

Study of clinical signs and blood parameters in male albino mice exposed to toxic doses of the Insecticide cypermethrin

دراسة بعض العلامات السريرية والصورة الدموية في الفئران البيض المعرضة لجرع سمية من السايبرمثرين

م.م. شيماء محمد علي رسول

د. منى تركي الموسوي

د. اسعد خلف طلال

جامعة بغداد / كلية الطب البيطري

الخلاصة

تضمنت الدراسة الحالية تسليط الضوء على العلامات السريرية والصورة الدموية لجرع سمية مختلفة للمبيد الحشري السايبرمثرين على 60 من ذكور الفئران البيضاء السويسرية والمقسمة الى ثلاثة مجاميع متساوية , المجموعة الاولى : مجموعة السيطرة التي غطست بالماء المقطر . المجموعة الثانية : غطست بمبيد السايبرمثرين بتركيز 1.6 مل / لتر . والمجموعة الثالثة : غطست بمبيد السايبرمثرين بتركيز 1.8 مل / لتر . عرضت الحيوانات يوميا ولمدة 8 اسابيع وباعتماد عدد من المعايير (العلامات السريرية ووزن الجسم ووزن الاعضاء الداخلية والفحوصات الدموية) . لوحظ على حيوانات المجموعتين الثانية والثالثة ظهور عدد من العلامات تمثلت بفقدان الشهية والخمول والوقوف في احد جوانب القفص وحك الانف والوجه باليدين و عدم الاستجابة للتحفيز الخارجي وزيادة افراز اللعاب و الارتجاف و شلل الاطراف والاسهال . اذ ازدادت الاعراض حدة مع ازدياد تركيز الجرعة ومدة التعرض في حين لم تظهر مجموعة السيطرة أي اعراض سريرية , كما واطهرت المجموعة الثانية انخفاض معنوي عند مستوى ($p \leq 0.05$) في معدل وزن الجسم اذ ظهر الانخفاض بعد مرور اسبوعين واستمر الى نهاية مدة التعرض , في حين ظهر الانخفاض في الوزن في المجموعة الثالثة في الاسبوع الاول من التعرض . كان الارتفاع معنويا في معدل وزن الكبد في المجموعتين المعرضتين بالسايبرمثرين . ولكن المجموعة الثالثة الجرعة بجرعة 1.8 مل / لتر , سجلت اعلى المعدلات مقارنة بمعدل وزن الكبد في حيوانات المجموعة الثانية والسيطرة . اما معدل وزن الطحال فقد اظهر انخفاضا معنويا في المجموعتين المعرضتين للمبيد مقارنة مع مجموعة السيطرة , واطهر معدل اوزان العقد اللمفية ارتفاعا معنويا عند مستوى ($p \geq 0.05$) وخلال التعرض للجرعتين مقارنة مع مجموعة السيطرة . اما العدد الكلي لخلايا الدم البيض , فوجد حصول انخفاض معنوي عند مستوى ($p \leq 0.05$) في المجموعتين المعالجتين بالمبيد مقارنة بحيوانات السيطرة , كما وبينت نتائج هذا البحث حصول انخفاض في معدل التعداد التفرقي لخلايا الدم البيض في الفئران المعاملة , وقد ازداد معدل الانخفاض في اعداد الخلايا التفرقي في المجموعة الثانية تلتها المجموعة الثالثة , مقارنة مع معدل اعداد الخلايا التفرقي في حيوانات السيطرة وتباين الانخفاض في اعداد الخلايا اللمفية والعدلة والوحيدة والحمضة باختلاف جرعة المبيد .

Abstract

This study has shed light on clinical signs and blood picture to different toxic concentration of insecticide cypermethrin on 60 male albino mice which divided into three equal groups. First group (control group) dipping in distal water, second group: dipping form of cypermethrin concentration 1.6 ml / litter . while the third group : dipping from cypermethrin concentration 1.8 ml /litter , these animals were exposed for 8 weeks and various parameters were utilized in evaluating the effects of the insecticide (clinical signs , body weight , weight of internal organs and blood picture) . The animals of second and third group Showed different clinical signs included: loss of appetite, sedation, standing still on corner of the cage, rubbing its nose and face with both hands no response to external stimulants, increased salivation, shivering, paralysis of limbs and diarrhea. These signs increased with the increasing doses and time of exposure, while the control group didn't show any clinical signs. Second group showed significant decrease at $p \leq 0.05$ in body weight of exposure till the end of experiment. While the decrease in the body weight appeared at first week of exposure for the third group. There was significant increase in

mean liver weight of both treated groups but the third group record higher means in comparison with the second and the control group. Average weight of spleen showed significant decrease in both treatment groups in comparison with the control one. The average weight of lymph nodes showed significant increase at ($p \leq 0.05$) when animals were dipped with cypermethrin concentration at 1.6, 1.8 ml/litter in comparison with the control. The white blood cells count WBCs, showed significant decrease at ($p \leq 0.05$) of both treatment when compared with the control group while the decrease in differential WBC in treatment group, while the decrease was more in third group than second one in comparison with control group. The decrease was variable in count of neutrophils, monocytes, eosinophils according dose of insecticide.

