

## بررسی آسیب‌های کروموزومی در لنفوسیت‌های کارکنان اتاق عمل ناشی از استنشاق گازهای بیهوشی به روش آنالیز متافاز

سعید شهرابی<sup>۱\*</sup> (M.Sc)، پیمان حجازی<sup>۲</sup> (M.Sc)

۱ - دانشگاه علوم پزشکی سمنان، دانشکده پزشکی، بخش هماتولوژی

۲ - دانشگاه علوم پزشکی سمنان، دانشکده پزشکی، بخش فیزیک پزشکی

### خلاصه

سابقه و هدف: مهم‌ترین مسئله‌ای که پرسنل اتاق عمل با آن مواجه هستند خطرات ایجاد شده ناشی از پخش گازهای بیهوش‌کننده استنشاقی است که این گازها به عنوان یکی از روش‌های متداول در اعمال جراحی مورد استفاده قرار می‌گیرند. با توجه به این‌که تاکنون دستگاهی جهت اندازه‌گیری میزان پخش این گازها در اتاق عمل، در ایران طراحی نشده است و شواهد زیادی نشان می‌دهد عوامل شیمیایی مختلف از جمله گازهای بیهوش‌کننده استنشاقی می‌تواند مستقیماً بر روی کروموزوم‌های انسانی اثرات سوء داشته باشند، هدف این تحقیق بررسی اثر گازهای بیهوشی پخش شده در اتاق عمل بر ایجاد تاثیرات سوء کروموزومی و کروماتیدی (شامل شکاف و شکست کروموزومی و کروماتیدی) و بررسی ارتباط بین سابقه شغلی و ایجاد آسیب‌ها بود.

مواد و روش‌ها: نمونه‌های مورد نظر در این تحقیق در دو گروه اصلی شامل یک گروه شاهد و یک گروه پرسنل اتاق عمل تقسیم‌بندی شد که گروه شاهد در دو دسته شاهد نرمال بیمارستانی و شاهد نرمال غیربیمارستانی و گروه پرسنل اتاق عمل هم بر اساس میزان سابقه کاری به سه دسته کمتر از ۵ سال، بین ۵ تا ۱۰ سال و بیشتر از ۱۰ سال تقسیم‌بندی شدند. ابتدا از تمامی نمونه‌ها ۲ میلی لیتر خون گرفته و هپارینه شد و ۰/۴ میلی لیتر از این خون را به شیشه کشت درپوشدار استریل که شامل RPMI 1640، فیتوهاگلوئینین، فتال کالف سرم و آنتی بیوتیک بود اضافه نمودیم و بعد از ۷۰ ساعت که این شیشه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داشت عملیات برداشت که شامل تزریق KCL ۰/۰۷۵ مولار و سپس اضافه کردن فیکساتیو و در نهایت تهیه لام از نمونه‌های مورد نظر و رنگ‌آمیزی بوسیله گیمسا بود انجام و در هر نمونه ۱۰۰ متافاز با میکروسکوپ نوری بررسی شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که بین آسیب‌های کروماتیدی در بین دو گروه شاهد نرمال و سه گروه شاغلین در اتاق عمل اختلاف معنی‌دار وجود دارد ولی در ارتباط با شکاف کروماتیدی بین گروه شاغلین در اتاق عمل اختلاف معنی‌داری دیده نشد. از نظر حذف کروماتیدی بین شاغلین با سابقه کمتر از ۵ سال با دو گروه دیگر اختلاف معنی‌دار دیده شد. هیچ ارتباط معنی‌داری بین گازهای بیهوش‌کننده و آسیب‌های کروموزومی (شکاف و حذف) در پنج گروه مورد مطالعه دیده نشد. از نظر شکاف کروموزومی بین گروه شاهد بیمارستانی و پرسنل اتاق عمل اختلاف معنی‌دار وجود داشت ولی بین سه دسته پرسنل اتاق عمل هیچ اختلاف معنی‌داری دیده نشد. در رابطه با حذف کروموزومی بین گروه‌های شاهد و شاغلین با سابقه کمتر از ۵ سال و شاغلین با سابقه بین ۵ تا ۱۰ سال اختلاف معنی‌دار وجود داشت ولی بین گروه شاهد با شاغلین با سابقه بیش از ۱۰ سال هیچ‌گونه اختلاف معنی‌داری دیده نشد.

