

# بررسی اثرات پاتولوژی ناشی از کروم بر روی بافت کبد رت

دکتر سید علی اصغر مشتاقی<sup>۱</sup>، دکتر پروین رجیبی<sup>۲</sup>، امیر حسین اسماعیلی<sup>۳</sup>

## چکیده

مقدمه: کروم ( $Cr^{6+}$ ) به عنوان یک ماده مغذی لازم برای متابولیسم طبیعی کربوهیدرات‌ها و لیپیدهاست. کروم سه ظرفیت، وارد ترکیبات فعالی از فاکتور تحمل گلوکز می‌گردد که می‌تواند عمل انسولین را تقویت کند، از این رو در افراد *NIDDM* از مکمل کروم جهت درمان بیماری دیابت استفاده می‌گردد، این امر در حد غلظت‌های خیلی پایین (میکرومولار) مؤثر است ولی در غلظت‌های خیلی بالا کروم دارای خاصیت توکسیک و کارسینوژنیک می‌باشد. در مطالعات *In Vivo* نیمی از کل کروم تجویزی در هسته هپاتوسیت‌ها یافت شده است. در این بررسی اثرات دوزهای مزمن و حاد کروم کلراید بر روی بافت کبد رت مورد مطالعه قرار گرفته است.

مواد و روش: در این مطالعه تجربی آزمایشگاهی، رت‌ها به دو گروه مورد آزمایش و کنترل تقسیم شدند. رت‌های مورد آزمایش تحت تزریق داخل صفاقی دوز مزمن ۲ میلی‌گرم کروم کلراید به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن رت در مدت ۳۰ و ۶۰ روز و دوز حاد ۴۰۰ میلی‌گرم کرم کلراید در مدت ۱ روز قرار گرفتند، به رت‌های کنترل سرم فیزیولوژی نرمال سالین تزریق شد. بعد از پایان دوره تزریق، رت‌ها را بیهوش کرده و قسمتی از کبد حیوان را درآورده و از طریق تهیه برش و رنگ‌آمیزی و مطالعه توسط میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرار گرفتند.

نتایج: مطالعات بافتی کبد رت‌های مورد آزمایش نشان داد رت‌هایی که تحت تزریق داخل صفاقی دوز مزمن ۲ میلی‌گرم کروم کلراید به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن رت به مدت ۳۰ روز بوده‌اند باعث فیروز اطراف عروق (+۲)، فیروز متوسط بین لبولی و ارتشاح سلول‌های آماسی اطراف عروق گردید، دوز مزمن ۶۰ روز باعث فیروز شدید بین لبولی و اطراف عروقی (+۳) و ارتشاح زیر کپسولی شد. همچنین رت‌هایی که تحت تزریق داخل صفاقی دوز مزمن حاد ۴۰۰ میلی‌گرم کروم کلراید به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن رت قرار داشتند بعد از مدت ۱ روز، باعث ارتشاح متوسط اطراف عروق، ارتشاح لنفوسیت‌های اطراف عروق و تجمع نوتروفیل زیر کپسول گردید.

بحث: با توجه به نتایج حاصل از آزمایش‌ها به نظر می‌رسد که کروم در غلظت‌های خیلی پایین برای زندگی لازم و ضروری است ولی برای بسیاری از ارگان‌ها به‌ویژه بر روی کبد در غلظت‌های بالاتر توکسیک و کارسینوژنیک می‌باشد.

گل‌واژگان: کروم، مسمومیت، کبد

مجله پزشکی ارومیه، سال سیزدهم، شماره اول، ص ۷-۱، بهار ۱۳۸۱

- ۱- استاد گروه بیوشیمی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
- ۲- استاد یار گروه آسیب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
- ۳- کارشناس بیوشیمی، دانشگاه علوم پزشکی بابلرس

## مقدمه

کبد، طحال و مغز استخوان می‌گردد (۴). در مطالعات گزارش شده نیمی از کل کروم تجویزی در هسته هیپاتوسیت‌ها یافت شده است (۵).

