مقاله پژوهشی

تغییرات بافت ریه و گلبول‌های سفید خون تحت اثر تولوئن

نویسندگان:

حمیدرضا عادلی[۱]، کبری زارع[۲*]، نسیم نعیمی[۳]،مریم علمدار[۴]

۱- گروه زیست‌شناسی تکوینی، دانشگاه علوم و تحقیقات تهران، تهران، ایران
۲- گرو ه فیزیولوژی جانوری، دانشگاه علوم و تحقیقات تهران، تهران، ایران
۳- گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه سیستان و بلوچستان، زاهدان، ایران
۴- گروه زیست‌شناسی،دانشگاه پیشوا ورامین،ورامین، ایران

Pars Journal of Medical Sciences, Vol. 14, No.1, Spring 2016

چکیده:

مقدمه:تولوئن با فرمول شیمیاییC_7H_8،ترکیبی آروماتیک وجزئی از ساختار بنزین بوده که به‌عنوان حلال شیمیایی در صنایع مختلف استفاده می‌شود. این ماده اثرات نامطلوبی رویمحیط‌زیست دارد. هدف مطالعه حاضر بررسی اثر تولوئن بربافت ریه و خون بود.

روش کار:در این مطالعه۳۰سرموش نربالغ به سه گروه تقسیم شدند. گروه تیمار ۱ به مدت ۲۵ روز هر روز یک نوبت،مقدار ۱/. سی‌سی تولوئن به همراه سرم فیزیولوژیک باعیار ۱۷۰۰ mg/kg وزن وگروه تیمار ۲ مشابه گروه ۱ ولی باعیار ۱۰۰۰mg/kgتولوئن دریافت کردند. گروه سوم به‌عنوان گروهشم در نظر گرفته شد.پس ازوزن‌کشی،پارامترهای موردنظربافت ریه و خون با نرم‌افزارموتیک اندازه‌گیری ومطالعات ماکروسکوپی و میکروسکوپی ازطریق لام‌های تهیه‌شدهانجام شد.

یافته‌ها:در گروه تیمار ۱،درصد نوتروفیل ها کاهش و تعداد لنفوسیت‌های دژنره و انواع دیگر گلبول‌های سفید افزایش یافت. بافت ریه درمیانگین ضخامت دیواره برونش،قطر کلی برونشیول انتهایی،برونشیول تنفسی، ضخامت سپتای آلوئول و تعدادسلول‌های پنوموسیت‌هاینوع ۲افزایش ودر پنوموسیت نوع۱کاهش نشان داد. درتمامی پارامترهای ذکرشده،ارتباط گروه ۱ با گروه ۲ وگروهشم وارتباط دوگروه تیمار نسبت به یکدیگرمعنادار بود(۵ .($P<۰/۰$

بحث و نتیجه‌گیری:تولوئن با تحریک مراکز خون‌ساز، باعث تغییر درتعداد ودرصد انواع گلبول‌های سفیدوباافزایش درضخامت وقطر پارامترهای ریوی، التهاب وتنگی آلوئولها، موجب ضعف سیستم تنفسی وکاهش عملکرد آن شد. این اثرات وابسته به دوز بود به‌نحوی‌که در عیار بالاتر تولوئن اثرات تخریبی بیشتری مشاهده شد.

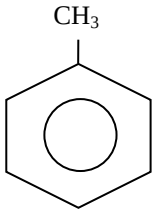
واژگان کلیدی:تولوئن، هماتولوژی، ریه

Par J Med Sci 2016;14(1):27-37

مقدمه:

نفت و زغال‌سنگ دو منبعبزرگ مواد آلیدر طبیعت هستندکه ترکیبات آروماتیک مختلفی ازآن‌هابه دست می‌آید[۱]. تولوئن با فرمول شیمیاییC_7H_8 از گروه هیدروکربن‌های آروماتیک است که به نام‌های متیل بنزن، فنیل متان، تولوئنمتاسید و متیل بنزول نیز معروف است[۲]. این ماده یکی از ترکیبات آروماتیک و سمی موجود در نفت است که به محیط‌زیست آسیب می‌رساند [۳]. طبق گزارش گرین وایر در سال ۱۹۹۵،تولوئن، متانول و آمونیاک سه مادهشیمیایی سمی هستند که به‌طور گسترده توسط صنایع شیمیایی وارد محیط‌زیستمی‌شوند[۴]. تولوئن آلکیل بنزنی است که مقادیر بالای آن باعث مرگ یا بیهوشی در افرادمی‌شود [۵]. نقطه ذوب این ماده ۹۵- درجه سلسیوس و نقطه‌جوش آن ۱۱۰/۶ درجه سلسیوس است. تولوئن اشتعال‌زا،بی‌رنگ، شفاف، فرار و معطراست و در دمای اتاقحالت مایع دارد [۲].حلالیت این ماده در آب کم، اما درچربی‌ها زیاد است [۶].

* نویسنده مسئول، نشانی: تهران، انتهای بلوار اشرفی اصفهانی، حصارک پونک، دانشگاه علوم و تحقیقات تهران، دانشکده علوم پایه، گروه زیست‌شناسی
تلفن تماس: ۰۹۱۲۷۹۲۵۶۰۳ پست الکترونیک:kobra.zare@yahoo.com
دریافت: ۱۳۹۴/۹/۱۴ اصلاح:۱۳۹۵/۱/۲۹ پذیرش:۱۳۹۵/۲/۲۹



شکل ۱: ساختمان شیمیایی تولوئن

تولوئن به همراه بنزن و گزیلن از افزودنی‌های بنزین استو ۱۵/۴٪ آن را تشکیلمی‌دهد. این ماده به‌طور طبیعی در نفت خام وجود دارد و در فرایند تولیدکک از ذغال سنگ حاصل می‌شود. تولوئن در ساختن رنگ‌ها، چسب‌ها، رنگ‌های آکریلیک، لاستیک، رزین، چسب هواپیما و دباغی چرم، براق‌کنندهکفش، روغن مو و پوست، عطر، ضد یخ، ضدزنگ و پاک‌کننده‌هامورداستفاده قرارمی گیرد[۷]. هنگام استفاده از ترکیبات حاوی تولوئن همچون رنگ‌ها، چسب‌ها، تینر های رنگ، جلا دهنده‌ها و بنزین، تولوئن به‌راحتی وارد محیط شده، با هوای تنفسی انسان مخلوط می‌شودو می‌تواندوارد آب‌های سطحی و زیرزمینی شده، موجب آلودگی خاکشود [۸].

افراد و به‌خصوص کودکان ممکن است به روش‌های مختلفی از جمله بوییدن چسب به‌طور عمدییا تصادفی،آشامیدن آب آلوده، تنفس بخارهای مواد شیمیایی در مراکز صنعتی و کارگاه‌ها،تنفس بخار بنزین وفرآورده‌های آرایشی درمعرض تولوئن وعوارض آن قرار گیرند. همچنین کسانی که با بنزین و سایر فراورده‌های نفتی سروکار دارند و یا در داخل خانه با وسایل آرایشیمانند جلادهنده‌های ناخن، رنگ‌ها، تینر، لکه پاک‌کن‌ها و...کار می‌کنند، ممکن است در مواجه با این ماده قرار گیرند [۹].در صورت ورود تولوئن به بدن، ۷۵٪ آن طی ۱۲ ساعت اول از بین می‌رود، ولی به خاطر حلالیت پایین آن در آب نمی‌تواندار طریق عرق، ادرار و مدفوع دفع شود [۱۱ و ۱۰].

