تغییرات هیستومتریک و هیستولوژیک بافت دوازدهه‌ی موش صحرایی متعاقب تجویز خوراکی اتانول و اولئوروپئین

حسن مروتی[۱]، حسین نجف‌زاده[۲*]، امید دزفولیان[۳] و شیخ عباس پیرزاده[۴]

تاریخ دریافت: ۹۴/۲/۲۲ تاریخ پذیرش: ۹۴/۱۰/۲۶

خلاصه

از آنجایی که نقش اولئوروپئین به عنوان مهم‌ترین ترکیب فنلی برگ زیتون در حفاظت لایه‌ی مخاطی معده و سایر بافت‌های بدن به اثبات رسیده است، هدف مطالعه‌ی حاضر بررسی تغییرات هیستومتریک و هیستولوژیک بافت دوازدهه‌ی موش صحرایی متعاقب تجویز اتانول و اولئوروپئین بود. شش گروه موش صحرایی نر به صورت گروه‌های شاهد (نرمال سالین)، اولئوروپئین (۵ mg/kg)، اتانول (یک میلی‌لیتر)، اتانول به همراه اولئوروپئین با سه دوز ۵، ۱۰ و ۵۰ mg/kg تحت مطالعه قرار گرفتند. اولئوروپئین به مدت سه روز به صورت خوراکی تجویز شد و اتانول یک ساعت بعد از آخرین دوز اولئوروپئین خوراکی گاواژ شد. موش‌ها یک ساعت بعد از مصرف اتانول به وسیله‌ی اتر آسان‌کشی شدند و بافت دوازدهه جدا شده از نظر ماکروسکوپی و میکروسکوپی ارزیابی شد. مصرف اتانول سبب تخریب طبقه‌ی مخاطی دوازدهه گردید به طوری که با تجویز آن ضخامت بافت پوششی، تعداد سلول‌های استوانه‌ای، تعداد سلول-های جامی، طول پرز و ضخامت طبقه‌ی مخاطی نسبت به گروه کنترل به طور معنی‌داری کاهش یافت. استفاده از اولئوروپئین در دوزهای ۵ و ۱۰ mg/kg میلی‌گرم بر کیلوگرم در کاهش اثرات اتانول مؤثر بود در حالی که دوز ۵۰ mg/kg آن برای دوازدهه اثر محافظتی نداشت بلکه همانند یک عامل اکسید کننده در دوازدهه عمل نمود. بنابراین اولئوروپئین در مقادیر کم می‌تواند اثر محافظتی برای بافت دوازدهه در برابر اتانول داشته باشد.

کلمات کلیدی: اولئوروپئین، اتانول، بافت دوازدهه، موش صحرایی

مقدمه

الکل و الکلیسم یکی از موارد بروز ضایعات و ایجاد سرطان در اندام‌های مختلف بدن پستانداران می‌باشد. ایجاد ضایعات در سیستم‌های عصبی، تولید مثلی و گوارشی از جمله این عوارض است. اتانول تأثیر مخربی بر بافت‌های مختلف بدن از جمله دستگاه گوارش دارد. مصرف الکل منجر به کاهش پرزهای روده می‌شود (Bode 1980). به کار بردن اتانول خالص در موش‌های صحرایی زخم‌های معده‌ای قابل مشاهده ایجاد می‌کند (Alirezaei et al. 2012). همچنین مصرف اتانول باعث تورم دوازدهه می‌شود. ضمن این که مصرف مزمن الکل باعث نکروز در زیر مخاط دوازدهه می‌شود که به صورت نقاط کانونی دیده می‌شود. همچنین مصرف مزمن الکل سبب خونریزی همراه با افزایش سلول‌های ائوزینوفیلی در مخاط می‌شود (Vaquera et al. 2002).

برگ زیتون دارای ترکیبات متنوع از جمله آلکالوئید و استروئید است و دارای خواص گوناگونی از جمله خواص ضد باکتری، ضد ویروسی، فعالیت هیپوگلیسمیک و اثر شل کنندگی عروق است. همچنین برخی از ترکیبات زیتون خواص آنتی‌اکسیدانی دارند. از برگ این گیاه در طب سنتی به عنوان داروی ضد فشار خون، ضد

[۱] استاد گروه علوم پایه، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه تهران

[۲*] استاد گروه علوم پایه، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز E-mail: najafzadeh@scu.ac.ir (نویسنده‌ی مسئول)

[۳] استادیار گروه پاتوبیولوژی، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه لرستان

[۴] دانش‌آموخته‌ی کارشناسی ارشد بافت‌شناسی، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز

