IranJPP
Iranian Journal of
Physiology and Pharmacology

مجله فیزیولوژی و فارماکولوژی ایران

سال ۱۳۹۹، دوره ٤، شماره ۳ و ٤، پیاپی ١٤، صفحه ۱۶۰-۱۵۲

مقاله پژوهشی

مطالعه اثرات سرطان‌زایی و سمیت سلولی مالاتیون در موش سوری در شرایط درون تنی و برون تنی

مژگان اصغری*[۱]، گودرز صادقی هشجین[۱]، علی اکبر گلابچی فر[۱]، محمد کاظم کوهی[۱]، احد محمدنژاد[۲]، ساناز ریسمانچی[۲]، محمد طاهری[۳]

۱. گروه علوم زیستی مقایسه ای، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران
۲. مرکز تحقیقات بیولوژی سرطان، انستیتو کانسر ایران، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۳. آزمایشگاه مرکزی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران

دریافت: ۲۱ اسفند ۱۳۹۹ پذیرش: ۱۶ تیر ۱۴۰۰

چکیده

زمینه و هدف: سموم کشاورزی از خانواده ارگانوفسفره عوارض مختلفی را بر بافت‌های بدن ایجاد می‌نمایند. این مطالعه به منظور اثر مالاتیون بر هورمون‌های جنسی و اثرات سرطان‌زایی آن در تماس جلدی در موش سوری نر انجام شد.

روش‌ها: تعداد ۳۰ سر موش سوری نر بالغ به دو گروه شاهد و تیمار تقسیم شدند. در گروه تیمار مالاتیون با غلظت ۱ ppm به میزان ۱ میلی‌لیتر به مدت ۱۲ هفته روی پوست ریخته شد. در پایان دوره سطح سرمی هورمون‌های تستوسترون، لوتئینه‌کننده، و محرکه فولیکولی اندازه‌گیری و پس از کالبدگشایی از ارگان‌های مورد نظر نمونه بافتی برداشته شد. همچنین سمیت سلولی با استفاده از تست MTT و میکرونوکلئوس به صورت برون‌تنی مورد سنجش قرار گرفت و درصد IC_{50} تعیین گردید.

یافته‌ها: در گروه‌های تیمار هورمون لوتئینه‌کننده تغییر معنی‌داری نسبت به گروه کنترل نداشت ولی هورمون محرکه فولیکولی و تستوسترون کاهش معنی‌داری نشان داد. در بررسی بافت‌شناسی سمیت خفیف کبدی در گروه‌های تیمار مشاهده شد. درصد فراوانی میکرونوکلئوس‌ها در غلظت‌های ۱۰۰، ۵۰ و ۲۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و تست MTT در غلظت‌های ۱۰۰-۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر مالاتیون به طور معنی‌داری با گروه کنترل متفاوت بود ($p < ۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: تماس جلدی با مالاتیون می‌تواند اثرات مخربی بر روی هورمون‌های جنسی و همچنین بافت‌های بدن داشته باشد. با توجه به مصرف بالای این حشره‌کش در ایران، ضروری است که دقت و مراقبت بیشتری بر نحوه مصرف آن و میزان برخورد انسان با آن صورت پذیرد تا از خطرات احتمالی آن بر روی بافت‌های بدن جلوگیری شود.

واژه‌های کلیدی: تست MTT، سرطان‌زایی، مالاتیون، هورمون جنسی

مقدمه

تماس با انواع آفت‌کش‌ها به عنوان یکی از مشکلات مهم بهداشتی مطرح است. ارگانو فسفات‌ها شامل انواع زیادی از سموم دفع آفات هستند که رایج ترین آن‌ها مالاتیون است. این دسته از سموم دفع آفات با اثراتی بر عملکرد آنزیم‌های کولین استراز، کاهش ترشح انسولین، اختلال در متابولیسم سلولی طبیعی پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها و چربی‌ها و همچنین با اثرات سمیت سلولی و تأثیر بر عملکرد میتوکندری، باعث استرس اکسیداتیو سلولی و مشکلات سیستم عصبی و غدد درون‌ریز می‌شوند. این‌گونه سموم از طریق پوست، مجاری تنفسی و دستگاه گوارش جذب بدن شده و بسیار سریع به متابولیت‌های فعال تبدیل می‌شوند [۱].

انسان ممکن است از طریق آلودگی شغلی خود مانند کشاورزی، آلوده‌شدن مواد غذایی و یا محیطی که در آن زندگی می‌کند در معرض این گونه سموم قرار گیرد. بعضی از افراد

* نویسنده مسئول مکاتبات: dr.mozhgan_asghari@yahoo.com (ORCID ID: 0000-0002-7918-2198)

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-17]

به‌خصوص کسانی که در محیط کشاورزی زندگی می‌کنند در معرض دوز بالایی از ارگانوفسفره‌ها، اندوتوکسین و آلرژن‌ها در مقایسه با افراد دیگر قرار دارند. لذا ترکیبی از اینگونه مواد، از عوامل ابتلا به انواع بیماری‌ها و زمینه‌ساز سرطان و اختلالات تولید مثلی و غیره می‌باشد. از عوارض مهم ارگانوفسفره ها اثر آن‌ها بر روی هورمون‌های جنسی است. ارگانوفسفره‌ها می‌توانند با تاثیر بر روی سیستم غدد درون‌ریز بدن، باعث کاهش ترشح بعضی از هورمون‌ها شوند [۲].