تولوئن به مقدار کم، علائم خستگی،گیجی،کم شدن حافظه واشتها و درغلظت‌های بالای آن در درازمدتآسیب‌های مغزی ایجاد می‌کند. استنشاق مداوم تولوئن باعث ایجاد آسیب‌های مغزی مشکلات بینایی،شنوایی،تکلم می‌شود و در مادران باردار به علت عبور از جفت به جنین،باعث ایجاد سندرم‌های مختلف از جمله میکروسفالی وتأخیر رشد می‌شود[۱۳و ۱۲].

در ادامه برای بررسی تغییرات ناشی از تأثیر تولوئن به تشریح فیزیولوژی بافت خون و ریه پرداخته می‌شود. خون محیطی سیال است که در آن سلول‌های سفید وقرمزوپلاکت‌ها قرار دارند. حدود ۵۵٪حجم خون را پلاسما تشکیل می‌دهد[۱۵و۱۴].گلبول‌های سفیدبر اساس شکل هسته و نوع گرانول‌های موجود در سیتوپلاسم به دو دسته گرانولوسیت های چندهسته‌ای وآگرانولوسیت تک‌هسته‌ای تقسیم می‌شوند.لکوسیتوز به افزایش تعدادگلبول‌های سفیدخون محیطی گفته می‌شودکه ناشی از فعالیت‌های شدید جسمانی، آنوکسی، آبستنی، زایمان و عوامل استرس‌زااست[۱۶].لنفوسیتوز افزایش غیرطبیعی تعداد لنفوسیت‌ها است. در هنگامعفونت‌های ویروسی و واکنش‌های ایمنی و استرس‌زا، در خون محیطی لنفوسیت‌های غیرطبیعی و بزرگی با مورفولوژی غیرطبیعی با هسته نامشخص مشاهده می‌شوند. در هنگام مسمومیت نیز متورم شده و هسته و سیتوپلاسم آن‌ها تخریب می‌شود.نوتروفیل‌ها مهم‌ترینگلبول‌های سفید پلی مورفونوکلوئر بوده که قدرت تحرک و بیگانه‌خواری زیاد دارند[۱۸و ۱۷].

دستگاه تنفس به دو ناحیه هدایتی و تنفسی تقسیم می‌شود. برونشیول‌های انتهایی، مجاری ظریفی هستند که به مجموعه‌های بزرگ آلوئولی منتهیمی‌شوند و برونشیول تنفسی محل شروع تبادلات تنفسی هستند.مجاری آلوئولی و آلوئول‌ها هر دو توسط سلول‌های سنگفرشی آلوئولی نازک پوشیده شده‌اند.آلوئولها کیسه‌های هوایی هستندکه درجداره آن‌هاتبادلات گازی بین خون وهوا صورت می‌گیرد [۱۹]. به‌طورکلی،یک دیواره بین دو آلوئول قرارگرفته و دیواره بین آلوئولیبا سپتا نامیده می‌شودکه به‌صورتتیغه‌ای فضای داخل آلوئولی رادر برمی‌گیردوباموی‌رگ‌های خونیدر تماس است. سلول‌های پنوموسیت نوع ۱، سلول‌های نازکی هستند که سطح آلوئول‌ها را فرش می‌کنندو ۹۷٪ سلول‌ها را تشکیل می‌دهند. سلول‌های نوع ۲که سلول‌های آلوئولی بزرگ یاسلول‌های دیواره‌ای نامیده می‌شوند،۳٪ باقیمانده سطح آلوئولی را تشکیل می‌دهند[۲۰].

با توجه به موارد فوق و همچنین در تماس بودن با تولوئن در طیف وسیعی از افراداز جمله رنگ‌کارها، کارگران ساختمانی و کسانی که با فراورده‌های نفتی سروکار دارند، لازم است تأثیر این ماده بیش‌تر بررسی شود.بدین منظورانجام مطالعه حاضر روی بافت ریه و خون درموش‌های نر Albino NMRIضروری به نظر رسید.

روش کار:

این پژوهش تجربی روی ۳۰ سر موش نر نژاد Albino NMRIتهیه‌شده ازانستیتو پاستور ایران انجام گرفت[۲۱]. موش‌ها در محدوده وزنی ۲۵ تا ۳۰ گرم ودر شرایط آزمایشگاهی و وضعیت به شرح زیرقرار داشتند:

۱- نگهداری در قفسه‌های استیل به ابعاد ۱۵ ×۳۰× ۴۵ سانتی‌متر،

۲- قرار داشتن آب و غذای کافی در دسترس تمام موش‌هایگروهشم و دو گروه تیمار. غذای موردنیازموش‌ها از شرکت خوراک دام پارس تهران و آب مورد مصرف آن‌ها از آب شرب لوله‌کشی شهری تهیه شد،

۳-نظافت و ضدعفونی هفته‌ای یک‌بار قفس‌هابا مایعظرف‌شویی و الکل اتیلیک ۷۰٪ در ضمن هر روز غذاهای باقی‌ماندهجمع‌آوری و مجدداً غذای تازه در دسترس موش‌هاقرار می‌گرفت،

۴- تأمیندمای مناسب (۲±۲۲ درجه سلسیوس). برای ثابت نگه‌داشتن دمای اتاق از گرم‌کن برقی و کولر آبی استفاده و دما توسط دماسنج جیوه‌ای اندازه‌گیری شد،

۵- دوره روشنایی- تاریکی به‌صورت ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی. منبع نور علاوه بر نور اتاق، لامپ مهتابی و زمان تابش آن از ساعت ۷ صبح تا ۷ بعدازظهر بود.

گروه‌های آزمایش:پیش از آغاز آزمایش‌ها،هر پنج موش در یک قفس و در شرایط کنترل‌شده از نظر دما و نور با دسترسی آزاد به آب و غذای در اتاق مخصوص حیوان‌ها به مدت یک هفته نگهداری شدند. حیوان‌هابه‌طور تصادفی به گروه‌های زیر تقسیم شدند:

۱-گروهشم:این گروه به مدت ۲۵روز، هرروزیک نوبت مقدار ۱/.سی‌سی سرم فیزیولوژیکبه‌صورت گاواژ دریافت کردند.

۲- گروه تیمار ۱: به موش‌های این گروهبه مدت ۲۵روز، هرروزیک نوبت مقدار ۱/.سی‌سی تولوئن به همراه سرم فیزیولوژیک (۳۵./.تولوئن +۶۵./.سرم فیزیولوژیک)باعیار ۱۷۰۰ mg/kg وزن موش خورانده شد.

۳-گروه تیمار ۲: این گروه به مدت ۲۵ روز، هر روز یک نوبت مقدار ۱/. سی‌سیتولوئن به همراه سرم فیزیولوژیک(۳۵./.تولوئن +۶۵./.سرم فیزیولوژیک) را باعیار۱۰۰۰mg/kg وزن موش دریافت کردند.

این مواد با سرنگ انسولین و نیدل گاواژ نمره ۲۰ خریداری‌شده از شرکت رازی راد ایرانبه روش گاواژدر ساعت مشخصی از روز وارد معده موش‌ها شد. در طول مدت تیمار،هر روز وزن موش‌ها اندازه‌گیری شد[۲۲].

