مجله تحقیقات دامپزشکی، ۱۳۹۰، دوره ۶۶، شماره ۲، ۱۱۲-۱۰۳

مطالعه ریزبینی تغییرات بافتی وکلینیکال پاتولوژی اعضاء مختلف خرگوش در اثر تماس جلدی با سم دیازینون

امیرعلی صولتی[۱] عباس توسلی[۱*] محمد کاظم کوهی[۲] سیدحسن مرجانمهر[۱] امید علی نکویی جهرمی[۳]

۱) گروه پاتولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.

۲) گروه فارماکولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.

۳) گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.

(دریافت مقاله: ۵ خرداد ماه ۱۳۸۹، پذیرش نهایی: ۱۳ مهر ماه ۱۳۸۹)

چکیده

دیازینون از جمله سموم ارگانوفسفره است که به طور گسترده‌ای در صنعت کشاورزی و دامپروری مورد استفاده قرار می‌گیرد ولذا خطر آلودگی انسان به این سم وبروز مسمومیت وجود دارد. در این مطالعه تجربی علاوه بر بررسی تغییرات مرضی بافت‌های مختلف خرگوش که ناشی از تماس جلدی با سم دیازینون بوده است، تغیرات پارامترهای خونی و بیوشیمیایی نیز معین گردیده‌اند. خرگوش‌ها به دو گروه شش تایی، تیمار و شاهد تقسیم شدند که در گروه تیمار از غلظت‌های مختلف دیازینون و در گروه شاهد از حلال سم به مدت ۲۸ روز به روش تماس جلدی استفاده گردید. خونگیری جهت آزمایشات خونشناسی و بیوشیمیایی در روزهای ۰، ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ انجام شد. در پایان دوره بیست و هشت روزه خرگوش‌ها به روش انسانی معدوم گردیدند و پس از کالبدگشایی، نمونه‌های بافتی از ارگان‌های مورد نظر برداشت گردیده و مقاطع ۵ میکرونی به روش معمول H&E رنگ گردیدند و مورد مطالعه ریزبینی قرار گرفتند. تجزیه و تحلیل آماری در داده‌های به دست آمده از آزمایشات خونشناسی و بیوشیمیایی نشان داد که میزان گلبول‌های قرمز و سفید خون و هموگلوبین در گروه تیمار کاهش معنی‌داری ($p<0/05$) داشته و همچنین پروتئین تام و آلبومین در گروه سم از روند کاهشی معنی‌داری ($p<0/01$) برخوردار بوده‌اند. کلسترول و آنزیم‌های ALT AST، و ALP در گروه تیمار روند افزایشی معنی‌داری ($p<0/01$) داشتند. در گروه سم تغییرات آسیب شناسی بافتی مختلفی مشاهده گردید. نکروز نورون‌های عصبی و سلول‌های پورکنژ مخچه، پرخونی، خونریزی و التهاب در پارانشیم مغز و منتژموید از درگیری شدید اعصاب مرکزی بود. پنومونی بینابینی، آمفیزم و پرخونی در ریه‌ها، التهاب در معده و روده، نکروز لوله‌های ادراری بویژه پروگزیمال و کست هیالن در کلیه، نکروز اسپرماتوسیت‌ها و پرخونی در بیضه، نکروز و آتروفی سلول‌های عضلانی در قلب نشانه‌های بارز هیستولوژیک ناشی از مسمومیت بوده است، که نشان می‌داد تماس پوستی دیازینون علاوه بر ایجاد تغییرات شدید کلینیکال پاتولوژی، باعث آثار پاتولوژیک در ارگان‌های مختلف می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: پاتولوژی، دیازینون، تماس جلدی، پارامترهای خونی، پارامترهای بیوشیمیایی.

مقدمه

ارگانوفسفره به سمومی اطلاق می‌گردد که در ترکیب اصلی خود واجد فسفر هستند. این سموم از سال ۱۹۶۰ به بازارهای جهانی معرفی شدند و به‌علت این‌که بسیار قوی تر از سایر سموم مثل ارگانوکلره‌ها بودند در مدت کوتاهی جایگزین این سموم شدند اما به دلیل آلوده کردن محیط زیست و باقی ماندن بقایای این سموم در زنجیره غذایی، در سال ۱۹۷۰ استفاده از آنها در کشورهای توسعه یافته در برخی موارد ممنوع اعلام شد ولی مصرف این سموم کماکان در بسیاری از کشورها رایج می باشد (۲۳).

این سموم به عنوان حشره کش، قارچ کش و علف کش مورد مصرف قرار می‌گیرند و در سال‌های اخیر نیز برای از بین بردن انگل هایی نظیر آسکاریس‌ها و نماتودها در حیوانات اهلی از سموم ارگانوفسفره استفاده گردیده است (۲۳،۳۸،۴۴). ارگانوفسفره‌ها به طور موثری از طریق دستگاه گوارش، تنفس و نفوذ از راه پوست جذب بدن می‌گردند (۳۹) و با مهار نمودن فعالیت آنزیم استیل کولین استراز را در بافت هدف، باعث ایجاد مسمومیت جدی در فرد می گردد (۲۸).

دیازینون با فرمول شیمیایی [4-[2-isopropyl-6-metyhyl-0-o,o-Diethyl به عنوان یک سم ارگانوفسفره شناخته می شود (۱۲،۴۹).

از این سم به طور گسترده در برنامه‌های کشاورزی و باغبانی در جهت کنترل آفات و حشرات در محصولات زراعی، گیاهان زینتی، چمن، میوه و سبزیجات در سراسر جهان استفاده می‌گردد، همچنین برای سم پاشی ساختمان‌های مسکونی، کشاورزی و عمومی کاربرد فراوان دارد، شوینده‌های حاوی دیازینون برای کنترل انگل های خارجی گوسفند، گاو و سگ استفاده می شود (۱۳،۲۶،۳۷،۴۹).

استفاده بی رویه سموم ارگانوفسفره باعث آلودگی محیط زیست و وارد شدن این سموم به چرخه غذایی و آب‌های زیرزمینی شده که نتیجه آن ایجاد آثار توکسیک در بدن انسان می باشد. در فصول خشک که ریزش باران کم است، غلظت این سموم در طبیعت بیشتر شده و مخاطرات زیادی در پی دارد (۲).

دیازینون باعث چسبیدن آنالوگ های اکسیژن به آنزیم نورونی

*)نویسنده مسؤول: تلفن: ۶۱۱۱۷۰۶۰-۰۲۱، نمابر: ۶۶۹۳۳۲۲۲-۰۲۱ Email: atavasoli@ut.ac.ir

استیل کولین استراز می‌گردد بنابرین باعث عدم کارایی استیل کولین استراز و تجمع استیل کولین درون زاد در سلول‌های بافت عصبی و ارگان‌های مربوطه می‌شود، در نتیجه دپولاریزاسیون بیش از حد اعصاب و عضلات رخ می‌دهد (۳۱). به‌علاوه دیازینون بر روی حمل و نقل مواد از غشاء میتوکندری تاثیر می‌گذارد، فعالیت سیستم سیتوکروم P450 را در سلول‌های کبدی مختل می‌کند. و به‌علت حمله الکترونی به اجزای درون سلول تولید رادیکال آزاد می‌کند(۲۸،۳۵،۴۱).

در مطالعه ای که westerو همکاران در سال ۱۹۹۳ بر روی انسان انجام دادند جذب پوستی سم دیازینون را ۳۴ درصد دوز مصرفی اعلام نمودند(۴۶).

Garfitt و همکاران در سال ۲۰۰۲ دیازینون را به‌صورت جلدی در انسان‌های داوطلب استفاده نمودند ومتابولیت سم را از ادرار آنها جدا کردند(۱۳). و در تحقیقاتی که توسط Kalender و همکاران در سال ۲۰۰۵ انجام گرفت آثار پاتولوژیک متنوعی در کبد موش‌های صحرایی که با دیازینون مسموم شده بودند گزارش گردید (۲۶).

همواره نگرانی‌هایی در مورد آلودگی محیط زیست به سم دیازینون وخطرات بالقوه آن برای سلامتی انسان وجود داشته است، در بریتانیا گزارشات قابل توجهی در مورد خطرات مسمومیت با دیازینون در پرورش دهندگان گوسفند منتشر شده است که البته همه آنها اثبات نگردیده است(۱۳). ولی باتوجه به دلایل ذکر شده واین‌که همواره امکان تماس پوستی انسان با سموم وآلوده شدن تصادفی وجود دارد، در این تحقیق سم دیازینون به‌صورت تماس جلدی در خرگوش‌ها مورد استفاده قرار گرفت.

