

تغییرات بیوشیمیایی سرم جوجه‌های گوشتی در مسمومیت کوتاه مدت با آفت کش لیندین

زهره خاکی^{۱*}، جمیله سالارآملی^۲ و وحید لسان^۳ طاهره علی اصفهانی^۲

(۱) گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.

(۲) گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.

(۳) دانش آموخته دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.

(دریافت مقاله: ۱۰ مرداد ماه ۱۳۸۸، پذیرش نهایی: ۴ اردیبهشت ماه ۱۳۸۹)

چکیده

لیندین حالیت بالایی در چربی دارد و در محیط زیست پایدار است، بنابراین تجمع حیاتی آن در زنجیره غذایی از محیط به انسان و حیوانات واقع می‌شود. با هدف بررسی اثرات دوزهای بالایی لیندین بر وزن و برخی پارامترهای بیوشیمیایی سرم، تعداد ۲۵ عدد جوجه گوشتی نژاد "راس ۳۰" روزه به گروه کنترل و چهار گروه تیمار تقسیم شدند. جوجه‌های گروه کنترل هیچ سمی دریافت نکرده؛ اما سایر گروه‌ها به ترتیب جیره حاوی لیندین را به میزان ۳۰۰، ۱۵۰، ۶۰۰ و ۹۰۰ mg/kg دریافت کردند. در پایان روز هفتم، وزن جوجه‌ها اندازه‌گیری و پس از معدوم شدن با روش انسانی نمونه کبد و خون بدون ماده ضد انعقاد جهت تهیه سرم جمع‌آوری گردید. در تحقیق حاضر مشخص گردید که وزن جوجه‌ها در گروه‌های ppm ۶۰۰ و ۹۰۰ نسبت به گروه کنترل و گروه ppm ۱۵۰ و ۳۰۰ به طور معنی‌داری کاهش یافته. همچنین کلیه‌ها در همه گروه‌ها نسبت به گروه کنترل تحت تاثیر قرار گرفته زیرا که اسید اوریک سرم افزایش معنی‌داری را نشان داد. هر چند که این ضایعه کلیوی در گروه ppm ۹۰۰ بسیار شدیدتر از سایر گروه‌ها می‌باشد. افزایش فعالیت AST گروه ۹۰۰ ppm نسبت به گروه کنترل و گروه‌های دیگر معنی‌دار می‌باشد ($p < 0.05$). اندازه‌گیری CPK نشان داد که در گروه ۹۰۰ ppm نسبت به کلیه گروه‌ها و گروه کنترل افزایش معنی‌داری رخ داده است ($p < 0.05$). اندازه‌گیری پارامترهای سرمی پروتئین تام، آلبومین و گلوبولین؛ تری‌گلیسرید، کلسترول، LDL کلسترول، HDL کلسترول، VLDL؛ شاخص لیپید پراکسیداسیون با روش TBARS و همچنین بتا کاروتن و ویتامین A سرم و کبد هیچ تغییر معنی‌داری را نشان ندادند ($p > 0.05$). بنابراین جهت ارزیابی اثرات توکسیک کوتاه مدت لیندین، به طور اولیه می‌توان پیشنهاد نمود که آزمایشات کلیوی (به ویژه اسید اوریک) و آزمایشات عضلانی (به ویژه AST به همراه CPK) اندازه‌گیری گردد. باید برای اندازه‌گیری وزن نیز اهمیت قائل شد.

واژه‌های کلیدی: لیندین، بیوشیمی، لیپید پراکسیداسیون، AST، اسید اوریک، جوجه.

هستند. بنابراین قدرت تجمع‌پذیری در بافت چربی را دارا می‌باشند و در چرخه غذایی انسان قرار می‌گیرند و از طریق شیر و گوشت وارد سیکل غذایی انسان می‌شوند (۶). مواجهه با آلاینده‌ها علاوه بر آن که سلامت طیور را به خطر می‌اندازد، همچنین می‌تواند بر میزان کیفیت تولید هم اثر بگذارد (۱۰).

به دلیل ماندگاری بالای آن در محیط و خطر بهداشت محیط زیست، مصرف این گونه مواد پایدار در اکثر کشورها محدود و یا ممنوع شده است (۵). ولی متأسفانه هنوز هم گزارشات متعددی از مصرف گسترده آن وجود دارد (۱، ۳). با توجه به نیمه عمر طولانی لیندین در خاک، این سم منبع محیطی مهمی برای دریافت آن توسط گیاهان و سپس آلوده شدن جیره غذایی دام‌ها می‌باشد (۶، ۲۰).

لیندین محرک سیستم عصبی است که تشنج‌های شدید صرع مانند ایجاد می‌کند. محل اصلی عملکرد لیندین سیناپس‌ها هستند که هم اثرات تحریکی و هم اثرات مهارکنندگی دارد. لیندین یک عمل تحریکی روی ناقلین سیناپسی داشته و جریان فعال کلراید را از طریق مهار گابا (GABA) در اعصاب و عضلات مهار می‌کند. لیندین اثر مهار روی فعالیت آنزیم‌های Ca^{2+} - Mg^{2+} - Atpase و Na^{+} - K^{+} - Atpase دارد و از این طریق هموستاز کلسیم را تحت تاثیر قرار می‌دهد. کاربرد طولانی مدت

مقدمه

هگزاکلروسیکلو هگزان‌ها (HCHS) گروهی از ترکیبات سنتتیک بوده که دارای ۸ فرم شیمیایی یا ایزومر می‌باشند. مهمترین آن‌ها عبارتند از ایزومرهای آلفا، بتا و گاما. خواص شیمیایی و سمی ایزومرهای HCH با یکدیگر متفاوت می‌باشد. ایزومر گامای این ترکیبات که بیشترین خاصیت حشره کشی و در عین حال بیشترین اثر نورو توکسیسیته را دارا می‌باشد، بنام لیندین شناخته می‌شود. ترکیبات تکنیکال بالای ۹۰ درصد ایزومر گاما را نیز لیندین می‌نامند. این ترکیب قابل تبخیر بوده و در آتمسفر و هوای مناطق مورد استفاده تا شعاع زیادی یافت می‌شود (۵). از این سم در طی سال‌های گذشته در مبارزه با آفات کشاورزی، جهت بر طرف کردن انگل‌های خارجی دام‌ها و همچنین به عنوان جونده کش استفاده می‌شود (۲۰).

