

ارزیابی میزان آنزیم کولین استراز در شاغلین در معرض سموم فسفره

ابوالفضل برخوردار^۱، طاهره راعی بندپی^{۲*}، سیدحسین حکمتی مقدم^۳، محمدحسین مصدق^۴، حسین فلاحزاده^۵

۱. عضو هیأت علمی گروه بهداشت حرفه‌ای، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد
۲. کارشناسی ارشد بهداشت حرفه‌ای، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد
۳. عضو هیأت علمی گروه علوم آزمایشگاهی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد
۴. عضو هیأت علمی گروه داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد
۵. عضو هیأت علمی گروه آمار و اپیدمیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد

تاریخ پذیرش: ۹۱/۴/۱۵

تاریخ دریافت: ۹۱/۲/۲۱

چکیده

مقدمه: با توجه به مصرف روزافزون سموم ارگانوفسفره در کشاورزی و اثرات سوء آنها بر انسان، میزان فعالیت آنزیم‌های کولین استراز خون سم‌پاشان مزارع برنج مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی: در این مطالعه که به صورت توصیفی-تحلیلی و از نوع مقطعی انجام شد، میزان فعالیت آنزیم کولین استراز تعداد ۶۰ نفر (۳۰ نفر سم‌پاش و ۳۰ نفر شاهد) با بازه سنی ۶۲-۲۹ سال و میانگین سن $44/33 \pm 8/55$ در سال ۹۰ مورد بررسی قرار گرفت و داده‌ها با استفاده از آزمون آماری تی زوج و آزمون همبستگی تجزیه و تحلیل شد.

یافته‌ها: میانگین و انحراف معیار غلظت آنزیم کولین استراز سرم و اریتروسیت‌ها در سم‌پاشان به ترتیب $5573/2 \pm 1229/51$ IU/lit و $144/73 \pm 52/30$ IU/grHb تعیین گردید. حداقل و حداکثر غلظت آنزیم کولین استراز اریتروسیت به ترتیب $71/07$ IU/grHb و $291/90$ IU/grHb و این رقم برای آنزیم کولین استراز سرم 3276 IU/lit و 7472 IU/lit می‌باشد. ارزیابی نتایج تحقیق نشان داد که میانگین غلظت آنزیم‌های کولین استراز اریتروسیت (AchE) و سرم (PchE) اندازه‌گیری شده در افراد مورد مطالعه کمتر از شاهد بوده و اختلاف آن از نظر آماری نیز معنی‌دار می‌باشد ($p < 0/001$).

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه بیانگر مواجهه بالا با سموم ارگانوفسفره در بین سم‌پاشان مزارع برنج می‌باشد بنابراین بهتر است مسئولین بهداشت حرفه‌ای استان برنامه‌ریزی لازم جهت میزان مواجهه سم‌پاشان انجام و اجرا نمایند.

کلیدواژه‌ها: استیل کولین استراز، پایش بیولوژیک، آفت‌کش‌های فسفره، سم‌پاشی

* نویسنده مسؤول: آدرس پستی: یزد، بلوار دانشجو، مجتمع آموزشی امام رضا، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد.

تلفن: ۰۳۵۱۶۲۴۰۶۹۱، پست الکترونیکی: rae.tahereh@yahoo.com

مقدمه

در نتیجه سیستم عصبی مرکزی و محیطی تخریب می‌گردد (۲۲-۱۱،۱۷).

فعالیت آنزیم کولین‌استراز سرم (PchE) منعکس‌کننده مسمومیت حاد بوده ولی کاهش آنزیم استیل‌کولین‌استراز اریتروسیت (AChE) بیانگر مسمومیت مزمن می‌باشد لذا فعالیت PchE به طور ویژه قبل از فعالیت AChE به علت مسمومیت کاهش می‌یابد (۲۳).

پایش بیولوژیک با استفاده از اندازه‌گیری بیومارکرها یا شاخص‌های زیستی، ابزاری مناسب برای ردیابی و تعیین مقدار ماده و متابولیت‌های آن بوده و روشی مناسب جهت تعیین میزان تماس فرد و همچنین اثرات مواد شیمیایی بر انسان می‌باشد (۲۰، ۲۳).

