مجله تحقیقات دامپزشکی، ۱۳۹۰، دوره ۶۶، شماره ۱، ۷-۱

تغییرات بیوشیمیایی سرم جوجه‌های گوشتی در مسمومیت کوتاه مدت با آفت کش لیندین

زهره خاکی[1*] جمیله سالار آملی[2] وحید لسان[3] طاهره علی اصفهانی[2]

۱) گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.
۲) گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.
۳) دانش آموخته دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.

(دریافت مقاله: ۱۰ مرداد ماه ۱۳۸۸ ، پذیرش نهایی: ۴ اردیبهشت ماه ۱۳۸۹)

چکیده

لیندین حلالیت بالایی در چربی دارد و در محیط زیست پایدار است، بنابراین تجمع حیاتی آن در زنجیره غذایی از محیط به انسان و حیوانات واقع می‌شود. با هدف بررسی اثرات دوزهای بالایی لیندین بر وزن و برخی پارامترهای بیوشمیایی سرم، تعداد ۲۵ عدد جوجه‌گوشتی نژاد "راس "۳۰ روزه به گروه کنترل و چهار گروه تیمار تقسیم شدند. جوجه‌های گروه کنترل هیچ سمی دریافت نکرده؛ اما سایر گروه‌ها به ترتیب جیره حاوی لیندین را به میزان ۱۵۰،۳۰۰، ۶۰۰ و ۹۰۰mg/kg دریافت کردند. در پایان روز هفتم، وزن جوجه‌ها اندازه‌گیری و پس از معدوم‌شدن با روش انسانی نمونه کبد و خون بدون ماده ضد انعقاد جهت تهیه‌سرم جمع‌آوری گردید. در تحقیق حاضر مشخص گردید که وزن جوجه‌ها در گروه‌های ppm ۶۰۰ و ۹۰۰ نسبت به‌گروه کنترل و گروه ppm ۱۵۰ و ۳۰۰ به طور معنی‌داری کاهش یافته. همچنین کلیه‌ها در همه‌گروه‌ها نسبت به‌گروه کنترل تحت تاثیر قرارگرفته زیرا که اسید اوریک سرم افزایش معنی‌داری را نشان داد. هر چند که این ضایعه کلیوی در گروه ppm ۹۰۰ بسیار شدید تر از سایر گروه‌ها می‌باشد. افزایش فعالیت AST گروه 900ppm نسبت به‌گروه کنترل و گروه‌های دیگر معنی دار می‌باشد ($p<0/05$). اندازه‌گیری CPK نشان داد که در گروه 900 نسبت به کلیه‌گروه‌ها و گروه کنترل افزایش معنی داری رخ داده است ($p<0/05$). اندازه‌گیری پارامترهای سرمی پروتئین تام، آلبومین و گلوبولین؛ تری‌گلیسرید، کلسترول، LDL کلسترول، HDL کلسترول، VLDL؛ شاخص لیپید پراکسیداسیون با روش TBARs و همچنین بتا کاروتن و ویتامین A سرم و کبد هیچ تغییر معنی‌داری را نشان ندادند ($p>0/05$). بنابراین جهت ارزیابی اثرات توکسیک کوتاه مدت لیندین، به طور اولیه می‌توان پیشنهاد نمود که آزمایشات کلیوی (به ویژه اسید اوریک) و آزمایشات عضلانی (به ویژه AST به همراه CPK) اندازه‌گیری گردد. باید برای اندازه‌گیری وزن نیز اهمیت قائل شد.

واژه‌های کلیدی: لیندین، بیوشیمی، لیپید پراکسیداسیون، AST، اسید اوریک، جوجه.

مقدمه

هگزاکلرو سیکلوهگزان‌ها (HCHS) گروهی از ترکیبات سنتتیک بوده که دارای ۸ فرم شیمیایی یا ایزومر می‌باشند. مهمترین آن‌ها عبارتند از ایزومرهای آلفا، بتا و گاما. خواص شیمیائی و سمی ایزومرهای HCH با یکدیگر متفاوت می‌باشد. ایزومر گامای این ترکیبات که بیشترین خاصیت حشره کشی و در عین حال بیشترین اثر نوروتوکسیسیتی را دارا می‌باشد، بنام لیندین شناخته می‌شود. ترکیبات تکنیکال بالای ۹۰ درصد ایزومر گاما را نیز لیندین می‌نامند. این ترکیب قابل تبخیر بوده و در آتمسفر و هوای مناطق مورد استفاده تا شعاع زیادی یافت می‌شود(۵). از این سم در طی سال‌های گذشته در مبارزه با آفات کشاورزی ،جهت بر طرف کردن انگل‌های خارجی دام‌ها و همچنین به‌عنوان جونده کش استفاده می‌شود(۲۰).

محققان دریافته‌اند که این ماده در ناباروری و بیماری‌های دیگر در انسان و حیوانات دخالت دارد. تاکنون اثرات سمیت عصبی، کبدی و ژنوتوکسیسیتی لیندین بخصوص در نشخوار کنندگان و ماهی ثابت شده است و از نظر سرطان زائی در گروه ۲B سرطان زاها (احتمالاً سرطان زا) قرار داده شده است(۵،۱۵،۱۸). از طرف دیگر این ترکیبات به شدت لیپوفیلیک هستند. بنابراین قدرت تجمع پذیری در بافت چربی را دارا می‌باشند و در چرخه غذایی انسان قرار می‌گیرند و از طریق شیر و گوشت وارد سیکل غذایی انسان می‌شوند (۶). مواجهه با آلاینده‌ها علاوه بر آن‌که سلامت طیور را به خطر می‌اندازد ،همچنین می‌تواند بر میزان کیفیت تولید هم اثر بگذارد(۱۰).