محققان دریافته‌اند که این ماده در ناباروری و بیماری‌های دیگر در انسان و حیوانات دخالت دارد. تاکنون اثرات سمیت عصبی، کبدی و ژنوتوکسیسیته لیندین بخصوص در نشخوارکنندگان و ماهی ثابت شده است و از نظر سرطان‌زایی در گروه ۲B سرطان‌زاها (احتمالاً سرطان‌زا) قرار داده شده است (۵، ۱۵، ۱۸). از طرف دیگر این ترکیبات به شدت لیپوفیلیک



مواد و روش کار

در این تحقیق تعداد ۲۵ عدد جوجه گوشتی نژاد "راس" در سن ۳۰ روزگی به ۵ گروه مساوی تقسیم شدند و برنامه واکسیناسیون گله مورد مطالعه به طور معمول انجام گرفت. جوجه‌ها از جیره متداول طیور گوشتی و دسترسی آزاد به آب و غذا استفاده می‌کردند. در طی ۷ روز آلودگی تجربی جوجه‌های گروه کنترل، جیره عاری از سم دریافت می‌کردند؛ در حالی که به جیره غذایی گروه‌های یک تا ۴ دیگر به ترتیب به میزان $900, 600, 300, 150 \text{ mg/kg}$ لیندین اضافه گردید.

لیندین مورد استفاده در این تحقیق از نوع تکنیکال ۹۵ درصد بوده و جیره‌ها به صورت دستی تهیه شد. در پایان روز هفتم، وزن جوجه‌ها اندازه‌گیری گردید و خون‌گیری بدون ماده ضد انعقاد جهت تهیه سرم و نمونه برداری از کبد بعد از ذبح جوجه‌ها انجام شد. سپس نمونه‌های سرم و کبد تا زمان آزمایش به فریز منفی ۲۰ درجه سانتیگراد منتقل گردیده. حداکثر یک هفته بعد از نمونه برداری، میزان ویتامین A و بتا کاروتن کبد و سرم باروش Suzuki و Katoh در سال ۱۹۹۰ اندازه‌گیری گردید (۲۱). جهت اندازه‌گیری پارامترهای مذکور در کبد ابتدا یک گرم از بافت کبد را با ۱۰ سی سی اتانول بوسیله سونیکاتور کاملاً به صورت یک محلول هموزن در آورده و سپس یک سی سی از آن را برداشته و ویتامین A و بتا کاروتن آن همانند سرم اندازه‌گیری گردید. لیپید پراکسیداسیون به روش تیوبار بیتوریک اسید (TBARS) با اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری گردید (۱۱). همچنین مقادیر فعالیت آسپاراتات آمینو ترانسفراز (AST) (روش کارمن)، کراتین فسفوکیناز (CPK) (روش UV-کینتیک آنزیمی)، تری گلیسیرید (روش آنزیمی گلیسرول اکسیداز)، کلسترول تام (روش آنزیمی کلسترول اکسیداز)، HDL-C، (روش رسوبی)، LDL-C (با استفاده از فرمول 1972 Friedewald)، پروتئین تام (روش بیوره)، آلبومین (روش برمورزول گرین)، اسید اوریک (روش آنزیمی اوریکاز)، کراتی نین (روش کالریمتری ژافه) با استفاده از کیت‌های پارس آزمون مشخص گردید. C-VLDL از تقسیم تری گلیسیرید بر ۵ و گلوبولین از کم کردن آلبومین از پروتئین تام به دست آمد (۲۲).

سپس نتایج به دست آمده با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه و تست Tukey مورد ارزیابی آماری قرار گرفتند.

نتایج

اندازه‌گیری وزن جوجه‌ها نشان داد که وزن گروه‌های ۴ و ۳ به طور بسیار معنی‌داری نسبت به گروه کنترل و گروه اول کاهش یافته است ($p < 0.01$) و این کاهش وزن نسبت به گروه ۲ نیز معنی دار می‌باشد ($p < 0.05$).

مقادیر اسید اوریک در گروه‌های ۱ تا ۳ نسبت به گروه کنترل معنی دار است ($p < 0.05$)

لیندین باعث کاهش توانائی عضله قلب می‌شود که مدت پتانسیل عمل را در آن کم می‌کند. لیندین بر غشاءهای تحریک پذیر و سیستم قلبی-عروقی اثر می‌گذارد و این تغییرات یک فاکتور خطر برای انسان و حیوانات می‌باشد (۶، ۱۴). تحریک تولید رادیکال آزاد و القاء لیپید پراکسیداسیون و صدمه به آنتی اکسیدان‌های بدن به عنوان مکانیسم سمیت در برخی سموم از جمله لیندین گزارش شده است. تحریک واکنش‌های استرس اکسیداتیو و لیپید پراکسیداسیون به عنوان یک مکانیسم اصلی در آسیب‌های بافتی مطرح می‌باشد (۷، ۱۲).

