Original Paper

Effect of diazinon on functional tests and liver tissue alterations in adult rats

Seyyed Ali Haghightjoo (M.Sc), M.Sc in Animal Physiology, Department of Biology, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran. ORCID ID: 0000-0002-4431-2597

***Mehrdad Shariati (Ph.D)**, **Corresponding Author**, Associate Professor, Department of Biology, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran. **mehrdadshariati48@gmail.com** ORCID ID: 0000-0001-7360-0208

Mokhtar Mokhtari (Ph.D), Professor, Department of Biology, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran. ORCID ID: 0000-0002-9788-3449

Davood Moghadamnia (Ph.D), Ph.D in Animal Physiology, Young Researchers and Elite Club, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran. ORCID ID: 0000-0002-4892-7417

Abstract

Background and Objective: The diazinon insecticide is a strong acetylcholinesterase controller at the nerve terminals. This study was conducted to determine the effect of diazinon on functional tests and tissue alterations in rat liver.

Methods: In this experimental study, 40 adult male Wistar rats were allocated into 5 groups including the first, second and third experimental groups were received 50, 100 and 150 mg/kg/bw of diazinon, respectively, orally during 21 days. The control group did not receive any medication and the sham group received solvent. At the end of study, blood samples were obtained from animals and Alanine transaminase (ALT), Aspartate transaminase (AST), Alkaline phosphatase (ALP) hepatic enzymes, total protein, albumin and bilirubin were measured. After anesthesia the liver of animals were removed and evaluated by hematoxylin eosin histological staining methods.

Results: The level of AST and ALT enzymes in the experimental groups receiving 100 and 150 mg/kg/bw doses of diazinon significantly increased in compared to the control group ($p<0.05$). The level of ALP of animals in all groups receiving diazinon was significantly higher than the control group ($P<0.05$). Total protein level significantly reduced in all groups receiving diazinon compared to the control group ($P<0.05$). The level of albumin in the experimental group receiving 150 mg/kg/bw dose of diazinon significantly reduced in comparision with controls. In the experimental groups, tissue samples showed more necrosis with increasing doses of diazinon.

Conclusion: Diazinon increases level of liver enzymes and decreased total protein and albumin level and causes the histological alterations in rat liver.

Keywords: Diazinon, Liver Enzymes, Liver Necrosis, Rat

Received 17 Jan 2018 **Revised** 24 Jun 2018 **Accepted** 27 Jun 2018

Cite this article as: Seyyed Ali Haghightjoo, Mehrdad Shariati, Mokhtar Mokhtari, Davood Moghadamnia. [Effect of diazinon on functional tests and liver tissue alterations in adult rats]. J Gorgan Univ Med Sci. 2019 Spring; 21(1): 38-45. [Article in Persian]

تحقیقی

اثر دیازینون بر آزمون‌های عملکردی و تغییرات بافتی کبد موش صحرایی

سید علی حقیقت جو، کارشناس ارشد رشته فیزیولوژی جانوری، گروه زیست شناسی، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران. ORCID ID: 0000-0002-4431-2597
*** دکتر مهرداد شریعتی**، دانشیار، گروه زیست شناسی، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران. ORCID ID: 0000-0001-7360-0208
دکتر مختار مختاری، استاد، گروه زیست شناسی، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران. ORCID ID: 0000-0002-9788-3449
داوود مقدم نیا، دکتری رشته فیزیولوژی جانوری، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران. ORCID ID: 0000-0002-4892-7417

چکیده

زمینه و هدف: *حشره‌کش دیازینون کنترل کننده قوی استیل کولین استراز در پایانه های عصبی است. این مطالعه به منظور تعیین اثر دیازینون بر آزمون‌های عملکردی و تغییرات بافتی کبد موش صحرایی انجام شد.*

روش بررسی: *در این مطالعه تجربی ٤٠ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار به ٥ گروه ٨ تایی تقسیم شدند. گروه‌های تجربی اول، دوم و سوم به ترتیب مقادیر mg/kg/bw ٥٠ ، ١٠٠ و ١٥٠ دیازینون را به صورت خوراکی به مدت ٢١ روز دریافت کردند. گروه کنترل هیچ دارویی دریافت نکرد و گروه شاهد حلال دارو را دریافت نمود. در روز ٢٢، نمونه خونی از همه گروه‌ها تهیه و آنزیم‌های کبدی شامل آلانین ترانس آمیناز (ALT)، آسپارتات ترانس آمیناز (AST)، آلکالین فسفاتاز (ALP)، پروتئین تام، آلبومین و بیلی‌روبین اندازه‌گیری شدند. پس از بیهوشی حیوانات بافت کبد جدا و با رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین مورد بررسی قرار گرفت.*

یافته‌ها: *سطح آنزیم‌های ALT و AST در گروه‌های تجربی دریافت کننده مقادیر mg/kg/bw ١٠٠ و ١٥٠ دیازینون نسبت به گروه کنترل افزایش آماری معنی‌داری نشان داد (P<٠/٠٥). سطح آنزیم ALP در تمام گروه‌های دریافت کننده دیازینون نسبت به گروه کنترل افزایش آماری معنی‌داری نشان داد (P<٠/٠٥). سطح پروتئین تام در تمام گروه‌های دریافت کننده دیازینون نسبت به گروه کنترل کاهش آماری معنی‌داری نشان داد (P<٠/٠٥). سطح آلبومین در گروه تجربی دریافت کننده مقدار حداکثر دیازینون نسبت به گروه کنترل کاهش آماری معنی‌داری نشان داد (P<٠/٠٥). در گروه‌های تجربی در نمونه‌های بافتی تهیه شده با افزایش مقدار دارو نکروز بافتی بیشتری مشاهده شد.*

