

## سمیت خوراکی فنیتروتیون در رت‌ها: مطالعه‌ای بیوشیمیایی و هیستوپاتولوژیک

سیمین افشار\*، رضا حیدری\* و امیر عباس فرشید\*\*

\* دانشگاه ارومیه، گروه زیست‌شناسی

\*\* دانشگاه ارومیه، دانشکده دامپزشکی، گروه پاتولوژی

### چکیده

این مطالعه برای بررسی سمیت حاصل از مصرف خوراکی فنیتروتیون (fenitrothion) در رت‌ها بر پایه آزمایش‌های بیوشیمیایی و هیستوپاتولوژیک انجام شد. این مطالعه بر روی ۲۴ رت نر ۸ هفته‌ای آلبینو Wistar انجام شد که به چهار گروه (سه گروه آزمایشی و یک گروه کنترل) توزیع شدند و به طور خوراکی با دوزهای مختلف فنیتروتیون (۱۰۰ و ۲۵۰ mg/kg B.W.) به مدت ۲۸ روز متوالی تیمار شدند. بعد از اتمام دوره تیماری، نمونه‌های خونی برای مطالعات بیوشیمیایی جمع‌آوری شد. همچنین نمونه برداری از بافت‌های کبد و کلیه برای بررسی هیستوپاتولوژیک انجام شد. نتایج نشان داد که تیمار گروه‌های آزمایشی با فنیتروتیون به افزایش وابسته به دوز معنی‌داری در میزان گلوکز و کلسترول سرم منجر گردید. پروتئین کل، آلبومین و تری‌گلیسرید سرم خون در گروه‌های تیماری نسبت به گروه کنترل کاهش یافت که البته این کاهش معنی‌دار نبود. نتایج نشان داد که تغییرات هیستوپاتولوژیک در بافت کبد، اساساً به صورت تغییرات دژنراتیو سلول‌های کبدی همراه با نکروز خفیف، هیپرتروفی هپاتوسیت‌ها، نفوذ سلولی لوکوسیتی، پرخونی شدید و خونریزی قابل‌رؤیت بود. تورم توبولی مشخص، دژنراسانس هیدروپیک در اپیتلیوم توبولار، پرخونی و خونریزی در بخش کورتیکال و مدولای کلیه گزارش شد. به طور کلی، درجه تغییرات مشاهده شده در این بررسی وابسته به دوز بود.

واژه‌های کلیدی: فنیتروتیون، هیستوپاتولوژی، کلسترول، تری‌گلیسرید و پروتئین کل.

#### مقدمه

مسمومیت ناشی از قرار گرفتن در معرض حشره کش های آلی، یکی از مسائل مهم در کشورهای در حال پیشرفت و توسعه یافته است. طیف وسیعی از مسمومیت های حاد توسط آفت کش ها، بویژه ترکیبات ارگانو فسفره ایجاد می شود (۱۳). مکانیسم سمیت ترکیبات ارگانو فسفره مهار آنزیم استیل کولین استراز (AChE) است (۲۷). زمانی که آنزیم کولین استراز غیر فعال می شود، استیل کولین (ACh) در سیستم عصبی تجمع یافته، در نتیجه تحریک عصبی ادامه می یابد (۱۹). آفت کش های ارگانو فسفره آثار مخربی را بر روی بافت ها و فاکتورهای خونی ایجاد می کنند (۱۱). فنیتروتیون-4-O-(dimethyl O-[O,O-dimethyl O-(4-nitro-m-tolyl) phosphorothioate ] حشره کش ارگانو فسفره است که برای کنترل حشرات مکنده برنج، میوه ها، سبزیجات، علوفه های ذخیره شده، پنبه و همچنین کنترل حشرات مناطق جنگلی به کار می رود. در ایران، امولوسیون ۵۰٪ فنیتروتیون علیه سن های زیان آور غلات، سن های پسته و ملخ غلات استفاده می شود. بعد از استفاده خوراکی، فنیتروتیون بسرعت از دستگاه گوارش پستانداران جذب می شود (در حدود ۱۰۰٪-۹۰ دوز) و اساساً به کبد و خون توزیع می گردد. دفع فنیتروتیون در پستانداران بسیار سریع بوده، بعد از استفاده خوراکی به طور عمده در ادرار (حدود ۹۳٪ دوز) و مدفوع (۱۵-۶٪ دوز) طی ۲۴ ساعت دفع می شود (۷). متابولیت های مهم فنیتروتیون عبارتند از: فسفات فنیتروتیون (FNO)، آنالوگ های مونو متیل فنیتروتیون (FNT) و فسفات فنیتروتیون (به ترتیب DM-FNT و DM-FNO) و ۳-متیل-۴-نیترو فنول (NMC) و گلوکورونید و سولفات مربوط به

آن. دوز کشنده (LD<sub>50</sub>) خوراکی فنیتروتیون mg/kg BW ۲۷۰۰ - ۲۴۰ در رت و ۱۴۰۰ - ۷۸۰ mg/kg BW در مایس است (۷،۲). مطالعات مختلفی در زمینه مسمومیت با دوز واحد فنیتروتیون در حیواناتی، از قبیل: گاوهای شیرده، گوسفندان نر، رت و خرگوش انجام شده است که نشان دهنده علائم بالینی مسمومیت، از قبیل: ترشح بزاق، رعشه، تنگی نفس و بی اختیاری ادراری بوده است (۲۱، ۱۶، ۴). شواهدی وجود دارد که در مسمومیت با فنیتروتیون هیچ گونه اثر جهش زایی و سرطان زایی مشاهده نشده است (۳۴، ۲۴، ۶). همچنین مهار فعالیت آنزیم کولین استراز اریتروسیت و مغز رت ها نیز در مطالعات مختلفی بررسی شده است (۳۲، ۱۵). هدف از انتخاب سم فنیتروتیون در این مطالعه، استفاده وسیع آن در کنترل آفات محصولات کشاورزی در ایران، بخصوص سن های گندم و جو است. بیشتر قربانیها کشاورزانی هستند که به دلیل شغل خود در تماس با این آفت کش قرار می گیرند. بنابراین، استفاده نامنظم و نامشخص از ارگانو فسفره فنیتروتیون، خطر مسمومیت را برای ارگانیسیم های غیر هدف و جمعیت محیط زیست ایجاد می کند. هدف از این مطالعه، بررسی سمیت حاصل از مصرف خوراکی فنیتروتیون در رتهای نر بالغ، بر اساس نتایج حاصل از تحقیقات بیوشیمیایی و هیستوپاتولوژیک است.

