۰۵ ^a	۷/۳۴±۰/۰۲ ^b	۸/۱۱±۰/۰۶ ^c
وزن نسبی کبد (%)	۱۵ ^a	۱۴ ^a	۲۱ ^b	۲۴ ^b

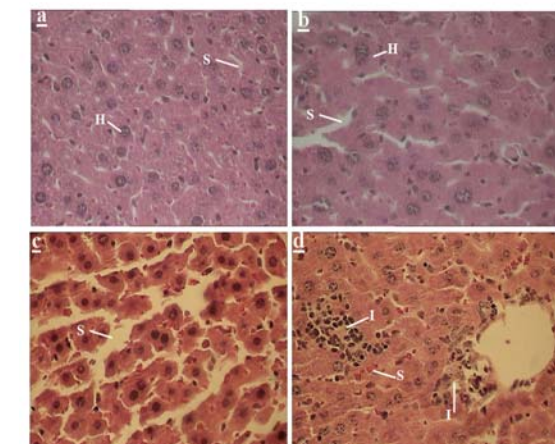
*در هر ردیف حروف ناهمبند بیانگر وجود اختلاف معنی دار بین میانگین های گروه ها با یکدیگر در حد $P < 0/05$ می باشد.

ساختار بافت شناسی کبد در موش های گروه شاهد شامل طناب های کبدی قرار گرفته به صورت شعاعی در اطراف ورید مرکزی بود، در حالی که مطالعه هیستومتری نشان داد که تجویز فنل در غلظت های مختلف سبب افزایش معنی دار قطر هپاتوسیت ها، قطر هسته هپاتوسیت ها و اندازه سینوزوئیدهای کبدی می شود (شکل ۱) (جدول ۲).

جدول ۲- اثرات قرارگیری در معرض غلظت های ۸۰، ۱۸۰ و ۳۲۰ میلی گرم به ازای کیلوگرم فنل به مدت یک ماه بر روی شاخص های هیستومتری کبد موش های سوری در مقایسه با گروه شاهد

شاهد	۸۰ میلی گرم	۱۸۰ میلی گرم	۳۲۰ میلی گرم
قطر هپاتوسیتها (میکرومتر)	۳/۲۶±۰/۰۳ ^a	۴/۳۷±۰/۰۸ ^b	۵/۳۱±۰/۰۲ ^c
قطر هسته هپاتوسیتها (میکرومتر)	۲/۹±۰/۰۱ ^a	۳/۱±۰/۰۶ ^b	۳/۱±۰/۰۸ ^b
اندازه سینوزوئیدهای کبدی (میکرومتر)	۲/۳۲ ^a	۱/۹۹	۲/۱۲
کبدی (میکرومتر)	۱۸/۷۲±۰/۰۱ ^a	۲۳/۶۵±۰/۰۱ ^b	۲۷/۳۳±۰/۰۱ ^b

*در هر ردیف حروف ناهمبند بیانگر وجود اختلاف معنی دار بین میانگین های گروه ها با یکدیگر در حد $P < 0/05$ می باشد.



شکل ۱- ساختار بافت شناسی کبد. (a) مقطع عرضی کبد در موش سوری گروه شاهد؛ در این بخش از تصویر اندازه طبیعی هپاتوسیت ها (H) و سینوزوئیدهای کبدی (S) دیده می شود. (b) مقطع عرضی کبد در موش سوری تیمار شده با فنل به میزان ۱۸۰ میلی گرم به ازای کیلوگرم به مدت یک ماه؛ در این مقطع افزایش قطر هپاتوسیت، افزایش قطر هسته هپاتوسیت و همچنین افزایش اندازه سینوزوئیدهای کبدی به خوبی دیده می شود. (c) مقطع عرضی کبد در موش سوری تیمار شده با فنل به میزان ۳۲۰ میلی گرم به ازای کیلوگرم به مدت یک ماه؛ در این مقطع اتساع مشخص سینوزوئیدهای کبدی دیده می شود. (d) مقطع عرضی کبد در موش سوری تیمار شده با فنل به میزان ۳۲۰ میلی گرم به ازای کیلوگرم به مدت یک ماه؛ در این مقطع سینوزوئیدهای کبدی پر خون بوده و همچنین ارتشاح جزئی سلول های دفاعی (I) دیده می شود. رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین، بزرگنمایی ۴۰۰×.