آترواسکلروز، ملین، تب بُر، نیرو بخش، مؤثر در درمان عفونت‌های مجاری ادراری و برطرف‌کننده‌ی سردرد و با فعالیت آنتی‌اکسیدانی یاد شده است. اولئوروپئین[1] فراوان‌ترین نوع از ترکیبات فنلی موجود در میوه و برگ زیتون است و عامل مزه‌ی تلخی خاص میوه‌ی زیتون می‌باشد (Andreadou et al. 2006, Somova et al. 2003). تأثیرات مثبت این ماده بر سلامتی به طور گسترده‌ای مطالعه شده است. نشان داده شده است که اولئوروپئین به عنوان آنتی‌اکسیدان عمل نموده و باعث کاهش خطر حملات قلبی و پیش‌گیری از سرطان می‌شود و می‌تواند خواص ضد میکروبی و ضد ویروسی نیز داشته باشد. ترکیبات فنلی شناخته شده برگ زیتون شامل اولئوروپئین، کافئیک اسید، لوتئولین، کوئرستین، کریزریول و غیره است که اثرات دارویی می‌باشند. اثر حفاظتی برگ زیتون به صورت کاهش آسیب به لایه‌ی بافت پوششی معده به دنبال مصرف اتانول که باعث خوردگی می‌شود مطالعه شده و مشاهده گردیده است که ضایعات مخاطی معده در گروه‌هایی که عصاره‌ی برگ زیتون دریافت می‌کنند کاهش می‌یابد و نشان داده شده که عصاره‌ی برگ زیتون می‌تواند با یک داروی مرجع مانند رانیتیدین در پیش‌گیری از زخم معده رقابت کند (Dekanski et al. 2009). از آن جایی که نقش اولئوروپئین به عنوان مهم‌ترین ترکیب فنلی برگ زیتون در حفاظت لایه‌ی مخاطی معده به اثبات رسیده است، لذا پژوهش حاضر با هدف مطالعه‌ی تغییرات هیستومتریک و هیستولوژیک بافت دوازدهه موش صحرایی متعاقب تجویز خوراکی اتانول و اولئوروپئین طراحی گردیده است.

مواد و روش کار

تعداد ۳۶ سر موش صحرایی بالغ نر نژاد اسپراگ داولی با وزن تقریباً ۲۰۰ گرم به طور تصادفی به ۶ گروه کنترل، دریافت کننده‌ی اتانول، دریافت‌کننده‌ی اولئوروپئین و دریافت‌کننده‌ی همزمان اتانول و اولئوروپئین تقسیم شدند که دوز اتانول یک میلی‌لیتر (Dekaneski et al. 2009) و دوزهای اولئوروپئین به ترتیب ۵، ۱۰ و ۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم بود (علیرضایی و همکاران ۲۰۱۲a). از برگ‌های زیتون منطقه‌ی خرم‌آباد عصاره‌ی استونی تهیه شد آن‌گاه اولئوروپئین در مرکز گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی لرستان با کمک ستون کروماتوگرافی و HPLC جداسازی به صورت خالص استفاده شد.

اولئوروپئین به مدت سه روز خوراکی تجویز شد (برای پیش‌گیری و تأمین عوامل آنتی‌اکسیدانی جهت مقابله با اثر الکل) و اتانول یک ساعت بعد از آخرین دوز اولئوروپئین خوراکی گاواژ شد. موش‌ها یک ساعت بعد از مصرف اتانول (علیرضایی و همکاران ۲۰۱۲a) به وسیله‌ی اتر آسان‌کشی شدند و تمام دوازدهه جدا گردید و بافت دوازدهه از نظر ماکروسکوپی و میکروسکوپی ارزیابی شد. در مطالعه‌ی هیستومتریک ضخامت طبقه‌ی مخاطی، طول پرز، ضخامت لایه‌ی اپیتلیوم، ضخامت لایه‌ی پارین، ضخامت عضله‌ی مخاطی، طول غدد لیبرکوهن، تعداد پرز، تعداد سلول‌های استوانه‌ای و جامی در ۱۰۰ میکرومتر از طول بافت در پرز و مخاط شمارش شد. در این مرحله، از عدسی چشمی مدرج و اسلاید تنظیم شده (کالیبره) و میکروسکوپ نوری المپیوس استفاده شد.

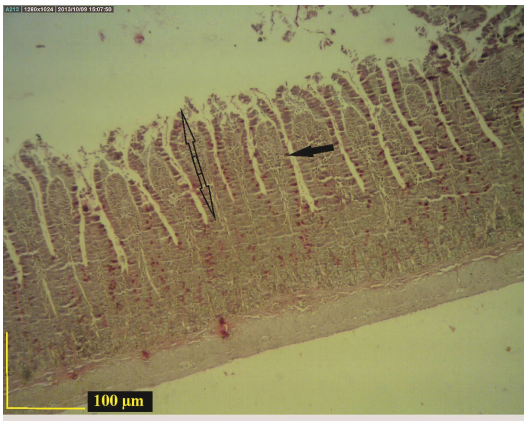
داده‌های به دست آمده با استفاده از برنامه‌ی کامپیوتری SPSS نسخه‌ی ۱۶ و آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و اختلاف میانگین‌ها با ($p\leq ۰/۰۵$) معنی‌دار تلقی گردید.

نتایج

نتایج هیستوپاتولوژی

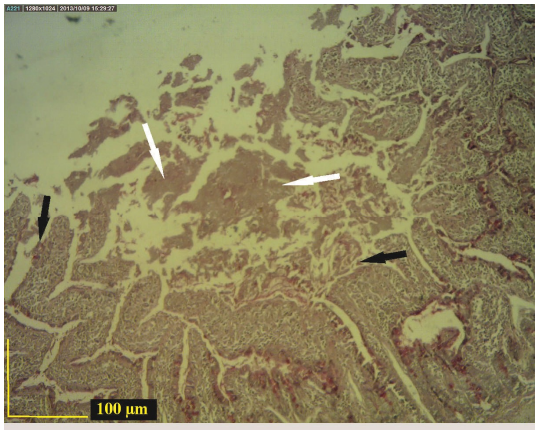
در گروه‌های کنترل و اولئوروپئین رأس و میانه پرزها سالم و سلول‌های استوانه‌ای نکروز نشده بودند و از نظر درصد پرزهای درگیر شده نیز به نظر می‌رسد هیچ پرزی دچار آسیب نشده است (تصویر ۱).