در ضمن در این مطالعه علاوه برآثار پاتولوژیک سم در ارگان‌های مختلف خرگوش، تغییرات پارامترهای خونی وبیوشیمیایی نیز مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد وروش کار

تعداد ۱۲ سرخرگوش نرسفید نیوزلندی باسن تقریبی ۶ماهه وباوزن تقریبی ۱۰۰± ۱۵۰۰گرم خریداری شدندودردوگروه شش تایی تحت شرایط استاندارد با درجه حرارت ۲۵ درجه سانتیگراد و دسترسی آزاد به آب و غذای تجاری و با رعایت یک دوره نور طبیعی نگهداری شدند.

گروه یک یا گروه شاهد، که فقط حلال سم را دریافت نمودند و گروه دوم یا گروه تیمار، که دوزهای مشخص سم دیازینون را به‌صورت تماس جلدی دریافت کردند. نحوه تجویز سم به‌صورت روزانه یک‌بار تماس جلدی سم به روش اسپری بر روی گوش‌ها به‌مدت ۴ هفته (۲۸ روز کامل) صورت گرفت.

غلظت‌های مورد نظر سم و زمان خون‌گیری: در این تحقیق از سم دیازینون خالص ۹۹ درصد که توسط گروه سم‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران تهیه شده بود، و از الکل اتیلیک ۹۹ درصد به‌عنوان حلال سم جهت تولید غلظت‌های مورد نظر سم استفاده گردید.

برای بررسی پارامترهای بیوشیمیای وخونی به ترتیب در روزهای ۷،۰، ۱۴،۲۱ و ۲۸ اقدام گردید. به‌طوری‌که روز صفر (قبل از شروع تجویز سم)، روز ۷ بعد از دریافت ۵۰ میلی‌گرم سم به ازای یک کیلوگرم وزن بدن خرگوش به مدت یک هفته، روز ۱۴ بعد از دریافت ۱۰۰ میلی‌گرم / کیلوگرم وزن بدن از سم به مدت یک هفته، روز ۲۱ بعد از دریافت ۲۵۰ میلی‌گرم / کیلوگرم وزن بدن از سم به مدت یک هفته ودر نهایت روز ۲۸ بعد از دریافت ۴۰۰ میلی‌گرم / کیلوگرم وزن بدن از سم به مدت یک هفته انجام گرفت، بدین صورت که هر بار خونگیری انجام شد و برای انجام آزمایشات خونشناسی وبیوشیمیایی آماده گردید.

آزمایشات خون‌شناسی و بیو شیمیایی خون: خونگیری توسط ست مخصوص خون‌گیری نوزادان از ورید کناری گوش، صورت گرفت. خون را به دو قسمت تقسیم کردیم بخشی به‌صورت هپارینه (ماده ضد انعقاد) و بخش دیگر بدون استفاده از ماده ضد انعقاد خون برای تهیه گسترش خونی در نظر گرفته شد. سپس تعداد گویچه‌های قرمز (RBC)، هماتوکریت (PCV)، تعداد گویچه‌های سفید (WBC)، هموگلوبین (HB)، میانگین حجم گویچه‌ها (MCV) و (MCHC) تعیین گردید. برای انجام مطالعات بیوشیمیایی، سرم خون را جدا نموده و با استفاده از کیت‌ها مخصوص ساخت شرکت زیست شیمی مقادیر آنزیم‌های متابولیکی شامل آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آلکالین فسفاتاز (ALP) و آسپارتات آمینو ترانسفراز (AST) آلبومین سرم، پروتئین تام، کلسترول تام وتری‌گلیسرید اندازه‌گیری شد ونتایج آن توسط نرم افزار SPSS آنالیز گردید.

مطالعه آسیب شناسی: ۲ تا از خرگوش‌های گروه تیمار قبل از اتمام دوره ۲۸ روزه یعنی روزهای ۲۲ و ۲۳ تلف گردیدند که بلافاصله کالبدگشایی شدند و تغییرات مرضی آنها ثبت گردید. باقیمانده گروه تیمار و حیوانات گروه شاهد در روز بیست وهشتم مورد کالبدگشایی قرار گرفتند و نمونه‌های بافتی نازک اخذ شده از ارگان‌های مختلف در فرمالین ۱۰ درصد با فر پایدار گردید و پس از تهیه مقاطع بافتی در گروه پاتولوژی دانشکده مورد آزمون هیستوپاتولوژی قرار گرفتند.

نتایج هیستوپاتولوژی: مقاطع بافتی تهیه شده از مغز، قلب، کلیه، طحال، ریه، کبد، بیضه، معده و روده که به روش معمول هماتوکسیلین وائوزین رنگ‌آمیزی شده بودند، مورد مطالعه ریزبینی قرار گرفتند. هیچ‌گونه ضایعه پاتولوژیک درگروه شاهد مشاهده نگردید. در گروه تیمار ضایعات پاتولوژیک متنوعی در ارگان‌های مختلف مشاهده شد، که شدیدترین ضایعات ابتدا در مغز وسپس در کلیه‌ها ثبت گردید. مهمترین ضایعه مغزی، آنسفالیت بود که به صورت تجمع آستین مانند سلول‌های تک هسته‌ای آماسی در فضای اطراف عروق خونی مغز مشاهده شد. درضمن گلیوز، نکروز سلول‌های پورکنژ در مخچه، مننژیت، پرخونی شدید عروق پارانشیم مغز و خونریزی در بطن‌های مغز مشاهده

گـردیـد. نفـروزدر کلیـه‌هـا بـه صـورت نکـروز انعقـادی لـولـه‌هـای ادراری بـه‌خـصـوص در قسمت پروگزیمال واضح بود. آثار نکروز در هسته بیشتر سلـول‌هـا بـه صـورت پـیـکـنـوز بود و در تعدادی نیز مرحله نابودی هسته مشاهده گردید و هیپرپلازی مختصری در لوله‌های ادراری دیده شد.

ضایعات پاتولوژیک کبد شامل نکروز هپاتوسیت‌ها در اطراف فضای پـورت (سلـول‌هـای نـکـروز شـده کـبـدی در مـرحـلـه نـابـودی هـسـته قـرار داشـتـنـد)، پـرخـونـی در عـروق تـریـاد و وریـد مـرکـزی و تـغـییـر چربی در هـپـاتـوسـیـت‌هـا بـود. در مـطالعه بافت ریه، نفوذ سلول‌های آماسی تک هسته‌ای بویژه لنفوسیت و ماکروفاژبین آلوئول‌های ریوی همراه با نکروز پـنـومـوسـیـت تـیـپ یـک وتکثیر پنوموسیت‌های تیپ دو، حکایت از یک پـنـومـونـی بینابینی می‌نمود. در ضمن مختصری اکسودای فیبرینی در داخـل آلـوئـول‌هـای ریـوی هـمـراه بـا آمفیزم و تخریب دیواره کیسه‌های هوایی، آتلکتازی، اپیتلیالیزیشن مشاهده گردید و در قلب پرخونی شدید، خـونـریـزی، نـکـروز زنـکـر سـلـول‌های عضلانی قلب و آتروفی تعدادی از رشته‌های عضلانی مشخص گردید.

در مـشـاهـدات مـیـکـروسـکـوپـی از دستگاه گوارش در معده حکایت از نکروز سلول‌های پاریتال و در روره التهاب به‌صورت نفوذ سلول‌های آماسی تک هسته‌ای به لایه زیر مخاط و نکروز سلول‌های مخاطی روده مشاهده گردید. ضایعات بیضه‌ها شامل پرخونی به‌ویژه نکروز اسپرماتوسیت‌های اولیه و ثانویه و نکروز تعدادی از سلول‌های بافت بینابینی بیضه بود.