المقدمة

تعد الطفيليات الخارجية من المشاكل التي تواجه الثروة الحيوانية وتطورها نتيجة لتثبيط النمو وانخفاض انتاجها واحتمالية كونها واسطة لانتقال بعض الامراض الخطرة الى الحيوان (1). لذا فان السيطرة على الطفيليات والحد من انتشارها قد فسح المجال امام شركات الصناعات الكيماوية لانتاج انواع مختلفة من المبيدات مما يحتم على جهات البحث العلمي بيان التأثيرات الجانبية لتلك المبيدات من حيث سميتها للحيوان والانسان والبيئة. ينتمي مبيد السايبرمثرين الى مجموعة البارثرويد والذي يوجد بصورة طبيعية في زهرة الاقحوان (*Chrysanthemum Cinerariae*) بنسبة 0.1-2%. واستعملت مجموعة الـ Pyrethroid بشكل واسع في الاونة الاخيرة وقد اوضحت منظمة الصحة العالمية ان لمبيد السايبرمثرين تأثير سمي وراثي على الكائنات المتعرضة له وتتباين شدة التأثير باختلاف تركيز المبيد وفترة التعرض له، وهو يعد الاكثر فعالية واستعمالا من بين المبيدات التي تستعمل للقضاء على الطفيليات الخارجية لحيوانات المزرعة من اغنام وابقار (2)، كما يستخدم بطريقة الرش لبعض اشجار الفواكه كأشجار الجوز والتفاح، ولبعض المحاصيل كالقطن والحنطة والذرة والخضروات، لحمايتها من الحشرات المتطفلة عليها (3)، فضلا عن استعماله لدى انشاء المنازل والابنية حيث يوضع في اسس البناء او حول الجدران للقضاء على الصراصير *Cockroaches* والعناكب *Spider* والنمل الابيض *Termite* والقضاء على ذباب المنزل *Housflies* صنع مبيد السايبرمثرين لأول مرة سنة 1974 وسوق تجاريا سنة 1977 (4). وجد في العديد من الابحاث ان لهذا المبيد مردودا عكسيا باختلاف الهدف المراد القضاء عليه كالفقرات وغير الفقرات (5). حيث اوضحت الدراسات ان تلوث الماء بنسبة قليلة جدا من السايبرمثرين كان مردودا واضحا في احداث تغيرات بايوكيميائية في DNA و RNA، وانزيم ATP ase في عضلات الجسم والكبد والجهاز العصبي للأسماك (6). تعد الاسماك بشكل عام اكثر تأثرا تجاه هذا المبيد من اللبائن والطيور وذلك لعدم قابليتها على تكسير مادة البرثايرود لافتقارها للانزيمات الخاصة بذلك كإنزيم الاستريز (7). اما في الطيور فقد لاحظ (8) ان السايبرمثرين ذو تأثير اقل وطأة في الطيور البالغة مما عليه لدى الافراخ الصغيرة. كما وجد (9) ان حقن بيوض الدجاج بمبيد السايبرمثرين يسبب نسبة كبيرة من التشوهات الخلقية لدى الافراخ الفاقسة. تشير الدراسات ان المبيد السايبرمثرين له اعراض سمية على الانسان فيما لو تعرض له، حيث اوضح (10) ان بعض العاملين في رش مبيد السايبرمثرين والذين تعرضوا له جلديا كانت قد ظهرت لديهم الاعراض التالية: حرقة في الجلد والوجه وخز ودوار وصداع وفقدان شهية وغثيان وانهاك وفي حالة التعرض الشديد للمبيد ادى الى فقدان السيطرة على المثانة، وارتعاش وغيبوبة، وفي دراسة اخرى على 23 عاملا بهذا المبيد ي عمل بعضهم في الحقل والبعض الاخر في المختبر كانت قد لوحظت على وجوههم بعض حالات الطفح والوخز الجلدي، لذلك تهدف هذه الدراسة الى تحديد سمية المبيد بالجرع المستخدمة كمحلول تغطيس للحيوانات المختبرية (الفئران البيض).