1 - oleuropein

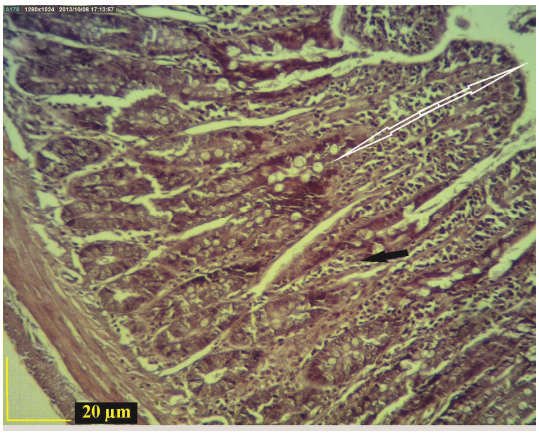


تصویر ۱: بافت دوازدهه‌ی موش صحرایی گروه کنترل که سالم بودن سلول‌های استوانه‌ای و جامی (پیکان‌های کوتاه) در بافت پوششی و پرزهای دوازدهه (پیکان بلند) را نشان می‌دهد. (رنگ‌آمیزی PAS)

در گروه اتانول شدت تخریب از رأس پرزها شروع شده و تا میانه‌ی پرز را در بر گرفته بود. تخریب یا به صورت کنده شدن پرزها و یا کنده شدن سلول‌های اپی-تلیوم بروز کرده و یا به صورت نکروز انعقادی مشاهده شد. از نظر تعداد پرزهای درگیر شده نیز بیش از ۵۰ درصد پرزها دچار آسیب شدند (تصویر ۲ و ۳).

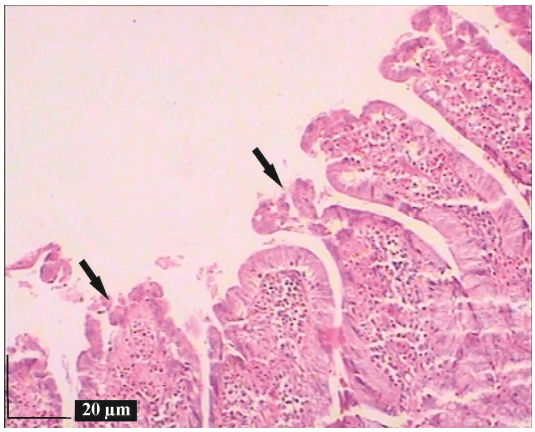


تصویر ۲: نکروز انعقادی پرزها (پیکان‌های روشن) و کنده شدن سلول‌های اپی‌تلیوم (پیکان‌های سیاه) در گروه دریافت کننده‌ی اتانول خالص (رنگ‌آمیزی PAS)



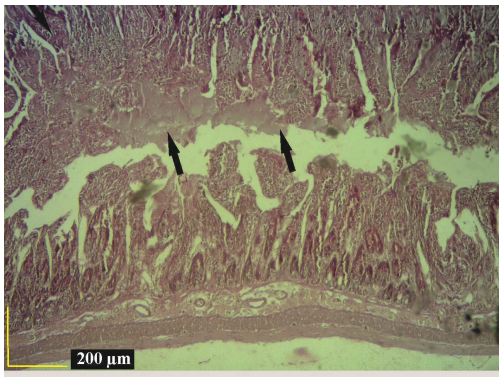
تصویر ۳: تخریب سلول (نکروز) (پیکان مشکی و کوتاهی پرز (پیکان روشن) ایجاد شده در پرزهای دوازدهه‌ی گروه اتانول که از رأس تا میانه‌ی پرز را در بر گرفته است. (رنگ‌آمیزی H&E×400).

در گروه‌های تیمار دریافت‌کننده‌ی دوزهای ۵ و ۱۰ mg/kg اولئوروپئین همراه با اتانول، نکروز فقط در رأس پرزها مشاهده شد و تعداد کم‌تری از سلول‌های بافت پوششی دوازدهه در مقایسه با سلول‌های پوششی دوازدهه‌ی گروه اتانول دچار آسیب شدند. از نظر درصد پرزهای نکروز شده نیز در این دو گروه، ۲۵-۲۰ درصد پرزهای دوازدهه دچار نکروز شده بودند (تصویر ۴).

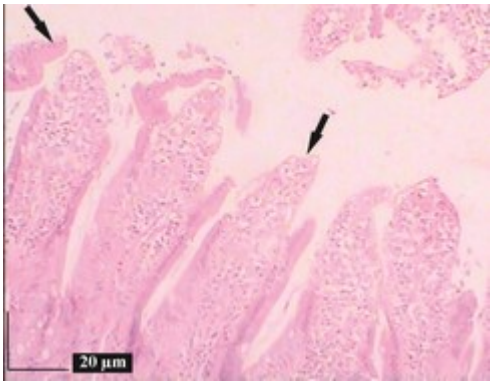


تصویر ۴: محدود شدن نکروز در رأس پرزها (پیکان سیاه) در بافت پوششی و همبند در گروه‌های دریافت کننده‌ی اتانول به همراه دوز ۵ و ۱۰ mg/kg اولئوروپئین (رنگ‌آمیزی H&E)

در مشاهده‌ی میکروسکوپی مخاط دوازدهه گروهی که دوز ۵۰ میلی‌گرم برای هر کیلوگرم اولئوروپئین را دریافت کرده بودند همانند گروه دریافت کننده‌ی اتانول خالص، تخریب پرزها تا میانه‌ی پرز را درگیر کرد و تا ۶۰ درصد پرزهای دوازدهه تخریب شدند (تصویر ۵).