نتیجه‌گیری: یافته‌های فوق نشان می‌دهند که اشتغال و در نتیجه در معرض قرار گرفتن پرسنل با گازهای بیهوشی سبب افزایش آسیب‌های کروماتیدی و کروموزومی می‌شود و ارتباطی بین سابقه شغلی و ایجاد آسیب‌های کروموزومی و کروماتیدی وجود ندارد.

واژه‌های کلیدی: گاز بیهوشی، کشت لنفوسیتی، آسیب کروموزومی، آسیب کروماتیدی

## مقدمه

استفاده از مواد بیهوش کننده استنشاقی در اعمال جراحی یکی از روش های متداول و قدیمی در امر درمان می باشد. مقداری از این مواد به هنگام استفاده در فضای اتاق عمل پخش می شوند که این امر منجر به استنشاق ناخواسته گازهای بیهوشی توسط کارکنان اتاق عمل می شوند. استنشاق ناخواسته گازهای بیهوشی سبب بروز یک سری از آسیب ها در این کارکنان خواهد شد که این آسیب های شغلی و ارائه روش های مناسب جهت جلوگیری و کاهش اثرات مضر گازهای بیهوشی موضوع بسیاری از تحقیقات بوده است [۷، ۹، ۱۱، ۱۴].

جهت جلوگیری از اثرات ناخواسته استنشاق گازهای بیهوش کننده استنشاقی یک سری استانداردها جهت کاهش یافتن این خطرات از سوی انستیتو بین المللی سلامت و ایمنی شغلی وضع شده است [۱۲]، که متأسفانه در کشورهایی مثل ایران کاملاً اجرا نمی شود و هیچ مرکزی نیز مسئول تعیین میزان آلودگی در اتاق عمل نبوده و هیچ گونه پایشی انجام نگرفته است.

یکی از روش های پایش، مونیتورینگ بیولوژیکی می باشد که از اثر مواد شیمیایی یا عوامل فیزیکی بر بدن موجود زنده استفاده می شود. گازهای بیهوشی اثرات قابل اندازه گیری را روی کبد، کلیه و جنین کارکنان باردار داشته است ولی مهمترین اثر قابل اندازه گیری گازهای بیهوش کننده اثرات جهش زایی آنها می باشد. تاکنون فعالیت های گسترده ای جهت بررسی آسیب های کروموزومی بصورت *in vitro* روی حیوانات آزمایشگاهی و کارکنان اتاق عمل صورت پذیرفته است [۱، ۲، ۳، ۴، ۱۰، ۱۳]. بر اساس قرارداد، آسیب ها به دو دسته کروماتیدی و کروموزومی تقسیم بندی می شوند. اگر آسیب محدود به یکی از کروماتیدها باشد، آسیب کروماتیدی و اگر هر دو کروماتید یک کروموزوم آسیب دیده باشد آن آسیب را کروموزومی می نامند. در هر دو دسته از آسیب ها، اگر ناحیه آسیب دیده که به صورت ناحیه رنگ نگرفته دیده می شود کمتر از عرض یک کروماتید باشد آن آسیب را شکاف و اگر بیشتر از عرض

یک کروماتید باشد آن را حذف می نامند.

تا کنون در ایران بررسی جامعی در مورد اثرات سوء استنشاق مزمن گازهای بی هوش کننده در کارکنان اتاق عمل انجام نگرفته است. برای تعیین میزان اثرات گازهای بی هوش کننده، نیاز مبرمی به تعیین میزان اثرات سوء این گازها وجود دارد لذا از روش حساس آنالیز متافاز در این تحقیق استفاده شد تا اثرات ناشی از استنشاق این گازها در کارکنان اتاق عمل مشخص شود.

## مواد و روش ها

نمونه. در این پژوهش ۳۰ نمونه شاهد که شامل ۱۵ نفر شاهد نرمال غیربیمارستانی و ۱۵ نفر شاهد نرمال بیمارستانی بودند و ۴۵ نمونه از پرسنل اتاق عمل که بر اساس سابقه شغلی در سه گروه پانزده نفره با سابقه شغلی کمتر از ۵ سال، با سابقه شغلی بین ۵ تا ۱۰ سال و با سابقه شغلی بیش از ۱۰ سال تقسیم شده بودند مورد مطالعه قرار گرفتند.