باید در نظر داشت که تاثیر این دسته از سموم به میزان دوز و مدت زمان تماس بستگی دارد و استفاده مستمر از آن‌ها در زارع و منازل، می‌تواند سیستم تولید مثل انسان و یا جانوران را در معرض خطر قرار دهد. علیرغم انجام پژوهش‌های فراوان در خصوص ارتباط احتمالی بین آفت‌کش‌های ارگانوفسفره و افزایش خطر سرطان‌زایی و اختلالات تولید مثلی، مطالعات انجام شده با نتایج ضد و نقیضی همراه بوده‌اند. براساس پژوهش‌های انجام شده شواهد محدودی درخصوص سرطان زایی مالاتیون در انسان وجود دارد [۳] و تحقیقات قاطع و جامعی در این رابطه صورت نگرفته است هدف از مطالعه حاضر بررسی اثرات سمی ارگانوفسفات منتخب (مالاتیون) بر سلول‌های فیبروبلاست، اندام کبد و سطح هورمون‌های جنسی از جمله تستوسترون در موش‌های سوری نر بود.

مواد و روش‌ها

این مطالعه تجربی بر روی ۳۰ سر موش سوری سفید نر بالغ از نژاد بالب‌سی با وزن تقریبی ۳۰-۲۰ گرم و سن متوسط ۱۰ تا ۱۲ هفته از مرکز پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران تهیه و به‌طور تصادفی به دو گروه ۱۵ تایی شامل گروه کنترل و تیمار تقسیم شدند. در مطالعات درون‌تنی حیوانات شاهد در طول درمان صرفا با تجویز سرم فیزیولوژی از هر طریقی که سایر مواد تجویز شدند در معرض قرار گرفتند و در گروه مالاتیون به مدت ۱۲ هفته روزانه یکبار از طریق چکاندن ۱ میلی لیتر محلول ppm[1] مالاتیون بر روی پوست در ناحیه پشت حیوان تحت آزمایش قرار گرفتند.

تمامی موش‌ها در قفس های استاندارد و در شرایط ۲۵ درجه سانتی‌گراد و دوره روشنایی- تاریکی ۱۲ ساعته نگهداری شدند. همچنین شرایط کار با حیوانات براساس دستورالعمل موجود و مصوبه کمیته اخلاق در پژوهش دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران صورت پذیرفت (کد اخلاق ۷۵۰۶۰۲۱/۶/۱۹).

بعد از گذشت هفت روز بعد از آخرین تجویز، نمونه-برداری ازدو گروه صورت پذیرفت. برای گرفتن نمونه، موش‌ها تحت بیهوشی عمومی قرار گرفتند و از ناحیه زیر بغل آن‌ها حدود ۳ تا ۴ میلی‌لیتر خون تهیه گردید و در داخل لوله‌های آزمایشی فاقد ماده ضدانعقاد، جمع‌آوری شدند. سپس حیوانات کالبدگشایی شدند.

نمونه‌های خونی با دورrpm ۲۰۰۰ و به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند. بعد از جداسازی سرم‌های خونی، نمونه‌های حاصله در داخل میکروتیوب‌ها (هر نمونه در داخل ۶ میکروتیوب) تقسیم شده و در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. سپس پارامترهای مورد آزمایش شامل هورمون‌های تستوسترون (کیت آزمایشگاهی شرکت دیامترا، ایتالیا)، FSH[2] و LH[3] با استفاده از کیت آزمایشگاهی شرکت پیشتاز طب ایران و سپس با استفاده از روشELISA[4] نمونه‌ها و استاندارد، به چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه ای اضافه شد و پس از طی مراحل آزمایش الایزا، در طول موج۴۵۰ نانومتر، توسط دستگاه طیف‌سنج خوانده شد.

نمونه‌های بافتی نازک اخذشده به قطر ۵ میکرومتر از ارگان‌های مختلف در فرمالین ۱۰٪ پایدار بافر پایدار گردید و پس از تهیه مقاطع بافتی در مرکز تحقیقات در مرکز تحقیقات بیولوژی سرطان در انیستیتوکانسر ایران مربوط به دانشگاه علوم پزشکی تهران واقع در بیمارستان امام خمینی تهران مورد آزمون هیستوپاتولوژی قرار گرفتند.

مطالعه سمیت سلولی در شرایط برون تنی

اثر سمیت سلولی مالاتیون به‌صورت برون‌تنی با استفاده از تستMTT[5] و میکرونوکلئوس و اثر مهارکنندگی آن‌ها بر روی رده سلولی فیبروبلاست نرمال موش L۹۲۹ مورد ارزیابی قرار گرفت. همچنین تغییرات مورفولوژی رده سلولی در مجاورت مالاتیون نیز ارزیابی و ثبت گردید.

