

مطالعه اثرات لیندن بر روی دستگاه تنفسی در موش صحرائی

بدیر دلف لویمی^{۱*}، معصومه احمدی زاده^۲

^۱ دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران، ^۲ دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی اهواز، اهواز، ایران

تاریخ دریافت: ۸۷/۶/۱۳، تاریخ پذیرش: ۸۷/۱۱/۲۳

Study of the effects of Lindane on Respiratory system in Rats

Delf Loveymi B. ^{1*}, Ahmadizadeh M. ²

¹ Faculty of Pharmacy, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran, ² Jondishapur College of Health, Ahwaz University of Medical Sciences, Ahwaz, Iran

Received: 3 Sep. 2008, Accepted: 11 Feb. 2009

Objectives: Lindane is organochlorine compound which is widely used in agriculture and medicine for treatment of pediculosis (as shampoo) and scabies (as lotion). Lindane is absorbed through inhalation and leads to intoxication. The purpose of this investigation is studying of the effects of Lindane in Tracheal and pulmonary cells of Rats. **Methods:** For this investigation, solvent (Ethyl acetate) and Lindane were intraperitoneally given at doses of 10, 20 and 40mg/kg. After 24 hours the animal were killed by Ether and The Lung and Tracheal tissues were fixed in 10% formalin. After preparation of microscopic segments, H&E (Hematoxylin & Eosin) staining for histopathologic studies and AB (Alcian Blue) and PAS (Periodic Acid Schiff) staining for cytochemistry of glycoprotein secreting cells were used. **Results:** The results indicated that the tissue of lung and pneumocyte cells was intact in control group. Different cellular damages including swell of cells, formation of Vacuole, reduction of staining ability in the type II pneumocytes, thickening of Alveolar walls and injury in ciliated and nonciliated cells. Lindane caused changes of epithelium from pseudostratified to simple. Cytochemically, in control group, the epithelial tissue of trachea, neutral (PAS⁺) and acidic (AB⁺) glycoprotein secreting cells were observed. In all cases intensity of damages was dose dependent. **Conclusion:** The results indicated that Lindane cause cellular damage in the Respiratory system cells. The mechanism of this toxic effects is unknown, but reported that Lindane is converted into intermediate substance by the action of hepatic microsomal enzymes, and this new substance can cause cellular injuries.

Key words: Lindane, Lung, Trachea, glycoprotein, Respiratory system.

زمینه و هدف: لیندن ترکیب اورگانوکلر که به طور وسیعی در کشاورزی و در صنایع داروسازی به عنوان ضد شپش (شامپو) و ضد جرب (لوسیون) مورد استفاده قرار میگیرد. لیندن از طریق استنشاق جذب و موجب مسمومیت میگردد. هدف این تحقیق بررسی اثرات این ترکیب بر روی سلولهای تراشه و ریه موش صحرائی می باشد. **روشها:** به این منظور حلال (اتیل استات) و لیندن در دوزهای ۱۰، ۲۰ و ۴۰ mg/kg از طریق داخل صفاقی تزریق شد. بعد از ۲۴ ساعت حیوانات را بوسیله اتر کشته شدند و ریه و تراشه آنها در فرمالین ۱۰٪ فیکس شد. بعد از تهیه مقاطع میکروسکوپی، برای بررسی هیستوپاتولوژی از رنگ آمیزی H&E (Hematoxylin & Eosin) و برای مطالعه سیتوشیمیایی سلولهای ترشعی گلیکوپروتئین از رنگ آمیزی AB (Alcian Blue) و PAS (Periodic acid Schiff) استفاده گردید. **یافته ها:** نتایج نشان داد که در گروه کنترل، بافت ریه و سلولهای پنوموسیت کاملاً دست نخورده می باشد. آسیب های ناشی از لیندن در بافت ریه شامل تورم سلولی، ایجاد واکوئل، کاهش قدرت رنگ پذیری در سلولهای پنوموسیت نوع II، ضخیم شدن دیواره آلونولی و آسیب به سلولهای مژده دار و غیره مژده دار می باشند. لیندن موجب تغییر فرم بافت پوششی از طبق کاذب به فرم ساده گردید. از لحاظ سیتوشیمیایی، دریافت اپی تلایال تراشه گروه کنترل، سلولهای ترشعی گلیکوپروتئین خنثی و اسیدی مشاهده شد. در همه موارد شدت آسیب وابسته به دوز می باشد. **نتیجه گیری:** نتایج نشان می دهد که لیندن موجب آسیب سلولهای سیستم تنفسی می شود. مکانیسم اثر لیندن مشخص نمی باشد ولی گزارش شده که لیندن در کبد تحت تاثیر آنزیم های میکروزومال کبدی متابولیزه شده و به ترکیبات واسطه ای واکنشگر تبدیل شده و موجب آسیب سلولی می گردد. **واژه های کلیدی:** لیندن، ریه، تراشه، گلیکوپروتئین.

*Corresponding Author: Badir Delf Loveymi, Faculty of Pharmacy, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran. Tel: +98-411- 3392585; Fax: +98-411-3344798; E-mail: Loveymi96@yahoo.com

*نویسنده مسئول: بدیر دلف لویمی، دستیار PhD، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران، تلفن: ۰۴۱۱-۳۳۹۲۵۸۵، شماره: ۳۳۴۴۷۹۸-۰۴۱۱

۱- مقدمه

دستگاه تنفس از لحاظ آناتومیکی به دو قسمت فوقانی و تحتانی تقسیم می‌شود که به وسیله حلق از هم جدا می‌شوند (۱). تراشه یا نای لوله ای است با جداره نازک و طول تقریبی ۱۰ سانتی متر که از قاعده حنجره تا ناحیه ای که به دو برونش اصلی تقسیم می‌شود ادامه می‌یابد. نای با مخاط مفروش شده و ۲۰-۱۶ حلقه نعلی شکل از جنس غضروف هیالین که در زیر مخاط وجود دارد، مجرای نای را باز نگه می‌دارد. در ریه خانه‌های ششی وجود دارند که به صورت برآمدگی‌های کیسه مانند از برونش‌های تنفسی، مجاری حبابچه‌ای و کیسه‌های حبابچه‌ای می‌باشند. خانه‌های ششی انتهایی درخت برونشی را تشکیل می‌دهند و مسئول ساختمان اسفنجی شش‌ها هستند و در این خانه‌های ششی است که مبادله اکسیژن هوا و خون انجام می‌شود. دیواره خانه‌های ششی از پنج نوع سلول اصلی تشکیل شده که شامل سلول‌های اندوتلیال مویرگ، سلول‌های اپی‌تلیال نوع I (سنگفرشی)، سلول‌های نوع II (دیواره‌ای یا حبابچه‌ای بزرگ)، سلول‌های بافت بینابینی شامل فیبروبلاستها، ماستوسیتها و ماکروفاژهای حبابچه‌ای می‌باشد (۲).

ریه‌ها علاوه بر اعمالشان در تبادلات گازی دارای تعداد اعمال متابولیک هستند. ریه‌ها سورفکتانت را برای استفاده موضعی تولید می‌کنند و می‌توانند پروستاگلاندین‌ها را از گردش خون گرفته و یا آنها را سنتز کرده و به داخل خون آزاد کنند (۳).