لیندین دارای اثرات سمی روی دستگاه تناسلی و اثرات جهشی و سرطان‌زایی است (۱، ۱۷). لیندین بر روی سیستم عصبی، کبد، کلیه، پانکراس، بیضه‌ها و غشاءهای مخاطی اثر می‌گذارد. آسیب‌های کبدی آن در موش، ماهی و نشخوارکنندگان به اثبات رسیده است (۵). همچنین بر سیستم ایمنی بدن نیز تاثیر گذار است، به طوری که روی عمل فاگوسیتوز گلبول‌های سفید در خون و تولید پادتن اثر مهاری دارد (۶).

در مطالعه روی ۷۲ خروس نژاد لگهورن سفید، دوزهای ۵۰ ppm و ۱۰۰ لیندین به مدت ۹۰ روز با اثر روی ارگان‌های لمفوئیدی باعث ساپرس ایمنی شد (۲۳). همچنین لیندین در پرندگان موجب لیندین کم خونی و کاهش تعداد گلبول‌های قرمزی می‌شود (۱۳).

با توجه به استفاده گسترده لیندین به عنوان آفات کش کشاورزی یا جوندگش و با توجه به پایداری محیطی بالای لیندین و این که طیور به خصوص از طریق جیره غذایی می‌توانند در معرض این سم قرار گیرند، بر آن شدیم که اثرات توکسیک دوزهای ۱۵۰، ۳۰۰، ۶۰۰ و ۹۰۰ لیندین را در یک دوره کوتاه مدت ۷ روزه بررسی کنیم و تاثیرات دوزهای مختلف لیندین را بر روی وزن بدن و برخی پارامترهای بیوشیمیایی سرم ارزیابی کرده تا هم تاثیرات دوزهای بالای لیندین را بر روی اندام‌های کلیه و عضلات و تا حدی کبد بررسی کرده و هم نشان دهیم که با استفاده از برخی پارامترهای بیوشیمیایی می‌توان تحت تاثیر قرار گرفتن طیور مسموم شده را نشان داد. از طرف دیگر ارزیابی اثر دوزهای بالای لیندین بر لیپید پراکسیداسیون با استفاده از اندازه‌گیری TBARS سرم، لیپوپروتئین‌های سرم و بتا کاروتن سرم و کبد، یکی دیگر از اهداف این تحقیق می‌باشد، زیرا که لیندین یک سم لیپوفیلیک است (۶) و به عقیده برخی محققین اندازه‌گیری لیپید پراکسیداسیون می‌تواند شاخص خوبی برای ارزیابی صدمه بافتی باشد (۷). در این تحقیق از طیور گوشتی استفاده شده است، زیرا طیور گوشتی به عنوان یک منبع پروتئینی در تغذیه انسان نقش عمده‌ای دارد و شناسایی عوامل موثر در کاهش رشد و کیفیت محصول به ویژه طیور گوشتی می‌تواند علاوه بر تأثیر در تغذیه و سلامت انسان، صنعت مرغداری را از متحمل شده خسارت‌های ناشی از آن تا حدی رهایی بخشد. در این تحقیق جهت ارزیابی کیفیت لاشه از اندازه‌گیری ویتامین A سرم و کبد استفاده شد (۱۶). چنین تحقیقی برای اولین بار است که صورت می‌گیرد.



جدول ۱ - نتایج آزمایشات بیوشیمیایی در جوجه‌های گروه‌های آلوده شده به لیندن و کنترل. (کلیه پارامترهای جدول یک معنی دار نیست ($p > 0.05$)).

گروه کنترل	گروه ۱ (150 mg/kg)	گروه ۲ (300 mg/kg)	گروه ۳ (600 mg/kg)	گروه ۴ (900 mg/kg)
خطای معیار ± میانگین	خطای معیار ± میانگین	میانگین ± خطای معیار	خطای معیار ± میانگین	خطای معیار ± میانگین
تری گلیسرید (mg/dl)	۸۰/۲۵±۴/۵	۷۷/۳±۷/۸	۷۴±۱۰/۸	۵۵/۵±۱/۵
کلسترول (mg/dl)	۱۹۱/۵±۸/۱۵	۲۶۱/۲۳±۴۲/۳	۲۱۴/۶±۱۱	۲۷۰±۹
HDL کلسترول (mg/dl)	۶۸/۲۵±۰/۷۵	۶۹±۲/۶۴	۶۵/۷۵±۱/۶۵	۷۳/۵±۲/۵
LDL کلسترول (mg/dl)	۱۰۷/۱۷±۷/۷۲	۱۷۶/۸۳±۴۴/۱	۱۲۶/۶۵±۸/۳۳	۱۸۵/۴±۶/۲
VLDL (mg/dl)	۱۶/۰۵±۰/۹	۱۵/۴۶±۱/۵۷	۱۴/۸±۲/۱۷	۱/۱±۰/۳
پروتئین (g/dl)	۴/۱۷±۰/۳۷	۴/۳۶±۱۲	۴/۴۸±۰/۲۸	۵/۲±۰/۹
آلبومین (g/dl)	۱/۲۷±۰/۰۹	۱/۴±۰/۶۶	۱/۳±۰/۰۲	۱/۵±۰
گلوبولین (g/dl)	۲/۹±۰/۲۷	۲/۹۳±۰/۰۸	۳/۱±۰/۲۷	۳/۷±۰/۹
بتا کاروتن سرم (μg/μl)	۱۴۹/۱۶±۵۵/۶۷	۸۴/۱۱±۲۵/۷۲	۱۲۲/۹±۲۹/۶	۹۹/۰۳±۱۲/۹۹
بتا کاروتن کبد (μg/μl)	۱۱/۵۲±۳/۶	۷/۳۱±۱/۷۵	۷/۰۸±۱/۴۷	۵/۰۳±۰/۹۸
ویتامین A سرم (μg/μl)	۴۶/۴±۵/۳۶	۳۸/۳±۲/۸۴	۴۴/۱۸±۱/۳۶	۵۰/۳۴±۲/۳۴
ویتامین A کبد (μg/μl)	۱۷۰/۹۵±۱۹/۸	۱۹۶/۴۹±۲۶/۷۱	۱۵۰/۰۳±۱۵/۰۷	۱۴۰/۰۹±۱۸/۲۸
TBARS (μmol)	۱/۷۶±۰/۶۳	۲/۴۴±۱/۵	۲/۲۸±۱/۸۱	۳/۲۵±۰/۹۶

جدول ۲ - نتایج آزمایشات بیوشیمیایی و وزن در جوجه‌های گروه‌های آلوده شده به لیندن و کنترل. (حروف غیر متشابه نشان دهنده معنی دار بودن است).