نتیجه‌گیری: *این مطالعه نشان داد که مصرف خوراکی دیازینون باعث افزایش سطح آنزیم‌های کبدی و کاهش سطح پروتئین تام، آلبومین و تغییرات نکروتیک در کبد موش‌های صحرایی می‌گردد.*

کلید واژه‌ها: *دیازینون ، آنزیم های کبدی ، نکروز کبدی ، موش صحرایی*

* نویسنده مسؤول : دکتر مهرداد شریعتی ، پست الکترونیکی mehrdadshariati48@gmail.com
نشانی : کازرون، کیلومتر ٥ جاده کازرون به شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون، گروه بیولوژی، تلفن ٠٧١-٤٢٢٣٩٩٣٣، نمابر ٤٢٢٣٠٥٠٨
وصول مقاله: ١٣٩٦/١٠/٢٧ ، اصلاح نهایی: ١٣٩٧/٤/٣ ، پذیرش مقاله: ١٣٩٧/٤/٦

مقدمه

کبد یک اندام مهم و ضروری موجود در مهره‌داران و برخی از جانوران است. اعمال کبد شامل سم‌زدایی، سنتز پروتئین و تولید مواد شیمیایی ضروری برای هضم و گوارش، ذخیره گلیکوژن، بازتولید سلول‌های خونی قرمز و تولید هورمون است (١).

دیازینون حشره‌کشی است که برای مبارزه با حشرات و آفات نباتی در مزارع کشاورزی و نیز در منزل به عنوان جونده‌کش به‌کار می‌رود. دیازینون جزء نسل سوم آفت‌کش‌ها بوده که در سال ١٩٥٢ توسط گاسر معرفی و توسط شرکت Giba-Geigy سوئیسی برای مبارزه آفات به بازار عرضه شد. دیازینون جزء نوروتوکسین‌ها (گروه آناتوکسین آ) و یک آنتی‌کولین استراز است (٢).

در مطالعه Hassouna و همکاران القا دهانی دیازینون به مدت ٣٠ روز در موش‌های صحرایی باعث کاهش تعداد گلبول‌های قرمز، محتوی هموگلوبین، مقدار هماتوکریت، محتوی پلاکت و محتوی مونوسیت‌ها و لنفوسیت‌ها گردید. علاوه براین دیازینون باعث کاهش غلظت ایمنوگلوبین تام، تکثیر سلول‌های تک‌هسته‌ای خون، شاخص فاگوسیتیک و انواع سلول‌های T و CD8 گردید (٣). سم دیازینون موجب سرطان مغز، آسیب گره‌های لنفاوی، کاهش حافظه و تمرکز و ایجاد حالات روانی می‌گردد (۴).

در مطالعه Rangoonwala و همکاران مشخص گردید که دیازینون باعث کاهش کلسیم در طرح‌های وابسته به دوز می‌گردد. علاوه بر این دیازینون در سلول‌های پاراتیروئید موش‌های آزمایشگاهی باعث تخریب، واکوئله شدن، کاهش گرانول‌های ترشحی و قطرات چربی، کاهش کروماتین و تغییرات مخرب در

شبکه اندوپلاسمی، دستگاه گلژی و همچنین میتوکندری می‌گردد (۵).

در مطالعه Bonilla و همکاران دیازینون باعث کاهش شانس زنده ماندن اووسیت‌ها در موش‌ها در شرایط in vitro گردید (۶). در مطالعه Win-Shwe و همکاران نوزادان تازه متولد شده که در معرض دیازینون قرار گرفته بودند؛ توانایی تشخیص اشیا جدید وابسته به هیپوکامپ آنها دچار آسیب شد (۷).

در مطالعه Ajibade و همکاران دیازینون باعث کاهش ضربان قلب و طولانی شدن فاصلهQT در موش‌های صحرایی گردید. در معرض قرار گرفتن موش‌های صحرایی با دیازینون به‌طور معنی‌داری فعالیت سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز و محتوی گلوتاتیون را کاهش داد. دیازینون باعث سوء عملکرد قلبی – عروقی و کم‌خونی گردید (۸). در مطالعه Pina-Guzman و همکاران دیازینون باعث تغییر ساختاری در کروماتین اسپرم گردید (۹). در مطالعه Baconi و همکاران مسمومیت برخی از حشره‌کش‌های ارگانوفسفره بر روی موش‌های صحرایی بررسی شد. دیازینون باعث افزایش نسبت سلول‌های تک‌هسته‌ای بر وزن طحال و افزایش تعداد لنفوسیت‌های طحال گردید. همچنین دیازینون موجب افزایش جزیی وزن بدن شد (۱۰).

در مطالعه ملیجی و همکاران دیازینون با دوزهای ۰/۳، ۳ و ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم باعث افزایش سطوح تستوسترون و اینترلوکین ۱۰ گردید و سطح هورمون FSH در موش‌های صحرایی کاهش یافت (۱۱). این مطالعه به منظور تعیین اثر دیازینون بر آزمون های عملکردی و تغییرات بافتی کبد موش صحرایی انجام شد.

روش بررسی

این مطالعه تجربی روی موش‌های صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با وزن تقریبی ۱۹۰ گرم و در محدوده سنی ۳-۲/۵ ماه در گروه زیست‌شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون در سال ۱۳۹۱ انجام شد. پایان‌نامه دارای کد اخلاق (شماره ۳۸۵۶) از دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون بود.

پروتکل بین المللی کار بر روی حیوانات آزمایشگاهی رعایت شد. موش های صحرایی تحت دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد و رطوبت کافی نگهداری شدند. تغذیه حیوانات مورد مطالعه توسط غذاهای آماده استاندارد و بدون محدودیت در آب و خوراک صورت گرفت (۱۲). ۴۰ سر موش‌های صحرایی به‌صورت تصادفی به ۵گروه ۸ تایی تقسیم شدند و پس از گروه‌بندی و سپری کردن دوره تطبیق با حرارت و رطوبت محل نگهداری مورد آزمایش قرار گرفتند. طول دوره آزمایش ۲۱ روز و گروه‌بندی حیوانات به شرح زیر بود:

گروه کنترل: هیچ مداخله‌ای صورت نگرفت.