تصویر ۵: نکروز انعقادی در رأس پرزهای دوازدهه (پیکان-های سیاه) گروه دریافت کننده‌ی دوز ۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم اولئوروپئین همراه با اتانول که بیانگر عدم توانایی این دوز در جلوگیری از آسیب به مخاط دوازدهه است. (رنگ آمیزی PAS)



تصویر ۶: نکروز رأس پرزهای دوازدهه (پیکان سیاه) در گروه دریافت کننده‌ی دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اولئوروپئین همراه با اتانول (رنگ‌آمیزی H&E).

نتایج هیستومتری

گروه کنترل دارای بیش‌ترین میانگین ضخامت بافت پوششی بوده و بیش‌ترین پراکندگی ضخامت بافت پوششی در گروه پنجم یعنی گروه دوز ۲ اولئوروپین + اتانول مشاهده شد. طبقه‌ی مخاطی در گروه دریافتی اولئوروپئین دارای بیش‌ترین میانگین ضخامت می‌باشد و گروه اتانول دارای کم‌ترین میانگین ضخامت است. بین میانگین ضخامت طبقه‌ی مخاطی در گروه‌های مختلف مورد مطالعه تفاوت وجود دارد ($p<۰/۰۵$).

گروه با دوز ۵ mg/kg اولئوروپئین + اتانول دارای بیش‌ترین میانگین ضخامت و کم‌ترین پراکندگی ضخامت لایه‌ی پارین می‌باشد. بین میانگین لایه‌ی پارین در گروه‌های مختلف مورد مطالعه تفاوت وجود ندارد ($p>۰/۰۵$). به عبارت دیگر میانگین ضخامت لایه‌ی پارین در ۶ گروه موش صحرایی با درمان‌های متفاوت یکسان است و درمان‌های متفاوت تأثیر یکسانی بر لایه‌ی پارین داشته‌اند.

گروه‌های اتانول و دوز ۱۰ mg/kg اولئوروپئین + اتانول دارای بیش‌ترین میانگین تعداد سلول‌های جامی غدد می‌باشند. بین میانگین تعداد سلول‌های جامی غدد در گروه‌های مختلف مورد مطالعه تفاوت وجود ندارد ($p>۰/۰۵$). بیش‌ترین میانگین تعداد سلول‌های استوانه‌ای پرز در گروه اولئوروپئین شمارش شد. گروه دریافت کننده‌ی اولئوروپئین ۵ mg/kg + اتانول دارای بیش‌ترین و گروه اتانول دارای کم‌ترین میانگین تعداد سلول‌های جامی می‌باشد.

بین میانگین تعداد سلول‌های جامی پرز در گروه‌های مختلف مورد مطالعه تفاوت وجود دارد ($p<۰/۰۵$). گروه اتانول دارای بیش‌ترین میانگین ضخامت عضله‌ی مخاطی می‌باشد . گروه کنترل و اولئوروپئین دارای بیش‌ترین میانگین طول پرز می‌باشد و گروه اتانول و دوز ۵۰ mg/kg اولئوروپئین + اتانول دارای کم‌ترین میانگین طول پرز می‌باشند. میانگین طول غدد در دوازدهه همه‌ی گروه‌ها تقریباً یکسان است و پراکندگی طول غدد در گروه اتانول بیش‌تر از دیگر گروه‌ها است (جدول ۱).

جدول ۱: میانگین ± انحراف معیار متغیرهای هیستومتری در ۱۰۰ میکرومتر از دوازدهه‌ی موش در گروه‌های تحت مطالعه (طول و ضخامت متغیرها بر حسب میکرون است)