گروه کنترل	گروه ۱ (150 mg/kg)	گروه ۲ (300 mg/kg)	گروه ۳ (600 mg/kg)	گروه ۴ (900 mg/kg)
خطای معیار ± میانگین	خطای معیار ± میانگین	خطای معیار ± میانگین	خطای معیار ± میانگین	خطای معیار ± میانگین
وزن بدن (g)	۲۳۰±۱۰۴/۰۸ ^a	۲۰۷±۱۵۶/۱۲ ^a	۱۹۲±۱۲۲/۰۶ ^a	۱۳۸±۶۰/۴۱ ^b
AST (U/L)	۲۶۶/۵±۳۴/۴ ^a	۲۹۵±۴/۷ ^a	۲۸۷/۸±۸/۸ ^a	۳۹۴±۶ ^c
CPK (U/L)	۶۶۲/۷±۲۱۸ ^a	۶۸۹/۵±۲۰۱/۸ ^a	۷۳۰۴/۶±۲۷۲/۶ ^a	۱۰۸۰/۵±۴۳۶/۵ ^b
اسید اوریک (mg/dl)	۴/۱±۰/۳ ^a	۵/۱۷±۰/۲۷ ^b	۶/۵±۰/۶۸ ^c	۸/۵±۱/۱ ^d
کراتی نین (mg/dl)	۰/۲۵±۰ ^a	۰/۲۵±۰ ^a	۰/۳۲±۰/۰۲ ^a	۰/۴۳±۰/۰۶ ^b

بحث

لیندین از آفت‌کش‌های پایدار محیطی است که امروزه با وجود اعمال محدودیت‌هایی در مصرف آن، هم‌چنان مصرف گسترده‌ای به‌عنوان مبارزه با آفات کشاورزی، دفع انگل‌های خارجی حیوانات و جونده کش دارد. با توجه به ورود باقیمانده لیندین به گوشت، شیر و تخم مرغ و ذخیره شدن آن در چربی‌های بدن حیوانات و همچنین پایداری بالای آن در محیط، از نظر بهداشت انسانی و مشکلات زیست محیطی حائز اهمیت است (۱، ۲، ۳).

به علت آن‌که صنعت مرغداری در دنیا سالانه با عوامل مختلفی که سبب کاهش بازده تولید در آن می‌شود روبروست و با توجه به نقش آلاینده‌های شیمیایی در آلودگی غذاهای دامی و همچنین ایجاد بیماری‌ها و عوارض سوء آن‌ها در انسان و دام، مطالعه اثر آلاینده‌ها بر میزان و کیفیت تولید، از اهمیت قابل توجهی برخوردار است.

لیندین به‌طور متوسط برای گونه‌های مختلف پرندگان وحشی غیرسمی است زیرا LD50 آن در برخی از موارد بسیار بالاست. مثلاً در اردک وحشی (mallard duck) بیشتر از ۲۰۰۰ mg/kg می‌باشد. این میزان در

این افزایش در گروه ۴ نسبت به گروه کنترل معنی‌دارتر می‌باشد ($p < 0.01$). گروه ۴ نسبت به گروه یک و ۲ نیز از مقدار اسید اوریک بالاتری برخوردار بود، که از نظر آماری معنی‌دار است ($p < 0.05$). افزایش کراتی نین گروه‌های ۳ و ۴ با دیگر گروه‌ها معنی‌دار است ($p < 0.01$).

AST گروه ۴ نسبت به گروه‌های کنترل، یک، ۲ و ۳ معنی‌دار می‌باشد ($p < 0.05$). اندازه‌گیری CPK نشان داد که در گروه ۴ نسبت به گروه کنترل و گروه‌های دیگر افزایش معنی‌داری رخ داده است ($p < 0.05$). اندازه‌گیری پارامترهای دیگر هیچ تغییر معنی‌داری را نشان ندادند ($p > 0.05$).

نتایج وزن بدن و اندازه‌گیری فعالیت CPK، AST، کراتی نین و اسید اوریک در جدول یک آمده است.

اندازه‌گیری پارامترهای دیگر هیچ تغییر معنی‌داری را نشان ندادند ($p > 0.05$). نتایج مربوط به انواع کلسترول، تری‌گلیسرید و آلبومین، گلوبولین و پروتئین تام هم‌چنین ویتامین A کبد و سرم، بتا کاروتن کبد و سرم و TBARS سرم در جدول ۲ آمده است.



باشد، بیماری هیپاتوسلولار در پرندگان محتمل است. در صورتی که صدمه شدید عضلات اسکلتی باشد، افزایش AST به طور متوسط و افزایش قابل توجه CPK مشاهده می شود (۲۲).

در بررسی حاضر میزان فعالیت هر دو آنزیم AST و CPK در گروه ۹۰۰ Ppm نسبت به گروه کنترل افزایش معنی داری را نشان می دهد. بنابراین افزایش فعالیت AST ناشی از تاثیرات سوء سم بر روی عضلات می باشد، که در طی ۷ روز در جوجه های مسموم ایجاد شده است. می دانیم که لیندین با مهار جریان فعال کلراید از طریق مهار گابا (GABA) در اعصاب و عضلات بر روی این دو عضو تاثیر می گذارد. محققین معتقدند که کاربرد طولانی مدت لیندین باعث کاهش توانائی عضله قلب می شود و از این طریق بر غشاء های تحریک پذیر و سیستم قلبی- عروقی اثر می گذارد (۶،۱۴).

