

دراسة بعض العلامات السريرية و الصورة الدموية في ذكور الفئران البيض المعرضة لجرع سمية من الديازينون

اسعد خلف طلال* و عفاف عبد الرحمن يوسف**
 *مركز بحوث السوق وحماية المستهلك/ جامعة بغداد
 **كلية الطب البيطري/ جامعة بغداد

الخلاصة

تضمنت الدراسة الحالية تسليط الضوء على العلامات السريرية و الصورة الدموية لجرع سمية مختلفة للمبيد الحشري Diazinon على (45) من ذكور الفئران البيضاء السويسرية والمقسمة إلى ثلاثة مجاميع متساوية، المجموعة الأولى: مجموعة السيطرة جرعت بزيت الزيتون. المجموعة الثانية: جرعت بالمستحلب الزيتي للديازينون بجرعة 10 ملغم / كغم من وزن الجسم. المجموعة الثالثة: جرعت بالمستحلب الزيتي للديازينون بجرعة 15 ملغم / كغم من وزن الجسم. تم تعريض هذه الحيوانات يومياً ولمدة 8 أسابيع. وبعتماد عدد من المعايير (العلامات السريرية ووزن الجسم ووزن الأعضاء الداخلية والفحوصات الدموية).

لوحظ على حيوانات المجموعتين الثانية والثالثة ظهور عدد من العلامات تمثلت بفقدان الشهية والخمول والوقوف في احد جوانب القفص وحك الأنف والوجه باليدين، عدم الاستجابة للتحفيز الخارجي، زيادة إفراز اللعاب، الارتجاف، شلل في الأطراف، والإسهال. إذ ازدادت الأعراض حدة مع ازدياد تركيز الجرعة ومدة التعرض. في حين لم تظهر مجموعة السيطرة أي أعراض سريرية، كما وأظهرت المجموعة الثانية انخفاض معنوي عند مستوى ($P \leq 0.05$) في معدل وزن الجسم حيث ظهر الانخفاض بعد مرور أسبوعين واستمر إلى نهاية فترة التعرض، في حين ظهر الانخفاض في الوزن في المجموعة الثالثة في الأسبوع الأول من التعرض. وكان الارتفاع معنويًا في معدل وزن الكبد في المجموعتين المجرعتين بالديازينون. ولكن المجموعة الثالثة المعالجة بجرعة 15 ملغم/كغم من وزن الجسم سجلت أعلى المعدلات مقارنة بمعدل وزن الكبد في حيوانات المجموعة الثانية و السيطرة. أما معدل وزن الطحال فقد أظهر انخفاضاً معنوياً في المجموعتين المعرضتين للمبيد مقارنة مع مجموعة السيطرة. وأظهر معدل أوزان العقد اللمفية ارتفاعاً معنوياً ($P \leq 0.05$) وخلال التعرض للجرعتين مقارنة مع مجموعة السيطرة.

أما العدد الكلي لخلايا الدم البيض، فوجد حصول انخفاض معنوي عند مستوى ($P \geq 0.05$) في المجموعتين المعالجتين للمبيد مقارنة بحيوانات السيطرة، كما وبينت نتائج هذا البحث حصول انخفاض في معدل التعداد التفريقي لخلايا الدم البيض في الفئران المعاملة، وقد ازداد معدل الانخفاض في أعداد الخلايا التفريقي في المجموعة الثالثة تلتها المجموعة الثالثة مقارنة مع معدل أعداد الخلايا التفريقي في حيوانات السيطرة وتباين الانخفاض في أعداد الخلايا اللمفية والعدلة والوحيدة والحمضة باختلاف جرعة المبيد.

Study of clinical signs and blood picture in Male Albino Mice exposed to toxic doses of The Insecticide Diazinon

A. K. Talal* and A. A. Yousif**

Abstract

This study has shed a light on the clinical signs and blood picture to different toxic concentration of the insecticide diazinon on 45 Male Albino Mice which divided into three equal groups. First group: (control group) ingested olive oil, Second group:- ingested oily form of diazinon at a dose 10mg/kg body weight. while the third group:- ingested oily form of diazinon at a dose 15mg/kg body weight, these animals were dosed daily for 8 weeks. Various parameters were utilized in evaluating the effects of the insecticide (clinical signs, bodyweight, weight of internal organs and blood pictures).

The animals of second and third groups showed different clinical signs included: loss of appetite, sedation, standing still on the corner of the cage, rubbing its nose and face with both hands, no response to external stimulants, increased salivation, sheaving, paralysis of limbs and diarrhea. This signs increased with the increasing doses and time of exposure while the control group didn't show any clinical signs. second group showed a significant decrease at ($P \leq 0.05$) in body weight after two weeks till the end of exposure .while it appeared at first week of exposure for the third group.

There was significant increase in mean liver weight of both treatment groups but the third group record higher means in comparison with the second and the control groups. The average weight of spleen showed significant decrease in both treatment groups in comparison with the control one. The average weight of lymph nodes showed a significant increase at ($P \leq 0.05$) when animals were dosed with diazinon at 10,15 mg/kg body weight in comparison with the control.

The white blood cells count (WBCs), showed a significant decrease at ($P \leq 0.05$) of both treatment when compared with the control group while the decrease in differential WBC in treatment groups, while the decrease was more in third group than second one in comparison with control group. The decrease were variable in count of neutrophils, monocytes, esinophils according dose of insecticide.