در مطالعه‌ای که توسط Antonio و همکاران روی ۱۳۵ سم‌پاش در اسپانیا که به طور طولانی مدت با حشره‌کش‌ها مواجهه داشته‌اند انجام شد، نشان داد که کولین‌استراز گلبول‌های قرمز (AChE) در سم‌پاشان در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی‌داری کاهش یافته است (۲۴).

در پژوهش انجام شده توسط Ciesielski و همکاران بر روی کشاورزان و افراد شاهد در کارولینا نشان داد که میزان کولین‌استراز گلبول‌های قرمز در کشاورزان کاهش معنی‌داری داشته و در ۱۲ درصد کشاورزان سطح کولین‌استراز بسیار کاهش یافته است (۲۵).

در مطالعه Jyotsna و همکاران اثرات حشره‌کش‌های ارگانوفسفره روی ۸۵ سم‌پاش باغ‌های انگور و ۷۵ نفر شاهد در هند مورد بررسی قرار گرفت و کاهش معنی‌داری در کولین‌استراز سرم سم‌پاشان مشاهده گردید (۲۶).

مطالعه London و همکاران در آفریقای جنوبی نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین کولین‌استراز گلبول‌های قرمز کشاورزان و افراد شاهد وجود ندارد (۲۷)، همچنین مطالعه‌ای در آفریقای جنوبی بر روی ۴۱ کشاورز در تماس با حشره‌کش‌ها انجام گردید که نتایج این مطالعه

توسعه کشاورزی و استفاده روزافزون از آفت‌کش‌های کشاورزی به ویژه سموم ارگانوفسفره در جهان و کشور باعث عوارض و اثرات مزمن و حاد و حتی منجر به مرگ می‌شوند (۷-۱). با توجه به سرشماری سال ۱۳۸۰، حدود ۲۵/۹ درصد از شاغلین کشور را کشاورزان تشکیل داده و بر اساس آمار سال ۱۳۷۳ تعداد ۱۸۷ نوع آفت‌کش به صورت مجاز وارد کشور شده که ۳۰ درصد آنها از نوع سموم فسفره بوده است (۴۸).

بر اساس برآورد سازمان بهداشت جهانی و برنامه ملی محیط آمریکا (UNEP: United Nations Environmental Program) سالانه بین یک تا پنج میلیون مورد مسمومیت ناشی از حشره‌کش‌ها در بین کارگران کشاورزی اتفاق می‌افتد و در طی ۱۰ سال گذشته بروز مسمومیت با حشره‌کش‌ها در کشورهای در حال توسعه دو برابر شده است، به طوری که علیرغم اینکه فقط ۱۵٪ از حشره‌کش‌های کل دنیا در کشورهای در حال توسعه مصرف می‌شود، ولی بالای ۵۰٪ از مسمومیت گزارش شده مربوط به این کشورها می‌باشد (۹، ۱۰). همچنین حدود ۳ میلیون مورد مسمومیت سالانه مربوط به سموم ارگانوفسفره بوده که از این تعداد نزدیک به ۳۰۰ هزار نفر دچار مرگ یا صدمات جدی به ویژه در کشورهای در حال توسعه می‌شوند (۱۱، ۱۲).

این سموم بالقوه جهش‌زا و سرطان‌زا بوده و افزایش پراکسیداسیون لیپیدها و تولید رادیکال‌های آزاد حاصل از متابولیسم سموم ارگانوفسفره، مکانیسم اصلی تخریب سلول و بافت‌های مختلف بدن می‌باشد (۱۵-۱۳) گرچه عوامل دیگری چون سطح سلامتی افراد، سوء تغذیه و کم شدن آب بدن احتمالاً میزان حساسیت به آفت‌کش‌ها را افزایش می‌دهد (۱۸-۱۶).

مهار برگشت‌ناپذیر استیل‌کولین‌استراز مکانیسم اصلی سمیت سموم ارگانوفسفره می‌باشد، با توجه به نقش این آنزیم در رشد و نمو سیستم عصبی، مهار آن سبب تجمع انتقال‌دهنده عصبی استیل‌کولین در سیستم عصبی شده و

مقدار ۲ میلی لیتر آن در لوله‌های حاوی ماده ضد انعقاد EDTA (شرکت مرک آلمان) برای آزمایش کولین استراز گلبول‌های قرمز و ۱ میلی لیتر بقیه برای آزمایش کولین استراز سرم با استفاده از ویال شیشه‌ای (شرکت Labtron آلمان) به آزمایشگاه منتقل شدند.