گروه / متغیر(میانگین)	کنترل	اتانول	اولئوروپئین	اولئوروپئین ۵ + اتانول	اولئوروپئین ۱۰ + اتانول	اولئوروپئین ۵۰ + اتانول
ضخامت بافت پوششی	a۳۵/۲۹ ±۴/۸۲	b۱۸/۵۴ ±۸/۸۵	a۳۲/۱۸ ±۴/۱۰	b۱۸/۶۴ ±۲/۸۹	a۲۴/۳۷ ±۱۱/۴۶	b۱۵/۰۸ ±۴/۲۸
ضخامت طبقه مخاطی	a۸۴۵/۳۲ ±۷۶/۰۹	b۶۴۷/۶۰ ±۹۴/۵۵	c۹۰۳/۷۵ ±۱۰۳/۲۸	a۸۰۵/۱۰ ±۷۷/۶۱	b۷۱۳/۵۴ ±۱۳۰/۱۲	b۶۳۶/۲۵ ±۱۳۲/۰۹
ضخامت لایه پارین	a۲۹۶/۸۷ ±۷۳/۹۲	a۳۱۸/۹۸ ±۹۱/۹۲	a۳۴۸/۱۲ ±۶۵/۴۵	a۳۶۱/۹۸ ±۳۷/۶۸	a۳۲۰/۱۰ ±۶۶/۹۱	a۳۱۵/۸۳ ±۵۱/۳۴
تعداد سلول‌های جامی غدد	a۸/۹۶ ±۱/۹۸	a۱۴/۱۷ ±۳/۶۷	a۱۲/۰۸ ±۲/۹۹	a۹/۹۲ ±۳/۳۵	a۱۳/۶۲ ±۴/۵۷	a۱۱/۷۹ ±۴/۷۶
تعداد سلول‌های استوانه‌ای غدد لیبرکوهن	a۳۳/۱۷ ±۳/۹۷	a۳۴/۶۷ ±۲/۷۳	a۳۸/۳۳ ±۵/۳۵	a۳۱/۸۳ ±۴/۲۶	a۳۴/۱۷ ±۳/۳۷	a۳۷/۶۷ ±۴/۷۶
تعداد سلول‌های جامی پرز	a۴/۳۷ ±۱/۷۵	b۱/۴۶ ±۱/۹۵	a۴/۶۷ ±۱/۵۵	a۶/۰۴ ±۱/۸۰	a۵/۰۸ ±۲/۴۰	a۳/۶۷ ±۱/۸۵
تعداد سلول‌های استوانه‌ای پرز	a۳۲/۶۷ ±۳/۸۸	a۳۲/۶۷ ±۶/۲۲	a۳۴/۶۷ ±۲/۸۷	a۳۳/۶۷ ±۴/۰۸	a۳۴/۳۳ ±۵/۲۸	a۳۵/۵۰ ±۲/۴۳
ضخامت عضله مخاطی	a۱۰/۶۴ ±۱/۶۳	a۱۱/۵۶ ±۲/۲۶	a۱۱/۱۴ ±۱/۲۱	a۱۰/۷۲ ±۲/۳۲	a۹/۳۷ ±۲/۱۳	a۱۰/۶۲ ±۱/۵۳
طول پرز دوازدهه	a۵۹۲/۹۲ ±۵۷/۴۱	b۳۶۱/۹۸ ±۱۱۰/۵۶	a۵۷۸/۲۹ ±۱۲۳/۲۶	a۴۶۴/۲۷ ±۸۰/۶۲	a۵۰۳/۹۵ ±۱۷۱/۸۱	b۳۸۱/۴۵ ±۱۱۵/۱۴
طول غدد دوازدهه	a۱۸۸/۶۴ ±۵۶/۵۰	a۲۰۵/۲۱ ±۶۶/۸۸	a۲۲۱/۶۶ ±۲۷/۳۵	a۲۰۹/۱۷ ±۴۳/۹۹	a۲۳۲/۲۹ ±۳۲/۵۰	a۱۹۰/۹۳ ±۳۸/۷۹
تعداد پرزهای دوازدهه	a۸/۶۷ ±۰/۸۲	a۸/۰۰ ±۰/۸۹	a۸/۸۳ ±۰/۹۸	a۹/۵۰ ±۱/۰۵	a۸/۸۳ ±۰/۴۱	a۹/۰۰ ±۰/۶۳

حروف متفاوت در هر ردیف بیانگر اختلاف معنی‌دار بین گروه ها با $p\leq ۰/۰۵$ می‌باشد.

بحث

در مطالعه‌ی ماکروسکوپی روده گروه‌های تیمار، روده حاوی گاز و مخاط نیز به رنگ قرمز متمایل به زرد مشاهده گردید که شدت رنگ در گروه‌هایی که دوزهای ۵ و ۱۰ میلی‌گرم برای هر کیلوگرم اولئوروپئین را همراه اتانول دریافت کرده بودند نسبت به گروه اتانول کم‌تر به نظر می‌رسید که احتمالاً بیانگر نقش آنتی‌اکسیدانی اولئوروپئین در حفظ مخاط و به دنبال آن جلوگیری از پارگی مویرگ‌های خونی مخاطی بود. ولی سطح مخاط دوازدهه گروهی که دوز ۵۰ میلی‌گرم برای هر کیلوگرم اولئوروپئین همراه اتانول دریافت کرده بودند ظاهری مشابه با مخاط دوازدهه گروه اتانول داشت که در این صورت به نظر می‌رسد دوز سوم اولئوروپئین نتوانسته

است اثر آنتی‌اکسیدانی اعمال و مخاط دوازدهه را در برابر استرس اکسیداتیو اتانول حفظ نماید. در نتیجه مویرگ‌های مخاطی در دوازدهه آسیب دیده و خون‌ریزی مشاهده گردید. بنابراین یافته‌های ما نیز آسیب‌های ناشی از اتانول و اثر حفاظتی اولئوروپئین بر مخاط دوازدهه را تأیید می‌کند.

علی رضایی و همکاران در سال ۲۰۱۲ بیان نمودند که تجویز اتانول خالص به موش‌های ناشتا سبب ایجاد زخم و خون‌ریزی گسترده در مخاط معده می‌گردد و استفاده از اولئوروپئین به عنوان پیش درمان با دوزهای ۶ ، ۱۲ و ۱۸ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم به مدت ۱۰ روز، زخم‌های معدی ناشی از اتانول خالص را به طور معنی‌داری کاهش می‌دهد و بهترین نتیجه از دوز ۱۲ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم به دست می‌آید. Millan و همکاران در سال ۱۹۸۰ بیان نمودند در انسان نیز مصرف حاد الکل تغییراتی مشابه آنچه در حیوانات دیده می‌شود ایجاد می‌کند.

گزارش‌های منتشر شده در رابطه با تغییرات مورفولوژیکی روده بعد از مصرف حاد اتانول متفاوت است.