نـتـایـج کـلـیـنـیـکـال پاتولوژی: یافته‌های به‌دست آمده از پارامترهای خـونـی و بیوشیمیایی دو گروه شاهد و تیمارکه در روزهای ۰، ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ به‌دست آمده‌اند، با نرم افزار SPSS و آزمون T-Test با هم مقایسه گردیدند. هیچ اختلاف آماری معنی‌داری بین دو گروه در روز صفر مشاهده نشد و در روز هفتم نیز آزمون نامبرده تکرار شد که تنها در مورد دو پارامتر Tp و ALb اختلاف معنی‌دار ($p<0/05$) محاسبه شد و بقیه شاخص‌های مورد آزمایش اخـتـلاف مـعـنـی‌داری نـشـان نـدادنـد. در مـورد نتایج و آزمون‌های آماری مـخـتـلـف کـه در روزهـای چهاردهم، بیست و یکم و بیست و هشتم انجام پذیرفت نکات ذیل قابل توجه و استناد است:

۱) در روز چهاردهم خونگیری، مطابق با جدول ۱ اکثر پارامترهای خونی و بـیـوشـیـمـیـایـی مورد سنجش اختلاف آماری معنی‌داری نشان می‌دادند. به‌طوری‌که مقایسه گروه شاهد و گروه سم نشان دهنده کاهش معنی‌داری ($p<0/05$) در میزان گلبول‌های قرمز (RBC)، گلبول‌های سفید (WBC) و هموگلوبین (Hb) بود، هماتوکریت (Hct) در سطح ($p<0/01$) کاهش پیدا کـرده بـود و MCV افـزایـش مـعـنـی‌دار داشـت. در مـورد پـارامـتـرهـای بـیـوشـیـمـیـایـی سنجش شـده در گـروه تـیـمـار، آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) و کلسترول تام در سطح ($p<0/05$) و آلکالین فسفاتاز (ALP) در سطح ($p<0/01$) افزایش داشتند. آلبومین (ALb) و پروتئین تام در گروه سم بـه‌طـور معـنـی‌داری ($p<0/01$) کـاهـش یـافـتـه بـودنـد. پـارامـتـرهـای تری‌گلیسرید و آلانین آمینوترانسفراز (ALT) افزایش داشتند که از لحاظ آماری معنی‌دار نبود.

۲) در روز بیست ویکم، با توجه به افزایش غلظت و مدت زمانی که خرگوش‌ها در معرض سم بودند، پارامترهای مورد سنجش در گروه تیمار به شدت تحت تاثیر سم قرار گرفته بودند و همان‌طور که در جدول ۱ نشان داده شـده Hb,Hct ,RBC,WBC، آلبـومـیـن و پـروتـئـیـن تام در گروه سم دیـازیـنـون کـاهـش مـعـنـی‌دار در سـطـح ($p<0/01$) داشتند و از طرفی AST,ALT,ALP افزایش معنی دار در سطح ($p<0/01$) داشتند.

۳) در روزهـای بـیـسـت و دوم و بیست و سوم، دو مورد تلفات در گروه تـیـمـار رخ داد، که باعث شد تعداد گروه تیمار کمتر از گروه شاهد گردد. بـه‌هـمـیـن علت آزمـون آنـالیز واریانس برای سنجش‌های تکراری که در جداول ۲ و ۳ آمده است تا روز بیست ویکم انجام شده است (به دلیل تعداد نمونه برابر). آزمون T-Test در روز بیست و هشتم بین گروه شاهد و تیمار صـورت گـرفـت کـه نـتـایج نشان داد تمامی پارامترهای مورد آزمایش بجز تری‌گلیسرید اختلافات معنی‌داری داشتند.

۴) هـمـان‌طـور کـه در جـداول ۲ و ۳ آمـده است آزمون آنالیز واریانس سنجش‌های تکراری برای فاکتورهای خونی و بیوشیمیایی محاسبه شده است که نشان می‌دهد: روند تغییرات میانگین‌ها در طی سنجش‌ها از روز ۰ تا ۲۱ در مورد فاکتورهای ALb, ALP ,TP, Hct, MCV, RBC, Hb ,AST مـعـنـی‌دار و بـسـیـار مـعـنـی‌دار (طبق جدول) می‌باشد و تفاوت تغییرات میانگین‌ها بین گروه شاهد و تیمار در طی سنجش‌ها در مورد فاکتورهای ALP, ALb , AST ,WBC , Hb و پروتئین تام معنی‌دار و بسیار معنی‌دار می‌باشد.

بحث

کـلـیـنـیـکـال پـاتـولـوژی: مسمومیت با سموم ارگانوفسفره در حیوانات آزمایشگاهی سبب تغییرات قابل اندازه‌گیری در پارامترهای بیوشیمیایی و خـونـی آنـهـا مـی‌شـود(۲). دیـازیـنـون بـه‌آسانی از طریق پوست و دستگاه گوارش جذب شده و در ظرف چند ساعت متابولیزه شده و اثرات سمی خود را در ارگـان‌هـای هدف اعمال می‌کند. LD50 تماس جلدی دیازینون در خرگوش ۳۶۰۰ mg/kg می‌باشد(۲۹).

سـمـوم ارگـانـوفـسـفـره از جـمـلـه دیـازیـنـون باعث تولید رادیکال آزاد در سلول می‌گردند و به علت تولید این رادیکال‌های آزاد تغییرات ساختمانی در پـروتـئـین‌های سلول و همچنین پراکسیداسیون چربی‌های غیر اشباع داخل سلول را باعث می‌گردد، که عوارض آن می تواند نکروز سلول و حتی تغییرات نئوپلاستیک را سبب شـود(۱۸). که تحقیقات Vidyasagar و همکاران در سال ۲۰۰۴ این یافته را تایید می‌کند(۴۵). بسیاری از این سموم بـاعـث کاهش تولید پروتئین‌ها و تخریب چربی‌ها می‌شوند(۵،۱۸). البته بعضی از سموم ارگانوفسفره متابولیسم پروتئین‌ها را افزایش می‌دهند (۲۴). Ashgar و هـمـکـاران در سـال ۱۹۹۴ در مـطـالـعـات خـود کـاهـش مـتـابـولـیـسـم پـروتـئـین را متعاقب مسمومیت با سموم ارگانوفسفره بیان

جدول ۱- توزیع سنجش میانگین (Mean±SD) فاکتورهای مختلف مورد مطالعه در روزهای ۱۴ و ۲۱ به تفکیک دو گروه تیمار و شاهد و مقدار P مربوط به اختلاف بین این گروه‌ها (براساس انجام آزمون T برای نمونه‌های مستقل). *: P-valueهای حاکی از تفاوت معنی دار (در سطح معنی‌داری ۰/۰۵>p).

فاکتور	توزیع سنجش‌ها	روز ۱۴ (Mean±SD)		روز ۲۱ (Mean±SD)*	
		گروه تیمار	گروه شاهد	گروه تیمار	گروه شاهد
هماتولوژی	RBC(10^6/mm^3)	۳/۷۷±۰/۶۷*	۴/۷۸±۰/۵۲	۴/۱۲±۰/۲۴*	۵/۱۶±۰/۸۳
	WBC(10^3/mm^3)	۶/۶۴±۲/۱۴*	۱۳/۳۰±۵/۷۱	۹/۴۸±۲/۳۹**	۱۶/۳۰±۰/۰۰
	Hb(mg/dl)	۹/۲۶±۱/۲۷*	۱۱/۳۳±۱/۲۱	۱۰/۴۴±۰/۳۷**	۱۲/۳۳±۰/۵۱
	Hct(%)	۲۷/۴±۴/۵۱**	۳۶/۶۶±۳/۵۵	۳۳/۸۰±۲/۰۵**	۴۰/۶۶±۳/۲۰
	MCV(fl)	۷۳/۴±۲/۰۷*	۷۷/۱۶±۲/۷۱	۸۳/۴۰±۵/۰۳	۷۵/۶۶±۱/۹۶
	MCHC(%)	۳۳/۲۰±۱/۴۸	۳۱/۱۶±۱/۶۰	۳۰/۰۰±۱/۸۷	۳۰/۵۰±۱/۸۷
بیوشیمیایی	AST(Iu/1)	۱/۰۶±۱۹/۸۰*	۷۸/۰۰±۲۰/۴۴	۱/۱۹±۱۹/۳۵**	۷۵/۱۶±۱۳/۷۳
	ALT(Iu/1)	۷۸/۲۰±۳۲/۶۹	۸۷/۸۳±۲۵/۲۷	۹۸/۸۰±۷۱۶/۹۳*	۷۱/۳۳±۱۰/۴۰
	Alb(g/dl)	۲/۹۰±۰/۲۴**	۳/۶۸±۰/۲۴	۲/۴۰±۰/۲۵**	۳/۴۱±۰/۵۵
	ALP(Iu/1)	۴/۰۵±۲۶/۹۳**	۲/۷۳±۵۴/۵۶	۴/۸۱±۸۷/۶۰**	۲/۳۴±۸۳/۵۶
	TG(mg/dl)	۵۸/۶۰±۸/۶۴	۱/۲۰±۷۴/۵۷	۱/۰۶±۵۹/۳۸	۶۵/۲۰±۲۲/۴۵
	CHO(mg/dl)	۹۸/۰۰±۱۴/۳۵*	۵۹/۰±۶۲۳/۱۱	۱/۳۳±۱۸/۹۸	۱/۲۷±۴۹/۲۴
	TP(g/dl)	۴/۸۴±۰/۱۸**	۶/۵۶±۰/۴۰	۴/۲۲±۰/۱۴**	۶/۷±۵۰/۴۷