خون‌ها بلافاصله هپارینه و سانتریفوژ شدند (با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۲۰ دقیقه) و سپس سرم‌ها توسط سرنگ جدا شدند. با توجه به اتصال استیل کولین استراز اریتروسیت به غشای گلبول قرمز توسط رشته‌های کلاژن، ابتدا گلبول قرمز سه دفعه متوالی با سرم فیزیولوژیک شستشو داده شد و از پلاسما جدا گردیدند تا امکان تداخل آن با کولین استراز سرمی حذف گردد. در ادامه هیدرولیز گلبول قرمز انجام و آنزیم از باقیمانده غشای لیز شده گلبول قرمز توسط سانتریفوژ جدا شد.

پس از تعیین غلظت هموگلوبین با استفاده از محلول درابکین، ۵۰ میکرولیتر از نمونه‌های خون به ۳ میلی لیتر آب مقطر افزوده شد و سپس لوله‌ها به مدت ۳۰ ثانیه ورتکس شدند.

در ادامه آزمایش کولین استراز با استفاده از سوبسترای بوتیریل تیوکولین و به روش اصلاح شده المن (Ellman) بر روی نمونه رقیق شده انجام گردید. میزان کولین استراز به دست آمده بر گرم هموگلوبین تقسیم شد تا میزان فعالیت کولین استراز بر حسب گرم هموگلوبین به دست آید.

پس از ورود داده‌ها به کامپیوتر، تجزیه و تحلیل اطلاعات با استفاده از نرم افزار SPSS11 انجام و با توجه به نرمال بودن داده‌ها، برای تجزیه و تحلیل اطلاعات و مقایسه میانگین‌ها دو گروه مورد و شاهد از آزمون آماری تی زوج و همچنین جهت تعیین میزان همبستگی داده‌ها بر حسب سابقه کار و تعداد دفعات سم‌پاشی، از آزمون همبستگی استفاده شد، ضمناً سطح اطمینان برای کلیه آزمون‌ها ۹۵ درصد در نظر گرفته شد.

نشان داد که از لحاظ آماری بین میزان فعالیت آنزیم کولین استراز پلاسما و اریتروسیت‌ها اختلاف معنی‌داری وجود ندارد (۲۸).

نتایج مطالعه Shayeghi و همکاران بر روی سم‌پاشان باغ مرکبات نیز نشان داد که فعالیت آنزیم کولین استراز در ۵٪ از افراد مورد مطالعه (۲۵ نفر) بعد از سم‌پاشی کاهش می‌یابد (۲۹).

همچنین Ranjbar و همکاران در مطالعه‌ای بر روی ۴۵ کارگر کارخانه تولید سم نشان داد که آنزیم کولین استراز گلبول‌های قرمز در گروه مورد در مقایسه با گروه شاهد کاهش معنی‌داری وجود دارد (۳۰). تعیین غلظت آنزیم در گلبول‌های قرمز و سرم، شاخص بیولوژیکی مناسبی برای ارزیابی تماس انسان با این سموم قبل از بروز علائم ظاهری در بدن می‌باشد، لذا با توجه به اهمیت ارزیابی تماس سم‌پاشان با سموم ارگانوفسفره، این تحقیق با هدف ارزیابی غلظت آنزیم‌های کولین استراز اریتروسیت و سرم در سم‌پاشان مزارع برنج و میزان مسمومیت در آنها طراحی شد.

روش بررسی

در این مطالعه مقطعی که به روش توصیفی-تحلیلی انجام شد تعداد ۳۰ نفر از سم‌پاشان مرد مزارع برنج ۱۴ روستای شهرستان فریدون‌کنار که از سم دیازینون برای سم‌پاشی استفاده می‌کردند به صورت سرشماری مورد بررسی قرار گرفتند. همچنین تعداد ۳۰ نفر از افراد ساکن در همان شهرستان که از نظر سن، جنس و محل سکونت یکسان‌سازی شده بودند به عنوان گروه شاهد در مطالعه شرکت نمودند. پس از آموزش افراد مورد مطالعه و اخذ رضایت نامه کتبی، اطلاعات مربوط به خصوصیات دموگرافیک افراد شرکت‌کننده با استفاده از پرسشنامه از قبل تهیه شده جمع‌آوری و میزان فعالیت آنزیم‌ها با روش استاندارد Ellman تعیین گردیدند (۲۹،۳۰).

