

بررسی تاثیر سم ارگانوکلره آندوسولفان بر پارامترهای خونی در موش صحرایی

دکتر مهرداد مدرسی^۱، محمد رضا سیف^۲

گروه علوم دامی -دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوارسگان، اصفهان، ایران، گروه زیست شناسی -دانشگاه پیام نور اصفهان، اصفهان، ایران.

تاریخ دریافت: ۸/۱۲/۲ تاریخ نهایی: ۱۹/۲/۱۷ اصلاح نهایی: ۱۹/۵/۱۰ تاریخ پذیرش: ۱۹/۵/۱۰

چکیده:

زمینه و هدف: آندوسولفان به عنوان یک حشره کش و کرم کش ارگانوکلره استفاده وسیعی در کنترل حشرات دارد. این سم در انسانها و حیوانات از طریق خوراکی، استنشاقی و پوستی قابل جذب می باشد. این مطالعه با هدف بررسی تاثیر سم ارگانوکلره آندوسولفان بر پارامترهای خونی در موش صحرایی انجام شد.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی^۴ سر موش صحرایی به پنج گروه تقسیم شدند. گروه کنترل هیچ ماده ای دریافت نکرد، گروه دارونما سرم فیزیولوژی و گروه تجربی ۱، ۲ و ۳ به ترتیب آندوسولفان با دوز ۵، ۱۰ و ۲۰ میلیگرم به ازای هر کیلو گرم وزن بدن هر سه روز یکبار به مدت ۲۱ روز از طریق گواژ دریافت کردند. در پایان آزمایشات موشها با کلروفرم بیهوش شده، خونگیری از قلب انجام گرفت و فاکتورهای خونی با روش های استاندارد آزمایشگاهی مورد ارزیابی قرار گرفت. داده ها به کمک آزمون های آماری آنالیز واریانس یک طرفه و دانکن تجزیه و تحلیل شدند.

یافته ها: تجزیه و تحلیل نتایج نشان داد، میزان گلوبول های سفید و مونوپلیت ها، افزایش معنی دار ($P < 0.05$) و گلوبول های قرمز، لنفوپلیت ها و پلاکت ها در گروه های تجربی کاهش معنی داری ($P < 0.05$) نسبت به گروه کنترل داشتند.

نتیجه گیری: آندوسولفان در دراز مدت اثرات قابل ملاحظه ای بر فاکتورهای خونی داشته که می تواند باعث آسیب های جدی و حتی کم خونی و بیماری های مرتبط گردد و لذا در مصرف آن باستینی احتیاط کرد.

واژه های کلیدی: آندوسولفان، پارامترهای خونی، موش صحرایی.

مقدمه:

میلیارد دلار آفت کش در بخش های مختلف از جمله کشاورزی، جنگلداری و غیره مورد استفاده قرار می گیرد (۲). بدلیل مصرف بالا، مواجهه افراد با این سموم افزایش یافته و در نتیجه عوارض و اثرات سوء آن بر سلامت انسان ها نیز افزایش می یابد. انجمن سلامت عمومی آمریکا تخمين زده است که قریب به ۱۲۷۵۰۰۰ کشاورز آمریکایی با آفت کش های مختلف تماس دارند (۳). نکته قابل توجه اینکه در کشورهای در حال توسعه در مقایسه با کشورهای توسعه یافته بدلیل افزایش مصرف و در دسترس بودن انواع آفت کش ها، مسمومیت با این سموم نیز از میزان بروز بالایی برخوردار است. به عنوان مثال تنها در کشور چین

انسانها برای جلوگیری از نابودی و از بین رفتن محصولات کشاورزی خود که با صرف هزینه، زحمت و زمان بسیار بدست می آید و همچنین بدلیل رشد جمعیت و محدودیت های موجود در تولید محصولات مختلف غذایی از روش های مختلفی جهت کنترل و دفع آفات نباتی استفاده می نمایند. یکی از رایج ترین این روشهای استفاده از سموم دفع آفات می باشد. تعریفی که آزانس حفاظت از محیط زیست آمریکا از آفتکش ارایه داده است بدین صورت است که آفتکش ماده یا مخلوطی از مواد است که به منظور پیشگیری، نابودی، دفع یا کاهش هرگونه آفت بکار می رود (۱). بررسی ها نشان می دهد که تنها در ایالات متحده سالیانه بیش از ۲

