فصلنامه یافته‌های زیست شناسی
جلد 8، **شماره** 1

بررسی اثر دیازینون برسطح آنزیم‌های کبدی در خون قورباغه نر *Rana ridibunda*

سیما نصری[1]، حمیدرضا مهاجرانی[2]، لیلا قاسم‌زاده*[3]

تاریخ دریافت: 90/8/20 **تاریخ پذیرش:** 90/11/12

چکیده

دیازینون از جمله حشره کشهای ارگانوفسفره است که امروزه به شکل گسترده‌ای جهت مصارف و فعالیتهای کشاورزی مورد استفاده قرار میگیرد وبه عنوان یک آلاینده زیست محیطی مضر در دنیا شناخته شده است.
هدف این پژوهش بررسی اثر دیازینون برسطح آنزیم‌های کبددر خون قورباغه Rana ridibunda بود. بدین منظور پس از انجام آزمون بقا وتعیین حد کشندگی دیازینون، 72 سرقورباغه بالغ نر از مرداب انزلی با وزن تقریبی 100 تا 150 گرم جهت انجام آزمایش انتخاب گردیده و به 9 گروه 8 تایی شامل یک گروه کنترل (قرار گرفته درمعرض آب فاقد دیازینون) و 8 گروه تیمار تقسیم گردیدند. حیوانات به ترتیب در معرض غلظت‌های 30و 60و 90و 120 میکروگرم در لیتر دیازینون قرارگرفتند و به ازای هر یک از غلظت ها، دو مقطع زمانی جداگانه یک روزه و یک هفته‌ای درنظرگرفته شد. سپس ازقورباغه‌ها خونگیری شده و بعد از سانتریفیوژ با 2500 دور در 10 دقیقه، سرم خون توسط سمپلر جدا گردیده و آنزیم آلکالین فسفاتاز، به روش فتومتریک DGKC و آنزیمهای آسپارتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز به روش فتومتریک IFCC اندازه گیری شدند. افزایش معنی‌دارآنزیم آلکالین فسفاتاز در غلظت‌های 30و 60و 90و 120 میکروگرم در لیتر و در فواصل زمانی 24 ساعت و یک هفته و افزایش معنی‌دار آنزیمهای آسپارتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز در غلظت‌های 60و 90و 120 میکروگرم در لیتر در فاصله زمانی یک هفته بود($P<0.05$)،
نتایج این طرح بیانگر اثر افزایش دهندگی غلظت‌های زیرکشنده دیازینون بر سطح خونی آنزیم‌های کبدی بود. که نشان دهنده افزایش فعالیت آنزیمهای آلکالین فسفاتاز، آسپارتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز و پاسخ سم زدایی کبد بر اساس مدل کوتاه مدت اثر دیازینون میباشد.

کلمات کلیدی: دیازینون، آنزیمهای کبدی، قورباغه نر ایرانی.

1. عضو هیات علمی دانشگاه پیام نور ایران.
2. عضو هیات علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اراک.
*3. کارشناس ارشد علوم جانوری. Email: Leyla.ghasemzadeh@gmail.com

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

دیازینون یک حشره کش ارگانوفسفره است که امروزه به شکل گسترده‌ای جهت مصارف و فعالیتهای کشاورزی، دامپروری وحتی برای سمپاشی ساختمانهای مسکونی مورد استفاده قرار میگیرد (1) وبه عنوان یک آلاینده زیست محیطی مضر در دنیا شناخته شده است (2).

این سم از زمینهای کشاورزی شستشو شده وبه راحتی در رودخانه‌ها وتالابهای نزدیک مزارع پراکنده میشود وزندگی انسانها و جانوران را تحت تاثیر خود قرار میدهد (3) دیازینون در آب محلول نبوده وبه سرعت تجزیه میشود. عوامل و شرایط خاصی همچون کاهش دما، افزایش شرایط قلیایی، خشکی و فقدان تجزیه کننده‌های میکروبی، سبب پایداری آن به عنوان یک آلاینده در محیط زیست میشوند (3).

فعالیت دوزیستانی از جمله قورباغه در طبیعت از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است و از نظر اقتصادی به علت ارتباط زیستی با سایر جانوران وجایگاه خاص خود در زنجیره غذایی، حائز اهمیت میباشند. این نقش اکولوژیکی این جانور را به عنوان موجودی ارزشمند در ایجاد تعادل اکولوژیکی مطرح میکند.

در اکوسیستم‌های آبی ماهیان و دوزیستان از طریق دهانی و پوست در معرض این آلاینده قرار می‌گیرند (4).