قدرت مسمومیت کروم به حالت‌های اکسیداسیون آنها وابسته است. کروم سه ظرفیتی به خوبی جذب نمی‌گردد و مسمومیت آنها در این حالت گزارش نشده است (۶). کروم شش ظرفیتی که معمولاً به صورت کرومات یا دی کرومات می‌باشد دارای سمیت فوق‌العاده خطرناک می‌باشد زیرا این ترکیبات به سادگی از غشاهای بیولوژیکی عبور می‌کنند (۷). مهمترین اثرات سمی بعد از تماس، استنشاق و یا بلع و گوارش ترکیبات کروم شش ظرفیتی به صورت زیر دیده می‌شود. درماتیت، آلرژی، واکنش‌های آلرژی پوستی، واکنش‌های آگزمای پوستی، اولسر غشای موکوسی و پوست، سوراخ شدن تیغه بینی، واکنش‌های آسمی آلرژی، سرطان ریه، التهاب معده و کاهش سلول‌های کبدی می‌باشد (۸). با توجه به این که کارگران معدن استخراج کروم و رنگسازها و افرادی که در آبکاری فلزات، چرم سازی و دباغی مشغول بکار بودند به سرطان ریه، درماتیت و ناراحتی‌های کبدی مبتلا شده بودند، لذا در این بررسی اثرات سمی دوزهای مزمن و حاد کروم را بر روی بافت کبد رت مورد مطالعه قرار گرفت.

کروم در حد میکرومولار برای متابولیسم طبیعی کربوهیدرات‌ها و لیپیدها مورد احتیاج است. کروم سه ظرفیتی وارد ترکیبات فعالی از فاکتور تحمل گلوکز می‌گردد که می‌تواند عمل انسولین را تقویت کند (۱). مصرف کم و غیر کافی از کروم موجود در رژیم غذایی منجر به علائم شبیه بیماری‌های دیابت و بیماری‌ها قلبی-عروقی می‌گردد. تجویز مکمل کروم به افراد با آسیب تحمل گلوکز یا افراد دچار دیابت موجب بهبود املاح سطح گلوکز خون، انسولین و لیپیدهای خون می‌گردد (۲). کروم در حد غلظت‌های خیلی بالا می‌تواند توکسیک و کارسینوزتیک باشد به طوری که قرار گرفتن در معرض گرد و غبار کرومات باعث افزایش سرطان ریه می‌گردد (۳). همچنین افرادی که در معرض گازهای حاصل از جوشکاری فولاد زنگ نزن قرار می‌گیرند دفع ادراری بالایی از کروم نشان می‌دهند که حاکی از مسمومیت این گونه افراد به ترکیب کروم می‌باشد. در سال ۱۹۸۶ در طی تحقیقاتی گزارش شده است که به دنبال تزریق کروم سه ظرفیتی به رت‌ها در دوزهای ۱ میکروگرم و ۱۰ میکروگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن رت، کروم در مغز استخوان، طحال، بیضه‌ها و اپیدیدیم تجمع می‌یابد ولی در دوزهای ۶۰ - ۲۵۰ میکروگرم باعث تجمع کروم در بافت‌هایی از قبیل سیستم رتیکولو آندوتلیال،

## مواد و روش

در این مطالعه که یک مطالعه تجربی آزمایشگاهی است از رت‌های نر از نژاد Wistar در محدوده وزنی ۳۰۰ - ۲۵۰ گرم استفاده گردید. رت‌ها به دو گروه مورد آزمایش (تست) و کنترل تقسیم شده. رت‌های مورد آزمایش تحت تزریق داخل صفاقی دوز مزمن ۲ میلی‌گرم کروم کلراید (CrCl<sub>3</sub>) به‌ازای کیلوگرم وزن بدن رت در مدت ۳۰ و ۶۰ روز و دوز حاد ۴۰۰ میلی‌گرم کروم کلراید در مدت ۱ روز قرار گرفتند. رت‌های کنترل تحت تزریق نرمال سالین قرار گرفتند. تزریقات توسط سرنگ انسولینی و به مقدار ۰/۲ میلی‌لیتر صورت گرفت. بعد از پایان دوره تزریقات، رت‌ها پس از یک شب گرسنگی و تشنگی بیهوش شده و حفره شکمی را باز کرده و جهت حذف خون موجود در مویرگهای کبدی، کبد رت توسط بافر کریس - رینگر بیکرنات با ترکیب (۱۲-mM) KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (۱/۲mM)، KCL (۴/۸mM)، NaCl (۱/۲mM)، CaCl<sub>2</sub> (۱/۳mM)، MgSO<sub>4</sub> (۱/۲mM)، NaHCO<sub>3</sub> (۲۴mM) که PH آن توسط ۹۵ :  $\frac{O_2}{C O_2}$  به ۷/۴ رسانده می‌شود)