Hayton در سال ۱۹۷۵ گزارش کرد که تجویز الکل با غلظت ۵ درصد به تهی‌روده‌ی موش صحرایی تغییرات ساختمانی در بافت پوششی آن ایجاد نمی‌کند. Gillespie و Lucas در سال ۱۹۶۱ دریافتند که تجویز اتانول به صورت داخل معده‌ای و با غلظت ۷۶w/v–۱۲ درصد در موش‌های صحرایی که تغذیه‌ی مناسبی داشته باشند در روده ضایعه‌ای ایجاد نمی‌کند، اما الکل ۱۵ درصد در حیواناتی که تغذیه مناسبی نداشته باشند ایجاد خون‌ریزی می‌نماید. Himal و Greenberg در سال ۱۹۷۷ در مطالعات خود تغییرات قابل ملاحظه‌ای در مخاط دوازدهه‌ی سگ متعاقب اتانول ۲۰ درصد مشاهده نکردند. از طرفی Beck و Dinda در سال ۱۹۸۱ در حیواناتی از جمله جوندگان و سگ با به کار بردن الکل به صورت حاد سبب آسیب به مخاط در روده‌ی کوچک شدند که با از دست رفتن بافت پوششی در نوک پرزها، سایش خون‌ریزی دهنده و خون‌ریزی در پارین همراه بود. تجویز خوراکی الکل به موش صحرایی سبب ایجاد ضایعاتی می‌شود که عمدتاً بیش‌تر در دوازدهه مشاهده می‌شوند. در موش‌های صحرایی با به کار بردن اتانول در غلظت‌های ۵ تا ۴۹ درصد مشاهده شد که آسیب به بافت پوششی بیش‌تر در نوک پرزها ایجاد می‌شود تا جایی که تعداد بسیار زیادی از سلول‌ها از بین می‌روند (Baraona et al. 1974). مصرف مقدار زیاد و متوالی الکل سبب آسیب‌های مخاطی در نواحی فوقانی دوازدهه می‌شود. در انسان مصرف یک دوز الکل به مقدار زیاد می‌تواند سایش و خون‌ریزی ایجاد کند . چندین مکانیسم در ایجاد آسیب‌های مخاطی ناشی از الکل دخالت دارند: اول این که الکل می‌تواند به طور مستقیم به بافت پوششی آسیب برساند . ثانیاً الکل می‌تواند آزادسازی سیتوکین‌ها، هیستامین و لکوترین‌ها را القا کند. این مواد می‌توانند به رگ‌های خونی کوچک یا مویرگ‌های موجود در زیر مخاط روده آسیب برسانند و لخته شدن خون را القا کنند. هر لخته‌شدگی ممکن است انتقال مایعات از عرض مویرگ‌ها را دچار اختلال کند و در نتیجه با انباشته شدن مایعات در نوک پرزها موجب خراب شدن نوک پرزها گردد (Ray et al. 1989).

Hoyumpa و همکاران در سال ۱۹۷۵ گزارش کردند که به کار بردن اتانول به میزان ۷/۵ گرم بر کیلوگرم در موش‌های صحرایی سبب کاهش قسمت پارین در پرزهای روده، قطعه قطعه شدن گلبول‌های قرمز و چند شکلی شدن هسته‌ی گلبول‌های سفید می‌شود و بیش‌تر از ۲۰ درصد پرزها عاری از سلول‌های پوششی می‌شوند. اتانول و متابولیت‌های آن مانند استالدئید با ایجاد رادیکال‌های آزاد مانند سوپروکسید، پروکسید و هیدروکسیل و دیگر عوامل اکسیدان باعث افزایش تومورها می‌شوند. الکل به طور مستقیم سیتوتوکسیک است و سبب متیلاسیون نابجای DNA می‌شود . به عنوان مثال الکل چرخه‌ی سلول‌های تخمدانی، فیبروبلاست‌ها و سایر سلول‌ها را کوتاه می‌کند (Zimmermann et al. 1995). Mezey در

سال ۱۹۸۵ دریافتند که حتی بعد از مصرف خوراکی یک دوز زیاد از الکل غلظت آن در ایلئوم اختلاف معنی‌داری با سطح آن در خون ندارد و پیشنهاد شده است اتانول از طریق فضای عروقی به ایلئوم وارد می‌شود.

Nordmann در سال ۱۹۹۴ گزارش نموده که اتانول از طریق تولید مستقیم متابولیت‌های واکنش‌دهنده دارای اثرات مضری برای بدن می‌باشد. این متابولیت‌ها شامل گونه‌های رادیکال آزاد می‌باشند که با بیش‌تر ترکیبات سلولی واکنش می‌دهند و باعث تغییر در عملکرد و ساختمان سلول می‌شوند و یا با شرکت در دیگر مکانیسم-ها در نهایت باعث افزایش آسیب‌های اکسیداتیو می-گردند.

توصیف مکانیسم‌های دقیق سلولی و مولکولی نتایج به دست آمده هدف این مطالعه نیست ولی به عنوان شواهد غیرمستقیم برخی از یافته‌های سایر محققان آورده شده است. استرس سرما موجب زخم معده در موش صحرایی می‌شود و مالون دی‌آلدئید را به عنوان شاخص پراکسیداسیون چربی افزایش داده و موجب کاهش آنزیم-های آنتی‌اکسیدان کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز می-شود. در عوض عصاره‌ی برگ زیتون موجب کاهش زخم معده ناشی از سرما می‌شود و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را افزایش می‌دهد (Dekanski et al. 2009).