جدول ۲- توزیع سنجش میانگین(انحراف معیار± میانگین) فاکتورهای خونی (بر اساس واحدهای اندازه‌گیری مربوطه) اندازه‌گیری شده در این مطالعه بر حسب روزهای مختلف سنجش(افزایش پله‌ای دز تجمعی) در گروه‌های تیمار و مقدار P مربوط به روند افزایش دز دیازینون در گروه‌های مورد آزمایش و اختلاف بین گروه‌های تیمار و شاهد‌های آنها بر حسب همین فاکتورهای خونی (روزهای ۰ تا ۲۱). P-value.1|های ذکر شده بر اساس آزمون آنالیز واریانس برای سنجش‌های تکراری حاصل آمده‌اند. اختلافات معنی دار (در سطح معنی داری ۰/۰۵>p) با علامت ستاره * مشخص شده‌اند.

فاکتورهای خونی (واحد سنجش) / توزیع سنجش‌ها (Mean ± SD)	RBC 10^6/mm^3	WBC 10^3/mm^3	Hb mg/dl	Hct (٪)	MCV fl	MCHC (٪)
روز صفر	۴/۶۷±۱/۴۶	۱۱/۵۸±۴/۴۹	۱۰/۳۳±۳/۴۴	۳۴/۸۳±۱۰/۸۷	۷۶/۰۰±۲/۱۹	۳۰/۰۰±۱/۷۹
روز ۷	۵/۳۰±۰/۷۱	۹/۷۸±۵/۷۷	۱۲/۰۰±۱/۲۲	۴۰/۰۰±۴/۴۲	۷۵/۶۰±۲/۱۹	۳۰/۶۰±۱/۶۷
روز ۱۴	۳/۷۷±۰/۶۷	۶/۶۴±۲/۱۴	۹/۲۶±۱/۲۷	۲۷/۴۰±۴/۵۱	۷۳/۴۰±۲/۰۷	۳۳/۲۰±۱/۴۸
روز ۲۱	۴/۱۲±۰/۲۴	۹/۴۸±۲/۳۹	۱۰/۴۴±۰/۳۷	۳۳/۸۰±۲/۰۵	۸۳/۴۰±۵/۰۳	۳۰/۰۰±۱/۸۷
روز ۲۸	۴/۷۵±۰/۰۶	۹/۵۰±۱/۹۵	۱۱/۰۰±۱/۰۰	۳۸/۶۷±۰/۵۸	۸۲/۰۰±۲/۰۰	۲۹/۰۰±۱/۷۳
مقدار P(برای روند افزایش دز تجمعی در گروه‌های مورد آزمایش)	۰/۰۰۲*	۰/۴۱۹	۰/۰۰۱*	۰/۰۰۱*	۰/۰۱۱*	۰/۰۷۴
مقدار P(برای اختلاف بین گروه‌های تیمار و شاهد)	۰/۰۷۴	۰/۰۶۱	۰/۰۰۹*	۰/۰۲۳*	۰/۰۶۴	۰/۴۰۷

کرده‌اند(۴). در تحقیق حاضر نیز ما کاهش پروتئین تام وآلبومین (p<۰/۰۱) را در روزهای ۱۴و۲۱ مشاهده کردیم که با این نتایج هم خوانی کاملی دارد. یکی از علل تغییر چربی در کبد ونکروز سلول‌های کبدی همین پدیده می‌باشد و در این راستا Eissa وهمکاران در سال ۱۹۹۸ وBanerjee و همکاران در سال ۱۹۹۹ در بررسی‌های خود که بر روی موش و خرگوش انجام گرفت، این نتایج را تصدیق نموده‌اند(۵). Kalender وهمکاران در سال ۲۰۰۵ موش‌های صحرایی را در معرض سم دیازینون قرار دادند ودر نتایج هفته چهارم وهفتم کاهش معنی‌داری در پروتئین تام وآلبومین ذکر کرده‌اند وعلت این تغییرات را آسیب کبدی ذکر کرده‌اند. از آن جا که کبد سازنده آلبومین و تعدادی از پروتئین‌های خون می‌باشد پس آسیب‌های وارده به کبد در اثر مسمومیت با سم دیازینون می‌تواند منجر به کاهش آلبومین وپروتئین تام سرم شود(۲۶). در تحقیقات جدیدتری که توسط Yehia وهمکاران در سال ۲۰۰۶ بر روی خرگوش‌های مسموم با دیازینون انجام گرفته است نیز کاهش پروتئین تام و آلبومین

جدول ۳- توزیع سنجش میانگین (انحراف معیار ± میانگین) فاکتورهای بیوشیمیایی (بر اساس واحدهای اندازه‌گیری مربوطه) اندازه‌گیری شده در این مطالعه بر حسب روزهای مختلف سنجش (افزایش پله‌ای دز تجمعی) در گروه‌های تیمار و مقدار P مربوط به روند افزایش دز دیازینون در گروه‌های مورد آزمایش و اختلاف بین گروه‌های تیمار و شاهد‌های آن‌ها بر حسب همین فاکتورهای بیوشیمیایی (روزهای ۰ تا ۲۱). ۱. P-valueهای ذکر شده بر اساس آزمون آنالیز واریانس برای سنجش‌های تکراری حاصل آمده اند. اختلافات معنی دار (در سطح معنی داری $p<0/05$) با علامت ستاره *مشخص شده‌اند.

فاکتورهای بیوشیمیایی (واحد سنجش) / (Mean ± SD)	AST Iu/1	ALT Iu/1	Alb g/dl	ALP Iu/1	TG (mg/dl)	CHO (mg/dl)	TP (mg/dl)
روز صفر	۷۵/۰۰±۱۶/۱۶	۵۷/۶۷±۱۹/۰۱	۳/۷۱±۰/۳۹	۲/۹۸±۸۵/۵۳	۸۸/۳۳±۳۵/۴۶	۶۸/۷۱±۲۵/۲۳	۷/۱۵±۰/۶۷
روز ۷	۸۵/۳۳±۱۴/۰۵	۶۹/۴۰±۲۲/۸۴	۳/۲۵±۰/۲۵	۳/۵۶±۵۹/۳۴	۹۲/۰۰±۶۸/۶۲	۸۳/۴۶±۲۰/۴۰	۵/۹۰±۰/۵۳
روز ۱۴	۱/۰۶±۱۹/۸۰	۷۸/۲۰±۳۲/۶۹	۲/۹۰±۰/۲۴	۴/۰۵±۲۶/۹۳	۵۸/۶۰±۸/۶۴	۹۸/۰۰±۱۴/۳۵	۴/۸۴±۰/۱۸
روز ۲۱	۱/۱۹±۱۹/۳۵	۹۸/۸۰±۱۶/۹۳	۲/۴۰±۰/۲۵	۴/۸۱±۸۷/۶۰	۱/۰۶±۵۹/۳۸	۱/۳۳±۱۸/۹۸	۴/۲۲±۰/۱۴
روز ۲۸	۱/۲۸±۲۲/۷۲	۷۳/۶۶±۹/۶۰	۲/۳۰±۰/۳۰	۴/۶۷±۱۸/۱۴	۵۵/۰۰±۸/۷۱	۱/۶۴±۲۴/۰۲	۴/۳۶±۰/۳۵
مقدار P(برای روند افزایش دز تجمعی در گروه‌های مورد آزمایش)[1]	۰/۰۰۱*	۰/۰۶۶	۰/۰۴۲*	<۰/۰۰۱*	۰/۲۷۲	۰/۲۵۵	<۰/۰۰۱*
مقدار P(برای اختلاف بین گروه‌های تیمار و شاهد)[1]	۰/۰۲۰*	۰/۴۳۴	۰/۰۰۱*	۰/۰۰۹*	۰/۲۰۷	۰/۶۴۹	<۰/۰۰۱*

گزارش شده است و علت آن را افزایش فعالیت‌های پروتئولیتیک متعاقب استرس ناشی از مسمومیت دانسته‌اند(۴۹).