گروه شاهد: روزانه ۲ میلی‌لیتر آب مقطر را به عنوان حلال به صورت خوراکی (۱۳) دریافت کردند. دوزهای مصرفی دیازینون با استفاده از مطالعه جعفری و همکاران (۱۴) انجام شد.

گروه تجربی اول: روزانه ۵۰ mg/kg/bw دیازینون (دوز حداقل) را به‌صورت خوراکی دریافت کردند.

گروه تجربی دوم: روزانه ۱۰۰ mg/kg/bw دیازینون (دوز متوسط) را به‌صورت خوراکی دریافت کردند.

گروه تجربی سوم: روزانه ۱۵۰ mg/kg/bw دیازینون (دوز حداکثر) را به‌صورت خوراکی دریافت کردند (۱۴).

در پایان دوره آزمایش خونگیری مستقیم از قلب تحت بیهوشی به عمل آمد. نمونه‌های خونی ۲۰ دقیقه در شرایط آزمایشگاهی نگهداری و به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۳۵۰۰ در دقیقه سانتریفیوژ شدند و سرم از لخته خون جدا شد.

اندازه‌گیری ALT به روش DGKC (۱۵) و اندازه گیری AST به روش IFCC (۱۶) صورت گرفت. برای اندازه‌گیری ALP از روش P-Nitrophenyl phosphate AMP استفاده گردید که بر اساس آن ALP روی سوبسترای بی‌رنگ ۴ نیتروفنیل فسفات اثر کرد و آن را به ۴ نیتروفنل زرد رنگ تبدیل نمود. تغییرات جذب نوری با فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز متناسب است (۱۷). برای اندازه‌گیری پروتئین تام از روش biuret reaction end point استفاده شد. در این آزمایش پروتئین‌ها در محیط قلیایی با یون‌های مس و تارتارات تشکیل رنگ لاجوردی را سبب می‌شوند و شدت رنگ ایجاد شده متناسب با مقدار توتال پروتئین در نمونه است. برای اندازه‌گیری آلبومین از روش Bromocresol Green استفاده گردید. در این آزمایش آلبومین با برم کرزول یک کمپلکس رنگی ایجاد می‌کند. شدت رنگ ایجاد شده متناسب با مقدار آلبومین در نمونه است. برای اندازه‌گیری بیلی‌روبین معرف دی آزو (مخلوط نیتریت سدیم و اسید سولفانیلیک) با بیلی‌روبین واکنش داده و ایجاد رنگ آزو را می‌کندکه در pH قلیایی قرمزرنگ است. بیلی‌روبین مستقیم پس از ایجاد به رنگ صورتی در می‌آید؛ ولی بیلی‌روبین تام با افزودن محلول تسریع کننده و در pH قلیایی سبزرنگ می‌گردد (۱۸و۱۹). آنزیم‌های کبدی و عوامل بیوشیمیایی خون با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر (Technicon RA-1000) اندازه‌گیری شدند.

آزمایش‌های بافت شناسی: پس از کالبدگشایی حیوانات کبد آنها برداشته شد. در مرحله تثبیت بافت‌ها در فرمالین بافر خنثی ۱۰درصد تثبیت شدند. مرحله آبگیری به کمک الکل با غلظت‌های متفاوت (از کم به زیاد) صورت گرفت. مرحله شفاف‌سازی با قرار دادن بافت‌ها در دو ظرف حاوی زایلین صورت گرفت. در مرحله جایگزینی بافت‌ها در سه ظرف حاوی پارافین مذاب (۶۵ درجه

جدول ۱ : میانگین و انحراف معیار سطح آنزیم‌های کبدی گروه‌های دریافت کننده سم دیازینون در مقایسه با گروه کنترل

گروه‌ها	میانگین و انحراف معیار		
	آنزیم آلانین ترانس آمیناز (U/I)	آنزیم آسپارتات ترانس آمیناز (U/I)	آنزیم آلکالین فسفاتاز (U/I)
کنترل	٥٤/٦٢±٥/٢٦	٢٣٧/٦٢±٣٠/٩٣	٤٨٨/٦٢± ٦٤/٤٨
شاهد	٥٣/٥٠±٨/٠١	٢٢٨/٣٧± ٢٤/٠٠	٤٨٢/٧٥± ٣٥/٩٤
دیازینون ۵۰ mg/kg/bw	٥٧/٧٥± ١٠/٧٤	٢٥٢/٦٢± ١٩/٤١	٥٧٥/٣٧± ٤٧/٧٤ *
دیازینون ۱۰۰ mg/kg/bw	٦٣/٥٠± ١٠/٣٦ *	٢٩٧/٧٥± ١٩/٥٤ *	٥٧٧/٥٠± ٦٢/٩٠ *
دیازینون ۱۵۰ mg/kg/bw	٧٩/٠٠± ١٥/٦٥ *	٣٠٥/٧٥± ١٥/٢٢ *	٦٣٨/٨٧± ٥٣/٧٩ *

* P< ٠/٠٥ نسبت به گروه کنترل

جدول ۲ : میانگین و انحراف معیار وزن بدن، غلظت بیلی‌روبین، آلبومین و پروتئین‌تام گروه‌های دریافت کننده سم دیازینون در مقایسه با گروه کنترل

