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

سعید شهرابی [1]*(M.Sc)، پیمان حجازی [2](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 بیهوش کننده استنشاقی است که این گازها به عنوان یکی از روش‌های متداول در اعمال جراحی مورد استفاده قرار می‌گیرند. با توجه به این‌که تا کنون 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 بیهوش کننده استنشاقی می‌تواند مستقیماً بر روی کروموزوم‌های انسانی اثرات سوء داشته باشند، هدف این تحقیق بررسی اثر گازهای بیهوشی پخش شده در اتاق عمل برایجاد 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 میلی‌لیتر از این خون را به شیشه کشت درپوشدار استریل که شامل RPMI 1640، فیتوهماگلوتینین، فتال کالف سرم و آنتی بیوتیک بود اضافه نمودیم و بعد از ۷۰ ساعت که این شیشه در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد 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 بیهوش کننده 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 معنی دار وجود داشت ولی بین سه دسته پرسنل اتاق عمل هیچ اختلاف معنی داری 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 معنی دار وجود داشت ولی بین گروه شاهد با شاغلین باسابقه بیش از ۱۰ سال هیچ‌گونه اختلاف معنی داری 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 کرومزومی و کروماتیدی وجود ندارد.

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

* نویسنده مسئول. تلفن:۰۲۳۱-۳۳۳۲۰۸۰، فاکس: ۰۲۳۱-۳۳۳۳۵۵۱

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-07-31]

مقدمه

استفاده از مواد بیهوش کننده استنشاقی در اعمال جراحی یکی از روش‌های متداول و قدیمی در امر درمان می‌باشد. مقداری از این مواد به هنگام استفاده در فضای اتاق عمل پخش می‌شوند که این امر منجر به استنشاق ناخواسته گازهای بیهوشی توسط کارکنان اتاق عمل می‌شوند. استنشاق ناخواسته گازهای بیهوشی سبب بروز یک سری از آسیب‌ها در این کارکنان خواهد شد که این آسیب‌های شغلی و ارائه روش‌های مناسب جهت جلوگیری و کاهش اثرات مضر گازهای بیهوشی موضوع بسیاری ازتحقیقات 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 بین‌المللی سلامت و ایمنی شغلی وضع شده است [۱۲]، که متأسفانه در کشورهایی مثل ایران کاملاً اجرا نمی‌شود و هیچ مرکزی نیز مسئول تعیین میزان آلودگی در اتاق عمل نبوده و هیچ‌گونه پایشی انجام نگرفته است.

یکی از روش‌های پایش، مونیتورینگ بیولوژیکی می‌باشد که از اثر مواد شیمیایی یا عوامل فیزیکی بربدن موجود زنده استفاده می‌شود. گازهای بیهوشی اثرات قابل اندازه‌گیری را روی کبد، کلیه و جنین کارکنان باردار داشته است ولی مهمترین اثر قابل اندازه‌گیری گازهای بیهوش کننده اثرات جهش زایی آنها می‌باشد. تاکنون فعالیت‌های گسترده‌ای جهت بررسی آسیب‌های کروموزومی بصورت in vitro روی حیوانات آزمایشگاهی و کارکنان اتاق عمل صورت پذیرفته است [۱، ۲، ۳، ۴، ۱۰، ۱۳]. بر اساس قرارداد، آسیب‌ها به دو دسته کروماتیدی و کروموزومی تقسیم‌بندی می‌شوند. اگر آسیب محدود به یکی از کروماتیدها باشد، آسیب کروماتیدی و اگر هر دو کروماتید یک کروموزوم آسیب دیده باشد آن آسیب را کروموزومی می‌نامند. در هر دو دسته از آسیب‌ها، اگر ناحیه آسیب دیده که به صورت ناحیه رنگ نگرفته دیده می‌شود کمتر از عرض یک کروماتید باشد آن آسیب را شکاف و اگر بیشتر از عرض یک کروماتید باشد آن را حذف می‌نامند.

تا کنون در ایران بررسی جامعی در مورد اثرات سوء استنشاق مزمن گازهای بی‌هوش کننده در کارکنان اتاق عمل انجام نگرفته است. برای تعین میزان اثرات گازهای بی‌هوش 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 روش‌ها

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 هپارینه، فیتوهماگلوتینین PHA، فتال کالف سرم، محیط کشت RPMI 1640 و آنتی‌بیوتیک استفاده شد.

روش کشت لنفوسیتی. در زیر هود استریل ۴/۵ میلی‌لیتر RPMI 1640، ۰/۱ میلی‌لیتر "PHA" و ۰/۴ میلی‌لیتر خون هپارینه را به داخل شیشه‌های درپوش‌دار استریل ریخته و آنها را کاملاً مخلوط کرده و شیشه‌های کشت را در داخل انکوباتور ۳۷ درجه قرار دادیم. هر ۴ ساعت یک بار با تکان دادن شیشه‌های کشت، محتویات داخل شیشه‌ها کاملاً مخلوط می‌گردید.

