

التأثير السمي لمبيد الملاثيون على الحيوانات المختبرية The toxic effect of the malathion pesticide on laboratory animals

شهلاء علي *

رواء جميل توما

سراب سلمان كاظم

عادل حسن علاج

ميلاد علي حسين

وزارة العلوم والتكنولوجيا

*كلية العلوم/ جامعة بغداد

Sarab S. K

Rawaa G.T.

Shahla A.

Melad A.H.

Adel H.E.

Ministry of Science and Technology

College of Science/ Baghdad University

الملخص

يهدف البحث الى استخدام بعض المؤشرات البيولوجية للكشف عن التأثير السمي الناتج من التلوث ببعض المبيدات الزراعية شائعة الاستخدام من خلال قياس التغيرات في مستوى انزيمات الكبد والانزيم المناعي الاديونوسين دي امينيز وتثبيت بعض الافات العيانية للفئران المعرضة للمبيد. استخدمت 102 فأر مختبري كموديل في هذه الدراسة تزن الواحدة 20-25غم . استخدم 30 فأر منها لحساب الجرعة القاتلة لنصف العدد LD50 لمبيد المالاثيون وكانت قيمتها 30 mg/mous. عرضت الفئران لثلاث تراكيز من المبيد 40, 20, 10 mg/mouse اعتماداً على قيمة LD50 واستخدمت طرق تعريض مختلفة (تحت الصفاق، التجريع الفموي، والرش). تم حساب مستوى الانزيمات وفترتين زمنيتين وهما بعد مرور 7 ايام و 14 يوم من التعرض وقورنت النتائج مع مجموعة السيطرة. اظهرت النتائج ارتفاعاً ملحوظاً في مستوى انزيمات الكبد (ALP) Alkaline phosphatase و (GOT) glutamic و oxaloacetictransmainase و glutamic pyruvic transaminase (GPT) و Adenosendeminase (ADA) بعد فترة تعرض 7 ايام وبطرق التعرض المختلفة، بينما لوحظ انخفاض في مستوى انزيم ALP و GOT و ADA بعد 14 يوم من التعرض يقابله ارتفاع بمستوى GPT بالنسبة لطريقتي التعريض (الحقن تحت الصفاق والرش)، مع ظهور افات مرضية عيانية في اعضاء الفئران تمثلت بتضخم في الكبد وتكون عدد من الاكياس القحبية بازياد تركيز المبيد وفترة التعريض بالإضافة الى انسداد قناة الصفراء لبعض المجاميع المعرضة. توضح النتائج امكانية اعتماد التغيرات في مستوى الانزيمات لاعطاء فكرة مبدئية عن نوع وتأثير المبيد الذي تعرضت له الحيوانات.

الكلمات المفتاحية: مبيد، ملاثيون، الحيوانات المختبرية

Abstract

The research aimed to illustrate enzyme level such as liver and immune enzymes to detect toxic effect of chemical agriculture pesticides as biological indicators to chemical pesticides contamination. 102 laboratory mice were used as a model 20-25gm weight. 30 mice were used to determine LD50 which was 30 mg/mouse. Mice were divided in to three groups according to LD50. After exposed to three different concentration by three ways (Interaperitoneal,Oraly,and Spray). Results showed significant increased in enzymes levels of (ALP), (GOT), (GPT), and (ADA) after 7 days of the three different exposure, while after 14 days there was decreased in enzymes levels of (ADA), (GOT), and(ALP) with increases in (GPT) enzyme: according to use "interaperitoneal injection and spray method", that companied by the appearance of gross pathological lesions in mice organs represented by hypertrophy of liver and there is many cysts filled with pus which related with increased in pesticide concentration and duration of exposure in addition to bile duct obstruction to some exposed group. The results show the possibility of the adoption of variation in the level of enzymes to give an idea of the type and the impact of the pesticide, which was subjected to the animals.

Key words: malathion, pesticide, laboratory animals

المقدمة

تستخدم المبيدات الزراعية بأنواعها المختلفة على نطاق واسع لمكافحة الافات كالحشرات والديدان وان التعرض المستمر والعشوائي لهذه المواد يؤدي الى تراكمها في البيئة نتيجة لتحللها البطيء الامر الذي قد يترك آثاراً على صحة الانسان من خلال تناول المنتجات الزراعية والالبان واللحوم، وربطت كثير من الدراسات بين الارتفاع الملحوظ في نسبة الإصابة بأمراض السرطان والتلوث بالمبيدات، وقد وجدت طرق للكشف عن التأثير السمي لهذه المبيدات باستخدام الفئران المختبرية، ويتم حساب خطورة المبيدات من المعادلة الاتية: hazard= toxicity X exposure: وكلما كان تركيز المبيد قليل وفترة ظهور الاعراض قصيرة بعد التعرض زادت خطورة ذلك المبيد [1].