به دلیل ماندگاری بالای آن در محیط و خطر بهداشت محیط زیست، مصرف این‌گونه مواد پایدار در اکثر کشورها محدود و یا ممنوع شده است (۵). ولی متأسفانه هنوز هم گزارشات متعددی از مصرف گسترده آن وجود دارد(۱،۳). با توجه به نیمه عمر طولانی لیندین در خاک، این سم منبع محیطی مهمی برای دریافت آن توسط گیاهان و سپس آلوده شدن جیره غذایی دام‌ها می‌باشد(۶،۲۰).

لیندین محرک سیستم عصبی است که تشنج‌های شدید صرع مانند ایجاد می‌کند. محل اصلی عملکرد لیندین سیناپس‌ها هستند که هم اثرات تحریکی و هم اثرات مهار کنندگی دارد. لیندین یک عمل تحریکی روی ناقلین سیناسپی داشته و جریان فعال کلراید را از طریق مهار گابا (GABA) در اعصاب و عضلات مهار می‌کنند. لیندین اثر مهاری روی فعالیت آنزیم‌های Ca^{2+} - Mg^{2+} - Atpase و Na^{+} - K^{+} - Atpase دارد و از این طریق هموستاز کلسیم را تحت تأثیر قرار می‌دهد. کاربرد طولانی مدت

*)نویسنده مسؤول: تلفن: ۶۱۱۱۷۱۳۲-۰۲۱ نمابر: ۶۶۹۳۳۲۲۲-۰۲۱ Email: zkhaki@ut.ac.ir

لیندین باعث کاهش توانائی عضله قلب می‌شود که مدت پتانسیل عمل را در آن کم می‌کند. لیندین بر غشاءهای تحریک‌پذیر و سیستم قلبی-عروقی اثر می‌گذارد و این تغییرات یک فاکتور خطر برای انسان و حیوانات می‌باشد (۶،۱۴). تحریک تولید رادیکال آزاد و القاء لیپیدپراکسیداسیون و صدمه به آنتی اکسیدان‌های بدن به‌عنوان مکانیسم سمیت در برخی سموم از جمله لیندین گزارش شده است. تحریک واکنش‌های استرس اکسیدایتو و لیپیدپراکسیداسیون به‌عنوان یک مکانیسم اصلی در آسیب‌های بافتی مطرح می‌باشد (۷،۱۲).

لیندین دارای اثرات سمی روی دستگاه تناسلی و اثرات جهشی وسرطان‌زایی است (۱،۱۷). لیندین بر روی سیستم عصبی، کبد، کلیه، پانکراس، بیضه‌ها و غشاءهای مخاطی اثر می‌گذارد. آسیب‌های کبدی آن در موش، ماهی و نشخوارکنندگان به اثبات رسیده است (۵). همچنین بر سیستم ایمنی بدن نیز تاثیر گذار است، به‌طوری که روی عمل فاگوسیتوز گلبول‌های سفید در خون و تولید پادتن اثر مهاری دارد (۶).

در مطالعه روی ۷۲ خروس نژاد لگهورن سفید، دوزهای ppm ۵۰ و ۱۰۰لیندین به مدت ۹۰ روز با اثر روی ارگان‌های لمفوئیدی باعث ساپرس ایمنی شد (۲۳). همچنین لیندین در پرندگان موجب لیندین کم خونی و کاهش تعداد گلبول‌های قرمز می‌شود (۱۳).

با توجه به استفاده گسترده لیندین به‌عنوان آفات کش کشاورزی یا جونده‌کش و با توجه به پایداری محیطی بالای لیندین واین‌که طیور به خصوص از طریق جیره غذایی می‌توانند در معرض این سم قرار گیرند، بر آن شدیم که اثرات توکسیک دوزهای ppm ۱۵۰، ۳۰۰، ۶۰۰و۹۰۰ لیندین را در یک دوره کوتاه مدت ۷ روزه بررسی کنیم و تاثیرات دوزهای مختلف لیندین را بر روی وزن بدن و برخی پارامترهای بیوشیمیایی سرم ارزیابی کرده تا هم تاثیرات دوزهای بالای لیندین را بر روی اندام‌های کلیه و عضلات و تا حدی کبد بررسی کرده و هم نشان دهیم که با استفاده از برخی پارامترهای بیوشیمیایی می‌توان تحت تاثیر قرار گرفتن طیور مسموم شده را نشان داد. از طرف دیگر ارزیابی اثر دوزهای بالای لیندین بر لیپید پراکسیداسیون با استفاده از اندازه‌گیری TBARS سرم، لیپوپروتئین‌های سرم و بتاکاروتن سرم و کبد، یکی دیگر از اهداف این تحقیق می‌باشد، زیرا که لیندین یک سم لیپوفیلیک است (۶) و به عقیده برخی محققین اندازه‌گیری لیپید پراکسیداسیون می‌تواند شاخص خوبی برای ارزیابی صدمه بافتی باشد (۷). در این تحقیق از طیور گوشتی استفاده شده است، زیرا طیور گوشتی به‌عنوان یک منبع پروتئینی در تغذیه انسان نقش عمده‌ای دارد و شناسایی عوامل موثر در کاهش رشد و کیفیت محصول به ویژه طیور گوشتی می‌تواند علاوه بر تأثیر در تغذیه و سلامت انسان، صنعت مرغداری را از متحمل شده خسارت‌های ناشی از آن تا حدی رهایی بخشد. در این تحقیق جهت ارزیابی کیفیت لاشه از اندازه‌گیری ویتامین A سرم و کبد استفاده شد (۱۶). چنین تحقیقی برای اولین بار است که صورت می‌گیرد.

مواد و روش کار

در این تحقیق تعداد ۲۵ عدد جوجه گوشتی نژاد "راس" در سن ۳۰ روزگی به ۵ گروه مساوی تقسیم شدند و برنامه واکسیناسیون گله مورد مطالعه به طور معمول انجام گرفت. جوجه‌ها از جیره متداول طیور گوشتی و دسترسی آزاد به آب و غذا استفاده می‌کردند . در طی ۷ روز آلودگی تجربی جوجه‌های گروه کنترل، جیره عاری از سم دریافت می‌کردند ؛ در حالی‌که به جیره غذایی گروه‌های یک تا ۴ دیگر به ترتیب به میزان mg/kg ۱۵۰، ۳۰۰، ۶۰۰، ۹۰۰لیندین اضافه گردید.