مواد. جهت کشت لنفوسیتی از خون هیپارینه، فیتوهمگلوتینین PHA، فتال کالف سرم، محیط کشت RPMI 1640 و آنتی بیوتیک استفاده شد.

روش کشت لنفوسیتی. در زیر هود استریل ۴/۵ میلی لیتر RPMI 1640، ۰/۱ میلی لیتر "PHA" و ۰/۴ میلی لیتر خون هیپارینه را به داخل شیشه های درپوش دار استریل ریخته و آنها را کاملاً مخلوط کرده و شیشه های کشت را در داخل انکوباتور ۳۷ درجه قرار دادیم. هر ۴ ساعت یک بار با تکان دادن شیشه های کشت، محتویات داخل شیشه ها کاملاً مخلوط می گردید.

روش برداشت. ۷۰ ساعت بعد از شروع کشت، ۰/۲ میلی لیتر از محلول ۰/۰۲ درصد کلشی سین که مانع از تشکیل دوک های میتوزی می شود را به هر شیشه اضافه کرده و با عمل تکان دادن آنرا کاملاً در محیط کشت مخلوط نمودیم. بعد از ۲ ساعت ابتدا محتویات داخل شیشه کشت را در یک لوله آزمایش مدرج ریخته و سپس با دور RPM ۱۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ کرده مایع روی رسوب را کاملاً از لوله آزمایش خارج کردیم و

## نتایج

آنالیز یافته‌ها در رابطه با آسیب‌های کروماتیدی در پنج گروه مورد مطالعه نشان می‌دهد که هیچ اختلاف معنی داری از لحاظ آسیب‌های کروماتیدی در دو گروه شاهد وجود ندارد ولی بین دو گروه شاهد نرمال و سه گروه شاغلین در اتاق عمل اختلاف معنی دار وجود دارد. در ارتباط با شکاف کروماتیدی بین سه گروه شاغلین در اتاق عمل اختلاف معنی داری دیده نمی‌شود ولی از نظر حذف کروماتیدی بین شاغلین با سابقه کمتر از ۵ سال با دو گروه دیگر اختلاف معنی دار دیده می‌شود (جدول ۱).

آنالیز یافته‌ها در رابطه با آسیب‌های درموزومی در پنج گروه مورد مطالعه بیانگر این است که در ارتباط با شکاف و حذف درموزومی بین دو گروه شاهد اختلاف معنی داری وجود ندارد. از نظر شکاف درموزومی بین گروه شاهد بیمارستانی و پرسنل اتاق عمل اختلاف معنی دار وجود دارد ولی بین سه دسته پرسنل اتاق عمل هیچ اختلاف معنی داری دیده نمی‌شود. در رابطه با حذف درموزومی بین گروه‌های شاهد و شاغلین با سابقه کمتر از ۵ سال و شاغلین با سابقه بین ۵ تا ۱۰ سال اختلاف معنی دار وجود دارد ولی بین گروه شاهد با شاغلین با سابقه بیش از ۱۰ سال هیچ اختلاف معنی داری دیده نمی‌شود (جدول ۲).

به رسوب لوله ۵ میلی‌لیتر از محلول هیپوتونیک پتاسیم کلراید  $0.075 \text{ mol/l}$  اضافه کرده و محتویات داخل لوله را کاملاً مخلوط کردیم. علت استفاده از محلول KCL آسیب کمتر کروموزوم‌ها در مقایسه با سایر محلول‌های هیپوتونیک می‌باشد. بعد از ۱۰ دقیقه که این مخلوط در دمای ۳۷ درجه انکوباتور قرار داشت مجدداً با عمل سانتریفوژ کردن مایع رویی را خارج کردیم عمل اضافه کردن فیکساتیو ۳ تا ۴ بار انجام شد و بعد از آخرین مرحله اضافه کردن محلول ثابت کننده لوله‌ها را خارج کرده و رسوب سفید انتهای لوله را همراه با دو تا سه قطره از محلول رویی مخلوط کرده و از فاصله ۲۰ تا ۳۰ سانتی متری این محلول را روی لام سرد پرتاب نمودیم.