لیندن یا هگزاکلروسیکلو هگزان جز سموم عصبی است و اثرات سمی آن رابطه مستقیم با حلالیت آن در چربی بافتها دارد (۴). تاثیر لیندن از طریق دستگاه تنفسی بیشتر از DDT است ولی از طریق تماسی کمتر از آن می‌باشد (۵).

لیندن پس از جذب پوستی وارد بدن می‌شود. ترکیبات کلره به دلیل قابلیت حل در چربی، در اجزایی که دارای ماده چربی هستند از قبیل غدد فوق کلیوی، بیضه‌ها، تیروئید و همچنین به مقدار نسبتاً زیادی در کبد و یا در بافت چربی تجمع می‌گردند (۴). لیندن دارای ایزومرهای آلفا، بتا، گاما، دلتا، اپسیلون، اتا، تتا می‌باشد (۵). که فقط ایزومر گاما دارای خواص حشره‌کشی است (۶). لیندن در حرارت عادی به سرعت تصعید می‌گردد و به همین جهت از راه دستگاه تنفس نیز اثر سمی قابل ملاحظه‌ای دارد. LD₅₀ آن ۸۸mg/kg است (۴). به همین دلیل سعی شده که اثر آن روی سیستم تنفسی مورد بررسی قرار گیرد. از لیندن به عنوان یک حشره‌کش تدخینی (fumigant) هم استفاده می‌شود. از علائم مسمومیت با لیندن، افزایش فشار خون، کاهش سرعت ضربان قلب (۵)، حساسیت زیاد در صورت و اندامها و

حساسیت به عوامل خارجی مانند نور و صدا، تهوع، سردرد، و سرگیجه می‌باشد (۴). همچنین گیجی، اغما، انقباض عضلات، لرزش و آنمی آپلاستیک (۷) و در مسمومیت شدید باعث تحریک سیستم عصبی مرکزی (CNS)، تشنج، کلاپس عروق، نارسایی کلیوی، اسیدوز متابولیک و ریوی، آریتمی و مرگ می‌شود (۸).

مطالعه توسط stohs & Bogchi نشان داده که لیندن باعث تولید گونه‌های اکسیژن واکنشگر می‌شود که تولید اکسیژن واکنشگر به وسیله تولید نور حاصل از اکسیداسیون و احیای سیتوکروم C مشخص می‌شود (۹). مطالعات نشان داده که لیندن به دلیل وقفه آنزیم‌های ریوی باعث کاهش کلیرنس ریوی مواد می‌شود و این یک اثر غیر مستقیم لیندن روی سلول‌های ریوی می‌باشد (۱۰). همچنین لیندن موجب افزایش پاسخ و تولید نوتروفیل‌ها و وقفه فعالیت فسفولیپیداز C و کاهش فعالیت فسفاتیدیل اینوزیتول ۴ کیناز می‌شود (۱۱).

مطالعه توسط Hobson و همکارانش نشان داده که آنیون سوپراکسید تولید شده از تجویز لیندن، می‌تواند با عمل دیسموتاسیون (Dismutation) به پراکسید هیدروژن H₂O₂ تبدیل شود که پراکسید هیدروژن موجب آسیب مژه‌ها می‌گردد (۱۲). همچنین رادیکال سوپراکسیداز می‌تواند با آنزیم‌های سیتوکروم P450 واکنش داده و باعث کاهش فعالیت سوپراکسیداز دیسموتاز و کاتالاز می‌گردد (۱۳). تجویز لیندن باعث کاهش سطح گلیکوژن و افزایش سطح پروتئین‌ها و لاکتات کبدی و فعالیت نیتروردکتاز و آزوردکتاز در روده کوچک می‌شود (۱۴). لیندن روی ریه اثر می‌گذارد و موجب ادم، احتقان ریوی، افزایش سرعت تنفس، تاثیر روی مرکز تنفسی در مغز و تخریب ساختمان ریه می‌شود (۱۵).

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱: مواد اولیه به کار رفته

اتانول (تهیه شده از شرکت پارسان، ایران)، آب مقطر و سرم فیزیولوژی (داروپخش، ایران)، لیندن تکنیکال (بهورزان، ایران)، موش صحرایی ماده با وزن ۱۸۰-۲۲۰g (سرم سازی رازی، ایران). اتانول مطلق، اسیداستیک گلاسیسیال، پتاسیم‌آلوم، فوشین‌بازی، کربنات لیتیم، گلیسرین، متابی‌سولفیت سدیم، پارافین، زغال فعال، اسیدکلریدریک یک نرمال، ائوزین، پیرویدیک‌اسید، همتوکسیلین کریستال، اتیل‌استات، اتر، فرمالین ۱۰ درصد، گزیلول، اکسیدمرکوریک و کلریدفریک (همگی از شرکت مرک، آلمان)، آتش بلو ۸ جی‌ایکس (سگیما-آلدریج، آمریکا).

۲-۲: وسایل مورد استفاده

استوانه مدرج، ظرف رنگ آمیزی، قطره چکان، سرنگ دو میلی لیتری، هیتر، قیچی جراحی، سوزن ته‌گرد، ترازوی دیجیتال (با دقت ۰/۰۱ g سارتایوس، آلمان)، برچسب، قالب آلومینیومی برای تهیه بلوک پارافین، حمام آب گرم، انکوباتور، بشر، کاغذ صافی، لام و لامل، به همزن شیشه‌ای، پنس، تیغ بیستوری، جعبه نگهداری لام، پنبه، کرومومتر، ظروف شیشه‌ای جهت فیکس نمودن بافت، ارلن، قیف، میکروسکوپ نوری (ZEISS، آلمان)، دماسنج، pH متر (نیک افزار، ایران) و چسب جهت چسباندن لامل.

۲-۳: روش کار

۲-۳-۱: تهیه غلظت های مختلف لیندن

به منظور بررسی آسیب سلولهای اپی تلیال تراشه و ریه موش صحرایی ناشی از لیندن، ابتدا پودر لیندن را در اتیل استات به صورت محلول درآورده و محلول به صورت داخل صفاقی به حیوانات تزریق گردید. اتیل استات نسبت به سایر حلالها اثرات نامطلوب کمتری دارد (۱۶) و به همین جهت از اتیل استات استفاده شد. غلظت های مختلفی از محلول لیندن تهیه شد به طوریکه غلظت های ۲۰،۱۰ و ۴۰ mg/kg تهیه گردید و مقدار حجم تزریق شده به هر موش صحرایی در حدود ۰/۲ میلی لیتر می باشد. بعد حیوانات را به گروه کنترل و گروه های دریافت کننده ۲۰،۱۰ و ۴۰ mg/kg لیندن تقسیم شدند.

۲-۳-۲: رنگ آمیزی

برای مشاهده مقطع بافتی، با میکروسکوپ نوری از رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین و برای مطالعه تغییرات ایجاد شده در سلول های ترشحي گلیکوپروتئين اپی تلیال تراشه از رنگ آمیزی های اختصاصی آلشن بلو (AB) و پرئودیک اسید شیف (PAS) استفاده شده است. رنگ آمیزی آلشن بلو برای موادی نظیر موکوپلی ساکاریدها به خصوص اسید موکوپلی ساکارید و گلیکوز آمینوگلیکانها به کار می رود (۱۷، ۱۸).