[1] Part per milion

[2] Follicle-stimulating hormone (FSH)
[3] Luteinizing hormone (LH)
[4] Enzyme-inked immunosorbent assay
[5] 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-17]

کشت سلول‌های L۹۲۹، ارزیابی مورفولوژی سلولی و آزمون MTT

ابتدا سلول های L۹۲۹ (تهیه شده از بانک‌سلولی انستیتو پاستور ایران، تهران) را در فلاسک های کشت سلولی ۲۵ سی‌سی (نانک، دانمارک)[6] در محیط پی آرام‌آی-۱۶۴۰[7] همراه با اف‌سی‌اس ۱۰٪[8]، ۲ میکرومولار ال-گلوتامین[9]، ۱۰۰ واحد پنی سیلین، ۱۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر استرپتومایسین، ۱۲/۵ میکرومولار اچ.پی.ای.اس[10] (گیپ کو، اسکاتلند[11])، و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و در ۵٪ CO_2 در انکوباتور Co_2 (اریکوکس-آلمان[12]) کشت و پاساژ دادیم تا اینکه سلول‌ها از لحاظ تعداد و مورفولوژی به حدمطلوب برسند (بعد از ۴-۳ پاساژ). پس از جداکردن سلول‌ها از سطح فلاسک توسط تریپسین_ ادیتات[13] (گیپ کو، اسکاتلند) شمارش و ارزیابی حیاتی سلول‌ها با استفاده از تست تریپان بلو[14]، انجام شد. تعداد ۵×۱۰^{۴} cell/ml را در چاهک‌های پلیت شش خانه مخصوص کشت سلولی (نانک، دانمارک) به همراه و یا بدون مالاتیون کشت دادیم. غلظت‌های مورداستفاده (۱۰، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) بود که به سلول‌های L۹۲۹ اضافه شد [۴]. تغییرات مورفولوژی و خصوصیات عمومی سلول‌ها پس از ۴۸ ساعت از نظر قابلیت اتصال به سطح پلیت و میزان گرانولیتی با استفاده از میکروسکوپ نوری معکوس(موتیک، چین[15]) مورد ارزیابی قرار گرفت و با استفاده از از دوربین دیجیتال ثبت گردید.

اثر سایتوتوکسیسیتی ترکیبات با استفاده از تست رنگ‌سنجی MTT و ارزیابی کمی پرولیفراسیون سلولی در برون‌تنی مورد سنجش قرار گرفت. درصد سلول‌های زنده با استفاده از کنترل از روش فرمول زیر محاسبه گردید.

$$\frac{OD_{\text{چاهک های تحت تاثیر دارو}} - OD_{\text{بلانک}}}{OD_{\text{کنترل}} - OD_{\text{بلانک}}} \times ۱۰۰$$

[6] Nunc, Denmark
[7] PRMI-1640
[8] 10% FCS
[9] 2 mM L-glutamine
[10] HEPES(4-(2hydroxyethyl)-1piperazineethanesulfonic acid)
[11] Gibco, Scotland
[12] Uricox Company, Germany
[13] EDTA
[14] Trypan blue exclusion test
[15] Motic, China

درنهایت، باتوجه‌به مقادیر جذب نوری به‌دست‌آمده به‌وسیله دستگاه خوانش الایزا درصد مهار رشد مربوط به هر غلظت با به کارگیری فرمول زیر محاسبه شد.

$$\text{درصد مهار رشد سلولی} = \left(\frac{\text{میانگین درصد OD برای هر گروه تیمار}}{\text{میانگین درصد OD برای گروه کنترل}}\right) \times 100$$

IC_{50} پس از رسم منحنی با بکارگیری غلظت‌های مختلف سموم و درصد سلول‌های زنده محاسبه گردید.

آزمون میکرونوکلئوس

روش بررسی در این آزمون سلول‌های دوهسته‌ای متوقف در مرحله سیتوکینز بر اساس روش پیشنهادی فنچ[16] بود که بعد از کشت سلول و اضافه‌کردن مالاتیون با غلظت‌های مختلف، پس از گذشت ۲۴ ساعت برداشت سلولی انجام شد. بدین منظور پس از جداکردن سلول‌ها با تریپسین ۲۵٪ و سانتریفیوژ به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۱۰۰۰ rpm، فیکساتور (متانول ۸:۱ اسید استیک) به رسوب سلولی اضافه شد. سوسپانسیون حاصل بر روی لام گسترش داده شد و در دمای اطاق خشک گردید. رنگ‌آمیزی لام‌ها با رنگ گیمسا ۱۰٪ و به مدت ۷ دقیقه انجام شد. شمارش سلولی توسط میکروسکوپ الیمپاس[17] با بزرگ-نمایی ۱۰۰۰ انجام شد. در هر لام حدود ۳۰۰ تا ۷۰۰ سلول دوهسته‌ای شمارش شد. درصد سلول‌های دوهسته‌ای دارای میکرونوکلئوس براساس فرمول زیر محاسبه شد. همچنین تعداد کل سلول‌های دوهسته‌ای محاسبه شد.

درصد میکرونوکلئوس= تعداد سلول‌های دوهسته‌ای دارای میکرونوکلئوس/ تعداد کل سلول‌های دو هسته‌ای × ۱۰۰

روش تجزیه تحلیل آماری

برای تجزیه و تحلیل آماری از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه استفاده شد. باتوجه‌به این که براساس نتایج آزمون کولموگروف- اسمیرنوف، توزیع داده‌ها نرمال بود، آزمون‌های پارامتریک استفاده شد. برای پی بردن به محل اختلاف بین میانگین‌ها در مواردی که اختلاف آماری گروه‌های مختلف معنادار بود، آزمون دانکن بکار گرفته شد. محاسبات آماری به کمک نرم افزار SPSS نسخه ۲۲ انجام و سطح معنی‌داری ($p < ۰/۰۵$) در نظر گرفته شد. داده‌ها در بخش

[16] Fenech
[17] Olympus BH2

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-17]

نتایج به‌صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده‌اند. برای ترسیم نمودارها از نرم افزار Excel و برای به‌دست‌آوردن IC_{50} از نرم‌افزار Prism استفاده شد.