جدول ۳- ارزیابی شدت التهاب کبدی ناشی از قرارگیری در معرض غلظت های ۸۰، ۱۸۰ و ۳۲۰ میلی گرم به ازای کیلوگرم فنل به مدت یک ماه در موش های سوری بر اساس شاخص کل Knodell

شاخص کل Knodell	شاهد ۸۰ میلی گرم به ۱۸۰ میلی گرم به ۳۲۰ میلی گرم به	ازای کیلوگرم فنل ازای کیلوگرم فنل ازای کیلوگرم فنل	
۱-۵ (التهاب خفیف)	۱/۱۳±۰/۰۱ ^a	۲/۹۱±۰/۰۱ ^b	۲/۸۸±۰/۰۶ ^b
۶-۱۰ (متوسط التهاب)	۵/۵±۰/۰۷ ^a	۵/۷±۰/۰۳ ^a	۹/۳±۰/۰۸ ^b
۱۱-۲۲ (شدید التهاب)	۱۲/۳۱±۲/۰۸ ^b	۱۶/۰۹±۲/۸۷ ^b	۲۰/۴۵±۴/۱۱ ^c

*در هر ردیف حروف ناهمبند بیانگر وجود اختلاف معنی دار بین میانگین های گروه ها با یکدیگر در حد $P < 0/05$ می باشد.

در موش های دریافت کننده فنل به میزان ۱۸۰ و ۳۲۰ میلی گرم به ازای کیلوگرم علاوه بر تغییرات هیستومتری درج شده در جدول ۲ نکروز و پرخونی در پارانشیم کبد و هپیرپلازی بافت

از لحاظ وسعت ارتشاح گلبول های سفید تک هسته ای در پارانشیم کبد در گروه شاهد هیچ گونه ارتشاح

بحث

نتایج تشریحی مطالعه حاضر نشان داد که در موش‌های سوری تیمار شده با فنل افزایش معنی‌دار وزن مطلق و وزن نسبی کبد در مقایسه با گروه شاهد دیده می‌شود. این افزایش وزن ممکن است به دلیل تغییرات بافتی ایجاد شده از جمله افزایش اندازه هپاتوسیت‌ها و همچنین افزایش قطر هسته در سلول‌های کبدی باشد. یافته‌های مشابهی در مورد افزایش وزن کبد متعاقب قرار گرفتن در معرض مواد شیمیایی مختلف توسط Rui و همکاران (۲۰۱۱) گزارش شده است (۱۵). بر خلاف این نتیجه گیری، Jones-Price و همکاران (۱۹۸۳) گزارش کرده‌اند که در موش‌های صحرایی (۱۶) و سوری (۱۷) آبستن که در معرض فنل به مدت ۱۰ روز قرار گرفته بودند، تغییر معنی‌داری در میزان وزن کبد دیده نمی‌شود. از جمله دلایل عدم مطابقت نتایج این مطالعات با تحقیق حاضر ممکن است کوتاه بودن طول زمان آزمایش در مطالعات مذکور باشد. در این رابطه، همچنین Hoffman و همکاران (۲۰۰۱) گزارش کرده‌اند که در موش‌های صحرایی قرار گرفته در معرض فنل به روش استنشاقی، تغییرات معنی‌داری در ساختار هیستومرفومتریک کبد دیده نمی‌شود. مهم‌ترین دلیل برای عدم مطابقت این یافته، متفاوت بودن روش و مدت زمان تیمار می‌باشد (۱۸).

نتایج هیستومرفومتریک بررسی حاضر شامل افزایش معنی‌دار قطر هپاتوسیت‌ها، قطر هسته هپاتوسیت‌ها و اندازه سینوزوئیدهای کبدی و همچنین ارتشاح گلبول‌های سفید تک هسته‌ای، نکروز و پرخونی در پارانشیم کبد و هیپریپلازی بافت پوششی مجاری صراوی در موش‌های سوری در معرض فنل می‌باشد. تغییرات در هیستومتری هپاتوسیت‌ها ممکن است به دلیل متابولیسم سم در کبد باشد. در این رابطه، دالین و کریستوفرسون (۱۹۷۴)، دیچمن و همکاران (۱۹۴۴) و فاضلی‌پور و همکاران (۲۰۰۸) یک سری تغییرات بافتی در کبد موش‌های تیمار شده با مواد شیمیایی مختلف از جمله فنل (۴، ۱۱) و مرفین (۱۹) بیان کرده‌اند که با نتایج بررسی حاضر مطابقت دارد.