رنگ آمیزی با پرئودیک اسید شیف بر مبنای تبدیل عامل الکلی به آلدهیدی بوده و در اثر معرف شیف، رنگ بنفش را می پذیرد (۱۹).

۲-۳-۳: روش هیستوپاتولوژی و سیتوشیمیایی جهت

بررسی آسیب سلولهای اپی تلیال تراشه

به منظور مطالعه میزان آسیب ناشی از ترکیب لیندن از رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین استفاده شده و آسیب سلولی بررسی گردید. آسیب سلولی به صورت تورم سلولی، تورم هسته، از دست دادن قدرت رنگ پذیری سیتوپلاسم سلولی، میزان واکنش، از دست دادن مزه ها و تغییر شکل بافت

مخاطی تراشه از طبق کاذب مزه دار به شکلهای دیگر مورد بررسی قرار گرفته است. جهت بررسی هیستوپاتولوژی برای هر حیوان ۶ مقطع مورد مطالعه قرار گرفت.

جهت بررسی تغییرات در تعداد و نوع سلولهای ترشح کننده گلیکوپروتئين از رنگ آمیزی آلشن بلو و رنگ آمیزی پرئودیک اسید شیف استفاده گردید. جهت شمارش تعداد انواع سلولهای گلیکوپروتئين، ۱۶ مقطع میکروسکوپی شمارش گردیده است. بر اساس نوع رنگ پذیری سلولها را به ۴ گروه تقسیم شده اند.

سلولهای AB⁺، سلولهای حاوی مواد ترشحي اسید قوی بوده و رنگ آبی کم رنگ به خود می گیرند.

سلولهای AB⁺⁺، سلولهای حاوی مواد ترشحي اسیدی ضعیف بوده و رنگ آبی تیره به خود می گیرند.

سلولهای PAS⁺، سلولهای حاوی مواد ترشحي خنثی با تراکم کم بوده و رنگ صورتی به خود می گیرند.

سلولهای PAS⁺⁺، سلولهای حاوی مواد ترشحي خنثی با تراکم زیاد بوده و رنگ آنها صورتی پر رنگ تا قرمز می باشد.

۲-۳-۴: روشهای آماری

با توجه به اینکه تعداد سلولهای شمارش شده از مقاطع بافتی زیاد بوده است. لذا می توان از تئوری آنالیز واریانس استفاده کرد. چون حیوانات همه یکسان در نظر گرفته شده اند، بنابراین از آنالیز واریانس یک سویه (univariate ANOVA) استفاده شده است. با در نظر گرفتن $P < 0/05$ ، بعد از رد فرضیه مساوی بودن میانگین ها، با استفاده از آزمون توکی (Tukey) Test تفاوت میان زوج میانگین های مورد نظر، بررسی می گردد. هر جا که قدر مطلق تفاوت از HSD بزرگتر باشد تفاوت معنی دار خواهد بود (۲۰، ۲۱).

۳- نتایج

نتایج هیستوپاتولوژی اثر لیندن روی بافت ریه و سلولهای اپی تلیال تراشه موش صحرایی

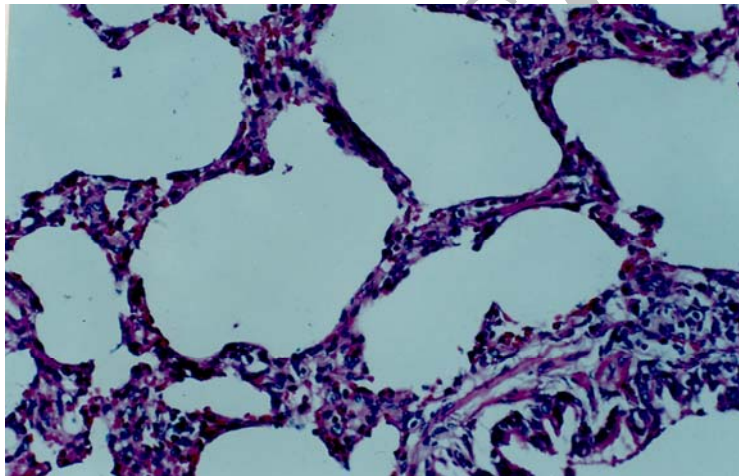
شرایطی که برای گروه کنترل منظور شده، مشابه شرایط گروههایی است که ترکیب لیندن دریافت نموده اند. در حیوانات گروه کنترل دریافت کننده اتیل استات (حلال لیندن)، بافت ریه به صورت دست نخورده و سلولهای پنوموسیت نوع II فاقد آسیب سلولی مشاهده شده است (شکل ۱).

در گروههایی که به مقدار ۲۰،۱۰ و ۴۰ mg/kg لیندن دریافت کرده اند در مقایسه با گروه کنترل، آسیب سلولی به

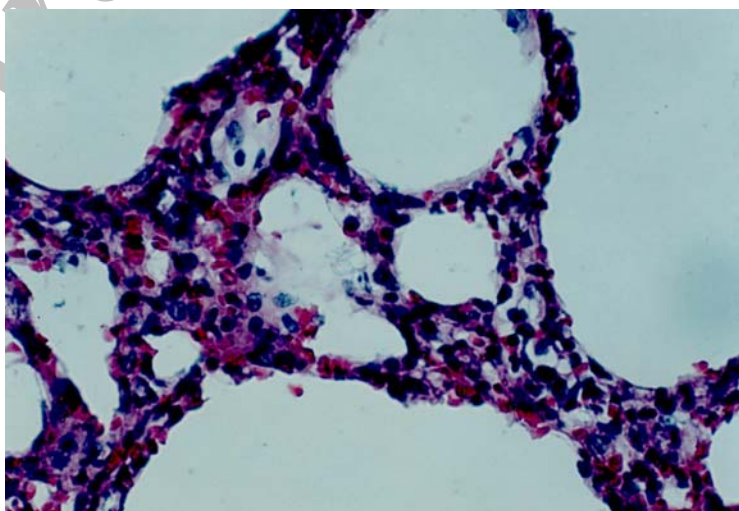
در گروههایی که به مقدار ۲۰،۱۰ و ۴۰mg/kg لیندن در یافت کرده‌اند، در مقایسه با گروه کنترل دریافت کننده اتیل استات، آسیب سلولی نشان داده اند که شامل تورم سلول، تورم هسته، کاهش قدرت رنگ پذیری، ایجاد واکوئل و کاهش تعداد مژه‌ها بوده است (شکل ۶، ۷ و ۸). در گروه کنترل، سلولهای حاوی مواد مترشحه گلیکوپروتئین بر اساس خاصیت اسیدی یا خنثی بودن مواد داخلی، رنگ مخصوصی را به خود می‌گیرند. در گروههایی که به مقدار ۲۰،۱۰ و ۴۰mg/kg لیندن دریافت کرده‌اند در مقایسه با گروه کنترل دریافت کننده اتیل استات (حلال لیندن) افزایش قابل ملاحظه‌ای در تعداد انواع سلولهای ترشحی گلیکوپروتئین مشاهده می‌شود. افزایش تعداد سلولها از لحاظ آماری معنی دار می‌باشد (نمودارهای ۱، ۲، ۳ و ۴).