لیندین مورد استفاده در این تحقیق از نوع تکنیکال ۹۵درصد بوده و جیره‌ها به صورت دستی تهیه شد. در پایان روز هفتم، وزن جوجه‌ها اندازه‌گیری گردید و خون‌گیری بدون ماده ضد انعقاد جهت تهیه سرم و نمونه‌برداری از کبد بعد از ذبح جوجه‌ها انجام شد. سپس نمونه‌های سرم و کبد تا زمان آزمایش به فریزر منفی ۲۰ درجه سانتیگراد منتقل گردیده. حداکثر یک هفته بعد از نمونه برداری، میزان ویتامین A و بتاکاروتن کبد و سرم با روش Suzuki و Katoh در سال ۱۹۹۰ اندازه‌گیری گردید (۲۱). جهت اندازه‌گیری پارامترهای مذکور در کبد ابتدا یک گرم از بافت کبد را با ۱۰ سی سی اتانول بوسیله سونیکاتور کاملاً به صورت یک محلول هموژن درآورده و سپس یک سی سی از آن را برداشته و ویتامین آ و بتاکاروتن آن همانند سرم اندازه‌گیری گردید. لیپیدپراکسیداسیون به روش تیوبار بیتوریک اسید (TBARS) با اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری گردید (۱۱). همچنین مقادیر فعالیت آسپارتات آمینو ترانسفراز (AST) (روش کارمن)، کراتین فسفوکیناز (CPK) (روش UV-کینتیک آنزیمی)، تری گلیسیرید (روش آنزیمی گلیسرول اکسیداز)، کلسترول تام (روش آنزیمی کلسترول اکسیداز)، HDL-C (روش رسوبی)، LDL-C (با استفاده از فرمول 1972 Friedewald)، ،پروتئین تام(روش بیوره)، آلبومین(روش برمورزول گرین)، اسید اوریک(روش آنزیمی اوریکاز) ،کراتی نین(روش کالریمتری ژافه) با استفاده از کیت‌های پارس آزمون مشخص گردید. C-VLDL از تقسیم تری گلیسیرید بر ۵ و گلوبولین از کم کردن آلبومین از پروتئین تام به دست آمد (۲۲).

سپس نتایج به دست آمده با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه و تست Tukey مورد ارزیابی آماری قرار گرفتند.

نتایج

اندازه‌گیری وزن جوجه‌ها نشان داد که وزن گروه‌های ۴و ۳ به طور بسیار معنی‌داری نسبت به گروه کنترل و گروه اول کاهش یافته است ($p<0/01$) و این کاهش وزن نسبت به گروه ۲ نیز معنی دار می‌باشد ($p<0/05$).

مقادیر اسید اور یک سرم در گروه‌های۱ تا ۳ نسبت به گروه کنترل معنی‌دار است ($p<0/05$)

جدول ۱ـ نتایج آزمایشات بیوشیمیایی در جوجه‌های گروه‌های آلوده شده به لیندن و کنترل. (کلیه پارامترهای جدول یک معنی دار نیست($p>0.05$)).

	گروه کنترل	گروه۱ (150 mg/kg)	گروه۲ (300 mg/kg)	گروه۳ (600 mg/kg)	گروه۴ (900 mg/kg)
	خطای معیار±میانگین	خطای معیار±میانگین	میانگین±خطای معیار	خطای معیار±میانگین	خطای معیار±میانگین
تری گلیسرید (mg/dl)	۸۰/۲۵±۴/۵	۷۷/۳±۷/۸	۷۴±۱۰/۸	۷۸/۵±۱۸/۵	۵۵/۵±۱/۵
کلسترول (mg/dl)	۱۹۱/۵±۸/۱۵	۲۶۱/۳۳±۴۲/۳	۲۱۴/۶±۱۱	۲۶۴/۵±۴/۵	۲۷۰±۹
HDL کلسترول (mg/dl)	۶۸/۲۵±۰/۷۵	۶۹±۲/۶۴	۶۵/۷۵±۱/۶۵	۸۱±۳/۱	۷۳/۵±۲/۵
LDLکلسترول (mg/dl)	۱۰۷/۱۷±۷/۷۲	۱۷۶/۸۳±۴۴/۱	۱۲۶/۶۵±۸/۳۳	۱۷۶±۰	۱۸۵/۴±۶/۲
VLDL (mg/dl)	۱۶/۰۵±۰/۹	۱۵/۴۶±۱/۵۷	۱۴/۸±۲/۱۷	۱۵/۷±۳/۷	۱/۱±۰/۳
پروتئین (g/dl)	۴/۱۷±۰/۳۷	۴/۳۶±۱۲	۴/۴۸±۰/۲۸	۴/۴۵±۰/۲۵	۵/۲±۰/۹
آلبومین (g/dl)	۱/۲۷±۰/۰۹	۱/۴±۰/۶۶	۱/۳۶±۰/۲	۱/۵±۰/۲	۱/۵±۰
گلوبولین (g/dl)	۲/۹±۰/۲۷	۲/۹۳±۰/۰۸	۳/۱±۰/۲۷	۲/۹۵±۰/۰۵	۳/۷±۰/۹
بتاکاروتن سرم (µg/µl)	۱۴۹/۱۶±۵۵/۶۷	۸۴/۱۱±۲۵/۷۲	۱۲۲/۹±۲۹/۶	۸۷/۵۸±۲۱/۲۳	۹۹/۰۳±۱۲/۹۹
بتاکاروتن کبد (µg/µl)	۱۱/۵۲±۳/۶	۷/۳۱±۱/۷۵	۷/۰۸±۱/۴۷	۶/۱۳±۱/۶۳	۵/۰۳±۰/۹۸
ویتامین A سرم (µg/µl)	۴۶/۴±۵/۳۶	۳۸/۳۹±۲/۸۴	۴۴/۱۸±۱/۳۶	۴۵/۳۸±۶/۳۱	۵۰/۳۴±۲/۲۴
ویتامین A کبد(µg/µl)	۱۷۰/۹۵±۱۹/۸	۱۹۶/۴۹±۲۶/۷۱	۱۵۰/۰۳±۱۵/۰۷	۱۴۱/۸۲±۸/۸۳	۱۴۰/۰۹±۱۸/۲۸
TBARS(µmol)	۱/۷۶±۰/۶۳	۲/۴۴±۱/۵	۲/۲۸±۱/۸۱	۱/۱۳±۰/۶	۳/۲۵±۰/۹۶

جدول ۲ـ نتایج آزمایشات بیوشیمیایی و وزن در جوجه‌های گروه‌های آلوده شده به لیندن و کنترل. (حروف غیر متشابه نشان دهنده معنی دار بودن است).