المواد وطرائق العمل

أولا- المواد

1. مبيد السايبرمثرين شركة مدماك الاردنية.
2. أنجز البحث في مختبرات مركز بحوث السوق وحماية المستهلك - جامعة بغداد للفترة من شهر شباط الى نيسان 2011.
- 3- محلول Turk's Solution
استخدم هذا المحلول لغرض عد كريات الدم البيض.
- 4- صبغة لشممان Leishman's Stain
استخدمت هذه الصبغة لصبغ المسحة الدموية لغرض العد التفريقي لكريات الدم البيض و أستحصل عليها من معهد المصول واللقاحات.

ثانيا - طرائق العمل :

1- الحيوانات المختبرية :

بعد اختيار (60) من ذكور الفئران البيضاء السويسرية بعمر ستة اسابيع ومعدل وزن 20-25 غم , قسمت إلى ثلاثة مجاميع متساوية بواقع 20 حيوان لكل مجموعة:

المجموعة الأولى: مجموعة السيطرة تم تغطيسها بالماء المقطر .

المجموعة الثانية: مجموعة التعرض للمبيد بتركيز (1.2 مل/ لتر) .

المجموعة الثالثة: مجموعة التعرض للمبيد بتركيز (1.8 مل/ لتر) .

تم تغطيس الحيوانات كل 48 ساعة لمدة 60 يوم حسب (3) .

3- طرائق جمع الدم (Methods of blood collection)

جمع الدم من الحيوان بطريقة (11) أذ جمعت من القلب عند نهاية التجربة وأدى ذلك إلى قتل الحيوان

4- الصفات المدروسة :

1. التغيرات السلوكية

سجلت التغيرات السلوكية في الحيوان كالحركة والقابلية على تناول الطعام وشرب المياه وبعض الأعراض المرضية الأخرى للتسمم بالمبيد مقارنة مع حيوانات مجموعة السيطرة.

2. التغيرات في الوزن العام للجسم

ووزنت الفئران المعاملة بالمبيد أسبوعياً بواسطة الميزان الحساس وقورنت أوزانها مع أوزان حيوانات مجموعة السيطرة.

3. وزن بعض الأعضاء الداخلية

فتح التجويف أليطني لاستئصال الكبد والطحال والعقد اللمفية بعدها جففت بوساطة ورق ترشيع ووزنت بوساطة الميزان الحساس وسجل الوزن.

4. الاختبارات الدموية Haematological tests

أ- العد الكلي لكريات الدم البيض White Blood Cells Count

حسبت العد الكلي لكريات الدم البيض حسب (12) .

ب- العد التفرقي لكريات الدم البيض Differential White Blood Cell Count

وتتم بعمل مسحات الدم على شرائح زجاجية وبعدها تركت لتجف في الهواء وثبتت المسحة بمادة الكحول الميثيلي (Methyl alcohol) لمدة دقيقة واحدة ثم صبغت بصيغة 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 ووضع تحت المجهر بقوة تكبير العدسة الزيتية بعد وضع قطرات الزيت على الشريحة المحضرة للقراءة ، قرأت (100) خلية حسب أنواعها وبعدها حسب النسبة المئوية للعد التفرقي لجميع خلايا الدم البيض ، وحسبت عدد خلايا الدم البيض حسب المعادلة(13).

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

5- التحليل الإحصائي:

حللت البيانات باستخدام التصميم العشوائي الكامل (Complete Randomized design) باستخدام البرنامج

الإحصائي الجاهز (14) في تحليل البيانات واختبرت الفروقات بين المعاملات باستخدام اختبار Duncan .

النتائج والمناقشة

التغيرات السلوكية

أظهرت نتائج الدراسة الحالية أن التعرض لمبيد السايبرمثرين سبب ظهور تغيرات سلوكية ترافقت 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 التغيرات السلوكية على الحيوانات المعرضة للمبيد ، فضلاً عن قلة الشهية وانخفاض 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. تتفق معظم هذه الأعراض والتغيرات السلوكية مع نتائج العديد من الدراسات فالحمول وقلة النشاط والحركة التي ظهرت على الحيوانات تتفق مع ما جاء في دراسة (16) أما فقدان الشهية وانخفاض معدل استهلاك الغذاء وحدوث الإسهال فتتفق مع دراسة (17) حول تأثير السايبرمثرين في الجرذان ، كما تتفق مع دراسة (18) حول تأثير السايبرمثرين في الأرانب البيضاء ، أما حدوث التقلصات العضلية والاختلاجات التي نتجت عن التعرض إلى التركيز 1.8 مل / لتر من وزن الجسم فقد كانت متفقة مع دراسة (6).

