

دراسة بعض التغيرات الكيموحيوية في مصل ذكور الفئران المختبرية

Mus musculus L. المعاملة بمبيد الدايكورفوس

فارس شاكر كاطع¹ مصطفى عبد المجيد حسين² سامي جبر المالكي¹

¹ قسم علوم الحياة / كلية التربية

² فرع الفلسفة / كلية الطب ، جامعة البصرة

ISSN -1817 -2695

(الاستلام 2007/3/6 ، القبول 2007/5/6)

الخلاصة:

الدايكورفوس من المبيدات العضوية الفسفورية الحشرية الواسعة الانتشار في البيئة ، إذ تناولت هذه الدراسة تأثير هذا المبيد على مستوى إنزيمي GOT, GPT وتركيز البروتين و الكولسترول الكلي لمصل ذكور الفئران المختبرية *Mus musculus L.* والمعاملة بالجرعتين (0.1 ملغم/يوم و 0.05 ملغم/يوم) ، ولمده 15 يوماً . أظهرت نتائج حقن المبيد في منطقة الخلب I.P. للفئران المختبرية وجود ارتفاع معنوي في إنزيم GOT لمصل الدم وبالجرعتين بينما لم يظهر التحليل الإحصائي وجود أي فارق معنوي لإنزيم GPT عند مقارنته مع مجموعة السيطرة. كما بينت النتائج وجود انخفاض معنوي لمستوى البروتين الكلي لمصل الدم وبالجرعة (0.1 ملغم/يوم) ، كذلك سبب حقن المبيد انخفاضاً معنوياً في مستوى الكولسترول الكلي لمصل الدم وبالجرعتين عند المقارنة مع مجموعة السيطرة.

الكلمات المفتاحية : الدايكورفوس ، GOT ، GPT ، البروتين الكلي ، الكولسترول الكلي .

المقدمة : Introduction

يعد مبيد الدايكورفوس (2,2-dichlorovinyl dimethyl phosphate) Dichlorvos من المركبات الفسفورية العضوية المستعملة في القضاء على الحشرات المنزلية ، إذ يستعمل للسيطرة على الحشرات والطفيليات الخارجية التي تصيب الحيوانات المنزلية [9 , 23]. ويعد يعتبر الدايكورفوس من المبيدات الخطرة والعالية السمية حسب تصنيف منظمة الصحة العالمية [31] ويستعمل بصورة واسعة في البلدان النامية و بلغت الجرعة القاتلة النصفية له $LD_{50}=56 \text{ mg/kg}$ [3]. إن معظم حالات التسمم والموت في الإنسان هي نتيجة تلامسه مع الجلد وتعتمد آلية التسمم بالمبيد على تثبيط أنزيم الاستايل كولين استريز Acetyl choline esterase (AChE) الذي يعمل بدوره على تحليل الناقل العصبي الاستايل كولين في الأنسجة العصبية والعضلات الإرادية مما يؤدي إلى الشلل ومن ثم الموت للكائن المتسم [13,14]. تعد إنزيمات الكبد ومنها إنزيمي glutamate pyruvate transaminase (GPT) و glutamate oxaloacetate transaminase (GOT) مؤشراً مهماً في تشخيص سمية الكبد وتضرر خلاياه من قبل المركبات السامة [29]. وهناك العديد من الدراسات حول تأثير المبيدات الفسفورية في الإخلال الوظيفي للكبد، إذ وجد Wail (1984) في دراسة على الجرذان البيضاء المعاملة بمبيد الملاثيون زيادة معنوية في مستوى إنزيمي GOT, GPT في مصل الدم عند مقارنته مع مجموعة السيطرة ، كما أكد آل علي (2004) وجود زيادة معنوية في مستوى هذين الإنزيمين في مصل الفئران المختبرية والمعاملة بالمبيد الفسفوري الكلوربايرفوس Chlorpyrifos . تلعب الدهون والبروتينات دوراً مهماً في ديمومة العمليات الحيوية في الجسم وإن أي اضطراب في مستواها في الأنسجة والمصل يكون مرتبطاً مع حدوث العديد من الحالات غير الطبيعية مثل مرض حصوة الصفراء وتصلب الشرايين ومرض الشريان التاجي [24]. وحول دراسة تأثير المبيدات في الدهون ، فقد بين Kutty *et al.* (1975) إن تعرض الإنسان إلى التسمم بمبيد الباراثيون أدى إلى انخفاض في تركيز الكولسترول الكلي لمصل الدم كما بين Quistad *et al.* (2001). تأثير مبيد الديازينون Diazinon على دماغ الفئران المعاملة بالمبيد من خلال تثبيط إنزيم Fatty acid amide hydrolase مؤدياً بذلك إلى ضعف في القدرة الحركية للأطراف، كما ذكرت كل من الاسدي (2003) وأكد Qiao *et al.* (2002) على انخفاض مستوى البروتين الكلي في مصل الفئران المعاملة بالمبيدات الفسفورية وعليه يتناول البحث الحالي التأثيرات الكيموحيوية لمبيد الدايكورفوس .