ورود و جذب سم دیازینون در کبد سبب افزایش سطح آنزیم AST, ALT, ALP در سرم خون موش و خرگوش می‌گردد(6و5).

افزایش سطح ALP ناشی از توقف ترشح اسیدهای صفراوی است. افزایش مقدار ALT نیز پیامد نکروز سلول‌های کبدی میباشد. بالا رفتن میزان AST نیز در اثر آسیب به عضله قلبی یا آسیبهای سلول‌های کبدی میتواند باشد (4).

غلظت زیر کشنده دیازینون آنزیم AST, ALT کبدی، آبشش و کلیوی را به طور معنی‌داری در ماهی Clarias gariepinus کاهش میدهد (7).

غلظتهای مختلف 25، 50، 100 و250 mg/kg دیازینون، پس از 24 ساعت بر سطح مقدار AST, ALT, ALP, LDH ، آمیلاز، لیپاز وکولین استراز در موش صحرایی مورد بررسی قرار گرفته و تمامی دوزها، فعالیت کلیه فاکتورهای فوق به جز LDH را افزایش دادند و LDH تنها در دوز 100 و 200 mg/kg افزایش معنی‌داری را نشان داد. دوز 300 mg/kg سبب مرگ کلیه موش‌ها گردید (8).

اثرات این سم بر فعالیت آنزیمی و محتوای پروتئینی ماهیان آب شیرین نشان داده است که فرایند بیوشیمیایی بر اثر به هم خوردن هموئوستازی مختل می‌گردد (9).

تا کنون مطالعه‌ای که به بررسی اثر دیازینون برسطح آنزیم‌های کبددر خون قورباغه Rana ridibunda پرداخته باشد، یافت نشده است.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش که بصورت تجربی ومورد- شاهدی انجام شد، 72 سرقورباغه نر که از تالاب مرداب انزلی جمع‌آوری شده بودند و وزن تقریبی آنها بین 100 تا 150 گرم بود جهت انجام آزمایش انتخاب گردیدند.

دیازینون مورد استفاده ازنوع تجاری ساخت شرکت شیمیایی سادات مهان کشورایران بودو غلظت‌های 30و 60و 90و 120 میکروگرم برلیترازآن تهیه شد.

تعیین محدوده کشندگی: محدوده کشندگی دیازینون به ترتیب شامل بیشترین غلظتی از دیازینون است که هیچ گونه مرگ و میر به همراه ندارد و کمترین غلظتی که باعث 100٪ تلفات می‌گردد برای تعیین محدود ه کشندگی دیازیتون در گروه‌های ده تایی از قورباغه‌ها تعیین شده و شرایط آزمایش را همانند آزمایش بقا فراهم آوردیم (10).

تعیین مشخصات فیزیکوشیمیایی آب فاقددیازینون: میزان سختی با روش تیتراسیون به وسیله EDTA مشخص شد سختی کل به میزان 85 تعیین شد. دمای آب تقریباً یکسان و معادل 25 درجه سانتی‌گراد بود. pH آب حدود 7/9 بوده که با pH متر اندازه گیری شد.

برای نگهداری قورباغه‌ها از 10 عدد وان فایبرگلاس 20

Archive of SID

www.SID.ir

لیتری استفاده گردید که قبلاً به منظور اطمینان از عدم وجود سایر عوامل آلاینده کاملاً شسته شده بودند. سپس تا ارتفاع10 سآنتی‌متری از محلولهای سم دیازینون با غلظتهای مورد نظر پر شدند.

قورباغه‌ها به 9 گروه 8 تایی شامل یک گروه کنترل (قرار گرفته درمعرض آب فاقد دیازینون) و 8 گروه تیمار تقسیم گردیدند به طوری که به ترتیب در معرض غلظت‌های 30، 60، 90 و 120 میکروگرم در لیتر دیازینون و به ازای هر یک از غلظت ها، دو مقطع زمانی جداگانه یک روز ه و یک هفته‌ای درنظر گرفته شد.

پس از گذشت فواصل زمانی مورد نظر، قورباغه‌های هر گروه را با سوزن مخصوص نخاعی کردن، نخاعی شده، پس از جراحی خونگیری توسط سرنگهای انسولین از وریدهای اصلی و قلب انجام شد، خونهای گرفته شده به میکروتیوب منتقل گردید و پس از سانتریفیوژ با 2500 دور در 10 دقیقه، سرم خون توسط سمپلر جدا گردید و به میکروتیوبهای جدید منتقل شد. سپس آنزیم کبدی آلکالین فسفاتاز، به روش DGKC و توسط کیت‌های تشخیص کمی آنزیم مذکور در سرم یا پلاسما به روش فتومتریک ساخت شرکت پارس آزمون و آسپارتات آمینوترانسفراز و آلانین امینوترانسفراز و اسیدفسفاتاز به روش IFCC[2] و توسط کیت‌های تشخیص کمی آنزیم‌های مذکور در سرم یا پلاسما با روش فتومتریک شرکت پارس آزمون اندازه گیری گردیدند.