صورت افزایش ضخامت دیواره آلئولی، تورم سلولهای پنوموسیت نوع II، کاهش قدرت رنگ پذیری سلولها و ایجاد واکوئل نشان داده‌اند. بطور کلی لیندن باعث آسیب در بافت ریه شده و شدت آسیب وابسته به دوز می‌باشد (شکل ۲، ۳ و ۴).

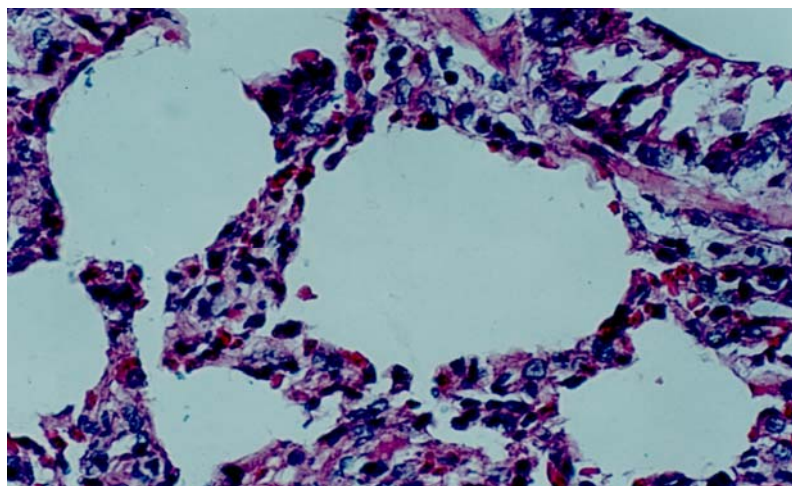
در تراشه نتایج هیستوپاتولوژی نشان دهنده تفاوت در تعداد سلولهای آسیب دیده شامل سلولهای مژه‌دار و غیر مژه‌دار در نواحی مختلف تراشه می‌باشد. در حیوانات گروه کنترل، بافت مخاطی تراشه به فرم استوانه‌ای مطابق کاذب مژه‌دار (Pseudo Stratified Ciliated Columnar) بوده و سلولهای مژه‌دار و غیر مژه‌دار به صورت دست نخورده قابل مشاهده می‌باشند و آسیب سلولی مشاهده نشده است (شکل ۵).



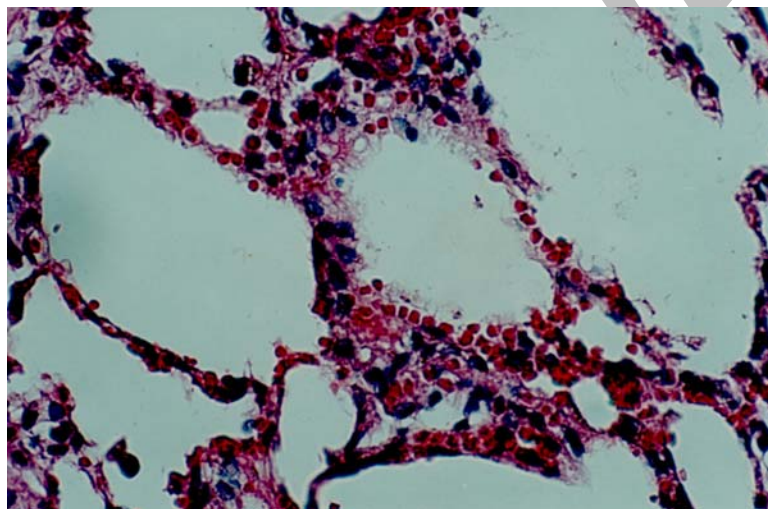
تصویر ۱. نمای ریزبینی سلولهای ریه گروه کنترل دریافت کننده اتیل استات که ضخامت دیواره آلئولی و اندازه هسته طبیعی می‌باشند (رنگ آمیزی هماتوکسیلین انوزین - درشت نمایی 40x)



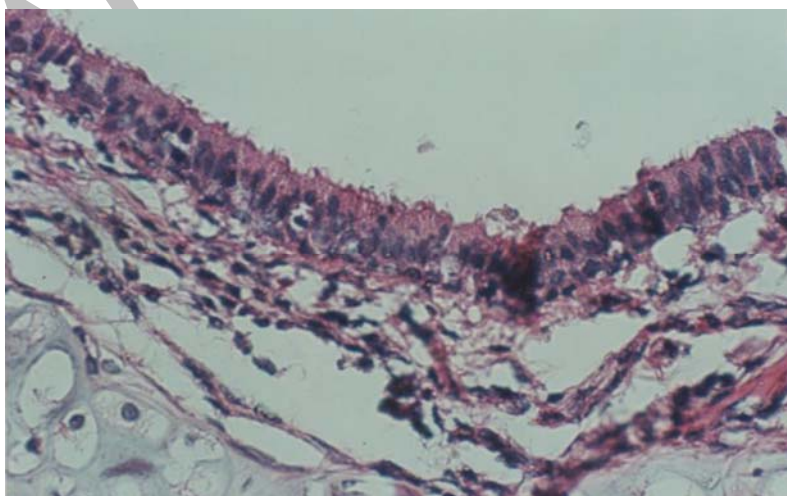
تصویر ۲. نمای ریزبینی سلولهای ریه گروه دریافت کننده ۱۰ mg/kg لیندن، که دیواره آلئولی ضخیمتر شده و اندازه سلولها بزرگتر شده اند. (رنگ آمیزی هماتوکسیلین انوزین - درشت نمایی 40x)



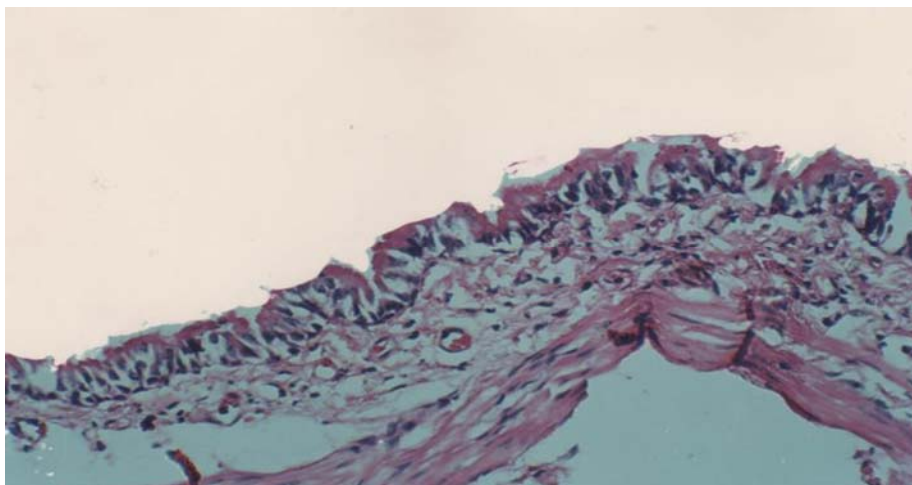
تصویر ۳. نمای ریزبینی سلولهای ریه گروه دریافت کننده ۲۰ mg/kg لیندن، که دیواره آلوئولی ضخیمتر شده و سلولها متورم شده اند. (رنگ آمیزی هماتوکسیلین ائوزین - درشت نمایی 40x)