یافته‌ها

در مطالعه هیستوپاتولوژیک به‌منظور بررسی اثرات ترکیبات در بافت کبد از رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین[18] برای شناسایی تغییرات بافت‌شناسی در مقایسه با بافت طبیعی استفاده شد (شکل ۱). پارامترهای مورد مطالعه بررسی تومور و سمیت سلولی و نکروز در نواحی مرکزی، هپاتیت[19]، احتباس صفرا[20] و استئاتوز[21] بود که در گروه مورد آزمایش هپاتوتوکسیسیتی خفیف مشاهده شد.

با تاثیر دادن غلظت‌های مختلف از مالاتیون (۱۰۰، ۵۰، ۲۵، ۱۰میکروگرم بر میلی‌لیتر) برروی سلول‌های L۹۲۹ فیبروبلاست موش، مهارکنندگی رشد سلول‌ها قابل‌ملاحظه بود به‌صورتی‌که بالاترین مهارکنندگی در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به ترتیب ۲۷/۱۹ و ۳۰/۲۴ بود (جدول ۱). میانگین جذب نوری در غلظت‌های ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر به طور معنی‌داری با میانگین جذب نوری با گروه کنترل متفاوت می‌باشد و از این جهت ($p < ۰/۰۵$) به‌دست آمده است. IC_{50} دارو برای این رده سلولی بعد از ۲۴ ساعت ۲۲/۹۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. باتوجه‌به جدول ۲، درصد فراوانی میکرونوکلئوس‌ها در غلظت‌های مختلف مالاتیون معنی‌دار نیست.

بحث

نتایج این مطالعه نشان داد که مقادیر مختلف مالاتیون در برون تن موجب مهار رشد فیبروبلاست‌ها می‌شود. تماس پوستی با مقادیر مختلف مالاتیون موجب کاهش سطح‌خونی هورمون FSH و تستسترون در موش‌ها گردید. مشاهدات میکروسکوپی موید سمیت کبدی خفیفی بود.

قرارگرفتن در معرض مالاتیون میزان بروز سرطان پستان در موش‌ها را به‌میزان قابل‌توجهی افزایش می‌دهد [۵]. قرارگرفتن در معرض رژیم غذایی طولانی مدت مالاتیون، با افزایش شیوع تومورهای کبدی، بینی، دهانی در موش‌ها همراه بوده است [۶].

اطلاعات کمی در مورد اثرات کبدی ملاتیون در کارگران کشاورزی وجود دارد. بااین‌حال، داده‌های علمی اخیر نشان داده اند که مالاتیون و سایر سموم دفع آفات باعث تحریکات بافتی کبد و کلیه در حیوانات آزمایشگاهی می‌شوند [۷]. همچنین گزارش شده است که مالاتیون باعث ایجاد آسیب ژنتیکی در انواع مطالعات آزمایشگاهی، ازجمله در موش‌های تغذیه شده با دانه‌های آغشته با مالاتیون می‌شود. مطالعات تجربی نشان داده‌اند که حشره‌کش تجاری مالاتیون باعث سرطان پستان در حیوانات آزمایشگاهی می‌شود. همچنین، استفاده از مالاتیون توسط کشاورزان با افزایش شیوع لنفوم غیر هوچکین همراه بوده است [۸]. مطالعه صادقی، کوهی و همکاران در سال ۲۰۱۳ روی اثرات رفتاری مالاتیون نشان داد که تماس مزمن با مالاتیون در موش نر بالغ با بروز رفتار اضطرابی همراه است [۹].

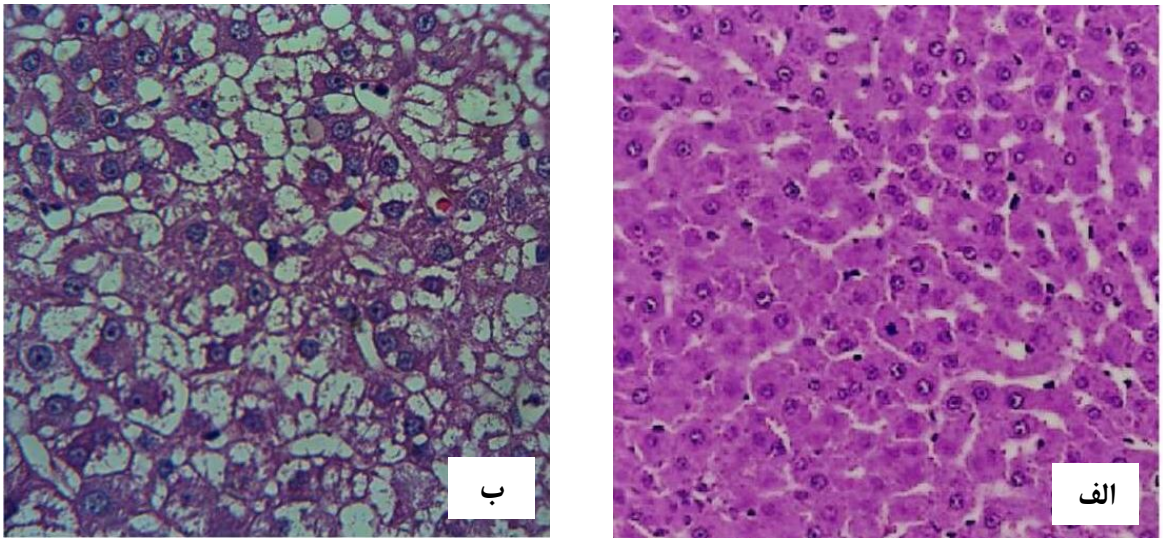
جذب پوستی مالاتیون سریع است. بااینحال، میزان جذب بسیار وابسته به دوز مصرفی و ناحیه قرارگرفتن در معرض آن است [۱۰]. در یک مطالعه توکسوکینتیک، مشاهده شد که موش‌های صحرایی نر که به صورت خوراکی به میزان ۲۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم مالاتیون استفاده کردند و همچنین از طریق پوستی در معرض ۴۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم مالاتیون قرار گرفتند بیش از ۹۰٪ مالاتیون جذب شده، در طی ۲۴ ساعت از طریق ادرار دفع می‌شوند. مالاتیون باقیمانده در مدفوع، خون، روده‌ها، کبد و کلیه‌ها تشخیص داده شد. در یک مطالعه دیگر، استنشاق دوهفته‌ای مالاتیون در موش‌ها، با توزیع مالاتیون در کبد و کلیه و سمیت بافتی در این اندام‌ها همراه بوده است [۱۱].