المقدمة

إن الحاجة المستمرة لزيادة الإنتاج الزراعي بشقيه النباتي والحيواني في مناطق العالم المختلفة دفعت الدول والمنظمات الزراعية والإقليمية والدولية إلى تشجيع المزارعين على استخدام المبيدات الكيميائية في الزراعة لتحقيق الزيادة المطلوبة في الإنتاج الزراعي لمواكبة النمو الحاصل في عدد سكان العالم، لذا أصبحت المبيدات وسيلة فعالة وسريعة لمكافحة الآفات المختلفة إذ تشير الإحصائيات الصادرة في العديد من الدول المتقدمة إلى أن هناك زيادة مستمرة في الكميات المستخدمة منها لما تلعبه من دور في زيادة الإنتاج الزراعي كما ونوعاً (1)، فضلاً عما حققته من إنجازات في مجال الصحة العامة نتيجة قضاءها على العديد من الآفات الناقلة لبعض الأمراض الخطرة للإنسان والحيوان على السواء، إلا أنه من الواضح أن الزيادة في استخدام المبيدات وبشكل غير مدروس أدت في العقود الأخيرة إلى ظهور العديد من المشاكل البيئية والصحية تمثلت بظهور العديد من حالات التسمم الفردية والجماعية (2) بدأت المبيدات تشكل مؤشراً واضحاً لظهور العديد من الحالات السرطانية (3) والتطفرير الوراثي والتشوه الخلقي وتدهور النظام المناعي الذي تمثل بخفض إنتاج الأضداد نتيجة تأثيرها المباشر أو غير المباشر في نقي العظم حيث مكان تشكل الخلايا المولدة لتلك الأضداد، وخفض أو تثبيط إنتاج الخلايا البلعمية ذات الأهمية في الاستجابة المناعية الخلوية مما يؤدي إلى أضعاف قدرة الجسم على مقاومة مسببات المرضية (4،5)،

بالإضافة إلى إحداث تغيرات فيزيولوجية (6) وحساسية بأنواعها المختلفة الجلدية والتنفسية والمعيوية (7). إن مشكلة التلوث في العراق لا تتعلق بكميات المبيدات المستخدمة فحسب وإنما تكمن في الاستخدام الخاطئ لها، وعدم التقيد الدقيق بالتعليمات الخاصة بالتركيز ومواعيد وعدد المكافحات (5)، كما وإن قيمة الحد المسموح بالتعرض إلى مركبات الفسفور العضوية يومياً عن طريق الغذاء (ADI) Acceptable daily intake في الإنسان 0.002 ملغم/كغم من وزن الجسم، في حين بلغت قيمة (NOEL) No adverse effect level (الحد المسموح للتعرض له يومياً دون ظهور أي أعراض أو أضرار مرضية) في الإنسان 0.025 ملغم/كغم من وزن الجسم وتراوح قيمته في الثدييات بين 0.02 و 0.1 ملغم/كغم من وزن الجسم (8). ولأهمية الموضوع تمت دراسة العلامات السريرية المختلفة ووزن الجسم والأعضاء الداخلية وكذلك التعرف على الصورة الدموية التي يحدثها التسمم بالديازينون بتركيز مختلفة في ذكور الفئران البيض.

المواد وطرائق العمل

أولاً:- المواد.

1. مبيد الديازينون 92 % (Diazinon) ($C_{12}H_{21}O_3N_2SP$) شركة افيكو الأردنية.
2. زيت الزيتون (Olive oil) شركة زير للصناعات الغذائية التركية استخدمت لتخفيف المبيد واستخدمت كذلك لتجريب حيوانات السيطرة.

ثانياً :- طرائق العمل:

1. الحيوانات المختبرية: تم استخدام (45) من ذكور الفئران البيضاء السويسيرية تتراوح أوزانها 20 غم، قسمت إلى ثلاثة مجاميع متساوية:

المجموعة الأولى: مجموعة السيطرة جرعت بزيت الزيتون.

المجموعة الثانية: جرعت بالمستحلب الزيتي للديازينون بجرعة 10 ملغم / كغم من وزن الجسم.

المجموعة الثالثة: جرعت بالمستحلب الزيتي للديازينون بجرعة 15 ملغم / كغم من وزن الجسم.

تم تجريب الحيوانات بالمستحلب الزيتي للمبيد ديازينون عن طريق الفم Orally وبوساطة أنبوية التجريب (Gavage stomach tube)، إذ استخدم زيت الزيتون Olive oil لتخفيف المبيد وتحضير التراكيز المختلفة حسب الجرعة المستعملة اعتماداً على مذكره (9) إذ تم تجريب، الحيوانات المستحلب الزيتي للمبيد للتركيز 10، 15، ملغم/كغم من وزن الجسم وبحجم 0.2 مل للجرعة الواحدة، وكان التجريب كل 24 ساعة. أما حيوانات مجموعة السيطرة فقد جرعت يومياً زيت الزيتون وبحجم 0.2 مل للجرعة الواحدة، وقد تركت الحيوانات لتتناول الغذاء بصورة حرة طوال مدة التعريض التي استمرت ثمانية أسابيع بعد ذلك تم إجراء الفحوصات المخبرية.

2. جمع الدم Blood collection : جمع الدم من الحيوان بطريقة (10) حيث تم جمع الدم من القلب عند نهاية التجربة وأد ذلك إلى قتل الحيوان.

3. معايير الدراسة:

1. التغيرات السلوكية والسريرية: سجلت التغيرات السلوكية في الفئران كالحركة والقابلية على تناول الطعام وشرب المياه وبعض الأعراض السريرية للتسمم بالمبيد مقارنة مع حيوانات مجموعة السيطرة.
2. وزن العام للجسم: تم وزن الفئران المعاملة بالمبيد أسبوعياً بوساطة الميزان الحساس وقورنت أوزانها مع أوزان حيوانات مجموعة السيطرة.

