



بررسی تاثیر ديازینون بر تغييرات هيستومورفومتريک هيپوکامپ جنين موش کوچک آزمایشگاهی نژاد Balb/c

مهسا ممیز حقیقی*، شیوا نصیرایی مقدم، مهرانگیز صدوقی

گروه زیست‌شناسی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

*مسئول مکاتبات: mahsa_haghighi563@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۸/۱۶

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۴/۲۱

چکیده

دiazinon دسته‌ای از ارگانوفسفره‌های آفت‌کش است که بطور وسیع در کشاورزی استفاده می‌شود. این ماده سمی از طریق تنفسی، پوستی و گوارشی جذب می‌شود و بر بافت‌های مختلف تاثیر می‌گذارد. بنابراین هدف از این تحقیق بررسی اثرات Diazinon بر هیستومورفومتري هیپوکامپ جنين موش کوچک آزمایشگاهی نژاد Balb/c می‌باشد. تعداد ۲۵ سر موش کوچک آزمایشگاهی ماده بالغ نژاد Balb/c به ۵ گروه ۵ تایی تقسیم شدند. گروه شاهد Diazinon دریافت نکرد. گروه‌های شم الف و ب، امولسی فایر را به ترتیب به مقدار ۰/۵۲ و ۵/۲ میکرولیتر در واحد حجم (۵۰۰۰ سانتی متر مکعب در دسیکاتور) و گروه‌های تجربی الف و ب، Diazinon را به ترتیب به مقدار ۱/۳ و ۱۳ میکرولیتر در واحد حجم، از روز ۷ تا ۱۸ بارداری، یک روز در میان بصورت استنشاقی دریافت کردند. در پایان روز ۱۸ بارداری موش‌ها کشته شده، جنین‌ها از بدن حیوان خارج گردیده، از نظر ظاهری بررسی شدند. پس از فیکس شدن و پردازش جنین‌ها، مقاطع ۵ میکرونی تحت رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین قرار گرفت و بررسی هیستومورفومتري از هیپوکامپ انجام شد. میانگین ضخامت لایه‌های مختلف CA1، CA2، CA3 هیپوکامپ در گروه‌های تجربی الف و ب کاهش داشت. شمارش میانگین تعداد سلول‌ها در لایه‌های مختلف هیپوکامپ و شکنج دندان‌های در گروه تجربی الف و ب افزایش نشان داد. به نظر می‌رسد که استنشاق Diazinon در مقادیر بالا (دوز ۱۳ میکرولیتر در واحد حجم) در موش باردار می‌تواند سبب تغییرات هیستومورفومتريک در روند تکامل هیپوکامپ گردد.

کلمات کلیدی: جنین، هیپوکامپ، موش، Diazinon.

مقدمه

سموم ارگانوفسفره به طور عمومی سمیت بالایی دارند و مهم‌ترین عامل بیماری و مرگ و میر ناشی مسمومیت‌ها در کشورهای جهان سوم هستند (۲۶). Diazinon از مهم‌ترین حشره‌کش‌های ارگانو فسفره است که برای کنترل انواع حشرات در کشاورزی استفاده شده است. Diazinon در محیط‌های آبی به سرعت تجزیه می‌شود ولی ممکن است نیمه‌عمر آن در

حشره‌کش‌های ارگانوفسفره گروه عمده‌ای از حشره-کش‌های شیمیایی هستند که امروزه در جهان به طور گسترده استفاده می‌شوند (۱۲). این گروه از حشره-کش‌ها علاوه بر استفاده در مزارع کشاورزی و باغات، در مناطق مسکونی نیز برای کنترل آفات، حفاظت از بهداشت عمومی، صنعت و دامپزشکی و همچنین ارگان‌های نظامی نیز به کار گرفته می‌شوند (۶، ۱۷).



خاک‌های معدنی هوازی بیش از یک ماه باشد (۲). این ترکیب به آسانی و به سرعت در طی چند ساعت از روده جذب می‌شود (۲۳). همچنین از طریق تماس پوستی و تنفسی نیز جذب شده و به سرعت در زمان کوتاهی در کبد به ديازوکسون متابولیزه می‌شود. بیشتر ترکیبات ارگانوفسفره در کبد توسط سیستم سیتوکروم از طریق دسولفوراسیون اکسیداتیو به متابولیت P450 فعال سمی تبدیل می‌شوند (۳۳).

ارگانوفسفره‌ها بدلیل مصرف زیاد آنها در مزارع و باغات و صنعت‌ها به کار می‌رود لذا مصرف آن بصورت استنشاق و یا خوراکی در دوران بارداری توسط مادر ممکن است ناهنجاری‌ها و مشکلاتی را برای جنین به دنبال داشته باشد (۱۳) که با بررسی روی ديازینون می‌توان قطعیت این موضوع را مطرح کرد و از بروز برخی مشکلات برای جنین که درمان آن پس از تولد با پرداخت هزینه‌های هنگفت همراه است جلوگیری نمود.

سموم ارگانو فسفره به علت تاثیر بر فعالیت آنزیم کولین استراز و اختلال در سیستم اعصاب مرکزی به عنوان یک تهدید جدی برای سلامتی انسان‌ها محسوب می‌شوند و با توجه به آمار جهانی بیشترین مرگ و میر ناشی از آفت‌کش‌ها مربوط به این سموم می‌باشد (۳).

هیپوکامپ داخلی‌ترین بخش کورتس لوب گیجگاهی است که به سمت پایین مغز و سپس به سمت سطح زیرین بطن‌های طرفی امتداد می‌یابد. هیپوکامپ مشخصا به دو بخش اصلی، یک بخش ابتدایی با سلول‌های بزرگ و یک بخش انتهایی با سلول‌های کوچک‌تر تقسیم می‌شود. رامون کاخال این دو قسمت را به ترتیب Regio superior و Regio inferior نامیده بود. امروزه هیپوکامپ بر اساس دانسیته، سایز و شاخه آکسون و دندریت‌های سلول‌های هرمی به چهار ناحیه CA₁، CA₂، CA₃، CA₄ تقسیم می‌شود

همچنین هر بخش از چهار لایه سلولی به نام‌های لایه بطنی (Ventricular)، لایه اورینس (Oriens)، لایه شعاعی (Radiatum)، لایه مولکولی (Molecular) تشکیل شده است (۱۵).

نقش هیپوکامپ در نگهداری حافظه، تثبیت و طبقه‌بندی خاطرات، تبدیل حافظه کوتاه‌مدت به بلندمدت و یادگیری است. با توجه به دخالت هیپوکامپ در فعالیت‌های شناختی و هیجانی و ارتباط آن با بیماری‌های رایج عصبی تحقیقات بر روی این قسمت از مغز اهمیت فراوانی دارد. علاوه بر کمی اطلاعات موجود در ارتباط با چگونگی پردازش اطلاعات در هیپوکامپ به نظر می‌رسد که این ناحیه از مغز برای ذخیره اطلاعات خاص نوع آگاهانه آن ضروری است. آسیب به هیپوکامپ می‌تواند نتایج کلینیکی بارزی را به وجود آورد. بعنوان مثال در بیماری آلزایمر تغییرات در نورون‌های هیپوکامپ بوجود می‌آید. بعلاوه نورون‌ها و اصولا شبکه‌های هیپوکامپ مستعد تخلیه‌های تشنجی هستند و در پیدایش صرع لوب گیجگاهی دخالت دارند (۱۴، ۱۵).