براساس بررسی‌های جامع علمی انجام شده، اثر جهش‌زایی مالاتیون در باکتری‌ها، مگس‌های میوه، موش‌ها، همستر، و ماهی نشان داده شده است. مالاتیون توسط مؤسسه ملی ایمنی و بهداشت شغلی (NIOSH)[22] به‌عنوان یک جهش‌زا شناخته شده است. یک مطالعه آزمایشگاهی سمیت ژنتیکی نشان داده است که مالاتیون خوراکی باعث ایجاد آسیب ژنتیکی در موش‌ها می‌شود [۱۲].

در مطالعه‌ای که در آن موش‌ها به‌مدت طولانی به‌صورت خوراکی در معرض مالاتیون قرار گرفتند نتایج نشان دهنده

[18] H & E
[19] Hepatitis
[20] Cholestasis
[21] Steatosis
[22] National Institute for Occupational Safety and Health

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-17]



شکل ۱– اثر مالاتیون بر بافت کبد. رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین–ائوزین و بزرگنمایی ۴ برابر. الف: بافت کبد در گروه شاهد با مورفولوژی طبیعی. ب: تجمع چربی در سیتوپلاسم سلول‌های کبدی و پیکنوزه‌شدن هسته سلول‌های کبدی در تصویر با پیکان نشان داده شده است.

افزایش شیوع تومورهای دهانی و بینی در موش رت و تومور کبدی در موش سوری بود [۱۳]. در یک مطالعه ۸۰ هفته‌ای در موش‌ها، مالاتیون با دوزهای ۰، ۳۵۹ و ۶۲۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم در روز به‌صورت خوراکی تجویز شد اما یافته قابل‌توجهی از سرطان‌زایی مالاتیون بدست نیامد [۱۴]. در مطالعه‌ای دیگر، محققان دوزهای غذایی ۰، ۱۶۶، ۳۳۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم در روز را به‌مدت ۱۰۳ هفته در موش‌های رت تجویز کردند اما داده‌ای مبنی سرطان‌زابودن مالاتیون روی موش‌ها مشاهده نشد [۱۵]. در یک مطالعه دوساله، محققان دوزهای خوراکی ۲ ، ۳۵۹ ، ۷۳۹ و ۸۶۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم مالاتیون در روز را به موش‌های سوری ماده تجویز کردند. آن‌ها ازنظر آماری افزایش قابل‌توجهی در آدنوم‌های کبدی و کارسینوما در بالاترین دوز آزمایش شده مشاهده کردند [۱۶].

در یک مطالعه عیار سنجی زیستی در موش‌ها، مالاتیون را با دوزهای مختلف از۱۷/۴ تا ۳۴۴۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم در روز تجویز کردند. آن‌ها به این نتیجه رسیدند که شواهدی از سرطان‌زایی در دوزهای ۱۴۷۶ و ۲۹۷۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم در روز در جنس نر و ۱۷۰۷ و ۳۴۴۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم در روز در جنس ماده براساس بروز آدنوم‌های کبدی و سرطان کبد وجود دارد [۱۷].

مالاتیون توسط EPA در سال ۱۹۹۹ به عنوان ماده بالقوه سرطان‌زای طبقه‌بندی شده است. ارزیابی کمی دوز پاسخ در مورد پتانسیل سرطان‌زایی احتمالی مالاتیون انجام نشده است. این طبقه‌بندی بر اساس : ۱– بروز تومورهای کبدی در موش سوری فقط در دوز بالا است. ۲– وجود چند تومور نادر در موش سوری که به‌طورقطع یقین نمی‌توان گفت در اثر مواجهه

جدول ۱– اثر غلظت‌های متفاوت مالاتیون بر مهار رشد سلول‌های فیبروبلاست L۹۲۹ موش پس از۲۴ ساعت تیمار.