	گروه کنترل	گروه۱ (۱۵۰ mg/kg)	گروه۲ (۳۰۰ mg/kg)	گروه۳ (۶۰۰ mg/kg)	گروه۴ (۹۰۰ mg/kg)
	خطای معیار±میانگین	خطای معیار±میانگین	خطای معیار±میانگین	خطای معیار±میانگین	خطای معیار±میانگین
وزن بدن (g)	۲۳۰۰±۱۰۴/۰۸[a]	۲۰۷۵±۱۵۶/۱۲[a]	۱۹۲۰±۱۲۲/۰۶[a]	۱۴۲۵±۱۲۵[b]	۱۳۸۰±۶۰/۴۱[b]
AST(U/L)	۲۶۶/۵±۳۴/۴[a]	۲۹۵±۴/۷[a]	۲۸۷/۸±۸/۱[a]	۳۳۵±۲۱[b]	۳۹۴±۶[c]
CPK(U/L)	۶۶۲/۷±۲۱۸[a]	۶۸۹/۵±۲۰۱/۸[a]	۷۳۰۴/۶±۲۷۲/۶[a]	۶۶۹/۳±۲۷۱/۶[a]	۱۰۸۰/۵±۴۳۶/۵[b]
اسیداوریک (mg/dl)	۴/۱±۰/۳[a]	۵/۱۷±۰/۲۷[b]	۶/۵۲±۰/۶۸[c]	۷/۴۵±۰/۲۵[d]	۸/۵±۱/۱[d]
کراتی نین (mg/dl)	۰/۲۵±۰[a]	۰/۲۵±۰[a]	۰/۳۲±۰/۰۳[a]	۰/۳۷±۰[b]	۰/۴۳±۰/۰۶[b]

این افزایش در گروه ۴ نسبت به گروه کنترل معنی‌دارتر می‌باشد($p<۰/۰۱$). گروه ۴ نسبت به گروه یک و ۲ نیز از مقدار اسیداوریک بالاتری برخوردار بود، که از نظر آماری معنی دار است ($p<۰/۰۵$).

افزایش کراتی نین گروه‌های ۳ و ۴ با دیگر گروه‌ها معنی‌دار است ($p<۰/۰۱$).

AST گروه ۴ نسبت به گروه‌های کنترل، یک، ۲ و ۳ معنی دار می‌باشد ($p<۰/۰۵$). اندازه‌گیری CPK نشان داد که در گروه ۴ نسبت به گروه کنترل و گروه‌های دیگر افزایش معنی‌داری رخ داده است ($p<۰/۰۵$). اندازه‌گیری پارامترهای دیگر هیچ تغییر معنی داری را نشان ندادند($p>۰/۰۵$).

نتایج وزن بدن و اندازه‌گیری فعالیت AST، CPK، کراتی نین و اسید اوریک در جدول یک آمده است.

اندازه‌گیری پارامترهای دیگر هیچ تغییر معنی‌داری را نشان ندادند ($p>۰/۰۵$). نتایج مربوط به انواع کلسترول، تری‌گلیسیرید و آلبومین، گلوبولین و پروتئین تام همچنین ویتامین A کبد و سرم، بتاکاروتن کبد و سرم و TBARS سرم در جدول ۲ آمده است.

بحث

لیندین از آفت‌کش‌های پایدار محیطی است که امروزه با وجود اعمال محدودیت‌هایی در مصرف آن، هم‌چنان مصرف گسترده‌ای به‌عنوان مبارزه با آفات کشاورزی ،دفع انگل‌های خارجی حیوانات و جونده کش دارد. با توجه به ورود باقیمانده لیندین به گوشت، شیر و تخم مرغ و ذخیره شدن آن در چربی‌های بدن حیوانات و همچنین پایداری بالای آن در محیط، از نظر بهداشت انسانی و مشکلات زیست محیطی حائز اهمیت است (۱،۲،۳).

به علت آن‌که صنعت مرغداری در دنیا سالانه با عوامل مختلفی که سبب کاهش بازده تولید در آن می‌شود روبروست و با توجه به نقش آلاینده‌های شیمیایی در آلودگی غذاهای دامی و همچنین ایجاد بیماری‌ها و عوارض سوء آن‌ها در انسان و دام، مطالعه اثر آلاینده‌ها بر میزان و کیفیت تولید، از اهمیت قابل توجهی برخوردار است.

لیندین به‌طور متوسط برای گونه‌های مختلف پرندگان وحشی غیرسمی است زیرا LD50 آن در برخی از موارد بسیار بالاست .مثلاً در اردک وحشی (mallrd duck) بیشتر از ۲۰۰۰ mg/kg می‌باشد. این میزان در

بلدرچین ژاپنی ۴۹۰ ppm و در قرقاول ۵۶۱ ppm گزارش شده است (۹). اما در طیور اهلی دوزهای متفاوتی با دید های تحقیقاتی متفاوتی استفاده شده است. در ادامه در ارتباط با دوزهای مختلفی که محققین استفاده نمودند، بیشتر بحث می‌شود.