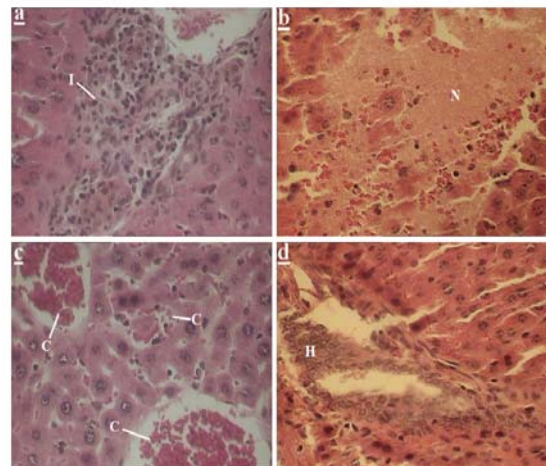
نشان داده شده است که گلبول‌های سفید تک هسته‌ای نقش بسیار مهمی در پاسخ به ضایعات ایسکمی-خونرسانی مجدد یا Ischemic-reperfusion دارند (۲۰). همچنین گزارش شده است که ارتشاح لنفوسیت‌ها یکی از فرآیندهای مهم در پاتوژنز هپاتیت است، به این صورت که متعاقب ورود عوامل بیماری‌زا یا مواد سمی به کبد، تعداد لنفوسیت‌ها و گلبول‌های سفید

پوششی مجاری صراوی مشاهده شد (شکل ۲). همچنین تجویز فنل در غلظت‌های ۱۸۰ و ۳۲۰ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم موجب افزایش معنی‌دار مقادیر سرمی آنزیم‌های ALT، AST و ALP در مقایسه با گروه شاهد گردید ($P < 0.05$) (جدول ۳).

جدول ۴- اثرات قرارگیری در معرض غلظت‌های ۸۰، ۱۸۰ و ۳۲۰ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم فنل به مدت یک ماه بر روی مقادیر سرمی آنزیم‌های مربوط به عملکرد کبد در موش‌های سوری در مقایسه با گروه شاهد

شاهد	۸۰ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم	۱۸۰ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم	۳۲۰ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم
AST [†] (U/L)	۲/۷	۴۱/۵±۲/۲ ^b	۳۹/۹±۲/۴ ^b
ALT [§] (U/L)	۸/۹±۱/۷ ^a	۱۰/۴±۲/۳ ^b	۱۱/۹±۲/۶ ^b
ALP [¶] (U/L)	۴/۹۶	۵۹/۶۱±۵/۴۷ ^b	۷۴/۳۴±۴/۹۸ ^b

*در هر ردیف حروف ناهم‌هنگ بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌های گروه‌ها با یکدیگر در حد $P < 0.05$ می‌باشد. [†]آسپارات ترانسفراز؛ [§]آلانین ترانسفراز؛ [¶]آلکالین فسفاتاز؛ ALP



شکل ۲- ساختار بافت شناسی کبد. (a) مقطع عرضی کبد در موش سوری تیمار شده با فنل به میزان ۳۲۰ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم به مدت یک ماه؛ در این بخش از تصویر ارتشاح شدید سلول‌های دفاعی (I) در پارانشیم کبد دیده می‌شود. (b) مقطع عرضی کبد در موش سوری تیمار شده با فنل به میزان ۱۸۰ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم به مدت یک ماه؛ در این مقطع نکروز (N) همراه با پرخونی سینوزوئیدهای کبدی به خوبی دیده می‌شود. (c) مقطع عرضی کبد در موش سوری تیمار شده با فنل به میزان ۸۰ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم به مدت یک ماه؛ در این مقطع پرخونی (C) مشخص در وریدهای مرکز لوبولی و همچنین در سینوزوئیدهای کبدی دیده می‌شود. (d) مقطع عرضی کبد در موش سوری تیمار شده با فنل به میزان ۱۸۰ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم به مدت یک ماه؛ در این مقطع هیپریپلازی بافت پوششی مجاری صراوی (H) دیده می‌شود. رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین، بزرگنمایی $\times 400$.

در موش صحرایی پرداختند. از جمله نتایج این مطالعه کاهش میزان آنزیم آلکالین فسفاتاز در قلب، شش و سرم حیوانات تیمار شده نسبت به گروه شاهد بود. این محققین بیان کردند که کاهش سطح سرمی آنزیم آلکالین فسفاتاز ممکن است به علت واکنش این سه ماده شیمیایی با بخش‌هایی از سیتوپلاسم و غشای پلاسمایی و سپس نشت آنزیم‌ها به داخل سرم خون باشد (۹). این یافته‌ها با نتایج مطالعه حاضر همخوانی ندارد و از علل آن می‌توان به متنوع بودن مواد شیمیایی مورد استفاده در بررسی مذکور اشاره کرد، به طوری که تجویز همزمان این سه ترکیب باعث کاهش سطح سرمی آنزیم آلکالین فسفاتاز شده است.