گروه‌ها	میانگین و انحراف معیار			
	وزن بدن (گرم)	سطح سرمی بیلی‌روبین (mg/dl)	سطح سرمی آلبومین (g/dl)	سطح سرمی پروتئین تام (g/dl)
کنترل	٢٢٥/٨٧± ١٣/٣٥	٠/٠٩٤± ٠/٠٦	٤/٢٧± ٠/٥٣	٧/٤٨± ٠/٨٧
شاهد	٢٢٢/٧٥± ١٧/١٦	٠/٠٩٢± ٠/٠٥	٤/٧١± ٠/٦٣	٦/٩٦± ٠/٦٦
دیازینون ۵۰ mg/kg/bw	٢٢٢/٢٥± ٢٠/٤٠	٠/١١٨± ٠/٠٢	٤/٢٥± ٠/٧٥	٥/٤٨± ٠/٩٧ *
دیازینون ۱۰۰ mg/kg/bw	٢٢١/٥٠± ٢١/٠٤	٠/١٢١± ٠/٠٣	٤/١٦± ٠/٤٥	٤/٨٦± ٠/٧٣ *
دیازینون ۱۵۰ mg/kg/bw	٢٢٠/٢٧± ١٦/٢٧	٠/١٢٩± ٠/٠٥	٣/٧٥± ٠/٤٧ *	٤/٣٠± ٠/٤٧ *

* P< ٠/٠٥ نسبت به گروه کنترل

سانتی‌گراد) هر کدام یک ساعت قرار داده شدند. در مرحله قالب‌گیری از قطعات سالو کهارت استفاده شد. در مرحله مقطع‌گیری مقاطع بافتی به ضخامت ۵-۴ میکرون بریده شدند و در مرحله رنگ‌آمیزی از رنگ هماتوکسیلن- ائوزین استفاده شد (۲۰). تمام مطالعات بافتی زیر نظر پاتولوژیست به‌عمل آمد.

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS-18 و آزمون‌های آماری ANOVA و Tukey در سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ تجزیه و تحلیل شد.

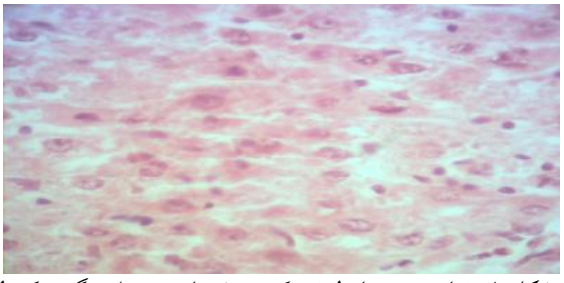
یافته‌ها

میانگین سطح سرمی آنزیم‌های ALT و AST در گروه‌های تجربی دریافت کننده مقادیر متوسط و حداکثر سم دیازینون افزایش آماری معنی‌داری نسبت به گروه کنترل نشان داد (P<۰/۰۵) (جدول یک). میانگین سطح سرمی آنزیم ALP در تمام گروه‌های تجربی دریافت کننده مقادیر مختلف سم دیازینون افزایش آماری معنی‌داری نسبت به گروه کنترل نشان داد (P<۰/۰۵) (جدول یک).

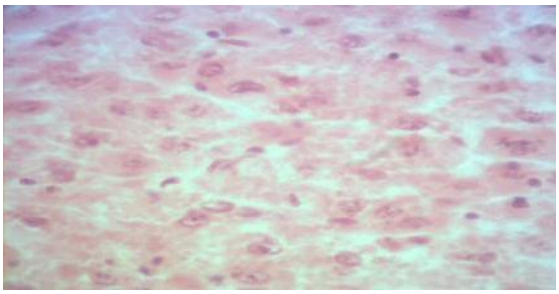
میانگین وزن بدن و سطح سرمی بیلی روبین در سه گروه تجربی نسبت به گروه کنترل تغییر آماری معنی‌داری نشان نداد (جدول۲).

میانگین سطح سرمی آلبومین در گروه تجربی سوم (دوز حداکثر) نسبت به گروه کنترل کاهش آماری معنی داری یافت (P<۰/۰۵) (جدول ۲). میانگین سطح سرمی پروتئین تام در همه گروه‌های تجربی نسبت به گروه کنترل کاهش آماری معنی‌داری یافت (P<۰/۰۵) (جدول۲).

نمای هیستومورفولوژی کبد موش‌های صحرایی گروه کنترل در شکل یک و گروه شاهد در شکل ۲ نشان داده شده است. سلول‌های هپاتوسیت بافت کبد فاقد آسیب و سلول‌ها کاملاً سالم و طبیعی بودند.



شکل ۱ : نمای هیستوپاتولوژی کبد موش‌های صحرایی گروه کنترل هپاتوسیت‌ها ظاهری طبیعی و فاقد نکروز دارند. رنگ آمیزی H&E ، بزرگ‌نمایی x ٤٠٠

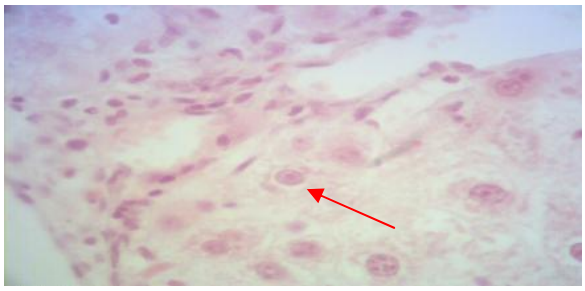


شکل ۲ : نمای هیستوپاتولوژی کبد موش‌های صحرایی گروه شاهد هپاتوسیت‌ها ظاهری طبیعی و فاقد نکروز دارند. رنگ آمیزی H&E ، بزرگ‌نمایی x ٤٠٠

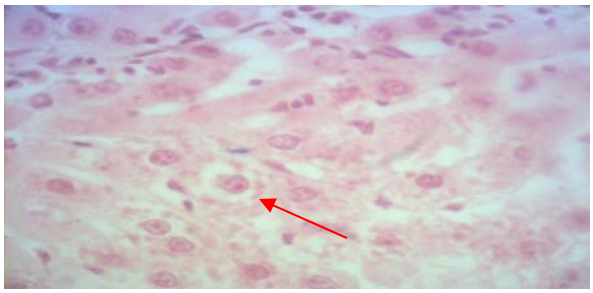
سلول‌های هپاتوسیت درون کبد در گروه تجربی دریافت کننده مقدار حداقل سم دیازینون در مقایسه با گروه کنترل دچار نکروز

خفیف گردید و در گروه تجربی دریافت کننده مقدار متوسط سم دیازینون در مقایسه با گروه کنترل به مقدار بیشتر دچار نکروز شد (شکل‌های ۳و۴).