در هر گروه از آزمایشات اثر دوزهای مختلف به صورت میانگین وانحراف معیار در 8 قورباغه ثبت گردید. جهت تعیین وجود اختلاف معنی‌دار میان گروه‌هایی که غلظتهای متفاوت سم را دریافت کرده بودند، از آنالیز واریانس یکطرفه و به دنبال آن تست توکی استفاده شد و اختلاف $P<0.05$ به عنوان مرز استنتاج آماری در نظر گرفته شد.

برای انجام محاسبات آماری از نرم افزار SPSS14 استفاده گردید.

بعد از گذشت یک هفته (168 ساعت) از قرار دادن قورباغه‌ها در وانهایی که 48 ساعت قبل از آن توسط آب فاقد دیازینون در شرایط شاهد آزمایشگاهی پر شده بودند، هیچ یک از نمونه‌ها از بین نرفتند.

بعد از قرار گرفتن قورباغه‌ها به مدت 96 ساعت در معرض غلظتهای مختلف دیازینون نتایج زیر حاصل شد که در جدول (1)آورده شده است. بنابراین میتوان حد کشندگی را 210 میکروگرم در لیتر محاسبه کرده و غلظتهای 120، 150، 180میکروگرم در لیتررا به عنوان غلظتهای زیر کشنده تعیین نمود.

جدول 1- نتایج آزمون حد کشندگی

غلظت(میکروگرم برلیتر)	درصد تلفات پس از 96ساعت
210	٪100
180	٪80
150	٪20
120	٪0

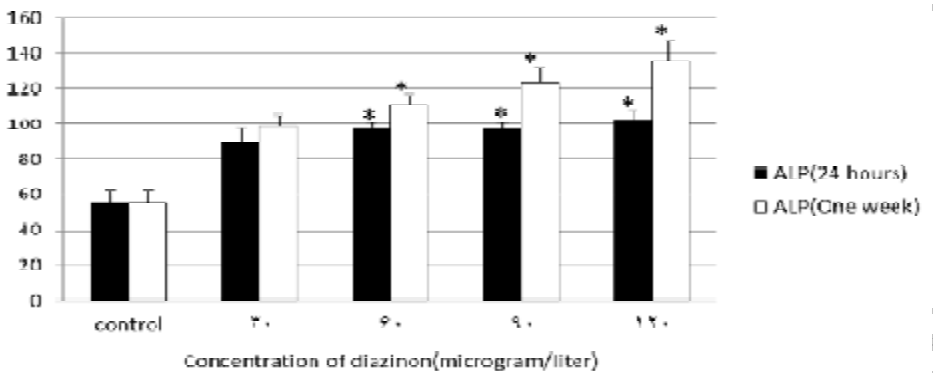
نتایج

نتایج حاصل از قرار گرفتن نمونه‌های*Rana ridibunda* در معرض غلظتهای مختلف دیازینون در فواصل زمانی 24ساعت و یک هفته و مقایسه آنها با گروه شاهد که درآب فاقد دیازینون قرار گرفته بودند، نشان داد میانگین مقدار آنزیم آلکالین فسفاتاز در گروه کنترل 54/75 و در بین گروه‌های قرارگرفته در معرض دیازینون کمترین میانگین مقدار این آنزیم 89/75 بوده که مربوط به گروه قرار گرفته در معرض دیازینون با غلظت 30 میکروگرم در لیتر در 24 ساعت و بیشترین میانگین مقدار این آنزیم 135/38 بوده که متعلق به گروه قرار گرفته در معرض دیازینون با غلظت 120 میکروگرم در لیتر در یک هفته بود.

بنابراین نتایج حاصل از قرار گرفتن نمونه‌های *Rana ridibunda* در معرض غلظتهای مختلف دیازینون در فواصل زمانی 24ساعت و یک هفته و مقایسه سطح آنزیم آلکالن فسفاتاز در آنها با گروه شاهد که درآب فاقد دیازینون قرار گرفته بودند، اختلاف معنی‌داری با غلظت‌های 60، 90 و 120 میکروگرم درلیتردر فواصل زمانی24 ساعت و یک هفته بود (شکل 1).