3. وز ن بعض الأعضاء الداخلية: فتح التجويف البطني لاستئصال الكبد والطحال والعقد اللمفية بعدها جففت بواسطة ورق ترشيش وتم وزنها بواسطة الميزان الحساس وتسجيل الوزن.

3. الاختبارات الدموية **Haematological Tests**: تم حساب العد الكلي لخلايا الدم البيض White Blood Cells Count حسب ما ورد في (11). أما العد التفريقي لخلايا الدم البيض Differential White Blood Cell Count

فقد تم بعمل مسحات الدم على شرائح زجاجية وبعدها تركت لتجف في الهواء وثبتت المسحة بمادة الكحول الميثيلي (Methyl alcohol) لمدة دقيقة واحدة ثم صبغت بصبغة Leishman Stain لمدة 3-4 دقيقة ثم وضعت عليها بهدوء قطرات من محلول Buffer بنفس كمية الصبغة وتركت لمدة ثلاث دقائق ثم غسلت بالماء العادي Tape Water وجففت ووضعت تحت المجهر وبقوة تكبير العدسة الزيتية بعد وضع قطرات الزيت على الشريحة المحضرة للقراءة، قرأت (100) خلية حسب أنواعها وبعدها حسب النسبة المئوية للعد التفريقي لجميع خلايا الدم البيض، وتم حساب عدد خلايا الدم البيض حسب المعادلة التالية وكما ورد في طريقة (12).

عدد الخلايا / سم³: التعداد الكلي لخلايا الدم البيض (WBC) × النسبة المئوية لكل نوع

4. التحليل الإحصائي: حللت البيانات باستخدام التصميم العشوائي الكامل (Complete Randomized design) باستخدام البرنامج الإحصائي الجاهز (13) في تحليل البيانات واختبرت الفروقات بين المعاملات باستخدام اختبار Duncan.

النتائج والمناقشة

- التغييرات السلوكية:

أظهرت نتائج الدراسة الحالية أن التعرض إلى المبيد الفسفوري العضوي ديازينون سبب ظهور تغييرات سلوكية وعلامات سريرية تفرقت مع أعراض التسمم في الفئران المعرضة إلى التراكيز المختلفة للمبيد، جدول (1). إذ لوحظ خمول الفئران ووقوفها في أحد جوانب القفص مغمضة العينين مع حك منطقة الأنف باليدين وبسرعة، وقد لوحظت هذه التغييرات السلوكية على الحيوانات المعرضة للمبيد، فضلاً عن قلة الشهية وانخفاض في معدل استهلاك الغذاء وزيادة في إفراز اللعاب وزيادة في عدد مرات الإسهال، إذ ازدادت هذه الأعراض وبشكل طردي مع زيادة التركيز وكانت واضحة في المجموعة العالية التركيز.

جدول (1) التغييرات السلوكية في ذكور الفئران البيض المعاملة بتراكيز مختلفة من مبيد الديازينون

شلال الأظراف	الارتجاج	الإسهال	فقدان الشهية	إفراز اللعاب	عدم الاستجابة للتحفيز الخارجي	الخمول	سرعة حك الأنف والوجه	التغييرات السلوكية المجاميع
-	-	-	-	-	-	-	-	مجموعة السيطرة
*	*	**	**	**	*	**	**	المجرعة ب 10 ملغم /كلغم
**	**	****	***	***	*	***	***	المجرعة ب 15 ملغم /كلغم

* سلوك بين. ** سلوك أكثر وضوحاً. *** سلوك شديد. **** سلوك أكثر شدة. - لا تغيير في العلامات السريرية

إن معظم هذه الأعراض والتغيرات السلوكية تتفق مع نتائج العديد من الدراسات فالخمول وقلة النشاط والحركة الغير طبيعية التي ظهرت على الحيوانات وكذلك فقدان الشهية وانخفاض معدل استهلاك الغذاء وحدوث الإسهال فتتفق مع دراسة (14، 15) حول تأثير الديازينون في الجرذان، كما تتفق مع دراسة (16) حول تأثير الديازينون في الأرانب، أما حدوث التقلصات العضلية والاختلاجات التي نتجت عن التعرض إلى التركيز 15 ملغم/كغم من وزن الجسم فقد كانت متفقة مع دراسة (6).

إذ التغيرات السلوكية والأعراض السابقة الذكر التي لوحظت على الفئران يمكن أن تعزى إلى التأثير السمي للمبيد الفسفوري العضوي المثبط لأنزيم Acetylcholinesterase (AchE) الذي ينجم عنه فرط التحفيز في الجهاز العصبي المحيطي اللاإرادي فضلاً عن تأثيره في الجهاز العصبي المحيطي الإرادي (17) فقد سبب تراكم المادة في الأعصاب المحركة للعضلات الإرادية الضعف والخمول والتعب في حين سبب تراكم المادة في الجهاز العصبي المحيطي اللاإرادي زيادة في إفراز اللعاب وبعض التقلصات اللاإرادية لعضلات الأمعاء مما سبب في فقدان الشهية وانخفاض في معدل استهلاك الغذاء وزيادة عدد مرات الإسهال وأظهرت الحيوانات المعاملة بالمبيد، في الفترة الأخيرة من مدة التعرض، وعدم القدرة على الوقوف تلاها بعض علامات الشلل في الأطراف الخلفية.