غلظت (میکروگرم در میلی‌لیتر)	میانگین جذب نوری ± انحراف معیار	میانگین درصد مهارکنندگی
۱۰	۰/۰۹ ± ۰/۰۱	۵/۵
*۲۵	۰/۰۴ ± ۰/۰۷	۲۰/۳۷
*۵۰	۰/۰۳ ± ۰/۰۰۲	۲۷/۱۹
*۱۰۰	۰/۰۳۲ ± ۰/۰۲۱	۳۰/۲۴
کنترل	۰/۱ ± ۰/۰۱	

*: اختلاف معنی‌دار با $p < ۰/۰۵$ در مقایسه با گروه کنترل. داده ها بر اساس میانگین ± انحراف معیار ارائه شده‌اند.

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-17]

جدول ۲- درصد فراوانی میکرونوکلئوس‌ها در مالاتیون

غلظت (میکروگرم بر میلی‌لیتر)	فراوانی میکرونوکلئوس (٪)
کنترل	۳/۰۴
۱۰	۳/۶۲
۲۵	۳/۸۵
۵۰	۳/۶۵
۱۰۰	۴/۰۴

با مالاتیون صورت گرفته است. همچنینی پتانسیل سرطان‌زایی مالاتیون توسط(FIFRA)[23] (اتحادیه حشره‌کش‌ها، قارچ‌کش‌ها و جوندگان) مورد بررسی قرار گرفته و این ترکیب جزو عوامل سرطان‌زای بالقوه طبقه‌بندی شده است.

در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۰۳ انجام شد به اثرات پوستی مالاتیون بر ارگان‌های داخلی بدن در رت پرداختند. موش‌ها ۴ ساعت در روز به‌مدت ۲۸ روز از ناحیه دم آغشته به مالاتیون شدند. دوزهای مورداستفاده ۸ و ۱۶ میلی‌گرم اثری روی ارگان‌های داخلی بدن نداشتند [۱۸]. در مطالعه دیگری، اثرات دوزهای غیرکولینرژیک مالاتیون (۰/۰۱ –۲۰ میکرومولار) بر آپوپتوز فیبروبلاست موش L۹۲۹ بررسی شد. با استفاده از فلوسیتومتری و فعال‌سازی کاسپاز نشان دادند که مالاتیون باعث افزایش آپوپتوز در سلول‌های L۹۲۹ به‌صورت وابسته به دوز و زمان می‌شود [۱۹].

در مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۲، به‌منظور بررسی اثر سمیت سیتوژنتیک مالاتیون در رت مشاهده شد که در معرض قرارگرفتن با مالاتیون به‌طور قابل‌توجهی تعداد ناهنجاری‌های ساختاری کروموزومی و درصد آسیب DNA را در مقایسه با گروه کنترل افزایش داده و مالاتیون دارای پتانسیل سمیت ژنی[24]- کلاستوژنیک[25] است [۲۰]. مطالعات صورت‌گرفته در خصوص سمیت ژنتیکی بر افراد در معرض مالاتیون نشان‌دهنده افزایش اختلال کروموزومی این افراد نسبت به دیگران می‌باشد. در مطالعه مشابه دیگری جهت بررسی اثرات سیتوژنتیک کارگران در معرض مالاتیون مشخص شد که اختلال کروموزومی به‌صورت وابسته به دوز افزایش یافته است [۲۱].

ارزیابی ریسک سمیت سلولی کارگران در معرض مخلوطی از آفت‌کش‌های ارگانو فسفره حاکی نشان‌دهنده افزایش ناهنجاری‌های کروموزومی از جمله قطعات آسنتریک (کروموزوم‌های فاقد سانترومر) و میکرونوکلئوس توسط مالاتیون است [۲۲].

در پژوهش ما با وجود افزایش وابسته به دوز تعداد میکرونوکلئوس‌ها توسط مالاتیون، این افزایش معنی‌دار نبود. این یافته مطابق با مطالعه دیگری است که به منظور اثرات سمیت ژنی مالاتیون روی سلول های HTC[26]رت صورت گرفت. مالاتیون با غلظت‌های ۹، ۰/۰۰۹، ۰/۰۰۰۹ میلی‌گرم در ۵ سی‌سی محیط کشت انکوبه شد و در هیچکدام از غلظت‌ها تعداد میکرونوکلئوس‌ها تغییر معنی‌دار نداشت [۲۳].

نتایج مطالعه ما نشان داد که میزان هورمون‌های تستوسترون و FSH در گروه مورد آزمایش کاهش معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل داشته است (جدول ۳). این مساله می‌تواند بیانگر آن باشد که مالاتیون توانسته سیستم هورمونی بدن را مختل نموده و نهایتا باعث کاهش آن گردد. این روند در تغییر هورمون LH نیز مشاهده شد اما معنی‌دار نبود. در مطالعه‌ای به منظور بررسی نقش محافظتی عصاره چای سبز بر عملکرد بافت تخمدان روی موش‌های صحرایی تیمارشده با حشره‌کش مالاتیون نشان داده شد که مالاتیون دارای اثرات سوء بر میزان ترشح هورمون‌های جنسی موش‌های صحرایی ماده و فرآیند اووژنز داشته و عصاره چای سبز باعث کاهش اثرات منفی مالاتیون می‌شود [۲۴]. حسینی و همکاران در بررسی اثر حشره‌کش مالاتیون بر فیزیولوژی تولید مثلی در موش‌های صحرایی ماده دریافتند که مالاتیون دارای اثرات سوء بر میزان ترشح هورمون‌های جنسی موش‌های صحرایی ماده و اووژنز می‌باشد [۲۵]. نتایج مطالعه ما همراستا با مطالعات فوق می‌باشد.