#### مواد و روش کار

##### مواد شیمیایی

سم فنیتروتیون EC ۵۰ ساخت شرکت غزال شیمی که حاوی ۵۰٪ ماده مؤثره بود، در این آزمایش استفاده گردید. برای به دست آوردن غلظت های

سمیت خوراکی فنیتروتیون در رت‌ها: مطالعه‌ای بیوشیمیایی و هیستوپاتولوژیک / ۳۹

و ۲۵، ۵۰ توسط گاوآژ دریافت کردند. مقدار ۰/۴ میلی لیتر از محلول روزانه به مدت ۲۸ روز متوالی مصرف شد. در پایان مدت تیمار، رت‌های همه گروه‌ها با دی‌اتیل اتر بیهوش شدند و نمونه‌های خونی از قلب هر حیوان جمع‌آوری شد.

#### مطالعات بیوشیمیایی

نمونه‌های خونی در ۵۰۰۰rpm به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتیگراد سانتریفیوژ شد و نمونه‌های سرم برای بررسی بیوشیمیایی جمع‌آوری گردید. سرم جدا شده در  $70^{\circ}\text{C}$  تا شروع آنالیز بیوشیمیایی نگهداری گردید. مقادیر پروتئین کل سرم با استفاده از روش لوری اندازه‌گیری شد (۳۶، ۱۸). تعیین میزان گلوکز سرم در حضور گلوکز اکسیداز پراکسیداز با استفاده از یک ماده رنگ‌زا صورت گرفت (۳۰). کلسترول کل (TC) با استفاده از روش رنگ‌سنجی آنزیمی Flegg اندازه‌گیری شد (۱۲، ۸). سنجش میزان تری‌گلیسرید (TG) نیز با استفاده از روش رنگ‌سنجی آنزیمی Wahlefeld انجام شد (۳۳، ۱۲). نتایج به دست آمده به وسیله نرم افزار SAS تجزیه و تحلیل آماری قرار گردید و میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای توکی در سطح احتمال آماری ۵ درصد ( $p < 0.05$ ) مقایسه آماری شدند.

#### بررسی هیستوپاتولوژیک

برای مطالعات هیستوپاتولوژیک، نمونه‌های بافت کبد و کلیه جمع‌آوری و در محلول ۱۰٪ فرمالین بفری تثبیت شدند. نمونه‌های تثبیت شده در غلظت‌های صعودی اتانول آگیری شدند، در متیل بنزوات شفاف شده، با پارافین مذاب آغشته گردید.

آزمایشی نهایی، فنیتروتیون در روغن زیتون حل شد. با آزمایش‌هایی که برای تعیین  $LD_{50}$  فنیتروتیون بر روی چند رت انجام شد، دوز کشنده فنیتروتیون در این آزمایش  $800 \text{ B.W. mg/kg}$  محاسبه شد. بنابراین، در این آزمایش،  $25 \text{ mg/kg}$  (۱.۳۲  $LD_{50}$ ) به عنوان دوز پایین،  $50 \text{ mg/kg}$  (۱.۱۶  $LD_{50}$ ) به عنوان دوز متوسط و  $100 \text{ mg/kg B.W.}$  (۱.۸  $LD_{50}$ ) به عنوان دوز بالا انتخاب شدند. شایان ذکر است که محلول‌ها بلافاصله قبل از استفاده تهیه شدند.

#### حیوانات مورد استفاده و گروه‌های تیماری:

در آزمایش‌های انجام شده از ۲۴ رت نر ۸ هفته‌ای بالغ آلبینو ویستار (Albino Wistar) با وزن بدن در حدود ۲۴۰-۲۰۰ گرم استفاده شد. همه حیوانات به مدت ۱۰ روز قبل از شروع آزمایش شرایط تطبیق با شرایط محیط را سپری کردند. سپس رت‌ها به طور تصادفی به گروه‌های آزمایشی ( $\text{mg/kg}$   $25 \text{ B.W.}$ ؛ گروه تحت تیمار با دوز پایین،  $\text{mg/kg}$   $50 \text{ B.W.}$ ؛ گروه تحت تیمار با دوز متوسط و  $\text{mg/kg}$   $100 \text{ B.W.}$ ؛ گروه تحت تیمار با دوز بالا) و گروه کنترل توزیع شدند. رت‌ها در قفس‌هایی با دیواره‌ها و کف پلاستیکی جامد و سقف استیل ضد زنگ در اتاقی که برای کنترل دما ( $21 \pm 1$ ) و رطوبت نسبی (۷۵-۷۵٪) و سیکل نوری (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) طراحی شده بود، نگهداری شدند. رژیم غذایی به صورت پلت‌های آزمایشگاهی استاندارد و آب هر روز به رت‌ها داده شد. گروه کنترل فقط روغن زیتون را هر روز دریافت کردند و سایر گروه‌ها فنیتروتیون حل شده در روغن زیتون را در دوزهای  $100 \text{ mg/kg B.W.}$

( $p < 0.01$ ). نتایج نشان داد که مصرف روزانه فنیتروتیون در رت‌ها باعث کاهش در میزان تری گلیسرید پلازما شد که این کاهش معنی‌دار نبود.

در این مطالعه، بعد از مصرف خوراکی دوزهای متفاوت فنیتروتیون، تغییرات هیستوپاتولوژیک در نمونه‌های بافتی کبد و کلیه همه گروه‌های تیماری در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد. تغییرات عمده مشاهده شده در بافت کبد، شامل تغییرات عروقی بود که به صورت پرخونی و در بعضی موارد به صورت خونریزیهای کانونی در کبد مشاهده شد. تغییرات دژنراتیو کبدی در هر سه گروه تحت تیمار با فنیتروتیون، نشان دهنده درجات مختلفی از واکنش دژنراتیو بود که عمدتاً به صورت تورم سلولی خود را نمایان کرد. اندازه هپاتوسیت‌ها در برخی نواحی به صورت متورم شده با سیتوپلاسمی دانه دار دیده شدند. برخی از هپاتوسیت‌ها نیز به صورت کانونی و انفرادی نکروز را نشان دادند، ولی نکروز در حد بسیار پایین و محدود به تعداد اندکی از سلول‌ها بود (شکل ۱). تغییر قابل ملاحظه دیگر در کبد، نفوذ سلولی بود که به صورت نفوذ لوکوسیتی لنفوسیتی در اطراف عروق نمایان گردید (شکل ۲). در گروه کنترل، هیچ گونه تغییرات هیستوپاتولوژیک مشاهده نشد. نتایج بررسی کمی ضایعات پاتولوژیک کبد بر طبق شدت ضایعات در جدول شماره (۲) نشان داده شده است. ضایعات مشاهده شده در کلیه، شامل پرخونی بود که این پرخونی در گروه تیمار شده با دوز پایین فنیتروتیون، خفیف و در رت‌های تیمار شده با دوزهای متوسط و بالا همانند یکدیگر مشاهده شد. خونریزیهای کانونی نیز در کلیه قابل دیدن بود که برخی از آنها در نواحی کورتیکال و در ناحیه مدولا مشاهده شد (شکل ۳).