المواد وطرائق العمل : Materials and Methods

المواد الكيميائية:

مبيد Dichlorvos:

حصل على مبيد DiviGoz50 من الأسواق المحلية على شكل قنينة حجمية سعة 100 مل وبتركيز 50% ومن إنتاج شركة BHARAT INSECTSCIDES Ltd الهندية ورقم الوجبة 02 .

الحيوانات المختبرية:

استعملت في هذه الدراسة ذكور فئران مختبرية من نوع *Mus musculus* L. سلالة BALB/C والتي ربيت في البيت الحيواني التابع إلى كلية التربية/جامعة البصرة تحت ظروف مسيطر عليها من درجة حرارة (20-25)°م ودورة إضاءة 12 ساعة ضوء -12 ساعة ظلام وتغذيتها بالعليقة الحيوانية المتكاملة [17] .

تحضير حيوانات التجربة:

في الدراسة الحالية عزل 24 ذكراً بعمر (7-8) أسابيع تتراوح أوزانهم ما بين (22-25) غم ، حقنت الذكور في منطقة الخلب Intrapertoneal I.P بواقع 0.1 مل لكل 25 غم من وزن الجسم [8]. قسمت الحيوانات إلى ثلاثة مجاميع (n=8) حقنت مجموعة السيطرة بـ 0.1 مل من الماء المقطر والمجموعة الثانية حقنت بـ 0.1 مل من محلول مبيد الدايكلورفوس وبجرعة 0.05 ملغم/يوم أما المجموعة الثالثة فحقنت بـ 0.1 مل من محلول المبيد وبجرعة 0.1 ملغم /يوم وحقنت هذه المجاميع بواقع حقنة واحدة يومياً ولمدة 15 يوماً .

الاختبارات الكيموحيوية :

سحب الدم من القلب مباشرة بعد تخدير الحيوان بالكوروفورم وبعدها فصل الدم وحفظ المصل في أنابيب حافظة، وقدرت الاختبارات الكيموحيوية للمصل اعتماداً على Close,1986; Kaneko et al. 1997 .

1- تقدير فعالية أنزيم GOT

قيست فعالية إنزيم GOT باستعمال المادة الأساس (حامض الاسبارتيك وحامض ألفا- كيتوكوتاريك) ، إذ يعمل الإنزيم على هذه المادة لإنتاج حامض البيروفيك الذي يتفاعل مع العامل الملون DNPB لتكوين مركب ملون قيسبت شدته اللونية على طول موجي قدره 510 نانومتر باستعمال جهاز المطياف Spectrophotometer حسبت فعالية الإنزيم من المعادلة التالية .

$$\text{فعالية الإنزيم} = \text{امتصاصية عينة الاختبار} / \text{امتصاصية المحلول القياسي} \times 66 .$$

2- تقدير فعالية أنزيم GPT

استعمل حامضي الالانين كيتوكوتاريك كمادة أساس يعمل عليها الإنزيم GPT لإنتاج حامض البيروفيك الذي يتفاعل مع العامل الملون DNPB لتكوين معقد لوني (احمر - بني) ، حسبت شدته اللونية على طول موجي قدره 510 نانومتر ، وحسبت فعالية الإنزيم من المعادلة التالية .