Archive of SID

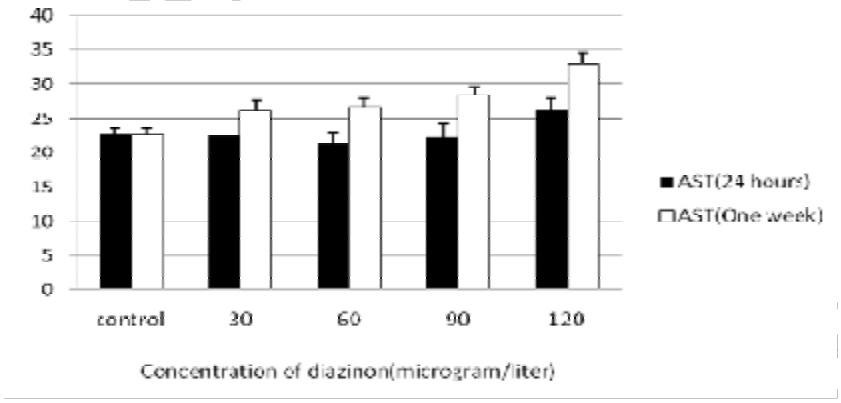
www.SID.ir



شکل 1- میانگین مقادیرآنزیم آلکالن فسفاتاز درغلظت‌های 30، 60، 90 و 120 میکروگرم درلیتر دیازینون در24ساعت و یک هفته

نتایج حاصل از قرار گرفتن نمونه‌های *Rana ridibunda* در غلظت‌های 30، 60، 90 و 120 میکروگرم درلیتر در فواصل زمانی 24 ساعت و یک هفته برآنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز نشان داد، میانگین مقدار آنزیم آسپارتات آمینوترانسفرازدر گروه کنترل 22/61 و در بین گروه‌های قرارگرفته در معرض دیازینون کمترین میانگین مقدار این آنزیم 21/28 بوده که متعلق به گروه قرار گرفته در معرض دیازینون با غلظت 60 میکروگرم در لیتردر24 ساعت بود و بیشترین میانگین مقدار این آنزیم 32/96 بود که متعلق به گروه قرار گرفته در معرض دیازینون با غلظت 120 میکروگرم در لیتر در یک هفته بود.

بنابراین، نتایج حاصل از قرار گرفتن نمونه‌های *Rana ridibunda* در معرض غلظتهای مختلف دیازینون در فواصل زمانی 24ساعت و یک هفته و مقایسه سطح آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز در آنها با گروه شاهد که درآب فاقد دیازینون قرار گرفته بودند، نشان داد این اختلاف با غلظت‌های 30، 60، 90 و 120 میکروگرم درلیتر در 24 ساعت از یک طرف و غلظت 30 میکروگرم درلیتر در یک هفته از طرف دیگر، معنی‌دار نبود. اما نشان دهنده اختلاف معنی‌داری با غلظت‌های 60، 90 و 120میکروگرم درلیتر در یک هفته بود. (شکل 2)

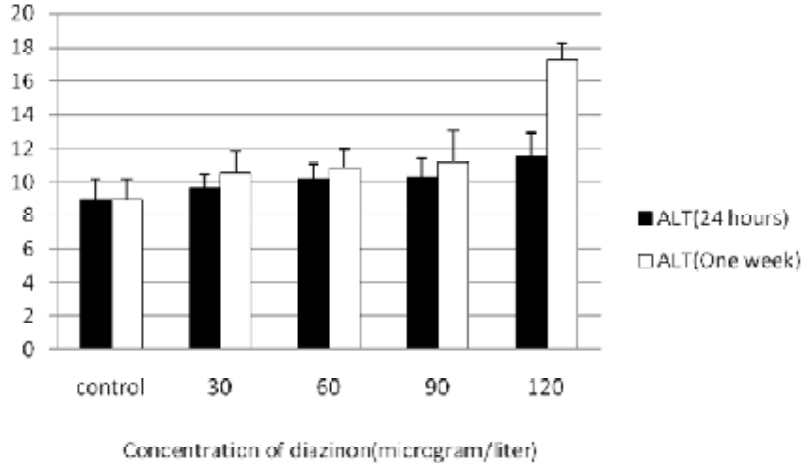


شکل 2- میانگین مقادیر آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز در غلظت‌های 30، 60، 90 و 120 میکروگرم در لیتر دیازینون در24 ساعت و یک هفته