در تحقیقات انجام شده توسط Saraee (۲۹) بر روی بررسی اثرات ديازینون بر هیستومورفومتری بافت کبد جنین موش کوچک آزمایشگاهی نژاد Balb/c نشان داده شد که در گروه تجربی ب ناهنجاری‌هایی نظیر جنین و جفت آتروفی، خونریزی زیر جلدی، جایگاه جفت جذب شده و جفت اضافی دیده شد. میانگین طول سری دم و وزن جنین‌ها در گروه‌های شاهد، شم الف و ب، و گروه‌های تجربی الف و ب، اختلاف معناداری مشاهده نگردید. وزن و قطر جفت‌ها در گروه‌های شاهد و دو گروه شم اختلاف معناداری نداشتند. میانگین وزن و اقطار جفت در گروه‌های تجربی الف و ب، نسبت به گروه شاهد افزایش معناداری مشاهده گردید. میانگین وزن جنین‌ها در



نشیمنگاهی (CR) جنین موش‌های Balb/c در روز های ۳ تا ۶ بارداری می‌گردد (۲۸).

Baş و همکاران با بررسی ناحیه شاخ آمون هیپوکامپ موش‌های ماده اظهار کردند ارگانوفسفره‌ها می‌توانند باعث تورم و تغییر شکل سلول‌های پیرامیدال و کاهش تعداد نوروها در گروه تجربی شوند. آنالیزهای بیوشیمیایی نیز افزایش مقادیر MDA و GSH در اثر سمیت با دوز حاد ارگانوفسفره فنتیون را نشان داد (۵).

هدف از این تحقیق بررسی اثرات دیازینون بر هیستومورفومتری هیپوکامپ جنین موش کوچک آزمایشگاهی نژاد Balb/c می‌باشد.

مواد و روش‌ها

روش نگهداری موش‌ها: ۲۵ سر موش کوچک آزمایشگاهی نژاد Balb/c در محدوده سنی ۱۲ تا ۱۴ هفته با محدوده وزنی 33 ± 7 از بخش حیوانات دانشگاه بقیه ... تهیه شد. موش‌ها در یک محیط کنترل شده، در دمای 23 ± 2 درجه سانتیگراد و رطوبت $50 \pm$ درصد و ۱۲ ساعت روشنایی، ۱۲ ساعت تاریکی قرار گرفتند. تمام موش‌های نر و ماده به مدت یک هفته برای سازش با محیط به صورت جداگانه در حیوان خانه دانشگاه بقیه ... نگهداری و با غذای استاندارد تغذیه شدند.

در هر قفس، ۳ الی ۴ موش ماده و یک موش نر سالم از همان نژاد قرار داده شد، تا عمل جفت‌گیری انجام گیرد. پس از مشاهده پلاک واژینال برای اطمینان از وجود عمل لقاح از تست اسمیر استفاده شد. در صورت مثبت بودن تست اسمیر در گسترش واژنی، آن روز به عنوان روز صفر بارداری تعیین و موش‌های باردار برای گروه بندی انتخاب گردیدند. با توجه به این که در طول رشد و نمو طبیعی جنین دوره‌هایی وجود دارد که در طی آن بافت یا پیش‌فرم معین در

گروه تجربی ب، نسبت به گروه شاهد افزایش داشت اما معنادار نبود.

Fadakar و همکاران اظهار داشتند دیازینون باعث کم‌خونی و کاهش DNA و RNA و میزان پروتئین کبد و ایجاد ناهنجاری در آبخش ماهیان و افزایش میکروفاژ سلولی و تاثیر بر رفتار تولیدمثلی می‌گردد (۸).

در مطالعات انجام شده توسط دکتر Parivar (۲۴) بر متوکسالن نشان داد که این ارگانوفسفره می‌تواند اثرات تراوتوزنیک بر روی جنین داشته باشد که از آن جمله می‌توان به ناهنجاری‌های ایجاد شده شامل کاهش تعداد هپاتوسیت، افزایش تعداد سلول‌های مگاکاریوسیت، افزایش گلبول‌های قرمز هسته‌دار، کاهش تعداد گلمرول‌های و تعداد توبول‌های کلیوی نام برد.

در مطالعات انجام شده توسط Fattahy و همکارانش در بررسی اثر دیازینون بر روی فرآیند اسپرماتوزن نشان داد که دیازینون بعنوان یک فاکتور محیطی می‌تواند بر روی بافت بیضه اثر منفی داشته باشد. کاهش تعداد سلول‌های ژرمینال که برای تولید اسپرم ضروری هستند و می‌تواند احتمال ناباروری را افزایش دهد (۱۰). این سموم در کبد به متابولیت‌های فعال تبدیل می‌شوند ولی مقدار زیادی از متابولیت‌ها از بدن دفع می‌شوند و باقیمانده آن در بافت‌های بدن از جمله در اندام‌های جنسی ممکن است تاثیر منفی بر جای بگذارند، بنابراین بعضی از مطالعات حاکی از تاثیر آن بر روی سلول‌های جنسی نر و افزایش ناهنجاری در ساختار اسپرم می‌باشد. همچنین باعث کاهش در سلول‌های لایدیگ و هورمون تستوسترون و افزایش هورمون‌های LH و FSH می‌گردد که می‌تواند احتمال ناباروری را افزایش دهد (۹).

همچنین Rastgar در تحقیقات خود نشان داد سم دیازینون با درصد سمیت حاد سبب کاهش معنی‌داری در وزن جنین و وزن جفت و طول سری-



و توسط نرم افزار موتیک اندازه‌گیری ضخامت و تعداد سلول‌های بخش‌های مختلف هیپوکامپ انجام شد.

نحوه انجام شمارش سلولی: شمارش هسته سلول-های هیپوکامپ جنین موش با استفاده از میکروسکوپ موتیک مجهز به یک قطعه چشمی و لنز شیئی با بزرگنمایی $1000\times$ شمارش شد. شمارش سلول‌ها با کمک یک لنز چشمی مجهز به کادر مستطیل‌مانندی به ابعاد 83×62 میکرومتر در سطحی برابر با 4860 میکرومتر مربع انجام شد. هسته سلول-هایی که در داخل کادر بوده و آنهایی که با اضلاع بالا و راست تقاطع داشتند شمارش گردید. در هر مقطع ۳ نمای مختلف، مورد بررسی قرار گرفت (۲۹).

تجزیه و تحلیل آماری: داده‌های به دست آمده با میکروسکوپ نوری با روش آماری آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و آزمون توکی در نرم‌افزار SPSS 22 مورد بررسی قرار گرفتند. اطلاعات به صورت میانگین \pm خطای انحراف معیار میانگین ارائه شد و تفاوت میانگین‌ها در سطح ($p < 0.05$) معنی‌دار در نظر گرفته شد (۲۹).

نتایج

نتایجی که از بررسی هیستومورفومتريک هیپوکامپ مربوط به جنین‌های دو گروه شم الف و ب و گروه-های تجربی الف و بدست آمد در مقایسه با گروه شاهد و کنترل بیان می‌شود: میانگین ضخامت لایه‌های مختلف CA1 بر حسب میکرومتر در گروه تجربی الف و گروه‌های شم الف و ب کاهش داشت اما این کاهش فقط در لایه مولکولی گروه تجربی ب معنادار بود و کاهش ضخامت سایر لایه‌های CA1 از نظر آماری معنادار نبود. میانگین ضخامت لایه‌های بطنی و مولکولی CA2 بر حسب میکرومتر در گروه‌های تجربی الف و ب نسبت به گروه شاهد و کنترل کاهش

حال رشد حساسیت زیادی به تأثیر بعضی از عوامل فیزیکی یا شیمیایی نشان می‌دهد و در نتیجه‌ی آن آزرده‌گی‌های ویژه‌ای به بار می‌آید به این دوره، دوره‌ی بحرانی می‌گویند. که یک عاملی است که توانایی یک ماده را در ایجاد نقائص مادرزادی مشخص می‌کند. در جنین موش این دوره‌های بحرانی از روز ۷ تا ۱۱ حاملگی می‌باشد (۲۴).