إن ظهور هذه الأعراض تتشابه مع أعراض التأثيرات السمية العصبية الآجلة للمبيدات الفسفورية العضوية Delayed organophosphorous neuropathy التي أشار إليها العديد من الباحثين في عدد من المبيدات الفسفورية العضوية والكارباماتية والتي تعرف بالاعتلال العصبي الآجل الناتج عن التعرض للمبيدات الفسفورية العضوية Organophosphate induced delayed polyneuropathy (OPIDP) والتي تتميز بحصول تنكس في محاور أعصاب الحبل الشوكي والأعصاب المحيطة الناجمة عن فعل المبيد الفسفوري العضوي المثبط لأنزيم Neurotoxic esterase (NTE) (18). فقد أكدت دراسة (19) إلى أن الجرعة التي سببت تثبيط AChE تفوق الجرعة المثبطة لأنزيم NTE بمئة مرة، كما أن أعراض OPIDP يمكن أن تتطور عند تكرار التعرض لجرعات المبيد الفسفوري العضوي الذي يمتلك هذا التأثير، وهو ما يفسر ظهورها، في وقت متأخر على الحيوانات.

- وزن الجسم:

أظهرت نتائج التحليل الإحصائي حصول انخفاض تدريجي في معدل الوزن العام للجسم في الحيوانات المعاملة بالمبيد وفترة التعرض التي استمرت 60 يوماً (جدول 2).

جدول (2) التغيرات في الوزن العام للجسم (بالغرام) في ذكور الفئران البيض أثر التعرض للمبيد ديازينون

الأسبوع	الأسبوع	الأسبوع	الأسبوع	الأسبوع	الأسبوع	الأسبوع	الأسبوع	فترات التعرض (يوم)
8	7	6	5	4	3	2	1	المجاميع
a 0.33±30.71	a 0.42±29.29	a 0.42±27.70	a 0.36±25.89	a 0.61±24.61	a 0.61±23.89	a 0.50±22.16	a 0.51±19.94	الأولى (السيطرة) 15 فأرة
b 1.37±24.04	b 1.10±23.06	b 0.81±22.07	b 0.78±21.20	b 0.75±21.53	b 0.76±21.03	b 0.72±20.96	b 0.62±20.57	المجموعة الثانية المجرعة ب 10 ملغم /كغم
c 1.19±24.08	c 1.09±22.65	c 1.05±21.40	c 1.05±20.19	c 1.04±19.15	c 0.93±19.57	b 1.23±20.08	b 0.74±19.79	المجموعة الثالثة المجرعة ب 15 ملغم

									كلغم/
--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------

القيم تمثل المعدل \pm الانحراف القياسي. عدد الحيوانات: 15 في كل مجموعة.
الأحرف المختلفة ضمن العمود الواحد تشير إلى وجود فروقات معنوية على مستوى ($p \leq 0.05$) بين المجاميع

إن هذه النتائج تتفق مع ما أشارت إليه وكالة حماية البيئة (20) عام 2000 في التأثير المزمن للمبيد ديازينون في الفئران والجرذان بإحداث انخفاض في معدل الوزن العام للجسم. إن هذا الاختلاف في شدة تأثير المبيد في معدل وزن الجسم العام لحيوانات المجموعتين المعاملتين بالمبيد يعزى إلى الاختلاف في تركيز المبيد المجرع للحيوانات ، بعد ثبات عامل العمر وطريقة التجريع وهذا يتفق مع دراسة (21) الذي أشار إلى أن نقص معدل الوزن العام للجسم في الحيوانات المعاملة بالمبيد يتناسب طردياً مع زيادة تركيز المبيد في الجرعة الفموية. كما تتفق نتائج هذه الدراسة مع ما أشارت إليه منظمة (22) في انخفاض معدل الوزن العام للجسم في الفئران المعرضة للمبيد Dichlorvos (مبيد فسفوري عضوي) عن طريق مياه الشرب. وقد يكون للتغيرات التنكسية والتخرية التي عانت منها أنسجة الأعضاء الفارزة للأنزيمات الهاضمة والعصارة الصفراء السبب الذي أدى إلى قلة إفرازها وهذا يتفق مع دراسة (23) التي تناولت التأثيرات النسيجية المرضية للملاثيون (مبيد فسفوري عضوي) في أنسجة الكبد والكلية وأقنية الصفراء للفئران المعرضة للمبيد ولمدة ستة أسابيع ، إذ لوحظ حصول تقجي Vaculation لخلايا الكبد وتغلظ أنويتها Pyknosis كما لوحظ ضرر في الأوعية الدموية الشعرية والأقنية الصفراوية في الكبد مما أدى إلى قلة النواتج الكربوهيدراتية والبروتينية المتكونة في الخلايا الكبدية للحيوانات المعاملة مقارنة مع حيوانات السيطرة نتيجة التقجي والتحطم الذي عانت منه الخلايا الكبدية بشكل عام، ومن ثم الانخفاض في الوزن العام للجسم، وقد تؤدي المعاملة بالديازينون إلى زيادة نسبة السكر بالدم Hyperglycemia، إذ بعد حقن الجرذان بـ 40 ملغم/كغم من وزن الجسم ديازينون لوحظ زيادة في فعالية الأنزيمات المحفزة لتحويل الكلايوجين إلى كلوكوز كأنزيم Glycogen phosphorylase والأنزيم Phosphoglucomutase في أنسجة الكبد والدماغ كما لوحظ زيادة في فعالية الأنزيمات المحفزة لتكوين الكلوكوز من مصادر غير كربوهيدراتية Gluconeogenic enzymes في الكبد كأنزيم Fructose 1,6- diphosphatase وأنزيم Phosphoenolpyruvate Carboxykinase، إن الإصابة بزيادة نسبة السكر بالدم تؤدي إلى عدم الاستفادة من سكر الكلوكوز ومن ثم طرحه خارج الجسم مما يؤدي إلى انخفاض وزن الجسم العام (24). يضاف إلى ذلك احتمال حصول التأثير المثبط للامتصاص في المعى الدقيقة بسبب تحطم الزغابات المبطن لها بتأثير المبيد مما يعيق الامتصاص (25). وقد يكون نقص الوزن العام للجسم ناجماً عن تنكس وضمور العضلات الهيكلية للجسم وذلك بسبب تأثير المبيد في الأنزيم ATPase مما يؤدي إلى ضمور الألياف العضلية والعصبية إذ أشارت منظمة (22) إلى تأثير المعاملة بالديازينون في فعالية أربع أنزيمات في القلب والعضلات الهيكلية، إذ لوحظ الاختلاف في فعالية الأنزيم Succinic dehydrogenase والأنزيم Hexokinase والأنزيم Phosphofructokinase والأنزيم Lactate dehydrogenase في عضلات القلب والعضلات الهيكلية ، أو بسبب تأثيره على نمو العظام، إذ أشارت دراسة (26) إلى أن للمبيد سومسدين تأثير في عمليات صنع كلايوجين العظام ونموها، ومن ثم قلة نمو العظام مما يؤدي إلى قلة الوزن العام للجسم.