Archive of SID

www.SID.ir

نتایج حاصل از قرار گرفتن نمونه‌های *Rana ridibunda* در معرض غلظتهای مختلف دیازینون در فواصل 24 ساعت ویک هفته، و مقایسه آنها با گروه شاهد که درآب فاقد دیازینون قرار گرفته بودند، نشان داد میانگین مقدار آنزیم آلانین آمینوترانسفراز در گروه کنترل 8/98 و در بین گروه‌های قرارگرفته در معرض دیازینون کمترین میانگین مقدار این آنزیم 9/65 بوده که متعلق به گروه قرار گرفته در معرض دیازینون با غلظت 30 میکروگرم در لیتردر 24 ساعت و بیشترین میانگین مقدار این آنزیم 17/25 بود که متعلق به گروه قرار گرفته در معرض دیازینون با غلظت 120 میکروگرم در لیتر در یک هفته بود. نتایج حاصل از قرار گرفتن نمونه‌های *Rana ridibunda ridibunda* در گروه شاهد که درآب فاقد دیازینون قرار گرفته بودندبا گروه‌های قرار گرفته در معرض غلظتهای مختلف دیازینون در فواصل زمانی 24ساعت و یک هفته و مقایسه سطح آنزیم آلانین آمینوترانسفراز در آنها با، نشان داد این اختلاف با غلظت‌های 30، 60، 90 و 120 میکروگرم درلیتر در 24 ساعت از یک طرف و غلظت 30 میکروگرم درلیتر در یک هفته از طرف دیگر، معنی‌دار نبود. اما نشان دهنده اختلاف معنی‌داری با غلظت‌های 60، 90 و 120 میکروگرم درلیتر در یک هفته بود (شکل 3).



شکل 3- میانگین مقادیر آنزیم آلانین آمینوترانسفراز غلظت‌های 30، 60، 90 و 120 میکروگرم درلیتر دیازینون در24 ساعت و یک هفته

Archive of SID

www.SID.ir

بحث و نتیجه‌گیری

دیازینون پس از جذب توسط کبد ممکن است به متابولیت‌های دی اکسان و تترا اتیل مونو پیروفسفات شکسته شود و این ترکیبات هستند که استیل کولین استراز را مهار می‌کنند (11).

دیازینون بر روی حمل و نقل مواد از غشاء میتوکندری تاثیر می‌گذارد، فعالیت سیستم سیتوکروم P450 را در سلول‌های کبدی مختل می‌کند و به علت حمله الکترونی به اجزای درون سلول تولید رادیکال آزاد می‌کند(14و13و12).

گوکسیمن و همکاران در تحقیقات خود در سال 2010 موش‌های صحرایی را 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 به علاوه تولید میزان زیاد رادیکال آزاد در سلول‌های کبدی را ذکر نموده‌اند (15) که این نتایج توسط محققین دیگری نیز تایید گردیده است (17و16)

میزان سم زدایی دیازینون در پستانداران و گونه‌های دیگر با هم متفاوت است. برای مثال در خوکچه هندی دیازینون نشاندار شده با رادیواکتیو در طی هفت روز به طور کامل از بدن دفع شده است که حدود 87٪ از دوز به صورت خوراکی داده شده از طریق ادرار از بدن دفع شده است. به طور کلی سمیت دیازینون در پستانداران نسبتا پایین است. متابولیتهای دیازینون‌دارای پیوند فسفری اتوکسی *(ethoxy)* می‌باشند که این پیوند در رت کمتر شکسته می‌شود. شواهد پژوهشی بیانگر هیدرولیز این پیوند توسط سیستم آنزیمی کبد می‌باشد. این مطالعات که روی رت انجام شده است نشان دهنده آن است که هدف اصلی از این هیدرولیز و نیز تجزیه بقیه پیوندها از جمله پیوند متیل فسفات متعلق به *Methyl parathion, Methyl paraxon* و *Sumithion*، کاهش گلوتاتیون می‌باشد (18).

حذف دیازینون از بدن ماهی به مراتب سریعتر از حذف آن از بدن نرم تنانی همچون حلزون می‌باشد (19). سم زدایی از طریق هیدرولیز اوکسون (Oxon) توسط آریل استراز وابسته به کلسیم و یا هیدرولیز آن با استفاده از کربوکسیل استرازها صورت می‌گیرد (20). اگرچه بخش زیادی از دیازینون توسط کلیه‌ها دفع می‌شود اما آنزیمهای میکروزومی کبد، دیازینون را اکسیده کرده و یک سری مهارگرهای قدرتمند استیل کولین استرازی از جمله دیازوکسون، هیدروکسی دیازوکسون و هیدروکسی دیازینون را تولید می‌کنند (21).

دیازینون بر روی متابولیسم پروتئینها و اسیدنوکلئیک کبدی اثر منفی می‌گذارد. که البته به دوز و مدت زمان تماس با آن بستگی‌دارد (22).