بالا رفتن غلظت سرمی آنزیم ALP در مطالعه حاضر ممکن است به دلیل سیتوتوکسیسیته فنل باشد و اینچنین وضعیتی در سلول‌های لوله پروکسیمال کلیه در مواقع تماس با جنتامایسین مشاهده شده است (۲۷). در مطالعه حاضر، تیمار با فنل موجب افزایش معنی‌دار میزان فعالیت AST و ALT در مقایسه با گروه شاهد گردید و این یافته با مطالعه Nemcsók (۲۸) مطابقت دارد. ALT جزء آنزیم‌های غیرعملکردی پلاسماستند که به طور طبیعی در سلول‌های برخی از اندام‌ها از جمله کبد قرار گرفته‌اند. همچنین این آنزیم‌ها در ارزیابی وضعیت کبد لحاظ شده‌اند و حضورشان در پلاسمای خون ممکن است اطلاعاتی در مورد صدمه بافتی یا بدعملکردی ارگان بدهد. اثبات شده است که مانیتورینگ کردن نشت آنزیم‌های کبدی به داخل خون، ابزار بسیار مفیدی در مطالعات مسمومیت کبدی است. در مطالعه حاضر، افزایش ALP، AST و ALT پس از قرار گرفتن در معرض فنل، با تغییرات هیستوپاتولوژیک دیده شده همسو و مطابق است. بنابراین افزایش این آنزیم‌ها در پلاسمای بیانگر صدمه به کبد و همچنین تغییر در عملکرد آن است. اگر چه مکانیسم یا مکانیسم‌های احتمالی برای هیپاتوتوکسیسیته ناشی از فنل کاملاً مشخص نیست، اما قابلیت هیدروفوبیسیته و تشکیل رادیکال‌های آزاد فنوکسیل (۲۹) و همچنین صدمه به آنزیم‌های موثر در رفع استرس اکسیداتیو (۱) به عنوان مکانیسم‌های احتمالی سیتوتوکسیسیته ترکیبات فنلی ذکر شده است. تغییرات ساختاری دیده شده در بررسی حاضر ممکن است در نتیجه تشکیل رادیکال‌های آزاد از نوع فنوکسیل با منشا فنل و همچنین توانایی این ترکیبات در تخریب غشای پلاسمایی هیپاتوسیت‌ها باشد. نتیجه اینکه، تغییرات هیستومرفولوژیک کبد و همچنین تغییرات معنی‌دار در پارامترهای بیوشیمیایی سرم در موش‌های سوری قرار

تک هسته‌ای در بافت افزایش می‌یابد (۲۱). نوتروفیل‌های فعال شده پس از هجوم به داخل بافت تعداد زیادی از سیتوکین‌ها، رادیکال‌های آزاد و آنزیم‌های بافتی آزاد می‌سازند که این امر منجر به جراحات بافتی می‌شود (۲۲). در مطالعه حاضر، صدمات وارد شده به ساختار بافتی کبد شامل نکروز علاوه بر تیمار با فنل، ممکن است به دلیل هجوم شدید گلبول‌های سفید تک هسته‌ای باشد. در رابطه با این یافته‌ها، لویی منفرد و همکاران (۱۳۸۸) در مطالعه‌ای، یک سری تغییرات بافتی در کلیه موش‌های سوری تیمار شده با فنل از جمله افزایش ارتشاح گلبول‌های سفید تک هسته‌ای و تغییرات دژنراتیو مختلف گزارش نموده‌اند که در مورد اثرات فنل بر روی ارگان‌های کبد و کلیه قابل مقایسه است (۱۰).