وزن یکی از پارامترهایی است که پس از مسمومیت با لیندین مورد توجه محققین قرار گرفته است. Prasad و همکاران در سال ۲۰۰۵ در مواجهه تحت حاد با دوز ۵۰۰ ppm لیندین در غذای رت‌ها، نشان دادند که سمیت لیندین با مدت مواجهه با آن افزایش می‌یابد و وزن بدن به تدریج کم می‌شود (۱۹). بر طبق گزارش (European Food Safety Authority) EFSA در سال ۲۰۰۵، مقادیر ۱۰ ppm لیندین در جیره غذایی به مدت ۶۰ روز در مرغ‌های تخم‌گذار اثری بر وزن، مرگ میر و حتی علائم بالینی نداشته است (۵).

در تحقیق حاضر مشخص گردید که لیندن با دوزهای ۶۰۰ و ۹۰۰ ppm می‌تواند حتی در طی یک دوره کوتاه مدت، باعث کاهش وزن جوجه‌ها گردد که در گروه‌های فوق نسبت به گروه کنترل و گروه ۱۵۰ ppm این کاهش به شدت معنی‌دار است. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که دوزهای بالای لیندین بر وزن جوجه‌های گوشتی اثر کاهشی دارد.

در بررسی حاضر در هیچ یک از گروه‌های مورد بررسی، مرگ و میری مشاهده نشد، که با نتایج White head و همکاران در سال ۱۹۷۲ همخوانی دارد که با مقا دیر ۱۰۰ ppm لیندین در جیره غذایی طیور در مدت ۲ هفته فقط کاهش تولید تخم را گزارش کردند و علائم بالینی دیگر یا مرگ و میر را گزارش نکردند (۲۴).

لیندین بر کلیه‌ها تاثیرگذار است (۶). در تحقیق حاضر نیز مشخص گردید که کلیه‌های گروه ۹۰۰ ppm و گروه‌های ۱۵۰، ۳۰۰ و ۶۰۰ ppm نیز تحت تأثیر قرار گرفته است، زیرا که اسید اوریک در هر ۴ گروه مسموم شده نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری را نشان داد. این ضایعه کلیوی در گروه ۴ بسیار شدید تر می‌باشد زیرا که افزایش اسید اوریک و کراتی نین در گروه ۴ نسبت به گروه کنترل و گروه یک بسیار معنی‌دار تر است. می‌دانیم که پرندگان اوریکو تلیک هستند و برای ارزیابی فعالیت کلیه‌های آن‌ها اندازه‌گیری اسید اوریک از ارزش بالا تری نسبت به اندازه‌گیری کراتی نین و اوره برخوردار است (۲۲).

AST آنزیمی است که در پرندگان اختصاصی کبد نیست ولی از آنجایی که آنزیم‌های اختصاصی کبد پرندگان همانند گلوتامات دهیدروژناز و سوربیتول دهیدروژناز در دسترس بسیاری از آزمایشگاه‌ها نیست، می‌توان از اندازه‌گیری فعالیت AST برای ارزیابی کبد هم استفاده کرد، زیرا میزان فعالیت این آنزیم در کبد بالاست. فعالیت AST سرم یا پلاسما در پرندگان، در موارد صدمه شدید کبدی یا صدمه عضلانی افزایش می‌یابد. برای تفکیک این دو از هم از اندازه‌گیری فعالیت کراتین کیناز استفاده می‌کنیم. کراتین فسفو کیناز (CPK) آنزیم اختصاصی فعالیت عضلانی پرندگان است. در صورتی‌که AST افزایش یابد اما CPK طبیعی باشد، بیماری هپاتوسلولار در پرندگان محتمل است. در صورتی‌که صدمه شدید عضلات اسکلتی باشد، افزایش AST به طور متوسط و افزایش قابل توجه CPK مشاهده می‌شود (۲۲).

در بررسی حاضر میزان فعالیت هر دو آنزیم AST و CPK در گروه ۹۰۰ PPm نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری را نشان می‌دهد. بنابراین افزایش فعالیت AST ناشی از تاثیرات سوء سم بر روی عضلات می‌باشد، که در طی ۷ روز در جوجه‌های مسموم ایجاد شده است. می‌دانیم که لیندین با مهار جریان فعال کلراید از طریق مهار گابا (GABA) در اعصاب و عضلات بر روی این دو عضو تاثیر می‌گذارد. محققین معتقدند که کاربرد طولانی مدت لیندین باعث کاهش توانائی عضله قلب می‌شود و از این طریق بر غشاءهای تحریک پذیر و سیستم قلبی- عروقی اثر می‌گذارد (۶،۱۴).

غلظت پروتئین‌های سرم در حالت طبیعی در پرندگان کمتر از پستانداران است. پروتئین تام مجموعه‌ای از آلبومین و گلوبولین‌ها می‌باشد. آلبومین تقریباً ۴۰ تا ۵۰ درصد از پروتئین‌های سرم را در پرندگان تشکیل می‌دهد. آلبومین به‌طور عمده به‌وسیله کبد تولید می‌شود. کبد تولید کننده برخی از گلوبولین‌ها نیز می‌باشد. در بیماری‌های شدید کبدی هیپوپروتئینمی و هیپوآلبومینیمی به دلیل کاهش تولید آلبومین واقع می‌شود. افزایش پروتئین‌ها نیز اکثرا ناشی از افزایش گلوبولین‌هاست و معمولاً به دنبال دهیدراتاسیون، حالت‌های التهابی حاد و مزمن کبدی واقع می‌شود (۲۲). در بررسی حاضر، اندازه‌گیری پارامترهای پروتئینی نشان داد که ضایعات کبدی شدیدی به وجود نیامده است زیرا که تغییر معنی‌داری در مقادیر پروتئین تام، آلبومین و گلوبولین‌ها مشاهده نشد. می‌دانیم که کبد عضو بسیار فعال و با کارکردهای بسیار متفاوتی است و در صورتی‌که بخش اعظمی از آن از بین رفته باشد و یا نارسایی شدید کبدی وجود داشته باشد، پارامترهای فوق غیرطبیعی می‌شود. البته باید به خاطر داشته باشیم که برای ارزیابی بهتر کبد همان‌گونه که قبلاً نیز آمد، می‌بایست از اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های اختصاصی کبد پرندگان یعنی سوربیتول دهیدروژناز و گلوتامات دهیدروژناز استفاده نمود که در این صورت شاید بتوان آسیب‌های جزیی را نیز تشخیص داد (۲۲).