از آنجا که سم ديازینون تأثیرات بسیاری روی جنین دارد، طبق مطالعات صورت گرفته از روز ۷ بارداری تا روز ۱۸ بارداری یک روز درمیان موش‌های ماده را با روش استنشاقی تحت تأثیر ديازینون قرار دادیم.

نحوه مطالعه هیستومورفومتري: موش‌های کوچک آزمایشگاهی ماده بالغ به صورت تصادفی به ۵ گروه تقسیم شدند (در هر گروه ۵ موش). گروه کنترل که هیچگونه ديازینونی دریافت نکردند. دو گروه شم الف و ب که امولسی فایر تهیه شده از شرکت شیمیایی مهان بعنوان حلال ديازینون (بدون ديازینون) را به ترتیب در دوزهای 0.52 و $5/2$ میکرولیتر در واحد حجم (5000 سانتی‌متر مکعب در دسیکاتور) به صورت استنشاقی از روز ۷ تا روز ۱۸ بارداری یک روز در میان دریافت کردند. گروه تجربی الف $1/3$ میکرولیتر و گروه تجربی ب 13 میکرولیتر ديازینون در واحد حجم به صورت استنشاقی از روز ۷ تا روز ۱۸ بارداری یک روز در میان دریافت کردند. در پایان روز ۱۸ بارداری موش‌های باردار کشته شده و جنین‌ها از رحم خارج شدند. جنین‌ها به وسیله فرمالین 10 درصد فیکس شدند. تعداد ۵ جنین از میان جنین‌های هر موش باردار به صورت تصادفی انتخاب شد و از هر نمونه مقاطع ساجیتال به ضخامت 5 میکرومتر از جنین‌ها تهیه و تحت رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-اوتوزین (H&E) قرار گرفت (۲۹). جهت اندازه‌گیری‌های بافتی از بزرگنمایی‌های 40 ، 400 و 1000 میکروسکوپ مجهز به دوربین دیجیتال استفاده گردید



مولکولی CA2 گروه تجربی ب در سطحی برابر ۱۰۰۰۰ میکرو مترمربع افزایش معناداری را از نظر آماری نشان می‌دهد. اما میانگین تعداد سلول‌ها در سایر لایه‌های CA2 تغییر معناداری را نشان نمی‌دهد ($p < 0/05$) (نمودار ۲).

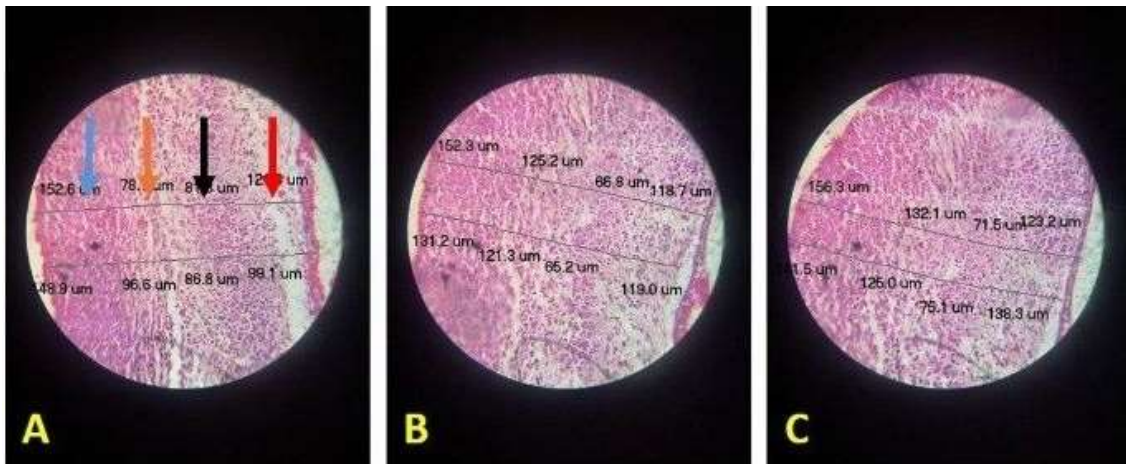
میانگین تعداد سلول‌ها در لایه‌های بطنی و شعاعی CA3 گروه تجربی الف و تمام لایه‌های CA3 گروه تجربی ب در سطحی برابر ۱۰۰۰۰ میکرو متر مربع افزایش معناداری را از نظر آماری نشان می‌دهد. اما میانگین تعداد سلول‌ها در سایر لایه‌های CA3 تغییر معناداری را نشان نمی‌دهد ($p < 0/05$) (نمودار ۳).