غلظت پروتئین های سرم در حالت طبیعی در پرندگان کمتر از پستانداران است. پروتئین تام مجموعه ای از آلبومین و گلوبولین ها می باشد. آلبومین تقریباً ۴۰ تا ۵۰ درصد از پروتئین های سرم را در پرندگان تشکیل می دهد. آلبومین به طور عمده به وسیله کبد تولید می شود. کبد تولید کننده برخی از گلوبولین هانیز می باشد. در بیماری های شدید کبدی هیپوپروتئینمی و هیپوآلبومینمی به دلیل کاهش تولید آلبومین واقع می شود. افزایش پروتئین ها نیز اکثراً ناشی از افزایش گلوبولین هاست و معمولاً به دنبال دهیدراتاسیون، حالت های التهابی حاد و مزمن کبدی واقع می شود (۲۲). در بررسی حاضر، اندازه گیری پارامترهای پروتئینی نشان داد که ضایعات کبدی شدیدی به وجود نیامده است زیرا که تغییر معنی داری در مقدار پروتئین تام، آلبومین و گلوبولین ها مشاهده نشد. می دانیم که کبد عضو بسیار فعال و با کار کردهای بسیار متفاوتی است و در صورتی که بخش اعظمی از آن از بین رفته باشد و یا نارسایی شدید کبدی وجود داشته باشد، پارامترهای فوق غیر طبیعی می شود. البته باید به خاطر داشته باشیم که برای ارزیابی بهتر کبد همان گونه که قبلاً نیز آمد، می بایست از اندازه گیری فعالیت آنزیم های اختصاصی کبد پرندگان یعنی سوربیتول دهیدروژناز و گلوکاتامات دهیدروژناز استفاده نمود که در این صورت شاید بتوان آسیب های جزئی را نیز تشخیص داد (۲۲).

بیماری ها و مواد شیمیایی از عوامل ایجاد کننده استرس اکسیداتیو می باشند (۷). به هنگام استرس اکسیداتیو و ایجاد رادیکال های آزاد در بدن ممکن است چربی ها تحت تاثیر قرار گیرند و لیپید پراکسیداسیون واقع شود (۷،۸) در حقیقت چربی های غشاء سلولی به عنوان یک هدف که به راحتی در دسترس می باشند برای رادیکال های آزاد محسوب می شوند (۱).

لیپیدها در کبد و روده سنتز می شوند و از آن جا به بافت های مختلف جهت فعالیت متابولیکی حمل می شوند. به علت آن که لیپیدها محلول نیستند، بنابراین جهت نقل و انتقال در پلاسما با اتصال به برخی پروتئین ها به صورت لیپوپروتئین های قابل حمل در می آیند.

بلد چین ژاپنی ۴۹۰ ppm و در قراول ۵۶۱ ppm گزارش شده است (۹). اما در طیور اهلی دوزهای متفاوتی با دید های تحقیقاتی متفاوتی استفاده شده است. در ادامه در ارتباط با دوزهای مختلفی که محققین استفاده نمودند، بیشتر بحث می شود.

وزن یکی از پارامترهایی است که پس از مسمومیت با لیندین مورد توجه محققین قرار گرفته است. Prasad و همکاران در سال ۲۰۰۵ در مواجهه تحت حاد با دوز ۵۰۰ ppm لیندین در غذای رت ها، نشان دادند که سمیت لیندین با مدت مواجهه با آن افزایش می یابد و وزن بدن به تدریج کم می شود (۱۹). بر طبق گزارش (European Food Safety Authority) EFSA در سال ۲۰۰۵، مقدار ۱۰ ppm لیندین در جیره غذایی به مدت ۶۰ روز در مرغ های تخم گذار اثری بر وزن، مرگ و میر و حتی علائم بالینی نداشته است (۵).

در تحقیق حاضر مشخص گردید که لیندین با دوزهای ۶۰۰ و ۹۰۰ ppm می تواند حتی در طی یک دوره کوتاه مدت، باعث کاهش وزن جوجه ها گردد که در گروه های فوق نسبت به گروه کنترل و گروه ۱۵۰ ppm این کاهش به شدت معنی دار است. بنابراین می توان نتیجه گرفت که دوزهای بالای لیندین بر وزن جوجه های گوشتی اثر کاهشی دارد.

در بررسی حاضر در هیچ یک از گروه های مورد بررسی، مرگ و میری مشاهده نشد، که با نتایج White head و همکاران در سال ۱۹۷۲ همخوانی دارد که با مقدار ۱۰۰ ppm لیندین در جیره غذایی طیور در مدت ۲ هفته فقط کاهش تولید تخم را گزارش کردند و علائم بالینی دیگر یا مرگ و میر را گزارش نکردند (۲۴).

لیندین بر کلیه ها تاثیر گذار است (۶). در تحقیق حاضر نیز مشخص گردید که کلیه های گروه ۹۰۰ ppm و گروه های ۱۵۰ و ۳۰۰ ppm نیز تحت تاثیر قرار گرفته است، زیرا که اسید اوریک در هر ۴ گروه مسموم شده نسبت به گروه کنترل افزایش معنی داری را نشان داد. این ضایعه کلیوی در گروه ۴ بسیار شدید تر می باشد زیرا که افزایش اسید اوریک و کراتینی نین در گروه ۴ نسبت به گروه کنترل و گروه یک بسیار معنی دار تر است. می دانیم که پرندگان اوریکو تلیک هستند و برای ارزیابی فعالیت کلیه های آن ها اندازه گیری اسید اوریک از ارزش بالاتری نسبت به اندازه گیری کراتینی نین و اوره برخوردار است (۲۲).