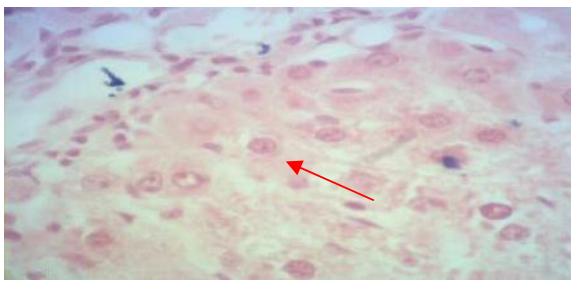
در گروه تجربی دریافت کننده مقدار حداکثر سم دیازینون در مقایسه با گروه کنترل، میزان نکروز به‌طور قابل ملاحظه‌ای نسبت به دو گروه تجربی دیگر افزایش یافت (شکل ۵). میزان نکروز بافت کبد متناسب با دوز دارو افزایش یافت و وابسته به دوز بود. به‌طوری که بیشترین حد نکروز در این گروه مشاهده گردید.



شکل ۳ : نمای هیستوپاتولوژی کبد موش‌های صحرایی گروه تجربی دریافت کننده دوز ۵۰ mg/kg/bw دیازینون
آسیب سلولی به صورت تورم سیتوپلاسم، تورم هسته و نکروز خفیف مشاهده می‌گردد. (رنگ آمیزی H&E ، بزرگ‌نمایی x ۴۰۰)



شکل ٤ : نمای هیستوپاتولوژی کبد موش‌های صحرایی گروه تجربی دریافت کننده دوز ۱۰۰ mg/kg/bw دیازینون
آسیب سلولی به صورت تورم سیتوپلاسم، تورم هسته و نکروز متوسط مشاهده می‌شود. (رنگ آمیزی H&E ، بزرگ‌نمایی x ۴۰۰)



شکل ۵ : نمای هیستوپاتولوژی کبد موش‌های صحرایی گروه تجربی دریافت کننده دوز ۱۵۰ mg/kg/bw دیازینون
آسیب سلولی به صورت تورم سیتوپلاسم، تورم هسته و نکروز حاد مشاهده می‌شود. (رنگ آمیزی H&E ، بزرگ‌نمایی x ۴۰۰)

بحث

با توجه به نتایج این مطالعه سطح سرمی آنزیم های ALT و AST در گروه‌های تجربی دریافت کننده مقادیر متوسط و حداکثر سم دیازینون نسبت به گروه کنترل افزایش آماری معنی‌داری یافت. سطح سرمی آنزیم ALP همه گروه‌های تجربی دریافت کننده سم دیازینون نسبت به گروه کنترل افزایش آماری معنی‌داری یافت. در کبد هر سه گروه تجربی، در میان سلول‌ها فضای خالی ناشی از آسیب‌دیدگی سلول ایجاد شد و وسعت این فضای آسیب‌دیده با افزایش دوز مصرفی دارو افزایش نشان داد. این نتایج با یافته‌های دیگر محققان (۲۳-۲۱) همخوانی دارد.

در مطالعه Beydilli و همکاران مشخص گردید که خارمریم از طریق القا مکانیسم‌های آنتی‌اکسیدانتی استرس‌های اکسیداتیو را کاهش می‌دهد و اثر حفاظتی علیه صدمه کبدی القاشده توسط دیازینون دارد و خارمریم مسمومیت ناشی از دیازینون را بهبود بخشید. دیازینون با دوز ۳۳۵ mg/kg به‌صورت دهانی موجب تغییرات بافتی در کبد موش صحرایی شامل گشاد شدن شدید سینوزوئیدها، اختلال در توازن رادیکالی سلول‌های کبدی در ورید مرکزی، واکوئله شدن شدید در سیتوپلاسم سلول‌های کبدی، التهاب در اطراف ورید مرکزی و نواحی پورتال گردید. در گروه دریافت کننده دیازینون، افزایش سطح آنزیم‌های کبدی AST و ALT و نیتریک اکسید و میلو پراکسیداز در سرم و نیتریک اکسید و میلو پراکسیداز در کبد مشاهده گردید (۲۴).

در مطالعه Abdel-Daim و همکاران روغن کنجد و مکمل لیپوئیک اسید توانست اثر سمی دیازینون را از طریق فعالیت‌های خنثی‌کنندگی رادیکال‌های آزاد و آنتی‌اکسیدانتی قوی تسکین بخشد. سم دیازینون با دوز ۲۰mg/kg به مدت ۴ هفته سطح پارامترهای بیوشیمیایی مرتبط با صدمه کبدی از جمله سطح آنزیم‌های کبدی AST، ALT و ALP، گاماگلوتامیل ترانسفراز، کلسترول و تری‌گلیسرید را به‌طور معنی‌داری افزایش داد (۲۵).

در مطالعه شکرزاده و همکاران اثر ویتامین های A، C و E روی فعالیت آنزیم‌های کبدی موش‌های صحرایی در معرض حشره‌کش ارگانوفسفر دیازینون بررسی شد. دیازینون با دوز ۲۰ mg/kg به‌صورت درون صفاقی به مدت ۱۴ روز باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های کبدی AST و ALT گردید. مصرف دیازینون و ویتامین‌های A، C و E سبب کاهش آماری معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های کبدی گردید (۲۶).