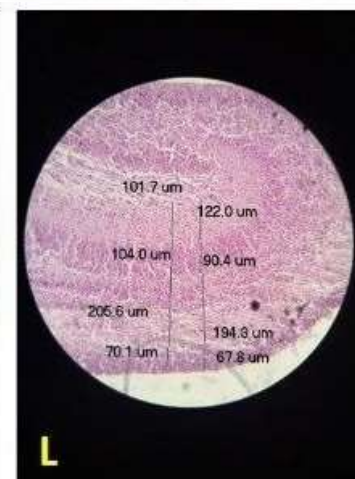
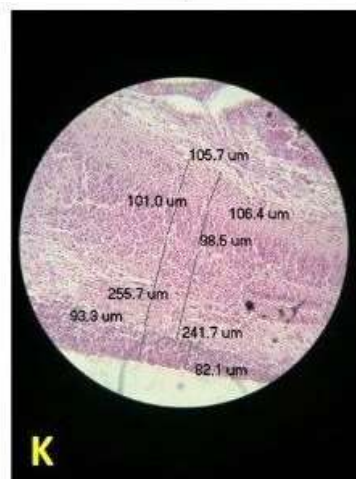
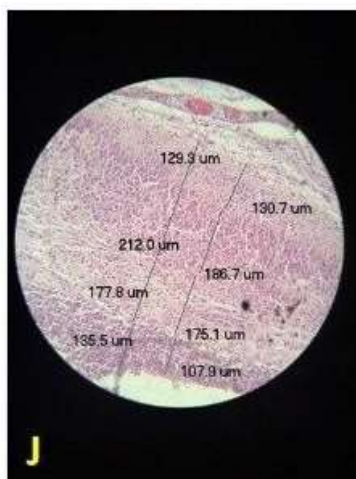
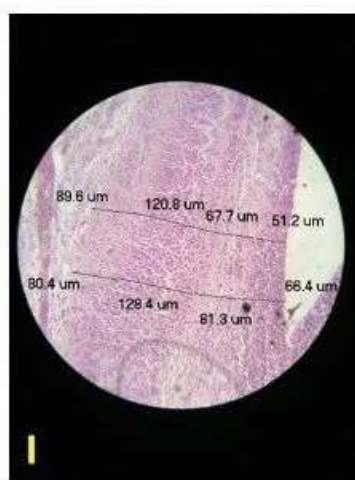
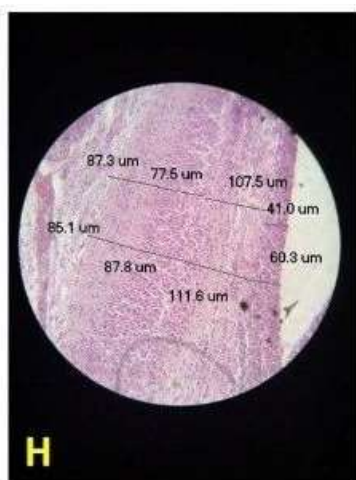
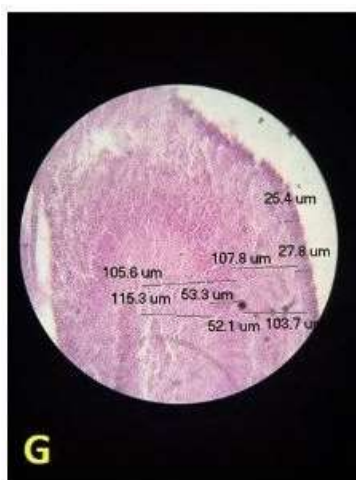
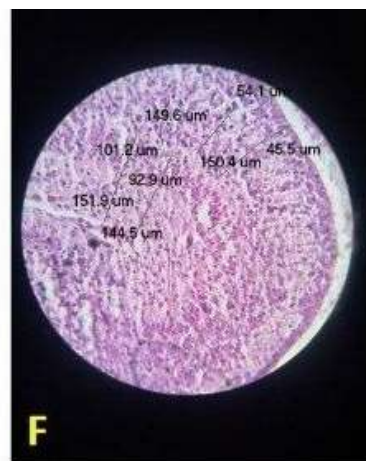
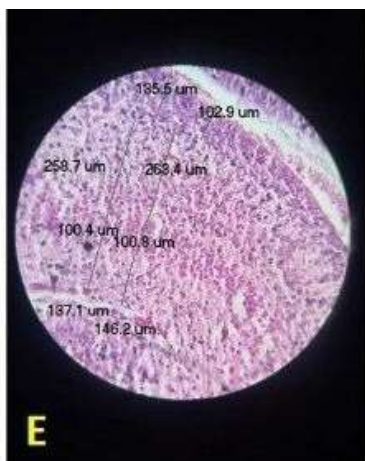
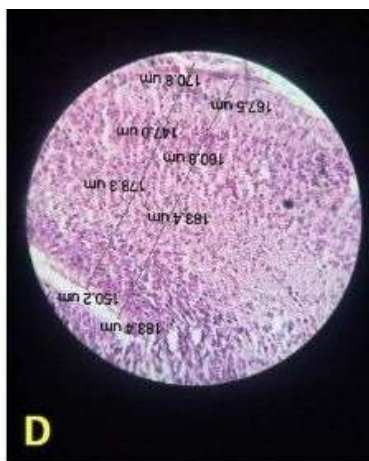
میانگین تعداد سلول‌ها در شکنج دندان‌های گروه تجربی الف و گروه تجربی ب در سطحی برابر ۱۰۰۰۰ میکرو مترمربع نسبت به گروه شاهد و کنترل افزایش داشت اما این افزایش تعداد سلول‌ها فقط در گروه تجربی ب معنادار بود ($P < 0/05$) (نمودار ۴).

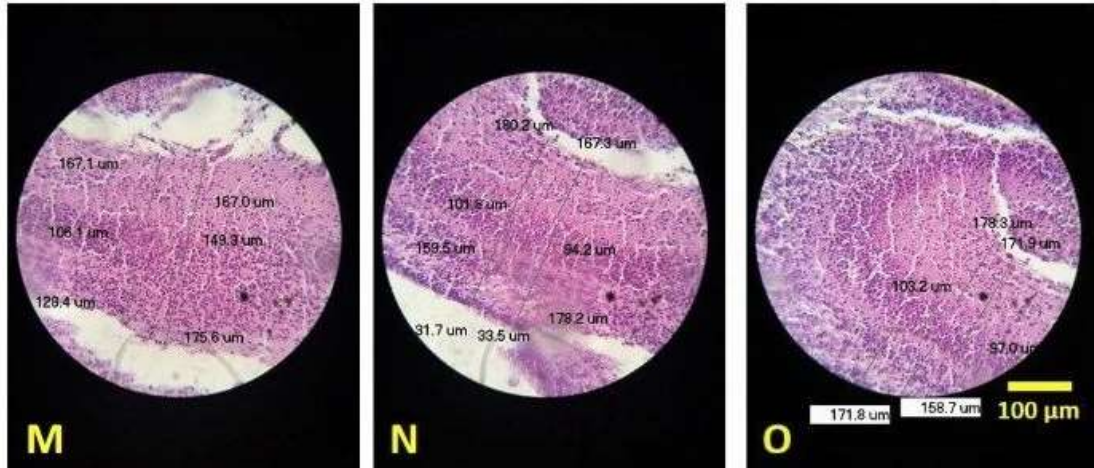
معناداری داشت. اما کاهش ضخامت لایه‌های اورینس و شعاعی CA2 برحسب میکرومتر در گروه‌های تجربی و شم معنادار نبود.

در CA3 میانگین ضخامت لایه‌های اورینس و مولکولی گروه تجربی الف و میانگین ضخامت لایه‌های اورینس، شعاعی و مولکولی گروه تجربی ب بر حسب میکرومتر نسبت به گروه شاهد و کنترل کاهش معناداری داشت (شکل ۱).