- التغيرات الوزنية لأعضاء الكبد والطحال والعقد اللمفية:

بينت النتائج المثبتة في الجدول (3) حصول تغيرات وزنية لأعضاء الكبد والطحال والعقد اللمفية في حيوانات المعرضة للمبيد، إذ لوحظ حصول ارتفاع في معدل أوزان الكبد.

جدول (3) التغيرات الوزنية لأعضاء الكبد والطحال والعقد اللمفية في ذكور الفئران البيض أثر التعرض للمبيد

ديازينون

العقد اللمفية (ملغم) في نهاية التجربة	الطحال(غم) في نهاية التجربة	الكبد(غم) في نهاية التجربة	وزن العضو المجاميع
a 0.635±6.937	a 0.008±0.148	a 0.104±1.807	المجموعة الأولى (السيطرة)
b 0.465±8.697	b 0.009±0.089	b 0.150±2.031	المجموعة الثانية المجرعة ب 10 ملغم / كغم
c 0.895±14.351	c 0.011±0.081	b 0.310±2.202	المجموعة الثالثة المجرعة ب 15 ملغم /كغم

القيم تمثل المعدل \pm الانحراف القياسي. عدد الحيوانات - 15 في كل مجموعة
الأحرف المختلفة ضمن العمود الواحد تشير إلى وجود فروقات معنوية على مستوى (p < 0.05) بين المجاميع

إن نتائج هذه الدراسة تتفق مع ما أشارت إليه دراسة (27) بخصوص زيادة وزن الكبد في الجرذان المجرعة ديازينون بتركيز 0.5 ملغم/كغم من وزن الجسم مرتان أسبوعياً ولمدة 28 أسبوع، أوضح الفحص النسيجي للكبد وجود تراكم للدهون في خلاياه مما سبب الزيادة في وزن الكبد، إن هذا التغير ظهر بعد التعرض طويل الأمد، وهذا ما أكدته منظمة الصحة العالمية (WHO) (22) إذ أشارت إلى وجود فرق معنوي في معدل زيادة وزن الكبد، وعزيت هذه الزيادة إلى وجود تراكم دهني في خلايا الكبد بشكل فجوات Hepatocellular fatty vaculation. وأشارت دراسة (15) إلى أن زيادة وزن الكبد في الجرذان يعزى إلى ضخامة الخلايا الكبدية في المراكز الفصيضية Centrolobular hepatocellular hypertrophy أثر التعرض الطويل للمبيد. وقد يعزى السبب في ارتفاع معدل وزن الكبد إلى زيادة تحفيز فعالية العديد من أنزيمات الكبد كأنزيم Glycogen phosphorylase وأنزيم Phosphoglucomutase وأنزيم Hexokinase وهذا ما لوحظ أثر تعرض الجرذان إلى المبيد ديازينون بالحقن في غشاء البريتون بجرعة 40 ملغم/كغم من وزن الجسم، إذ أن زيادة استمرار التوصيل العصبي بعد تراكم المادة الأساس Acetylcholine نتيجة تثبيط الأنزيم AChE يؤدي إلى استمرار إفراز الأنزيمات للحصول على الطاقة من مصادرها الداخلية (الكلايوجين) لصالح الفعاليات التحفيزية للمبيد ومن ثم حصول زيادة في معدل وزن الكبد. أما الانخفاض في معدل الطحال الذي لوحظ في هذه الدراسة فهو يتفق مع نتائج العديد من الدراسات منها دراسة (28) بينت أن التعرض للمبيد الحشري الفسفوري العضوي Dimethoate يسبب انخفاضاً في معدل وزن الطحال في الفئران والجرذان، يترافق مع انخفاض معدل أعداد الخلايا للمفاوية بنسبة 50% عن معدلاتها في الحيوانات الطبيعية، عزيت هذه النتائج إلى تأثير المبيد في زيادة هرمونات Glucocorticoids، التي تقوم بتثبيط إطلاق الوسائط الخلوية Cytokines المهمة في التفاعلات المناعية (29)، وهذا ما أكدته دراسة (30) حصول انخفاض في معدل وزن الطحال والغدة الـ Thymus عند حقن إناث الفئران (Balb/c) بالمركب Ethyl carbamate (وهو مبيد كارباماتي مشابه في آلية التأثير العصبي للمبيدات الفسفورية العضوية)، إذ أشار إلى أن هذا الانخفاض يعزى إلى انخفاض العدد الكلي لخلايا الطحال وانخفاض الخلايا للمفاوية التائية T-Lymphocyte والخلايا للمفاوية البائية B-Lymphocyte وخلايا البلعم الكبير مقارنة مع مجموعة السيطرة وجميع هذه الخلايا تعد من الخلايا الأساسية في تشكيل القدرة المناعية لجسم الحيوان، وقد فسر النتائج على أساس تأثير المبيد في الهرمون Corticosterone ومن ثم زيادة حدوث التثبيط المناعي في الفئران. أما في حالة العقد اللمفية، فقد لوحظ حصول ارتفاع في معدلات أوزانها، واتفقت نتائج هذه الدراسة مع ما لاحظته (31) في زيادة معدل أوزان العقد اللمفية عند تغذية الفئران على غذاء ملوث بالديازينون بتركيز 300 ملغم/كغم، إذ فسر النتائج