در نتیجه، یافته‌های مطالعه‌ی ما معلوم می‌کند که به کار بردن اولئوروپئین به عنوان یک آنتی‌اکسیدان طبیعی پیش از تجویز اتانول خالص به موش صحرایی از سمیت ایجاد شده در دوازدهه که بر اثر اتانول به وجود می‌آید، جلوگیری می‌کند. یافته‌های هیستوپاتولوژی این پژوهش سالم بودن مخاط را در دوازدهه گروه‌های کنترل و اولئوروپئین تأیید کرد و در مقایسه‌ی مخاط دوازدهه گروه‌های کنترل و اولئوروپئین با مخاط دوازدهه گروه اتانول، اتانول به عنوان یک عامل اکسیدان به سلول‌های استوانه‌ای و جامی بافت پوششی دوازدهه آسیب می‌رساند بدین‌گونه که سلول‌ها دچار نکروز شده و شدت نکروز از رأس پرزها شروع شده و تا میانه‌ی آن را در برگرفته بود. نکروز ایجاد شده یا به صورت کنده شدن پرزها و یا جدا شدن سلول پوششی بروز کرده بود و یا به صورت نکروز انعقادی ظاهر گردید، همچنین از نظر درصد پرزهای درگیر شده نیز در گروه اتانول بیش از ۵۰ درصد پرزها دچار آسیب و نکروز شدند. در گروه‌های کنترل و اولئوروپئین درصد پرزهای آسیب دیده در حد صفر بوده و رأس و میانه پرزها سالم و سلول‌های استوانه‌ای و جامی بدون آسیب و نکروز به نظر می‌رسید. در گروهی که دوز ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم اولئوروپئین را همراه با اتانول دریافت کردند تقریباً ۲۵ درصد پرزها دچار نکروز شده بود و تعداد کم‌تری از سلول‌ها در مقایسه با گروه اتانول دچار آسیب شدند و نکروز تنها در رأس پرزها مشاهده گردید. درصد پرزهای نکروز شده در گروهی که دوز دوم اولئوروپئین را همراه با اتانول دریافت کرد به کم‌تر از ۲۰ درصد رسید و تعداد کم‌تری از سلول‌های استوانه‌ای و جامی نسبت به گروهی که دوز اول اولئوروپئین را دریافت کردند دچار ضایعه‌ی ناشی از اتانول شدند. در گروهی که اولئوروپئین را با دوز ۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم همراه با اتانول دریافت نمود همانند گروه اتانول نکروز تا میانه‌ی پرزها مشاهده شد و تقریباً تا ۶۰ درصد پرزها دچار نکروز شدند و چنین به نظر می‌رسد که افزایش دوز اولئوروپئین به ۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم نه تنها اثر حفاظتی برای سلول‌ها و پرزها نداشته بلکه سبب تخریب مخاط دوازدهه شده است. با توجه به یافته‌های هیستولوژی این مطالعه نیز معلوم می‌گردد که افزایش دوز اولوروپئین نمی‌تواند اثرات حفاظتی آن را در برابر الکل افزایش دهد.

در یک نتیجه‌گیری می‌توان گفت که مصرف اتانول خالص به عنوان یک عامل اکسید کننده، سبب تخریب طبقه‌ی مخاطی دوازدهه می‌گردد به طوری که با تجویز آن ضخامت بافت پوششی، تعداد سلول‌های استوانه‌ای، تعداد سلول‌های جامی، طول پرز و ضخامت طبقه‌ی مخاطی نسبت به گروه کنترل به طور معنی‌داری کاهش می‌یابد. استفاده از اولئوروپئین در دوزهای ۵ و ۱۰ میلی‌گرم به

ازای هر کیلوگرم در کاهش اثرات الکل مؤثر بوده است در حالی که دوز ۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم همراه با اتانول نه تنها نقش حفاظتی برای دوازدهه نداشته بلکه به آن آسیب رسانده است.

تشکر و قدردانی

از معاونت پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز به خاطر تأمین اعتبار مالی این مطالعه سپاسگزاری و قدردانی می‌شود.

منابع

Alirezaei, M.; Dezfoulian, O.; Neamati, S.; Rashidipour, M.; Tanideh, N. and Kheradmand, A. (2012a). Oleuropein prevents ethanol-induced gastric ulcers via elevation of antioxidant enzyme activities in rats. Journal of physiology and biochemistry, 68(4): 583-592.

Alirezaei, M.; Kheradmand, A.; Heydari, R.; Tanideh, N.; Neamati, S. and Rashidipour, M. (2012b). Oleuropein protects against ethanol-induced oxidative stress and modulates sperm quality in the rat testis. Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism, 5(3): 205-211.

Alirezaei, M.; Dezfoulian, O.; Sookhtehzari, A.; Asadian, P. and Khoshdel, Z. (2014). Antioxidant effects of oleuropein versus oxidative stress induced by ethanol in the rat intestine. Comparative Clinical Pathology, 23(5): 1359-1365.

Andreadou, I.; Iliodromitis, E.K.; Mikros, E.; Constantinou, M.; Agalias, A.; Magiatis, P. and Kremastinos, D.T. (2006). The olive constituent oleuropein exhibits anti-ischemic, antioxidative, and hypolipidemic effects in anesthetized rabbits. The Journal of Nutrition, 136(8): 2213-2219.