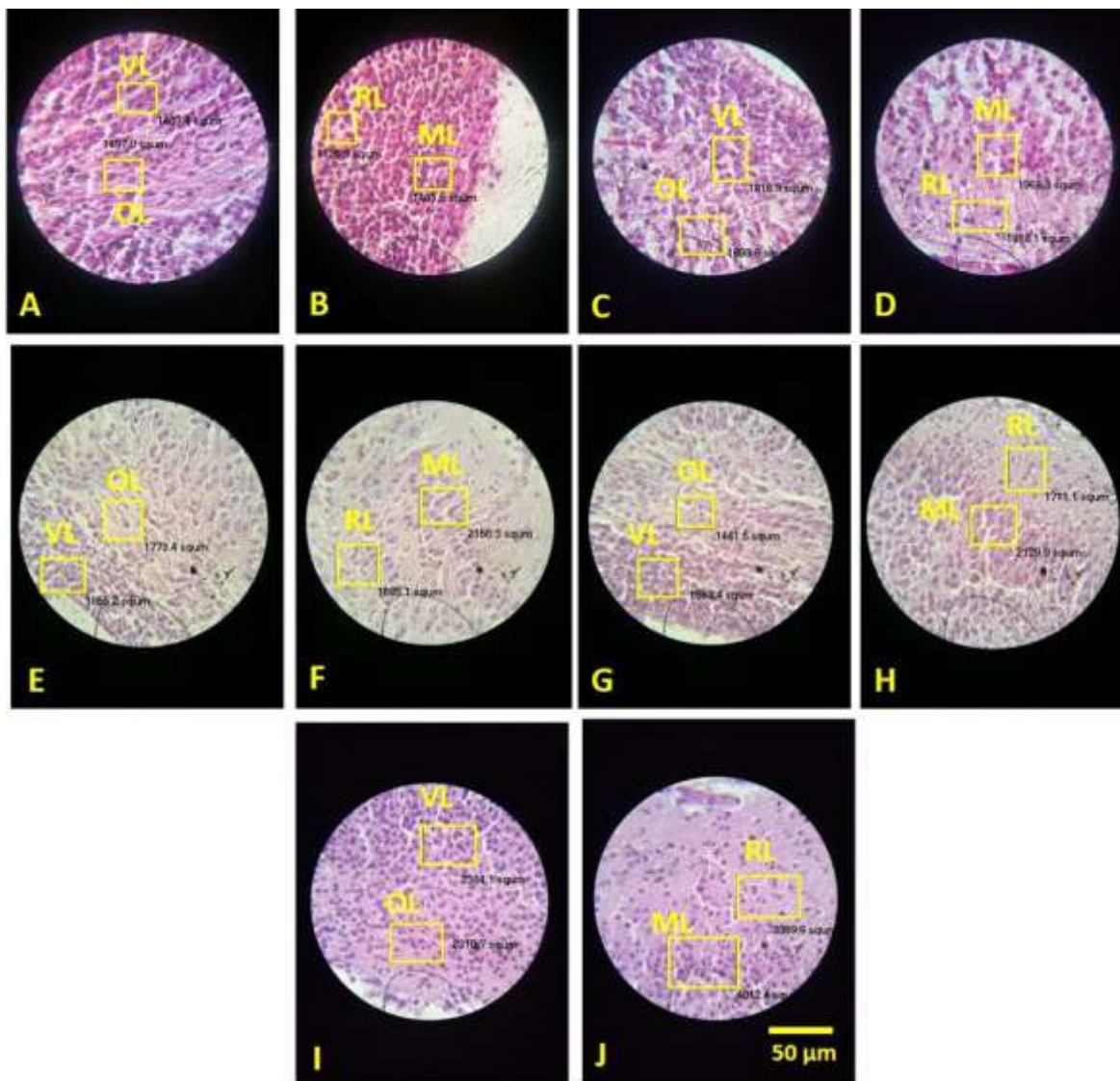
میانگین تعداد سلول‌ها در لایه شعاعی CA1 گروه تجربی الف و لایه‌های اورینس، شعاعی و مولکولی CA1 گروه تجربی ب در سطحی برابر ۱۰۰۰۰ میکرو مترمربع افزایش معناداری را از نظر آماری نشان می‌دهد. اما میانگین تعداد سلول‌ها در سایر لایه‌های CA1 تغییر معناداری را نشان نمی‌دهد ($p < 0/05$) (نمودار ۱). میانگین تعداد سلول‌ها در لایه شعاعی CA2 گروه تجربی الف و لایه‌های اورینس، شعاعی و





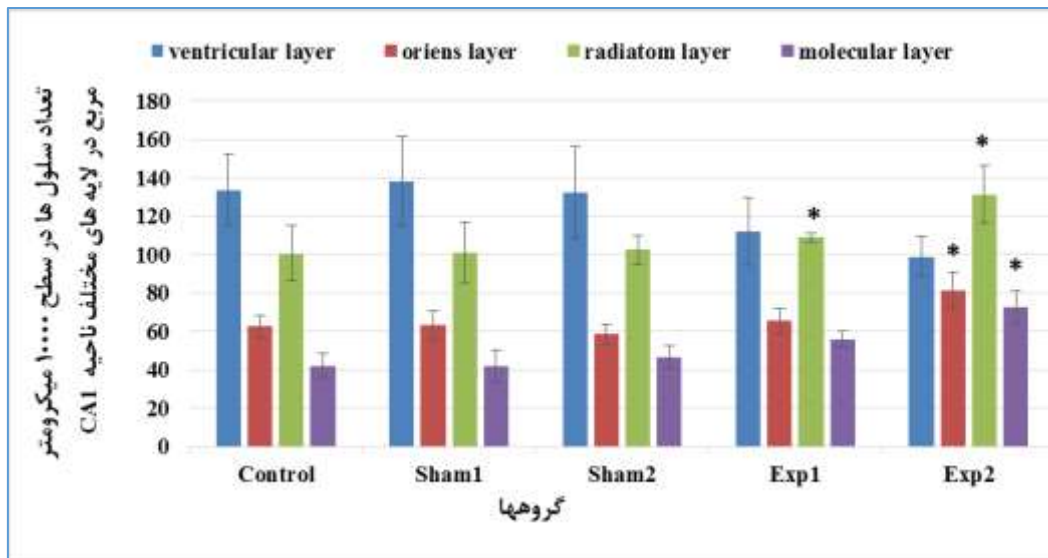


شکل ۱- تصاویر بافتی هیپوکامپ جنین ۱۸ روزه با بزرگنمایی $\times 400$: A تا C گروه شاهد، D تا F گروه شم الف، G تا I گروه شم ب، J تا L گروه تجربی الف، M تا O گروه تجربی ب می‌باشد (A, D, G, J, M= CA1, B, E, H, K, N= CA2, C, F, O= CA3). (I, L, O= CA3). فلش‌های آبی، نارنجی، سیاه و قرمز در هر گروه به ترتیب نشان‌دهنده لایه‌های بطنی، اورینس، شعاعی و مولکولی می‌باشند.

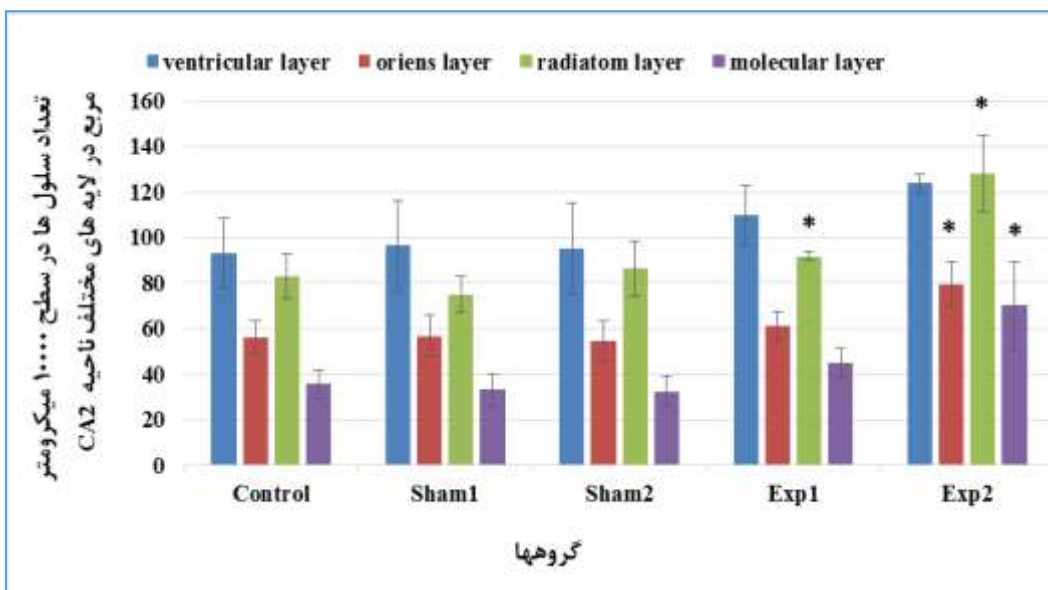


شکل ۲- شمارش سلولی در لایه های مختلف هیپوکامپ جنین ۱۸ روزه با بزرگنمایی $100\times$ در گروه های شاهد، شم و تجربی.