سپس با استفاده از دستگاه میکروتوم برش‌هایی با ضخامت ۶ میکرون تهیه شد. مقاطع تهیه شده به وسیله هماتوکسیلین و ائوزین (H+E) رنگ آمیزی شده، مورد ارزیابی میکروسکوپی قرار گرفت (۲۰). مقاطع هیستوپاتولوژیک طبق میزان شدت ضایعات پاتولوژیک امتیازبندی شدند (بدون ضایعه پاتولوژیک: ۰، ضایعه پاتولوژیک خیلی خفیف: ۱، ضایعه پاتولوژیک خفیف: ۲، ضایعه پاتولوژیک متوسط: ۳ و ضایعه پاتولوژی شدید: ۴). ارقام به دست آمده از ارزیابی شدت ضایعات هیستوپاتولوژیک به صورت  $Mean \pm SD$  نشان داده شد. اختلاف بین گروه‌ها در شدت ضایعات با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه ANOVA و آزمایش دانکن ارزیابی گردید.

## نتایج

داده‌های مربوط به میزان گلوکز، پروتئین کل، آلومین، کلسترول و تری گلیسرید سرم گروه‌های تیماری در جدول (۱) نشان داده شده است. مصرف فنیتروتیون در دوزهای ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، افزایش معنی‌داری را در غلظتهای گلوکز خون نشان داد ( $p < 0.05$ ). این افزایش در رت‌های تیمار شده با دوز بالای فنیتروتیون بسیار چشمگیر بود. سم فنیتروتیون باعث کاهش جزئی پروتئین کل سرم و آلومین در گروه‌های تیماری در مقایسه با گروه کنترل گردید، ولی این کاهش معنی‌دار نبود. شایان ذکر است که بیشترین کاهش در پروتئین کل و آلومین، در رت‌های تیمار شده با دوز متوسط فنیتروتیون (۵۰ mg/kg) گزارش شد. مطالعه حاضر، نشان دهنده افزایش معنی‌داری در میزان کلسترول سرم رت‌های تیمار شده با دوزهای مختلف فنیتروتیون در مقایسه با گروه کنترل بود

سمیت خوراکی فنیتروتیون در رت‌ها: مطالعه‌ای بیوشیمیایی و هیستوپاتولوژیک / ۴۱

و پایین بود. نفوذ سلولی در بافت کلیه هیچ یک از گروه‌های تیماری دیده نشد. در گروه کنترل هیچ گونه تغییرات هیستوپاتولوژیک مشاهده نشد. نتایج بررسی کمی ضایعات پاتولوژیک کلیه طبق شدت ضایعات در جدول شماره (۳) نشان داده شده است.

گلوومرولهای کلیوی پرخون و فضا‌های کپسول بومن اتساع یافته دیده شدند. تغییرات دژنراتیو کلیوی به صورت تورم سلولی و دژنرانس هیدروپیک در اپیتلیوم لوله های کلیوی مشاهده شد (شکل ۴). این تغییرات در گروه تیمار شده با دوز بالای فنیتروتیون بیشتر از گروه‌های تیماری با دوز متوسط

جدول ۱. نتایج آنالیز بیوشیمیایی در گروه‌های تیماری فنیتروتیون و گروه کنترل

فاکتور	کنترل	گروه دوز پایین	گروه دوز متوسط	گروه دوز بالا
گلوکز	۶۶/۱۷±۱۵/۸	۶۷/۵±۱۴/۹	۷۱/۱۷±۱/۶	۱۱۱/۳±۱/۳*
کلسترول	۹۵/۱۲±۲/۴	۱۱۱/۷±۶/۵۶	۱۰۳/۳±۷/۳	۱۳۸/۸±۸/۸**
تری‌گلیسیرید	۴۸/۸۳±۴/۶	۳۹/۱۷±۴/۳	۳۳/۶۷±۳/۶	۳۵/۰±۲/۹
پروتئین کل	۷/۴۸±۰/۲۶	۷/۶۶±۰/۱۸	۶/۶۶±۰/۳۳	۷/۳۱±۰/۱۶
آلبومین	۴/۸۰±۰/۶۴	۴/۹۲±۰/۶۴	۳/۹۰±۰/۳۳	۴/۴۳±۰/۵

مقادیر به صورت میانگین ± SE نمایش داده شده است؛ تعداد = ۶ رت. \*P<0.05, \*\*P<0.01

جدول ۲: شدت ضایعات هیستوپاتولوژیک کبد در همه گروه‌ها

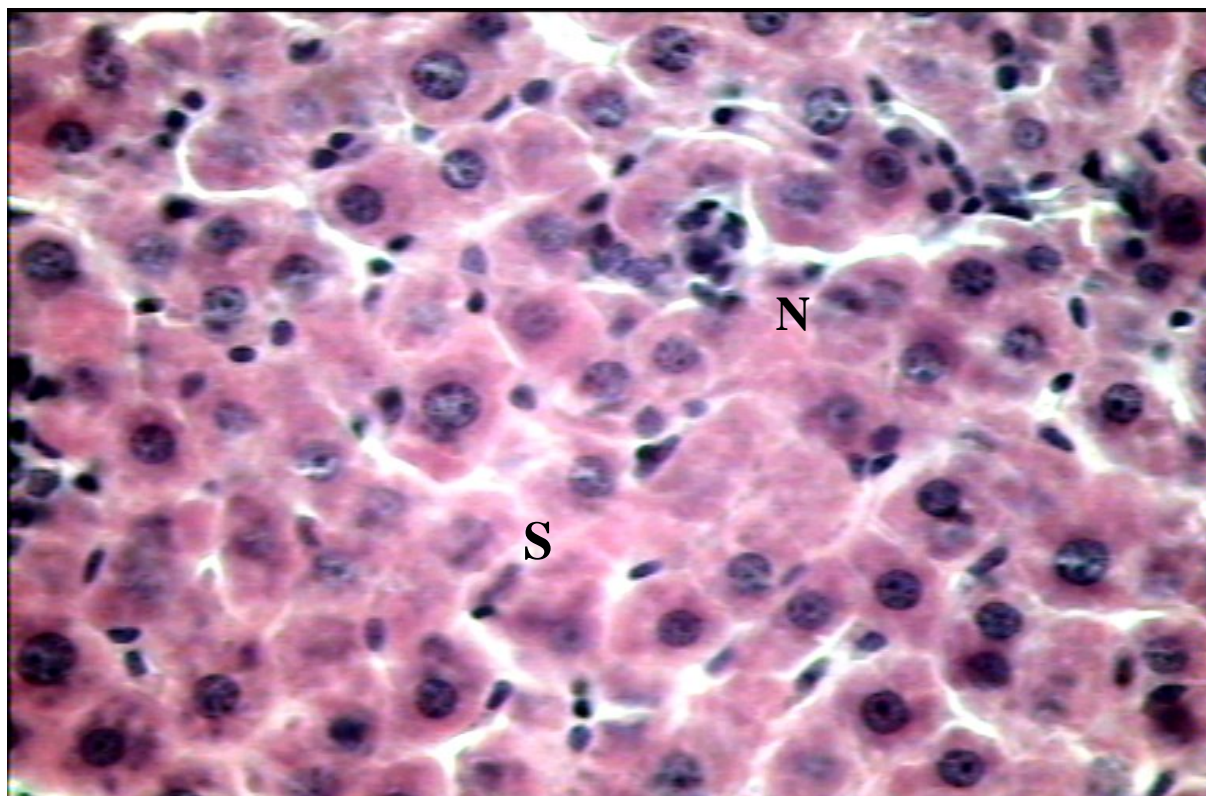
نوع ضایعه	کنترل	گروه دوز پایین	گروه دوز متوسط	گروه دوز بالا
پرخونی	0.0 ± 0.0	3.0 ± 0.52*	3.0 ± 0.37*	3.83 ± 0.17**
خونریزی	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	1.33 ± 0.21*	1.5 ± 0.22*
تغییرات دژنراتیو	0.0 ± 0.0	1.17 ± 0.17*	1.33 ± 0.21*	1.5 ± 0.22*
نفوذ سلولی	0.0 ± 0.0	1.17 ± 0.17*	1.33 ± 0.21*	1.5 ± 0.22*