به منظور تعیین میزان فعالیت آنزیم کولین استراز مقدار ۳ میلی لیتر خون وریدی از افراد شرکت‌کننده گرفته شد و

یافته‌ها

با توجه به نتایج مطالعه، بازه سنی سم‌پاشان ۲۹-۶۲ سال و میانگین و میانه سن آنها به ترتیب ۴۴/۳۳ و ۴۴/۵۰ سال تعیین گردید. میانگین، حداقل و حداکثر سابقه کار افراد مورد مطالعه به ترتیب ۱۲/۳۷، ۳۰ و ۲ سال بود. یافته‌های به دست آمده نشان داد که سم‌پاشی معمولاً از ۷ الی ۱۱ صبح و ۲ الی ۶ بعد از ظهر انجام می‌شود و میانگین، حداقل و حداکثر ساعت کار سم‌پاشی به ترتیب ۶/۵، ۳ و ۹ ساعت در روز می‌باشد. با توجه به نتایج، حداقل و حداکثر غلظت آنزیم کولین استراز اریتروسیت سم‌پاشان به ترتیب $71/07 \text{ IU/grHb}$ و $291/90 \text{ IU/grHb}$ و این رقم برای آنزیم کولین استراز سرم 3276 IU/lit و 7472 IU/lit می‌باشد.

خلاصه نتایج مربوط به میزان غلظت آنزیم کولین استراز سرم و اریتروسیت سم‌پاشان و گروه شاهد در جدول شماره ۱ نشان داده شده است. همان‌طور که ملاحظه می‌شود میانگین و انحراف معیار غلظت آنزیم کولین استراز سرم و اریتروسیت در سم‌پاشان به ترتیب

نتایج جدول شماره ۲ بیانگر این است که غلظت آنزیم کولین استراز سرم و اریتروسیت با افزایش دفعات سم‌پاشی در ماه کاهش یافته است ولی این کاهش از نظر آماری معنی‌دار نمی‌باشد.

آنالیز نتایج در جدول شماره ۵ نشان می‌دهد که از بین آنزیم‌های کولین استراز اندازه‌گیری شده در سم‌پاشان، آنزیم PchE اختلاف معنی‌داری در بین گروه‌ها بر حسب روزهای سم‌پاشی در ماه گذشته در افراد دارد ($p < 0/03$).

جدول ۱: تعیین و مقایسه میانگین و انحراف معیار غلظت آنزیم‌های کولین استراز در گروه مورد و شاهد

p-value	گروه شاهد (n=30) میانگین ± انحراف معیار	گروه مورد (n=30) میانگین ± انحراف معیار	آنزیم‌های کولین استراز
0/001	256/32 ± 93/94	144/73 ± 52/30	اریتروسیت (AchE)
0/001	7773/43 ± 1765/91	5573/2 ± 1229/51	سرم (PchE)

جدول ۲: میانگین و انحراف معیار غلظت آنزیم‌های کولین استراز بر حسب سابقه کار (سال) سم‌پاشان

آنزیم	< ۱۰ سابقه کار (n=15) میانگین ± انحراف معیار	> ۱۰ سابقه کار (n=15) میانگین ± انحراف معیار
اریتروسیت (AchE)	152/67 ± 56/02	136/8 ± 48/92
سرم (PchE)	5974/27 ± 1308/1	5172/06 ± 1037/97

جدول ۳: میزان همبستگی آنزیم‌های کولین استراز با سابقه کار (آزمون پیرسون)

سابقه کار		آنزیم‌های کولین استراز
p-value	ضریب همبستگی	
۰/۱۴۴	-۰/۲۷۴	اریتروسیت (AchE)
۰/۰۰۲	-۰/۵۵۴	سرم (PchE)

جدول ۴: مقایسه میانگین و انحراف معیار غلظت آنزیم‌های کولین استراز بر حسب روزهای سم‌پاشی در ماه گذشته

روزهای سم‌پاشی		متغیر
(n=۱۴) >۲۰	(n=۱۶) <۲۰	
میانگین ± انحراف معیار	میانگین ± انحراف معیار	
۱۴۰/۱۲ ± ۴۴/۶	۱۴۸/۸ ± ۵۹/۴	اریتروسیت (AchE)
۴۷۹۱/۴۲ ± ۱۰۹۶/۴۵	۶۲۵۷/۱۸ ± ۸۷۲/۶۵	سرم (PchE)