روش رنگ آمیزی. بعد از خشک شدن لام‌های تهیه شده، آنها را به مدت ۲۰ دقیقه در رنگ گیمسای ۵٪ قرار دادیم و سپس لام‌های رنگ شده را با آب مقطر شستشو دادیم. معمولاً در هر نمونه ۱۰۰ متافاز قابل شمارش با استفاده از عدسی شماره ۱۰۰ میکروسکوپ نوری بررسی شد.

طبقه‌بندی آسیب‌ها. در هر دسته شامل شکاف و شکست بود.

آنالیز آماری. نتایج حاصله با آزمون‌های آنالیز واریانس و t-test تجزیه و تحلیل شد.

جدول ۱. بررسی میزان آسیب‌های کروماتیدی در گروه‌های مورد مطالعه

گروه مورد مطالعه	تعداد افراد	تعداد متافاز بررسی شده	تعداد شکاف کروماتیدی	تعداد حذف کروماتیدی	مجموع آسیب‌ها
شاهد نرمال غیر بیمارستانی	۱۵	۱۵۰۰	۱۲	۵	۱۷
شاهد نرمال بیمارستانی	۱۵	۱۵۰۰	۲۱	۱۱	۳۳
شاغلین با سابقه کمتر از ۵ سال	۱۵	۱۵۰۰	۱۰۷	۵۲	۱۵۹
شاغلین با سابقه بین ۵ تا ۱۰ سال	۱۵	۱۵۰۰	۱۲۱	۷۲	۱۹۳
شاغلین با سابقه بیشتر از ۱۰ سال	۱۵	۱۵۰۰	۱۰۰	۴۹	۱۴۹

جدول ۲. بررسی آسیب‌های کروموزومی در گروه‌های مورد مطالعه

گروه مورد مطالعه	تعداد افراد	تعداد متافاز بررسی شده	تعداد شکاف کروماتیدی	تعداد حذف کروماتیدی	مجموع آسیب‌ها
شاهد نرمال غیر بیمارستانی	۱۵	۱۵۰۰	-	-	-
شاهد نرمال بیمارستانی	۱۵	۱۵۰۰	۱	-	۱
شاغلین با سابقه کمتر از ۵ سال	۱۵	۱۵۰۰	۷	۸	۱۵
شاغلین با سابقه بین ۵ تا ۱۰ سال	۱۵	۱۵۰۰	۱۵	۶	۲۱
شاغلین با سابقه بیشتر از ۱۰ سال	۱۵	۱۵۰۰	۱۱	۱	۱۲

در تحقیقات انجام شده توسط ناتارجان و همکاران [۱۲]، بیشترین آسیب‌های مشاهده شده از نوع شکاف کروماتیدی و شکاف کروموزومی بود که در مطالعه حاضر بیشتر آسیب‌های دیده شده از نوع شکاف کروموزومی بود. برای بررسی دقیق‌تر این آسیب‌ها، بررسی سیتوژنیک به روش آنالیز متافاز به صورت سالیانه و به مدت پنج سال لازم می‌باشد.

### تقدیر و تشکر

از مسئولین دانشگاه علوم پزشکی سمنان که امکان انجام چنین طرحی را در دانشگاه علوم پزشکی سمنان فراهم آورده‌اند صمیمانه تشکر می‌نمائیم. همچنین لازم است از آقای اشکان حجازی و ابوالفضل عموزاده که زحمت نمونه‌گیری از نمونه‌های مورد نظر در این طرح را بعهده داشته‌اند تشکر بعمل آید.

### منابع

- [1] Baden, J.M., Brinkenhoff, M. Wharton, R.S., Hitl, B.A., Simmon, V.F. and Mazze, R.I., Matagenicity of relative anesthetics halothane, *Anesthesiology*, 45 (1976) 311-380.
- [2] Baden, J.M., Kelley, M., Wharton, R.S., Hitl, B.A., Simmon, V.F., Mazze, I. R., Mutagenicity of halogenated ether anesthetics, *Anesthesiology*, 46 (1977) 346-350.