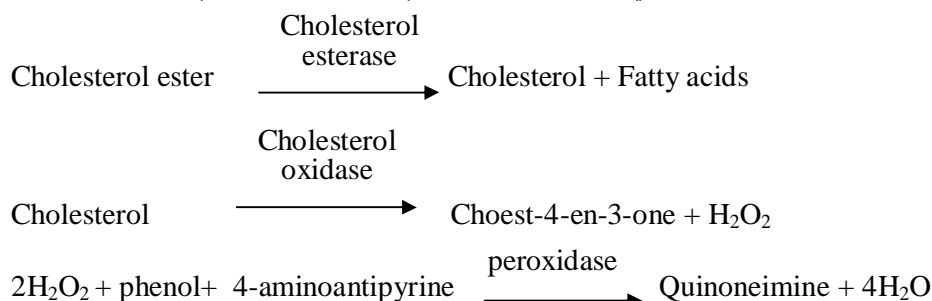
$$\text{فعالية الإنزيم} = \text{امتصاصية عينة الاختبار} / \text{امتصاصية المحلول القياسي} \times 133 .$$

3- تقدير البروتين الكلي total protein في مصل الدم

استعملت طريقة البايوريت Biuret method لتقدير البروتين الكلي، إذ يعمل النحاس الموجود ضمن تركيب كاشف البايوريت على التفاعل مع الأواصر الببتيدية للحوامض الامينية في جزيئة البروتين معطياً لونا أزرق- بنفسجي وقيست شدته على الطول الموجي 540 نانوميتر وتطبيق المعادلة الآتية :
البروتين الكلي (100mg/ml) = امتصاصية عينة الاختبار/امتصاصية المحلول القياسي × تركيز البروتين القياسي 7.5 .

2- تقدير الكوليسترول الكلي total cholesterol لمصل الدم:

تعتمد هذه الطريقة على تكوين المعقد اللوني guinoneimine الذي يظهر باللون الوردي وحسب المعادلات الآتية:



التحليل الإحصائي: Statistical Analysis

حللت بيانات الدراسة إحصائياً باستخدام جدول تحليل التباين ANOVA واختبار اقل فرق معنوي معدل R.L.S.D باستخدام برامج الحاسوب SPSS₁₀ .

النتائج والمناقشة: Results and Discussion

لقد أظهرت نتائج حقن ذكور الفئران المختبرية بالدايكورفوس والموضحة في الجدول (1) إلى وجود ارتفاع معنوي عند مستوى احتمال ($P < 0.01$) في قيمة أنزيم GOT في مصل الدم وبالجرعتين (0.1 mg/day, 0.05 mg/day) عند مقارنته مع مجموعة السيطرة، ولم يظهر التحليل الإحصائي أي فارق معنوي لأنزيم GPT في مصل الدم وبالجرعتين مقارنة مع مجموعة السيطرة. قد يرجع هذا الارتفاع في مستوى إنزيم GOT إلى تأثير مبيد الدايكورفوس في القلب و الكبد مسبباً أضراراً نسيجية حشوية ومحدثاً زيادة في نفاذية الأغشية مما يؤدي إلى تحرر هذا الإنزيم باتجاه مجرى الدم [22]. وذكر Campbell and Ofurum, 1985 ظهور ارتفاع معنوي لهذا الإنزيم في كبد ومصل الجرذان المعاملة بمبيد الدايكورفوس وجرعات عالية ولفترة قصيرة مقارنة بدراستنا، كما بين (1992) Abd El- Rahman and Zaki حدوث أضرار في كبد الفئران المختبرية المعاملة بمبيد الملاثيون مما أدى إلى زيادة في مستوى إنزيم GOT في مصل الدم. كما تعمل المبيدات الفسفورية على زيادة فعالية الأجسام الحالة Lysosomal الموجودة في الأغشية الخلوية لخلايا الكبد مسبباً تحطم الخلايا الكبدية ومحررة أنزيماتها إلى مجرى الدم [7].

لم يكن هناك ارتفاع لإنزيم GPT مقارنة مع GOT وذلك لأن المبيد أثر على القلب والكبد معاً، وبما إن القلب يفرز الجزء الأكبر من إنزيم GOT ويعتبر ارتفاع هذا الإنزيم في المصل دليلاً على تأثر القلب لذا قد كانت حصيلة التأثير المشترك للمبيد على القلب والكبد هو ارتفاع GOT مقارنة مع GPT [15].