روش برداشت. ۷۰ ساعت بعد از شروع کشت، ۰/۲ میلی‌لیتر از محلول ۰/۰۲ درصد کلشی‌سین که مانع از تشکیل دوک‌های میتوزی می‌شود 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 ۱۰۰۰RPM به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ کرده مایع روی رسوب را کاملاً از لوله آزمایش خارج کردیم و

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-07-31]

به رسوب لوله ۵ میلی‌لیتر از محلول هیپوتونیک پتاسیم کلراید ۰/۰۷۵ mol/l اضافه کرده و محتویات داخل لوله را کاملاً مخلوط کردیم. علت استفاده از محلول KCL آسیب کمتر کرومزوم‌ها در مقایسه با سایر محلول‌های هیپوتونیک می‌باشد. بعد از ۱۰ دقیقه که این مخلوط در دمای ۳۷ درجه انکوباتور قرار داشت مجدداً با عمل سانتریوفوژ 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 رنگ‌آمیزی. 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.

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 معنی‌دار 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 کروموزومی در پنج گروه مورد مطالعه بیانگر این است که در ارتباط با شکاف و حذف کروموزومی بین دو گروه شاهد اختلاف معنی داری وجود ندارد. از نظر شکاف کروموزومی بین گروه شاهد بیمارستانی و پرسنل اتاق عمل اختلاف معنی دار وجود دارد ولی بین سه دسته پرسنل اتاق عمل هیچ اختلاف معنی‌داری دیده نمی‌شود. 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 معنی دار وجود دارد ولی بین گروه شاهد با شاغلین باسابقه بیش از ۱۰ سال هیچ اختلاف معنی‌داری دیده نمی‌شود (جدول ۲).

جدول ۱. بررسی میزان آسیب‌های کروماتیدی در گروه‌های مورد مطالعه

گروه مورد مطالعه	تعداد افراد	تعدادمتافازبررسی‌شده	تعدادشکاف‌کروماتیدی	تعدادحذف‌کروماتیدی	مجموع‌آسیب‌ها
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

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-07-31]

جدول ۲. بررسی آسیب‌های کروموزومی در گروه‌های مورد مطالعه

گروه مورد مطالعه	تعداد افراد	تعدادمتافازبررسی‌شده	تعدادشکاف‌کروماتیدی	تعدادحذف‌کروماتیدی	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

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 بیهوش کننده از طریق تکنیک‌های کارآمد سیتوژنیک، بسیار با ارزش می‌باشد.

با توجه به چرخه سلولی اگر مولکول DNA در مرحله G1 آسیب ببیند این آسیب پس از گذر از مرحله سنتز S درهر 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 ایجاد کننده تغییرات ساختمانی کروموزوم می‌باشند و این تغییرات در مواد ژنتیکی به آسانی قابل پیگیری می‌باشد [۵،۶،۸]. هنگامی می‌توان ناهنجاری های مختلف کروموزومی موجود در یک فرد را به تاثیر گازهای بیهوش کننده نسبت داد که این ناهنجاری‌ها در گروه‌های شاهد وجود نداشته باشد و یا این‌که میزان آن کمتر از گروه‌های در معرض قرارگرفتن با گازهای بیهوش کننده سبب افزایش معنی‌داری در آسیب‌های کرموزومی و کروماتیدی در لنفوسیت‌های خون محیطی کارکنان اتاق عمل می‌شود ولی ارتباطی بین سابقه شغلی و میزان بروز این آسیب‌ها وجود ندارد.

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 کروموزوی 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.

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-07-31]

[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 mutagentic effects of halothane in mammals in vivo, Antsthesiology, 55 (1981) 143-170.

[5] Bender, M.A., Cytogetic effects of radiation in man, Sym. choromosome 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 choromosome aberration in mutagen test, Mut. Res., 31 (1975) 135-148.

[9] Green, C.J., Anestetic 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 expchange in lymphocytes of nurse-anesthetists, Anesthsiology, 62 (1985) 460-475.

[11] Kole, T.E., Environmental and occupational huzards 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., Choromosom aberrations in operating room personel, Am. J. Ind. Med., 35 (1999) 642-646.

[14] Wurstao, 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.

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-07-31]

Survey of chromosome aberration induced by inhold anesthetic gasses in lymphocyte of the operation room personnel using metaphase analyse method

S. Shrabi*[1](M.Sc), P. Hejazi[2] (M.Sc)

1-Dept. of Biochemistry and Hematology, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran

2-Dept. of Medical Physics, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran

Interoduction. There is a risk of high exposure to waste anesthetic gasses for the staff working in unscranged rooms. The aim of this study is to investigate the mutagenic effect of anesthetic gasses.

Materials and Methods. The study in a group of 45 (anesthetic and support staff) was planned to ascoratin the cytogenetic risk in a group of personnel who worked in various hospitals. Their exposure, in terms of employment duration divided in to three groups (0-5 years, 5-10 years and more than 10 years). The control groups (n=30) consisted of people with different occupation matched for possible confunding variable. Cytogentic risk was in terms of chromosome and chromatid aberration in 72 hours lymphocyte culture.

Results. A significant increase in the percentage of chromosome and chromatid aberration was observed. The chromosome gap seems to be stood out. Thus, the finding does not have any relation between duration of service and cytogenetic damage.

Conclusion. These findings indicate the possible risk of cytogenetic damage for staff working in unscarenged rooms.

Keywords: Anesthtic gase; Lymphocyte culture; Chromosome aberration; Chromatid aberration

* Correesponding author. Fax: 0231-3331551; Tel: 0231-3332082

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-07-31]