در مطالعه Messarah و همکاران اثر تصحیح کنندگی زردچوبه و ویتامین E بر صدمه اکسیداتیو القاء شده توسط دیازینون در اریتروسیت‌ها و کبد موش صحرایی بررسی شد. دیازینون باعث افزایش پراکسیداسیون لیپید و سطح سوبسترات واکنشی تیوباربیوتیک اسید گردید. دیازینون موجب افزایش ALP، AST، ALT و LDH گردید. زردچوبه و ویتامین E این اثرات دیازینون را تصحیح نمودند (۲۷).

چون سطح آنزیم ALT و AST در سیتوپلاسم و میتوکندری‌های سلول‌های کبدی و آنزیم ALP در غشای سلول‌های کبدی چندین مرتبه بیشتر از مایع خارج سلولی است؛ زمانی که سلول‌های کبدی دچار نقص و آسیب‌دیدگی شوند؛ این آنزیم‌ها از سلول خارج گشته و غلظت سرمی آنها افزایش می‌یابد (۲۸).

افزایش ضعیف یا متوسط آنزیم کبدی AST می‌تواند اختلال کبدی حاصل از نقایص کبدی را تایید کند؛ اما غلظت آنزیم ALP می‌تواند طبیعی بماند (۱). در پستانداران افزایش AST نسبت به ALT نشانه خوبی برای نکروز کبدی سلول‌های پارانشیم کبد است (۲۹).

از آنجایی که به‌نظر می‌رسد افزایش آنزیم‌های کبدی در خون بر اثر نکروز سلول‌های پارانشیم کبدی باشد؛ پس می‌توان احتمال داد که دیازینون موجب تخریب سلول‌ها و خروج آنزیم‌های ALT و AST در پستانداران به دنبال نکروز سلول‌های کبدی گردد (۳۰). از طرفی آنزیم AST در سیتوپلاسم و میتوکندری وجود داشته و چون سم دیازینون موجب تخریب میتوکندری‌ها نیز می‌شود؛ پس می‌توان پیشنهاد کرد که AST بر اثر آسیب کبدی از میتوکندری‌ها خارج و میزان آن افزایش می‌یابد. همچنین به‌دلیل این که ALT فقط در سیتوپلاسم موجود است؛ پس سطح AST نسبت به ALT در آسیب‌های کبدی افزایش می‌یابد. احتمال دارد که دیازینون با تخریب بافت کبد موجب خروج آنزیم‌ها به خون شود که افزایش آنها بیانگر میزان و نوع آسیبهای کبدی است.

وجود آنزیم ALP در جدار مویرگ‌های کبدی جهت تسهیل عبور مواد از جدار آنهاست که احتمالاً با آسیب موئینه‌های کبدی توسط دیازینون و ورود ALP به درون خون میزان آنها افزایش می‌یابد. همچنین بر اساس آزمایشات چون دیازینون میزان تیروکسین خون را افزایش می‌دهد و هورمون‌های تیروئیدی از جمله T4 می‌تواند تولید ALP را در سلول‌های کبدی و سایر سلول‌های بدن از طریق فرایند هسته‌ای تحریک کند (۳۱)؛ احتمال دارد که دیازینون با افزایش تیروکسین موجب افزایش تولید و خروج ALP و ازدیاد آن در خون شود.

میانگین غلظت سرمی آلبومین در گروه دریافت کننده مقدار حداکثر سم دیازینون در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌داری نشان داد. میانگین غلظت سرمی پروتئین تام در تمام گروه‌های دریافت کننده سم دیازینون در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌دار نشان داد.

بسیاری از پروتئین‌های پلاسما در کبد ساخته می‌شوند که آلبومین از نظر مقدار از همه مهم‌تر است و سنتز روزانه آن در کبد به میزان ۳ گرم است. فیبرینوژن تنها در کبد ساخته می‌شود. عوامل منعقدکننده دیگر مانند پروترومبین در کبد ساخته می‌شوند. منشأ گلوبولین‌های آلفا و بتا در کبد است (۳۲).

آلبومین یکی از مهم‌ترین پروتئین‌های چرخه‌ای در جریان خون است که به‌وسیله کبد ساخته می‌شود و در جریان خون ترشح می‌شود. آلبومین خون یک راهنمای گرانبها و یک نشانه حساس برای بیماری کبد است و در پاسخ‌های التهابی کاهش می‌یابد (۳۳). کاهش آلبومین و پروتئین تام از جمله علایم پیشرفت بیماری کبدی بوده و میزان این کاهش شدت آسیب کبدی را نشان می‌دهد. با توجه به نتایج به‌دست آمده از این مطالعه دیازینون موجب افزایش آنزیم‌های کبدی و آسیب کبد می‌گردد. در نتیجه انتظار می‌رود که تولید پروتئین‌ها کاهش یابد. همچنین بر اساس تحقیقات انجام شده دیازینون موجب کاهش سطح تستوسترون به‌طور معنی‌داری می‌شود (۳۴) و نیز مطالعات نشان داده‌اندکه دیازینون موجب افزایش کورتیزول می‌شود (۳۵). می‌توان نتیجه گرفت که دیازینون از یک‌طرف با کاهش پروتئین‌ها و از طرف دیگر با کاهش کاتابولیسم آنها موجب کاهش پروتئین‌های پلاسما می‌شود. گزارشات بیان می‌کنند که دیازینون موجب کاهش و لاغری تیموس می‌شود (۳۶). از آنجا که تیموس محل ساخت پروتئین‌ها است؛ پس کاهش پروتئین‌ها را می‌توان از این طریق توجیه کرد. دیازینون موجب آسیب DNA و تغییر بیان ژن‌ها می‌گردد (۳۷). پس احتمال دارد که موجب اختلال در فرآیند رونویسی و ترجمه و تولید پروتئین‌ها شود. همچنین دیازینون موجب آسیب کلیه‌ها می‌گردد (۳۸). پس احتمال دارد با تخریب گلومرول‌ها و دفع پروتئین موجب کاهش پروتئین‌ها گردد.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که مصرف خوراکی سم دیازینون باعث افزایش سطح آنزیم‌های کبدی و کاهش سطوح آلبومین و پروتئین تام سرم و نکروز کبدی موش‌های صحرایی می‌گردد.