(AchE) و سرم (PchE) اندازه‌گیری شده در افراد مورد مطالعه با مقدار آن در گروه شاهد نشان داد که این اختلاف از نظر آماری نیز معنی‌دار می‌باشد ($p < 0/0/01$). میانگین غلظت آنزیم کولین استراز اریتروسیت (AchE) اندازه‌گیری شده در ۳۳/۳ درصد (۱۰ نفر) و غلظت آنزیم کولین استراز سرم (PchE) در ۲۰ درصد (۶ نفر) از افراد مورد مطالعه کمتر از حد طبیعی بود.

نتایج حاصل از مطالعه در دو گروه مورد و شاهد نشان می‌دهد (جدول شماره ۶) که میانگین غلظت آنزیم کولین استراز اریتروسیت (AchE) اندازه‌گیری شده در سم‌پاشان و افراد شاهد به ترتیب ۱۴۴/۳۷ و ۲۵۶/۳۲ واحد بر میلی‌گرم در هموگلوبین و میانگین غلظت آنزیم کولین استراز سرم (PchE) در این دو گروه به ترتیب ۷۷۷۳/۴۳ و ۵۵۷۳/۲ واحد بر لیتر می‌باشد، لذا مقایسه میانگین غلظت آنزیم‌های کولین استراز اریتروسیت

جدول ۵: تعیین میزان همبستگی بین پارامترهای بیوشیمیایی با روزهای سم‌پاشی در ماه گذشته

روزهای سم‌پاشی		آنزیم‌های کولین استراز
p-value	ضریب همبستگی	
۰/۶۶	-۰/۰۷	اریتروسیت (AchE)
۰/۰۳	-۰/۶۰۵	سرم (PchE)

جدول ۶: تعیین و مقایسه میانگین و انحراف معیار غلظت آنزیم‌های کولین استراز در گروه مورد و شاهد

p-value	گروه شاهد (n=۳۰)	گروه مورد (n=۳۰)	آنزیم‌های کولین استراز
	میانگین ± انحراف معیار	میانگین ± انحراف معیار	
۰/۰۰۱	۲۵۶/۳۲ ± ۹۳/۹۴	۱۴۴/۳۳ ± ۵۲/۳۰	اریتروسیت (AchE)
۰/۰۰۱	۷۷۷۳/۴۳ ± ۱۷۶۵/۹۱	۵۵۷۳/۲ ± ۱۲۲۹/۵۱	سرم (PchE)

بحث

با توجه به استاندارد ارائه شده، مقادیر طبیعی آنزیم کولین استراز اریتروسیت و سرم به ترتیب $5600-11200 \text{ IU/L}$ و $148-404 \text{ IU/grHb}$ می باشد از طرفی بین میزان فعالیت این آنزیم ها در افراد سالم نیز حدود ۱۵ درصد تفاوت وجود دارد، لذا بر اساس نتایج حاصل از مطالعه، غلظت آنزیم کولین استراز اریتروسیت (AChE) اندازه گیری شده در حدود یک سوم و غلظت آنزیم کولین استراز سرم (PchE) در یک پنجم از افراد مورد مطالعه کمتر از حد طبیعی بود. از طرفی میانگین آنزیم افراد مورد مطالعه در حد پایین ترین مقدار در بازه نرمال بود همچنین تغییرات آن در افراد مختلف زیاد بوده است به طوری که مقدار آنزیم کولین استراز اریتروسیت از $71/07$ تا $291/9$ و آنزیم کولین استراز سرم از 3276 تا 7472 متغیر بوده است.

مقدار هر دو آنزیم با افزایش سابقه کار و تعداد روزهای سم پاشی در ماه نیز کاهش یافته است، نتایج آماری مبین آن است که غلظت کولین استراز سرم در سوابق کاری مختلف (بر خلاف آنزیم کولین استراز اریتروسیت) اختلاف معنی داری ندارد ($p < 0/01$).