### بحث

ماکروملکول‌های موجود در بدن موجودات زنده می‌تواند هدف عوامل فیزیکی و شیمیایی مختلفی قرار گیرند که در این میان کروموزوم‌ها به عنوان هدف ویژه صدمات ناشی از این عوامل کارسینوژن و موتاژن عوامل شیمیایی نظیر گازهای بیهوش‌کننده از طریق تکنیک‌های کارآمد سیتوژنیک، بسیار با ارزش می‌باشد.

با توجه به چرخه سلولی اگر مولکول DNA در مرحله G1 آسیب ببینند این آسیب پس از گذر از مرحله سنتز S در هر دو کروماتید متافازی قابل مشاهده خواهد بود ولی اگر شکستگی در مرحله G2 ایجاد شود یکی از دو کروماتید دچار شکست می‌شود.

مطالعه روی سلول‌های کشت شده افرادی که با این مواد در تماس بوده‌اند نشان داده است که لنفوسیت‌های خون انسان معرف بسیار حساسی در شرایط آزمایشگاه (invitro) و در بدن موجودات زنده (invivo) برای عوامل ایجادکننده تغییرات ساختمانی کروموزوم می‌باشند و این تغییرات در مواد ژنتیکی به آسانی قابل پیگیری می‌باشد [۸،۶،۵]. هنگامی می‌توان ناهنجاری‌های مختلف کروموزومی موجود در یک فرد را به تاثیر گازهای بیهوش‌کننده نسبت داد که این ناهنجاری‌ها در گروه‌های شاهد وجود نداشته باشد و یا این‌که میزان آن کمتر از گروه‌های در معرض قرار گرفتن با گازهای بیهوش‌کننده سبب افزایش معنی‌داری در آسیب‌های کروموزومی و کروماتیدی در لنفوسیت‌های خون محیطی کارکنان اتاق عمل می‌شود ولی ارتباطی بین سابقه شغلی و میزان بروز این آسیب‌ها وجود ندارد.

- Mut. Res., 31 (1975) 135-148.
- [9] Green, C.J., Anesthetic gases and health risks to laboratory personnel: a review, *Lab. Anim.*, 15 (1981) 347-403.
- [10] Husum, B., Wulf, H.C. and Niebubr, E., Monitoring of sister chromatid exchange in lymphocytes of nurse-anesthetists, *Anesthesiology*, 62 (1985) 460-475.
- [11] Kole, T.E., Environmental and occupational hazards of the anesthesia work place, *AAANA. J.*, 58 (1990) 310-327.
- [12] Natarajan, D. and Santhiya, S.T., Cytogetic damage in operation theatre personnel, *Anaesthesia*, 45(1990)547-570.
- [13] Rozgaj, R., Kasuba, V. and Peris, M., Chromosom aberrations in operating room personel, *Am. J. Ind. Med.*, 35 (1999) 642-646.
- [14] Wurstaow, C.W., Wong, S.Y. and Tan, P.P., Use of a closed airway suctioning system during anesthesia, *Ma. Tsui. Hsueh. Tsa. Chi.*, 31 (1993) 9-14.
- [3] Baden, J.M. and Kundomal, Y.R., Mutagenicity of the combination of a volative anesthetic and nitrous oxide, *Br. J. Anesthesiology*, 56 (1987) 772-850.
- [4] Basler, A. and Eoharbon, J., Lack of mutagenic effects of halothane in mammals in vivo, *Antsthesiology*, 55 (1981) 143-170.
- [5] Bender, M.A., Cytogetic effects of radiation in man, *Sym. chromosome and pathology*, 8th international Congress of Internal Medicin, 1964.
- [6] Bender, M.A., and Gooch, P.C., Type and vates of x-ray induced chromosome aberration in human blood irradiated in vitro, *Proc. Nat. Acad. Sci(USA)*., 48 (1962) 522-532.
- [7] Davenport, H.T., Halsey, M.J., Wardley, S.B. and Bateman, P.E., Occupational exposure to anesthetics in 20 hospitals, *Anesthesia*, 34 (1980) 354-390.
- [8] Evants, H.J. and Mloridan, M.L., Human peripheral blood lymphocytes for the analysis of chromosome aberration in mutagen test,