تشکر و قدردانی

این مقاله بخشی از پایان‌نامه (شماره ۳۲۸) آقای سیدعلی حقیقت‌جو برای اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته فیزیولوژی جانوری از دانشکده علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون بود. بدین‌وسیله از همکاری صمیمانه معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون تشکر می‌نماییم. همچنین از آزمایشگاه تشخیص طبی دکتر قوامی شیراز و سرکار خانم دکتر آمنه خوشوقتی به خاطر مساعدت در بررسی بافت‌شناسی سپاسگزاری می‌گردد.

References

1. Thapa BR, Walia A. Liver function tests and their interpretation. Indian J Pediatr. 2007 Jul; 74(7): 663-71.

2. Poet TS, Kousba AA, Dennison SL, Timchalk C. Physiologically based pharmacokinetic/pharmacodynamic model for the organophosphorus pesticide diazinon. Neurotoxicology. 2004 Dec; 25(6): 1013-30. doi: 10.1016/j.neuro.2004.03.002

3. Hassouna I, Ibrahim H, Abdel Gaffar F, El-Elaimy I, Abdel Latif H. Simultaneous administration of hesperidin or garlic oil modulates diazinon-induced hemato- and immunotoxicity in rats. Immunopharmacol Immunotoxicol. 2015; 37(5): 442-49. doi: 10.3109/08923973.2015.1081932

4. Slotkin TA, Skavicus S, Seidler FJ. Diazinon and parathion diverge in their effects on development of noradrenergic systems. Brain Res Bull. 2017 Apr; 130: 268-73. doi: 10.1016/j.brainresbull.2017.02.004

5. Rangoonwala SP, Kazim M, Pandey AK. Effects of diazinon on serum calcium and inorganic phosphate levels as well as ultrastructures of parathyroid and calcitonin cells of Rattus norvegicus. J Environ Biol. 2005 Apr;26(2):217-21.

6. Bonilla E, Hernández F, Cortés L, Mendoza M, Mejía J, Carrillo E, et al. Effects of the insecticides malathion and diazinon on the early oogenesis in mice in vitro. Environ Toxicol. 2008 Apr;23(2):240-5. doi: 10.1002/tox.20332

7. Win-Shwe TT, Nakajima D, Ahmed S, Fujimaki H. Impairment of novel object recognition in adulthood after neonatal exposure to diazinon. Arch Toxicol. 2013 Apr;87(4):753-62. doi: 10.1007/s00204-012-0989-x

8. Ajibade TO, Oyagbemi AA, Omobowale TO, Asenuga ER, Afolabi JM, Adedapo AA. Mitigation of diazinon-induced cardiovascular and renal dysfunction by gallic acid. Interdiscip Toxicol. 2016 Jun; 9(2): 66-77. doi: 10.1515/intox-2016-0008

9. Piña-Guzmán B, Solís-Heredia MJ, Quintanilla-Vega B. Diazinon alters sperm chromatin structure in mice by phosphorylating nuclear protamines. Toxicol Appl Pharmacol. 2005 Jan; 202(2): 189-98. doi: 10.1016/j.taap.2004.06.028

10. Baconi DL, Bârcă M, Manda G, Ciobanu AM, Bălălău C. Investigation of the toxicity of some organophosphorus pesticides in a repeated dose study in rats. Rom J Morphol Embryol. 2013; 54(2): 349-56.

11. Maliji Gh, Jorsaraei SGh, Zabihi E, Fattahi E, Rezaie E, Sohan Faraji A. [Diazinon alters sex hormones, Interferon-gamma, Interleukin-4 and 10 in male Wistar rats]. J Gorgan Univ Med Sci. 2014; 16(1): 22-28. [Article in Persian]

12. Jamshidi A, Shariati M, Sepehr-Ara L, Moghadamnia D. [Effect of abilizol drug on functional Test (LFT) and liver tissue changes in adult male rats]. Alborz Univer Med J. 2017; 6(3): 199-210.

13. Yakoub LK, Mohammad FK. Medetomidine protection against diazinon-induced toxicosis in mice. Toxicol Lett. 1997 Sep; 93(1): 1-8.

14. Jafari M, Salehi M, Ahmadi S, Asgari A, Abasnezhad M, Hajigholamali M. The role of oxidative stress in diazinon-induced tissues toxicity in Wistar and Norway rats. Toxicol Mech Methods. 2012 Oct; 22(8): 638-47. doi: 10.3109/15376516.2012.716090

15. Bergmeyer HU. IFCC methods for the measurement of catalytic concentrations of enzymes. part 3, IFCC. Method for alanine aminotransferase (l-alanine 2 -oxoglutarate aminotransferase, ec 2.6.1.2). Clin Chim Acta. 1980 Jul; 105(1): 145F-72F.

16. Sampson EJ, Whitner VS, Burtis CA, McKneally SS, Fast DM, Bayse DD. An interlaboratory evaluation of the IFCC method for aspartate aminotransferase with use of purified enzyme materials. Clin Chem. 1980 Jul; 26(8): 1156-64.

17. Bablok W, Passing H, Bender R, Schneider B. A general regression procedure for method transformation. Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry, Part III. J Clin Chem Clin Biochem. 1988 Nov; 26(11): 783-90.