در پایان دوره۲۵روزه،بعد از تشریح جانور، برای تعیین پارامترهای خونی به ترتیب مراحل خون‌گیری از دهلیز راست قلب و شمارش گلبول‌های سفید با کمک لام نئوبارانجام شد [۱۶و۲۲]. سپس برای بررسی‌های هیستولوژی از مقاطع ریه،بافت‌های ریه پس از مراحل مختلف پاساژ بافتی، فیکساسیون، آبگیری،شفاف‌سازی، آغشته سازی با پارافین،قالب‌گیری، برش گیری، ثابت کردن برش روی لام، رنگ‌آمیزی با هماتوکسیلین و ائوزین، آبگیری و شفاف‌سازی، چسبانیدن برچسب موردبررسی میکروسکوپی قرار گرفتند تا تغییرات ساختاری آن‌ها مشخص شود.همچنین به کمک میکروسکوپ و لوپ مجهز به دوربین دیجیتال، عکس از بافت‌هاتهیه و سپس بخش‌های موردنظربا استفاده از نرم‌افزار موتیکبرحسب میکرومتراندازه‌گیری شدند.

برای تحلیل داده‌های آماری حاصل از اندازه‌گیری قطر بخش‌های مختلف سیستم تنفسی از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه برای گروه‌های شمو تیمار (تحت استرس تولوئن) و برای بررسی تفاوت‌های درون‌گروهی و مقایسه میانگین‌ها از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. نتایجبه‌صورتMean±SEMارائه شدند.۵ ۰/۰>Pبه‌عنوان سطح اختلاف معنادارآماری در نظر گرفته شد. برای رسم نمودارها از برنامه آماری اکسل و برایاندازه‌گیری ابعاد سلول‌ها از نرم‌افزار موتیک استفاده شد

یافته‌ها:

میانگین تعداد گلبول‌های سفید در موش‌های نردر دو گروه تیمار ۱ و ۲ به ترتیب ۳۸۰۰ و ۵۶۰۰ عدد در هر میلی‌متر مکعب خون بود،درحالی‌کهدر گروه شم۴۳۰۰ بود. به ترتیب گروه تیمار ۱ در مقایسه با گروهشم،کاهش معنادار ۱۱/۶٪وگروه تیمار ۲ افزایش معنادار ۳۰٪ مشاهده شد.آزمونتحلیل واریانس بین گروه تیمار ۲و گروه تیمار ۱ نیز افزایش معناداری را نشان داد(۵ ۰/۰>P) (نمودار ۱).

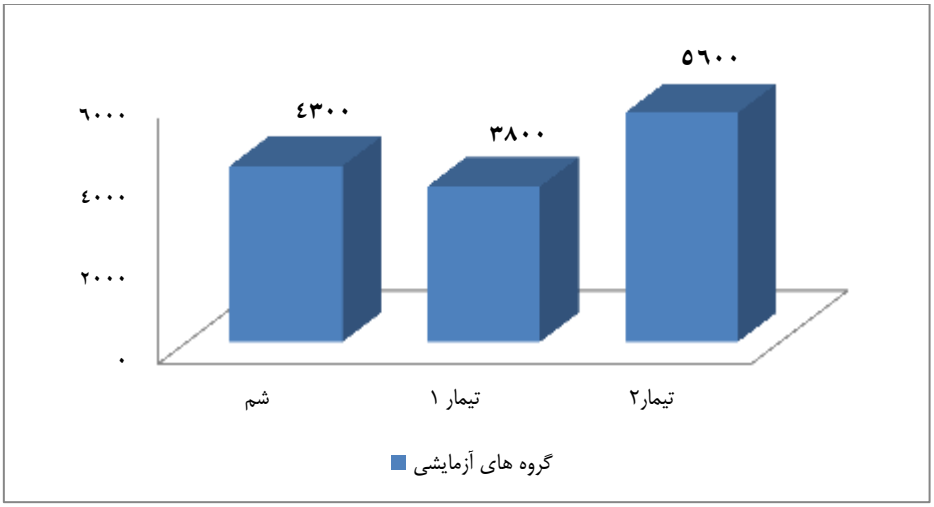
لنفوسیت‌های کوچک در خونموش‌های گروهشم در حدود۲۰٪بودکه در گروه‌های تیمار ۱ و۲به ترتیب به۲۵٪و ۳۲٪رسید.لنفوسیت‌های متوسط نیز در گروهشم۳۰٪ودر گروه ۱ و ۲به ترتیب به۱۷٪ و۲۳٪رسید. لنفوسیت‌های درشت ازمیانگین ۲۰٪ در گروه ۱ به۲۵٪ افزایش یافت و در گروه ۲،این میزان ۲۲٪ بود.درمورد لنفوسیت‌های دژنره در گروه شم ،میانگین ۷٪ و در گروه‌های۱ و۲ به ترتیب به ۲۰٪و ۱۲٪ رسید.میانگین نوتروفیل در گروه شم،۲۳٪ و در گروه‌های تیمار ۱ و۲ به ترتیب ۸٪و۱۲٪ بود.ارتباط گروه ۱ با گروه ۲ وگروهشم وارتباط دوگروه تیمارنسبت به یکدیگرمعنادار بود(۵ ۰/۰>P). (نمودار۲)

تغییرات انواع لنفوسیت‌ها،نوتروفیل هاو دژنره شدن آن‌ها در گروه‌های تیمار۱و۲در مقایسه با گروهشم رامی‌توان در شکل‌های ۲ مشاهده کرد.

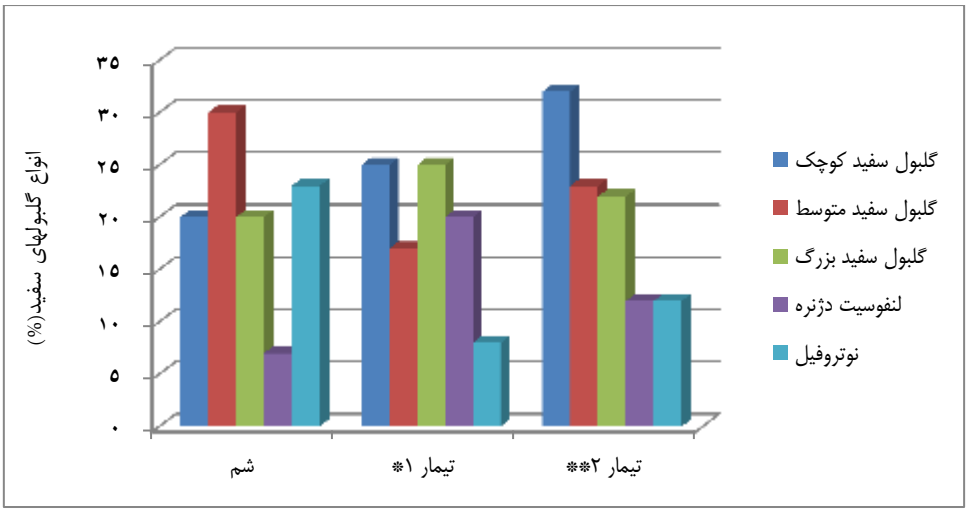
بررسی‌ها نشان دادکه ضخامت دیواره برونش با۷/۳٪افزایش در گروهتیمار۱ و۲/۷٪در گروهتیمار ۲ همراه است.قطر داخلی برونشیول انتهایی در نمونه‌های گروه۱ به۳۰/۷٪ و درگروه ۲ به۱۴/۱٪افزایش یافت.قطر برونشیول تنفسی نیز در گروه ۱ به مقدار ۳۵/۴٪ ودر تیمار گروه ۲ برابر با۱۱/۵٪ تغییرات افزایشی نشان داد. ضخامت سپتا در هر دو گروه تیمار ۱ و تیمار ۲ نسبت به شاهد افزایش معناداری و گروه تیمار ۲ نسبت به گروه تیمار ۱کاهش معناداری داشت. میانگین این افزایش ضخامت در گروهتیمار ۱ برابر با ۲۴٪ ودر گروه تیمار۲ برابر با ۷/۶٪بود.در بررسی چهار پارامتر ذکرشده بافت ریه،گروه‌های تیمار ۱ و ۲ درمقایسه با گروهشم افزایش معنادار وگروه تیمار ۲در مقایسه با تیمار ۱ کاهش معناداری را نشان داد (P<۰/۰ ۵).(نمودار ۳)

