

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

16823

از اطلاعات دار علم ایران  
تعمیرات

حتی کسی که از مادر فلج بدنیا آمده است،  
اگر قهرمان دو نشود، خودش مسؤؤل است.

«سارتر»

۱۶۸۷۳



دانشگاه علوم پزشکی زاهدان

دانشکده پزشکی

پایان نامه :

جهت اخذ درجه دکترای پزشکی (M.D)

عنوان :

**تغییرات هیستوپاتولوژیکی لوله های پیچیده نزدیک کلیه رت**

**بالغ نر به دنبال مسمومیت مزمن با سرب**

استاد راهنما :

جناب آقای دکتر عباسعلی معین ۱۳۸۲ / ۱ / ۳۰

PhD آناتومی پزشکی

استاد مشاور :

سرکار خانم دکتر زهرا حیدری

PhD بافت شناسی پزشکی

با نظارت :

جناب آقای دکتر حمید رضا محمود زاده ثاقب

PhD بافت شناسی پزشکی

پژوهش و نگارش :

علی اکبر کیخا

۶۶۵۹۷

تابستان ۱۳۸۱

شماره پایان نامه : ۷۲۷



## با تشکر از:

اینجانب بر خود واجب می دانم از کلیه سروران گرامی که مرا مورد حمایت ،

تشویق و راهنمایی خود قرار داده اند، تقدیر و تشکر نمایم.

استاد مشاور ارجمندم ، سرکار خانم دکتر زهرا حیدری.

استاد راهنمای گرانقدر، جناب آقای دکتر عباسعلی معین.

استاد بزرگوار، جناب آقای دکتر حمید رضا محمود زاده ثاقب.

بزرگانی، دلسوز و مهربان که چگونگی روش تحقیق را به من آموختند.

همچنین از خواهران و برادران عزیزم که در طول مدت تحصیل همواره مشوق

و راهنمای اینجانب بوده و در تمام مشکلات یاری ام داده اند صمیمانه تشکر

می نمایم.

در پایان لازم می دانم از همکاران گرامی جناب آقای دکتر مهدی نیکبخت و

جناب آقای دکتر محمود کردی و کلیه دوستان و همکاران ارجمندی که به

نحوی مرا در تهیه و تنظیم این طرح یاری نموده اند قدردانی نمایم.

«بهترین ها را برایشان آرزو می کنم».





تقدیم به:

همسر عزیزم

9

مادر و پدر مهربانم.



## فهرست مطالب

صفحه	عنوان
۱	<b>چکیده</b>
۴	<b>فصل اول : مقدمه</b>
۵	مقدمه
۸	اهداف و فرضیات
۸	هدف کلی
۸	اهداف ویژه
۹	سؤالات
۹	فرضیات
۱۰	<b>فصل دوم : کلیات و بررسی متون و مقالات</b>
۱۱	کلیات
۱۱	سرب
۱۴	جذب و متابولیسم سرب
۱۶	دفع سرب
۱۷	مسمومیت مزمن با سرب
۱۹	جنین شناسی کلیه
۲۲	آناتومی کلیه
۲۵	بافت شناسی کلیه
۲۷	بافت شناسی لوله های پیچیده نزدیک
۳۰	هیستوفیزیولوژی کلیه
۳۱	تزاید سلولی و آپوتوز
۳۲	موش صحرایی آزمایشگاهی (رت) بعنوان مدل مناسب
۳۲	مرور متون و مقالات
۳۲	اثرات عمومی مسمومیت مزمن با سرب
۳۷	اثرات مسمومیت مزمن با سرب و کلیه
۳۹	اثرات مسمومیت مزمن با سرب بر توبولهای پیچیده نزدیک کلیه
۴۵	<b>فصل سوم : مواد و روش کار</b>
۴۶	مراحل انجام کار
۴۸	طرز مرتب کردن بلوکها
۴۸	طرز برش دادن بلوکها