على أساس حصول نمو وتكاثر لخلايا القشرة Cortex والد ب Medulla للعقد اللمفية وحدث نزف في بعض الأحيان، إذ كان الضرر الذي سببه المبيد أشد في حالة استخدامه مع الزيت مما في حالة استخدامه مع البروتين أو استخدامه لوحده، كما أشارت دراسة (32) إلى تأثير المبيد 2-isopropoxyphenyl methylcarbamate (Unden) (مبيد كارباماتي له أثر عصبي مشابه لتأثير المبيد الفسفوري) في الفئران بعد 10 و 30 يوم من التعرض، إذ لوحظ حصول زيادة في عدد الخلايا للمفاوية البائية ونمو وتكاثر عدد الخلايا الشبكية Reticular cells في العقد اللمفية.

- تأثير التراكيز المختلفة للمبيد في العدد الكلي لخلايا الدم البيض:

أظهرت النتائج حصول انخفاض معنوي عند مستوى ($P \geq 0.05$) في العدد الكلي لخلايا الدم البيض في ذكور الفئران البيض المعاملة بالمبيد بعد 60 يوماً من التعرض للتراكيز 10, 15 ملغم/كغم من وزن الجسم كما موضحة في الجدول (4) وتناسب الانخفاض طردياً مع زيادة تركيز الجرعة تشمل التأثيرات السمية الخلوية للمبيدات الفسفورية العضوية التأثيرات المباشرة وغير المباشرة للمبيد في خلايا نقي العظم المنتجة لخلايا الدم والتي تعرف بالخلايا الجذعية Stem cells مسببة إخلالاً وظيفياً لها ومن ثم تحدث اضطراباً أو انخفاضاً في إنتاج خلايا الدم، قد يعزى الانخفاض في أعداد خلايا الدم البيض إلى التأثير السمي للمبيد في خلايا الدم مباشرة وموتها أو خلل في وظائفها ومن ثم هجرتها من مجرى الدم إلى النسيج كالكبد والطحال لغرض إزالتها والتخلص منها، وهذا ما أشارت إليه دراسة (33). إذ أن التعرض إلى المبيدات الكلورية العضوية يسبب تغيير في خلايا الدم البيض وأداء وظائفها المناعية.

- تأثير التراكيز المختلفة للمبيد في التعداد التفريقي لخلايا الدم البيض:

بينت نتائج هذا البحث حصول انخفاض في معدل التعداد التفريقي لخلايا الدم البيض في الفئران المعاملة بالتراكيز 10, 15 ملغم/كغم من وزن الجسم ولمدة 60 يوم من التعرض، الجدول (4). وقد ازداد معدل الانخفاض في أعداد الخلايا التفريقي في المجموعة الثانية تلتها المجموعة الأولى، مقارنة مع معدل أعداد الخلايا التفريقي في حيوانات السيطرة.

جدول (4) تأثير التراكيز المختلفة لمبيد الدياتيون في العدد الكلي لخلايا الدم البيض و العدد التفريقي لها في ذكور الفئران البيض بعد نهاية التجربة

العدد الكلي لخلايا الدم البيض والعدد التفريقي لها $\times 10^3$					المجاميع
الحمضة	الوحيدة	العدلة	اللمفاوية	العدد الكلي	
a 0.010±0.05	a 0.014±0.26	a 0.05±2.58	a 0.10±4.61	a 0.16±7.55	المجموعة الأولى سيطرة
b 0.008±0.02	b 0.011±0.16	b 0.04±2.20	b 0.05±3.30	b 0.10±5.63	المجموعة الثانية الجرعة ب 10 ملغم/كغم
b 0.005±0.02	b 0.014±0.15	b 0.05±2.11	b 0.07±3.29	b 0.13±5.61	المجموعة الثالثة الجرعة ب 15 ملغم/كغم

القيم تمثل المعدل ± الانحراف القياسي. عدد الحيوانات 15 في كل مجموعة

الأحرف المختلفة ضمن العمود الواحد تشير إلى وجود فروقات معنوية على مستوى ($p \leq 0.05$) بين المجاميع

قد يعزى الانخفاض في خلايا الدم البيضاء إلى التأثير السمي للمبيد في نقي العظم أو في خلايا الدم مباشرة والإخلال بوظائفها أو التأثير في الأعضاء المنتجة للدم مثل الكبد والطحال، إذ ترافق هذا الانخفاض مع انخفاض