میانگین کاهش تعدادسلول‌های پنوموسیت ۱در گروه۱ برابر با۵۰٪و درگروه۱۶/۶۲٪بود. در گروه‌هایشم و تیمار۱ و۲مطالعات مقاطع بافتی ریوی مشخص کرد که میانگین متوسط تعداد پنوموسیت های نوع ۱ در یک آلوئول در گروه‌های تیمار ۱ و تیمار ۲ نسبت به شم کاهش معنی‌دارو گروه تیمار ۲ نسبت به گروه تیمار ۱ افزایش معنی‌داری را نشان داد. (P<۰/۰ ۵)

برخلاف سلول‌هاینوع ۱،سلول‌هاینوع ۲افزایش یافتهکه به‌طور متوسط در گروه۱۲۰۰٪و در گروه ۲۷۵٪ بود. میانگین متوسط تعداد پنوموسیت‌هاینوع ۲ در یک آلوئول در گروه‌های تیمار ۱ و تیمار ۲ نسبت به شم افزایش معنی‌داری و گروه تیمار ۲ نسبت به تیمار ۱کاهش معنی‌داری را نشان داد.(P<۰/۰ ۵)(نمودار ۴)



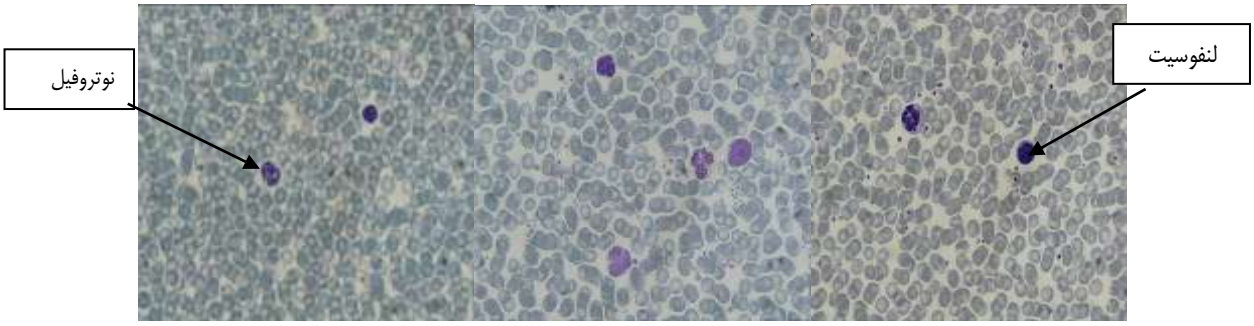
نمودار ۱: مقایسه میانگین تعداد گلبول‌های سفید در گروه‌های شم و تیمار ۱ و ۲(P<۰/۰ ۵)



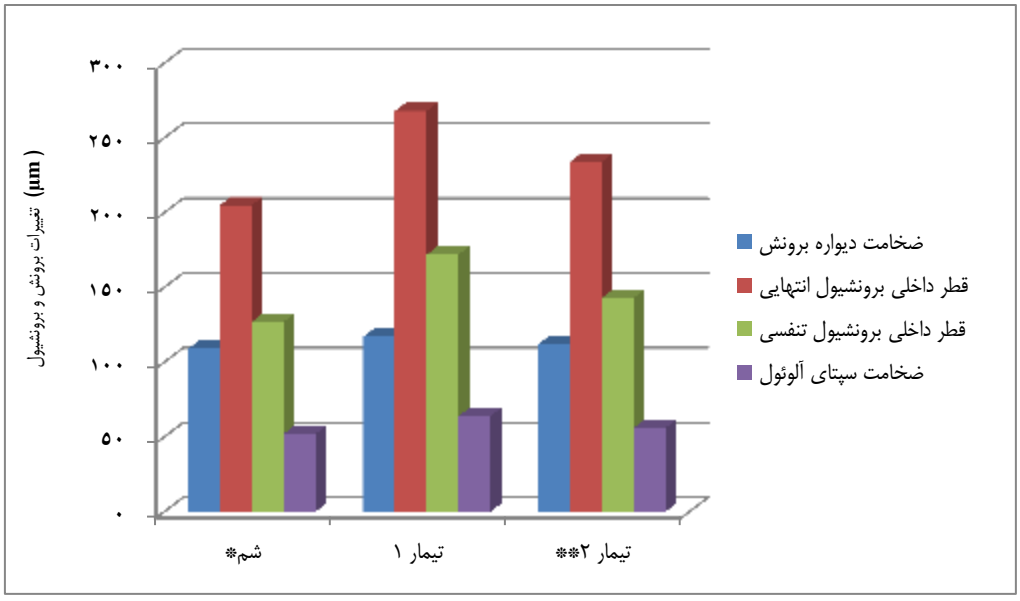
نمودار ۲: مقایسه درصد انواع گلبول‌های سفید در گروه‌های شم و تیمار ۱ و ۲

علامت (*) نشان‌دهنده اختلاف معنادار (P<۰/۰ ۵) بین گروهتیمار ۱با گروه‌های شم وتیمار ۲

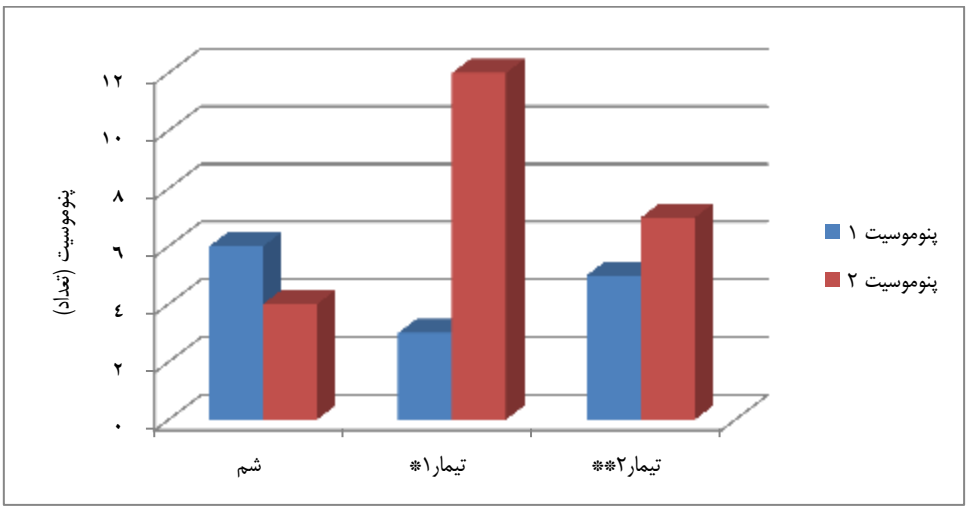
علامت (**) نشان‌دهنده اختلاف معنادار (P<۰/۰ ۵) بینگروه‌های تیمار (۲،۱)