## فهرست مطالب

صفحه	عنوان
۵۰	طرز تهیه لامهای آلومینه
۵۰	طرز تهیه ترکیبات و محلولهای مورد نیاز جهت رنگ آمیزی
۵۱	طرز تهیه الکل ۸۰ درجه
۵۲	طرز تهیه الکل ۷۰ درجه
۵۳	طرز تهیه محلول اسید الکل
۵۳	طرز تهیه محلول هماتوکسیمین آلوم هاریس
۵۵	طرز تهیه محلول اشباع کربنات لیتیوم
۵۵	طرز تهیه الکل ۹۵ درجه
۵۶	طرز تهیه محلول اتوزین استوک
۵۶	طرز تهیه محلول کارائوزین
۵۸	طرز تهیه محلول اسید پریودیک ۱٪
۵۸	طرز تهیه محلول رآژین شیف
۵۹	طرز تهیه محلول احیاء کننده متابی سولفیت سدیم
۶۰	رنگ آمیزی اسلایدهای میکروسکوپی
۶۱	رنگ آمیزی هماتوکسیلین - اتوزین (H&E)
۶۵	واکنش هیستو شیمیائی پاس (PAS)
۶۹	<b>فصل چهارم : نتایج</b>
۷۰	نتایج کلی
۷۴	فتو میکروگرافها
۹۱	<b>فصل پنجم : بحث و نتیجه گیری</b>
۹۲	بحث
۹۹	نتیجه گیری کلی
۱۰۰	پیشنهادات
۱۰۱	منابع
۱۰۹	<i>Abstract</i>

چکیده



**چکیده:**

عصر صنعتی و استخراج معادن باعث بیماری های شغلی ناشی از فلزات سنگین مختلف شده است. کاربرد روز افزون فلزات سنگین در صنعت باعث آلودگی روز افزون محیط زیست و مسمومیت با این فلزات شده است. سرب یکی از فلزات سنگین است که اثرات منفی بر روی ارگانهای مختلف بدن و در نتیجه سلامتی انسان دارد. کلیه ها یکی از حساسترین ارگانهای بدن در برابر اثرات سمی سرب است. اثرات سرب در کلیه ها هم لوله ها و هم گلوبولها را درگیر می نماید و بدنبال مسمومیت مزمن ضایعات غیر قابل برگشت بوقوع می پیوندد. هدف از این مطالعه بررسی اثرات سرب بر ساختار بافت شناسی لوله های پیچیده نزدیک (PCT) کلیه رت بوده است. جهت این بررسی بلوکهای بافتی کلیه رت بالغ نر نژاد wistar از آرشیو بخش بافت شناسی دانشکده پزشکی زاهدان دریافت گردید که در سه گروه تحت عنوان گروه شاهد، گروه شاهد مثبت و گروه آزمایش به مدت ۱۲ هفته به جای آب آشامیدنی به ترتیب آب مقطر، آب مقطر همراه اسید استیک ۰/۰۴ درصد و آب مقطر همراه استات سرب ۱٪ و اسید استیک ۰/۰۴ درصد دریافت کرده بودند. از بلوکهای مزبور برشهای ۳-۵ میکرونی تهیه شد و به روش هماتوکسیلین - ائوزین (H&E) و تکنیک هیستوشیمیایی پاس (PAS) رنگ آمیزی شدند. سپس به وسیله میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرار گرفتند. تغییرات ایجاد شده در توبولها به صورت blind بررسی و ثبت شدند. سپس نتایج بدست آمده در سه گروه با یکدیگر مقایسه شدند. در گروه آزمایش برخی لوله های پروگزیمال دیلاتاسیون شدید نشان داد و فضای لومینال به شدت افزایش یافته بود. در قسمت هایی از لوله پروگزیمال



سلولها به صورت فشرده و سیتوپلاسم شدیداً اسیدوفیلیک با هسته های پیکنوتیک و متراکم که نشان دهنده نکروز توبولی است دیده شد. در برخی از سلولهای لوله پروگزیمال افزایش در اندازه (سیتومگالی) مشاهده شد. هسته های این سلولها نیز بزرگتر از نرمال بودند و گاهی هسته های متعدد در یک سلول وجود داشت. ارتشاح سلولهای انتهایی تک هسته ای در بافت بینابینی نیز قابل توجه بود.