مورد شستشو قرار گرفت (۹). پس از آن کبد از حفره شکمی جدا گردید و بر روی ورقه آلومینیومی منتقل گردید. یک قسمت از آن حدود یک گرم را برش داده که فوراً ثابت می‌شود، برای

ثابت کردن بافت از محلول فرمالین ۱۰٪ استفاده گردید. بعد از ثابت کردن بافت برای آنکه بتوان بافت را در پارافین قالب گیری کرد بایستی اعمالی را قبلاً انجام داد تا بافت آماده برای پارافین‌گیری گردد که این عمل را پاساژ یا گردش بافت یا Processing می‌گویند که شامل مراحل زیر است.

۱- آبگیری ۲- الکل‌گیری و شفاف کردن  
۳- آغشتگی ۴- قالب‌گیری

بعد از قالب‌گیری، بافت توسط میکروتوم (بافت بر) برش داده می‌شود. مراحل بعدی کار شامل رنگ‌آمیزی می‌باشد. رنگ‌آمیزی معمولی، رنگ آمیزی هماتوکسیلین - انوزین است که در آن نه تنها هسته و سیتوپلاسم رنگ می‌گیرد، بلکه بافت همبندی نیز رنگی می‌شود و عناصر مزبور از هم قابل تفکیک می‌گردد. هسته سلول‌های آبی، سیتوپلاسم و رشته‌های بافت‌های همبند رنگ صورتی با درجات مختلف به خود می‌گیرد. مطالعات هیستولوژیکی توسط میکروسکوپ نوری صورت گرفت (۱۰).

## نتایج

نتایج حاصل از مطالعات میکروسکوپی بافت کبد رت نشان داد که در کبد تمام رت‌های کنترل که تحت تزریق داخل صفاقی سرم فیزیولوژی قرار داشتند ارتشاح سلول‌های آماسی اطراف عروق مشاهده گردید، شکل‌های (۳،۲،۱) بیانگر این حالات می‌باشد. مطالعات بافتی کبد رت‌های مورد

آزمایش نشان داد رت‌هائی که تحت تزریق داخل صفاقی دوز مزمن ۲ میلی‌گرم کروم کلراید به ازای کیلوگرم وزن بدن رت به مدت ۳۰ روز بوده‌اند، فیبروز اطراف عروق (+۲)، فیبروز متوسط تا ضعیف بین لبولی و ارتشاح سلول‌های آماسی اطراف عروق مشاهده گردید. هم‌چنین تزریق داخل صفاقی دوز مزمن ۲ میلی‌گرم کروم کلراید به ازای کیلوگرم وزن بدن رت در مدت ۶۰ روز باعث فیبروز شدید بین لبولی و اطراف عروق (+۳) و ارتشاح زیر کپسولی گردید. تزریق داخل صفاقی دوز حاد ۴۰۰ میلی‌گرم کروم کلراید به ازای کیلوگرم وزن بدن رت بعد از مدت ۱ روز باعث ارتشاح متوسط سلول‌های آماسی اطراف عروق، ارتشاح لنفوسیت‌های اطراف عروق و تجمع نوتروفیل زیر کپسول گردید.

### بحث

نتایج مطالعات پاتولوژیکی انجام شده در این پروژه بر روی بافت کبد رت‌های مسموم شده با کروم کبد رت نشان داد که در کبد رت‌های کنترل که تحت تزریق داخل صفاقی فیزیولوژی قرار داشتند ارتشاح سلول‌های داخل پارانشیمی سلول‌های آماسی و ارتشاح اطراف عروق مشاهده گردید که بیشتر به خاطر حساس بودن سلول‌های کبدی (Reactive hepatitis) به هر گونه تزریق داخل صفاقی ایجاد می‌گردد. مطالعات بافتی کبد رت‌های مورد آزمایش نشان داد رت‌هائی که تحت تزریق داخل صفاقی دوزهای مزمن و حاد کروم قرار داشتند فیبروز متوسط (+۲) تا شدید