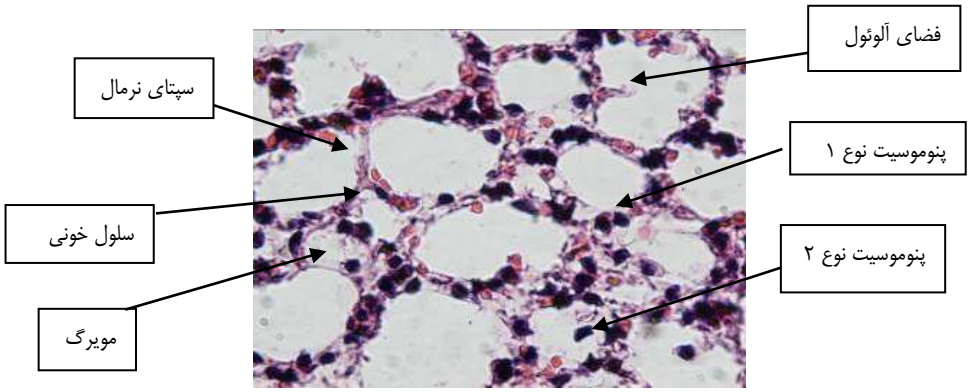
شکل ۲: مقایسه لنفوسیت‌ها ونوتروفیل در الف)گروهشم، ب) گروه تیمار۱،ج) گروه تیمار ۲ (۱۰۰۰×)



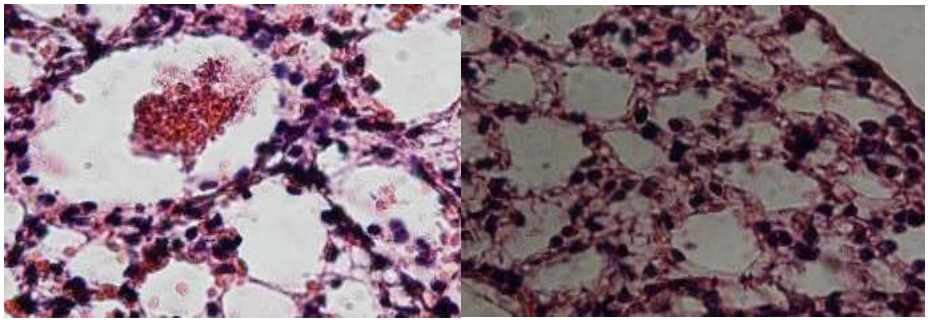
نمودار ۳: مقایسه میانگین ضخامت دیواره برونش، قطر کلی برونشیول انتهایی وبرونشیول تنفسی و ضخامت سپتای آلوئول در گروه‌های شم و تیمار ۱ و۲
علامت (*) نشان‌دهنده افزایش معنادار (P<۰/۰ ۵) بینگروه‌هایتیمار ۲ و ۱با گروه شم
علامت (**) نشان‌دهنده کاهش معنادار (P<۰/۰ ۵) در گروهتیمار ۲ با ۱



نمودار ۴: مقایسه میانگین تعداد سلول‌های پنوموسیت نوع ۱ و ۲ دریک آلوئول در گروه‌های شم و تیمار۱ و۲
علامت (*) نشان‌دهنده اختلاف معنادار (P<۰/۰ ۵)بینگروه‌هایتیمار ۱ و ۲ با گروهشم
علامت (**) نشان‌دهنده اختلاف معنادار (P<۰/۰ ۵)بینگروه‌های تیمار ۱ با ۲
نکته: تغییرات در پنوموسیت های ۱ و ۲ مخالف یکدیگر بودند.



الف



بج

شکل ۲: تغییرات ساختار آلوئول ها در ریه موش‌های الف)گروهشم، ب) گروه تیمار ۱،ج) گروهتیمار۲(×۱۰۰۰)

جدول ۱:میانگین تغییرات پارامترهای بافت ریه (Mean±SEM)در گروه شم، گروه‌هایتیمار ۱ و۲

نمونه / پارامترهای	گروه شم Mean±SEM	گروه تیمار۱ (تولوئن ۱۷۰۰ mg/kg) Mean±SEM	گروه تیمار۲(تولوئن ۱۰۰۰ mg/kg) Mean±SEM	تعداد
ضخامتدیوارهای برونش (µm)	۱۰۹/۷± ۲/۲۱	۱۱۷/۹± ۲/۶۰*	۱۱۲±۲/۶۰**	۴۵
قطر کلی برونشیول انتهایی (µm)	۲۰۵/۵ ±۳/۰۲۷	۲۶۸/۵± ۳/۰۲۷*	۲۳۴/۵ ±۳/۰۲۷**	۵۰
قطر کلی برونشیول تنفسی (µm)	۱۲۷/۵ ±۳/۰۲۷	۱۷۲/۴ ±۲/۳۱*	۱۴۳/۱ ±۲/۵۱**	۴۰
ضخامت سپتا آلوئولی (µm)	۵۲/۴۳± ۰/۱۷	۶۴/۶۲ ± ۰/۲۸ *	۵۶/۵۷ ± ۰/۲۷**	۴۵
تعداد سلول‌های پنوموسیت نوع ۱	۶/۵±۰/۲۳	۳/۶±۰/۲۵*	۵/۴±۰/۱۸**	۳۵
تعداد سلول‌های پنوموسیت نوع ۲	۴/۶ ±۰/۰۵۴	۱۲/۴±۰/۱۸*	۷/۶±۰/۱۶**	۴۰

علامت (*) نشان‌دهنده اختلاف معنادار (P<۰/۰ ۵)بین گروه‌های تیمار (۱ وشم) و گرو ه تیمار ۲ است.
علامت (**) نشان‌دهنده اختلاف معنادار (P<۰/۰ ۵)بینگروه‌های تیمار(۲,۱) و گروهشم است.

بحث:

تولوئن ماده‌ای است که به‌آسانی از طریق دستگاه گوارش، تنفس وبه مقدار کمتر از پوست جذب‌شده و در کبد متابولیزه ودر اندام‌های چربی‌دار،سیستم عصبی،مایع مغزی نخاعی وخون وارد می‌شود. در انسان تولوئن جذب‌شده از طریق ادرار به اشکال مختلف از قبیل اسید هیپوریک وگلوکورونید دفع می‌شود. علائم ناشی از تماس با تولوئن شامل سوزش چشم،آبریزش بینی، ضعف رفلکس‌های عصبیو عضلانی است.همچنین تحلیل حس بویایی درموش‌های آزمایشگاهی مطالعه شده است [۲۳]. تحقیقات نشان داده است که مقدار ppm ۱۰۰ تولوئن بی‌خطر،۱۵۰ppmبرای مدت‌زمان ۸ ساعتقابل‌قبول ومقدار۲۰۰ppm برای زندگی و سلامت خطرناکاست. مقدار کم تولوئن باعث ایجاد علائمی مانند خستگی، گیجی، ضعف، تشنگی،کم شدن حافظه و اشتها می‌شود. البته این علائم موقتی است و با دور شدن از منبع حاوی تولوئن رفع می‌شوند[۲۴]. اگر مادران باردار در هنگام حاملگی در معرض تولوئن قرار گیرند