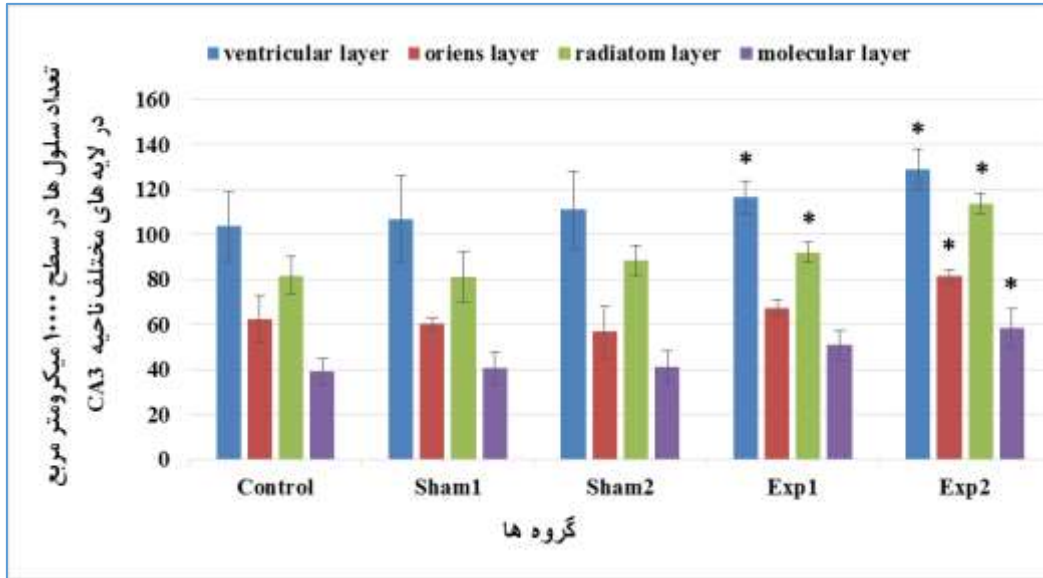
A, B= Control C, D=Sham1 E,F= Sham1 G, H= Experimental1 I, J= Experimental
(VL= Ventricular Layer, OL=Oriens Layer, RL=Radiatum Layer, ML=Molecular Layer)



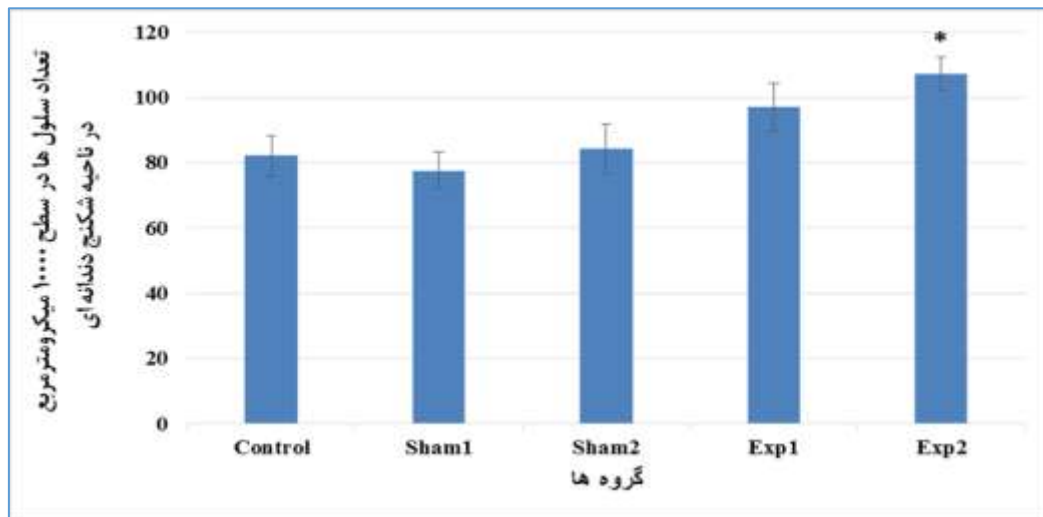
نمودار ۱- میانگین تعداد سلول‌ها را در لایه‌های CA1 هیپوکامپ جنین‌های ۱۸ روزه موش در گروه‌های شاهد، شم و تجربی



نمودار ۲- میانگین تعداد سلول‌ها را در لایه‌های CA2 هیپوکامپ جنین‌های ۱۸ روزه موش در گروه‌های شاهد، شم و تجربی



نمودار ۳- میانگین تعداد سلول‌ها را در لایه‌های CA3 هیپوکامپ جنین‌های ۱۸ روزه موش در گروه‌های شاهد، شم و تجربی



نمودار ۴- میانگین تعداد سلول‌ها را در شکنج دندانه‌ای جنین‌های ۱۸ روزه موش در گروه‌های شاهد، شم و تجربی

بحث

شده که میانگین تعداد سلول‌ها در لایه شعاعی CA1 گروه تجربی الف و لایه‌های اورینس، شعاعی و مولکولی CA1 گروه تجربی ب افزایش معناداری را نشان داد. میانگین تعداد سلول‌ها در لایه شعاعی CA2 گروه تجربی الف و لایه‌های اورینس، شعاعی و مولکولی CA2 گروه تجربی ب افزایش معناداری را نشان داد. میانگین تعداد سلول‌ها در لایه‌های بطنی و شعاعی CA3 گروه تجربی الف و تمام لایه‌های CA3

این مطالعه نشان داد میانگین ضخامت لایه‌های مختلف CA1، CA2 و CA3 هیپوکامپ در گروه‌های تجربی الف و ب که تحت تاثیر سم ارگانوفسفره دیازینون قرار گرفتند کاهش معناداری داشت. همچنین شمارش میانگین تعداد سلول‌ها در لایه‌های مختلف هیپوکامپ و شکنج دندانه‌ای در گروه تجربی الف و ب افزایش نشان داد. در نتایج حاصل از شمارش تعداد سلول‌ها در تحقیق حاضر مشاهده



مقیمی با رنگ‌آمیزی آبی تولوئیدین کاهش تراکم نوررونی را در نواحی مختلف از جمله در شکنج دندان‌های نشان داد.

حشره‌کش‌های ارگانوفسفره، قادر به تولید رادیکال-های آزاد و اختلال در سیستم‌های آنتی‌اکسیدان بدن هستند. در شرایط طبیعی بین تولید و حذف رادیکال-های آزاد تعادل وجود دارد. عدم تعادل در این فرآیندها موجب استرس اکسیداتیو می‌گردد (۹، ۲۲).

مجموعه آنزیمی SOD (آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز) و CAT (کاتالاز) اولین خط دفاعی سلول در برابر سمیت ناشی از رادیکال‌های آزاد هستند. آنزیم SOD سبب تبدیل رادیکال سوپر اکسید به H_2O_2 می‌شود، آنزیم CAT با میل ترکیبی بالا با H_2O_2 واکنش می‌دهد و باعث خنثی شدن سمیت H_2O_2 و تبدیل آن به آب و O_2 می‌شود (۱۱، ۱۸).

نتایج تحقیقات قبلی نشان می‌دهد که تجویز دیازینون به صورت حاد موجب افزایش فعالیت آنزیم SOD و کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز می‌شود. افزایش فعالیت SOD باعث کاهش رادیکال سوپراکسید و افزایش H_2O_2 در بافت طحال می‌گردد. با توجه به کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز، غلظت بالای H_2O_2 در این بافت موجب آسیب بافتی و ایجاد استرس اکسیداتیو می‌گردد (۱).