\*p<0.05 در مقایسه با گروه کنترل، \*\*p<0.05 در مقایسه با گروه دوز پایین و متوسط، تعداد: ۶ رت

جدول ۳: شدت ضایعات هیستوپاتولوژیک کلیه در همه گروهها

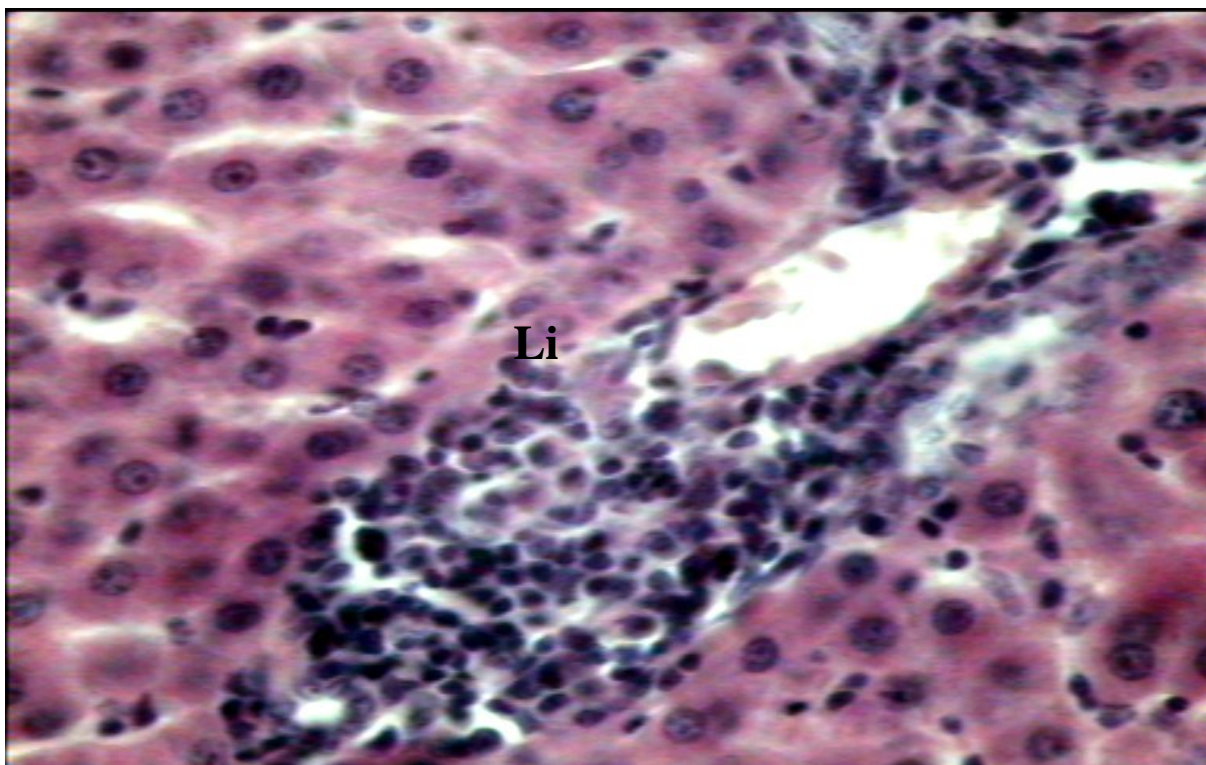
نوع ضایعه	کنترل	گروه دوز پایین	گروه دوز متوسط	گروه دوز بالا
پرخونی	0.0 ± 0.0	1.33 ± 0.21*	1.88 ± 0.4*	2.83 ± 0.17**
خونریزی	0.0 ± 0.0	1.5 ± 0.22*	1.67 ± 0.21*	1.67 ± 0.21*
تغییرات دژنراتیو	0.0 ± 0.0	1.67 ± 0.21*	1.67 ± 0.21*	2.83 ± 0.17**
نفوذ سلولی	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0

\*p<0.05 در مقایسه با گروه کنترل، \*\*p<0.05 در مقایسه با گروه دوز پایین و متوسط، تعداد: ۶ رت