و بينت نتائج الدراسة إن حقن مبيد الدايكورفوس أدى إلى انخفاض معنوي عند مستوى احتمال ($P < 0.01$) لمستوى الكولسترول الكلي في مصل الدم وبالجرعتين مقارنة مع مجموعة السيطرة.

قد يعزى هذا الانخفاض في تركيز الكولسترول إلى تأثير المبيد في الكبد مسبباً تغيرات إنزيمية تؤثر في عملية أيض الدهون إذ يثبط المبيد إنزيم Butyryl Cholinesterase (BuchE) الذي يلعب دوراً مهماً في عملية أيض الدهون وتصنيع الكولسترول [22,21,19]. و يعود السبب في هذا الانخفاض إلى تثبيط إنزيم hydroxyl-methylglutaryl CoA reductase من المبيدات الفسفورية والذي يعد المفتاح الأساس في تصنيع الكولسترول [28]. ومن ناحية أخرى قد يرجع الانخفاض إلى تأثير المبيدات الفسفورية في زيادة فعالية إنزيم Lecithin -Cholesterol Acetyltransferase (LCAT) المحفز لعملية أسترة الكولسترول esterification و يربطه بالبروتينات الدهنية وبذلك تقل نسبة الكولسترول وتزداد نسبة تكوين مركب Low Density Lipoprotein cholesterol (LDL-C) وان فرط التحفيز لإنزيم LCAT سيؤدي إلى زيادة في نسبة مركب High Density Lipoprotein cholesterol (HDL-C) والمتواجد في خلايا الكبد والأمعاء إذ يلعب دوراً مهماً في نفاذ الكولسترول من الأنسجة حاملاً إياه إلى الكبد ليترشح مع أملاح الصفراء [16]. وقد بين الجدول (1) وجود انخفاض معنوي عند مستوى احتمال ($P < 0.01$) في المحتوى الكلي لبروتين مصل الدم وبالجرعة (0.1 mg/day) فقط عند مقارنته مع مجموعة السيطرة. قد يعزى هذا الانخفاض إلى تأثير مبيد الدايكورفوس في عمل الغشاء الخلوي وسريان أيوناته بوساطة تثبيط الإنزيمات المنظمة لهذه العملية وبذلك يؤثر في امتصاص المواد الغذائية في الأمعاء مما يؤدي بدوره إلى انخفاض البروتينات الممتصة [25]. كما قد يعود السبب في هذا الانخفاض إلى تلف أنسجة الكبد بالمبيد ناتجاً عنه احتقان في خلاياه وظهور فجوات وتواجد تراكيز عالية من الأجسام الدهنية إذ يعد الكبد العضو الرئيس المسؤول عن أغلب الفعاليات الأيضية ومنها تصنيع بروتينات البلازما لذا أي ضرر في الكبد ينعكس على وظائفه وانخفاض بروتينات الدم [22,6]. وقد أشار رأفت (1992) إلى التأثير السلبي لمبيد الدايكورفوس على القواعد النابتروجينية الأربعة في DNA، إذ يلعب دوراً مهماً في السيطرة على تحفيز عملية تصنيع mRNA الذي يحمل المعلومات إلى الريبوسومات لتصنيع البروتينات فيها مما يسبب انخفاض في مستوى البروتينات [26]. كما يسبب هذا المبيد تورم غدة البنكرياس مؤثراً على إفرازها من الأنسولين الذي له تأثير مباشر على الريبوسومات التي تزيد من ترجمة mRNA لتصنيع بروتين جديد [11,4].

جدول (1) يبين تأثير مبيد الدايكورفوس على مستوى GOT, GPT وتركيز الكولسترول والمحتوى الكلي للبروتين في مصل دم ذكور الفئران المختبرية (N=8) (المعدل ± الخطأ القياسي)

المعاملات	GOT IU/L	GPT IU/L	تركيز البروتين mg/100ml	تركيز الكولسترول mg/100ml
مجموعة حيوانات السيطرة ماء مقطر	13.62 ±0.37	12.37 ±0.59	5.70 ±0.11	175.62 ±2.17
0.05mg/day دايكورفوس	*35.25 ±1.26	12.50 ±0.56	5.02 ±0.11	*139.37 ±1.88
0.1mg/day دايكورفوس	*43.12 ±0.83	13.0 ±0.50	*4.23 ±0.25	*134.25 ±2.85

* وجود فرق معنوي عند مستوى احتمال ($P < 0.01$)

الاستنتاجات : Conclusion

من خلال هذه الدراسة نستنتج إن التغيرات الحاصلة في إنزيم GOT والمحتوى الكلي للبروتين والمحتوى الكلي للكولسترول قد تعود إلى التأثير السمي لمبيد الدايكورفوس على الكبد، إذ يعد العضو المهم والمسؤول عن الكثير من العمليات الأيضية للبروتينات والدهون.