چون تولوئن به‌آسانی از جفت عبور می‌کند باعث ایجاد سندرم‌های مانند میکروسفالی، تولد نارس، تأخیر رشد، بدریختی‌هایسروصورت در جنین می‌شود. همچنین استنشاق تولوئن موجب مسمومیت جنینی و تأخیر در رشد استخوان می‌شود[۲۶ و۲۵].کبد فرد تولوئن خورده،دارای بالاترین تراکم تولوئن است و بعد از آن مغز، قلب، خون، چربی، مایع مغزی نخاعی دارای مقادیریکمتری تولوئن هستند.قرار گرفتن در معرض ۱۵۰۰ppmتولوئن در موش‌های صحرایی باعث ایجاد نقص در عملکرد کلیه و کبد می‌شودودر موش‌های نر اندازه نسبیکبد به‌طورقابل‌توجهی با مصرف مقدار ۶۲۵mg/kg توئولن افزایش می‌یابد. در موش‌های ماده نیز با مصرف۱۲۵۰mg/kg افزایش قابل‌توجهیدر وزن کبد ملاحظه خواهد شد. بلعیدن تولوئن حتی به مقدار کم(درحد ۶۰میلی‌گرم) بعد از ۳۰ دقیقه باعث مرگ خواهد شد و علت آنورم کبد، پرخونی، خونریزی و نکروزتوبولی تشخیص داده‌اند[۲۸ و۲۷]. تماس با تولوئن در جانوران علائمی مانند تحریک چشم، تحریک دستگاه عصبی، تحریک پوستی، عدم تعادل، لرزش و غیره ایجاد می‌کند. در موش‌های صحرایی تماس کوتاه‌مدت با تولوئن به میزان۱۲۵۰mg/kg هماهنگی سیستم عصبی را کاهش می‌دهد. گربه‌ها نیزبه دنبالقرار گرفتن در معرض تولوئن به میزان ۷۸۰۰mg/kg به مدت ۸۰ دقیقه دچار لرزش بدن شده و در نهایت احساس ضعف، خستگی و خواب آلودگی در آن‌ها ظاهر می‌شود [۲۹].در یک بررسی که در آن به موش‌های صحرایی تولوئن به همراه روغن ذرت به مقادیر۵۰۰۰mg/kg–۲۵۰۰–۱۲۵۰–۶۲۵–۳۱۲ به مدت ۱۳ هفته و در هفته پنج روز خورانده شده بود، مشاهده شد تمام موش‌هایی که مقدار۵۰۰۰mg/kgمصرف کرده بودنددر همان ابتدا از بین رفتند و ۴۰٪موش‌هایی که۲۵۰۰mg/kg مصرف کرده بودند نیز بعداً از بین رفتند و بقیه نیز دچار آسیب‌های جدی مانند تومورهای بدنی و ناهماهنگی حرکات شدند[۳۰].همچنین در یک بررسی دیگر مشاهده شدموش‌های صحرایی که برای پنج هفته و هر هفته به مدت ۱۲ ساعت در معرض ۱۲۰۰ppmتولوئن قرار داشتنددچار آسیب‌های شنواییبرگشت‌ناپذیرشدند. در این آزمایش،موش‌های مسن صدمات شنواییعمیق‌تری نسبت به موش‌های جوان نشان دادند.در آزمایش مشابهی نیز مصرف روزانه ۶۲۰ mg/kg تولوئن توسط موش‌های صحرایی منجر به بروز صدمات شنوایی در آن‌ها شد [۳۱].

تماس با تولوئن در انسان باعث ضعف سیستم عصبی مرکزی، تحریکغشاءهای مخاطی، سرخوشی، توهم می‌شود و در صورت تماس با چشم آسیب‌های ناپایداری را در قرینه باعث می‌شود. همچنین تماس نسبتاً طولانیتولوئن با پوست باعث التهاب پوستیمی‌شود[۱۲]. مقادیر مختلف تولوئن تأثیرات متفاوتی روی انسان دارد. برای مثال، افرادیکه در معرض۲۰۰mg/kg تولوئن قرار بگیرند دچار تحریک چشم و ریزش اشک و سرخوشی و افرادیکه در معرض مقدار۶۰۰ mg/kg تولوئن باشند،دچار تهوع خستگی و ضعف وهمچنین خواب آلودگی و عدم تعادل می‌شوند[۳۲].

در پژوهش حاضر، پارامترهای مختلف بافت ریه در گروه‌های تیمار ۱و ۲با افزایش یا کاهش معنادار نسبتبه گروهشم یا بایکدیگر معرف اثر مضر تولوئن است. در بررسی اثر تولوئن در ایجاد آسم شغلی توسطاوت وهمکاران مشخص شدتولوئن در غلظت‌های بالاتر از ۲۰ ppmباعث افت عملکرد ریه در حدود ۱ تا ۵٪و افزایش ضخامت بخش‌های مختلف برونش و آلوئول می‌شود[۳۳].در این پژوهش نیز با افزایش هوای موجود درمجاریبرونش‌ها،دیواره برونش نیز ضخیم شده واین افزایش می‌تواندنشانه‌ای از کاهش خاصیت کشسانی وسختیدیواره‌ای باشد که درنتیجه تغییر قطر مجاری تنفسی درریه درهنگام دم وبازدم مشکل‌سازمی‌شود.

انتهاییبرونش‌ها به مجاری برونشیول انتهایی، تنفسی وآلوئولها ختم می‌شوند که در این مجاری به مقدار اندکی تبادلات گازی صورت می‌گیردوازاین‌روتنظیم هوای دمی وبازدمی در آلوئولها دراین برونشیول‌ها اهمیت دارد. در مطالعه حاضر مشاهده شد که قطر برونشیولهای تنفسی در گروه‌هایتیماربه علت تنگ بودن آلوئولها افزایش زیادی پیداکرده است.با توجه به این‌کهدر این مجاری حبس هوایی صورت می‌گیرد، می‌توان انتظار داشت به دلیلضخیم بودن دیواره وتنگیآلوئولها تبادلات گازیکمتر شده و درنتیجهتبادلات هوایی بین برونشیول‌های تنفسی وآلوئولها نیزکمترشود.

افزایش التهاب وپرخون شدن مویرگ‌های اطراف آلوئولهااز عواملی است که ضخامت سپتارازیادکرده وفضای داخل آلوئولی راپر ترشح می‌سازد،به‌طوری‌که ضخامت سپتا در برخی آلوئولها به‌طور نامنظم افزایش می‌یابد و باعث کاهش فضای داخلی آلوئول ها می‌شود.مطالعات در دانشگاه تولان روی کارکنان واحد تولید تولوئن دی ایزوسیانات نشان داد این افراد با عملکرد ضعیف تنفسی، اثرات التهابی و غیرقابل‌برگشت وپاسخ‌های شدید آلرژیک دست‌به‌گریبان هستند [۳۵ و۳۴].

در تحقیق حاضر نیزبه نظر می‌رسدکه التهاب خونی پارانشیم آلوئولی از عواملی بوده که انسجام طبیعی پارانشیم ریوی اطراف آلوئولها را ضعیف کرده است. ضعف تنفسی وکاهش فعالیت آلوئولی از نشانه‌های تنگ شدن آلوئولها وافزایش کشش سطحیآن‌هااست که به‌راحتینمی‌توانندهوا را از برونشیولهای تنفسی بپذیرند. کاهش مساحت درونی آلوئولهاوافزایش ضخامت

وتعداد سلول‌هایدیواره آلوئولها نیز باعث کاهش فضای داخل آلوئولیمی‌شود.