در واکنش هستوشیمیایی پاس (PAS) غشاء پایه در برخی نواحی نازک و در برخی نواحی ضخیم دیده شد. این مطالعه نشان داد که سرب باعث اثرات غیر قابل برگشت و جبران ناپذیری بر روی توبولهای پیچیده نزدیک و بافت بینابینی کلیه ها می شود. بنابراین لازم است به مساله آلودگی زیست محیطی سرب و اثرات آن بر موجودات زنده توجه خاصی شود و محدود کردن بر خورد با این آلاینده در اولویت های برنامه ریزی بهداشتی کشور قرار گیرد.

فصل اول:

مقدمه



## ۱- عنوان فارسی:

تغییرات هیستوپاتولوژیکی لوله های پیچیده نزدیک کلیه رت بالغ نر بدنبال مسمومیت مزمن با استات سرب

## ۱-۲- عنوان انگلیسی :

The histopathological changes of proximal convoluted tubule of male adult rats kidney after chronic toxicity with lead acetate.

## ۱-۳- مقدمه (Introduction):

انسان خواسته یا ناخواسته در معرض تماس با مواد مختلف می باشد که ممکن است اثرات زیانباری بر روی بدن داشته باشد . فلزات سنگین از مهمترین این مواد می باشند. با پیشرفت صنعت تماس انسان با این مواد روزبروز در حال افزایش است . سرب یکی از مهمترین فلزات سنگین است که از حدود ۵ تا ۷ هزار سال قبل از میلاد مورد استفاده بشر بوده است. (۱) مسمومیت با این فلز یکی از قدیمی ترین اشکال مسمومیت می باشد. (۴) به طوری که اولین بار اثرات سمی آن توسط بقراط کشف شد. (۱)

سرب فلزی فاقد ارزش بیولوژیکی است (۵) مهمترین مصارف سرب عبارتند از : صنایع رنگ سازی، مواد آرایشی، چاپ و تکثیر، پلاستیک سازی، باتری سازی، ساخت لوازم نظامی، عکاسی، سرامیک سازی، کبریت سازی، لحیم کاری و شیشه سازی . همچنین سرب برای افزایش کیفیت سوخت به بنزین اضافه می شود . علاوه بر این در تکنیک فیبر نوری، ساخت صفحات رادیولوژی و سخت افزار کامپیوتر و طب سنتی نیز کاربرد دارد. (۷ و ۶ و ۵)



راههای اصلی ورود سرب به بدن راه گوارشی و تنفسی است. البته سرب به مقدار خیلی کم از طریق پوست نیز جذب می شود. این فلز در بدن تاثیرات زیان باری بر روی ارگانهای مختلف دارد. سرب بر روی سیستم عصبی، سیستم خونساز و استخوانها، کبد، سیستم ادراری و بیضه تاثیر بیشتری دارد. (۸و۴) علاوه بر این اثرات سرب بر روی ریه ها و تیروئید نیز ثابت شده است. (۴)

یکی از ارگانهای اصلی بدن که سرب اثرات غیرقابل اجتنابی بر آن دارد کلیه است. سرب در کلیه باعث نفروپاتی می شود. افزایش فشار خون (HTN) عمده ترین شکل بالینی نفروپاتی سرب است. (۹) کلیه دومین محل اصلی دفع سرب می باشد. از این رو غلظت این ماده در کلیه بیشتر از سایر بافتهای بدن است. (۵) نفرون واحد عمل کلیه است و خود از چند قسمت ساخته شده است. لوله های پیچیده نزدیک (PCT) از مهمترین قسمت های کلیه است که مسئولیت باز جذب و ترشح مواد را برعهده دارد (۱۰) و سرب بیشترین اثر را در این قسمت از کلیه دارد. (۸)