بينت كثير من التقارير ظهور الاورام والاختلال الوظيفي للاطفال والرضع بالتعرض للمبيدات الحشرية خصوصاً مجموعة organophosphate من ضمنها المالاثيون [2]، كما لوحظ وجود اختلال في مستوى بعض الهرمونات مثل testosterone levels لعمال المزارع الذين يتعاملون مع هذه المبيدات [3] وباستخدام التغيرات بمستوى الانزيمات والتي تعد مؤشر بايولوجي نستطيع ان نكشف عن تضرر الاعضاء الناتج من التعرض للمبيدات وبالاخص الحشرية التي هي واسعة الانتشار في العراق وذلك من خلال اتباع

الفحوصات البايوكيميائية للسوائل الجسمية في الاعضاء [4] تتواجد الانزيمات في كل اعضاء الجسم وتلعب دور كبير في الكثير من التفاعلات التي تحدث داخل الجسم فمثلا تتواجد انزيمات الفسفرة سواء القاعدية او الحامضية في الكبد والكلى والعضلات والقلب [5]، وان اي اختلاف في مستواها داخل الجسم يدل على وجود خلل وظيفي في ذلك العضو [6] ان قياس انزيم Alkaline phosphatase (ALP) يعد من الادلة المستخدمة حديثا للتعبير عن الخلل الوظيفي وخصوصا في الكبد وكذلك الحال بالنسبة لانزيمات الامينوترانسفيريز Aminotransferases (GOT and GPT) وهي من المؤشرات الأولية في الكشف عن الضرر الحاصل في الكبد liver damage الناتج من التعرض لمادة ملوثة [7]. ولذلك تعتبر الانزيمات من المؤشرات البايولوجية التي تعتمد في الكشف عن سمية الملوثات الكيميائية وبالخاص المبيدات الحشرية.

تشير الإحصائيات أنه في عام 1992 تسببت المبيدات في حالات التسمم لما يقرب من 25 مليون شخص في الدول النامية، يموت منهم ما يقرب من 20 الف شخص سنويًا [8]. يعد الجلد من الطرق الرئيسية التي تسبب تأثيرات سمية أكثر من التأثيرات التي تنتج عند التعرض للمبيد عن طريق الجهاز التنفسي [9].

يستخدم مبيد المالاتيون ضد الحشرات الزراعية يعمل على تثبيط انزيم cholinesterase في جسم الحشرة مما يؤثر على الجهاز العصبي مؤدياً الى موتها [10]. يقول خبراء ان المستحضر غير سام نسبيا ولكنه يترسب في الجسم ويتحول اثناء الايض الى مركب يسمى malaoxon وهو عالي السمية للانسان تؤثر في الجهاز العصبي [8].

وجد ان المبيدات من نوع Organophosphates و carbamates تعمل على تثبيط عمل انزيم cholinesterase مسببة خلل بالجهاز العصبي [1]. التعرض لمبيد مالاتيون بجرعة 1.5 mg/kg/day تسبب انخفاض في حماية الجسم من الاصابة بجرثومة [10] Salmonella typhimurium. درس مستوى الانزيمات في الدم او انسجة الجسم كمؤشر على حدوث خلل وظيفي في الجسم فمثلا انزيمات الكبد Liver transaminases (ALT, AST) تشير الى اعراض تنخر الخلايا في نسيج الكبد hepatic necrosis [11] ، كما تسبب المبيدات تغييرات او تأثيرات مناعية immunotoxic effect لذا يتم دراسة مستوى الانزيمات المناعية على سبيل المثال أنزيم Adenosine deaminase (ADA) الذي يرتفع مستواه خصوصا عند الاصابة بالامراض كالسرطان [8].

اجريت الدراسة للكشف عن تراكم هذا النوع من المبيدات بالاستعانة بمؤشرات بايولوجية مختلفة والتكهن التقريبي بكمياتها التي قد تتواجد في البيئة وتتركز في الاعضاء المختلفة من اجسام الحيوانات الحقلية المعرضة لها، كدليل لما قد يسببه المبيد من نأثر على صحة الانسان وخصوصا الاطفال والرضع في تلك المنطقة نتيجة التعرض لها عبر الاستنشاق او الغذاء الملوث او الجلد.

المواد وطرائق العمل

أ- **تهيئة الحيوانات المختبرية:** استخدمت 102 فأر مختبري سويسري ابيض اللون جميعها من الذكور جلبت من مختبر الصحة المركزي ربيبت في البيت الحيواني التابع لقسم علوم حياة/ جامعة بغداد وغذيت على العليقة الجافة حتى وصلت اوزانها بين (25 -20) غم للفار الواحد.

ب- **تحضير التراكيز لمبيد المالاتيون:** تم شراء المبيد من الاسواق المحلية وحُضرت التراكيز التالية أياً 60,40,20,10 mouse/mg اعتمادا على القيمة التقريبية لـ LD50 لبحوث عالمية سابقة، باذابتها بالماء المقطر.

ج- **قياس الجرعة القاتلة LD50 للفئران:** قُسمت الفئران الى 5 مجاميع وكل مجموعة تضم 6 فئران حقنت المجاميع الاربعة بتراكيز مختلفة من مبيد المالاتيون 60,40,20,10 m تحت الصفاق بواقع 0.2 ml/mous، اما المجموعة الخامسة هي مجموعة السيطرة حقنت بمحلول دارى الفوسفات الملحي PBS وتمت مراقبة الفئران لمدة اسبوع وحُسب خلالها عدد الفئران الهالكة من كل تركيز شكل رقم (1).