تعزى التغيرات السلوكية والأعراض السابقة الذكر التي لوحظت على الفئران إلى التأثير السمي للمبيد المثبط لأنزيم Acetyl cholinesterase الذي ينجم عنه فرط التحفيز في الجهاز العصبي المحيطي اللاإرادي فضلاً عن تأثيره

في الجهاز العصبي المحيطي الإرادي (19) 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 فقدان الشهية وانخفاض في معدل استهلاك الغذاء وزيادة عدد مرات الإسهال (5). وأظهرت الحيوانات المعاملة بالمبيد ، في الفترة الأخيرة من مدة التعرض عدم القدرة على الوقوف ، تلاها بعض علامات الشلل للاطراف الخلفية.

تشابه ظهور هذه الأعراض مع أعراض التأثيرات السمية العصبية الأجلة للمبيدات الفسفورية العضوية Delayed organophosphorous neuropathy التي أشار إليها العديد من الباحثين في عدد من المبيدات الفسفورية العضوية والكارباماتية والتي تعرف بالاعتلال العصبي الأجل الناتج عن التعرض للمبيدات الفسفورية العضوية Organophosphate induced delayed polyneuropathy (OPIDP) والتي تتميز بحصول تنكس Degeneration في محاور أعصاب الحبل الشوكي والأعصاب المحيطة الناجمة عن فعل المبيد الفسفوري العضوي المثبط لأنزيم Neuropathy target esterase (NTE) (20). فقد أكدت دراسة (21) إلى أن الجرعة التي سببت تثبيط AChE Acetyl cholinesterase فوق الجرعة المثبطة للأنزيم NTE بمئة مرة ، يمكن ان تتطور 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 .

التغيرات في الوزن العام للجسم

أظهرت نتائج التحليل الإحصائي حصول انخفاض تدريجي في معدل الوزن العام للجسم في الحيوانات المعاملة بالمبيد خلال فترة التعرض التي استمرت 60 يوماً.

تتفق هذه النتائج تتفق مع ما أشارت إليه وكالة حماية البيئة (22) عام 2000 في التأثير المزمن لمبيد السايبرمثرين في الفئران والجرذان بإحداث انخفاض في معدل الوزن العام للجسم. يعزى هذا الاختلاف في شدة تأثير المبيد في معدل وزن الجسم العام لحيوانات المجموعتين المعاملتين بالمبيد يعزى الى الاختلاف في تركيز المبيد المستخدم في تغطيس الحيوانات ، بعد ثبات عامل العمر وطريقة المعاملة وهذا يتفق مع دراسة (23) 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 (24) في انخفاض معدل الوزن العام للجسم في الفئران المعرضة لمبيد Dichlorvos (مبيد فسفوري عضوي) عن طريق مياه الشرب . وقد يكون تغيرات التنكسية والتخرية التي عانت منها أنسجة الأعضاء الفارزة للأنزيمات الهاضمة والعصارة الصفراء السبب الذي أدى الى قلة إفرازها وهذا يتفق مع دراسة (24) 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 وتغلط 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 بالسايبرمثرين إلى زيادة نسبة السكر بالدم Hyperglycemia ، إذ بعد حقن الجرذان بالسايبرمثرين بتركيز 40 ملغم/كغم من وزن الجسم لوحظ زيادة في فعالية الأنزيمات المحفزة لتحويل الكلايوجين إلى كلوكوز كأنزيم Glycogen phosphorylase والأنزيم Phosphoglucumutase في أنسجة الكبد والدماغ ، كما لوحظ زيادة في فعالية الأنزيمات المحفزة لتكوين الكلوكون من مصادر غير كربوهيدراتية Gluconeogenic enzymes في الكبد كأنزيم Fructose 1,6-diphosphatase وأنزيم Phosphoenolpyruvate carboxykinase ، إن الإصابة بزيادة نسبة السكر بالدم Hyperglycemia تؤدي إلى عدم الاستفادة من سكر الكلوكون ومن ثم طرحه خارج الجسم مما يؤدي إلى انخفاض وزن الجسم العام (26). يضاف إلى ذلك احتمالية حصول التأثير المثبط للامتصاص في المعى الدقيق بسبب تحطم الزغابات المبطن له بتأثير المبيد مما يعيق الامتصاص (27). وقد يكون نقص الوزن العام للجسم ناجماً عن تنكس وضمور العضلات الهيكلية للجسم وذلك بسبب تأثير المبيد في الأنزيم ATPase Adenosintriphosphatase مؤدياً لضمور الألياف العضلية والعصبية إذ أشارت (24) إلى تأثير المعاملة بالسايبرمثرين 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 في نمو العظام ، إذ أشارت دراسة (28) إلى أن لمبيد سومسدين تأثيراً في عمليات صنع كلايوجين العظام ونموها ، ومن ثم قلة نمو العظام مؤدياً لانخفاض 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 الحيوانات المعرضة للمبيد ، إذ لوحظ حصول ارتفاع في معدل أوزان الكبد. تتفق نتائج هذه الدراسة مع ما أشارت إليه دراسة (29) بخصوص زيادة وزن الكبد في الجرذان المعاملة بمبيد السايبرمثرين 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،