با توجه به این که آنزیم کولین استراز سرم و اریتروسیت به ترتیب نشان دهنده مواجهه کوتاه مدت و درازمدت با سموم فسفره است و مطالعه نیز در زمانی انجام شده که بیشترین عملیات سم پاشی در منطقه انجام می شود، لذا مدت زمان تماس می تواند یکی از عوامل موثر در روند مسمومیت با این سموم باشد.

نتایج حاصل از مقایسه میانگین غلظت آنزیم های کولین استراز اریتروسیت (AChE) و سرم (PchE) اندازه گیری شده در افراد مورد مطالعه کمتر از مقدار آن در افراد گروه شاهد می باشد و این اختلاف از نظر آماری نیز معنی دار می باشد ($p < 0/01$)، بنابراین نتایج این مطالعه با نتایج مطالعه انجام شده توسط Antonio و همکاران که بر روی ۱۳۵ سم پاش در اسپانیا که به طور

طولانی مدت با حشره کش ها مواجهه داشتند هم خوانی دارد به طوری که آنها نشان دادند که آنزیم کولین استراز اریتروسیت (AChE) در سم پاشان در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی داری کاهش یافته است (۲۴).

همچنین نتایج مطالعات Ciesielski در کارولینا، Ranjbar و همکاران و Shayeghi و همکاران در ایران نشان می دهد که میزان کولین استراز اریتروسیت در کشاورزان به طور معنی داری کاهش یافته و سطح کولین استراز در ۵ تا ۱۲ درصد کشاورزان کاهش بسیاری داشته است (۲۵، ۲۹، ۳۰).

همچنین کاهش معنی دار کولین استراز سرم سم پاشان در مطالعه Jyotsna نشان داده شد. بنابراین کاهش سطح کولین استراز سرم در این مطالعه نیز با سایر مطالعات سازگار می باشد (۲۶). ولی نتایج مطالعه انجام شده توسط London و همکاران و Rama و همکاران بیانگر عدم وجود اختلاف معنی دار بین کولین استراز اریتروسیت کشاورزان و افراد شاهد بوده (۲۷، ۲۸) و با نتایج این مطالعه همخوان نیست.

با توجه به نتایج به دست آمده پیشنهاد می شود آنزیم کولین استراز در سم پاشان و کلیه افرادی که با حشره کش های فسفره در تماس هستند به صورت منظم مورد سنجش قرار گیرد.

تقدیر و تشکر

این مقاله حاصل بخشی از پایان نامه تحت عنوان بررسی وضعیت پارامترهای بیوشیمیایی و هماتولوژی در سم پاشان مزارع برنج شهرستان فریدون کنار در سال ۱۳۹۰ در مقطع کارشناسی ارشد می باشد که با حمایت دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد اجرا شده است. همچنین از همکاری آقای دکتر عبدالله محمدی فیروزجائی تشکر و قدردانی می شود.