د- **دراسة التعرض المزمن للمبيد:** قُسمت الفئران الى (12) مجموعة لدراسة التعرض المزمن للتراكيز المختلفة من مبيد المالاتيون حيث جُرِع 0.2 ml/ فأر من كل تركيز بثلاث طرق هي الحقن تحت الصفاق و التجريع الفموي (بعد تعطيش الفئران لمدة 3 ساعات)، و الرش على سطح الجسم الخارجي (الوجه والجلد) وبشكل متساوي.

ه- **تحضير عالق الانسجة لقياس مستوى الانزيمات:** شُرحت الفئران بعد انتهاء فترة المعاملة (7, 14) يوم لكل تركيز وعزلت الاعضاء (الكبد) ووزنت ثم حفظت في محلول دارى الفوسفات الملحي (PBS) phosphate buffer saline [12]. حيث يهرس كل عضو بجهاز المجانسة Tissue homogenesis وطرد العالق بجهاز الطرد المركزي لمدة 20 دقيقة عند سرعة 4000 rpm، يهمل الراسب ويحفظ الراشح في انابيب محكمة الغلق في درجة حرارة 4م لحين استخدامه لقياس مستوى الانزيمات [13].

و- **قياس مستوى الانزيمات:** يتم تهيئة المحاليل والمواد الخاصة بقياس الانزيمات تبعاً لما موجود بعدة القياس المرفقة مع كل انزيم، عدا انزيم ADA تم قياسته حسب طريقة [14] Gist 1981، وتم قياس مستوى الانزيمات بجهاز المطياف الضوئي نوع Apple UV 303 وحسب الطول الموجي المثبت مع كل عده، اما بالنسبة لانزيم ADA قررات النماذج على طول موجي 628 نانو ميتر.

جدول (1): عدد الفئران الهالكة وتراكيز المبيد وطريقة التعرض

التجربة	تركيز المبيد	عدد الفئران	طريقة التعرض
	10 mg	6	طريقة الحقن تحت الصفاق (IP) Intrapertonal
	20 mg	6	
	40 mg	6	
	Control	6	مجموعة السيطرة أعطيت دارى الفوسفات الملحي PBS عن طريق الحقن تحت الصفاق.
دراسة التعرض المزمن لمبيد المالاتيون	10 mg	6	طريقة التجريع الفموي (o)
	20 mg	6	
	40 mg	6	
(12 مجموعة)	Control	6	مجموعة السيطرة وأعطيت دارى الفوسفات الملحي PBS عن طريق التجريع الفمي.
	10 mg	6	طريقة الرش (Sp)
	20 mg	6	
	40 mg	6	
	Control	6	مجموعة السيطرة وأعطيت دارى الفوسفات الملحي PBS عن طريق الرش.

التحليل الإحصائي: Statistical Analysis

استعمل البرنامج SAS (2010) [15] في التحليل الإحصائي للبيانات لدراسة تأثير المعاملة في الصفات المختلفة، وقورنت الفروق المعنوية بين المتوسطات باختبار أقل فرق معنوي (LSD).

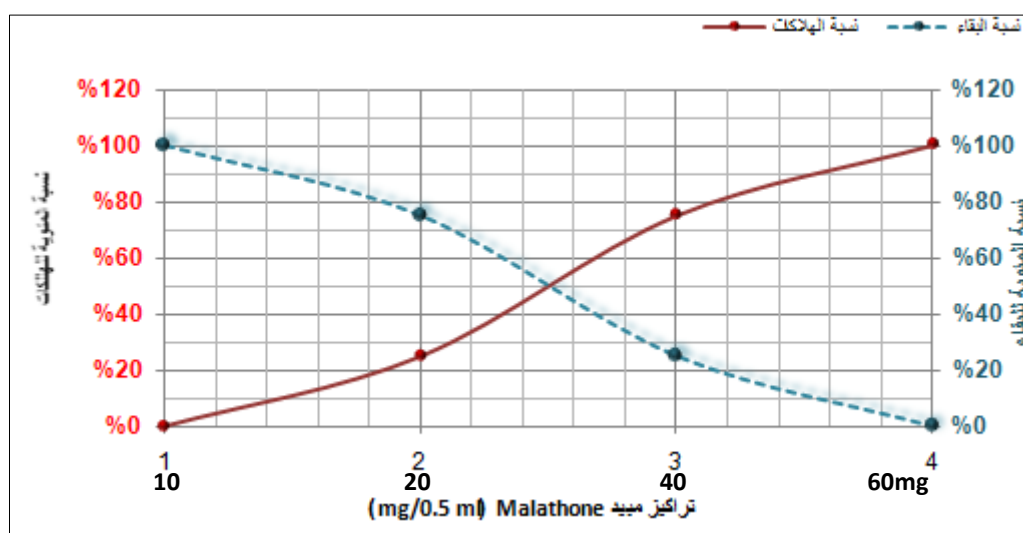
النتائج و المناقشة

قياس الجرعة القاتلة لنصف العدد: تم تحديد الجرعة القاتلة لنصف العدد باستخدام المعادلة التالية [16]

$$\text{الجرعة القاتلة لنصف العدد LD50} = \frac{\text{التركيز القاتل لاكثر من نصف العدد} + \text{التركيز القاتل لاقل من نصف العدد}}{2}$$