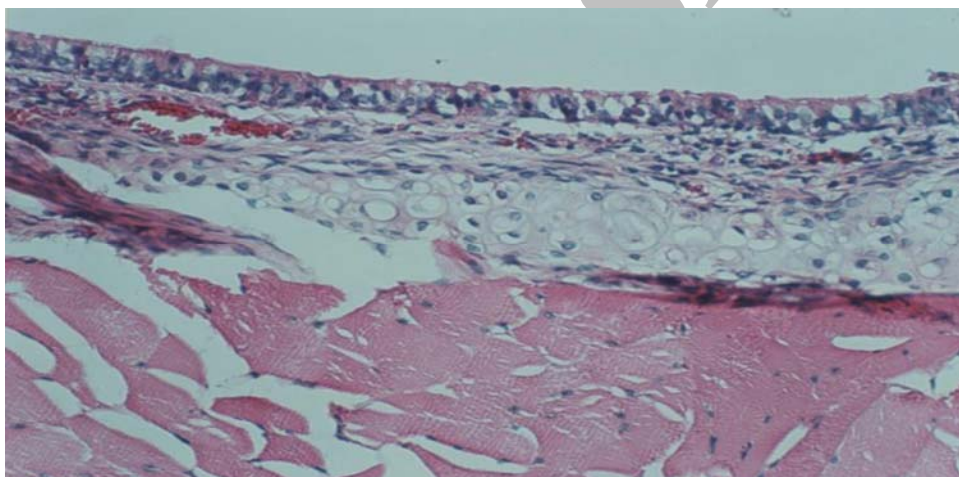
تصویر ۴. نمای ریزبینی سلولهای ریه گروه دریافت کننده ۲۰ mg/kg لیندن، که تخریب سلولها و وجود خونریزی شدید در آلوئولها مشاهده می شود. (رنگ آمیزی هماتوکسیلین ائوزین - درشت نمایی 40x)



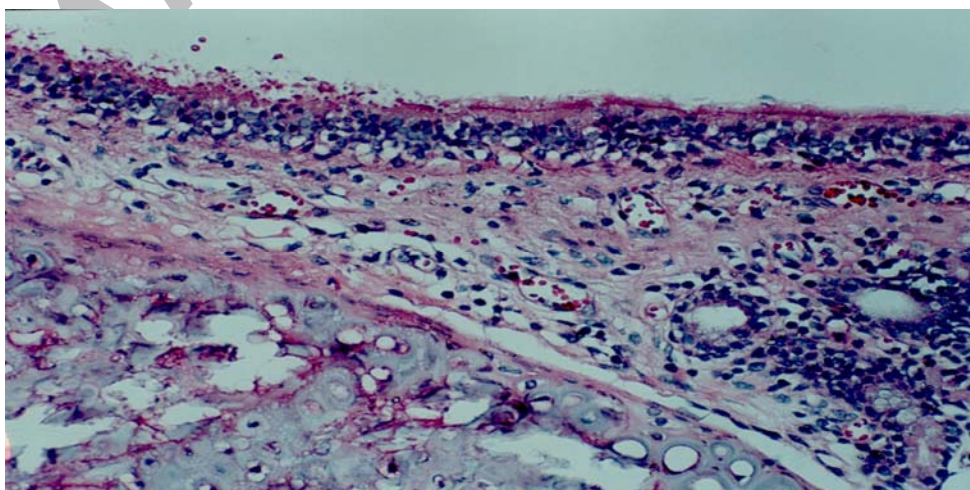
تصویر ۵. نمای ریزبینی سلولهای اپی تلیال تراشه گروه دریافت کننده اتیل استات، که بافت تراشه به صورت مطبق کاذب مژه دار می باشد. (رنگ آمیزی هماتوکسیلین ائوزین - درشت نمایی 40x)



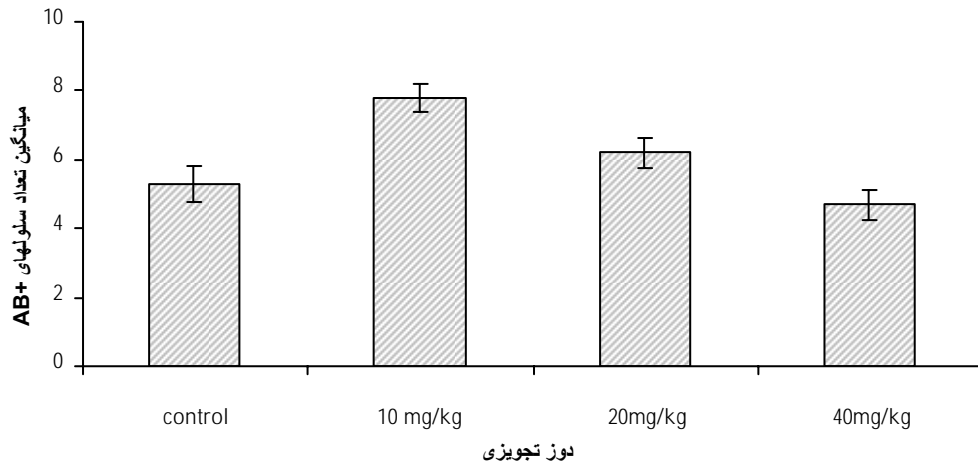
تصویر ۶- نمای ریزبینی سلولهای اپی تلیال تراشه گروه دریافت کننده 10mg/kg لیندن، که تعداد مژه ها و رنگ پذیری سلولها کاهش یافته است. (رنگ آمیزی هماتوکسیلین اتوزین- درشت نمایی 40x)



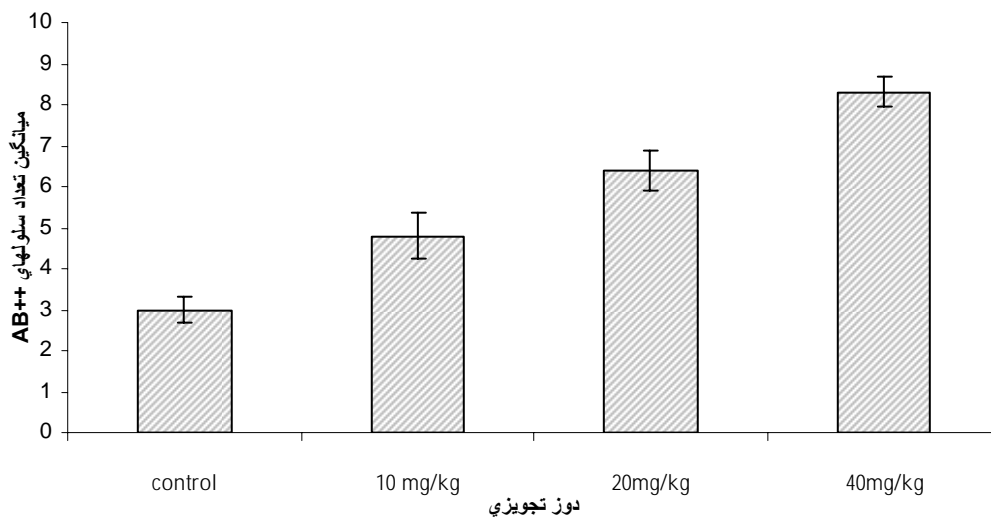
تصویر ۷- نمای ریزبینی سلولهای اپی تلیال تراشه گروه دریافت کننده ۲۰ mg/kg لیندن که اندازه سلولها کوتاهتر شده و واکوئل مشاهده می شود. (رنگ آمیزی هماتوکسیلین اتوزین- درشت نمایی 40x)