العدد الكلي لخلايا الدم البيض. فقد أظهرت الخلايا اللمفاوية Lymphocytes انخفاضاً معنوياً مع مختلف التراكيز وفترات التعرض، وتكمن أهمية هذه الخلايا في الاستجابة المناعية النوعية، إذ بعد تنشيطها تقوم بإفراز الوسائط الخلوية التي تعزز خلايا النظام المناعي بزيادة أعداد الخلايا البلعمية وتحفيز الخلايا اللمفية البائية لإنتاج الأضداد (34). وقد أظهرت نتائج البحث الحالية حصول انخفاض في أعداد الخلايا العدلة Neutrophils، إذ ازداد الانخفاض مع زيادة تركيز الجرعة ومدة التعرض، وتظهر أهمية الخلايا العدلة في الاستجابة غير النوعية، وإن سبب الانخفاض يمكن أن يعود إلى تثبيط إطلاق بعض الوسائط الخلوية الجاذبة لهذه الخلايا مثل IL-8 من الخلايا المناعية في النسيج المحيطة أثر التعرض المزمن للمبيد، إذ يتوسط IL-8 عملية جذب الخلايا العدلة إلى موقع التحفيز لأداء وظيفتها، وهذا ما لوحظ في دراسة (33) إذ سبب المبيد Heptachlor والمبيد Chlordane والمبيد Toxaphene تثبيط إنتاج IL-8 ومن ثم الانخفاض في أعداد الخلايا.

أما الخلايا الوحيدة Monocytes التي تعد مهمة لعملية البلعمة وتقديم المستضد للخلايا اللمفية نوع T-Lymphocyte، فقد أظهرت انخفاضاً في أعدادها يمكن أن يعزى إلى تأثير المبيد في الخلايا المناعية في الأنسجة اللمفاوية المحيطة مثل الطحال وتنشيطها لإطلاق عدد من الوسائط الخلوية مثل TNF- α و IL-1 و TNF- γ التي تعد مهمة لجذب الخلايا من نقي العظم إلى مجرى الدم، فقد أشارت دراسة (35) إلى تأثير بعض مبيدات الأدغال في إنتاج الوسائط الخلوية IFN- γ و INF- α ، إذ سبب المبيد Simazine والمبيد Metoxuron والمبيد Mecoprop تثبيط في إنتاج هذه الوسائط في المختبر *in vitro*، كما أكد (35) حصول انخفاض في نسبة IFN- γ في المختبر *in vitro* عند تعرض الجسم إلى المبيد الأذغال 3, 4-dichloropropionaniline (Propanil)، أما الخلايا الحمضة Eosinophils فقد أظهرت انخفاضاً في معدلات أعدادها، والمعروف أن الخلايا الحمضة تلعب دوراً هاماً في حالات الحساسية كما تتجمع عند مواقع الالتهاب، ويعزى ربما هذا الانخفاض إلى التأثير التنشيطي للمبيد لإطلاق احد الوسائط الخلوية (IL-5) الذي يحفز زيادة عدد الخلايا الحمضة في مجرى الدم هذا وقد أشارت دراسة (34) إلى التأثير التنشيطي لبعض مبيدات الأدغال لإطلاق الوسائط الخلوية منها IL-5، ومن ثم تأثيرها في هجرة الخلايا الحمضة إلى مجرى الدم.

المصادر

1. Stiller-Winkler, R.; Hadnagy, W.; Leng, G.; Straube, E. & Idel, H. (1999). Immunological parameters in humans exposed to pesticides in the agricultural environment. Toxicology letters, 107:219-224.
2. Amr, M. M. (1999). Pesticide monitoring and its health problems in Egypt, a third world country. Toxicology letters, 107:1-13.
3. FPerez-Carreón, J. I.; Dargent, C.; Merhi, M.; Fattel-Fazenda, S.; Arce-Popoca, E.; Villa-Treviño, S. & Rouimi, P. (2009). Tumor promoting and co-carcinogenic effects in medium-term rat hepatocarcinogenesis are not modified by co-administration of 12 pesticides in mixture at acceptable daily intake. Ood Chem Toxicol. Mar., 47(3):540-546.
4. Oostingh, G. J.; Wichmann, G.; Schmittner, M.; Lehmann, I. & Duschl, A. (2009). The cytotoxic effects of the organophosphates chlorpyrifos and diazinon differ from their immunomodulating effects. J. Immunotoxicol., 6 (2):136-45.
5. الربيعي، عدنان ياسين محمد. (2002). التلوث البيئي. دار الكتب للطباعة والنشر، بغداد، ص 366.