آنزیمهای سرمی شامل آلکالین فسفاتاز، آسپارات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز اصولاً جهت ارزیابی آسیبهای کبدی بررسی می‌شوند. اگرچه این آنزیمها لزوما اختصاصی نیستند اما افزایش در فعالیت آنزیمهای فوق منعکس کننده تخریب فعال کبد است. حشره کشهای ارگانوفسفره مانند دیازینون می‌تواند سبب افزایش فعالیت آنزیمهای آلکالین فسفاتاز، آسپارتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز شوند، تغییرات سطوح این آنزیمها معمولا بسته به زمان و دوز قرار گرفتن در معرض دیازینون متفاوت می‌باشد (20) که با نتایج این مطالعه همخوانی داشت.

به نظر میرسد در مطالعه حاضر افزایش سطح آلکالین فسفاتاز ناشی از توقف ترشح اسیدهای صفراوی بوده و افزایش مقدار آلانین آمینوترانسفراز احتمالا پیامد نکروز سلول‌های کبدی بوده و بالا رفتن آسپارتات آمینوترانسفراز نیز ممکن است حاصل آسیب وارد بر سلول‌های کبدی باشد.

تحقیقات موارواتی در سال 1977، گومز و همکاران در سال 1999 و سیراستاوا در سال 1999 تایید کننده این نکته است که مسمومیت با ارگانوفسفره‌ها مانند دیازینون باعث افزایش فعالیت آنزیمهای آلکالین فسفاتاز، آسپارتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینو ترانسفراز می‌گردد (23و6و5) . که با نتایج مطالعه حاضرهمخوانی داشت.

Archive of SID

www.SID.ir

فعالیت آلکالین فسفاتاز در حیوانات سالم اساسا مربوط به ایزوآنزیم کبدی است و افزایش آلکالین فسفاتاز سرم معمولا ناشی از کولستاز و توقف ترشح اسیدهای صفراوی است. فعالیت آسپارتات آمینوترانسفراز تقریبا در میتوکندری تمام سلول‌ها وجوددارد و افزایش فعالیت آن می‌تواند مربوط به آسیب‌های کبدی یا عضله قلبی باشد. فعالیت آلانین آمینوترانسفراز در کبد به حد کافی بوده و در صدمات غشایی و نکروز سلول‌های کبد فعالیت این آنزیم در خون افزایش می‌یابد (24) . نتیجه مشابه دیگری را کلندر و همکاران در سال 2005 افزایش فعالیت آنزیمهای آلکالین فسفاتاز، آسپارتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز را در موش‌های صحرایی که با دیازینون مسموم شده بودند گزارش کردند و علت آن را آسیب به بافت کبد موش‌ها اعلام کردند (23) که در توافق بایافته‌های پژوهش حاضر می‌باشد.

محمد صلاح و همکاران نیز در سال 2008 در آزمایشات خود بر روی موش افزایش فعالیت آنزیمهای آسپارتات آمینو ترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز را براثر این سم گزارش کردند. توسلی و همکاران نیز در سال 1389 در آزمایشات خود بر روی خرگوش افزایش فعالیت آنزیمهای آلکالین فسفاتاز، آسپارتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز را گزارش کردند (25). که با نتایج مطالعه حاضر کاملا همخوانی داشت.

در مطالعه دیگری دوزهای 50 و 25 میلیگرم در کیلوگرم تاثیری بر آنزیمهای کبدی نداشت اما دوزهای 200 و100 میلیگرم در کیلوگرم سبب افزایش آنزیمهای آسپارتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز شده بود(26) که عدم همخوانی برخی از یافته‌های فوق با مطالعه حاضر میتواند ناشی از انتخاب دوزهای متفاوت دیازینون باشد.

تحقیقات کنات گول در سال 2006 که در آن غلظتهای 25، 50، 100و250 میلیگرم در کیلوگرم دیازینون، پس از 24 ساعت بر سطح مقدار آنزیمهای آلکالین فسفاتاز، آسپارتات آمینوترانسفراز، آلانین آمینوترانسفراز، LDH، آمیلاز، لیپاز و کولین استراز در موش صحرایی مورد بررسی قرار گرفته و کلیه دوزها، فعالیت کلیه فاکتورهای فوق به جز LDH را افزایش دادند و LDH تنها در دوز 100 و 200 میلیگرم در کیلوگرم افزایش معنی‌داری را نشان داد. دوز 300 میلیگرم در کیلوگرم سبب مرگ کلیه موش‌ها گردید که شواهد فوق بیانگر اثر وابسته به دوز دیازینون می‌باشد (27). همچنین در مطالعه دیگری دوز 50 میلیگرم در کیلوگرم در رت هیچ تغییر هیستوپاتولوژیکی مشاهده نشده است اما فعالیت آنزیمهای آلکالین فسفاتاز، آسپارتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز افزایش یافته است (23). که یافته‌های هردومطالعه فوق با نتایج این پژوهش همخوانی داشت.