بیماری‌ها و مواد شیمیایی از عوامل ایجاد کننده استرس اکسیداتیو می‌باشند (۷). به هنگام استرس اکسیداتیو و ایجاد رادیکال‌های آزاد در بدن ممکن است چربی‌ها تحت تاثیر قرار گیرند و لیپید پراکسیداسیون واقع شود (۷،۸) در حقیقت چربی‌های غشاء سلولی به‌عنوان یک هدف که به راحتی در دسترس می‌باشند برای رادیکال‌های آزاد محسوب می‌شوند (۱).

لیپیدها در کبد و روده سنتز می‌شوند و از آن جا به بافت‌های مختلف جهت فعالیت متابولیکی حمل می‌شوند. به‌علت آن‌که لیپیدها محلول نیستند، بنابراین جهت نقل و انتقال در پلاسما با اتصال به برخی پروتئین‌ها به صورت لیپوپروتئین‌های قابل حمل در می‌آیند.

لیپوپروتئین‌ها از نظر ساختمانی و تفاوت در دانسیته شان به طور عمده به انواع مختلفی از جمله شیلومیکرون‌ها، لیپو پروتئین‌های با دانسیته خیلی پائین (VLDL)، لیپوپروتئین‌های با دانسیته پائین (LDL) و لیپو پروتئین‌ها با دانسیته بالا (HDL) تقسیم می‌شوند(۴). کلسترول و تری گلیسرید از اجزا اصلی سازنده لیپوپروتئین‌ها هستند و به هنگام لیپید پراکسیداسیون ساختار اصلی لیپوپروتئین‌ها ممکن است تحت تأثیر قرار گیرند و در نتیجه مقادیر پارامترهای مذکور به ویژه کلسترول در خون تغییر یابد (۱،۷). از طرف دیگر مشخص شده است که وقتی آنتی اکسیدان‌های LDL (همانند بتاکاروتن) به‌طور کامل مورد استفاده قرار می‌گیرند، پراکسیداسیون چربی‌ها تسریع شده و پس از چند ساعت موادی به وجود می‌آید که برای سلول‌ها توکسیک بوده و به دنبال آن آسیب بافتی بوجود می‌آید. بنابراین اندازه‌گیری لیپید پراکسیداسیون ممکن است یک شاخص عالی برای ارزیابی صدمه بافتی باشد (۷). به نظر آمده در ارزیابی سمی مانند لیندین که چربی دوست است، اندازه‌گیری لیپید پراکسیداسیون می‌تواند شاخصی برای ارزیابی صدمات بافتی باشد.

مهم‌ترین و اصلی‌ترین شاخص بررسی پراکسیداسیون چربی‌ها سنجش آلدئیدها مانند مالون دی آلدهید(MDA) که محصول نهایی، مشترک وعمده حاصل از پراکسیداسیون لیپیدهاست، می‌باشد و به‌وسیله واکنش با تیوباربیتوریک اسید (TBARS) شناخته می‌شود(۶).

محققین مختلف در ارتباط با ارزیابی لیپید پراکسیداسیون و استرس اکسیداتیو به نتایج متفاوتی در مسمومیت با لیندین دست یافتند. مطالعات Bainy و همکاران در زمینه آثار تفریقی تجویز کوتاه مدت لیندین در پارامترهای مرتبط با استرس اکسیداتیو در کبد و اریتروسیت رت، نشان داد که تجویز لیندین از نظر کمی سبب تغییر مهمی در وضعیت پروکسیدانت ــ آنتی اکسیدانت اریتروسیت نمی‌شود ولی احتمال تأثیر سم روی خون‌سازی وجود دارد (۷).

Arisi و همکاران در سال ۱۹۹۴ به بررسی سطح لیپید پراکسیداسیون با استفاده از واکنش تیوباربیتوریک در موش‌هایی که ۱۰۰۰ ppm لیندین را در طی ۹۰ روز در جیره غذایی دریافت کردند مورد بررسی قرار داردند. با آن‌که در موش‌ها حالات تشنجی مشاهده شد، اما واکنش تیوباربیتوریک و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در مغز (مانند سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز، گلوتاتیون ردوکتاز و گلوکز ۶ فسفات دهیدروژناز) تغییری نیافته. در حالی‌که گلوتاتیون مغز کاهش نشان داد (۳).

Junqueiria و همکاران طی مطالعاتی در سال ۱۹۸۶ به تحقیق در زمینه اثر تجویز حاد لیندین روی تولید آنیون سوپراکسید در کبد رت، فعالیت آنزیمی و لیپید پراکسیداسیون پرداختند. این مطالعات نشان داد که یک ارتباط بین افزایش تشکیل رادیکال‌های سوپراکسید با القاء سیتوکروم P450 (به طور ثانویه) و افزایش لیپید پراکسیداسیون وجود دارد. کاهش در فعالیت SOD و فعالیت کاتالاز احتمالاً به افزایش سطح لیپید پراکسیداسیون مربوط می‌شود(۱۱).

در تحقیق حاضر افزایش TBARS سرم گروه‌های مسموم شده با لیندین به ویژه گروه ۴ نسبت به گروه کنترل مشاهده می‌شود، ولی این تغییرات معنی‌دار نیست . هرچند که اندازه‌گیری لیپید پراکسیداسیون شاخصی برای ارزیابی صدمات بافتی است (۷)، اما به نظر آمده که جهت ارزیابی صدمات بافت‌های مختلف فقط اندازه‌گیری TBARS سرم کافی نیست؛ زیرا که در تحقیق حاضر علی رغم صدمات کلیوی و عضلانی، TBARs سرم افزایش معنی‌داری نیافته است.