سرب بر توبولها و گلومرولهای کلیوی تاثیر دارد (۱۲) این اثرات بر بافت کلیه به دو صورت قابل برگشت و غیر قابل برگشت بروز می کند. اثرات قابل برگشت که در حیوانات تجربه شده است از قبیل اینکلوزن بادی (IB) داخل هسته ای، سیتومگالی (۹و۱۳و۱۴و۱۵) و از اثرات غیر قابل برگشت که در انسان و حیوانات بررسی شده اند می توان به فیبروز بینابینی و نارسایی مزمن کلیه (CRF) اشاره کرد. (۹و۱۳و۱۶و۱۷)

بررسی ها نشان داده اند که سرب باعث کوچک شدن و کاهش تعداد میکروویلی های سلولهای لوله های پیچیده نزدیک (PCT) می شود. همچنین باعث تخریب غشاء



پلاسمایی سلولهای لوله پیچیده نزدیک می شود. (۱۸) در تحقیق دیگری که بر روی موش صحرایی انجام شده است مشخص شده که استات سرب ۱٪ باعث گشاد شدن بعضی از لوله های پیچیده نزدیک (PCT) می شود در حالیکه بقیه طبیعی بوده اند. در همین بررسی مشخص شده است که سلولهای اپیتلیال در لوله های گشاد تغییر شکل داده اند و غشاء پایه در بعضی از توبولها ضخیم شده است. همچنین هسته سلولهای اپیتلیال نیز بزرگ شده اند. (۱۷ و ۱۲)

علاوه بر این اثرات کارسینوژنیک سرب بر روی کلیه موش صحرایی نیز تجربه شده است. سرب باعث افزایش دیسپلازی و هیپرپلازی سلولهای لوله پیچیده نزدیک می شود. (۱۶ و ۱۷ و ۱۹) اثراتی چون فوکال سگمنتال گلومرولواسکلروزیس (۱۳ و ۱۷) و نکروز توبولی نیز به دنبال مصرف سرب ثابت شده اند. (۴) در سیتوپلاسم سلولهای لوله پیچیده نزدیک نیز به دنبال مسمومیت با سرب تغییراتی دیده اند. مهمترین آن اینکلوزن بادی (IB) داخل سیتوپلاسمی همراه باتغییرات دژنراتیو پلاسمایی بوده است. (۲۰ و ۱۱) از آنجا که تغییرات ایجاد شده در کلیه موش صحرایی آزمایشگاهی (Rat) شبیه به ضایعات ناشی از سرب در کلیه انسان است استفاده از این مدل آزمایشگاهی برای مطالعه تجربی مناسب می باشد. (۲ و ۳)

با توجه به اینکه نتایج بدست آمده از تحقیقاتی که تا کنون در این زمینه انجام شده است با یکدیگر متفاوتند و همچنین با توجه به اینکه لوله های پیچیده نزدیک کلیه مهمترین قسمت کلیه از نظر ترشح و باز جذب مواد میباشد و این موضوع که مسمومیت با سرب یکی از مشکلات مهم بهداشتی جامعه امروز بشر (۹) و حتی از اولویتهای مهم تحقیقاتی



کشورمان است (۲۱) با توجه به این نکات بر آن شدیم تا بررسی دیگری را در این زمینه انجام دهیم. باشد که نتایج بدست آمده از آن اطلاعات ارزشمندی را در مورد مسمومیت مزمن سرب در سطح کلیه ها در اختیار بگذارد.

## ۲-اهداف و فرضیات : [Objective & Hypothesis]

۲-۱- هدف کلی طرح :

بررسی تغییرات هیستوپاتولوژیک لوله پیچیده نزدیک کلیه رت بالغ نر بدنبال مسمومیت مزمن با استات سرب

۲-۲- اهداف ویژه :

۱- مقایسه میزان رنگ پذیری سیتوپلاسم سلولهای لوله پیچیده نزدیک در گروههای سه گانه مورد مطالعه.

۲- مقایسه اندازه سلولهای اپیتلیال لوله پیچیده نزدیک در گروههای سه گانه مورد مطالعه.

۳- مقایسه نسبت هسته به سیتوپلاسم سلولهای لوله پیچیده نزدیک در گروههای سه گانه مورد مطالعه.

۴- بررسی غشاء پایه سلولهای لوله پیچیده نزدیک در گروههای سه گانه مورد مطالعه.