$$\text{mg } 30 = \frac{(40+20)}{2} = \text{LD50 for malathone}$$

يوضح شكل (2,3) المنحنى القياسي لانزيمات الكبد (GOT، GPT) بالاعتماد على المحلول القياسي المرفق مع العدة التشخيصية لهذه الانزيمات ولإستخدامه فيما بعد لحساب مستوى الانزيمات داخل انسجة اكباده الفئران. ويوضح شكل (4) التركيز السام القاتل لمبيد المالاثيون وذلك من خلال قياس الجرعة القاتلة لنصف عدد الفئران المختبرية LD50 (30 mg/0.5 ml/25mg) وحُسبت الجرعة باستخدام طريقة الحقن تحت الصفاق لانها ذات حساسية عالية وهي متبعة عالميا في حساب سمية المادة داخل جسم الحيوان المختبري [17]، وبعد مقارنتها مع جداول السمية المعتمدة عالمياً للتعرض المزمن لوحظ ان القيم تقع ضمن مجموعة متوسطة السمية وترمز بكلمة Warning [1].



شكل رقم (1): يوضح الجرعة القاتلة لنصف عدد الفئران المختبرية لمبيد المالاثيون

بعد الانتهاء من معاملة الفئران بالتركيز المختلفة من المبيد وبصورة مستمرة تمت متابعة مستوى الانزيمات في الكبد لانه يعد من اهم اعضاء الفلتر بالجسم والمعتمدة في دراسة سمية مادة معينة [17].

تتواجد انزيمات Transaminases في سايتوبلازم ومايتوكندريا انسجة الاعضاء (كبد، كلية، طحال، عضلات) والجبن المشفر لها واقع على كروموسوم [16، 18] لها دور في ايض الحوامض الامينية والكلوكوز بالجسم فهي مؤشر للاصابة بامراض الكبد وارتبطت كذلك بالنوبات القلبية [19] لذا يمكن اعتمادها كادلة للتعرض المزمن للمواد الكيميائية [20].

جدول (2) يوضح مستوى الانزيمات بعد التعرض للمبيد لمدة 7 ايام حيث اظهر انزيم GOT ارتفاعا في جميع الاعضاء (كبد، كلية، طحال) يتناسب طرديا مع الزيادة بتركيز المبيد وباختلاف طرق التعرض مقارنة مع مجموعة السيطرة.

ولوحظ ارتفاع انزيم GPT في جميع الاعضاء (كبد، كلية، طحال) وتناسبت الزيادة طرديا مع زيادة تركيز المبيد وبطرق التعرض المختلفة مقارنة مع مجموعة السيطرة عدا الكلية في مجموعة الحقن تحت الصفاق التي اظهرت انخفاضاً تدريجياً بزيادة تركيز المبيد.

اما بالنسبة الى مستوى الانزيمات بعد التعرض للمبيد لمدة 14 يوم يوضح جدول (2) انخفاض في مستوى انزيم GOT بعد التعرض المستمر وبشكل تدريجي مع زيادة تركيز المبيد في جميع الاعضاء عدا الطحال في مجموعة IP الذي اظهر ارتفاع في GOT باستمرار التعرض للمبيد مقارنة مع مجموعة السيطرة. يمكن الاعتماد على الكبد والكلى لمعرفة فترة التعرض للمبيد.

اظهر الكبد في جميع المجاميع الاستمرار في ارتفاع GPT عند زيادة فترة التعرض وطرديا مع تركيز المبيد مقارنة مع مجموعة السيطرة، بينما لوحظ انخفاض مستوى انزيم GPT في الطحال في مجموعتي التجريب والرش بزيادة تركيز المبيد مقارنة مع مجموعة السيطرة.

الارتفاع الواضح بفعالية انزيمي GOT و GPT وتحديدأ بعد فترة التعرض لمدة 7 ايام في جميع المجاميع والتي تناسبت طرديا مع زيادة تركيز المبيد إذ وصلت احيانا الى اكثر من الضعف، والتي توافقت مع ما جاء في دراسات سابقة اجريت في التعرض للملوثات الكيميائية غير المبيدات [13].

بينت دراسة ان ارتفاع تركيز انزيم GOT في المصل بحدود 20 مرة اعلى عن المستوى الطبيعي يدل على حالة تضرر النسيج [11] وهذا يتفق مع ما توصلت اليه هذه الدراسة حيث ارتفع انزيم GPT الى اكثر من 50 مرة عن المستوى الطبيعي له، لذا تستخدم نسبة