کبد عضو سنتزکننده و کنترل کننده دفع کلسترول است. در پرندگان افزایش غلظت آن در بیماری‌های کبدی مشاهده می‌گردد. هیپوکلسترولمی در مراحل انتهایی بیماری‌های کبدی و سوءهضم و سوءجذب یا گرسنگی مشاهده می‌شود. از طرفی هپاتوسیت‌ها توانایی سنتز تری گلیسریدها را نیز دارندو در نکروزهای کبدی، تری گلیسریدها افزایش می‌یابد.در بررسی ما تغییر معنی‌داری در مقادیر کلسترول و تری‌گلیسرید و لیپوپروتئین‌ها مشاهده نشد(۲۲).

کارتنوئیدها از آنتی اکسیدان‌های غیر آنزیمی هستند. بتا کاروتن از کارتنوئیدهای مهم است. بتاکاروتن علاوه بر نقش خود به‌عنوان پیش ساز ویتامین A به طور مستقیم هم نقش آنتی‌اکسیدانی دارد. هر ملکول بتا کاروتن می‌تواند ۱۰۰۰ مولکول رادیکال آزاد را به دام بیاندازد و یا از تولید آن جلوگیری می‌کند. این موضوع می‌تواند نقش بتا کاروتن را در پیشگیری از بیماری‌هایی همانند مشکلات قلبی عروقی وسرطان را توضیح دهد. مکانیسم عمل بتا کاروتن بدین‌گونه است که با به دام انداختن رادیکال‌هایی مثل پراکسیل و اکسیژن منفرد سبب قطع زنجیره لیپید پراکسیداسیون می‌گردد. نقش آنتی اکسیدانی بتا کاروتن در غشاهای زیستی بارز است. ویتامین A خود نیز نقش آنتی اکسیدانی دارد (۷).

در صورتی‌که بخواهیم کمبود واقعی ویتامین A را ارزیابی کنیم می‌بایست ویتامین A کبد را اندازه‌گیری کنیم. با آن‌که اثر ویتامین A بر فعالیت کبدی کاملاً مشخص نیست، اما محققین معتقدند که هیپو ویتامینوز A ممکن است باعث کاهش فعالیت کبدی نیز بشود. کمبود ویتامین A متابولیسم لیپیدی را در اولین مراحل رشد موش‌ها تغییر داده. از طرف دیگر Oka و همکاران در سال ۱۹۹۸ نشان دادند که ویتامین A سرم در ایجاد کیفیت بالاتر گوشت گاو بدون این‌که چربی زیر پوستی افزایش یابد، موثر است(۱۶).

Vavrovam و همکاران در سال ۱۹۷۶ به تحقیق در زمینه باقیمانده هیدروکربن‌های کلرینه (لیندین، DDT و متوکسی کلر) در مواد غذایی با منشأ حیوانی و اثر آن بر خواص کیفی گوشت طیور پرداختند. آن‌ها با تجویز محلول‌های خوراکی با مقادیر متفاوت لیندین تا ۲۵ درصد کاهش در سطح ویتامین A در کبد را گزارش نموده‌اند. ولی Naber و همکاران چنین اثری را فقط در مواجهه با ددت و دیلدرین اعلام نموده‌اند و در ارتباط با لیندین هیچ‌گونه تغییری را مشاهده نکردند(۱۵).

در تحقیق حاضر کاهش بتاکاروتن سرم و کبد گروه‌های مسموم شده با لیندین به ویژه گروه ۴ نسبت به گروه کنترل مشاهده می‌شود ولی این تغییرات معنی‌دار نیست.

همان‌گونه که قبلا نیز ذکر گردید، به نظر آمده که سمیت لیندین با مدت مواجهه آن افزایش می‌یابد. بنابراین احتمالاً در صورتی که طول دوره مسمومیت بیش از ۷ روز طول می‌کشید بدین‌معنی که دوره مواجهه جوجه‌ها با دوزهای مختلف لیندین افزایش می‌یافت، موارد ذکر شده در بالا به صورت معنی‌دار در می‌آمد. البته این مطلب نیاز به تحقیقات بیشتر دارد.

بنابراین پیشنهاد می‌گردد که جهت ارزیابی اثرات توکسیک کوتاه مدت لیندین، آزمایشات کلیوی به ویژه اسید اوریک و آزمایشات عضلانی به ویژه AST به همراه CPK صورت گیرد. در این رابطه در نظر گرفتن وزن جوجه‌ها از اهمیت خاصی برخوردار است. البته باید در نظر داشته باشیم که جوجه‌های گوشتی مسموم شده با ۱۵۰ و ۳۰۰ ppm لیندین در طی ۷ روز ،هیچ‌گونه تغییری از نظر پارامترهای بیوشیمیایی ذکر شده و لیپید پراکسیداسیون و حتی کاهش وزن را نشان ندادند . تنها افزایش اسید اوریک سرم در گروه‌های مذکور نشان دهنده آن است که طیور تحت تاثیر سم قرار گرفته‌اند.