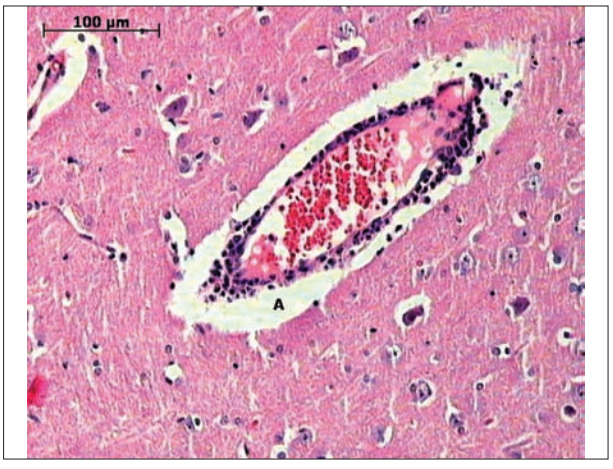
درگزارش Hassan و همکاران در سال ۱۹۹۸ آمده است که سموم ارگانوفسفره به‌طور کلی باعث کاهش پروتئین تام وافزایش کلسترول تام سرم می‌گردند(۲۱). Zaahkouk و همکاران در سال ۲۰۰۰ در پژوهش‌های خود افزایش کلسترول را در مسمومیت با ارگانوفسفره‌ها تایید کردند و علت آن را کاهش ترشحات کبدی به داخل دوازدهه در اثر انسداد مجاری صفراوی درکبد ملتهب دانسته اند(۵۰).

Adham و همکاران در سال ۱۹۹۷ افزایش کلسترول تام را در مسمومیت با ارگانوفسفره‌ها، تاثیر سم بر نفوذپذیری غشائ سلول‌های کبدی اعلام کرده‌اند(۲۶). در پژوهش حاضر نیز افزایش معنی‌داری در غلظت کلسترول ($p<0/05$) در روز چهاردهم دیده شدو در روز بیست ویکم نیز میزان آن افزایش داشت که اختلاف معنی‌داری نشان نمی‌داد وهمچنین میزان فعالیت آنزیم‌های ALP, AST و ALT در روزهای ۱۴و۲۱ افزایش معنی‌داری ($p<0/05$) , ($p<0/01$) داشت.

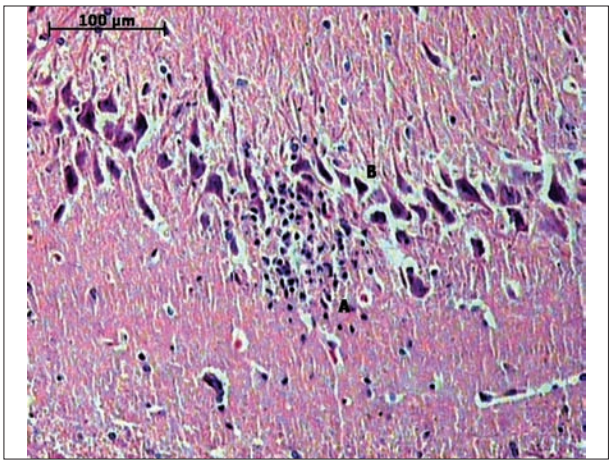
تحقیقات Morowati در سال ۱۹۹۷ و Gomes و همکاران در سال ۱۹۹۹ و Stirastava در سال ۱۹۹۹ تایید کننده‌ی این نکته هستند که مسمومیت با ارگانوفسفره‌ها مانند دیازینون باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های AST ,ALP و ALT می‌گردند(۱۸،۲۶،۳۴). فعالیت ALP سرم در حیوانات سالم اساساً مربوط به ایزوآنزیم کبدی است و افزایش ALP سرم معمولاً ناشی از کولستاز و توقف ترشح اسیدهای صفراوی است. فعالیت ALT درکبد به حد کافی بوده و در صدمات غشایی و نکروز سلول‌های کبد فعالیت این آنزیم در خون افزایش می‌یابد. AST تقریباً در میتوکندری تمامی سلول‌ها وجود دارد وافزایش فعالیت آن می تواند مربوط به آسیب‌های کبدی یا عضله قلبی باشد(۳۳). Kalender و همکاران در سال ۲۰۰۵ افزایش فعالیت آنزیم‌های AST,ALT,ALP را در موش‌های صحرایی که با دیازینون مسموم شده بودند گزارش کردندوعلت آنرا آسیب به بافت کبد موش‌ها اعلام کردند(۲۶).

Mohammadsalah وهمکاران نیز در سال ۲۰۰۸ در آزمایشات خود سم دیازینون را به صورت خوراکی در موش استفاده کردند و در نتایج خود افزایش فعالیت آنزیم‌های AST و ALT را گزارش کرده‌اند که مشابه نتایج طرح ما می‌باشد.

در مطالعاتی که Patil و همکاران در سال ۲۰۰۳ برروی انسان انجام داده اند تغییرات پارامترهای خونی متعاقب مصرف سموم ارگانوفسفره نشان داده شده است(۲۷). Gupta و همکاران در سال ۱۹۸۲ برروی اثرات سموم نواکرون و فورادون تحقیقاتی انجام دادند و در نتایج طرح کاهش گلبول قرمز و کاهش هموگلوبین را ذکر کرده‌اند(۱۹). Shalby و همکاران در سال ۱۹۹۸ دریافتند که مسموم کردن موش‌ها با سم کلرپیریفوس باعث کاهش تعداد گلبول‌های قرمز و غلظت هموگلوبین می‌شود. کاهش هموگلوبین احتمالا به‌علت کاهش تعداد گلبول‌های قرمز می‌باشد و کم شدن گلبول‌های قرمز نیز ناشی از اثرات توکسیک سم بر روی مغز استخوان می‌باشد. مطابق مکتوبات Enan در سال ۱۹۸۷ علت کاهش تعداد گلبول‌های قرمز در مسمومیت با ارگانوفسفره‌ها خونریزی داخلی بیان شده است(۱۱). Morowati در سال ۱۹۹۸ کاهش تعداد گلبول‌های قرمز را ناشی از کاهش هورمون اریتروپوئتین دانسته است(۳۴). در تحقیق انجام شده ما کاهش تعداد گلبول قرمز، گلبول سفید، کاهش غلظت هموگلوبین وکاهش هماتوکریت در اثر مصرف سم مشخص گردید که از یک طرف با نتایج تحقیقات ذکر شده در بالا مطابقت دارد واز طرف دیگر

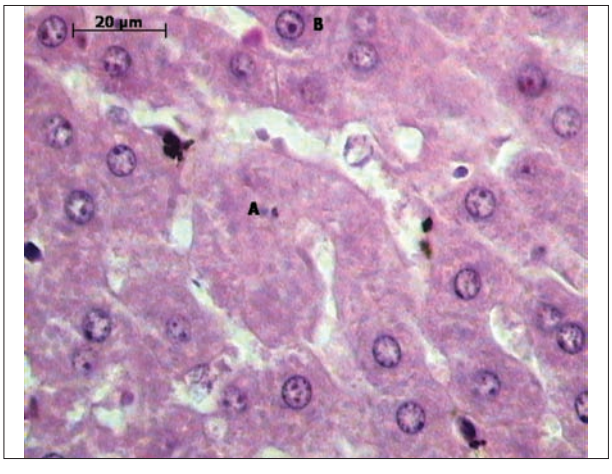


تصویر ۱- یکی از مهمترین علائم آنسفالیت یعنی تجمع آستین وار عروق توسط سلول‌های لنفوسیتی التهابی (pvc) به‌خوبی در فضای ویرشورابین (A) عروق مغزی مشخص می‌باشد. به‌علاوه تجمع مایع ادم در اطراف نرون‌های عصبی و عروق موجود در تصویر دیده می‌شود. 100X H&E.