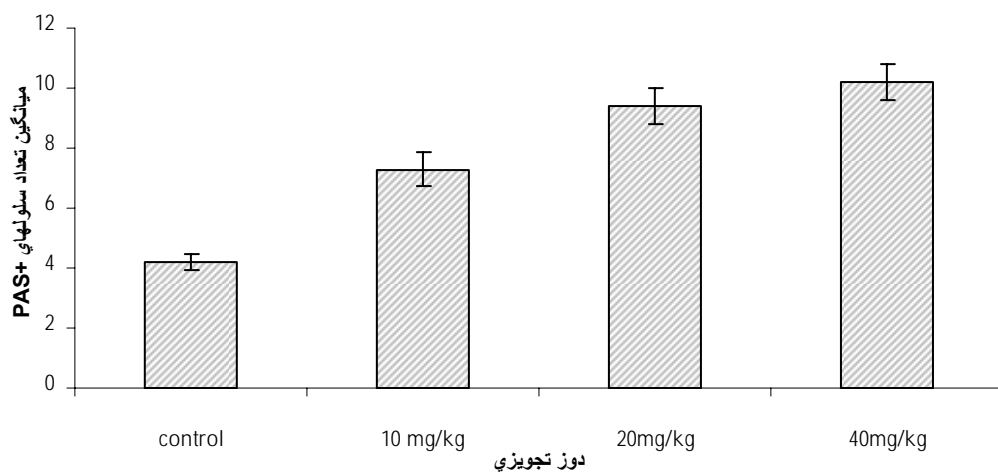
تصویر ۸- نمای ریزبینی سلولهای اپی تلیال تراشه گروه دریافت کننده 40mg/kg لیندن، که اندازه سلولها کوتاهتر شده، تعداد مژه ها کاهش یافته و واکوئل مشاهده می شود. (رنگ آمیزی هماتوکسیلین اتوزین- درشت نمایی 40x)



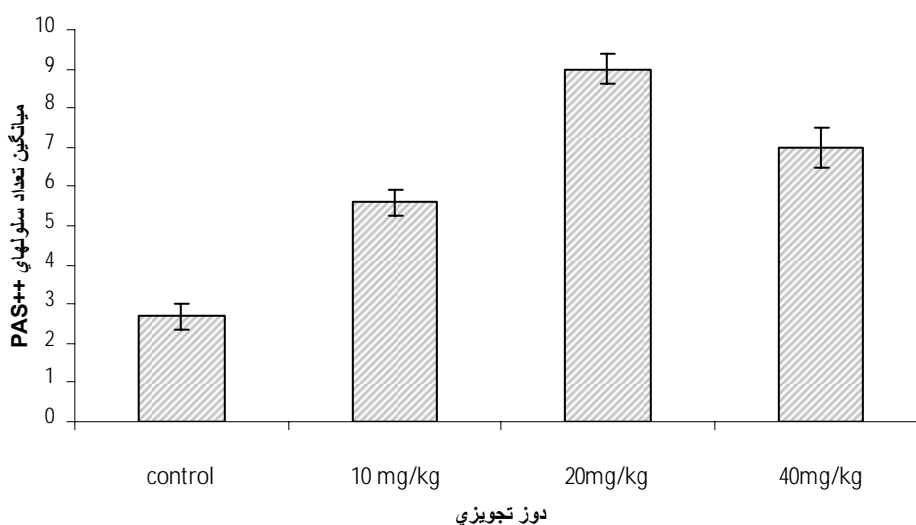
نمودار ۱. اثر لیندن بر روی سلولهای ترشحی گلیکوپروتئین اسیدی AB⁺ در تراشه موش صحرائی



نمودار ۲. اثر لیندن بر روی سلولهای ترشحی گلیکوپروتئین اسیدی AB⁺⁺ در تراشه موش صحرائی



نمودار ۳. اثر لیندن بر روی سلولهای ترشحی گلیکوپروتئین خنثی PAS⁺ در تراشه موش صحرائی



نمودار ۴. اثر لیندن بر روی سلولهای ترشحی گلیکوپروتئین خشتی PAS⁺⁺ در تراشه موش صحرایی

۴- بحث

مطالعه در مورد اثرات نامطلوب آفت کش ها بر روی ارگانهای مختلف بسیار محدود می باشد. آثار نامطلوب این ترکیبات شامل اختلالات عصبی (توسط ترکیبات ارگانوکلره)، اختلال سیستم تنفسی (توسط پاراکوات)، سوختگی های شیمیایی (توسط آمونیاک بدون آب) و هموگلوبینمی نوزادان (توسط نیترات موجود در آب) می باشد. انواعی از سرطانها به ویژه سرطان مربوط به سلولهای خون ساز و همچنین اختلالات ایمنولوژیکی (۲۲) و تغییرات شدید در اپی تیوم مخاط دستگاه گوارش، هیپرتروفی و ریزش (desquamation) سلولهای مخاطی (۱۳) و همچنین اختلالات ژنتیکی در سلولهای مخاطی بینی و معده پس از مسمومیت انسان با انواع آفت کش ها دیده شده است (۲۳).

ترکیبات کلره پس از جذب در بدن به علت حلالیت زیاد در چربی در غدد فوق کلیوی، کبد، کلیه و بافت چربی ذخیره می گردند. تجمع آفت کش هادر بدن، به غلظت مصرفی آفت کش ها، مدت زمان مصرف و مقدار بافت چربی بدن بستگی دارد (۴). در این تحقیق اثرات لیندن روی سلولهای اپی تلیال تراشه موش صحرایی مورد بررسی قرار گرفته است. نتایج حاصل از این بررسی نشان می دهد که ایجاد آسیب روی سلولهای اپی تلیال تراشه شامل سلولهای مژه دار و غیر مژه دار در اثر لیندن می باشد. همچنین نتایج نشان دهنده افزایش میزان آسیب سلولهای اپی تلیال تراشه به موازات افزایش دوز دریافتی از لیندن می باشد (شکل های ۱، ۲، ۳ و ۴).