المصادر العربية:

- 1.الاسدي , هند عبد الجليل احمد. تأثير ميبد الديازينون في الكفاءة التخصيلية للفئران المختبرية البيضاء *Mus musculus* L. رسالة ماجستير/ كلية التربية/جامعة البصرة.(2003)
2. آل علي, مجدي فيصل مجيد. دراسة بعض التغيرات الفسلجية والنسجية و الكيموحيوية في الأسماك الذهبية *Carassius auratu* والفئران البيض الناجمة عن التأثير السمي لمبيد الكلوربيرفوس Chlorpyrifos أطروحة دكتوراه/كلية العلوم/جامعة البصرة. (2004)
3. رأفت, هيكل رياض . دليل ومعجم المبيدات لمكافحة الحشرات الطبية والمنزلية والزراعية. دار الكتب للطباعة والنشر/ جامعة الموصل.(1992)
4. محيي الدين, خير الدين ؛ يوسف, وليد حميد؛ توحلة, سعد حسين . فسلجة الغدد الصم والتكاثر في الثدييات والطيور. دار الحكمة للطباعة/ جامعة الموصل.(1990)

المصادر الأجنبية:

- 5.Abd El-Rahman, M.F. and Zaki, T.Z. Cytotoxic action of Malathion on renal and hepatic tissue of mice. J.Ger.Soc.Zool.,8 (C): 105-114. (1992)
- 6.Anderson, J.R. Muri's Textbook of pathology(1st) printed by Butler and Tanner. Ltd., London, UK. 652pp.(1980)
- 7.Awasthi, M.; Shah, P.; Dubale, M.S. and Godhia, P. Metabolic Changes induced by organophosphates in piscine organs. Environ. Res.,35:320-325. (1984)
- 8.Balanchand,R.J.; Hori,K. and Blanchard,D.C. Ethanol effects in aggression of rat selected for different levels of aggressiveness. Pharmacology , biochemistry and behavior,27:641. (1987)
- 9.Bennett, S.M. Dichlorvos. Oregon University and World Health Organization, Washington, USA. (2001)
- 10.Campbell, P.I. and Ofurum., O.O. Serum and liver enzyme changes in rats after short term exposure to Dichlorvos. Comp. Biochem Physiol.,83(2):443-446.(1985)
- 11.Chan, F.C.; Muff, J.; Maseman, J.K.; Alison, R. and Prejean, J.D. Carcinogenesis studies of Dichlorvos in Fischer rats and B₆C₅F₁ mice. Tpn. J. Cancer Res.,82:157-164. (1991)
- 12.Coles, E.H. Veterinary clinical pathology 4th ed., W.B. Saunders Company, Philadelphia, London, 457pp. (1986)
- 13.FAO/UNEP. Dichlorvos draft decision guidance document prepared for FAO/UNEP joint group of experts in PIC.FAO, Rome. (1992)
- 14.Harlin, K.S. and Dellinger, J.A. Retina, brain and blood cholinesterase levels in cats treated with oral Dichlorvos . Vet. Hum. Toxicol.,35:201-203. (1993)
- 15.Harper, H. A. Review of physiological chemistry .14th ed.,San Francisco, California, 545pp.(1973).
- 16.Ibrahim, N.A. and El-Gamal, B.A. Effect of Diazinon, an organophosphate insecticide, on plasma lipid constituents in experimental animals. J. Biochem. Mol. Bio.,36(5):499-504. (2003)
- 17.Jawad, A.A.H. Ethological studies in assessing the anti-aggressive of effects of some Iraqi medicinal plant in laboratory mice (*Mus musculus*) . A thesis submitted to college of education , University of Basrah. (1996)