GOT/GPT في تحديد الضرر في الاعضاء وشدة المرض [21]. تعزى الزيادة في انزيمي GOT و GPT الى نضوحهما خارج الخلية (الى البلازما) بالرغم من موقعها داخل الخلية في العصارة الخلوية Cytosol وهذا يحدث نتيجة لزيادة السمية في نسيج الكبد إذ تؤدي الى تمزق الغشاء الخلوي وهذا يعمل بدوره على نضوح هذه الانزيمات الى البلازما [22]. من النتائج اعلاه نستنتج ان ارتفاع هذه الانزيمات يدل على سمية المبيد لخللا الاعضاء بالاحص الكبد والكلية [17] ويعتبر GPT المؤشر القوي لتضرر الكبد من GOT [23]، بعدها لوحظ انخفاض في انزيم GOT عند التعرض للمبيد بزيادة فترة التعرض مقارنة بانزيم GPT الذي اظهر ارتفاعا يتناسب طرديا بزيادة تركيز المبيد مقارنة بمجموعة السيطرة مما يعني تضرر الاعضاء وعدم قدرتها على تصليح الضرر في الانسجة وكان الكبد اكثر عضو تائراً بعد معاملتين بينما كانت الكلية اكثر تائراً بعد الفترة الثانية من التعرض للمبيد وان بقاء انزيم GPT مرتفع في الجسم بالرغم من زيادة فترة التعرض الفموي للمبيد جاء مخالفاً لما نُشر في بعض الدراسات التي ربطت الاصابة ببعض انواع الفايروسات بانخفاض تركيز GPT في الكبد [24]. تكررت النتيجة نفسها لكل من انزيمي GOT و GPT في حالة التعرض للمبيد عن طريق الحقن تحت الصفاق، بينما في حال التعرض عن طريق الرش لكل من الجلد والجهاز التنفسي اظهر GPT انخفاض بزيادة فترة التعرض مقارنة مع مجموعة السيطرة، وهذا عكس ما اكدته دراسة تم فيها تعريض فئران مخبرية الى تراكيز من حامض الستريك citric acid حيث سجل تناقص في اوزان الاعضاء (كبد وكلية والطحال) المعزولة عن مجموع السيطرة ومقارنة بزيادة تركيز انزيمي GOT & GPT [25].

جدول (2): مستوى الانزيمات والبروتين في الكبد بعد التعرض لمبيد المالاتيون

المجموعة	التعرض للمبيد مرتين خلال 7 أيام					التعرض للمبيد أربع مرات خلال 14 أيام					Organ wt.
	GOT	GPT	ALP	ADA	TP	GOT	GPT	ALP	ADA	TP	
Cont	14.2	34.5	24	21	4.4	17.2	38.5	46	53	2.7	1.50
10mg	17.2	35.3	35	22	4.5	13.8	42.6	55	45	2.7	1.70
20mg	21.0	61.5	36	24	4.7	13.7	44.4	60	36	2.7	1.80
40 mg	24.5	65.0	41	26	5.5	11.3	46.2	63	01	3.5	1.92
LSD	2.66*	8.41*	5.90*	20*	0.77*	4.37*	4.28*	7.53*	9.44*	0.68*	0.36*
Value											

المجموعة	التعرض للمبيد مرتين خلال 7 أيام					التعرض للمبيد أربع مرات خلال 14 أيام					Organ wt.
	GOT	GPT	ALP	ADA	TP	GOT	GPT	ALP	ADA	TP	
Cont	14.2	34.5	24	21	4.4	17.2	38.5	46	53.0	2.7	1.5
10mg	14.9	35.3	18	44	3.8	16.2	46.6	35	41.0	2.7	1.6
20mg	16.8	36.1	12	98	5.2	14.2	40.3	28	27.8	2.5	1.7
40 mg	17.6	37.0	10	87	5.0	13.6	55.4	14	13.0	3.1	1.9
LSD	1.96*	4.88	3.64*	9.51*	0.84*	2.97*	5.64*	8.19*	11.37*	0.86*	0.43*
Value	NS										

المجموعة	التعرض للمبيد مرتين خلال 7 أيام					التعرض للمبيد أربع مرات خلال 14 أيام					Organ wt.
	GOT	GPT	ALP	ADA	TP	GOT	GPT	ALP	AD	TP	
Cont	-	-	-	-	-	17.2	38.5	46	53	2.7	1.5
10mg	-	-	-	-	-	14.8	41.9	37	25	2.9	1.7
20mg	-	-	-	-	-	13.9	44.5	26	10	3.0	1.9
40 mg	-	-	-	-	-	12.5	47.2	20	01	3.2	2.33
LSD	-	-	-	-	-	4.26*	6.43*	8.16*	8.27	0.44*	0.61*
Value											

* (P<0.05)

جدول (2) يوضح ارتفاعا ملحوظا في مستوى انزيم ALP في الانسجة المختلفة في جميع الاعضاء لمجموعة التجريب الفموي O بزيادة تركيز المبيد بينما انخفض في مجموعة IP مقارنة مع السيطرة وذلك بعد التعرض للمبيد لمدة 7 ايام. وأظهر الانزيم بعد التعرض للمبيد لمدة 14 يوم ارتفاعا ملحوظا في جميع الاعضاء لمجموعة التجريب الفموي O بزيادة تركيز المبيد بينما انخفض في مجموعة IP مقارنة مع السيطرة.

نلاحظ ان نتائج ALP كانت مختلفة حسب فترة وطريقة التعرض حيث لوحظ ارتفاع فعاليته في الانسجة ارتفاعاً طردياً مع زيادة تركيزه وزيادة فترة التعرض بالنسبة لطريقة التجريب الفموي خصوصا للكلية مقارنة بمجموعة السيطرة. ان هذه النتيجة لم تتوافق مع دراسات تناولت تأثير التلوث بالمواد الكيميائية (كالزئبق) إذ كانت كمية هذا الانزيم تتناقص بالمقارنة مع مجموعة السيطرة [26] مما يمكن اعتماد هذه الزيادة كدليل على التلوث بالمبيدات الحشرية بعد التعرض المزمن لها. رُبطت زيادة فعالية انزيم ALP بأداء الخلية الكبدية Hepatocytes نتيجة لزيادة التصنيع بوجود زيادة في الضغط الصفراوي Biliary pressure [23]، ويعني ان زيادة تركيز انزيم ALP تشير الى انسداد قناة الصفراء [25] وهذا ما لوحظ عند تشريح الفئران المعرضة بطريقة التجريب لتراكيز 20 mg والحقن تحت الصفاق بالمقارنة مع مجموعة السيطرة كما في شكل (1).