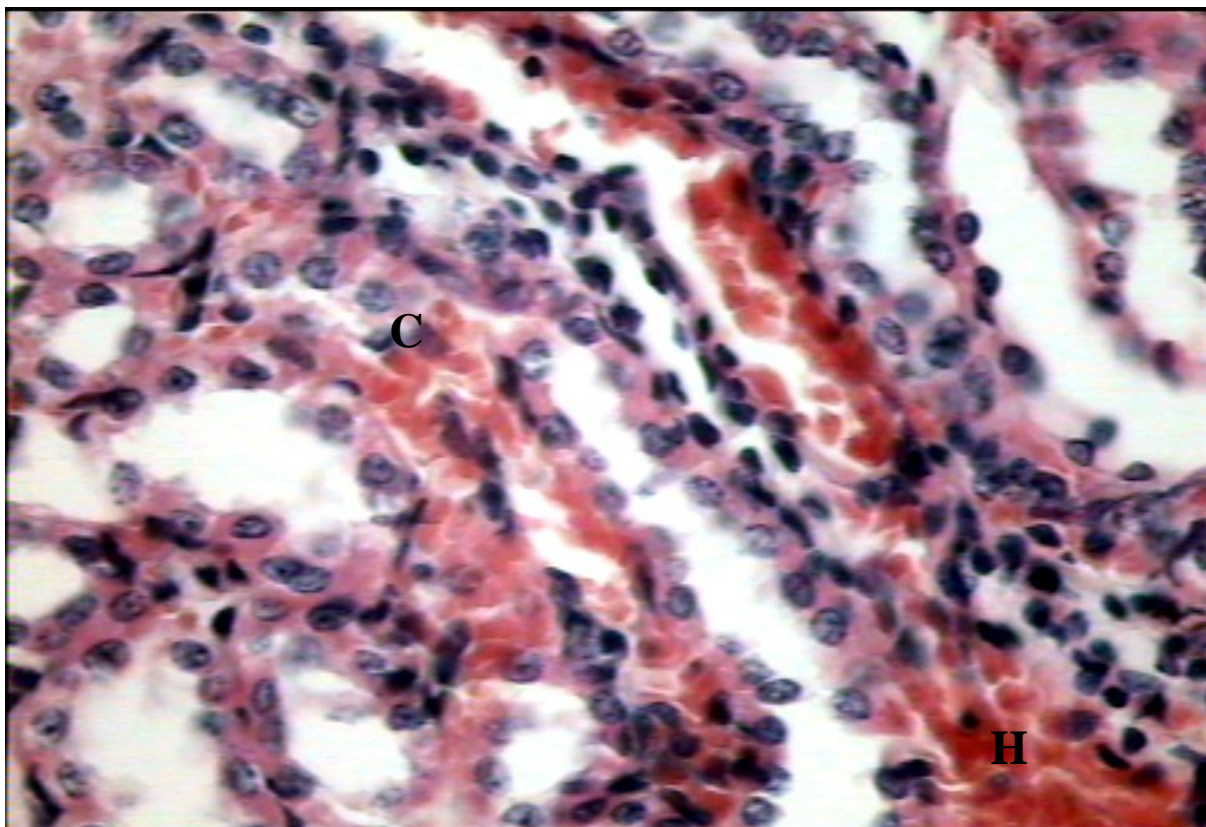


شکل ۱: کبد رت تیمار شده با دوز بالای فنیتروتیون. تغییرات دژنراتیو کبدی به صورت تورم سلولی (S: swelling) مشاهده می شود. برخی از سلولها تغییرات نکروتیک (N: necrosis) را نشان می دهند (H&E ×400).

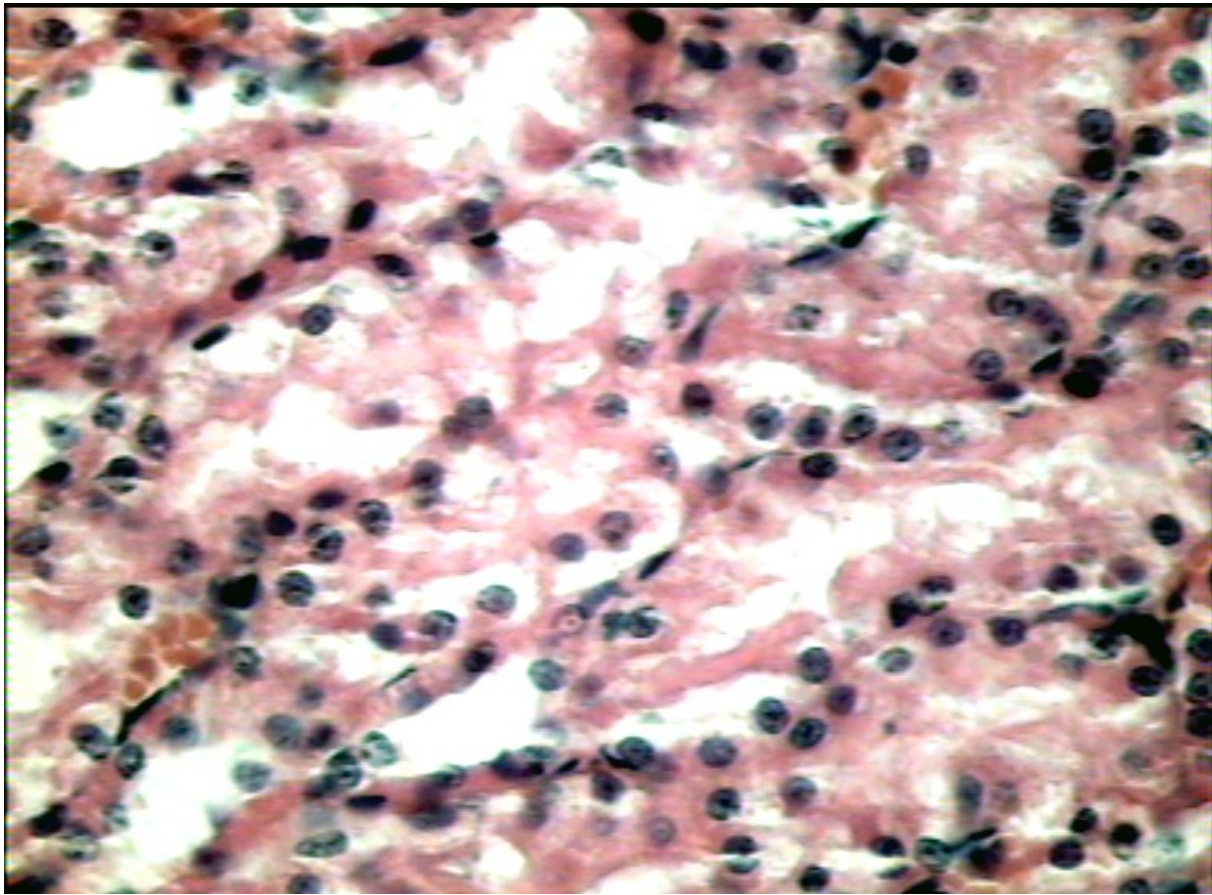




شکل ۲: کبد رت تیمار شده با دوز بالای فنیتروتیون. نفوذ لوکوسیتی (Leucocytic infiltration :Li) اطراف ناحیه عروقی در ناحیه portal (H&E ×400).



شکل ۳: کلیه رت تیمار شده با دوز بالای فنیتروتیون. پرخونی (C: congestion) و خونریزی (H:hemorrhage) در کلیه (H&E ×400).



شکل ۴: کلیه رت تیمار شده با دوز بالای فنیتروتیون. دژنراسانس هیدروپیک در اپیتلیوم لوله‌های کلیوی (H&E ×400).