افزایش معنی‌دار قطر سلول‌های کبدی همراه با قطر هسته آنها ضمن اینکه با افزایش وزن مطلق و نسبی کبد هم‌سو و مطابق است، ممکن است به دلیل افزایش فعالیت متابولیکی کبد برای بالا بردن میزان بیوترانسفورمیشن و تغییر شکل فنل وارد شده به بدن باشد (۱۵). Braunbeck و همکاران گزارش کرده‌اند که تغییر در اندازه و شکل هسته سلول‌های کبدی اغلب به عنوان علائم افزایش فعالیت متابولیکی سلول‌هاست، اما ممکن است منشا پاتولوژیکی هم داشته باشد (۲۳). نکروز موضعی که در بافت کبد مربوط به موش‌های تیمار شده با فنل دیده شد احتمالاً از فعالیت بیش از حد مورد درخواست از حیوان برای پاک کردن بدنش از مواد سمی در طول پروسه سم‌زدایی ناشی شده است و این چنین نتایجی به وسیله دانشمندان دیگر هم گزارش شده است. همچنین، ناتوانی حیوان آزمایشگاهی برای نوسازی سلول‌های کبدی جدید ممکن است به نکروز منجر شده باشد (۲۴).

بر اساس نتایج بیوشیمیایی این مطالعه، مواجهه شدن موش‌های سوری با غلظت‌های مختلف فنل در مقایسه با گروه شاهد موجب افزایش معنی‌دار مقادیر سرمی آنزیم‌های ALT، AST و ALP می‌شود. یکی از دلایل افزایش سطح سرمی این آنزیم‌ها ممکن است تغییر در نفوذپذیری غشای پلاسمایی سلول‌های کبدی و یا صدمات سلولی حاصل از قرار گرفتن در معرض فنل باشد. این امر می‌تواند به افزایش نشت آنزیم‌های موجود در لیزوزوم‌های کبدی و سپس بالا رفتن مقادیر آنزیم‌ها در سرم شود (۲۵، ۲۶). نتایج مشابهی در موارد مسمومیت با حشره‌کش‌ها در موجودات مختلف گزارش شده است که با یافته‌های بررسی حاضر هم‌خوانی دارد (۲۵).

همچنین Adeyemi و همکاران (۲۰۱۰) به ارزیابی بیوشیمیایی اثرات آلودگی آب آشامیدنی با سرب، فنل و بنزن

گرفته در معرض فنل، بیانگر صدمات بافتی است. این یافته‌ها پیشنهاد می‌کند که تیمار با غلظت‌های مختلف فنل در طول ۳۰ روز متوالی ممکن است موجب ایجاد هیپاتوتوکسیسیته در موش سوری شود.