AST آنزیمی است که در پرندگان اختصاصی کبد نیست ولی از آنجایی که آنزیم های اختصاصی کبد پرندگان همانند گلوکاتامات دهیدروژناز و سوربیتول دهیدروژناز در دسترس بسیاری از آزمایشگاه ها نیست، می توان از اندازه گیری فعالیت AST برای ارزیابی کبد هم استفاده کرد، زیرا میزان فعالیت این آنزیم در کبد بالاست. فعالیت AST سرم یا پلاسما در پرندگان، در موارد صدمه شدید کبدی یا صدمه عضلانی افزایش می یابد. برای تفکیک این دو از هم از اندازه گیری فعالیت کراتینی نین استفاده می کنیم. کراتینی فسفو کیناز (CPK) آنزیم اختصاصی فعالیت عضلانی پرندگان است. در صورتی که AST افزایش یابد اما CPK طبیعی



لیپید پراکسیداسیون مربوط می شود (۱۱).

در تحقیق حاضر افزایش TBARS سرم گروه های مسموم شده با لیندین به ویژه گروه ۴ نسبت به گروه کنترل مشاهده می شود، ولی این تغییرات معنی دار نیست. هر چند که اندازه گیری لیپید پراکسیداسیون شاخصی برای ارزیابی صدمات بافتی است (۷)، اما به نظر آمده که جهت ارزیابی صدمات بافت های مختلف فقط اندازه گیری TBARS سرم کافی نیست؛ زیرا که در تحقیق حاضر علی رغم صدمات کلیوی و عضلانی، TBARS سرم افزایش معنی داری نیافته است.

کبد عضو سنتز کننده و کنترل کننده دفع کلسترول است. در پرندگان افزایش غلظت آن در بیماری های کبدی مشاهده می گردد. هیپوکلسترولمی در مراحل انتهایی بیماری های کبدی و سوء هضم و سوء جذب یا گرسنگی مشاهده می شود. از طرفی هپاتوسیت ها توانایی سنتز تری گلیسریدها را نیز دارند و در نکرزهای کبدی، تری گلیسریدها افزایش می یابد. در بررسی ما تغییر معنی داری در مقادیر کلسترول و تری گلیسرید و لیپوپروتئین ها مشاهده نشد (۲۲).

کارتونوئیدها از آنتی اکسیدان های غیر آنزیمی هستند. بتا کاروتن از کارتونوئیدهای مهم است. بتا کاروتن علاوه بر نقش خود به عنوان پیش ساز ویتامین A به طور مستقیم هم نقش آنتی اکسیدانی دارد. هر ملکول بتا کاروتن می تواند ۱۰۰۰ مولکول رادیکال آزاد را به دام بیاورد و یا از تولید آن جلوگیری می کند. این موضوع می تواند نقش بتا کاروتن را در پیشگیری از بیماری هایی همانند مشکلات قلبی عروقی و سرطان را توضیح دهد. مکانیسم عمل بتا کاروتن بدین گونه است که با به دام انداختن رادیکال هایی مثل پراکسیل و اکسیژن منفرد سبب قطع زنجیره لیپید پراکسیداسیون می گردد. نقش آنتی اکسیدانی بتا کاروتن در غشاهای زیستی بارز است. ویتامین A خود نیز نقش آنتی اکسیدانی دارد (۷).

در صورتی که بخواهیم کمبود واقعی ویتامین A را ارزیابی کنیم می بایست ویتامین A کبد را اندازه گیری کنیم. با آن که اثر ویتامین A بر فعالیت کبدی کاملاً مشخص نیست، اما محققین معتقدند که هیپو ویتامینوز A ممکن است باعث کاهش فعالیت کبدی نیز بشود. کمبود ویتامین A متابولیسم لیپیدی را در اولین مراحل رشد موش ها تغییر داده. از طرف دیگر Oka و همکاران در سال ۱۹۹۸ نشان دادند که ویتامین A سرم در ایجاد کیفیت بالاتر گوشت گاو بدون این که چربی زیر پوستی افزایش یابد، موثر است (۱۶).

Vavrovam و همکاران در سال ۱۹۷۶ به تحقیق در زمینه باقیمانده هیدروکربن های کلرینه (لیندین، DDT و متوکسی کلر) در مواد غذایی با منشأ حیوانی و اثر آن بر خواص کیفی گوشت طیور پرداختند. آن ها با تجویز محلول های خوراکی با مقادیر متفاوت لیندین تا ۲۵ درصد کاهش در سطح ویتامین A در کبد را گزارش نمودند. ولی Naber و همکاران چنین اثری را فقط در مواجهه با ددت و دیلدین اعلام نموده اند و در ارتباط با لیندین هیچ گونه تغییری را مشاهده نکردند (۱۵).

لیپوپروتئین ها از نظر ساختمانی و تفاوت در دانسیته شان به طور عمده به انواع مختلفی از جمله شیلومیکرون ها، لیپو پروتئین های با دانسیته خیلی پائین (VLDL)، لیپو پروتئین های با دانسیته پائین (LDL) و لیپو پروتئین ها با دانسیته بالا (HDL) تقسیم می شوند (۴). کلسترول و تری گلیسرید از اجزا اصلی سازنده لیپوپروتئین ها هستند و به هنگام لیپید پراکسیداسیون ساختار اصلی لیپوپروتئین ها ممکن است تحت تأثیر قرار گیرند و در نتیجه مقادیر پارامترهای مذکور به ویژه کلسترول در خون تغییر یابد (۱۰۷). از طرف دیگر مشخص شده است که وقتی آنتی اکسیدان های LDL (همانند بتا کاروتن) به طور کامل مورد استفاده قرار می گیرند، پراکسیداسیون چربی ها تسریع شده و پس از چند ساعت موادی به وجود می آید که برای سلول ها توکسیک بوده و به دنبال آن آسیب بافتی بوجود می آید. بنابراین اندازه گیری لیپید پراکسیداسیون ممکن است یک شاخص عالی برای ارزیابی صدمه بافتی باشد (۷). به نظر آمده در ارزیابی سمی مانند لیندین که چربی دوست است، اندازه گیری لیپید پراکسیداسیون می تواند شاخصی برای ارزیابی صدمات بافتی باشد.