#### بحث و نتیجه گیری

نتایج مطالعات نشان داد که مصرف فنیتروتیون در دوزهای مختلف، غلظت گلوکز خون را به طور معنی داری افزایش داد ( $p < 0.05$ ). القای استرس اکسیداتیو در خون و بسیاری از اندامها بعد از قرار گرفتن در معرض ارگانو فسفره ها در مقالات زیادی شرح داده شده است. اطلاعات موجود این نظر را که القای استرس اکسیداتیو و تغییر در متابولیسم گلوکز در سلولهای کبدی، بعد از قرار گرفتن در معرض سموم فسفره با هم مربوط هستند حمایت می کند. مسیرهای گلیکوژنولیز و گلوکونئوز کبدی برای تولید گلوکز بیشتر و تأمین منبع انرژی برای فعالیت آنتی اکسیدانت‌های سلولی در برابر رادیکالهای آزاد فعال شده توسط القای ارگانو فسفره ها تحریک

می شوند (۳۰). فنیتروتیون نیز مانند سایر سموم ارگانو فسفره، آزادسازی گلوکز را از کبد به خون از طریق فعال سازی گلیکوژنولیز و گلوکونئوز به عنوان یک مکانیسم سم زدایی برای غلبه بر استرس سمی القا شده با فنیتروتیون افزایش می دهد. مطالعات قبلی نیز دلیلی بر این مطلب هستند که ترکیبات ارگانو فسفره قادرند قند خون را افزایش دهند (۲۹، ۳۰، ۳۵، ۳۶). در بررسی حاضر نشان داده شد که سطح پروتئین کل سرم و آلبومین در گروههای تیماری، در مقایسه با گروه کنترل کاهش یافت. پروتئین‌ها اساساً در ساختمان سلول به کار می روند (۱۴). طی دوره استرس پروتئین‌ها بعد از کربوهیدرات به عنوان مهمترین منبع انرژی محسوب می شوند. کاهش در پروتئین کل و آلبومین سرم



افزایش کلسترول خون نشان دهنده بی‌نظمی‌های کبدی است و سطح بالای کلسترول خون می‌تواند خطر پیشرفت بیماریهای قلبی - عروقی و مشکلات سایر ارگانها را افزایش دهد (۲۵). مطالعه اخیر نشان داد که مصرف خوراکی فیتروتیون میزان تری‌گلیسرید سرم را کاهش داد. کاهش مشابهی در میزان تری‌گلیسرید قبلاً در سرم رت‌های تیمار شده با اسفات (acephat) گزارش شده است (۳). در مطالعه مذکور بیان شده است که کاهش تری‌گلیسرید ممکن است یک انعکاس از کاهش سنتز این بخش از لیپید در همه انواع لیپوپروتئین‌ها، مخصوصاً لیپوپروتئین‌هایی با دانسیته پایین (LDL) باشد که این کاهش توسط حشره کشها القا شده است (۱۲).

کبد به عنوان ارگان هدف ترکیبات سمی است که دارای عملکرد بیوترانسفورماسیون (Biotransformation) و دفع ترکیبات سمی است. کبد به دلیل ذخیره خونی زیاد و نقشی که در متابولیسم ایفا می‌کند، مستعد ترکیبات سمی است (۲۲). در این مطالعه، بعد از استفاده خوراکی دوزهای متفاوت فیتروتیون، تغییرات هیستوپاتولوژیک در بافت کبد رت‌های گروه‌های تیماری در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد. نتایج این بررسی نشان داد که تغییرات هیستوپاتولوژیک در کبد به صورت تغییرات دژنراتیو هپاتوسیت‌ها همراه با نکروز خفیف، نفوذ لوکوسیتی در نواحی پورتال، پرخونی و خونریزی شدید گزارش شد. مخصوصاً تیمار با دوز بالا و دوز متوسط فیتروتیون در این آزمایش باعث تغییرات هیستوپاتولوژیک در کبد شد. تأثیر حشره کش‌های ارگانوفسفره و سایر آفت‌کش‌ها بر روی کبد حیوانات آزمایشگاهی توسط بسیاری از

ممکن است به دلیل افزایش کاتابولیسم پروتئین‌ها حین عمل سم‌زدایی فیتروتیون و تخریب سلولهای کبدی باشد. از آنجایی که کبد به عنوان ارگان اصلی و مهم سنتز پروتئین، بویژه آلبومین‌ها محسوب می‌شود، تخریب سلولهای کبدی در فرایند سنتز پروتئین‌ها اختلال ایجاد می‌کند. بعلاوه کاهش در پروتئین کل سرم ممکن است بر اثر کاهش در سطح گلوبولین سرم ایجاد شود که در همان زمان به طور چشمگیری کاهش یافته است (۳۶). کاهش مشابهی در غلظتهای پروتئین، کل سرم در رت‌های تیمار شده با حشره کش‌هایی، از قبیل: فوزالن و کلرپیریفوس اتیل (Chlorpyrifos-ethyl and phosalone) (۳۶)، دیازینون (Diazinon) (۱۲)، سیپرمترین (cypermethrin) (۲۶)، کوئینالفوس (quinalphos) (۵) مشاهده گردید.

در مطالعه حاضر، کلسترول کل سرم در گروه‌های تیماری به طور معنی‌داری افزایش یافت. در بررسی مشابه، اثر حشره کش کربوسولفان (carbosulfan) بر روی میزان کلسترول سرم و بافت کبد در مایس بررسی شد. مشاهده گردید که علاوه بر افزایش در میزان کلسترول سرم، کلسترول کبدی نیز در مایس‌های تیمار شده با کربوسولفان افزایش یافت. این حشره کش فعالیت Cyt-p-450 کبدی را مهار کرده، افزایش در سطح کلسترول نشان دهنده عملکرد مهاری حشره کش‌ها روی آنزیم Cyt-p-450 است (۱۷). مطالعات مشابهی نیز برای بررسی تأثیر سایر حشره کش‌ها روی میزان کلسترول سرم انجام شده است که باعث افزایش سطح کلسترول کل سرم گردیدند. این حشره کش‌ها عبارتند از: متومیل (methomyl) (۱)، رونل (runnel) (۲۳)، دی‌الدین (dieltrin) (۲۸) و فورادان (furan) (۱۰).

شامل واکوئوله شدن و هیپرتروفی هپاتوسیتها، تورم سینوزوئیدهای بین هپاتوسیت ها و منبسط شدن وریدهای مرکزی را نشان داد (۱۷). کلیه ها مسئول دفع مواد زائد متابولیکی و کنترل مقدار و ترکیب مایعات بدن هستند.

نفروتوکسیسیته (nephrotoxicity) سمیت کلیه هاست که به کاهش توانایی کلیه برای دفع مواد زائد بدن، عدم توانایی برای نگهداری تعادل مایع و الکترولیتهای بدن و کاهش سنتز هورمونهای ویژه (برای مثال اریترپوئیتین) منجر می شود (۹).