REFERENCES

1. Bukowska B, Kowalska S. Phenol and catechol induce prehemolytic and hemolytic changes in human erythrocytes. *Toxicol Lett* 2004; 152:73-84.
2. Finkelstein Y, Rezvani M, Garcia-Bourmissen F, Nurmohamed L. Inactive pharmaceutical ingredients: implications for pregnancy. *Can J Clin Pharmacol* 2007; 14: 17-28.
3. Bruce W, Meek ME, Newhook R. Phenol: hazard characterization and exposure-response analysis. *Environ. Carcino Ecotox Revs* 2001; 19: 305-324.
4. Dalin NM, Kristoffersson R. Physiological effects of a sublethal concentration of inhaled phenol on the rat. *Ann Zool Fenn* 1974; 11:193-99.
5. Mark W, Powley A, Gary P, Carlosn M. Species comparison of hepatic and pulmonary metabolism of benzene. *Toxicology* 1999; 139: 207-17.
6. Vito M, Campese MD, Shaohua YMD. A vitamin-E-fortified diet reduces oxidative stress, sympathetic nerve activity, and hypertension in the phenol-renal injury model in rats. *J Am Soc Hypertens* 2007; 1: 242-50.
7. Kenyon EM, Seeley ME, Janszen D. Dose, route, and sex-dependent urinary excretion of phenol metabolites in B6C3F₁ mice. *J Toxicol Environ Health* 1995; 44: 219-33.
8. Abdel-Hameid NAH. Physiological and histopathological alteration induced by phenol exposure on *Oreochromis aureus* juveniles. *Turk J Fish Aqua Sci* 2007; 7: 131-38.
9. Adeyemia O, Adenitireb GS, Oloyedec OB, Oladijic AT, Olubad OM, Adeyemid O, et al. Biochemical assessment of lead, phenol, and benzene-contaminated water on the heart and blood of Albino rats. *Toxicol Environ Chem* 2010; 92: 1347-56.
10. Louei Monfared A, Tootian Z, Fazelipour S. Evaluation of morphological and histometrical changes of kidney in mice exposed to phenol in a short term study. *J Vet Res* 2009; 64: 319-22. [In persian]
11. Deichmann WB, Kitzmiller KV, Witherup BS. Phenol studies. VII. Chronic phenol poisoning, with special reference to the effects upon experimental animals of the inhalation of phenol vapor. *Am J Clin Pathol* 1944; 14:273-77.
12. Edwards VT, Jones BC, Hutson DH. A comparison of the metabolic fate of phenol, phenyl glucoside and phenyl 6-0-malonyl-glucoside in the rat. *Xenobiotica* 1986; 16: 801-807.
13. Ohtsuji H, Ikeda M. Quantitative relation between atmospheric phenol vapor and phenol in the urine of workers in bakelite factories. *British J Inter Med* 1972; 29: 70-73.
14. Knodell RG, Ishak KG, Black WC, Chen TS, Craig R, Kaplowitz N, et al. Formulation and application of a numerical scoringsystem for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis. *Hepatology* 1981; 1: 431-35.
15. Rui D, Daojun C, Yongjian Y. Liver and heart toxicity due to 90-day oral exposure of ICR mice to N,N-dimethylformamide. *Environ Toxicol Pharmacol* 2011; 31 357-63.
16. Jones-Price C, Ledoux TA, Reel JR. Teratologic evaluation of phenol (CAS No. 108-95-2) in CD-1 rats. Research Triangle Park 1983; Project Number: RTI-31U-1287 RTI-31U-2312.
17. Jones-Price C, Ledoux TA, Reel JR. Teratologic evaluation of phenol (CAS No. 108-95-2) in CD mice. Research Triangle Park 1983; Project Number: N01-ES-6-2127 PHS-PR-259231.
18. Hoffman GM, Dunn BJ, Morris CR, Butala JH, Dimond SS, Gingell R, Waechter JMJ. Two-week (ten-day) inhalation toxicity and two-week recovery study of phenol vapor in the rat. *Int J Toxicol* 2001; 20:45-52.
19. Fazelipour S, Kiaei SB, Tootian Z, Dashtnavard H. Histomorphometric study of hepatocytes of mice after using heroin. *Int J Pharmacol* 2008; 4: 496-99.
20. Asaga T, Ueki M, Chujo K, Taie S. JTE-607, an inflammatory cytokine synthesis inhibitor, attenuates ischemia/reperfusion-induced renal injury by reducing neutrophil activation in rats. *J Biosci Bioeng* 2008; 106:22-26.
21. Xu Q, Cao JS, Zhang XM. Liver-infiltrating T lymphocytes cause hepatocyte damage by releasing humoral factors via LFA-1/ICAM-1 interaction in immunological liver injury. *Inflamm Res* 2002; 51: 44-50.

22. Mizutani A, Okajima K, Uchiba M, Isobe H, Harada N, Mizutani S, et al. Antithrombin reduces ischemia/reperfusion-induced renal injury in rats by inhibiting leukocyte activation through promotion of prostacyclin production. *Blood* 2003; 101:3029-36.
23. Braunbeck T, Storch V, Bresch H. Species-specific reaction of liver ultrastructure in zebra fish (*Brachydanio rerio*) and trout (*Salmo gairdneri*) after prolonged exposure to 4-chloroaniline. *Arch Environ Contam Toxicol* 1990; 19: 405-418.
24. Patel JM, Bahadur A. Histopathological manifestations of sub lethal toxicity of copper ions in *Catla catla*. *American-Eurasian Journal of Toxicological Sciences* 2011; 4: 1-5.
25. Choudhary N, Sharma M, Verma P, Joshi SC. Hepato and nephrotoxicity in rat exposed to endosulfan. *J Environ Biol* 2003; 24: 305-308.
26. Klaassen CD, Amdur MO, Doull J, Editors. Casarett and Doull's toxicology, the basic science of poisons. 3rd ed. New York: MacMillan; 1986. p.310-29.
27. Ghaznavi R, Faghihi M, Kadkhodae M, Shams S, Khatar H. Effects of nitric oxide on gentamicin toxicity in isolated perfused rat kidneys. *J Nephrol* 2005; 18: 548-52.
28. Nemcsók J, Benedeczky I. Effect of sublethal concentrations of phenol on some enzyme activities and blood sugar level of carp (*Cyprinus carpio* L). *Environ Monit Assess* 1990; 14:377-83.
29. Hansch C, McKarns SC, Smith C, Dodittle DJ. Comparative QSAR evidence for a free-radical mechanism of phenol-induced toxicity. *Chem Biol Inter* 2000; 127: 61-72.