Baraona, E.; Pirola, R.C. and Lieber, C.S. (1974). Small intestinal damage and changes in cell population produced by ethanol ingestion in the rat. Gastroenterology, 66(2), 226-234.

Beck, I.T. and Dinda, P.K. (1981). Acute exposure of small intestine to ethanol: effects on morphology and function. Digestive Diseases and Sciences, 26(9):817-838.

Bode, J.C. (1980). Alcohol and the gastrointestinal tract. In Ergebnisse der Inneren Medizin und Kinderheilkunde/Advances in Internal Medicine and Pediatrics. Springer Berlin Heidelberg. Pp: 1-75.

Bou-Abboud, C.F.; Wayland, H.; Paulsen, G. and Guth, P.H. (1988). Microcirculatory stasis precedes tissue necrosis in ethanol-induced gastric mucosal injury in the rat. Digestive Diseases and Sciences, 33(7): 872-877.

Dekanski, D.; Janićijević-Hudomal, S.; Tadić, V.; Marković, G.; Arsić, I. and Mitrović, D.M. (2009). Phytochemical analysis and gastroprotective activity of an olive leaf extract. Journal of the Serbian Chemical Society, 74(4): 367-377.

Gillespie, R.J.G. and Lucas, C.C. (1961). Effect of single intoxicating doses of ethanol on the gastric and intestinal mucosa of rats. Canadian Journal of Biochemistry and Physiology, 39(2): 237-241.

Hayton, W.L. (1975). Effects of normal alcohols on intestinal absorption of salicylic acid, sulfapyridine, and prednisolone in rats. Journal of Pharmaceutical Sciences, 64(9): 1450-1456.

Himal, H.S. and Greenberg, L. (1977). The effect of ethanol and bile on electrolyte movement across canine proximal duodenal mucosa. The American Journal of Gastroenterology, 68(1): 45-50.

Hoyumpa, A.M. J.r.; Breen, K.J.; Schenker, S. and Wilson, F.A. (1975). Thiamine transport across the rat intestine. Effect of ethanol. Journal of Laboratory and Clinical Medicine, 86:803-816.

Mezey, E. (1985). Effect of ethanol on intestinal morphology, metabolism, and function. In Alcohol related diseases in gastroenterology Springer Berlin Heidelberg. Pp: 342-360.

Millan, M.S.; Morris, G.P.; Beck, I.T. and Henson, J.T. (1980). Villous damage induced by suction biopsy and by acute ethanol intake in normal human small intestine. Digestive Diseases and Sciences, 25(7): 513-525.

Nordmann, R. (1994). Alcohol and antioxidant systems. Alcohol and Alcoholism, 29(5): 513-522.

Ray, M.; Dinda, P.K. and Beck, I.T. (1989). Mechanism of ethanol-induced jejunal microvascular and morphologic changes in the dog. Gastroenterology, 96(2): 345-354.

Somova, L.I.; Shode, F.O.; Ramnanan, P. and Nadar, A. (2003). Antihypertensive, antiatherosclerotic and antioxidant activity of triterpenoids isolated from *Olea europaea*, subspecies africana leaves. Journal of Ethnopharmacology, 84(2): 299-305.

Vaquera, J.; Vaquera, A. and Girbes, T. (2002). Effects of chronic administration of either ethanol or pentanol on rat duodenum morphology. Histology and Histopathology. 17(1): 199-203.

Zimmerman, B.T.; Crawford, G.D.; Dahl, R.; Simon, F.R. and Mapoles, J.E. (1995). Mechanisms of acetaldehyde mediated growth inhibition: delayed cell cycle progression and induction of apoptosis. Alcoholism, Clinical and Experimental Research, 19(2): 434-440.

Histological and histometrical changes of rat deodenum following administration of ethanol and oleuropein

Morovvati, H.[1]; Najafzadeh, H.[2]; Dezfoolian, O.[3] and Pirzadeh, Sh.A.[4]

Received: 12.05.2015 Accepted: 16.01.2016

Abstract

Since the role of oleuropein as the most important phenolic compound of olive has been confirmed in protection of gastric mucosal layer and other tissues; the aim of present study was histometrically and histologically evaluation of rat duodenum after administration of ethanol and oleuropein. Six groups of male rats were treated as following: control (normal saline), oleuropein (5 mg/kg), ethanol (1ml), and ethanol with oleuropein by 3 doses of 5, 10 and 50 mg/kg. Oleuropein was orally administrated for 3 days and ethanol was orally administrated one hour after last oleuropein administration by gavag. The rats were euthanized by ether one hour after ethanol administration and duodenum was removed and evaluated by macroscopic and microscopic examinations. Ethanol destroyed mucosal layer of duodenum since thickness of epithelial tissue, number of columnar cells, number of goblet cells, length of villi and thickness of mucosal layer were significantly decreased in comparison with control group. Usage of oleuropein at 5 and 10 mg/kg was effective to reducing the effect of ethanol. However, 50 mg/kg of oleuropein did not protect duodenum but acted as oxidant agent and increased injuries. Thus, oleuropein with low doses can be considered protective for duodenum against ethanol.

Key words: Oleuropein, Ethanol, Duodenum tissue, Rat

1- Professor, Department of Basic Science, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran
2- Professor, Department of Basic Science, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
3- Assistant Professor, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Lorestan University, Khoramabad, Iran
4- MSc Graduated of Histology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
Corresponding Author: Najafzadeh, H., E-mail: najafzadeh@scu.ac.ir