محیط های کشت سلولی دارد (۹). آندوسولفان به عنوان یک بر هم زننده ی تعادل سیستم آندوسولفان تجاری طرح است (۱۰). در پستانداران آندوسولفان تجاری به متابولیت هایی که در آب محلول ترند بیشتر به آندوسولفان سولفات و کمتر اتر دیول تبدیل می شود. تمام این متابولیت ها بسته به چربی دوستی آنها در بافت های چربی تجمع می یابند (۱۱). Deema و همکارانش پس از تیمار موش های ماده c Balb/c با دوزهای مشخصی از آندوسولفان، گزارش کردند که آندوسولفان و دو ایزومر آن به طور کامل از لوله گوارش جذب نمی شوند ولی به همراه متابولیت های خود، آندوسولفان سولفات و دیول، در مدفع دفع می شوند و تنها متابولیت آندوسولفان که در ادرار یافت می شود دیول می باشد (۱۲).

با توجه به استفاده زیاد سم آندوسولفان توسط کشاورزان در کشور و به دلیل مصرف این سم در محصولات جالیزی (۸) به نظرمی رسید که این سم به علت قرار گرفتن در بین سومون پرخطر کلره باعث تغییرات فیزیولوژیک در بخش های مختلف بدن از جمله سلول های خونی می گردد.

با در نظر گرفتن اثرات جانی ناخواسته و درجه سمیت بالا هدف این تحقیق تاثیر سم آندوسولفان بر روی سلولهای خونی در موش است.

روش بررسی:

در این مطالعه تجربی تعداد ۴۰ سر موش نر صحرایی بالغ (حدود دو ماه سن و وزن ۱۸۰-۲۰۰ گرم) از نژاد اسپراگک داولی از موسسه سرم سازی رازی خریداری و به پنج گروه هشت تایی تقسیم شدند:

گروه ۱: ۵ میلی گرم، گروه ۲: ۱۰ میلی گرم و گروه ۳: ۲۰ میلی گرم بر کیلو گرم وزن بدن سم دریافت کردند، به گروه دارونما: فقط محصول نمکی ۹ درصد خورانده شد و گروه کنترل: هیچ ماده ای دریافت نکرد.

نمونه ها در لانه حیوانات دانشگاه پیام نور

تخمین زده شده است که مسمومیت با آفتکش ها که غالباً از نوع سوم ارگانوفسفره و ارگانو کلره می باشد سبب مرگ حدود ۱۷۵۰۰ نفر در سال می شود (۴). از این رو بدليل حجم بالای سوم آفت کش مصرفی، مواجهه انسان با اینگونه سومون تقریباً غیر قابل اجتناب بوده و می تواند بصورت غیرعمدی و تصادفی و متعاقب استفاده از سومون آفتکش و باقی ماندن آنها در محیط زیست و نیز اشیاء موجود در محیط اتفاق افتد (۵). طبق مطالعه های انجام شده میزان وقوع مسمومیت در کشورهای در حال توسعه ۱۳ برابر بیشتر از کشورهای صنعتی می باشد. همچنین کشورهای در حال توسعه ۸۵ درصد از تولید جهانی آفت کش هارا مصرف می نمایند (۶). در کشور ما بر اساس اطلاعات مرکز آمار ایران در سال ۱۳۸۰ مقدار فروش سومون به ۲۷/۲ هزار تن رسیده است (۴).

خواص فیزیکی و شیمیایی سوم آلی کلر دار و متابولیت های آنها، سبب می شود که این ترکیبات به سهولت وارد بدن موجودات شوند. حلایت بالا در چربی و حلایت کم در آب این ترکیبات منجر به تجمع آنها در بافت چربی می شود. میزان تجمع در موجودات بر حسب نوع، مدت و غلظت تماس در شرایط محیطی فرق می کند. این تجمع پذیری می رساند که اثرات سمی می تواند در موجودات و نقاط دورتر از منطقه آلوده رخ دهد سرعت های تجزیه بیولوژیکی و شیمیایی این ترکیبات بسیار پایین بوده و به سهولت توسط خاک و رسویات جذب می شوند که اینها می توانند در دراز مدت منبع آلودگی برای موجودات زنده در خاک باشند. موجودات زنده می توانند این مواد را از طریق غذا و محیط اطراف جذب کنند (۷).