در مطالعه Shokrzadeh بیان شد که دیازینون منجر به ایجاد استرس اکسیداتیو می‌شود و مصرف ویتامین-ها به عنوان آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی در کاهش سطح رادیکال‌های آزاد و احیا آنزیم‌ها موثر واقع می‌شود (۳۰).

در مطالعه Salehi و همکاران نیز مشخص شد دیازینون باعث تولید رادیکال‌های آزاد شده و منجر به آسیب اکسیداتیو بافت مغز می‌گردد (۲۸).

با توجه به این مطالعات می‌توان گفت تاثیر دیازینون بر هیپوکامپ منجر به آسیب بر سلول‌های عصبی و

گروه تجربی ب افزایش معناداری را نشان داد و میانگین تعداد سلول‌های شکنج دندان‌های گروه تجربی الف و گروه تجربی ب نسبت به گروه شاهد افزایش داشت اما این افزایش تعداد سلول ها فقط در گروه تجربی ب معنادار بود.

بر طبق مطالعات Parvari و همکاران (۲۵) در سال ۱۳۸۲ مس اثری سمی بر روی دستگاه عصبی مرکزی دارد، پژوهش پروری و همکاران نشان می‌دهد تزریق کلرید مس به موش‌ها در روزهای ۷، ۸ و ۹ بارداری موجب کاهش وزن جنین‌ها و کاهش CRL جنین‌ها شد که این نتایج با نتایج بدست آمده در تحقیق حاضر مغایرت داشت اما ارزیابی‌های مورفومتری نشان داد که مقادیر بالای کلرید مس ممکن است سبب ناهنجاری در دستگاه عصبی مرکزی شود. این ماده می‌تواند در سراسر سیستم عصبی جنین، تغییرات سلولی ایجاد کند که این تغییرات به صورت بی‌نظمی در جهت قرارگیری سلول‌ها و هسته‌ها، افزایش فضاهای بین سلولی، ادم سلول‌ها و در نهایت دژنراسیون سلول‌های عصبی قابل ملاحظه می‌باشد. براساس این پژوهش، پژوهشگران نتیجه گرفتند که افزایش کلرید مس در دوران جنینی باعث بوجود آمدن اختلال در سیستم عصبی مرکزی جنین می‌شود و روند دژنراسیون سلول‌های عصبی و احتمالاً مرگ سلولی را القا و تشدید می‌کند.

طبق مطالعات و بررسی‌های مورفولوژیکی Moghimi و همکاران (۲۰) بر روی برش‌هایی از هیپوکامپ نوزادان در روز اول تولد که با میکروسکوپ نوری انجام گرفت، چنین به نظر می‌رسید که شکل‌یافتگی نوروها در گروه تجربی نسبت به گروه کنترل کمتر می‌باشد که بخصوص در نواحی CA_1 و CA_3 هیپوکامپ به دلیل دارا بودن نوروهای هرمی بیشتر جلب توجه می‌کرد. ما در نتایج خود کاهش ضخامت لایه‌ها را در گروه تجربی مشاهده کردیم. همچنین



و تغییر در مجموعه آنزیمی SOD بر روی تشکیل و تکوین سیستم عصبی و بیان آنزیم‌ها تاثیرگذار باشند و ارگان‌ها را دستخوش تغییرات مورفولوژیکی و سلولی کنند.

از آنجایی که در زمینه اثرات دیازینون بر روی سیستم اعصاب مرکزی و سیستم اعصاب محیطی مطالعات مختصری صورت گرفته است، کشف مکانیسم دقیق آن نیازمند مطالعات بیشتری در این زمینه می‌باشد.

نتیجه‌گیری

مصرف مقادیر بالای دیازینون (۱۳ میکرولیتر در واحد حجم) در موش باردار موجب تغییرات هیستومورفومتریک در روند تکاملی هیپوکامپ جنین و کاهش در ضخامت لایه‌های مختلف و افزایش تعداد سلول‌ها در نواحی CA1، CA2 و CA3 هیپوکامپ در گروه تجربی الف و ب می‌گردد.

تشکر و قدردانی

از اساتید محترم مرکز علوم اعصاب و گروه آناتومی دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا... و اساتید گروه زیست شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال که در این مطالعه با راهنمایی‌های خود ما را یاری نمودند کمال تشکر و قدردانی را داریم. این مقاله برگرفته از پایان نامه دانشجوی کارشناسی ارشد با کد پایان نامه ۱۵۷۳۰۵۰۴۹۴۲۰۰۴ در دانشکده علوم زیستی دانشگاه آزاد واحد تهران شمال می‌باشد.

منابع

- Ahmadi S., Jafari M., Asgari A., Salehi M. 2011. Acute effect of diazinon on the antioxidant system of rat's heart tissue. *Trauma Monthly. Kowsar Medical Journal*, 16(2): 87-93.
- Ahmadi S., Jafari M., Asgari A., Salehi M. 2012. Acute effect of diazinon on lipid peroxidation level and activities of antioxidant enzymes in rat spleen. *Journal*

گلیال شده و باعث یکسری نارسایی‌ها می‌شود. در تحقیق حاضر سمیت عصبی ممکن است با استرس اکسیداتیو تولید شده توسط دیازینون نسبت داده شود. مکانیزم آثار سمی دیازینون همانند سایر سموم ارگانو فسفره، موجب مهار شدن کلیه آنزیم‌ها به ویژه استیل کولین استراز می‌گردد (۱۶، ۲۳، ۲۴).

بعضی از محققین، افزایش پراکسیداسیون لیپیدها و تولید رادیکال‌های آزاد حاصل از متابولیسم سموم ارگانو فسفره را به عنوان مکانیسم اصلی در تخریب سلول و بافت‌های مختلف بدن پیشنهاد می‌کنند (۲، ۴، ۲۵، ۲۶).

در مطالعات صورت گرفته توسط Mohammadi نشان داده شد که پاراکسان (متابولیت نروتوکسیک حشره کش ارگانو فسفره پاراتیون) اثرات خود را از طریق مهار استیل کولین استراز، تجمع استیل کولین در سیناپس‌های کولینرژیک و تحریک بیش از حد سیستم کولینرژیک اعمال می‌کند. از آنجایی که گزارشات موجود در مورد تغییرات سطح گابا حین القا تشنج به وسیله عوامل ارگانو فسفره مبهم است، در مطالعه حاضر از سیناپتوزوم‌های قشر مغز و هیپوکامپ موش-های صحرایی مسموم شده با پاراکسان برای تعیین تغییرات ایجاد شده در برداشت گابا استفاده شد.

در حیوانات دریافت‌کننده دوز بالای پاراکسان (دوز تشنج‌زا) برداشت سیناپتوزومی گابا به طور معنی-دار در قشر مغز و هیپوکامپ در مقایسه با گروه‌های کنترل مربوطه در تمامی زمان‌های مورد مطالعه کاهش یافت. بتآلآنین اثر مهاری بر برداشت نداشت، در حالی که ال-دابا اکثر برداشت وابسته بر ترانسپورتر را از بین برد (۲۱).