ظهر هذا التغير بعد التعرض الطويل الأمد، وهذا ما أكدته (24)، 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 (17) 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 كإنزيم Glycogen phosphorylase وأنزيم Phosphoglucosomutase وأنزيم Hexokinase وهذا ما لوحظ أثر تعرض الجرذان إلى المبيد السايبرمثرين بالحقن في غشاء البريتون بتركيز 40 ملغم/كغم من وزن الجسم، إذ أن زيادة استمرار التوصيل العصبي بعد تراكم المادة الأساس Acetylcholine نتيجة تثبيط الأنزيم AChE أدى إلى استمرار إفراز الأنزيمات للحصول على الطاقة من مصادرها الداخلية (الكلايوجين) لصالح الفعاليات التحفيزية للمبيد ومن ثم حصول زيادة في معدل وزن الكبد. يتفق الانخفاض الذي لوحظ في معدل اوزان الطحال في هذه الدراسة مع نتائج العديد من الدراسات منها دراسة (30) حيث بينت أن التعرض للمبيد الحشري الفسفوري العضوي دايثوثويت Dimethoate يسبب انخفاضاً في معدل وزن الطحال في الفئران والجرذان، يترافق مع انخفاض معدل أعداد الخلايا اللمفاوية بنسبة 50% عن معدلاتها في الحيوانات الطبيعية، عزيت هذه النتائج إلى تأثير المبيد في زيادة هرمونات Glucocorticoids، التي تقوم بتثبيط إطلاق الوسائط الخولية Cytokines المهمة في التفاعلات المناعية (31)، وهذا ما أكدته دراسة (32) حصول انخفاض في معدل وزن الطحال والغدة الزعترية Thymus gland 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 اللمفاوية التائية T-Lymphocyte والخلايا اللمفاوية البائية B-Lymphocyte وخلايا البلعم الكبير مقارنة مع مجموعة السيطرة وتعد جميع هذه الخلايا 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 (33) في زيادة معدل أوزان العقد اللمفية عند تغذية الفئران على غذاء ملوث بمبيد السايبرمثرين بتركيز 300 ملغم/كغم، إذ فسر النتائج على أساس حصول نمو وتكاثر لخلايا القشرة Cortex واللب 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 (34) إلى تأثير المبيد 2-isopropoxyphenyl methylcarbamate (Uden) (مبيد كارباماتي له أثر عصبي مشابه لتأثير المبيد الفسفوري) في الفئران بعد 10 و60 يوم من التعرض، إذ لوحظ حصول زيادة في عدد الخلايا اللمفاوية 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 $P \leq 0.05$ في العدد الكلي لخلايا الدم البيض في ذكور الفئران البيض المعاملة بالمبيد بعد 60 يوماً من التعرض للتركيز 1.6 و 1.8 مل/لتر كما موضحة في الجدول (4) وتناسب الانخفاض طردياً مع زيادة تركيز الجرعة. تشمل التأثيرات السمية الخولية 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، فقد أشار (35) إلى التأثير السمي للمركب tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) في الفئران المعرضة له، إذ سبب تثبيطاً في تمايز Differentiation خلايا نقي العظم Hematopoetic stem cells والخلايا B-Lymphocyte اللمفية البائية، كما لاحظ (36) التأثير التثبيطي لعدد من مبيدات الادغال لإنتاج الوسيط الخولي Interlukin-5 الذي يلعب دوراً هاماً في تمايز خلايا نقي العظم وقد يعزى الانخفاض في أعداد خلايا الدم البيض إلى التأثيرات السمية الخولية التي تسببها المبيدات في خلايا نسيج الأعضاء المنتجة للدم كالطحال والكبد، أو نتيجة لحصول تفاعلات التهابية في الكبد نتيجة التعرض المزمن للمبيد وحصول ارتشاح أعداد كبيرة من خلايا الدم البيض في مناطق الأذى ومن ثم انخفاض أعدادها في مجرى الدم وهذا ما لوحظ في دراسة (37) إذ تم تعريض الأرانب إلى المبيد الكلوري Chlordane لوحظ حصول ترشح التهابي لخلايا الدم البيض في الكبد بعد حصول تغيرات تنكسية وتخرية للعضو، كما 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 (38). 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 1.2 و 1.8 مل/لتر من وزن الجسم ولمدة 60 يوم من التعرض، الجدول (4) وقد ازداد معدل الانخفاض في أعداد الخلايا التفريقي في مجموعة 1.8 مل/لتر تلتها المجموعة 1.2 مل/لتر للمبيد، مقارنة مع معدل أعداد الخلايا التفريقي في حيوانات السيطرة. قد يعزى الانخفاض إلى التأثير السمي للمبيد في نقي العظم أو في خلايا الدم مباشرة والإخلال بوظائفها أو التأثير في الأعضاء المنتجة للدم مثل الكبد والطحال، إذ تراقف 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 عيارية خلايا النظام المناعي بزيادة أعداد الخلايا البلعمية وتحفيز الخلايا اللمفية البائية لإنتاج الأضداد (36). 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 Interlukin-8 من الخلايا المناعية في النسيج المحيطة أثر التعرض المزمن للمبيد، إذ يتوسط Interlukin-8 عملية جذب الخلايا العدلة إلى موقع التحفيز لأداء وظيفتها، وهذا ما لوحظ في دراسة (38) إذ سبب المبيد Heptachlor والمبيد Chlordane والمبيد Toxaphene تثبيط إنتاج Interlukin-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 الانسجة اللمفاوية المحيطة مثل الطحال وتثبيطها لإطلاق عدد من الوسائط الخلوية مثل Alpha interferon TNF- α و Interlukin-1 و Gamma interferon TNF- γ التي تعد مهمة لجذب الخلايا من نقي العظم إلى مجرى الدم، فقد أشارت دراسة (39) إلى تأثير بعض مبيدات الادغال 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 (40) حصول انخفاض في نسبة IFN- γ في المختبر *in vitro* عند تعرض الجسم إلى لمبيد الادغال 3، 4، dichloropropionaniline (Propanil)، وأظهرت دراسة (39) التأثير السمي للمبيد الحشري الفسفوري العضوي Fenitrothion ومبيد الادغال الفسفوري العضوي Glyphosate في فعالية إطلاق الوسائط الخلوية IFN- γ و TNF- α و Interlukin-1، إذ سبب المبيد Glyphosate تثبيط إنتاج TNF- α و Interlukin-1 β وتثبيط قدرة الخلايا اللمفية T- Lymphocyte على إنتاجها، بينما سبب المبيد Fenitrothion تثبيط إنتاج IFN- γ ، إن تثبيط إطلاق هذه الوسائط الخلوية يعني انخفاضاً في آلية جذب خلايا الوحيدة النواة إلى موقع التحفيز ومن ثم انخفاض أعدادها في مجرى الدم. أما الخلايا الحمضة Eosinophils فقد أظهرت انخفاضاً في معدلات أعدادها، والمعروف أن الخلايا الحمضة تلعب دوراً هاماً في الاستجابة للمواد المسببة للحساسية كما تتجمع عند مواقع الالتهاب، ربما ويعزى هذا الانخفاض إلى التأثير التثبيطي للمبيد لإطلاق احد الوسائط الخلوية Interlukin-5 الذي يحفز زيادة عدد الخلايا الحمضة في مجرى الدم، وهذا وقد أشارت دراسة (36) إلى التأثير التثبيطي لبعض مبيدات الادغال لإطلاق الوسائط الخلوية منها Interlukin-5، ومن ثم تأثيرها في هجرة الخلايا الحمضة إلى مجرى الدم.