آندوسولفان بر روی سیستم تناسلی ماده موثر است، باعث تاخیر در بلوغ جنسی شده و در سنتز هورمون های جنسی اختلال ایجاد می کند (۸). Jamil و همکارانش عنوان کردند که آندوسولفان توانایی ایجاد تغییر در ماده ژنی به طور ویژه کروموزوم ها را در

آزمون های آماری آنالیز واریانس یک طرفه و دانکن مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته ها:

بین میانگین گلوبول های قرمز خون گروه تیمار با دوز 20mg/kg سم آندوسولفان و گروه تیمار با دوز 10mg/kg سم آندوسولفان با گروه کنترل کاهش معنی دار وجود داشت ($P<0.05$). اما بین گروه تیمار با دوز تجربی 5mg/kg سم آندوسولفان و گروه دارو نما با گروه کنترل تفاوت معنی دار وجود نداشت (جدول شماره ۱).

بین میانگین هموگلوبین گروه تیمار با دوز 20mg/kg سم آندوسولفان و گروه کنترل کاهش معنی دار وجود داشت ($P<0.05$). اما بین سایر گروه های تجربی و گروه دارو نما با گروه کنترل، تفاوت معنی داری وجود نداشت (جدول شماره ۱).

بررسی میانگین تعداد گلوبول های سفید مشخص نمود بین میانگین گروه تیمار با دوز تجربی 20mg/kg سم آندوسولفان و گروه کنترل افزایش معنی دار وجود دارد ($P<0.05$). اما بین سایر گروه های تجربی و گروه دارو- دارونما با گروه کنترل، تفاوت معنی داری وجود نداشت (جدول شماره ۱).

بررسی میانگین درصد لنفوسيت ها مشخص نمود بین میانگین گروه تیمار با دوز 20mg/kg سم آندوسولفان

اصفهان در دمای ۱۷-۲۵ درجه سانتیگراد و شرایط نور طبیعی و دسترسی آزاد به آب و غذا به مدت دو هفته برای سازگاری با محیط نگهداری شدند. این شرایط در طول آزمایش نیز برقرار گردید. از آنجا که نحوه اثر این سم گوارشی و تماسی است، لذا روش خوراندن از طریق لوله گوارش انتخاب شد. ابتدا موشهای دقت وزن و بعد از انجام محاسبه ها مقدار لازم آندوسولفان خوراکی تعیین و هر سه روز یکبار به مدت ۲۱ روز گواژ گردید.

جهت انجام عمل خون گیری حیوان مورد نظر را در ظرف شیشه ای مخصوص دیسیکاتور با کلرو فرم بیهوده و سپس با خواباندن حیوان به پشت با نوک انگشتان محل قلب مشخص می شد و با سرنگ های ۵ سی سی یا $10\text{~S}\mu\text{l}$ میکروتیوبی که آغشته به ماده ضد انعقادی «EDTA» بود ریخته شد و پس از انتقال به آزمایشگاه، فاکتورهای خونی، WBC، RBC و پلاکت ها توسط دستگاه SYS-MEX اندازه گیری شد و تعداد هر یک از فاکتورهای خونی تعیین گردید. پس از مشخص شدن تعداد هر یک از فاکتورهای خونی، میزان اثرات سم آندوسولفان در گروه های آزمایش و کنترل پس از بررسی نرمال بودن داده ها به کمک