از آنجا که مراحل تکوین و تشکیل سیستم عصبی در جنین دوره‌ای بسیار حساس می‌باشد، عوامل تراوتوژنیک مانند ارگانو فسفره‌ها (پاراکسان و دیازینون و مالاتیون و ...) می‌توانند با ایجاد استرس اکسیداتیو



10. Fattahy E., Jorsaraei S.G.A., Parivar K., Moghaddamnia A.A. 2007. Influence of diazinon on spermatogenesis in mice. *Koomesh*, 9(1): 75-82.
11. Fridovich I. 1989. Superoxide dismutases. An adaptation to a paramagnetic gas. *Journal of Biology and Chemistry*, 264(14): 7761-7764.
12. Garfitt S., Jones K., Mason H., Cocker J. 2002. Exposure to the organophosphate diazinon: data from a human volunteer study with oral and dermal doses. *Toxicology Letters*, 134(1):105-113.
13. Goodman L.R., Hansen D.J., Coppage D.L., Moore J.C., Matthews E. 1979. Diazinon (R): Chronic Toxicity to, and Brain Acetylcholinesterase Inhibition in, the Sheepshead Minnow, *Cyprinodon variegatus*. *Transactions of the American Fisheries Society*, 108(5): 479-488.
14. Gorden M.S. 2000. *Neurobiology*. 3rd ed. Oxford: Oxford University Press. pp: 618-634.
15. Guyton A.C., Hall J.E. 2008. *Textbook of Medical physiology*. 3rd ed. Philadelphia: Saunders Company. pp: 643-645.
16. Hamm J., Wilson B., Hinton D. 1998. Organophosphate-induced acetylcholin esterase inhibition and embryonic retinal cell necrosis in vivo in the teleost (*Oryzias latipes*). *Neurotoxicology*, 19(6): 853-870.
17. Hoffmann U., Papendorf T. 2006. Organophosphate poisonings with parathion and dimethoate. *Intensive Care Medicine*, 32(3): 464-468.
18. MatÉs J.M., Pérez-Gómez C., De Castro I.N. 1999. Antioxidant enzymes and human diseases. *Clinical Biochemistry*, 32(8): 595-603.
19. Michiels C., Raes M., Toussaint O., Remacle J. 1994. Importance of Se-glutathioneperoxidase, catalase, and Cu/Zn-*of ermanshah University Medical Sciences*, 16(1): e78874.
3. Agrawal A., Pandey R.S., Sharma B. 2010. Waterpollution with special reference to pesticide contamination in India. *Journal of Water Resource and Protection*, 2(5): 432-448.
4. Altuntas I., Kilinc I., Orhan H., Demirel R., Koylu H., Delibas N. 2004. The effects of diazinon on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in erythrocytes in vitro. *Human and Experimental Toxicology*, 23(1): 9-13.
5. Baş O., Çankaya, S., Enginyurt Ö., Aslan A., Uydu, H.A., Odaci, E., Yılmaz A., Demir A., Gul T. 2019. The Effect of Acute Organophosphate Intoxication on Female Rat Hippocampus Cornu Ammonis Region Pyramidal Neuron Numbers, Biochemistry and Morphology. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 100: 101652.
6. Bonilla E., Hernández F., Cortés L., Mendoza M., Mejía J., Carrillo E., Casas E., Betancourt M. 2008. Effects of the insecticides malathion and diazinon on the early oogenesis in mice in vitro. *Journal of Environmental Toxicology*, 23(2): 240-245
7. Contreras H., Badilla J., Bustos-Obregón E. 1999. Morphofunctional disturbances of human sperm after incubation with organophosphate pesticides. *Biocell*, 23(2): 135-141.
8. Fadakar Masouleh F., Farahmand H., Mirvaghefi A., Nematollahi M.A. 2011, A Study on Toxic Effects of Diazinon on the Caspian Kutum (*Rutilus frisii* Kutum) testis using in Vitro tissue culture. *Fisheries*, 64(2): 121-128
9. Fattahy E., parivar K., jorsaraei S.G.A., Moghadamnia A.A. 2009. The effect of diazinon on testosterone FSH and LH Levels and testicular tissue in mice. *Reproductive BioMedicine*, 7(2): 59-64.



27. Rastgar Gharahshiran S., Torabzadeh P., Saffari S. 2017. The effects of diazinon on the development of Balb/C mice embryos in 3th to 6th days of pregnancy. *Journal of Animal Biology*, 9(2): 27-36.
28. Salehi M., Jafari M., Asgari A.R., Saleh Moghadam M., Salimian M., Abasnejad M., and et al. 2010, The effect of diazinon on antioxidant enzymes and lipid peroxidation in rat brain. *Medical sciences*, 17(70): 15-23.
29. Saraei F., Sadoughi M., Kaka G., Sadraie S.H., 2016. Foaddodini M. Study of the Effects of Diazinon on Fetal Liver in BALB/c Mice. *Iranian Red Crescent Medical Journal*, 18(4): e28076.
30. Shokrzadeh M., Hosseini Payam S.S., Zargari M., Abasi A., Abedian S., Layali I. 2012 . The protective effect of vitamin A, C, and E on the superoxide dismutase enzyme activity in rat erythrocytes exposed to diazinon. *Mazandaran University of Medical Sciences*, 21(1): 30-38.
31. Timchalk C., Busby A., Campbell J.A., Needham L.L., Barr D.B. 2007. Comparative pharmacokinetics of the organophosphorus insecticide chlorpyrifos and its major metabolites in the rat. *Toxicology*, 237(1): 145-157.
32. Yehiaa M.A.H., Bannab S.G.E., Okabb A.B. 2007. Diazinon toxicity effects histophysiological and biochemical parameters in rabbits. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 59(3,4): 215-225.
33. Zhang H., Sultatos L.G. 1991. Biotransformation of the organophosphorus insecticides parathion and methyl parathion in male and female rat livers perfused in situ. *Drug Metabolism and Disposition*, 19(2): 473-477.
- SOD for cell survival against oxidative stress. *Free Radical Biology and Medicine*, 17(3): 235-248.
20. Moghimi A., Mahdavi shahri N., Hagh peyma Z., Haghnezhad A. 2009. Effect of prenatal stress on the postnatal emotional and exploratory behaviors and hippocampal morphology of wistar rats. *Journal of North Khorasan University of Medical Sciences*, 1(2- 3): 9-16
21. Mohammadi M., Ghasemi A., Ghani E., Khoshbaten A., Asgari A. 2009. Effect of paraoxon on the synaptosomal GABA uptake in rat hippocampus and cerebral cortex. *Physiology and Pharmacology*, 13(2): 130-138
22. Nordberg J., Arner E.S. 2001. Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free Radical Biology and Medicine*, 31(11): 1287-1312.
23. Ogutcu A., Uzunhisarcikli M., Kalender S., Durak D., Bayrakdar F., Kalender Y. 2006. The effects of organophosphate insecticide diazinon on malondialdehyde levels and myocardial cells in rat heart tissue and protective role of vitamin E. *Pesticide, Biochemistry and Physiology*, 86(2): 93-98.
24. Parivar K., Shakouri A., Fadaei M. 2002. Check methoxsalen effect on the growth of liver and kidney abnormalities of fetal mice on days 7, 8 and 9 of pregnancy. *Anatomical Sciences Journal*, 1(1):41.
25. Parvari S., Mahdizadeh M., Nobakht M., Farjah G., Parivar K. 2003. Teratogenic effects of copper chloride on fetal brain cortex of mice. *Journal of Urmia University of Medical Sciences*, 14(2): 9-15.
26. Peter P, Cherian A.2000.Organic insecticides. *Anaesthesia and Intensive Care*, 28(1):11.