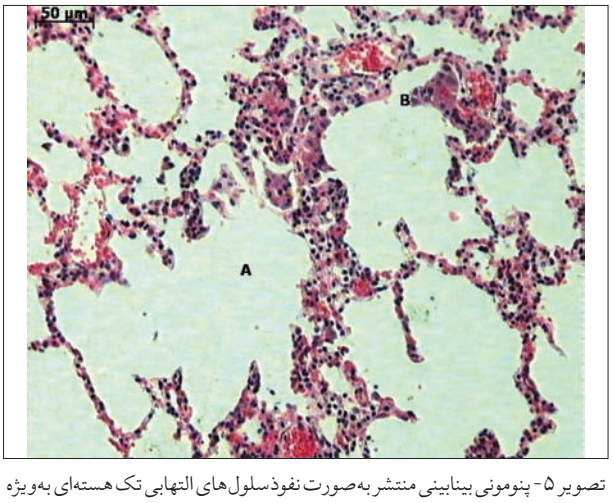


تصویر ۲ ـ نکروز لایه‌ای نورون‌های عصبی (B) بخوبی مشاهده می‌شود. نرون‌های نکروزه واجد هسته‌های پیکنوتیک و سیتوپلاسم اسیدوفیل می‌باشند، بعضی از نرون‌ها نیز فاقد هسته مشخص هستند. گلیوزیس (A) نیز در تصویر مشاهده می‌گردد. H&E 100X.

تصویر ۳- نفروز کلیوی در تصویر فوق بوضوح مشاهده می‌گردد. پیکنوز هسته سلول‌های پوششی لوله پروگزیمال (A) در تصویر مشاهده می‌گردد. به‌علاوه مرحله نا بودی هسته نیز در تعدادی از لوله‌ها قابل تشخیص است. 400X H&E.



تصویر ۴- نکروز هپاتوسیت‌ها در تصویر فوق مشخص می‌باشد. نکروز هپاتوسیت (A) به‌صورت اسیدوفیل تر شدن سیتوپلاسم سلول کبدی و نابودی هسته کاملاً واضح است. ضمناً در مقایسه با سلول‌های نکروز های فوق هپاتوسیت سالم (B) در قسمت فوقانی تصویر مشخص است. 400X H&E.



تصویر ۵- پنومونی بینابینی منتشر به‌صورت نفوذ سلول‌های التهابی تک هسته‌ای به‌ویژه لنفوسیت در تصویر فوق (B) مشخص می‌باشد. به‌علاوه آمفیزم آلوئولی نیز (A) در سمت پایین و چپ تصویر مشاهده می‌گردد. 100X H&E.

مشابهت وهم خوانی کاملی با نتایج آزمایشات Yehia و همکاران در سال ۲۰۰۶ دارد که در تحقیق نامبرده دیازینون به صورت خوراکی در خرگوش‌ها مصرف گردیده وکاهش گلبول‌های قرمز، کاهش هموگلوبین و هماتوکریت ثبت گردیده است(۴۹). علت این کم‌خونی علاوه‌برسرکوب مغز استخوان، تخریب گلبول‌های قرمزدر ارگان‌های خونساز، مهار تعدادی از مسیرهای خونسازی توسط باقیمانده سم و کاهش دوره عمر گلبول‌های قرمز گردش خون می‌باشد(۲۷،۴۹).

در مورد گلبول‌های سفید در بررسی حاضر، ما کاهش گلبول‌های سفید را مشاهده کردیم که با نتایج تحقیقات Kalender و همکاران در سال ۲۰۰۵ و Yehia و همکاران در سال ۲۰۰۶ هم‌خوانی ندارد. اما در تحقیقات Hassan و همکاران در سال ۱۹۸۸ و Morowati در سال ۱۹۸۸ کاهش تعداد گلبول‌های سفید در مسمومیت با ارگانوفسفره ثبت شده است

(۲۱،۲۶،۳۴،۴۹). کاهش گلبول سفید همراه با کاهش گلبول قرمز که در تحقیق ما مشاهده گردید، احتمالاً به‌علت سرکوب مغز استخوان توسط سم وخونریزی داخلی می‌باشد(۱۴).

پاتولوژی: بیشترین میزان تجمع باقیمانده سم دیازینون در سیستم اعصاب مرکزی به‌ویژه بافت مغز است وکمترین میزان شامل عضلات مخطط اسکلتی می‌گردد(۴۹).

در همین ارتباط بیشترین ضایعات بافتی در اثر سم دیازینون در بافت مغز مشاهده گردیده است. آثار پاتولوژیک ضایعات مغزی که در این تحقیق ثبت گردیده است شامل آنسفالیت، پرخونی، خونریزی، نکروز نورون‌ها و سلول‌های عصبی پورکنژ و منتژیت بود، که مشاهدات مشابهی نیز توسط سایر محققین گزارش شده است(۶،۱۰،۳۷).

Mayer و همکاران در سال ۱۹۹۱ علت آسیب وارده به سلول‌های مغز در اثر سموم ارگانو فسفره را افزایش استیل کولین درون زاد در سلول‌های بافت عصبی دانسته‌اند(۳۱). Rady و همکارانش در سال ۲۰۰۲ آثار پاتولوژیک مشابه‌ای را در مغز موش‌هایی که با دیازینون مسموم شده بودند گزارش کرده و مهار آنزیم استیل کولین استراز و کربوکسیل استراز را علت ضایعات ایجاد شده اعلام کرده‌اند(۳۷). نکروز نورون‌ها و سلول‌های پورکنژ که در این مطالعه ذکر شده است توسط گزارشات Hamm و همکاران در سال ۱۹۹۸ تایید می‌گردد(۲۰) و همچنین با نتایج تحقیقاتی که Dede و Drogba در سال ۲۰۰۴ انجام دادند (۹) و پژوهش Yehia و همکاران در سال ۲۰۰۶ بر روی اثرات خوراکی سم دیازینون در خرگوش بیان کرده‌اند هم خوانی نزدیکی دارد(۴۹).

کلیه‌ها مرکز اصلی برداشت و تخریب پروتئین‌ها و پپتیدها با وزن مولکولی کم هستند، که این امر توسط لوله‌های پروگزیمال انجام می‌شود(۱۵). همچنین Wu و همکاران طی بررسی‌های انجام شده بر روی موش‌هایی که سم دیازینون را به صورت داخل صفاقی دریافت کرده بودند، اعلام کردند که باقیمانده سم دیازینون در کلیه‌ها از سایر ارگان‌های مورد آزمایش بیشتر است. که این نتیجه می‌تواند علت آسیب‌های وارده به کلیه‌ها را متعاقب مصرف سم دیازینون توجیه کند(۴۷). ضایعات پاتولوژیک در کلیه‌ها در تحقیق حاضر شامل نکروز انعقادی لوله‌های ادراری یا نفروز بوده است که با نتایج تحقیقات Abdelsalam and Ford که در سال ۱۹۸۷ دیازینون را به گوساله‌ها خورانیدند، مشابهت دارد(۱). Gibson و همکارانش نیز این نتایج را تایید کرده‌اند(۱۵). علاوه بر آثار پاتولوژیک در کلیه‌ها Abdelsalam and Ford به آمفیزم و ادم در ریه گوساله‌ها اشاره می‌کنند که با ضایعاتی که ما در ریه خرگوش‌ها دیدیم همخوانی دارد(۱). Rady در سال ۲۰۰۹ در تحقیقاتی خوکچه‌های هندی را در معرض سم دیازینون قرار داده و متعاقب آن پرخونی، خونریزی و نفوذ سلول‌های التهابی در اطراف آلوئول‌های ریوی همچنین التهاب، پرخونی، نکروز آنتروسیت‌ها و زخم در روده باریک را گزارش نموده‌اند (۳۷). که تایید کننده‌ی نتایج طرح ما می‌باشد. احتقان و ادم ریوی که در تحقیق نیز مشاهده شده، می‌تواند ناشی از افزایش فشار خون وریدی و مویرگی در اثر التهاب باشد و متعاقب این احتقان خون در ریه ، هیپوکسی در بدن رخ داده و باعث تجمع سموم و مواد زائد در سلول‌ها و بافت‌های بدن می‌گردد و مسمومیت بافت‌های بدن مثل معده و روده باریک و سایر بافت‌ها سبب تولید میزان فراوانی رادیکال‌های آزاد سمی شده که منجر به کاهش شدید آنتی اکسیدان‌های سلولی و بافتی می‌گردد که این پدیده موجب اختلالات عمده در متابولیسم پروتئین و پراکسید شدن چربی‌های غیر اشباع می‌گردد و نکروز وسیع بافت‌های مختلف بدن را بدین وسیله توجیه می‌نمایید(۱۶،۳۷،۴۳).