شكل رقم (1) يوضح بعض الافات الداخلية بعد التعرض لتركيز 40 mg من مبيد الملاثيون

أشارت كثير من الأبحاث الى ان نسبة ضرر الكبد قد تصل الى 70% قبل تشخيصها بالتحاليل الدموية الروتينية [3] لذا بالاعتماد على الانزيمات السابقة وارتفاع او انخفاض تركيزها بالنسب الموضح في جدول 2 نتمكن من تشخيص الضرر بالإضافة الى التكهن بان نوع الملوث هو من المبيدات الحشرية الكيميائية.

يعتبر انزيم ADA مهم في تكاثر وتمايز الخلايا للمفاوية في الجسم لذا يعتبر احد الأدلة البيولوجية في اعطاء صورة عن المناعة الخلوية داخل الجسم [27]. يعمل انزيم ADA على تكسير المواد السامة Deoxyadenosine المتجمعة في العضو ويتحرر من الخلايا للمفاوية المتضررة لذا ارتفاعه يدل على زيادة في موت الخلايا البلعمية داخل الأنسجة Macrophage cell death [27]. يوضح جدول (2) ان التعرض للمبيد لمدة 7 ايام أظهر الانزيم ارتفاعا ملحوظا في كل الأعضاء لجميع المجاميع بزيادة تركيز المبيد مقارنة مع مجموعة السيطرة. بعد التعرض للمبيد لمدة 14 يوم أظهر الانزيم ارتفاعا ملحوظا باستمرار التعرض و في كل الأعضاء ولجميع المجاميع عدا الكبد الذي أظهر انخفاضا بزيادة تركيز المبيد وفترة التعرض مقارنة مع مجموعة السيطرة.

نلاحظ ارتفاع انزيم ADA في جميع الأنسجة وبشكل تصاعدي بزيادة تركيز المبيد وفترة التعرض سواء عن طريق التجريع او الرش او الحقن تحت الصفاق عدا الكبد الذي أظهر انخفاضا ملحوظا بزيادة فترة التعرض وكما لوحظ ان الطحال هو اكثر الأعضاء حدث فيه اختلال كبير بتركيز ADA لكونه يلعب دور كبير في الاستجابة المناعية داخل الجسم لإنتاجه الخلايا للمفاوية الدفاعية [28]. يعود ايضا سبب ارتفاع انزيم ADA الى كل من خلايا CD4 و Macrophages نتيجة لفرط إنتاجه من الجين ADA الواقع على الكروموسوم رقم 20، وهذا ما أكدته كثير من الدراسات التي اجريت على الحيوانات المختبرية حول تأثير مبيدات Organophosphate إذ أظهرت تأثيرات سمية مختلفة على الجهاز المناعي كانخفاض تكون الاجسام المضادة بحدود 70% بعد التعرض لمبيدات Captan و Malathion و Lindane بالإضافة الى خفض المناعة الخلوية بالجسم خصوصا نقص في اعداد الخلايا للمفاوية من نوع T4 و T8 لذا تشدد الحالة المرضية في الجسم [11]، كما اثبت Casale وفريقه انخفاض في الاستجابة المناعية للحماية من الاصابة بجراثيم Salmonella typhimurium بعد التعرض اليومي طويل الامد (لمدة سنتين) الى مبيد المالاثيون بتركيز 1.5 mg/kg في الفأر [28] بالإضافة الى تسببه اورام في الكبد لإنات الفئران [11]، كما ان ارتفاع فعالية هذا الانزيم أكدت في المرضى المصابين بسرطان المعدة والقولون والدم [30].

يشير جدول (2) الى زيادة في مستوى البروتين الكلي المقاس بطريقة لوري ولجميع المجاميع تناسبت طرديا مع زيادة تراكيز المبيد وفترة التعرض وطرق التعرض مقارنة مع مجموعة السيطرة. يمكن استخدام هذه النتيجة للتفريق بين التعرض لمبيد المالاثيون ومبيد ينتمي الى مجموعة اخرى مثل مبيد الاميداكلوبرايد وهذا ما أكدته دراسة اجريناها للمقارنة [30]. كما أظهرت الأعضاء نقصاً في حجمها ووزنها بعكس ما حصل من تضخم وتليف دهني في كل من الكبد والطحال المعرضين للمالاثيون مقارنة مع مجموعة السيطرة عند زيادة تركيز المبيد وفترة التعرض نتيجة لتجمع هذا المبيد في هذين العضوين بشكل رئيسي شكل (2)، هذا ما عززته بحوث سابقة بزيادة مستوى البروتين الكلي بالجسم وعلاقته بارتفاع درجات الحرارة Hyperthermia المرافقة للعلاج الكيميائي والاشعاعي [31].