جدول (1): التغيرات السلوكية في ذكور الفئران البيض المعاملة بتركيزات مختلفة من مبيد السابيرمثرين.

التغيرات السلوكية	سرعة حرك الأنف والوجه	الخمول	عدم الاستجابة للتحفيز الخارجي	إفراز اللعاب	فقدان الشهية	الإسهال	الارتجاج	شلل الأطراف	المجموع
									مل /لتر 1.2
	**	**	*	**	**	**	*	*	مل /لتر 1.2
	**	**	*	**	**	****	**	**	مل /لتر 1.8

* سلوك بين. ** سلوك أكثر وضوحاً. *** سلوك شديد. **** سلوك أكثر شدة

جدول (2): التغيرات في الوزن العام للجسم (بالغرام) في ذكور الفئران البيض أثر التعرض لمبيد السايبرمثرين.

الاسبوع	الاسبوع	الاسبوع	الاسبوع	الاسبوع	الاسبوع	الاسبوع	الاسبوع	فترات التعرض
8	7	6	5	4	3	2	1	المجموع
a 0.33 ± 31.79	a 0.42 ± 30.37	a 0.42 ± 28.78	a 0.36 ± 26.98	a 0.61 ± 25.76	a 0.61 ± 23.90	a 0.50 ± 22.25	a 0.51 ± 21.03	السيطرة
b 1.37 ± 25.12	b 1.10 ± 24.14	b 0.81 ± 23.15	b 0.78 ± 22.20	b 0.75 ± 21.62	b 0.76 ± 21.12	b 0.72 ± 21.05	b 0.62 ± 21.66	1.2 مل / لتر
c 1.19 ± 25.16	c 1.09 ± 23.73	c 1.05 ± 22.48	c 1.05 ± 21.19	c 1.04 ± 20.24	c 0.93 ± 19.46	b 1.23 ± 20.17	b 0.74 ± 20.88	1.8 مل / لتر

القيم تمثل المعدل ± الانحراف القياسي .
الأحرف المختلفة ضمن السطر الواحد تشير إلى وجود فروقات معنوية على مستوى (p ≤ 0.05)

جدول (3): التغيرات الوزنية لأعضاء الكبد والطحال والعقد اللمفية في الفئران البيض أثر التعرض لمبيد السايبرمثرين.