References

1. Abdollahi, M., Ranjbar, A., Shadnia, S., Nikfar, S., Rezaie, A. (2004) Pesticides and oxidative stress: A review. Med. Sci. Monit. 10: 141-147.
2. Amoah, P., Drechsel, P., Abaidoo, R. C., Ntow, W. J. (2006) Pesticide and pathogen contamination of vegetables in Ghana's urban markets. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 50:1-6.
3. Arisi, A. C. M., simizu, K., Kogake, M., Bainy, A. C. D., Silva, M. A. S., Barros, S. B., Boveris, A., Videla, L. A., Junqueira, V. B. (1994) Brain and liver lipid peroxidation level following acute and short term lindane administration in the rat. Toxicol. letter. 74:61-68.
4. Burtis, C. A., Ashwood, E. R., Bruns, D. E. (2006) Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics. (4th ed.) Elsevier Saunders, Missouri, USA.
5. European Food Safety Authority (2005) Opinion of the scientific panel on contaminants in the food chain on a request from the commission related to Gamma - HCH and other Hexachlorohexanes as undesirable substances in animal feed. EFSA J. 250:1-39.
6. Gupta, R. C. (2007) Vetrinary Toxicology Basic and Clinical Principle. Elsevier, Paris, France.
7. Gutteridge, J. M. C. (1995) Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. Clin. Chem. 41:1819-1828.
8. Halliwell, B., Gutteridge, J. M. C. (1984) Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. Biochem. J. 219:1-14.
9. Hill, E. F. Camardese, M. B. (1986) Lethal Dietary Toxicities of Environmental Contaminants and Pesticides to Coturnix. Fish and Wildlife Service, Washington, USA.
10. Jevsnik, M., Flajs, V. C., Doganoc, D. Z. (2004) Evidence of organochlorine pesticide and polychlorinated biphenyl residues in Slovenian poultry tissue from 1997 to 1999. J. Food Prot. 67: 2326-2331.
11. Junqueira, V. B. C., Simizu, K.V., Dela, L. A., Barros, S. B. M. (1986) Dose dependent study of the effects

of acute lindane administration on rat liver superoxide anion production, antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation. Toxicology. 41:193-204.

12. Junqueira, V. B. C., Koch, O. R., Arisi, A. C. M., Fuzaro, A. P., Azzalis, L. A., Barros, S. B. M., Cravero, A., Farre, S., Videla, L. A. (1997) Regression of morphological alterations and oxidative stress-related parameters after acute lindane-induced hepatotoxicity in rats. Toxicology. 117:199-205.
13. Mandal, A., Sampa, C., Pulak, L. (1986) Hematological changes produced by lindane(gama-HCH) in six species of birds. Toxicology. 40: 103-111.
14. Marrs, T. C., Ballantyne, B. (2004) Pesticide toxicology and international regulation. John Wiley and Sons, Weintiem, Germany.
15. Naber, E. C. (1977) The impact of contamination by organochlorine insecticides on poultry nutrition and feeding. Fed. Proc. 36:1880-1887.
16. Oka, A., Maruo, Y., Miki, K., Yamasaki, T., Saito, T. (1998) Influence of vitamine A on the quality of beef from the Tajima strain of Japanese Black Cattle. Meat Sci. 48:159-167.
17. Pius, J., Shivanandappa, T., Krishnakumari, M. K. (1990) protective role of vitamin A in the male reproductive toxicity of hexachlorocyclohexane (HCH) in the rat. Reprod. Toxicol. 4:325-330.
18. Podstawka, U., Grabarczyk, M., Kopec-Szlezak, J. (1991) Vitamin E protects human leucocytes against toxic effects of lindane in vitro. Mater. Med. Pol. 23:285-289.
19. Prasad, S., Soni, G. (2005) Oral toxicity of lindane (gamma -HCH) as a function of duration of exposure in rats: Biochemical effects. Int. Toxicol. 12:17.23.
20. Roder, J. D. (2001) Veterinary Toxicology. Butter, Worth Heinmann, Boston, USA.
21. Suzuki, J., Katoh, N. (1990) A simple and cheep method for measuring serum vitamin A in cattle, using only a spectrophotometer. Jpn. J. Vet. Sci. 52:1281-1283.
22. Thrall, A. M. (2004) "Veterinary Hematology and Clinical Chemistry". Lippincott Williams & Wilkins, London, UK.
23. Varshneya, C., Bahga, H. S., Sharma, L. D. (1988) Effects of insecticides on humoral immune response in cockerels. Br. Vet. J. 144:610-612.
24. White Head, C. C., Dowing, A. G., Pettigrew, R. J. (1972) The effects of lindane on laying hens. Br. Poult. Sci. 13:293-299.

J.Vet.Res. 66,1:1-7,2011

CHANGES OF SERUM BIOCHEMISTRY IN SHORT TERM TOXICITY WITH LINDANE PESTICIDE IN BROILER CHICKENS

khaki, Z.[*1], Salar Amoli, J.[2], Lesan, V.[3], Ail Esfahani, T.[2]

[1]*Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine , University of Tehran,Tehran- Iran.*

[2]*Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine , University of Tehran,Tehran- Iran.*

[3]*Gratuated from the Faculty of Veterinary Medicine , University of Tehran,Tehran- Iran.*

(Received 10 August 2009 , Accepted 24 April 2010)

Abstract:

Lindane is highly lipid soluble toxin and persist in the environment, Its bioaccumulation occurs in the food chain from the environment to animals and humans. In order to evaluate the effects of high doses of lindane on the weight and serum biochemical parameters, twenty five old Ross broiler chicks (30day) were divided into control and 4 treatment groups of 5 chickens each. The chickens of control group didn't receive any toxin but the other groups received diets containing 150, 300, 600 and 900 ppm, lindane respectively. At the end of seventh day, animals were weighed and exsanguinated. Liver and blood samples were collected. The chicken weight decreased significantly in response to 600 and 900 ppm lindane compared to control, 150 and 300 ppm groups. The kidneys were affected in all groups compared to the control. Serum uric acid increased significantly. Although malfunction of kidneys were more severe in 900ppm than the other groups. In 900ppm group increased activity of AST were significant comparing to control and another groups ($p<0.05$). Comparing to control and all groups the activity of CPK in the 900ppm increased significantly ($p<0.05$). The other parameters in seum such as total protein, albumin and globulin, triglyceride, cholesterol, LDL-cholesterol,HDL- cholesterol and VLDL, Index of lipid peroxidation by TBARs method and also beta carotene and vitamine A in serum and liver were not significant. So for evaluating of toxic effects of short term lindane administration, initially suggest that measure kidneys test (specially uric acid) and muscle test (specially AST and CPK) and should be not that the weight measuring is very important

Key words: lindane, biochemistry, lipid peroxidation, AST, Uric acid, chicken.

***Corresponding author's email: zkhaki@chamran.ut.ac.ir, Tel: 021-61117132, Fax: 021-66933222**