در رت اگر دیازینون با دوز 32/5 میلیگرم در کیلوگرم استفاده شود، ممکن است آنزیم‌های کولین استراز، مالات و لاکتات دهیدروژناز، آسپارتات آمینوترانسفراز، کراتین کیناز، آلکالین فسفاتاز را در بافت و پلاسما کاهش داده و غلظت گلوکز و پتاسیم را افزایش دهد (28) برخی از یافته‌های فوق با مطالعه حاضر همخوانی ندارند و این میتواند ناشی از انتخاب دوز بیشتر دیازینون باشد.

براساس تحقیقات وو و همکارانش در سال 1998 فعالیت کولین استراز در ناحیه بین لوبولی کبد رت به تدریج با تحلیل رفتن هپاتوسیتها کاهش پیدا کرده است (29). سموم ارگانوفسفره از جمله دیازینون باعث کاهش تولید پروتئینها و تخریب چربیها میشوند (30و5). اشگار و همکاران در سال 1994 در مطالعات خود کاهش متابولیسم پروتئینها را متعاقب مسمومیت با سموم ارگانوفسفره بیان کرده‌اند (31). یکی از علل تغییر چربی در کبد و نکروز سلول‌های کبدی همین پدیده میباشد و در این راستا پژوهشی در سال 1998 و تحقیقات بانرژی و همکاران در سال 1999 با بررسی‌های خود که بر روی موش و خرگوش انجام گرفت، این نتایج را تصدیق نموده‌اند (30).

ژاکوف و همکاران در سال 2000 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 در کبد ملتهب

Archive of SID

www.SID.ir

دانسته‌اند (20).

نتایج این طرح نشانگر اثر افزایش دهندگی غلظت‌های زیرکشنده دیازینون بر سطح خونی آنزیم‌های کبدی بود. فعالیت آنزیمهای آلکالین فسفاتاز، آسپارتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز میتواند با تغییرات سلول‌های کبدی همراه باشد که نشانگر پاسخ سم‌زدایی کبد بر اساس مدل کوتاه مدت اثر دیازینون است.

Archive of SID

www.SID.ir

منابع

1. Dutta H. M., Meijer H. J, Subletal effects of diazinon on the structure of the testis of bluegill, lepomis mocrochirus: a microscopic analysis. *Environ. Pollute*., 2003; (125): 355- 360.

2. Hill E. F., Wildlife toxicology of organ phosphorus and carbamate pesticides. In: Hoffman, D. J., Rattner, B. A., Burton Jr. G. A., Cairns Jr. J. (Eds.), Handbook of Ecotoxicology. *Lewis Publishers., Boca Raton*. USA. 2003.

3. EISLER, R., The effect of diazinon on hematological indices of common carp(Cyprinus carpio L.), Bull. Environ. Contam. *Toxicol*, 1986; (58): 135–141

4. Reigart J. R., Roberts J. R., Recognition and management of pesticide poisoning. (5th ed). United States Environmental Protection Agency. *Washington*, D. C, U. S. A. 1999.

5. Gomes J., Dawodu A. H., Lloyd O., Revitt D. M. and Anilal S. V., Hepatic injury and disturbed amino acid metabolism in mice following prolonged exposure to organophosphorus pesticides. *Hum. Exp. Toxicol*., 1999; (18): 33- 37.

6. Morowat M., Inhalation toxicity studies of thimet (phorate) in male Swiss albino mouse, Mus musculus. I. Hepatotoxicity. Environ. *Pollut*. 19997; (96): 283- 288.

7. Inyang, IR., Daka ER. And Ogamba, EN., Effect of Paraquat Dichloride on Some Metabolic and Enzyme Parameters of Clarias gariepinus, Current Research Journal of State University of Science and Technology, Port Harcourt, *Nigeria*., 2011; 70- 78.

8. Ansari, B. A., Alsalam, M. and Kumar, K., Diazinon toxicity: activities of acetyl cholinesterase and phosphatases in the nervous tissue of Zebra Danio, Brachydanio rerioc Cyprinidaej. *Acta Hydrobiol*., 1987; (15); 301- 306.

9. Wedemeyer, GA., McLeay, DJ, . 1981. Methods for determining the tolerance of fishes to environmental stressors, In Stress and fish. AD Pickering. *Academic Press, London and New York*., 1981; 247- 275

10. OECD: (1984, 1987, 1990), Guiden lines for testing chemicals. No. 203 and 204. OECD, paris.

11- Schrader G, CONSTITUTION AND EFFECT OF ORGANIC PHOSPHORSUS COMPOUNDS., *Z Naturforsch* B., 1963; (18): 965 - 75.