مطالعه اثرات لیندن بر روی بدن، بیشتر بر اثرات آن روی سلولهای خون، کبد، کلیه متمرکز بوده و اطلاعات بسیار

محدودی در مورد اثرات لیندن روی سلولهای اپی تلیال تراشه وجود دارد. با توجه به اینکه لیندن از جمله ترکیباتی است که توسط آنزیمهای سیتوکروم P₄₅₀ متابولیزه می شود، آسیب ایجاد شده توسط لیندن در سلولهای غیر مژه دار اپی تلیال تراشه ممکن است نشان دهنده این باشد که سلولهای غیر مژه دار توانایی متابولیزه نمودن لیندن را داشته و توانسته اند متابولیت های سمی تولید نمایند و این متابولیت ها موجب آسیب سلولهای غیر مژه دار می گردند و یا آنزیم های میکروزومال کبدی با متابولیزه نمودن لیندن، متابولیت های سمی تولید نموده و این متابولیت ها از طریق جریان خون به سلولهای غیر مژه دار تراشه رسیده و موجب آسیب سلولهای غیر مژه دار می گردند (۲۴). با توجه به اینکه کبد نقش قابل توجهی در متابولیسم لیندن دارد و موجب کاهش گلوکوتایون کبدی و افزایش خروج لاکتات دهیدروژناز سلولهای کبدی می شود (۲۵)، بنابراین لیندن توسط سلولهای غیر مژه دار تراشه متابولیزه شده و متابولیت های سمی تولید می شوند و هم توسط آنزیمهای میکروزومال کبدی متابولیزه شده و به متابولیت های سمی تبدیل شده و این متابولیت ها از طریق جریان خون به سلولهای غیر مژه دار تراشه رسیده و موجب آسیب سلولهای غیر مژه دار می گردند.

آسیب ایجاد شده توسط لیندن در سلولهای مژه دار اپی تلیال تراشه ممکن است به علت متابولیسم لیندن و تبدیل این ترکیب به متابولیت های سمی توسط سلولهای مژه دار اپی تلیال تراشه و یا آنزیمهای میکروزومال کبدی باشد. محققین گزارش داده اند که بین سلولهای اپی تلیال تراشه کوچک هندی اتصالات شکافی (Gap junction) وجود داشته و مواد سمی می توانند توسط این اتصالات از سلولهای غیر مژه دار به سلولهای مژه دار

نشان دهنده دخالت O_2^- و H_2O_2 در تولید رادیکال هیدروکسیل است (۲۹). رادیکال هیدروکسیل می‌تواند موجب آسیب سلولی شود. رادیکال هیدروکسیل می‌تواند با بازهای پورین و پیریمیدین DNA واکنش دهد و رادیکالهایی تولید نماید که خواص شیمیایی متفاوتی داشته باشند. این رادیکال توانایی جدا نمودن اتم هیدروژن را از ملکولهای بیولوژیکی مثل تیولها را دارا می‌باشد. رادیکال RS^- می‌تواند با اکسیژن ترکیب شده و تولید رادیکال اکسی سولفور مثل RSO_2^- و RSO^- نماید که تعدادی از آنها موجب آسیب ملکولهای بیولوژیک می‌شوند. همچنین رادیکال هیدروکسیل باعث پیشبرد واکنشهای زنجیری رادیکالی به نام پراکسیداسیون لیپید می‌شود (۲۶). Stohs و Bagchi همچنین نشان دادند که انکوباسیون لیندن با میکروزومهای سلولهای کبدی، توسط روش اسپکتروفلورومتری تغییراتی در سیالیت غشا نشان داده اند. لیندن میکروویسکوزیته ظاهری غشا میکروزوم سلولهای کبدی را ۲/۵ برابر افزایش داده که این نشان دهنده یک کاهش قابل توجهی در سیالیت غشا است. ولی مطالعات دیگر نشان داده که گاهی لیندن باعث افزایش سیالیت غشا سلولها می‌شود (۹).

۵- نتیجه گیری

نتایج حاصل از این بررسی نشان دهنده توانایی لیندن در ایجاد آسیب در بافت ریه و تراشه می‌باشد. که مقدار آسیب در بافت ریه به موازات افزایش دوز دریافتی از لیندن می‌باشد. علاوه بر این مطالعات دیگر نشان داده که لیندن موجب کاهش سلولهای فاگوسیت کننده موجود در ریه می‌شود (۳۰). در سلولهای پنوموسیت نوع II، سیستم‌های منواکسیژناز وابسته به سیتوکروم P450 وجود دارد و این سیستم‌ها می‌توانند لیندن را متابولیزه نمایند. با توجه به اینکه اغلب تحقیقات انجام شده در مورد لیندن بیشتر درباره اثر آن روی سلولهای خونی، کبد و کلیه متمرکز می‌باشد و تحقیق بسیار کمی در مورد اثر آن روی بافت ریه انجام شده است، مکانیسم‌های احتمالی آسیب سلولهای پنوموسیت نوع II ناشی از متابولیزه نمودن لیندن و ایجاد متابولیت‌های سمی می‌باشد و این متابولیت‌ها موجب آسیب سلولهای پنوموسیت نوع II می‌شوند. آنزیمهای میکروزومال کبدی با متابولیزه نمودن لیندن متابولیت‌های سمی تولید نموده و این متابولیتها از طریق جریان خون به سلولهای پنوموسیت نوع II رسیده و موجب آسیب این سلولها می‌گردند.

منتقل شوند (۲۴). Bagchi و Stohs نشان دادند که آسیب حاصل از لیندن در نواحی مختلف تراشه یکسان نمی‌باشد. عدم یکسان بودن مقدار آسیب ممکن است ناشی از تفاوت توانایی سلولهای اپی‌تلیال در متابولیزه کردن لیندن باشد. همچنین نشان دادند که انکوباسیون میتوکندری و میکروزوم سلولهای کبدی برای مدت ۳۰ دقیقه در حضور لیندن باعث تولید گونه‌های اکسیژن واکنشگر می‌شوند که تولید اکسیژن واکنشگر به وسیله تولید نور حاصل از اکسیداسیون chemiluminescence و احیای سیتوکروم C مشخص می‌شود. تولید نور حاصل از اکسیداسیون یک اندازه‌گیری حساس اما غیراختصاصی برای تولید رادیکال آزاد می‌باشد (۹). یک رادیکال آزاد ممکن است الکترون خود را به ملکولهای دیگر بدهد (رادیکال احیا کننده) و یا ممکن است برای تشکیل زوج الکترون از ملکولهای دیگر الکترون بگیرد (رادیکال اکسید کننده). همچنین رادیکال آزاد می‌تواند به یک غیر رادیکال ملحق شود. اگر هر یک از این حالات رخ دهد ماده غیر رادیکالی به یک ماده رادیکالی تبدیل می‌شود و در نتیجه این واکنشها، رادیکالهای متعددی تولید شده و یک واکنش زنجیری به وجود می‌آورند (۲۶). تولید آنیون سوپراکسید (O_2^-) ناشی از تجویز لیندن را می‌توان توسط مقدار احیای سیتوکروم C اندازه‌گیری نمود. در اثر انکوباسیون میتوکندری سلولهای کبدی به همراه لیندن افزایشی در احیای سیتوکروم C به میزان ۷/۵ برابر دیده می‌شود (۹). Junqueira و همکارانش نشان دادند که وقتی لیندن با دوز ۶۰ mg/kg به صورت خوراکی به موشهای صحرائی تجویز شد محتوی سیتوکروم P450 کبدی و همچنین تولید رادیکال سوپراکسید در ۲۴ ساعت بعد از تجویز لیندن افزایش یافت (۲۷). آنیون سوپراکسید به عنوان رابط اثرات میتوژنیک تومورزهای مختلف از جمله لیندن در یاخته‌های کبدی است (۲۸). Hobson و همکارانش نشان دادند که آنیون سوپراکسید تولید شده از تجویز لیندن، می‌تواند با عمل دیسموتاسیون (Dismutation) به پراکسید هیدروژن H_2O_2 تبدیل شود که پراکسید هیدروژن تولید شده موجب آسیب مژه‌ها می‌گردد و اگر یونهای فلزی انتقالی (Transitional-metal ions) حضور داشته باشند، رادیکال واکنشگر هیدروکسیل (OH^-) نیز تولید می‌شود (۱۲). همچنین آنیون سوپراکسید و پراکسید هیدروژن تولید شده می‌توانند با همدیگر ترکیب شوند و یون هیدروکسیل و رادیکال هیدروکسیل تولید نمایند. وقفه تولید رادیکال هیدروکسیل توسط سوپر اکسید دیسموتاز و کاتالاز به ترتیب