جدول ۳- اثر مالاتیون روی غلظت هورمون LH و FSH و تستوسترون موش سوری

هورمون (غلظت)	کنترل	تیمار
FSH* (IU/l)	۲۸۰٪	۱۰۳٪
LH (IU/l)	۳۲۰٪	۱۰۰٪
تستوسترون* (ng/dl)	۳۰/۲۵	۵/۵۰

*: اختلاف معنی‌دار با $p < ۰/۰۵$ در مقایسه با گروه کنترل.

[23] The Federal Insecticide, Fungicide, and Rodenticide Act
[24] Genotoxic
[25] Clastogenic
[26] Hepatoma tissue culture

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-17]

نتیجه‌گیری

نتایج به‌دست آمده از این تحقیق نشان می‌دهد که مالاتیون می تواند اثرات مخربی روی هورمون‌های جنسی و سطح تستوسترون داشته باشد باتوجه‌به مصرف بالای این سم در ایران ضروری است که دقت و مراقبت بیشتری بر نحوه مصرف آن و میزان برخورد انسان با آن به‌عمل بیاید تا از خطرات احتمالی آن بر روی بافت‌های بدن جلوگیری شود.

سپاسگزاری

نویسندگان از بخش علوم‌زیستی مقایسه‌ای دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران کمال تشکر را دارند.

تعارض در منافع

نویسندگان این مقاله تعارض در منافع ندارند.

نقش نویسندگان

م،ا: انجام مطالعه، نگارش مقاله، انالیز آماری ؛گ،ص،ه: نظارت بر حسن اجرای مطالعه و نگارش مقاله؛ع،گ،ف: نظارت بر حسن اجرای مطالعه و نگارش مقاله؛م،ک،ک: نظارت بر حسن اجرای مطالعه و نگارش مقاله؛س،ر: نظارت بر حسن اجرای مطالعه و نگارش مقاله؛م،ط: نظارت بر حسن اجرای مطالعه و نگارش مقاله.

فهرست منابع

[1] Srivastava AK, Singh D, Assessment of malathion toxicity on cytophysiological activity, DNA damage and antioxidant enzymes in root of *Allium cepa* model. ***Sci Rep*** 10 (2020) 886.

[2] [2] Lerro CC, Koutros S, Andreotti G, Friesen MC, Alavanja MC, Blair A, Hoppin JA, Sandler DP, Lubin JH, Ma X, Zhang Y, Beane Freeman LE, Organophosphate insecticide use and cancer incidence among spouses of pesticide applicators in the Agricultural Health Study. ***Occup Environ Med*** 72 (2015) 736-744.

[3] [3] Lee HS, Acute pancreatitis and organophosphate poisoning--a case report and review. ***Singapore Med J*** 30 (1989) 599-601.

[4] [4] Karami-Mohajeri S, Abdollahi M, Toxic influence of organophosphate, carbamate, and organochlorine pesticides on cellular metabolism of lipids, proteins, and carbohydrates: a systematic review. ***Hum Exp Toxicol*** 30 (2011) 1119-1140.

[5] [5] Moghaddamnia AA. Survey of acute suicidal poisoning in the west of Mazandaran province during the years 1373-76. ***J Mazandaran Univ Med Sci*** 9 (1999) 18-25.

[6] [6] Hariri AT, Moallem SA, Mahmoudi M, Hosseinzadeh H, The effect of crocin and safranal, constituents of saffron, against subacute effect of diazinon on hematological and genotoxicity indices in rats. ***Phytomedicine*** 18 (2011) 499-504.

[7] [7] Blasiak J, Stankowska D, Genotoxicity of malaoxon: Induction of oxidized and methylated bases and protective effect of α-tocopherol. ***Pestic Biochem Physiol*** 71 (2001) 88–96.

[8] [8] Bianchi J, Mantovani MS, Marin-Morales MA, Analysis of the genotoxic potential of low concentrations of Malathion on the *Allium cepa* cells and rat hepatoma tissue culture. ***J Environ Sci (China)*** 36 (2015) 102-111.

[9] [9] Sadeghi Hashjin G, Sadeghi dizaj F, Attaran H, Koohi M, Malathion induces anxiety in the male adult mouse. ***Arch Med Sci*** 9 (2013) 368–371.

[10] [10] Alavanja MC, Hofmann JN, Lynch CF, Hines CJ, Barry KH, Barker J, Buckman DW, Thomas K, Sandler DP, Hoppin JA, Koutros S, Andreotti G, Lubin JH, Blair A, Beane Freeman LE, Non-hodgkin lymphoma risk and insecticide, fungicide and fumigant use in the agricultural health study. ***PLoS One*** 9 (2014) e109332.

[11] [11] Alfaro-Lira S, Pizarro-Ortiz M, Calaf GM, Malignant transformation of rat kidney induced by environmental substances and estrogen. ***Int J Environ Res Public Health*** 9 (2012) 1630-1648.

[12] [12] Giri S, Prasad SB, Giri A, Sharma GD, Genotoxic effects of malathion: an organophosphorus insecticide, using three mammalian bioassays in vivo. ***Mutat Res*** 514 (2002) 223-231.

[13] [13] Calaf GM, Echiburú-Chau C, Synergistic effect of malathion and estrogen on mammary gland carcinogenesis. ***Oncol Rep*** 28 (2012) 640–646.