سلول‌های پنوموسیت نوع ۱درگروه‌های تیمار ۱ و۲ کاهش محسوس پیدا کردند که این خود می‌تواندناشی از کاهش امکان تبادلات گازی بین سپتاوفضای داخل آلوئولها ومویرگ‌های خونی اطراف آن‌ها باشد.زیادشدن این سلول‌ها در دیواره آلوئولها باعث تنگی و محدود شدن تبادلات گازی از جداره این سلول‌ها خواهد شد.

بر اساس نمودارهای شماره ۱ و۲که نشان‌دهنده افزایش تعداد لنفوسیت‌ها وسلول‌های دژنره درگلبول‌های سفید است،نتایج با تحقیقات دیگر همسو است.بررسی میانگین درصد ترکیب خونی سازنده گلبول‌های سفید شامل لنفوسیت‌های کوچک،متوسط،بزرگ،نوتروفیل دژنره وسلول‌های خونی مختلف دیگر می‌توان به تأثیراسترسی تولوئن روی پارامترهای خون پی برد. به نظر می‌آیدکه تولوئن فعالیت مسیر خون‌سازی را از کانون هماتوپوئزی درزمینه تشکیل گلبول‌های سفید مهارمی کند و کاهش مقدارلنفوسیت‌های متوسط و نوتروفیل هامعرف ضعف در سیستم دفاعی از نوع سلولی وبیگانه‌خواری است که دراغلب مسمومیت‌ها دیدهمی‌شود[۳۶].در گسترش خون محیطیموش‌های تیمار،سلول‌های کم‌وبیش استثنائی دیده شد. این سلول‌ها از نوع اجدادیپا پیش ساز هستند که معمولاً فرصت کافی برای تکامل پیدا نکرده، بالغ نشده‌اندوجزء لنفوبلاست،پرولنفوسیت، منوبلاست وپرومنوسیت ها هستند. برخی از نوتروفیل های نابالغ به‌صورتباند سل ویاغیر سگمانته دیده می‌شوند که به‌صورتسلول‌های متنوع در هیستوگرام‌های مربوطه ظاهرشده‌اند [۳۷ و۳۸].

سلول‌های اپیتلیال ریه به غلظت خاص ۰/۰۲۵ppmv تولوئن پاسخ نشان می‌دهند. اثرات سمی اولیه با غلظت گلوتاتیون در ارتباط است، به‌طوری‌که پس از یک ساعت در معرض قرار گرفتن بافت ریه با این غلظت،DNAسلول آسیب‌دیده که با کاهش غلظت گلوتاتیون همراه است [۳۹].

در تحقیقات دیگری نیز اشاره‌شده است که تولوئن به‌صورت استنشاقی به‌راحتی از طریق ریه جذب‌شده و ۴۰ تا ۸۰ درصد الوئولهای ریه حفظ می‌شوند. این مقدار در حضور الکل، به دلیل اینکه حلالیت این ماده بسیارتشدید می‌شود، فقط ۱۰ درصد خواهد بود [۴۰]. همچنین میزان جذب با افزایش فعالیت بدنی افزایش می‌یابد و در نتیجه بین سطح تولوئن خون و میزان فعالیت فرد ارتباط وجود دارد[۴۱].

تولوئن بعد از جذب در ریه به اسید هیپوریک تجزیه می‌شود و در صد بسیار کمی از آن به کروزول تجزیه می‌شود که در حالت عادی در ادرار وجود ندارد،بنابراین وجود او-کروزول در ادرار تأییدی برقرار گرفتن در معرض تولوئن است [۴۲].

نتیجه گیری:

با توجه به اثرات مخرب و استرسی تولوئن و نبود پژوهش‌های کافی درباره اثرات آن روی پارامترهایبافت‌های مختلف از جمله ریه و خون،انجام تحقیق های بیش تر در این خصوص ضروری به نظر می رسد.

اثرات افزایشی و کاهشیت ولوئنروی پارامترهای ذکرشده در موش نرAlbino NMRIدر پژوهش حاضر رامی‌توان با آزمایش‌های بیش‌تربه انسان نیز تعمیم داد. با توجه به اثرات مضر ترکیبات تولوئن و کاربرد زیاد آندر صنایع،تماس با این ماده در طولانی‌مدت صدمات جبران‌ناپذیری بر سلامت انسان‌ها داشته و ازاین‌رو بهتر است در این زمینه اقدامات زیر انجام شود.

۱- استفاده از ترکیباتی همراه با تولوئن جهت کاهش اثرات مضر آن،

۲- کمک به ایجاد طرحی سودمند برای مطالعات بیشتر سم‌شناسی،

۳- شناخت اختلالات ناشی از کاریا استنشاق وتأثیر روی بافت‌ها و اندام‌های مختلف،

۴- رعایت نکات ایمنی هنگام کار کردن با این ماده،

۵- اطلاع‌رسانی عمومیدرباره مضرات این مادّه و ارائه راه‌کارهایی برای کاهش عوارض ناشی از آن،

۶- انجام تحقیقات دیگر بر روی سایر اندام‌ها و بررسی تغییرات آن‌ها.

تشکر و قدردانی:

با تشکر از مسئولین آزمایشگاه رازی کرمانشاه که در تمام مراحل انجام کارهای ازمایشگاهی هماهنگی و همکاری لازم را انجام دادند.

تعارض منافع:

هیچگونه تعارض منافع در انجام این این تحقیق وجود نداشته است.

References:

1.Button DK, Robertson BR. Effect of toluene exposure time and concentration on induction of high affinity values for toluene oxidation by bacteria of estuarine seawater samples. Marine Ecology 1985;26(3): 187-193.

2. LittlejohnsJV,DaugulisAJ. Kinetics and interactions of BTEX compounds during degradation by a bacterial consortium, Process Biochemistry 2008; 43(12): 1068-1076.

3. ArafaMA. Biodegradation ofsome aromatic hydrocarbons (BTEXs)by a bacterial consortium isolated frompolluted site in Saudi Arabia. PakistanJ BiolSci2003; 6 (17):1482-1486.

4. Adami G,LareseF,Venier M, et al. Penetration of benzene, toluene and xylenes contained in gasoline's through human abdominal skin in vitro. Toxicol Vitro 2006; 20(8):1321-1330

5. Bertinchamps F, Grégoire C, GaigneauxEM.Systematic investigation supported transition metal oxide based formulations for the catalytic oxidative elimination of (chloro)-aromatics: Part I: Identification of the optimal main active phases and supports. Applied Catalysis B: Environmental 2006; 66:1-9.

6.Lee YL, Pai MC, Chen JH, et al. Central neurological abnormalities and multiple chemical sensitivity caused by chronic toluene exposure. OccupMed2003;53 (8):479–82.

7.Barbara J, Finlayson P, James NP. Tropospheric Air Pollution: Ozone, Airborne Toxics, Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, and Particles, Science 1997; 276(5315): 1045 – 1051

8.Pall ML. Elevated nitric oxide/peroxynitrite theory of multiple chemical sensitivity: central role of N-methyl-d-aspartate receptors in the sensitivity mechanism. Health Perspect 2003; 11(1):1461–1464.

9.Pour Rajab R, Mosenn Harzandi A,Distribution of Benzen, Toluene, Xylene in pollutant sources International conference in environmental crisis and its solutions,kish island-iran 2013,113-14 (persian)

10. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Toxicological Profile for Toluene. U.S. Public Health Service, U.S. Department of Health and Human Services, Atlanta, (ATSDR), GA 2000;41:127-65

11.Revilla A S, Pestana CR, Pardo-AndreuGL,et al.Potential toxicity of toluene and xylene evoked by mitochondrial uncoupling.Toxicol In Vitro 2007; 21(5): 782-788

12. Wood RW, Colotla VA. Biphasic changes in mouse motor activity during exposure to toluene. Fundam Appl Toxicol1990;14 (2):6-14.