12. Kappers W. A., Edwards R. J., Murray S. and Boobis A. R., Diazinon is activated by CYP2C19 in human liver. *Toxicol. Appl. Pharmacol*., 2001; (177): 68- 76.

13. Sams C., Cocker J. and Lennard M. S., Metabolism of chlorpyri- fos and diazinon by human liver microsomes. *Toxicol. Lett*., 2003; (144): 146.

14. Nakagawa Y., Moore G., Role of mitochondrial membrane permeability transition in p- hydroxybenzoate ester- induced cy-totoxicity in rat hepatocytes. *Biochem. Pharmacol*., 1999; (58): 811- 816.

15. Gockcimen A., Gulle k., Demirin H., Bayram D., Kocak A. and Altunsa I., effects of diazinon at different doses on rat liver and pancreas tissues., *Pest. Bp*., 2010; (87): 103- 108.

16. Rebl, A.,(2012)Identification of differentially expressed protective genes in liver of two rainbow trout strains Original *Research Article, Veterinary Immunology and Immunopathology*, 145, 1–2, 15, 305- 315**.**

17. Kalender S., Ogutcu A., Uzunhisarcikli M., Acikgoz F., Durak D., Ulusoy Y. and Kalender Y., Diazinon- induced hepatotoxicity and protective effect of Vitamin E on some biochemical indices and ultrastructural changes., *Toxicology*., 2005; (211): 197- 206.

18. W. Mucke Ko., Alt, Esser H. O. and Agric J., Degradation of Diazinon in rat., *J. Agric. Food Chem*., 18 (1970) 208. 97 14

19. Kanazawa Jun,, Bioconcentration Ratio Of Diazinon by freshwater Fish and snail. Trans AM *Fish Soc*., 1978; 97. 39.

20. Zaahkouk S. A. M., Helal E. G. E., Abd- Rabo T. E. I., Rashed S. Z. A., Carbamate toxicity and protective effect of Vit. A and Vit. E on some biochemical of male albino rats. *Egypt J. Hosp. Med*., 2000; (1): 60- 77.

21. www. who. 1998

22. Ansari BA, Kumar K., Diazinon toxicity: effect on protein and nucleic acid metabolism in the liver of zebrafish, Brachydanio rerion (Cyprinidae). *Sci Total Environ*., 1988; (8): 63- 8

23. Kalender S., Ogutcu A., Uzunhisarcikli M., Acikgoz F., Durak D., Ulusoy Y. and Kalender Y., Diazinon- induced hepatotoxicity and protective effect of Vitamin E on some biochemical indices and ultrastructural changes. *Toxicology*., 2005; (211): 197- 206.

24. Mojabi A., Veterinary clinical biochemistry. *nourbakhsh Publication. Tehran, Iran*., 2000.

25. توسلی، عباس، صولتی، امیرعلی، کوهی، محمد کاظم، مرجانمهر، سیدحسن، نکویی جهرمی، امیدعلی مطالعه ریزبینی تغییرات بافتی و کلینیکال پاتولوژی اعضا مختلف خرگوش در اثر تماس جلدی با سم دیازینون، تهران: مجله تحقیقات دامپزشکی، 1390، دوره 66، شماره 2، 103- 112.

26. Dede E. B., Simini A., Electroencephalographic study of the interaction between dichlorvos and lindane in rat brain., *Nig. J. Neur*., 2001; (4): 21- 26.

Archive of SID

www.SID.ir

27. Kanat Gulle, H., Demirin, D Bayram and et al., Effects of diazinon at different doses on rat liver and pancreas tissues, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2007; (87): 103- 108.
28. Luskova V., Svoboda M. and Kolarova J., The effect of diazinon on blood plasma biochemistry in carp. *ACTA VET BERNO*., 2002; (71): 117- 123.
29. Wu H. X., Evreux- Gros C., Descotes J., Diazinon toxic kinetics, tissue distribution and anticholinesterase activity in the rat. *Biomed*. *Environ. Sci*., 1996; (9): 359- 69.
30. Banerjee B. D., Seth V., Bhattacharya A., Pasha S. T. and Chakraboty A. K., Biochemical effects of some pesticides on lipid per- oxidation and freeradical scavengers. *Toxicol. Lett*., 1999; (107): 33- 47.
31. Ashgar M., Sheikh M. A., Hashmi A., Effects of orally fed methyl parathion on some hematochemical parameters of rabbits. *Pakistan. Vet. J*., 1994; (14): 34- 36.

Archive of SID

www.SID.ir