[14] [14] Hamzic E, Whiting K, Gordon Smith E, Pettengell R, Characterization of bone marrow mesenchymal stromal cells in aplastic anaemia. ***Br J Haematol*** 169 (2015) 804-813.

[15] [15] Coban FK, Ince S, Kucukkurt I, Demirel HH, Hazman O, Boron attenuates malathion-induced oxidative stress and acetylcholinesterase inhibition in rats. ***Drug Chem Toxicol*** 38 (2014) 391–399.

[16] [16] Abou Zeid MM, el-Barouty G, Abdel-Reheim E, Blancato J, Dary C, el-Sebae AH, Saleh MA, Malathion disposition in dermally and orally treated rats and its impact on the blood serum acetylcholine esterase and protein profile. ***J Environ Sci Health B*** 28 (1993) 413-430.

[17] [17] Franco JL, Posser T, Mattos JJ, Trevisan R, Brocardo PS, Rodrigues AL, Leal RB, Farina M, Marques MR, Bainy AC, Dafre ALm Zinc reverses malathion-induced impairment in antioxidant defenses. ***Toxicol Lett*** 187 (2009) 137-143.

[18] [18] Giri A, Giri S, Sharma GD, Malathion and

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-17]

fenvalerate induce micronuclei in mouse bone marrow cells. ***Environ Mol Mutagen*** 52 (2003) 607–613.

[19] [19] Concentration of contaminants and other chemicals in food composites. [cited 2021 July 5]. Available from: https://www.canada.ca/en/health-canada/services/food-nutrition/food-nutrition-surveillance/canadian-total-diet-study/concentration-contaminants-other-chemicals-food-composites.html

[20] [20] Kim RO, Kim BM, Jeong CB, Lee JS, Rhee JS, Effects of chlorpyrifos on life cycle parameters, cytochrome P450S expression, and antioxidant systems in the monogonont rotifer *Brachionus koreanus*. ***Environ Toxicol Chem*** 35 (2016) 1449-1457.

[21] [21] Guha N, Ward MH, Gunier R, Colt JS, Lea CS, Buffler PA, Metayer C, Characterization of residential pesticide use and chemical formulations through self-report and household inventory: the Northern California Childhood Leukemia study. ***Environ Health Perspect*** 121 (2013) 276-282.

[22] [22] Garaj-Vrhovac V, Zeljezic D, Cytogenetic monitoring of Croatian population occupationally exposed to a complex mixture of pesticides. ***Toxicology*** 165 (2011) 153–162.

[23] [23] Zeljezic D, Garaj-Vrhovac V, Chromosomal aberration and single cell gel electrophoresis (Comet) assay in the longitudinal risk assessment of occupational exposure to pesticides. ***Mutagenesis*** 16 (2001) 359–363.

[24] [24] Moore PD, Patlolla AK, Tchounwou PB, Cytogenetic evaluation of malathion-induced toxicity in Sprague-Dawley rats, ***Mutat Res*** 725 (2011) 78-82.

[25] [25] Hoseini shahr khafri MA, Hemayatkhah Jahromi V, Samani Jahromi E, Protective effect of green tea extract on ovary tissue function in rats treated by Malathion insecticide. ***J Jahrom Univ Med Sci*** 13 (2015) 52-64.

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-17]

Research paper

Study of carcinogenic effects and cytotoxicity of malathion in mice (in vitro & in vivo)

Mozhgan Asghari[1*], Goudarz Sadeghi Hashjin[1], Aliakbar Golabchifar[1], Mohammad Kazem Koohi[1], Ahad Mohammadnejad[2], Sanaz Rismanchi[2], Mohammad Taheri[3],

1. Department of Comparative Biosciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran
2. Cancer Biology Research Center, Cancer Institute of Iran, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
3. Central Laboratory, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

Received: 11 March 2021 Accepted: 7 July 2021

Abstract

Background and aims: Agricultural pesticides including organophosphates cause various adverse effects on body tissues. This study was performed to evaluate the effect of malathion on sex hormones and its carcinogenic effects through skin contact in male mice.

Methods: Thirty adult male mice were divided into control and treatment groups. In the treatment group, 1 ppm malathion in 1 ml was poured on the skin for 12 weeks. At the end of the period, serum levels of testosterone, LH, and FSH were measured. Tissue samples were also taken from the target organs. Cytotoxicity was also assessed in vitro using MTT and micronucleus tests and IC_{50} was determined.

Results: LH hormone did not significantly change by malathion but FSH and testosterone significantly decreased compared to the control group. A mild hepatotoxicity was observed in malathion-treated group. The frequency of micronuclei at concentrations of 25, 50, and100 µg / ml, and the MTT test at concentrations of 10-100 µg / ml showed significant difference compared to control group ($p < 0.05$).

Conclusion: Skin contact with malathion can have destructive effects on sex hormones and body tissues. Given the excessive use of this insecticide in Iran, it is necessary to pay more attention to how it is used and the amount of human contact with it to prevent possible dangers on body tissues.

Keywords: MTT, Carcinogenicity, Malathion, Sex hormones

Please cite this article as follows:

Asghari M, Sadeghi Hashjin G, Golabchifar A, Koohi MK, Mohammadnejad A, Rismanchi S, Taheri M, Study of carcinogenic effects and cytotoxicity of malathion in mice. ***Iran J Physiol Pharmacol*** 4 (2020) 152-160.

*Corresponding author: dr.mozhgan_asghari@yahoo.com (ORCID ID: 0000-0002-7918-2198)

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-17]