13. Pearson MA,Hoyme LH, Rimsza ME. Toluene embryolopathy delination of the phenotype and comparison with fetal alcohol syndrome. Pediatr J1994;93:211-5

14. Thibodeau Gary A, Patton Kevin T, Anthonys.Text Book of Anatomy and Physiology. Seventeenth Edition Mosby, Saint Louis1998;10(4):45-55

15. Martini F. Fundamental of Anatomy and Physiology, Prentice-Hall, London 2001

16. Rojhan MS. Human Basic Histology, 2010, Teheran. Published by Chehr,University of Tehran,

17. Hoffman R. Hematology, Basic Principle and Practice. Churchill. Livingstone, New York 1991.

18. Junquira LC, Carneiro J,Kelley R O. Basic Histology.Appleton and Lange New York 2002

19.Berne RM, Levy MN.Principles of Physiology. Mosby, New York 1993.

20. Posty E. Comparison Histological,Publication of Tehran University1995

21. Niosh L. Manual of analytical methods, 2nd ed. Cincinnati, Ohio, National InstOccup Saf Health 1999;1(1):150-9.

22. Suckow M A, Danneman P, Brayton C.The Laboratory Mouse. London.CRC, 2001.

23. Von Euler M, Pham TM, Hillefors M, et al. Inhalation of low concentrations of toluene induces persistent effects on a learning retention task, beam-walk performance, and cerebro cortical size in the rat. Exp Neurol 2000;163:1–8.

24. Hjelm EW, Naslund PH, Wallén M. Influence of cigarette smoking on the toxicokinetics of toluene in humans. J Toxicol Environ Health 1988;25(2):155-63.

25. Gospe SM, Zhou SS. Prenatal exposure to toluene results in abnormal neurogenesis and migration in rat somatosensory cortex.Pediatric Res 2000;14:362–8.

26. Bowen SE, HanniganJH.Developmental toxicity of prenatal exposure to toluene.American Assoc PharmSci 2006;8(2):E419-24

27. Lin HM, Liu CY, Jow GM, et al. Toluene disrupts synaptogenesis in culturedhippocampal neurons. Toxicol Letters 2009;18(2):90–6.

28. Murat A, Ufuk T, Erkan S, et al. The apoptotic effect of a high dose of toluene on liver tissue during the acute phase: an experimental study. Toxicol IndHealth2012; 29(8): 728–736.

29. Shih HT, Yu CL, Wu MT, et al. Subclinical abnormalities in workers with continuous lowlevel toluene exposure. Toxicol Ind Health2011;27(8): 691-9.

30. Sahri M, Widajati N. Evaluation of Toluene Exposure in Workers at Industrial Area of Sidoarjo, Indonesia by Measurement of Urinary Hippuric Acid. Asia Pacific J Med Toxicol2013;2(11):145-9

31. Deleu D, Hanssens Y. Cerebellar dysfunction in chronic toluene abuse: beneficialresponse to amantadine hydrochloride. Clin Toxicol 2000;13(2):37–41.

32. Kishi R, Harabuchi I, Katakura Y, et al. Neurobehavioral effects of chronic occupational exposure to organic solvents among Japanese industrial painters.Environ Res 1993;6(2):303–13.

33. Ott MG.Occupational asthma, lung function decrement, and toluene diisocyanate (TDI) exposure: a critical review of exposure-response relationships. ApplOccup Environ Hyg 2002;17(12):891-901.

34. Ott MG1, Diller WF, Jolly AT.Respiratory effects of toluene diisocyanate in the workplace: a discussion of exposure-response relationships. Crit Rev Toxicol 2003;33(1):1-59.

35. Ott MG, Klees J, Poche S. Respiratory health surveillance in a toluene di-isocyanate production unit, 1967-97: clinical observations and lung function analyses. Occup Environ Med2000; 57(1): 43–52.

36. Qu Q, Shore R, Li G, et al. Heamatological changes among Chinese workers with a broad range of

benzene exposure. American J Ind Medicive2002; 42: 275-285.
37. Liu CS, Tsai JH, Kuo SW. Comparison of complete blood counts and urinary benzene metabolites after exposure to benzene. Mid Taiwan J Med 2000; 5(1): 235-242.
38. Schnatter A, Kerzic PJ, Zhou Y, et al. Peripheral blood effects in benzene-exposed workers. ChemBiol Interact2010; 18: 174-181.
39. Pariselli F, Sacco MG, Ponti J, et al.Effects of toluene and benzene air mixtures on human lung cells (A549).Exp Toxicol Pathol 2009;61(4):381-6
40. Dossing M. Effect of ethanol, cimetidine, and propanol on toluene metabolism in man. Int Arch Occup Environ Health 1984; 5(4): 309-31.5.
41. Carlsson, A, Ljungquist E. Exposure to toluene: Concentration in subcutaneous adipose tissue, Scand. J Work Erlviron Health 1982;6(2): 56-62.
42. Angerer J. Occupational chronic exposure to organic solvents: VII. Metabolism of toluene in man.Int Arch Occup. Environ Health 1979; 4(3): 6367.

Original Article

The toxic effects of Toluene on the the lungs, and blood parameters in mice

Adeli Hamid Reza[1], Zare Kobra[2]*, Naeimi Nasim [3],Alamdar Maryam[4]

Received:12/5/2015 Revised:4/17/2016 Accepted: 5/18/2016

1. Dept of Developmental Biology, Faculty of Science, Branch of Sience and Research of Tehran Azad University, Tehran, Iran
2. Dept of Animal Physiology, Faculty of Science, Branch of Sience and Research of Tehran Azad University, Tehran, Iran
3. Dept of Biology, Faculty of Science, University of Sistan and Baluchestan,Zahedan,Iran
4. Dept of Biology, Pishvaofthe University ofVaramin, Varamin, Iran

Pars Journal of Medical Sciences, Vol. 14, No.1, Spring 2016

Par J Med Sci 2016;14(1):27-37

Abstract

Introduction:
Toluene (C7H8), an aromatic constituent of petroleum, is mainly used as a chemical solvent in industry. Given the harmful effects of toluene on the environment, the present study aimed to investigate its effects on lungs and blood.

Material and Methods:
Thirty mature mice were randomly divided into three groups of treatment 1, treatment 2 and sham. Treatment group 1 and 2 received 0.1 ml toluene 1700 mg/kg bw, and 1000 mg/kg bw, respectively for 25 days. After weighting, lung tissue and blood parameters were studied macroscopically and microscopically using Mutic software.

Result:
The percentage of neutrophils reduced and the number of degenerated lymphocytes and other leukocytes increased in the treatment group 1. The mean thickness of bronchial walls, the overall diameter of terminal bronchioles, respiratory bronchioles, and the thickness of the alveolar septa improved in treatment group 2. Furthermore, pneumocytes type 1increased and pneumocytes type2 decreased. The difference between treatment group 1 and treatment group 2, and the difference between sham group and the treatment groups were significant for all the above-mentioned parameters ($P<0.05$).

Conclusion:
Toluene changed the percentage of white blood cells, increases the thickness and diameter of lung parameters, caused inflammation and constriction of alveoli, and hence weakened respiratory system and reduced its performance. These effects are dose-dependent, so higher concentrations of toluene cause much more damage.

Keywords: Toluene, Hematology, Lung

* Corresponding author, Email:kobra.zare@yahoo.com