6. Alahyary, P.; Poor, M. I.; Azarbaijani, F. F. & Nejati, V. (2008). The potential toxicity of diazinon on physiological factors in male rat. *Pak. J. Biol. Sci.*, 11(1):127-130.
7. Slager, R. E.; Poole, J. A.; LeVan, T. D.; Sandler, D. P.; Alavanja, M. C. & Hoppin, J. A. (2009). Rhinitis associated with pesticide exposure among commercial pesticide applicators in the Agricultural Health Study. *Occup Environ. Med.*, 66 (11): 715-716.
8. Marina, G.; Shantha, P.; Gennaro, G. G. & Lucio, G. (2005). Effect of organophosphorus Insecticides. *J. of Toxicol.*, 215(3): 182-190.
9. Migul, B.; Alicia, R. & Eduardo, O. (2006). Effect of two Insecticides and two Herbicides on The Procine In Vitro. *J. Reprod. Toxicol.*, (5): 1010-1016.
10. Hudson, L. & Hay, F. C. (1976). *Practical immunology*. J. B. Lippincott Company of Canada, Toronto. P. 298.
11. Schalm, O. W.; Feldman, B. F., Zinki, J. Z. & Jain, N. C. (2000). *Veterinary Hematology*.
12. Haen, P. J. (1995). *Principles of hematology*. WM.C. Brown Communications, United States of America.
13. S.A.S. Institute, (2001). *Sas Guide For Personal Computer*. Versios, edition. Sas Institute. Inc. Grag, Nc. USA.
14. Savage, E. (1988). Chronic neurological sequelae of acute organophosphate pesticide poisoning. *Archives of Env. Health.*, 43:38-45.
15. Roegge, C. S.; Olga, A.; Seidler, F. J.; Slotkin, T. A. & Levin, E. D. (2008). Developmental Diazinon Neurotoxicity in Rats: Later Effects on Emotional Response. *Brain Res Bull.*, 75(1): 166-172.
16. Yehia, M. A.; El-Banna, S. G. & Okab, A. B. (2007). Diazinon toxicity affects his to physiological and biochemical parameters in rabbits. *Exp. Toxicol. Pathol.*, 59 (3-4): 215-25.
17. Rush, T.; Liu, X. Q.; Hjelmhaug, J. & Lobner, D. (2010). Mechanisms of chlorpyrifos and diazinon induced neurotoxicity in cortical culture. *Neuroscience*, Jan 20. [Epub ahead of print].
18. Casida, J. E. & Quistad, G. B. (2004). Organophosphate toxicology: safety aspects of nonacetylcholinesterase secondary targets. *Chem. Res. Toxicol.*, 17:983-998.
19. Ehrich, M.; Correll, L. & Veronesi, B. (1997). Acetylcholinesterase and neuropathy target esterase inhibitions in neuroblastoma cells to distinguish orgnophosphorus compounds causing acute and delayed neurotoxicity. *Fundam. Appl. Toxicol.*, 38 (1):55-63.
20. USEPA (2000). Preliminary human health risk assessment diazinon. Office on prevention , pesticides and toxic substances: 20. (Online Abstrac).
21. Zayed, S. M. A. D.; Fakhr, I. M. I. & El-Magraby, S. (1984). Some toxicological aspects of methamidophos exposure in mice. *J. Environ. Sci. Health.*,:467-478.
22. WHO. (1998). Diazinon. *Environmental Health Criteria 198*, International programmer on chemical safety, world health organization, Geneva.
23. Abd El-Rahman, M. F. & Zaki, Z.T. (1992). Cytotoxic action of malathion on renal and hepatic tissues of mice. *J. Egypt. Ger. Soc. Zool.*, (08B):105-114.
24. McKee, T. & McKee, J. R. (1996). *Biochemistry an introduction*. McGrow- Hill companies. United states of America. P. 638.
25. Sakr, S. A.; Gabr, S. A. & El-Saadany, M. M. (1991). Effect of diazinon on freeze-fracture images of microvilli of intestinal epithelial cells of *Tilapia nilotica*. *Z. Ernahrungswiss.*, 30 (4): 268-275.

26. القيسي، بشرى إبراهيم مصطفى. (2000). التغيرات المرضية والخلوية الوراثية في اسماك الكارب الاعتيادي والجرذان البيض الناجمة عن تأثير السمي لمبيد السومسدين ومتبقيات. أطروحة دكتوراه، كلية الطب البيطري، جامعة بغداد.
27. Anthony, J.; Banister, E. & Oloffs, P. C. (1986). Effect of sublethal levels of diazinon: Histopathology of liver. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 37:501-507.
28. Nag, M. & Nandy, N. (2001). Seotonin And Benzylamine Oxidation by type A and B of Rat Brain Presence Of Organophosphate Pesticides. *Indian. J. Exp. Biol.*, 39 (8): 802-806.
29. Abbas, A. K.; Lichtman, A. H. & Pober, J. S. (2000). Cellular and molecular immunology (4th Ed). W. B. Saunders Company. Philadelphia, United States of America. P. 553.
30. Cha, S. W.; Lee, H. J.; Cho, M. H.; Lee, M. H.; Koh, W. S.; Han, S.; Kim, J.; Lee, E.; Nam, D. & Jeong, T. C. (2001). Role of corticosterone in ethyl carbamate-induced immunosuppression in female BALB/c mice. *Toxicol. Lett.*, 119 (3):173-181.
31. Handy, R. D.; Abd-El Samei, H. A.; Bayomy, M. F.; Mahran, A. M.; Abdeen, A. & El-Elaimy, E.A. (2002). Chronic diazinon exposure: Pathologies of spleen, thymus, blood cells, and lymph nodes are modulated by dietary protein or lipid in the mouse. *Toxicology*, 172(1):13-34.
32. Geldanowski, J.; Kowalczyk-Bronisz, S. & Bubak, B. (1991). Studies on affinity of pesticide Uden -2- isopropoxypheny N-methylcarbamate to immunological system. *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz.)*, 39(1-2):85-97.
33. Miyagi, T.; Lam, K. M.; Chuang, L. F. & Chuang, R. Y. (1998). Suppression of chemokine-induced chemotaxis of monkey neutrophils and monocytes by chlorinated hydrocarbon insecticides. *In Vivo.*, 12 (5): 441-446.
34. Hooghe, R. J.; Devos, S. & Hooghe-Feters, E. L. (2000). Effects of selected herbicides on cytokine production in vitro. *Life. Sci.*, 66 (26): 2519-2525.
35. Watson, V. A.; Barnett, J. B. & Schafer, R. (2000). In vivo cytokine production and resistance to infection after acute exposure to 3, 4-dichloropropionaniline. *J. Toxicol. Environ. Health.*, 60 (6): 391-406.