18. Mostafavi-Pour Z, Zal F, Monabati A, Vessal M. Protective effects of a combination of quercetin and vitamin E against cyclosporine A-induced oxidative stress and hepatotoxicity in rats. Hepatol Res. 2008 Apr; 38(4): 385-92. doi: 10.1111/j.1872-034X.2007.00273.x

19. Al-Attar AM. Attenuating effect of Ginkgo biloba leaves extract on liver fibrosis induced by thioacetamide in mice. J Biomed Biotechnol. Volume 2012. Article ID 761450. http://dx.doi.org/10.1155/2012/761450

20. Bogin JF. Animal anatomy and physiology. 2nd ed. Virginia: Reston Publishing. 2009; pp: 154-56.

21. Nili-Ahmadabadi A, Alibolandi P, Ranjbar A, Mousavi L, Nili-Ahmadabadi H, Larki-Harchegani A, et al. Thymoquinone attenuates hepatotoxicity and oxidative damage caused by diazinon: an in vivostudy. Res Pharm Sci. 2018 Dec; 13(6): 500-508. doi: 10.4103/1735-5362.245962

22. Karimani A, Heidarpour M, Moghaddam Jafari A. Protective effects of glycyrrhizin on sub-chronic diazinon-induced biochemical, hematological alterations and oxidative stress indices in male Wistar rats. Drug Chem Toxicol. 2018 Sep; 11: 1-9. doi: 10.1080/01480545.2018.1497053

23. Ahmadi-Naji R, Heidarian E, Ghatreh-Samani K. Evaluation of the effects of the hydroalcoholic extract of Terminalia chebulafruits on diazinon-induced liver toxicity and oxidative stress in rats. Avicenna J Phytomed. 2017 Sep-Oct; 7(5): 454-66.

24. Beydilli H, Yilmaz N, Cetin ES, Topal Y, Celik OI, Sahin C, et al. Evaluation of the protective effect of silibinin against diazinon induced hepatotoxicity and free-radical damage in rat liver. Iran Red Crescent Med J. 2015 Apr; 17(4): e25310. doi: 10.5812/ircmj.17(4)2015.25310

25. Abdel-Daim MM, Taha R, Ghazy EW, El-Sayed YS. Synergistic ameliorative effects of sesame oil and alpha-lipoic acid against subacute diazinon toxicity in rats: hematological, biochemical, and antioxidant studies. Can J Physiol Pharmacol. 2016 Jan; 94(1): 81-8. doi: 10.1139/cjpp-2015-0131

26. Shokrzadeh M, Shobi S, Attar H, Shayegan S, Payam SS, Ghorbani F. Effect of vitamins A, E and C on liver enzyme activity in rats exposed to organophosphate pesticide diazinon. Pak J Biol Sci. 2012 Oct; 15(19): 936-41.

27. Messarah M, Amamra W, Boumendjel A, Barkat L, Bouasla I, Abdennour C, et al. Ameliorating effects of curcumin and vitamin E on diazinon-induced oxidative damage in rat liver and erythrocytes. Toxicol Ind Health. 2013 Feb; 29(1): 77-88. doi: 10.1177/0748233712446726

28. Panteghini M, Falsetti F, Chiari E, Malchiodi A. Determination of aspartate aminotransferase isoenzymes in hepatic diseases-preliminary findings. Clin Chim Acta. 1983 Feb; 128(1): 133-40.

29. Giannini E, Botta F, Fasoli A, Ceppa P, Risso D, Lantieri PB, et al. Progressive liver functional impairment is associated with an increase in AST/ALT ratio. Dig Dis Sci. 1999 Jun; 44(6): 1249-53.

30. Kalender S, Ogutcu A, Uzunhisarcikli M, Açikgoz F, Durak D, Ulusoy Y, et al. Diazinon-induced hepatotoxicity and protective effect of vitamin E on some biochemical indices and ultrastructural changes. Toxicology. 2005 Aug; 211(3): 197-206. doi: 10.1016/j.tox.2005.03.007

31. Goldner WS, Sandler DP, Yu F, Shostrom V, Hoppin JA,

Kamel F, et al. Hypothyroidism and pesticide use among male private pesticide applicators in the agricultural health study. J Occup Environ Med. 2013 Oct; 55(10): 1171-78. doi: 10.1097/JOM.0b013e31829b290b

32. De Feo P, Lucidi P. Liver protein synthesis in physiology and in disease states. Curr Opin Clin Nutr Metab Care. 2002 Jan; 5(1): 47-50.

33. Ruot B, Breuillé D, Rambourdin F, Bayle G, Capitan P, Obled C. Synthesis rate of plasma albumin is a good indicator of liver albumin synthesis in sepsis. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2000 Aug; 279(2): E244-51. doi: 10.1152/ajpendo.2000.279.2.E244

34. ElMazoudy RH, Attia AA. Endocrine-disrupting and cytotoxic potential of anticholinesterase insecticide, diazinon in reproductive toxicity of male mice. J Hazard Mater. 2012 Mar; 209-10: 111-20. doi: 10.1016/j.jhazmat.2011.12.073

35. Ghasemzadeh J, Sinaei M, Bolouki M. Biochemical and histological changes in fish, spotted scat (Scatophagus argus) exposed to diazinon. Bull Environ Contam Toxicol. 2015 Feb; 94(2): 164-70. doi: 10.1007/s00128-014-1454-8

36. Kashanian S, Gholivand MB, Ahmadi F, Ravan H. Interaction of diazinon with DNA and the protective role of selenium in DNA damage. DNA Cell Biol. 2008 Jun; 27(6): 325-32. doi: 10.1089/dna.2007.0718

37. Deferme L, Wolters J, Claessen S, Briedé J, Kleinjans J. Oxidative stress mechanisms do not discriminate between genotoxic and nongenotoxic liver carcinogens. Chem Res Toxicol. 2015 Aug; 28(8): 1636-46. doi: 10.1021/acs.chemrestox.5b00222

38. Cakici O, Akat E. Effects of oral exposure to diazinon on mice liver and kidney tissues: biometric analyses of histopathologic changes. Anal Quant Cytopathol Histpathol. 2013 Feb; 35(1): 7-16.