مهم ترین و اصلی ترین شاخص بررسی پراکسیداسیون چربی ها سنجش آلدئیدها مانند مالون دی آلدئید (MDA) که محصول نهایی، مشترک و عمده حاصل از پراکسیداسیون لیپیدهاست، می باشد و به وسیله واکنش با تیویار بی تیوریک اسید (TBARS) شناخته می شود (۶). محققین مختلف در ارتباط با ارزیابی لیپید پراکسیداسیون و استرس اکسیداتیو به نتایج متفاوتی در مسمومیت با لیندین دست یافتند. مطالعات Bairy و همکاران در زمینه آثار تفریقی تجویز کوتاه مدت لیندین در پارامترهای مرتبط با استرس اکسیداتیو در کبد و اریتروسیت رت، نشان داد که تجویز لیندین از نظر کمی سبب تغییر مهمی در وضعیت پروکسیدانت - آنتی اکسیدانت اریتروسیت نمی شود ولی احتمال تأثیر سم روی خون سازی وجود دارد (۷).

Atisi و همکاران در سال ۱۹۹۴ به بررسی سطح لیپید پراکسیداسیون با استفاده از واکنش تیوبار بی تیوریک در موش هایی که ۱۰۰۰ ppm لیندین را در طی ۹۰ روز در جیره غذایی دریافت کردند مورد بررسی قرار دادند. با آن که در موش ها حالات تشنجی مشاهده شد، اما واکنش تیوبار بی تیوریک و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی در مغز (مانند سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، گلوکاتایون پراکسیداز، گلوکاتایون ردوکتاز و گلوکز ۶ فسفات دهیدروژناز) تغییری نیافت. در حالی که گلوکاتایون مغز کاهش نشان داد (۳).

Junqueira و همکاران طی مطالعاتی در سال ۱۹۸۶ به تحقیق در زمینه اثر تجویز حاد لیندین روی تولید آنیون سوپراکسید در کبد رت، فعالیت آنزیمی و لیپید پراکسیداسیون پرداختند. این مطالعات نشان داد که یک ارتباط بین افزایش تشکیل رادیکال های سوپراکسید با القاء سیتوکروم P450 (به طور ثانویه) و افزایش لیپید پراکسیداسیون وجود دارد. کاهش در فعالیت SOD و فعالیت کاتالاز احتمالاً به افزایش سطح



References

1. Abdollahi, M., Ranjbar, A., Shadnia, S., Nikfar, S., Rezaie, A. (2004) Pesticides and oxidative stress: A review. *Med. Sci. Monit.* 10: 141-147.
2. Amoah, P., Drechsel, P., Abaidoo, R. C., Ntow, W. J. (2006) Pesticide and pathogen contamination of vegetables in Ghana's urban markets. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 50:1-6.
3. Arisi, A. C. M., simizu, K., Kogake, M., Bairy, A. C. D., Silva, M. A. S., Barros, S. B., Boveris, A., Videla, L. A., Junqueira, V. B. (1994) Brain and liver lipid peroxidation level following acute and short term lindane administration in the rat. *Toxicol. letter.* 74:61-68.
4. Burtis, C. A., Ashwood, E. R., Bruns, D. E. (2006) *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics.* (4th ed.) Elsevier Saunders, Missouri, USA.
5. European Food Safety Authority (2005) Opinion of the scientific panel on contaminants in the food chain on a request from the commission related to Gamma - HCH and other Hexachlorohexanes as undesirable substances in animal feed. *EFSAJ.* 250:1-39.
6. Gupta, R. C. (2007) *Vetrinary Toxicology Basic and Clinical Principle.* Elsevier, Paris, France.
7. Gutteridge, J. M. C. (1995) Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin. Chem.* 41:1819-1828.
8. Halliwell, B., Gutteridge, J. M. C. (1984) Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochem. J.* 219:1-14.
9. Hill, E. F. Camardese, M. B. (1986) *Lethal Dietary Toxicities of Environmental Contaminants and Pesticides to Coturnix.* Fish and Wildlife Service, Washington, USA.
10. Jevsnik, M., Flajs, V. C., Doganoc, D. Z. (2004) Evidence of organochlorine pesticide and polychlorinated biphenyl residues in Slovenian poultry tissue from 1997 to 1999. *J. Food Prot.* 67: 2326-2331.
11. Junqueira, V. B. C., Simizu, K.V., Dela, L. A., Barros, S. B. M. (1986) Dose dependent study of the effects

در تحقیق حاضر کاهش بتاکاروتن سرم و کبد گروه‌های مسموم شده با لیندین به ویژه گروه ۴ نسبت به گروه کنترل مشاهده می‌شود ولی این تغییرات معنی‌دار نیست.

همان‌گونه که قبلاً نیز ذکر گردید، به نظر آمده که سمیت لیندین با مدت مواجهه آن افزایش می‌یابد. بنابراین احتمالاً در صورتی که طول دوره مسمومیت بیش از ۷ روز طول می‌کشید بدین معنی که دوره مواجهه جوجه‌ها با دوزهای مختلف لیندین افزایش می‌یافت، موارد ذکر شده در بالا به صورت معنی‌دار در می‌آمد. البته این مطلب نیاز به تحقیقات بیشتر دارد.