مطالعه حاضر نشان داد که دوزهای متفاوت فنیتروئین باعث القای تغییرات هیستوپاتولوژیک در کلیه رتها شد. دژنرانس هیدروپیک در اپیتلیوم توبولار، پرخونی و خونریزی در نواحی کورتیکال و مدولای کلیه، به عنوان بارزترین ضایعه پاتولوژیک کلیه گزارش شد. بررسی هیستوپاتولوژیک بافت کلیه در مطالعه حاضر با دوزهای مختلف نشان دهنده تأثیر نفروتوکسیسیته سم فنیتروئین بر روی بافت کلیه با دوز بالای این سم بود. مطالعات متعددی بر روی تأثیر حشره کش های ارگانوفسفره بر روی رتها انجام شده است که نشان دهنده تأثیرات هیستوپاتولوژیک این آفت کش ها بر روی بافت کلیه است. Kerem و همکارانش تغییرات هیستوپاتولوژیک را در بافت کلیه رتهای نر تیمار شده با دوزهای متفاوت فنیتروئین (۲۵ و ۵۰ mg/kg) مقدری تورم توبولی و تحلیل در کورتکس قابل مشاهده بود و ضایعات پاتولوژیک مشاهده شده در رتهای تیماری دوز بالا (۱۰۰ و ۷۵) به صورت تغییرات دژنراتیو پارانشیمی سلولهای توبولهای کلیوی گزارش شد (۱۳). Luty و همکارانش (۱۹۹۸)، رتها را به طور

محققان مطالعه شده است. در مطالعه ای که توسط Tos-Luty و همکارانش در سال ۲۰۰۳ انجام شد، رتهای نر با دوزهای مختلف ارگانوفسفره مالاتیون (malathion) به صورت خوراکی و پوستی تیمار شدند و آثار هیستوپاتولوژیک مالاتیون بر روی کبد رتها بررسی شد. مصرف خوراکی دوز واحد مالاتیون (1.50 LD<sub>50</sub>)، باعث تغییرات هیستوپاتولوژیک در بافت کبد ۸۰٪ رتها مشاهده شد که این تغییرات به شکل نفوذ سلولی کانونی و تغییرات دژنراتیو هپاتوسیتها بود، در حالی که بعد از کاربرد پوستی مالاتیون این تغییرات در کبد ۱۰٪ رتها گزارش شد (۳۱). در آزمایشی دیگر، دوزهای مختلف ارگانوفسفره فنتیون (fenthion) به صورت داخل صفاقی به گروههای مورد مطالعه تزریق شد. بررسی هیستوپاتولوژیک کبد رتهای تیمار شده با دوزهای مختلف فنتیون، نشان دهنده تأثیر هپاتوکسیسیته دوز بالای سم فنتیون بر روی کبد رتها بود، به طوری که در رتهای تیمار شده با دوز بالای فنتیون (۱۰۰ mg/kg و ۷۵)، ضایعات هیستوپاتولوژیک کبد، شامل: تورم شدن و واکوئوله شدن هپاتوسیتها و گاهی اوقات ضایعات لوبول مرکزی و پرخونی گزارش شد. در تیمار با دوز متوسط فنتیون (۵۰ و ۲۵ mg/kg)، تغییرات هیستوپاتولوژیک فقط شامل تغییرات عروقی پرخونی بود (۱۳). تغییرات هیستوپاتولوژیک در کبد رتها بعد از استفاده ارگانوفسفره دی کلرووس (dichlorvos) به وسیله Luty و همکارانش گزارش شده است. نتایج بررسی آنها نشان داد که تیمار پوستی دی کلرووس فقط به تظاهر نفوذ سلولی کانونی در کبد منجر شد (۱۹). مطالعه کبد مایسهای مواجه شده با آفت کش کاربامات کربوسولفان به مدت ۱۰، ۲۰ و ۳۰ روز، تغییرات هیستوپاتولوژیک

- metabolism in albino rats. *Ind. J. Exp. Biol* 22: 45-49; (1984)
- Coulombe, P.A., Lortie, S. and Cote, M.G. Pulmonary toxicity of the insecticide fenitrothion in the rat following a single field exposure. *J. appl. Toxicol.* 6: 317-323; (1986)
- Dikshith, T.S.S., Datta, K.K. and Raizada, R.B. Effect of repeated oral administration of quinalphos to male goat (*capra hircus*). *J. Biosci.* 4: 405-411; (1982)
- EXTOXNET. Pip- fenitrothion. Extoxent. Orst. Edu/pips/fenitrot. Htm; (2006)
- FAO/WHO. Pesticide residues in food-2000 evaluations. Part II- Toxicological. Geneva, World Health Organization, Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues (WHO/PCS/01.3); (2001)
- Flegg, H.M. An investigation of the determination of serum cholesterol by an enzymatic method. *Ann. Clin. Biochem.* 10: 79-84; (1973)
- Finn, W.F. Renal responses to environmental toxins. *Environmental Health Perspectives.* Vol. 20, pp: 15-26; (1977)
- Gupta, M., Mukherjee, S.D., Dolui, A.K., Dey, S.N. and Roy, D.K. Changes of lipid spectrum in different tissues of furadan- treated mice. *Toxicol.* 38: 69-79; (1986)
- Gupta, R.C. Toxicology of organophosphates and carbamate compounds. Elsevier Academic Press; (2006)
- Ibrahim, A.I. and E L-Gamal, B.A. Effect of diazinon, an organophosphate insecticide, on plasma lipid constituents in experimental animals. *J. Biochem. Mol. Toxicol.* 36: 499-504; (2003)
- Kerem, M., Bedirli, N., Gurbus, N., Ekinici, O., Bedirli, A., Akkaya, T., Sakrak, O. and Pasaoglu, H. Effects of acute fenthion toxicity on liver and kidney function and histology in rats. *Turk. J. Med. Sci.* 37: 281-288; (2007)

پوستی در معرض ارگانوفسفره دی کلرووس قرار دادند. تغییرات هیستوپاتولوژیک در بافت کلیه این گروه‌های تیماری شامل نفوذ سلولی لنفوسیتی قرار گرفته بین توبولهای کورتکس بود (۱۹).

نتایج کلی این مطالعه آشکارا نشان داد که سم فنیتروتیون در دوز بالا باعث ایجاد آثار بیوشیمیایی و هیستوپاتولوژیک در رت‌ها شد. با توجه به نتایج به دست آمده در هیستوپاتولوژی ارگانهای مذکور، می‌توان گفت که سم فنیتروتیون در دوز بالا، به عنوان یک عامل نفروتوکسیک و هیپاتوتوکسیک است. سمیت کم حشره کش‌های ارگانو فسفره برای پستانداران به دلیل بیوترانسفورماسیون این ترکیبات در کبد و دفع سریع از طریق ادرار است. در خاتمه، توصیه می‌شود که مصرف حشره کش‌های ارگانوفسفره باید کنترل شود تا از بروز هرگونه خطر برای موجودات زنده، مخصوصاً انسان جلوگیری شود.