جدول شماره ۱: مقایسه تاثیر سم آندوسولفان بر میانگین فاکتورهای خونی در موش صحرایی

گروه های تیمار			دارونما	کنترل	گروه ها	
20mg/kg	10mg/kg	5mg/kg			متغیر	
$14/56\pm0/76^*$	$14/67\pm0/786$	$15/12\pm0/91$	$16/95\pm0/45$	$17/33\pm0/53$	هموگلوبین (g/dL)	
$8/22\pm0/55^*$	$8/90\pm0/76^*$	$9/43\pm0/43$	$11/01\pm0/68$	$11/03\pm0/72$	گلوبول قرمز ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	
$26/97\pm1/27^*$	$18/9\pm4/39$	$17/35\pm3/20$	$16/32\pm1/85$	$16/18\pm1/48$	گلوبول سفید ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	
$75/5\pm6/92^*$	$7+4/7^*$	$1/375\pm0/52$	$1/2\pm0/63$	$1/1\pm0/53$	منوسیت (درصد)	
$22/625\pm6/69^*$	$73/75\pm2/651$	$91/25\pm3/19$	$83/678\pm5/45$	$83/5\pm0/37$	لنفوسيت (درصد)	
$27/5\pm8/43^*$	$179\pm67/31^*$	$4781\pm165/11^*$	$829/60\pm198/2$	$833/785\pm204/54$	پلاکت ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	

* $P<0.05$ نسبت به گروه کنترل.

گلbul قرمز در مقابل مواد اکسیدان آسیب پذیر و طول عمر آن کمتر شود.

۴- کاهش هموگلوبین خون به همراه کاهش در RBC ممکن است ناشی از تاثیر آفت کش ها روی اندام های سازنده خون در رت ها باشد. مراحل متعددی در بیوسترن هم (heme) توسط بقایای آفت کش ها مهار می شود که این احتمالاً یک علت فیزیولوژیک عمده و مهم برای نتایج بدست آمده می باشد تحقیقات نشان داده است که آفت کش های ارگانو کلره هماتولوژی و شیمی خون را در حیوانات آزمایشگاهی که در معرض این مواد قرار گرفته اند و نیز در محیط زندگی انسان ها و حیات وحش تغییر می دهند (۸).

همچنین ثابت شده است که مواد حشره کش و علف کش های مورد استفاده در کشاورزی باعث آسیب به هموگلوبین و کاهش موثر در مقادیر اریتروسیت ها می گردند که در دراز مدت ممکن است باعث آنمی گرددند (۱).

در تحقیقات قبلی تاثیر آفت کش ها بر روی هموگلوبین خون در کارگران متعددی بررسی شده که با نتایج این مطالعه همخوانی دارد (۵).

مطالعه ای که توسط Jyotsna و همکاران روی گلbul های قرمز خون صورت گرفت نشان داد که قرار گرفتن در معرض آفت کش ها باعث مداخله در بیوسترن هموگلوبین و کوتاه کردن طول عمر اریتروسیت ها گردش خون علت عمده توسعه آنمی می تواند مد نظر قرار گیرد (۸).

میانگین تعداد گلbul های سفید در گروه های آزمایشی ۱، ۲ و ۳ بیشتر از گروه کنترل می باشد ولی تفاوت میانگین ها از لحاظ آماری فقط در گروه آزمایشی ۳ (تیمار با دوز تجربی ۲۰ mg/kg) با گروه کنترل معنی دار می باشد یعنی با افزایش دوز سم میانگین تعداد گلbul های سفید بیشتر شده و در گروه ۳ با گروه کنترل افزایش معنی داری مشاهده شده است.

علت افزایش گلbul های سفید می تواند به دلیل

و گروه کنترل کاهش معنی دار وجود دارد ($P<0.05$). اما بین سایر گروه های تجربی و گروه دارو نما با گروه کنترل، تفاوت معنی داری وجود ندارد (جدول شماره ۱). بررسی میانگین درصد مونو سیت ها مشخص نمود بین میانگین گروه تیمار با دوز ۲۰mg/kg سم آندوسولفان و گروه تیمار با دوز تجربی ۱۰mg/kg سم آندوسولفان با گروه کنترل افزایش معنی دار وجود دارد. اما بین گروه تیمار با دوز ۵mg/kg سم آندوسولفان و گروه دارو نما با گروه کنترل تفاوت معنی داری وجود نداشت (جدول شماره ۱).

سم آندوسولفان بر میانگین اوزینوفیل ها و نوتروفیل ها بی تاثیر بوده و تفاوت معنی داری در آنها مشاهده نشد.

بین میانگین میزان پلاکت های گروه های تیمار با دوز ۵ mg/kg، ۱۰g/kg و ۲۰mg/kg سم آندوسولفان و گروه کنترل کاهش معنی داری مشاهده می شود ($P<0.05$) (جدول شماره ۱).