العقد اللمفية (ملغم)	الطحال (غم)	الكبد (غم)	وزن العضو
نهاية التجربة	نهاية التجربة	نهاية التجربة	المجموع
a 0.636±6.946	a 0.009±0.157	a 0.105±1.816	السيطرة
b 0.466±8.706	b 0.010±0.098	b 0.151±2.040	1.2 مل / لتر
c 0.894±14.360	c 0.012±0.090	b 0.3110±2.212	1.8 مل / لتر

القيم تمثل المعدل ± الانحراف القياسي .
الأحرف المختلفة ضمن العمود الواحد تشير إلى وجود فروقات معنوية على مستوى (p ≤ 0.05)

جدول (4): تأثير التراكيز المختلفة لمبيد السايبرمثرين في العدد الكلي لخلايا الدم البيض والعد التفرقي لها في ذكور الفئران البيض بعد نهاية التجربة.

العدد الكلي لخلايا الدم البيض والعد التفرقي لها × 10 ³					المجموع
الحمضة %	الوحيدة %	العدلة %	المفاوية %	العدد الكلي × 10 ³ ملم	
a 0.010±0.16	a 0.014±0.37	a 0.05±2.68	a 0.10±4.65	a 0.16±7.54	السيطرة
b 0.008±0.13	b 0.011±0.27	b 0.04±2.30	b 0.05±3.36	b 0.10±5.75	1.2 مل / لتر
b 0.005±0.13	b 0.014±0.26	b 0.05±2.21	b 0.07±3.26	b 0.13±5.54	1.8 مل / لتر

القيم تمثل المعدل ± الانحراف القياسي .
الأحرف المختلفة ضمن العمود الواحد تشير إلى وجود فروقات معنوية على مستوى p ≤ 0.05

المصادر:

- 1-Sheets , L.P. (2000). Aconsideration of age – dependent differences in susceptibility to orgno phosphorus and pyrethroid insecticides . Neurotoxicolgy , 21 : 57- 63 .
- 2-World Health Organization (WHO) .(1992) .Alpha cypermethrin .Eniviron Mental Health Criteria , 142 : 112-116.
- 3-Khurshid, A. (2000). Cypermethrin , Apyrethroid Insecticide Induce Teratological and Biochemical changes in Yolk chick Embryos . Pakistan .Journal of Biological Sci . , 19: 1698-1705 .
- 4-Jorde, B.L.; Carey, C. and Bamshad, J.W. (2000) .Medical Genetics 2nd ed , USA. Pp: 19-22.
- 5-World Health Organization (WHO) .(1989) .Cypermethrin Environmental Health criteria 82 , Geneva, Switzerland : United nations Environment programme . International Labor organization and who.
- 6-Akhtar,M.H. ; Danis, C.; and Hartin , K.E. (1990) . Deltamethrin residues in milk and tissues of lactating dairy cows . J. Environ . Sci. Health, 1327 : 235- 2530.
- 7-Das, B.K. and Mukherjee S.C. (2003) . Toxicity of cypermethrin in biochemical , Enzymatic and hematological conseq uences . Comp. Bio. Chem. Physiol. C. Toxicol . pharmacol , 134: 109-121 .
- 8-Pascual ,J.A. and Peris S.J.(1990). Effects of forest spraying with two application rates of cypermethrin on food supply and on breeding success of the blue tit Parus caeruleus . Environ . Toxicol. Chem., 11:1271-1280.
- 9-Giri, S.A.; Sharma, G.D. and Prasad S.B. (2003) . Induction of sister chromatid exchange by cypermethrin and carbosulfan in bone marrow cell of mice in vivo . Mutagenesis. 18 :53-58.
- 10-Elbetieha, A., Daas, S.I. , Khamas , W. and Darmani H. (2001) . Evaluation of cypermethrin pesticide on some reproductive and fertility parameters in the male rats . Toxicol , 111: 522-528 .
11. Hudson ,L. & Hay, F.C. (1976). Practical immunology. J.B. Lippincott Company of Canada, Toronto: 298pp.
- 12.Schalm,O.W.Feldman,B.F.,Zinki,J.z. and Jain,n.c. (2000) Veterinary Hematology .3rd ed. Philadelphia ;Lea and Febiger.pp: 16-48
13. Haen, P.J. (1995). Principles of hematology. WM.C. Brown Communications, United States of America. Pp:111-151 .
14. S.A.S. Institute, (2001). SAS Guide For Personal Computer. Versios, edition. Sas Institute. Inc. Grag, Nc. USA.
16. Eskenazi, B. & Bradman, A. (1999). Longitudinal investigation of pesticide and allergen exposures to children living in agricultural communities in California, Exposures of children to organophosphate pesticides and their potential adverse health effects. Environ. Health perspect, 107:409-419.
17. Sheets,L.P.(2000) . Aconsideration of age –dependent differences in susceptibility to organo phosphorus and pyrethroids insecticides . Neurotoxicology. 21:57-63 .
18. Tai, Ch. & Katz, R. (1984). Diazinon Techn.: 21-day dermal toxicology study in rabbits. Number 842007. Unpublished report prepared by Ciba-Geigy Crop. Greensbore, NC. (Online Abstrac).
19. Tuormaa, T.E. (2003). The adverse effects of agrochemicals on reproductive health. Foresight, the association for the promotion of pre-conceptual care. (Online Abstrac).
20. Moretto, A. (2002). Organophosphorus insecticides: Toxicological issues. International programme of chemical safety.((Online Abstrac)).