(+۳) اطراف عروق، فیبروز بین لبولی، ارتشاح سلول‌های آماسی اطراف عروق، ارتشاح فیبروبلاست‌های اطراف عروق و ارتشاح زیر کپسولی بر حسب نوع دوز تزریقی مشاهده گردید. توضیح اینکه تجمع نوتروفیل و تجمع لنفوسیت‌های اطراف عروق منجر به سلول‌های آماسی شده که در نهایت منجر به فیبروز می‌گردد و سپس فیبروز کبدی به مرور زمان باعث ایجاد سیروز کبدی می‌شود و این سیروز کبدی می‌تواند مقدمه‌ای برای سرطان کبدی باشد. Baruthio در سال ۱۹۹۲ در مطالعات خود اثرات سمی کمی را به کروم سه ظرفیتی نسبت داد و نشان داد که سمیت حاد و مزمن کروم به طور عمده توسط ترکیبات کروم شش ظرفیتی ایجاد می‌گردد از جمله در کبد باعث کاهش سلول‌های کبدی می‌گردد (۸).

Anderson و همکارانش در سال ۱۹۹۷ عدم سمیت کروم کلراید و کروم پیکولینات را در رت‌ها با اندازه‌گیری هیستولوژیکی مورد آزمایش قرار دادند.

ارزیابی هیستولوژیکی از کبد و کلیه در گروه کنترل و حیواناتی که با ۱۰۰ میلی‌گرم کروم کلراید و کروم پیکولینات به ازای کیلوگرم وزن بدن رت تغذیه شدند هیچ‌گونه اختلاف آشکاری را نشان نداد (۶). ولی در آزمایش ما کروم کلراید در دوزهای مزمن و حاد به طور متوسط توکسیک می‌باشد و برای اینکه خاصیت سرطان‌زایی خودش را اعمال نماید نیاز به این است که نمونه

با توجه به نتایج حاصل از آزمایش‌های ما، افرادی که در صنایع استخراج کروم معدنی مشغول بکار هستند، رنگسازها و همچنین افرادی که در چرم سازی، دباغی و آبکاری فلزات مشغول بکار هستند و در معرض کروم با غلظت بالائی قرار دارند و نیز افراد NIDDM که برای درمان بیماری دیابت از مکمل کروم استفاده می‌کنند احتمال بروز چنین آسیب‌های کبدی در آنها وجود دارد.

در دوز بالائی از کروم و در مدت زمان بیشتری در معرض کروم قرار گیرد چون کروم در غلظت‌های پائین برای موجود زنده لازم و ضروری است ولی در بسیاری از سیستم‌ها در غلظت‌های بالاتر توکسیک و کارسیوژنیک می‌باشد، به هر حال مکانیسم دقیقی که نشان دهنده این امر باشد که کروم هم به عنوان یک فلز ضروری و هم سرطان‌زا باشد به طور مشخص در دسترس نیست. بنابراین

### References

1. Mertz W, Schwarz K: Relation of GTF to impaired interavenous glucose tolerance of rats on stock diets. *Am J Physiol* , 1959 , 196:614-618.
2. Yass A, Nieboer E: Carcinogenicity of Chromium Compounds. In: nriaguj Q ; Niebor E editors: chromium in the natural and human environments. New York , John Wiley sons, 1988: 433.
3. Friberg N , Vomk GF: Handbook of toxicology of metals. 2 nd E New York ed Elsevier Science B P , 1986: 185-205.
4. Tando SK , Behari J , Rand Kachra DN :Distribution of Chromium in poisoned rats. *Toxicology* , 1997 , 13:29-34.
5. Anderson Ra Bryden NA , polansky MM: Lack of toxicity of chromium chloride (CrCl<sub>3</sub>) and Chromium picolinate (CrPi) in rats. *J Am coll Nutr* , 1997 , 16:273.
6. Johnson Bl , ademoyero AA: Public health perspective on risk assessment of essential elements. *Dei* , 1994: 3.
7. Baruthio F: toxic effects of chromium and its compounds. *Biol Trace Elem Res* , 1992 , 32:145-153.
8. Rose BD: Perfusion techniques in biochemistry 1<sup>st</sup> ed , Clavendon press, oxford, 1972: 85-212.
9. Junquera LG , Carneiro J Lang J basic Histology, 15th ed, New York, churchill livingstone 1986:1.