شكل (2) A عينة طحال معزولة من فئران مجموعة السيطرة ، B عينة طحال معزولة من الفئران المعرضة 20 mg للمالاثيون

عن طريق التجريع الفموي

ومن اهم الافات العيانية احتقان الدماغ، تضخم في بطانة الأمعاء كما موضح في شكل (1) ناتج من تجمع السوائل (وذمه Odem) وكذلك احتقان الرئة مع تجمع سوائل في الحويصلات الرئوية والتي ظهرت بشكل اكياس بارزة على سطح الرئة، تضخم في الكبد والقناة الصفراوية وانسدادهما والذي قد يعزى الى التحفيز المستمر للمادة السامة لبطانة القناة الصفراوية مما يؤكد ان للمبيد تأثير صحي واضح لكون ظهور الاعراض والخلل الوظيفي في الأعضاء سُجل خلال فترة قصيرة بعد التعرض السمي الحاد للتركيز غير القاتلة (الوطنية) له [32]، ولوحظ ايضا تضخم الطحال لبعض المجاميع المعرضة للمبيد عن طريق التجريع الفموي وللتركيزين 20 ملغم و 40 ملغم شكل رقم (2).

أثبتت عدة دراسات وجود منبقيات لمبيد المالاثيون على الخس والخيار والكوسا والبطاطم والبطاطا والتفاح الأمريكي بالرغم من تأكيد الخبراء بكون المستحضر غير سام نسبيا ولكنه يتسرب في الجسم ويتحول الى مادة مالوكسين Malaoxon وهو مادة سامة تؤثر في الجهاز العصبي [8] هذا ما استدلت عليه بحوث كثيرة حول تأثير المالاثيون في تثبيط عمل انزيم Cholinesterases والسماح بتجمع مادة Acetylcholine المسؤولة عن نقل الابعاز العصبي بين خلايا الجهاز المركزي العصبي في الجسم بعد الانتهاء من الاستجابة

العصبية عندئذ يصبح سير الایعاز العصبي غير مسيطر عليه بين الخلايا ومستمر ممايسبب ما يسمى تسمم الجهاز العصبي فتظهر اعراض كتقلصات معوية و غثيان واسهال بعد هضم الطعام الحاوي على تراكيز عالية من المبيد [1]. تبين النتائج ان التجريع الفموي من اكثر الطرق التي تسببت في احداث تغييرات في مستوى الانزيمات واحداث الافات الداخلية في حيوانات التجارب وخصوصا بعد تناول المستمر للغذاء الحاوي على هذه المبيدات نتيجة لتراكمها في اعضاء الفلتره بالاخص الكبد والطحال[33].

الاستنتاجات

نستنتج من الدراسة ان مبيد المالاتيون له تاثير مباشر وضار على البيئة من خلال الاضرار التي يحدثها في انسجة الاعضاء والاختلال في مستوى انزيمات الكبد التخصصية في الفئران المختبرية والتي اعتبر استخدامها في هذا البحث كمؤشر بايولوجي للكشف عن الاثار الضارة للتلوث البيئي بالمبيدات الكيميائية.

المصادر

1. Lorenz, E. S. (2009). Potential Health Effects of Pesticides "Pesticide Education Program". Produced by Ag Communications and Marketing/The Pennsylvania State University.
2. Daniels, J.L., Olshan, A.F. and Savitz, D.A. (1997). Pesticides and childhood cancers. Environ. Health Perspect. 105:1068-1077.
3. Colborn, T. (2006). A Case for Revisiting the Safety of Pesticides: A Closer Look at Neurodevelopment. Environmental Health Perspectives. 114:10-17.
4. Awobode, H.O. (2006). The biochemical changes induced by natural human African trypanosome infections. African Journal of Biotechnology. 5 :738-742.
5. Johal, M.S., Sandhu, G.S. and Kaur, R. (2002). Effect of fenvalerate on acid and alkaline phosphatase activity in certain tissues of *Heteropneustes fossilis* (Bloch). Pollution Research. 21: 309-313.
6. Ramalingam, V., Prabhakaran, P., Vimaladevi, V. and Narmadharaj, R. (2002). Effect of mercuric chloride in the brain of male rats- Impact on adenosine triphosphatase. Pollution Research. 21: 7-11.
7. Kavitha, A.V. and Jagadeesan, G. (2003). *In vivo* studies on the role of *Tribulusterrestris* extract on mercury intoxicated mice, *Mus musculus* large intestine – A histological survey. Journal of Experimental Zoology India. 6: 213-219.
8. الاء رمضان . (2009). حلقة بحث حول تلوث البيئة بالمبيدات الكيميائية الحشرية وتأثيرها على الإنسان والحيوان. جامعة دمشق /كلية العلوم /قسم البيولوجي.
9. Feldman, R.J., and Maibach, H.I. (1974). Percutaneous penetration of some pesticides and herbicides in man. Toxicol. Appl. Pharmacol. 28:126-132.
10. Pant, R. and Katiyar, S.K. (1983). Effect of malathion and acetylcholine on the developing larvae of *Philosamiaricini* (Lepidoptera: Saturniidae). J. Biosci. 5:89-95.
11. Casale, G.P., Cohen, S.D. and DiCapua, R.A. (1983). The effects of organophosphate-induced cholinergic stimulation on the antibody response to sheep erythrocytes in inbred mice. ToxicolApplPharmacol. 68:198-205.
12. Sallam, S.M., and Awad, A.M. (2008). Effect of static magnetic field on the electrical properties and enzymes function of rat liver. Romanian J. Biophys. 18:337-347
13. Jagadeesan, G. and Kavitha, A.V. (2006). Recovery of phosphatase and transaminase activity of mercury intoxicated *Mus musculus* (Linn.) liver tissue by *Tribulusterrestris* (Linn.) (*Zygophyllaceae*) extract. Tropical Biomedicine. 23: 45–51.
14. Giusti, G. (1981). Adenosine Deaminase, In: Methods of Enzymatic Analysis. 2nd Edition. Bergmayer H .U .Vgerlage Chemic International, Florida (USA). 1092 – 1099.
15. Reed, L. J. and Muench, H. (1938). A simple method of estimation fifty percent and points. Am. J. Hyg. 27: 493-498.
16. SAS. (2010). Statistical Analysis System, User's Guide. Statistical. Version 9.1th ed. SAS. Inst. Inc. Cary. N.C. USA.
17. Vandenberghe, J. (1995). Hepatotoxicology: Mechanism of Liver toxicity and methodological aspects in toxicology: Principles and applications, Edited by J.M. Niesink, J.D. Vries and M.A. Hollinger, Boca Raton (CRC Press). 718.
18. Huang, Xing-Jiu, Yang-Kyu Choi, Hyung-Soon Im, Oktay Yarimaga, Euisik Yoon and Hak-Sung Kim. (2006). Aspartate Aminotransferase (AST/GOT) and Alanine Aminotransferase (ALT/GPT) Detection Techniques. Sensors. 6: 756-782.
19. Pratt, D.S., and Kaplan, M.M. (2001). "Evaluation of liver function." Braunwald E. et al. Eds. Harrison's principles of internal medicine. McGraw-Hill, New York. 1711-1715.
20. Euisik, Yoon and Hak-Sung Kim. (2006). Aspartate Aminotransferase (AST/GOT) and Alanine Aminotransferase (ALT/GPT) Detection Techniques. Sensors. 6: 756-782.
21. Hoar Zahm, S., Ward, M.H., and Blair, A. (1997). Pesticides and Cancer. Occupational Medicine: Sate of the Art Reviews. 12:269-289