References:

1. Guyton A.C. Anatomy and physiology, Saunders college publishing, New York, 1985, 589-604.
2. Quiera J. Translated by Molavi N., Mokhtari m., Montazeri M., Basic human histology, first edition, Argmand publication, 1993 , 124-126 & 459-485.
3. Ganong W. Translated by Moatamedi F., Shadan F., Generalities of medical physiology, 14th edition, Chehr publication, 1990, 1270-1271.
4. Mosaddegh M.S. Licensed pesticides and their application in Iran, first edition, Lorestan protection of plants Administration publication, 1984, 3-17 & 40-115.
5. Weyer G. Translated by Soleyman negadeian A., Self teaching of pesticides, first edition, Ahwaz University of Jondishapur publication, 1990, 19-51.
6. Baghdians A., Sanaee GH., insecticides and their application route in health programs, first edition, Tehran university publication, 1970, 6-51.
7. Haddad W. clinical management of poisoning and drug overdose, Saunders Company, 1990, 1083-1087.
8. http://www.inchem.org/chemical_safety_information_from_intergovernmental_organization.
9. Bagchi M., Stohs S.J. Invitro induction of reactive oxygen species, by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin, Endrin, and Lindane in rat peritoneal macrophages, and hepatic mitochondria and microsomes. Free. Radic. Biol. Med., 1993, 14(1): 11-18.
10. Munawwar A. K., Mohammad A. M., Mirza U.B. Effect of intracheally administered lindane on Aldrin and benzo (a) pyrene contents in lungs of Rats. Toxicology Letters, 1993, 69(1): 63-67.
11. Anuradha R., Michael L.K., Naveen L.S., Alexis T.K., Geneva M.O. Lindane stimulates neutrophils by selectively activating phospholipase C and phosphoinositide-kinase activity. Environmental Toxicology and Pharmacology, 2005, 19(2): 313-322.
12. Hobson J., Wright J., Churg A. Histochemical evidence for generation of active oxygen species on the apical surface of cigarette-smoke-exposed Tracheal Explants. Am. J. Path., 1991, 139: 573-580.
13. Junqueira V.B.C., Osvaldo R.K., Arisi A.C.M., Paula A.F., Azzalis L.A., Barros S.B.M., Cravero A., Farré S., Videla L.A. Regression of morphological alterations and oxidative stress-related parameters after acute lindane-induced hepatotoxicity in rats. Toxicology, 1997, 117(2-3): 199-205.
14. Ferrando M.D., Andreu-Moliner E. Lindane-induced changes in carbohydrate metabolism in Anguilla Anguilla. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology, 1992, 101(2): 437-441.
15. Dede E.B., Dogara F.M. The acute Toxicological effects of Gammalin 20 on the lung and Pancreas of Guinea Pig. Journal of Applied Sciences and Environmental Management, 2004, 8(1): 33-35.
16. Reynolds J.E.F., et al. Martindale the Extra pharmacopoeia 29, the pharmaceutical press, London, 1989, 904 & 1428.
17. Lung L.G. manual of histologic staining methods of the Armed forces Institute of pathology, Mack publishing company, London, 1985, 5-30 & 98-120.
18. Pousti I. comparative histology and histotechnique, second edition, Tehran University publication, 1989, 364-373.
19. Troyer H. principles and techniques of histochemistry, Browned company Inc., London, 1980, 10-100.
20. Daniel vaine w., translated by Ayat Ollahi S.M.T., Principles and methods in statistics, Amir kabir publication, 1999, 192-298.
21. Sanford B., Charles B. pharmaceutical statistics Practical and Clinical Applications. Marcell Dekker, INC., NewYork, 2004, 223-260 & 517-531.
22. Weisenburger D.D. human health effects of agrichemical use. Hum. Pathol., 1993, 24(6): 571-576.
23. Pool-Zobel B.L., Guigas C., Klein R., Neudecker Ch., Renner H.W., Schmezer P. Assessment of genotoxic effects by Lindane. Food and Chemical Toxicology, 1993, 31(4): 271-283.
24. Rashidi M., thesis for pharm D degree, Investigation the effects of N-acethyl systeine on tracheal epithelial cells damage caused by smoke inhalation, Ahwaz University of Jondishapur, No. 65, 1995.
25. Silvia F.P., Jimena C., Magdalena V.M., Silvia F., Daniel A.W. Integrated survey on toxic effects of lindane on neotropical fish: Corydorax paleatus and Jenynsia multidentata. Environmental Pollution, 2008, 156(3): 775-783.
26. Halliwell B., Sacramento, California. Reactive oxygen species in living system: source, Biochemistry, and Role in human disease. Am. J. Med., 1991, 91(3C), 14-22.
27. Junqueira V.B., Simzu K., Van-Halsemma L., Koch O.R., Barros S.B., Videla L.A. Lindane-Induced oxidative stress. I. Time course of changes in hepatic microsomal parameters, antioxidant enzyme, Lipid peroxidative indices and morphological characteristics, Xenobiotica, 1988, 18(11): 1293-1304.
28. Romano F., Andreis P.G., Marchesini C., Paccagnella L., Armato U. Studies on the mechanisms by which tumor promoters stimulate the growth of primary neonatal Rat hepatocytes. Toxicol. Pathol., 1986, 14(3): 375-385.
29. Lemaire P., Matthews A., Forlin L., Livingstone D.R. Stimulation oxyradical production of hepatic microsomes of flounder (*Platichthys flesus*) and perch (*Perca fluviatilis*) by model and pollutant xenobiotics, Arch. Environ. Contam. Toxicol., 1994, 26(2): 191-200.
30. Kopec S.J., Szczepanska I., Grabarczyk M., Podstawka U. Late toxic effects of long term exposure to lindane in peripheral blood cells in rabbits. I. Function impairment and structural disturbances in leucocytes, Mater. Med. Pol., 1990, 22(3): 179-183.