# PATHOLOGICAL EFFECTS OF CHROMIUM ON RAT LIVER TISSUE

*A.S.Moshtaghi<sup>1</sup>, PhD :P.rajabi<sup>2</sup> M.D Esmaili<sup>3</sup> MS.*

## **Abstract**

**Introduction:** *Chromium is necessary for carbohydrate and lipid metabolism. Chromium (III) is necessary for the activation of Insulin secretion and it is used for the treatment of NIDDM in very low concentration. It produces toxicity particularly in Nuclear hepatocytes in high concentration. In this project the acute and chronic effects of chromium on rat liver tissue has been investigated.*

**Methods:** *Rats were divided into two groups. In one group 2mg/kg chromium were injected daily for 30 and 60 days and in another group 400 mg/kg of chromium administered for one day Rat were anesthetized with ether and their liver were removed for microscopic examinations.*

**Results:** *results obtained show that intraperitoneal administration of 2mg chromium for 30 days causes vascular fibrosis (+2) and intermediate fibrosis and inflammation of vascular (+3). Administration of 400 mg/kg of chromium causes secretion of lymphocytes and accumulation of neutrophil.*

**Discussion:** *Chromium is an essential element in low concentration and toxic particularly at very high concentration.*

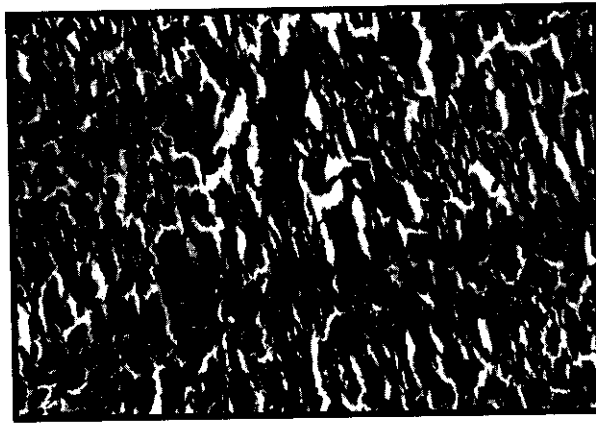
**Key Words:** *Chromium, toxicity, liver.*

**Address:** *Department of clinical Biochemistry , school of pharmacy, Esfahan university of Medical sciences, Esfahan , Iran.*

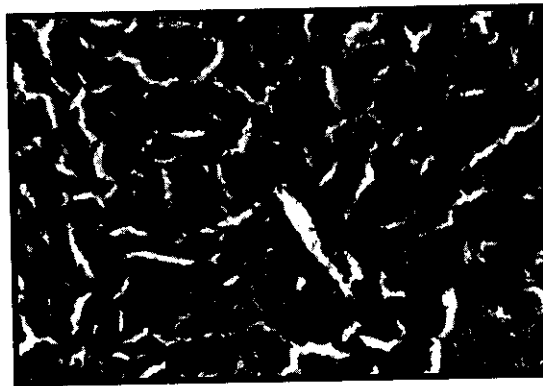
**Source:** *UMJ 2002; 13(1): ISSN: 1027 – 3727.*

---

*1. professor of Biochemistry , school of pharmacy , Esfahan university of Medical sciences.  
2. Assistant Professor of pathology , school of medical sciences. Esfahan university of Medical sciences.  
3. Instructor of Biochemistry , Babolsar university of Medical sciences.*



تصویر شماره ۱-۳: کبد رت کنترل که به مدت ۳۰ روز تحت تزریق داخل صفاقی سرم فیزیولوژی قرار داشت. نتیجه: فیروز اطراف عروق صفراوی، ارتشاح داخل پارانیشیمی سلولهای آماسی و ارتشاح اطراف عروق. (رنگ آمیزی در شرائط معمولی هماتوکسیلین - اتوزین انجام گرفت).



تصویر شماره ۲-۳: کبد رت کنترل که به مدت ۶۰ روز تحت تزریق داخل صفاقی سرم فیزیولوژی قرار داشت. نتیجه: فیروز اطراف عروق صفر، ارتشاح سلولهای آماسی داخل پارانیشیم اطراف عروق. (رنگ آمیزی در شرائط معمولی هماتوکسیلین - اتوزین انجام گرفت).



تصویر شماره ۳-۳: کبد رت کنترل که به مدت ۱ روز تحت تزریق داخل صفاقی سرم فیزیولوژی قرار داشت. نتیجه: ارتشاح سلولهای آماسی اندک (خفیف) که در اطراف عروق داخل پارانیشیم، فیروز اطراف عروق صفراوی - (رنگ آمیزی در شرائط معمولی هماتوکسیلین - اتوزین انجام گرفت).