- 18.Kaneko, J.J.; Harvey, J.W. and Bruss, M.L. Clinical biochemistry of domestic animals. 5th ed., Academic Press, San Diego, London, Boston, New York, Sydney, Tokyo, Toronto,907 pp. (1997)
- 19.Krnic, Z. and Bradamante, V. Effect of oxpranolol treatment on pseudocholinestrase and lipids in rats . *Arzneim. Foresch. Drug Res.*, 47:910- 913.(1997)
- 20.Kutty, K.M.; Jacob, J.C.; Hutton, C.J.; Davis, P.J. and Peterson, S.C. Serum beta-lipoproteins: studies in a patient and Guinea pigs after the ingestion of organophosphorus compounds. *Clin. Biochem.*,8:379-383. (1975)
- 21.Lucić, A.; Bradamante, V.; Raddic, B.; Peraica, M.; Domijan, A.; Fuchs, R. and Stavljenic-Rukavina, A. The effect of Dichlorvos treatment on Butyryl Cholinesterase activity and lipid metabolism in rats . *Arh. Hig. Rada. Toksikol.*,53:275-282. (2002)
- 22.Luty, S.; Latuszynska, J.; Halliop, J.; Tochman, A. and Bychawski, E. Toxicity of dermally absorbed Dichlorvos in rat. *Ann. Agric. Environ. Med.*, 5:57-64.(1998)
- 23.Martin, H. and Worthing, C. Pesticide Manual British. Crop Production Council . England. (1974)
- 24.Moss, D. W. ; Henderson, A.P. and Kachmar,J.F. Enzymes in Fundamentals of clinical chemistry, Tietz, N. W. 3rd ed. WB Saunders Company. Philadelphia , USA. (1987)
- 25.Potas, G.M. and D'Angelo, A.M. Perturbation effects of organophosphate insecticides on human erythrocyte. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*,39:802. (1987)
- 26.Qiao, D.; Seidle, F.J. and Slotkiu , T.A. Development neuro toxicity of Chlorpyrifos modeled in vitro: Comparative effects of metabolites and other cholinesterase inhibitors on DNA synthesis in pc12 and c6 cells. *Environ. Health Prespect.*,102(2):909-913. (2002)
- 27.Quistad, G.B.;Sparks,S.E. and Casida,J.E. Fatty acid amide hydrolase inhibition by neurotoxic organophosphorus pesticides.*Toxicol. Appl. Pharmacol.*,173:48-55.(2001).
- 28.Ryhanen, R.; Herranen, J.; Karhonen, K.; Pentila, I.; Popvilanpi, M. and Puhakainen, E. Relationship between serum lipids , lipoproteins and pseudocholinestrase during organophosphate poisoning in rabbits. *Int. J. Biochem.*, 16: 687-690. (1984).
- 29.Stempel, D.A. and Miller, J.J. Lymphopenia and hepatic toxicity with ibuprofen.*Toxicol.*, 90:657-658.(1977).
- 30.Wail, R.K.; Singh, R.; Dudeja, P.K.; Sarkar, A.K. and Mohamood, A. Sub chronic Malathion treatment effects on rat intestinal functions . *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 23:289-299. (1984).
- 31.WHO. The WHO recommended classification of pesticides by hazard and guide lines to classification 1992 - 1993 (WHO / PSC / 92.14) Available from the international programme on chemical safety , World Health Organization , Geneva , Switzerland. (1992)

**A study on Some Biochemical Changes in the serum of Male
Laboratory mice *Mus musculus* L. treated with
Dichlorvos Pesticide**

F. S.Kata¹, M.A. Hussain² and S.J. Al-Malki¹

¹ *Department of biology / College of education / University of Basrah*

² *Branch of physiology/ College of medicine / University of Basrah*

Abstract :

Dichlorvos is one of organophosphate insect pesticides which is widely distributed in environment. This study deals with the effect of this pesticide on GPT and GOT enzymes level , total protein and total cholesterol in laboratory male mice (*Mus musculus* L.) which were treated with (0.1 mg/day , 0.05 mg/day) of the pesticide for a period of 15 days .

Dichlorvos intraperitoneal injection in laboratory mice resulted in a significant increase in GOT enzyme with both doses where as the statistical analysis did not show any significant difference for GPT enzyme when compared with the control group. The results also showed a significant decrease of total protein of blood serum with doses of (0.1 mg/day). Moreover, pesticide injection caused a significant decrease in serum total cholesterol level with both doses when it is compared with the control group .