بنابراین پیشنهاد می‌گردد که جهت ارزیابی اثرات توکسیک کوتاه مدت لیندین، آزمایشات کلیوی به ویژه اسید اوریک و آزمایشات عضلانی به ویژه AST به همراه CPK صورت گیرد. در این رابطه در نظر گرفتن وزن جوجه‌ها از اهمیت خاصی برخوردار است. البته باید در نظر داشته باشیم که جوجه‌های گوشتی مسموم شده با ۱۵۰ و ۳۰۰ ppm لیندین در طی ۷ روز، هیچ‌گونه تغییری از نظر پارامترهای بیوشیمیایی ذکر شده و لیپید پراکسیداسیون و حتی کاهش وزن را نشان ندادند. تنها افزایش اسید اوریک سرم در گروه‌های مذکور نشان دهنده آن است که طیور تحت تاثیر سم قرار گرفته‌اند.



- of acute lindane administration on rat liver superoxide anion production, antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation. *Toxicology*. 41:193-204.
12. Junqueira, V. B. C., Koch, O. R., Arisi, A. C. M., Fuzaro, A. P., Azzalis, L. A., Barros, S. B. M., Cravero, A., Farre, S., Videla, L. A. (1997) Regression of morphological alterations and oxidative stress-related parameters after acute lindane-induced hepatotoxicity in rats. *Toxicology*. 117:199-205.
 13. Mandal, A., Sampa, C., Pulak, L. (1986) Hematological changes produced by lindane(gama-HCH) in six species of birds. *Toxicology*. 40: 103-111.
 14. Marrs, T. C., Ballantyne, B. (2004) Pesticide toxicology and international regulation. John Wiley and Sons, Weintiem, Germany.
 15. Naber, E. C. (1977) The impact of contamination by organochlorine insecticides on poultry nutrition and feeding. *Fed. Proc.* 36:1880-1887.
 16. Oka, A., Maruo, Y., Miki, K., Yamasaki, T., Saito, T. (1998) Influence of vitamine A on the quality of beef from the Tajima strain of Japanese Black Cattle. *Meat Sci.* 48:159-167.
 17. Pius, J., Shivanandappa, T., Krishnakumari, M. K. (1990) protective role of vitamin A in the male reproductive toxicity of hexachlorocyclohexane (HCH) in the rat. *Reprod. Toxicol.* 4:325-330.
 18. Podstawka, U., Grabarczyk, M., Kopec-Szlezak, J. (1991) Vitamin E protects human leucocytes against toxic effects of lindane in vitro. *Mater. Med. Pol.* 23:285-289.
 19. Prasad, S., Soni, G. (2005) Oral toxicity of lindane (gamma -HCH) as a function of duration of exposure in rats: Biochemical effects. *Int. Toxicol.* 12:17.23.
 20. Roder, J. D. (2001) *Veterinary Toxicology*. Butter, Worth Heinmann, Boston, USA.
 21. Suzuki, J., Katoh, N. (1990) A simple and cheep method for measuring serum vitamin A in cattle, using only a spectrophotometer. *Jpn. J. Vet. Sci.* 52:1281-1283.
 22. Thrall, A. M. (2004) "Veterinary Hematology and Clinical Chemistry". Lippincott Williams & Wilkins, London, UK.
 23. Varshneya, C., Bahga, H. S., Sharma, L. D. (1988) Effects of insecticides on humoral immune response in cockerels. *Br. Vet. J.* 144:610-612.
 24. White Head, C. C., Dowing, A. G., Pettigrew, R. J. (1972) The effects of lindane on laying hens. *Br. Poult. Sci.* 13:293-299.



CHANGES OF SERUM BIOCHEMISTRY IN SHORT TERM TOXICITY WITH LINDANE PESTICIDE IN BROILER CHICKENS

khaki, Z.^{*1}, Salar Amoli, J.², Lesan, V.³, Ail Esfahani, T.²

¹Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran- Iran.

²Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran- Iran.

³Graduated from the Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran- Iran.

(Received 10 August 2009, Accepted 24 April 2010)

Abstract:

Lindane is highly lipid soluble toxin and persist in the environment, Its bioaccumulation occurs in the food chain from the environment to animals and humans. In order to evaluate the effects of high doses of lindane on the weight and serum biochemical parameters, twenty five old Ross broiler chicks (30day) were divided into control and 4 treatment groups of 5 chickens each. The chickens of control group didn't receive any toxin but the other groups received diets containing 150, 300, 600 and 900 ppm, lindane respectively. At the end of seventh day, animals were weighed and exsanguinated. Liver and blood samples were collected. The chicken weight decreased significantly in response to 600 and 900 ppm lindane compared to control, 150 and 300 ppm groups. The kidneys were affected in all groups compared to the control. Serum uric acid increased significantly. Although malfunction of kidneys were more severe in 900ppm than the other groups. In 900ppm group increased activity of AST were significant comparing to control and another groups ($p<0.05$). Comparing to control and all groups the activity of CPK in the 900ppm increased significantly ($p<0.05$). The other parameters in seum such as total protein, albumin and globulin, triglyceride, cholesterol, LDL-cholesterol, HDL- cholesterol and VLDL, Index of lipid peroxidation by TBARs method and also beta carotene and vitamine A in serum and liver were not significant. So for evaluating of toxic effects of short term lindane administration, initially suggest that measure kidneys test (specially uric acid) and muscle test (specially AST and CPK) and should be not that the weight measuring is very important

Key words: lindane, biochemistry, lipid peroxidation, AST, Uric acid, chicken.

*Corresponding author's email: zkhaki@chamran.ut.ac.ir, Tel: 021-61117132, Fax: 021-66933222