## Refrecencs

- Antal, M., Bedo, M., Constantinovits, G., Nagy, K. and Szepvolgi, J. Studies on the interaction of methomyl and ethanol in rats. *Fd. Cosmet. Toxicol.* 17: 333-338; (1979)
- Benes, V. and Cerna, V. Contribution to the toxicological evaluation of fenitrothion (O,O-dimethyl-O-(3-methyl-4-nitrophenyl) thiophosphate) and its residues. In: Deichmann, W.B., Radomski, J.L. and Penalver, R.A., ed. *Proceedings of Pesticide Symposia. Inter - American Conferences on Toxicology and Occupational Medicine, Miami, Florida, Halas and Ass. Inc.* pp. 219-222; (1970)
- Choudhari, P.D. and Chakraharti, C.H. Effect of acephate (Orthene), an organophosphorus insecticide, on lipid

- Khan, M.Z., Tabassum, R., Naqvi, S.N.H., Shah, E.Z., Tabassum, F., Ahmad, I., Fatima, F. and Khan, M.F. Effect of cypermethrin and permethrin on cholinesterase activity and protein contents in *Rana tigerina* (Amphibia). *Turk. J. Zool.* 27: 243-246; (2003)
- Kimmerle, G. [Toxicological study on additive S-5660], Toxicology and Occupational Health Laboratory (Unpublished report submitted to WHO by Bayer AG, Germany) (in German); (1962)
- Kohda, H. and Kadota, T. Acute inhalation toxicity study of Sumithion in rats (Unpublished Technical Report No. HT-90-0085A, submitted to WHO by Sumitomo Chemical Co., Ltd, Osaka, Japan); (1979)
- Ksheerasagar, R.L. and Kaliwal, B.B. Histological and biochemical changes in the liver of Albino mice on exposure to insecticide, carbosulfan. *J. Env. Sci.* vol.4, pp: 67-70; (2006)
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randal, R.J. Protein measurement with folin- phenol reagent. *J. Biochem.* 193,265; (1951)
- Luty, S., Latuszynska, L., Halliop, J., Tochman, A., Obuchowska, D., Przylepa, E., Korczak, E. and Bychawski, E. Toxicity of dermally absorbed dichlorvos in rats. *Ann. Agric. Environ. Med.* 5: 57-64; (1998).
- McManus, J.F.A. and Mowry, R.W. Staining methods, Histological and histochemical, (New York: Happer and Row) p.57; (1960)
- Namba, N., Iwamoto, T. and Satoh, T. Oral toxicity and metabolism of sumition on cattle, sheep and pigs. *Res. Bull. Hokkaido Natl Agric. Exp. Stn.* 89: 82-90; (1966)
- Roganovic-Zafirova, D. and Jordanova, M. Liver lesions in bleak (*Alburnus alburnus alborella* Filippi) collected from some contaminated sites on lake Ohrid. A histopathological evidence. *Ekol. Zast. Zivot. Sred.* Vol.6 pp: 11-18; (1998)
- Rumsey, T.S., Bitman, J., Tao, H. Changes in plasma concentrations of thyroxin, triiodothyronin, cholesterol and total lipids in beef steers fed ronnel. *J. Anim. Sci.* 56: 125-131; (1983)
- Rutter, H.A. and Banas, D.A. Seventy eight week tumorigenic study in the ICR Swiss mice with Sumithion, Vienna, Virginia, Hazleton Laboratories (Technical Report No. HT-51-0002, submitted to WHO by Sumitomo Chemical Co., Ltd, Osaka, Japan); (1975)
- Sahal, M., Altintas, A., Arslan, H.H., Ural, K., Aksoy, E. Serum hepatitis associated with administration of tetanus toxin in serum producing horses and therapy. *Reveu Med. Wet.* 155, 10, 476-482; (2004)
- Sayim, F., Uyanikgil, Y., Aktug, H., Yavasoglu, A., Yavasoglu, N.U.K. and Turgut, M. Neurotoxic effects of cypermethrin in Wistar rats: a hematological, biochemical and histopathological study. *J. Health Science.* 51: 300-307; (2005)
- Shadnia, S., Azizi, E., Hussein, R., Khaki, S., Roulade, S., Pajoumand, P., Jalali, N. and Abdollahi, M. Evaluation of oxidative stress and genotoxicity in organophosphorus insecticide formulators. *Hum Exp Toxicol.*, 24: 439-44; (2005).
- Shakoori, A.R., Rausal, Y.J. and Ali, S.S. The effect of long term administration of dieldrin on biochemical components in blood serum of albino rats. *Folia Biol.*, 32: 213-222; (1984)
- Sweilum, M.A. Effect of sublethal toxicity of some pesticides on growth parameters, haematological properties and total production of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* L.) and water quality of ponds. *Aquaculture Research*, 37: 1079-1089; (2006)
- Teimouri, F., Amirkabirian, N., Esmaily, H., Mohammadirad, A., Aliahmadi, A. and Abdollahi, M. Alteration of hepatic cells glucose metabolism as non-cholinergic detoxication mechanism in



- counteracting diazinon - induced oxidative stress. *J. Toxicol. Environ. Health.* 25: 697-703; (2006)
- 31) Tos-Luty, S., Przebirowska, D.O., Latuszinska, J., Tokaraska, R.M. and Haratym, M.A. Dermal and oral toxicity of malathion in rats. *Ann. Agric. Environ. Med.* 10: 101-106; (2003)
- 32) Trottier, B.L., Fraser, A.R., Planet, G. and Ecobichon, D.J. Subacute toxicity of technical fenitrothion in male rats. *Toxicology*, 17: 29-38; (1980)
- 33) Wahlefeld, A.W. Triglycerides determinations after enzymatic hydrolysis; in *methods of enzymatic analysis*, Nergmer, H.V. (Ed), Academic Press, New York. vol. 4, pp: 18-31; (1974)
- 34) World Health Organization (WHO). Environmental health criteria no.153. Fenitrothoin. Geneva, World Health Organization; (1992)
- 35) Yamamoto, T., Egashira, T., Yoshida, T. and Kuroiwa, Y. Increase of adrenal weight in rats by the repeated administration of fenitrothion. *Toxicol. Lett.* 11: 187-191; (1982)
- 36) Zama, D., Meraihi, Z., Boubekri, N., Amrani, A., Tebibel, S. and Baali, N. Assessment of the changes in some diagnostics enzymes parameters in wistar albino rats treated with pesticides during gestation. *Sciences & technologie.* 23: 51-56; (2005)