منابع

1. Erik J, Acute pesticide poisonings among small-scale farmers in La Paz county Bolivia, Masters Thesis 2004, University of Copenhagen.
2. Sattler C, Kachele H, Verch G. Assessing the intensity of pesticide use in agriculture. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 2007; 119:299-304.
3. Koh D, Jeyaratnam J. Pesticide hazards in developing countries. *Sci Total Environ.* 1996; 188Suppl 1:S78-85.
4. Shah MD, Iqbal M. Diazinon-induced oxidative stress and renal dysfunction in rats. *Food and Chemical Toxicology* 2010; 48(12):3345-53.
5. Evazi A, Poornajaf A. Epidemiology of occupational poisoning with pesticides in Ilam Province Farmers. *Ilam J Med Sci* 1383; 12(44-45):40-5.[Persian]
6. Aghilinejad M, Farshad A, Naghavi M, et al. Assessment of the relationship between pesticide and their effects on farmer health in various state . *Iran Occupational Health Journal.* 2006; 3(1):81-5.[Persian]
7. Stark JD, Banks JE, Acheampong S. Estimating susceptibility of biological control agents to pesticides: influence of life history strategies and population structure .*Biological control* 2004; 29:392-8.
8. Iranian Organization of census.1380.[Persian]
9. Muhammad Dawood Shah, Mohammad Iqbal. Diazinon-induced oxidative stress and renal dysfunction in rats. *Food and Chemical Toxicology* 2010; 48:3345-3353.
10. Shayeghi M, Nasirian H, Nourjah N, et al. Cholinesterase activity among spray workers in Iran. *Pak J Biol Sci.* 2009 May 1; 12(9):696-701.
11. Soares L, Desozaporto MF, Estimating the social coast of pesticide use: an assessment from acute poisoning in Brazil. *Ecological Economics* 2009; 68:2721-8.
12. Ebrahimzadeh MA, Shokrzadeh Lamooki M, Biukabadi M. Effect of erythrocyte cholinesterase activity in organophosphate workers in rice fields. *Journal of Shahrekord University of Medical Sciences* 2005; 7(1).[Persian]
13. Fattahi E, Jorsaraei SJ, Parivar K, et al. The Effects of a Single Dosage of Diazinon and Hinosan on the Structure of Testis Tissue and Sexual Hormones in Mice. *Yakhteh Medical Journal* 2010; 12(3):405-10. [Persian]
14. Alpaslan G, Kanat G, Hilmi D, et al. Effects of diazinon at different doses on rat liver and pancreas tissues. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 2007; 87:103-8.
15. Sarabia I, Maurer E, Bustos O, Melatonin prevents damage elicited by the organophosphorous pesticide diazinon on the mouse testis. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 2009; 72(3):938-42.
16. Jeyaratnam J, Lun KC, Phoon WO. Survey of acute pesticide poisoning among agricultural workers in four Asian countries. *Bull World Health Organ* 1987; 65(4):521-7.
17. Berthet A, de Batz A, Tardif R, et al. Impact of biological and environmental variabilities on biological monitoring--an approach usestoxicokinetic models. *Journal of occupational and environmental hygiene* 2010; 7(3):177-84.
18. Kalender S, Ogutcu A, Uzunhisarcikli M, et al. Diazinon-induced hepatotoxicity and protective effect of vitamin E on some biochemical indices and ultrastructural changes. *Toxicology.* 2005; 211(3):197-206.
19. Ohayo-Mitoko GJ, Kromhout H, Simwa JM, et al. Self reported symptoms and inhibition of acetylcholinesterase activity among Kenyan agricultural workers. *Occupational and environmental medicine* 2000; 57(3):195-200.

20. Kim JH, Stevens RC, MacCoss MJ, et al. Identification and characterization of biomarkers of organophosphorus exposures in humans. *Advances in experimental medicine and biology* 2010; 660:61-71.
21. Occupational Safety & Health Administration (OSHA), Sampling and Analytical Methods: Chlorpyrifos (Dursban)/DDVP, Method no: 62.
22. Khan DA, Bhatti MM, Khan FA, et al. Adverse effects of pesticides residues on biochemical markers in pakistani tobacco farmers. *International journal of clinical and experimental medicine*. 2008; 1(3):274-82.
23. Bakhtiyary S, Mohammadnezhad Oragh G, Khoshdel A, et al. *Henrys Clinical Biochemistry*. Tehran: Andishe Rafie; 1386.[Persian]
24. Hernandez AF, Lopez O, Rodrigo L, et al. Changes in erythrocyte enzymes in humans long-term exposed to pesticides: influence of several markers of individual susceptibility. *Toxicology letters*. 2005; 159(1):13-21.
25. Ciesielski S, Loomis DP, Mims SR, et al. Pesticide exposures, cholinesterase depression, and symptoms among North Carolina migrant farmworkers. *American journal of public health* 1994; 84(3):446-51.
26. Patil J, Patil A, Govindwar S. Biochemical effects of various pesticides on sprayers of grape gardens. *Indian Journal of Clinical Biochemistry* 2003; 18(2):16-22.
27. London L, Nell V, Thompson ML, et al. Health status among farm workers in the Western Cape--collateral evidence from a study of occupational hazards. *S Afr Med J*. 1998; 88(9):1096-101
28. Rama DB, Jaga K. Pesticide exposure and cholinesterase levels among farm workers in the Republic of South Africa. *Sci Total Environ* 1992; 122(3):315-9.
29. Shayeghi M, Shayeghi SH. Effect of Malathion insecticide on the function of cholinesterase enzyme among the agricultural sprayers. *Armaghan Danesh* 2003; 7(28):1-6.[Persian].
30. Ranjbar A, Pasalar P, Abdollahi M, et al. Survey of oxidative stress and cholinesterase enzyme activity in worker exposed to Organophosphate in comparison with healthy individuals. *Arak Medical University Journal*. 1383; 7(27):7-12.[Persian]