Mikhail و همکاران در سال ۱۹۷۹ در موش‌های مسموم با د.د.ت نکروز سلول‌های کبدی، تغییر چربی در کبد و نفوذ سلول‌های آماسی در فضای پورت را گزارش کردند(۳۲) و تحقیقات yano و همکاران در سال ۱۹۸۷ این گزارشات را تایید می‌کند(۴۸). Kostka و همکاران در سال ۱۹۹۶ در موش‌های صحرایی مسموم با د.د.ت، التهاب کبد، پرولیفراسیون سلول‌های کبدی و واکوئله شدن هپاتوسیت‌ها را گزارش کردند (۳۷). در تحقیقات حاضر نیز پرخونی در عروق تریاد وورید مرکزی، خونریزی، تغییر چربی و نکروز هپاتوسیت‌ها دیده شد که با نتایج تحقیقات ذکر شده هم خوانی دارد و Gokcimen و همکاران در تحقیقات جدید خود در سال ۲۰۰۶ موش‌های صحرایی در معرض دیازینون قرار دادند و آثار پاتولوژیک شامل نکروز هپاتوسیت‌ها و نفوذ سلول‌های آماسی را گزارش کردند و علت این تغییرات را فعالیت سم زدایی کبد اعلام کردند که باعث تجمع سم در کبد می‌گردد و به‌علاوه تولید میزان زیاد رادیکال آزاد در سلول‌های کبدی را ذکر نموده‌اند(۱۷). که توسط محققین دیگری نیز تایید گردیده است (۲۲،۲۷).

ضایعات پاتولوژیک بیضه که در تحقیقات ما دیده شد توسط تحقیقات Pina-Guzman در سال ۲۰۰۵ و Joshi و همکاران در سال ۲۰۰۷ تایید می‌گردد(۲۵،۳۶).

نکروز اسپرماتوسیت‌های اولیه، دژنراسیون بافت بینابینی، کاهش لوله‌های منی‌ساز و کاهش اسپرماتوزواها در مسمومیت ماهی‌ها با دیازینون گزارش شده است. که با نتایج تحقیقات ما هماهنگی دارد و تایید کننده آن است(۱۰).

نکته نهایی قابل توجه در این تحقیق اثبات این عقیده می‌باشد که علاوه بر راه خوراکی که در بروز مسمومیت با ارگانوفسفره‌ها در دام و انسان مطرح بوده است، جذب این سموم از راه جلد و بروز مسمومیت ناشی از آن در صورت آلوده شدن رخ می‌دهد.

References

1. Abdel-Salam, E.B., Ford, E. J. (1987) The effect of induced liver, kidney and lung lesions on the toxicity of levamisole and diazinon in calves. J. Comp. Pathol. 97:619-627.
2. Adedji, O. B., Adedeji, O. A., Adeyemo, o., Agbede, s. (2009) Acute effects of diazinon on blood parameters in the African catfish (*clarias gariefinus*). Int. J. Hematol. 5:21-27.
3. Ahmed, R. S., Seth, V., Pasha, T., Banerjee, B. D. (2000) Influence of dietary ginger (*Zingiber offcinales Rosc*) on oxidative stress induced by malathion in rats. Food Chem. Toxicol. 38: 443-450.
4. Ashgar, M., Sheikh, M. A., Hashmi, A. (1994). Effects of orally fed methyl parathion on some hematochemical parameters of rabbits. Pakistan. Vet. J. 14:34-36.
5. Banerjee, B. D., Seth, V., Bhattacharya, A., Pasha, S. T., Chakraboty, A. K. (1999). Biochemical effects of some pesticides on lipid per- oxidation and free-radical scavengers. Toxicol. Lett. 107: 33-47.
6. Britt, J. O., Martin, J. L., Okerberg, C. V., Dick, E. J. (2000) Histopathologic changes in the brain, heart, and skeletal muscle of rhesus macaques, ten days after exposure to soman (an organophosphorus nerve agent). Comp. Med. 50:133-139.
7. Dede, E. B., Chike, C. P. (2000) Histopathological study of chronic effect of dichorvos on rat liver and small intestine. J. Appl. Sci. Environ. Manag. 4: 33-36.
8. Dede, E. B., Dogara, F. M. (2004) The acute toxicological effects of gammalin 20 on the lung and pancreas of guinea pig. J. Appl. Sci. Environ. Manag. 8: 33- 35.
9. Dede, E. B., Simini, A. (2001) Electro-encephalographic study of the interaction between dichlorvos and lindane in rat brain. Nig. J. Neur. 4: 21-26.
10. Dutta, H. M., Meijer, H. J. (2003) Subletal effects of diazinon on the structure of the testis of bluegill,lepomis mocrochirus: a microscopic analysis. Environ. Pollut. 125:355-360.
11. Enan. E., Berberian, I. G., El-fiky, S., El-Masry, M., Enan, O. H.(1987) Effects of two organophosphorous insecticides on some biochemical constituent in the nervous system and liver of rabbits. J. Environ. Sci. Health. 22:149-170.
12. Epstein, L., Bassein, S., Zalom, F. G. (2000). Almond and stone fruit growers reduce OP, increase pyrethroid use in dormant sprays. Calif. Agric. 54:14-19.
13. Garfitt, S. J., Jones, K., Mason, H. J., Cocker, J. (2002) Exposuretothe organophosphate diazinon: data from a human volunteer study with oral and dermal doses. Toxicol. Lett. 134: 105-113.
14. Garg, U. K., Pal, A. K., Jha, G. J., Jadhao, S. B.(2004) Haemato- biochemical and immuno-pathophysiological effects of chronic toxicity with synthetic pyrethroid, organophosphate and chlorinated pesticides in broiler chicks. Int. Immunopharmacol. 4: 1709-1772.
15. Gibson, I. W., More, I. A. (1998) Glomerular pathology: recent advances. J. Pathol. 184:123-129.
16. Giray, S., Gurby, A., Hinealm, F. (2001) Cypermethrin induced oxidative stress in rat brain and liver is prevented by Vit-E or allopurinol. Toxicol. Lett. 118: 139-146.
17. Gockcimen, A., Gulle. k., Demirin, H., Bayram, D., Kocak, A., Altunsa, I. (2007) effects of diazinon at different doses on rat liver and pancreas tissues. Pest. Bp. 87:103-108
18. Gomes, J., Dawodu, A. H., Lloyd, O., Revitt, D. M., Anilal, S. V. (1999) Hepatic injury and disturbed amino acid metabolism in mice following prolonged exposure to organophosphorus pesticides. Hum. Exp. Toxicol. 18: 33-37.
19. Gupta, M., Bagchi. G., Bandyopadhyay, S., Sasmal, D., Chatterjee, T., Dey, SN. (1982) Hematological changes produced in mice by Nuvacron or Furadan. Toxicology. 25:255-260.
20. Hamm, J. T., Wilson, B. W., Hinton, D. E. (1998) Organophosphate- induced acetylcholinesterase inhibition and embryonic retinal cell necrosis in vivo in the teleost (Oryzias latipes). Neurotoxicology.

19:853-69.