بحث:

میانگین تعداد گلbul های قرمز در گروه های آزمایشی ۲ (تیمار با دوز تجربی ۱۰ mg/kg) آندوسولفان و ۳ (تیمار با دوز تجربی ۲۰ mg/kg آندوسولفان) و مقدار هموگلوبین در گروه ۳، کمتر از گروه کنترل می باشد و تفاوت میانگین ها از نظر آماری معنی دار می باشد.

از دلایل کاهش گلbul های قرمز می توان به موارد زیر اشاره کرد:

۱- آندوسولفان بر روی گلbul های قرمز تاثیر کرده و لیز کردن این سلول ها را سبب می شود. حشره کش ها توانایی آنرا دارند که به غشاء گویچه های سرخ آسیب زده و در نتیجه موجبات نابودی آنها را فراهم سازند (۱).

۲- اختلالات دیواره گلbul های قرمز بر اثر سم باعث تغییر شکل و گیر افتدن گلbul قرمز در طحال می شود.

۳- تغییر اکسید اتیو در آنزیم ها RBC که باعث می شود

آنتی بادی می شود (۱۴).

نتیجه گیری:

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که مواجه شدن با سم آندوسولفان باعث افزایش میزان گلbul های سفید و مونوپوتیت ها و کاهش گلbul های قرمز، لنفوسيت ها و پلاکت ها می شود. تاثیر سم آندوسولفان به دوز و زمان تماس آنها بستگی داشته و با افزایش دوز سم اثرات نامطلوب آن افزایش می یابد.

با توجه به نتایج به دست آمده پیشنهاد می گردد در کاربرد سوموم آندوسولفان در مزارع توجه ییشتی به دوزهای استاندارد شده و در عین حال با توجه به خطرات ناشی از ورود این ترکیبات به زنجیره غذایی حتما زمان منع مصرف قبل از برداشت رعایت گردد.

تشکر و قدردانی:

بدينوسله از تمام کسانی که ما را در اين طرح ياري رساندند قدردانی می گردد.

اشرات سو آندوسولفان بر روی مغز قرمز استخوان (stem cell) و سلول های چند کاره باشد که سبب افزایش فعالیت آنها می باشد. مطالعات قبلی دلیلی بر این مطلب هستند که ترکیبات ارگانو کلره قادرند این پارامتر ها را کاهش دهند (۱۳).

نتایج نشان می دهد که میانگین تعداد لنفوسيت ها در گروه ۳ (تیمار با دوز تجربی ۲۰ mg/kg سم آندوسولفان) کمتر از گروه کنترل می باشد. تفاوت میانگین از لحاظ آماری معنی دار می باشد در حالی که میانگین تعداد لنفوسيت ها در گروه های دیگر نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی داری را نشان نداد.

دلایل کاهش لنفوسيت ها در گروه ۳ آزمایش می تواند به دلیل : ۱- اثرات زیانبار سم آندوسولفان بر گره های لنفاوی و غده تیموس باشد. ۲- سم آندوسولفان باعث سرکوب سیستم ایمنی بدن و در نتیجه کاهش لنفوسيت ها شود مطالعه Susan و همکاران در سال ۱۹۹۹ این مسئله را تایید می کند که آندوسولفان باعث مهار سیستم ایمنی طبیعی و تداخل در محافظت تو سط

منابع:

1. Federal Insecticide (USA). Fungicide and rodenticide act. Environ Protect. 2003; 23: 59-61.
2. US EPA office of pesticide programs. FY annual report. Washington DC: Environmental Protection Agency; 2002. 35: 115.
3. Legaspi JA, Zenz C. Occupational health aspect of pesticides. In: Zenz C (edi.) Occupational medicine. 3rd ed. New York: Mosby Co; 1994. p: 617-53.
4. Dehghani A. [Environmental risks of pesticides in agriculture and veterinary. 2005 Jan. [Cited 2009 Oct 8] Available from: <http://www.farsvet.ir/fa/article/research/1/>] Persian
5. Edwards CA. Environmental pollution by pesticides. 1st ed. London: Plenum Pub; 1983. p: 184.
6. WHO. Multi level course on the safe use of pesticides and on the diagnosis and treatment of pesticide poisoning. Geneva: Course manual; 1978. p: 214-321.
7. Grassman J, Hooper K, Chuvakova T, Kazbekova G, Hayward D, Tule nova A, et al. Analysis of breast milk to assess exposure to chlorinated contaminants in Kazakhstan: sources of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD (exposures in an agricultural regionof southern Kazakhstan. Environ Health Perspect. 1999 Jun; 107(6): 447-57.
8. Azarnaia M. [Effect of endosulfan on oogenesis and ovarian structure in mice. J Biol Sci Arak Azad Univ. 2008; 3(10): 34-9.] Persian