22. Kolawole, O. M. and Sunmomu, T. O. (2010). Effect of wastewater treated with methanolic bark extract of *brideliaferrugineabenth* on rat kidney and liver. *Journal of Applied Sciences in Environmental Sanitation*. 14-23
23. Sharma, M.K., Kumar, M. and Kumar, A. (2002). *Ocimum sanctum* aqueous leaf extract provides rotection against mercury induced toxicity in Swiss albino rats. *Indian Journal of Experimental Biology*. 40: 1079-1082.
24. Habbu, P. V., Shastry, R. A., Mahadevan, K. M., Joshi, H. and Das, S.K. (2008). Hepatoprotective and Antioxidant Effects of *ArgyreiaSpeciosa* in Rats. *African Journal of Traditional, Complimentary and Alternative Medicines*. 5: 158-164
25. Aktaç, T., Kaboğlu, A., Bakar, E. and Karakaş, H. (2003). The short-term effects of single toxic dose of citric acid in mice. *Journal of Cell and Molecular Biology*. 2: 19-23
26. El-Demerdash, F.M. (2001). Effects of selenium and mercury on the enzymatic activities and lipid peroxidation in brain, liver and blood of rats. *Journal of Environmental Science and Health*. 36: 489
27. Kashyap, R. S., Deshpande, P. S., Nayak, A.R., Purohit, H.J., Taori, G.M. and Dagainwala, H.F. (2007). Adenosine deaminase activity in the supernatant of monocytes infected with *Mycobacterium tuberculosis*. *Inter. J. Interg. Bio*. 1
28. Sanchez, M. D., Garcia, Y., Montes, C., Paris, S. C., Rojas, M., Barrera, L.F., Arias, M. A. and Garcia, L. F. (2006). Functional and phenotypic changes in monocytes from patients with tuberculosis are reversed with treatment. *Microbes infect*. 8:2492-2500.
29. National Research Council. (1993). *Pesticides in the Diets of Infants and Children*. Washington, USA: National Academy of Science.
30. رواء جميل توما، سراب سلمان كاظم، رسل بهاء الدين معروف. (2013). دراسة التأثير السمي لمبيد الاميدوكلوروبرايت على الفئران المختبرية. (قيد النشر) .
31. Ahmed, R.R. and Mazher, K.h. (2009). Histological, Histochemical and Biochemical Changes in the Liver, Kidney, Lung and Spleen under the Effect of Repetitive Hyperthermia in Rat Neonates. *Iranian Journal of Cancer Prevention*. 2 :91-101.
32. Erguder, İ. B., Namuslu, M. , Sozener, U., Devrim, E., Avcı, A., Kocaoğlu, H. and Durak, İ. (2008). Effects of aqueous green tea extract on activities of DNA Turn-over enzymes in cancerous and non-cancerous human gastric and colon tissues. *Alternative Therapies*. 14:30-33.
33. رواء جميل توما، سراب سلمان كاظم، ايمان حسن الانباري. (2012). الكشف عن التأثير السمي لمبيد المالاتيون باستخدام اجنة الدجاج المحلي. المجلد الخاص بوقائع المؤتمر العلمي النسوي الاول لوزارة العلوم والتكنولوجيا. ص 62. خلاصة.