21. Hassan, G. A., Salem, M. H., Abd-Allah, G. A., Shakere, N., Abo-Elezz, Z. (1988) Effect of organophosphorus (dimethoate) and pyrethroid (decamethrin) pesticides on plasma levels of cortisol and thyroxine, and on some haematological characteristics in growing male rabbits. Indian J. Anim. Sci. 58:1395-1401.
22. Hazarika, A., Sarkar, S. N., Hajare, S., Kataria, M., Malik, J. K. (2003) In?uence of malathion pretreatment an the toxicity of anilofos in male rats: a biochemical interaction study. Toxicology. 185: 1- 8
23. Hill, E. F. (2003) Wildlife toxicology of organophosphorus and carbamate pes- ticides. In: Hoffman, D. J., Rattner, B.A., Burton Jr. G. A., Cairns Jr. J . (Eds.), Handbook of Ecotoxicology. Lewis Publishers., Boca Raton. USA.
24. John, S., kale, M., Rathore, N., Bhatnagar, D. (2001) Protective effect of vitamin E in dimethoate and malathion induced oxidative stress in rat erythrocytes. J. Nutr. Biochem. 12:500-504.
25. Joshi, S. C., Mathur, R., Gulati, N. (2007) Testicular toxicity of chlorpirifos (an organophosphate pesticide) in albino rat. Toxicol. Ind. 23:439-444.
26. Kalender, S., Ogutcu, A., Uzunhisarcikli, M., Acikgoz, F., Durak, D., Ulusoy, Y., Kalender, Y. (2005) Diazinon-induced hepatotoxicity and protective effect of Vitamin E on some biochemical indices and ultrastructural changes. Toxicology. 211: 197-206.
27. Kalender, Y., Uzunhisarcikli, M., Ogutcu, A., Acikgoz, F., Kalender, S. (2005) Diazinon on pseudocholinesterase activity and haematological indices in rats :The protective role of vitamin E. Environ. Toxicol. Pharmacol. 22:46-51.
28. Kappers, W. A., Edwards, R. J., Murray, S., Boobis, A. R. (2001) Di- azinon is activated by CYP2C19 in human liver. Toxicol. Appl. Pharmacol. 177: 68-76.
29. Kidd, H., James, D. R. (1991) The Agrochemicals Handbook, Royal Society of Chemistry Information Services. (3rd ed.) Cambridge. UK.
30. Kostka, G., Kopec-Szlezak, J., Palut, D. (1996) Early hepatic changes induced in rats by two hepatocarcinogenic organohalogen pesticides: bromopropylate and DDT. Carcinogenesis.17:407-412.
31. Mayer, D. F., Lurden, C. A., Williams, R. E. (1991) Tralomethrin insecticide and domestical pollinator. Am. Bee. J. 132: 461.
32. Mikhail, T. H., Aggour, N., Awadallah, R., Boulos, M. N., El- Dessoukey, E. A., Karima, A. I. (1979) Acute toxicity of organopho- sphorus and organochlorine insecticides in laboratory animals. Z. Ernahrungs, wiss.18:258-268.
33. Mojabi, A. (2000) Veterinary clinical biochemistry. nourbakhsh Publication. Tehran, Iran.
34. Morowati, M. (1997) Inhalation toxicity studies of thimet (phorate) in male swiss albino mouse, Mus musculus. I. Hepatotoxicity. Environ. Pollut. 96: 283-288.
35. Nakagawa, Y., Moore, G. (1999) Role of mitochondrial membrane permeability transition in p -hydroxybenzoate ester-induced cy- totoxicity in rat hepatocytes. Biochem. Pharmacol. 58: 811-816.
36. Pina- Guzman, B., Solis-Heredia, M. J., Quintanilla, B. (2005) Diazinon alters sperm chromatin vega, structure in mice by phosphoryleting nuclear protaminates.Toxicol. Appl. Pharmacol. 202:189-198 .
37. Rady, M. I. (2009) Effects of Exposure to Diazinon on the Lung and Small Intestine of Guinea Pig, Histological and Some Histochemical Changes. Braz. Arch. Biol. Technol. 52:317-326.
38. Reece, R. L., Handson, P. (1982) Observation on the accidental poisoning of birds by organophosphate insecticides and other toxic substance. Vet. Res. 111:453-455.
39. Reigart, J. R., Roberts, J. R. (1999) Recognition and management of pesticide poisoning. (5th ed). United States Environmental Protection Agency. Washington, D.C, U.S.A.
40. Rodrigo, L., Hernandez, A. F., Lopez-Caballero, J. J., Gil, F., Pla, A. (2001) Immunohistochemical evidence for the expression and in- duction of

paraoxonase in rat liver, kidney, lung and brain tissue, implications for its physiological role. Chem. Biol. Interact. 137: 123-137.

41. Sams, C., Cocker, J., Lennard, M. S. (2003) Metabolism of chlorpyri- fos and diazinon by human liver microsomes. Toxicol. Lett. 144: 146.
42. Seiverd, C. E. (1972) Hematology for technologists (4^{th} ed). Lea and Febiger. Philadelphia.USA.
43. Sivaprasado, K., Sombasiva, K. , Ramona, K. (1993) Effect of parathion on tissue ionic changes in fish Channa punctatus. Geobios. 10: 60- 62.
44. Sparling, D. W., Fellers, G. (2007) Comparative toxicity of chlorpyrifos, diazinon, malathion and their oxon derivative to larval Rana boylii. Env. Pol. 147: 535-539
45. Vidyasagar, J., Karunakar, N., Reddy, M. S., Rajnarayana, K., Suren- der, T., Krishna, D. R. (2004) Oxidative stress and antioxidant status in acute organophosphorus insecticide poisoning. Indian J. Pharmacol. 36: 76-79.
46. Wester, R. C., Sedik, L., Meelendres, J. F., Logan, F., Maibach, H. I., Russell, I. (1993) Percutaneous absorption of diazinon in humans.food. Chem. Toxicol. 31: 569-572.
47. Wu, H. X., Evreux- Gros, C., Descotes, J. (1996) Diazinon toxic kinetics, tissue distribution and anticholinesterase activity in the rat. Biomed. Environ. Sci. 9:359-69.
48. Yano, B. L., Young, J. T., Mattsson, J. L. (2000) Lack of carcinogenicity of chlorpyrifos insecticide in a high-dose, 2-year dietary toxicity study in Fischer 344 rats. Toxicol. Sci. 53: 135-144
49. Yehia, M., El- Banna, S. G., Okab, A. B. (2006) Diazinon toxicity affects histophysiological and biochemical parameters in rabbits. Exp. Toxicol. Pathol. 59:215-225.
50. Zaahkouk, S. A. M., Helal, E. G. E., Abd-Rabo, T. E. I., Rashed, S. Z. A. (2000) Carbamate toxicity and protective effect of Vit. A and Vit. E on some biochemical aspects of male albino rats. Egypt J. Hosp. Med. 1: 60-77.

J. Vet. Res. 66, 2:103-112, 2011

THE TOXICOPATHOLOGIC EFFECTS OF DIAZINON ON HISTOPATHOLOGICAL, BIOCHEMICAL AND HEMATHOLOGICAL PARAMETERS IN RABBITS BY DERMAL EXPOSURE OF TOXIN

Solati, A.[1], Tavasoli, A.[1*], Koohi, M. K.[2], Marjanmehr, S. H.[1], Nekouie Jahromi, O. A.[3]

[1]*Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medecine, University of Tehran, Tehran-Iran.*

[2]*Department of Pharmacology, Faculty of Veterinary Medecine, University of Tehran, Tehran-Iran.*

[3]*Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medecine, University of Tehran, Tehran-Iran.*

(Received 26 May 2010 , Accepted 5 October 2010)

Abstract:

Diazinon [0,0-diethyl 0-(2-isopropyl-6-methylpyrimidin-4yl) Phosphorothioate] is one of the widely used organophosphate pesticides to control pest insects in agriculture and veterinary medicine. Therefore, there is always the risk of human contact with this toxin. The present study was carried out to investigate the toxicopathologic effects of diazinon in male rabbits through dermal exposure. For this purpose, 12 adult male rabbits were divided into two equal groups of 6 rabbits. The treatment group (A) received diazinon through dermal exposure for 28 days. The control group (B) on the other hand was given ethyl alcohol, as solvent of the diazinon, using the same method. Blood samples were collected from marginal ear vein of the control and the treatment animals on day 0 and later on days 7th, 14th, 21th, 28th of treatment. The analysis obtained from the data revealed that diazinon affects the haematological and biochemical parameters in Group A. In fact, there was a significant decrease in red blood cell count and hemoglobin (Hb) in the treated rabbits ($p<0.05$). Diazinon increased alkaline phosphatase (ALP), alanine aminotransferase (ALT), and aspartate aminotransferase (AST) level in the serum ($p<0.01$) and cholesterol level ($p<0.05$). Diazinon also significantly decreased triglyceride and total protein level of the serum in the treatment group (0.05). On day 28, the rabbits were euthantized and necropsy was done. The histopathological changes that were observed in the treatment group included necrosis of hepathocytes, fat degeneration and hyperemia in liver, interstitial pneumonia, hyperemia, emphysema and epithelialization in lungs, hyperemia, hyaline cast and tubular necrosis in kidneys, hyperemia, atrophy and necrosis of muscle fiber in heart, degeneration in testis, and finally suppurative dermatitis in skin. The results also showed that dermal contact with Diasinon not only had toxic effects on hematological and biochemical parameters but also caused pathologic changes in various body organs.

Key words: histopathology, hematological parameters. Biochemical parameters, diazinon, dermal contact.

***Corresponding author's email: atavasoli@ut. ac. ir, Tel: 021-61117060, Fax: 021-66933222**