- دکتر مهرداد مدرسی و محمد رضا سعید
9. Jamil K, Shaik AP, Mahboob M, Krishna D. Effect of organophosphorus and organochlorine pesticides (monochrotophos, chlorpyriphos, dimethoate and endosulfan) on human lymphocytes in-vitro. *Drug Chem Toxicol.* 2004 May; 27(2): 133-44.
 10. Walsh LP, Webster DR, Stucco DM. Dimethoate inhibits steroidogenesis by disrupting transcription of the steroidogenic acute regulatory (star) gene. *J Endocrinol.* 2001; 167(2): 253-63.
 11. American Heart Association. Guidelines 2000 for cardiopulmonary resuscitation and emergency cardiovascular care, Part 10: pediatric advanced life support. *Circulation.* 2000; 102(Suppl 8): 306.
 12. Deema P, Thompson E, Ware GW. Metabolism, storage and excretion of C-endosulfan in themouse. *J Econ Entomol.* 2003; 59: 546-50.
 13. JAyub S, Verma J, Das N. Effect of endosulfan and Malathion on lipid peroxidation, nitrite and TNF-alpha release by rat peritoneal macrophages. *Int Immunopharmacol.* 2003 Dec; 3(13-14): 1819-28.
 14. Susan S, Sania P. Endosulfan: a review of its toxicity and its effects on the endocrine system. *WWF (World Wild Life Fund – Canada).* 1999; 11: 123-28.

Cite this article as: Modaresi M, Seif MR. [Effect of an organochlorine insecticide, endosulfan, on blood parameters in Rat. *J Shahrekord Univ Med Sci.* 2011 June, July; 13(2): 26-31.]Persian

*Journal of Shahrekord University
of
Medical Sciences (J Shahrekord Univ Med Sci)*

Received: 21/Feb/2010 Revised: 7/May/2010

Accepted: 11/Aug/2010

Effect of an organochlorine insecticide, endosulfan, on blood parameters in rat

Modaresi M (PhD)*¹, Seif MR (MSc)²

¹Animal Sciences Dept., Islamic Azad University Khorasan Branch, Isfahan, Iran, ²Biology Dept., Isfahan Payame-noor University, Isfahan, Iran.

Background and aim: Endosulfan is an organochlorine insecticide and anti-worm which has a wide range of usage in controlling insects. This toxin can be absorbed through feeding, aspirating and skin in human and animal. This study was aimed to evaluate the effect of Endosulfan on blood parameters in rat.

Methods: In this experimental research, 40 male rats were divided into 5 groups as follows: Control group, didn't receive any substance. Placebo group received normal saline and three experimental groups received 5, 10 and 20 ml/kg Endosulfan (once every 3 days, for 21 days), respectively. Rats received placebo or Endosulfan by gavages. At the end of experiments, rats were anesthetized by chloroform and blood samples were prepared from the heart and finally the blood factors were evaluated using standard methods. Data were analyzed using one way ANOVA and Danten tests.

Results: The amount of monocytes significantly increased ($P<0.05$), however the amounts of RBC, lymphocytes and platelets significantly decreased ($P<0.05$), compared to the ones in control group.

Conclusions: The results of this study demonstrated that long term usage of Endosulfan might have significant effects on blood factors. It can cause anemia, lymphocytopenia and thrombocytopenia. Therefore, more attention should be paid on the usage of this insecticide agent.

Keywords: Blood parameters, Endosulfan, Rat.

Cite this article as: Modaresi M, Seif MR. [Effect of an organochlorine insecticide, endosulfan, on blood parameters in Rat. J Shahrekord Univ Med Sci. 2011 June, July; 13(2): 26-31.] Persian