21. Ehrich, M. Correll, L. & Veronesi, B. (1997). Acetylcholinesterase and neuropathy target esterase inhibitions in neuroblastoma cells to distinguish organophosphorus compounds causing acute and delayed neurotoxicity. *Fundam. Appl. Toxicol.*, 38(1):55-63.
22. Manna, S., D. Bhattacharyya, D. K. Basak and T. K. Mandal, (2004). Single oral dose toxicity study of alpha-cypermethrin in rats. *Indian J. Pharmacol.*, 36(1): 25-28..
- 23- 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.
- 24.. Amr, M.M. (1999). Pesticide monitoring and its health problems in Egypt, a third world country. *Toxicology letters*, 107:1-13.
25. 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.
26. McKee, T. & McKee, J. R. (1996). *Biochemistry an introduction*. McGraw- Hill companies. United states of America: 638 pp.
- 27- Maroni, M.; Fait, A. & Colosio, C. (1999). Risk assessment and management of occupational exposure to pesticides. *Toxicology letters*, 107:145-153.
28. القيسي ، بشرى إبراهيم مصطفى (2000) . التغيرات المرضية والخلوية الوراثية في اسماك الكارب الاعتيادي والجرذان البيض الناجمة عن تأثير السمى لمبيد السومسدين ومتبقياتاه . أطروحة دكتوراه ، كلية الطب البيطري ، جامعة بغداد : 209 صفحة.
29. Maroni, M.; Fait, A. & Colosio, C. (1999). Risk assessment and management of occupational exposure to pesticides. *Toxicology letters*, 107:145-153.
- 30- Tiefenbach, B. & Lange, P. (1980). Studies of the action of dimethoate on the immune system. *Arch. Toxicol. Suppl.*, 4: 167-170. (Abstract)
- 31-. 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: 553pp
- 32-. 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.
- 33-. Rabia ,S.K. (2009). Investigation of acute toxicity of alph- cypermethrin on adult Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) *Turkish journal of fisheries and Aquatic Sciences* , (9): 85-89 .
- 34-.Lakkawar, A.W., Chattopadhyay S.K. and R.Somvanshi,(2004). Experimental cypermethrintoxicity in rabbits. A clinical and patho-anatomical study. *Folia Veterinaria*, 48(1): 3-88.
- 35-. Oheme, W. F. and S. Mannala, (2001). Pesticide use in veterinary medicine. In: *Handbook of Pesticide Toxicology*. 2nd Ed., Academic Press, New York, USA.
36. 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. (Abstract).
37. Greulich, K. and Pflugmacher, S. (2004). Uptake and effects on detoxication enzymes of cypermethrin in embryos and tadpoles of amphibians. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 47(4): 489-495
38. Ullah, M.S. ; Ahamad, M. and Ahmad, I (2006) . Toxic effects of Cypermethrin in female Rabbits . *Pakistan Vet. J.* , 26 (4) : 193-196 .
39. 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. (Abstract).
40. Nakashima, K.; Yoshimura, T.; Mori, H.; Kawaguchi, M.; Adachi, S. Nakao, T. & Yamazaki, F. (2002). Effects of pesticides on cytokines production by human peripheral blood mononuclear cells [feritrothion and glyphosate]. *Chudoku*.pp:216-222.