

Carcinogenicity of benzene and the effects of Malathion in Mice

Asghari, M^{*1}, Sadeghi-Hashjin, G², Golabchifar, A³, Koohi, MK⁴, Mohamadnejad, A⁵, Rismanchi, S⁶, Taheri, M⁷

1. PhD in Pharmacology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran
2. Professor, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran
3. Assistant Professor, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran
4. Associate Professor, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran
5. PhD in Pathology, Cancer Institute of Iran, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
6. Assistant Professor, Cancer Institute of Iran, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
7. PhD in Biotechnology, Central Laboratory, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

Received: 2021/06/06

Accepted: 2022/02/26

Abstract

Introduction: In this study, we investigate the relationship between cancer and exposure to toxic substances in the environment. We used human encounters with them.

Materials and Methods: In this experimental study, 60 adult male mice were divided into four groups, including control, Malathion, Malathion with benzene and benzene. The control group was tested only with physiological serum. Except for the benzene group, all other groups were in skin contact with Malathion for 45 days was fed. After necropsy, tissue samples were taken from the target organs. In addition, cytotoxicity was assessed by MTT and micronucleus tests in vitro and the percentage of IC50 was determined. Microscopic observations of liver tissue showed hepatotoxicity and renal tissue renal toxicity in the Malathion group with benzene.

Results: The percentage of frequency of micronuclei at concentrations of 100 /g / ml, 50 /g / ml, 25 /g / ml was significant in all groups compared to the control group (P <0.05). In MTT test, the percentage of cell growth inhibition at concentrations of 100 g/ml, 50 g/ml, 25 g/ml, and 10 µg/ml in all groups was significantly different from the percentage of inhibition of cell growth with the control group (P < 0.05).

Conclusion: According to the findings of this study, certain doses of Malathion alone and in combination with benzene cause cytotoxicity and pre-carcinogenicity in cytotoxicity tests. Malathion exacerbates the carcinogenic effects of benzene

***Corresponding Author:** Mozghan

Asghari

Address: Tehran, University of Tehran, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Comparative Biosciences, Iran

Tel: 09192176887

E-mail:

Dr.mozhgan_asghari@yahoo.com

Keywords: Carcinogenicity, In vitro, Malathion, Mice

How to cite this article: Asghari M., Sadeghi-Hashjin G., Golabchifar A., Koohi M.K., Mohamadnejad A., Rismanchi S., Taheri M. Carcinogenicity of benzene and the effects of Malathion in Mice, Journal of Sabzevar University of Medical Sciences, 2022; 29(4):502-516.

Introduction

In recent years, along with the growth and development of the chemical industry in human societies and high access of people to toxins and drugs, the rate of organophosphate poisoning has increased significantly. The high volume of toxins consumed makes human exposure to such substances almost inevitable, so that it can cause poisoning in people unintentionally and accidentally or due to the residues of these toxins in the environment or tools.

Organophosphorus compounds come in a variety of formulations and form an important class of pesticides. They are used for a variety of purposes, including protecting plants from pests, weeds or against vector-borne diseases such as malaria, dengue fever and schistosomiasis. In addition, some of them are used as a drop medicine. Ophthalmology is used in the treatment of angle-closure glaucoma in humans and small animals. Because ordinary washing cannot completely remove these substances from the surface, the rest of these substances are present in many foods and beverages, especially water and fruit juices.

Cancer targets and harms many people and is the second leading cause of death after cardiovascular disease. It is true that genetic predisposition plays the first and last role in the development of malignancies, various chemicals that are added to life as pollutants, additives, health-cosmetics, drugs, etc., day by day, either directly or as predisposing. Involved in the incidence of cancer in humans and animals (especially pets). One of the well-known compounds in this regard is benzene, which has been identified for both its mutagenicity in *in vitro* studies and its carcinogenicity in experimental and epidemiological studies.

The carcinogenicity of benzene was first reported in humans in 1920, while its carcinogenicity in animals was unknown until 1979. From the sources of exposure to benzene, employees such as petrochemicals, production of plastic products, electronic devices, printing, dyeing, laundry, painting of buildings and cars, production of shoes and leather, and employees of gas and diesel pumps and many other jobs are exposed to direct and acute exposure to this substance. In addition, the presence of benzene in the fuel consumed by cars and related to the transportation and distribution of fuel has caused the entry of benzene into the city air in large

quantities. One of the most important constituents of cigarette smoke is benzene. Therefore, in this study, we decided to investigate the relationship between cancer and exposure to toxic and carcinogenic substances in the environment. We used them extensively in industry and human exposure to them.

Methodology

This experimental study was performed on 60 adult male Balb C mice weighing approximately 20-30 g and average age 10 to 12 weeks from the Laboratory Animal Breeding Center of the Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran and randomly divided into four groups of 15, including Control, Malathion, benzene and Malathion with benzene were divided.

In vivo studies: In *in vivo* studies, control animals were exposed to physiological saline during treatment alone by any other drug, and all groups except the benzene group were exposed to Malathion for 45 days. After this period, benzene was fed to the Malathion group with benzene by gavage (for 17 weeks) at a rate of 100 mg / kg in corn oil (5 ml / kg).

All mice were kept in standard cages at 25 ° C and a light-dark period of 12 hours. Also, the working conditions with animals were based on the existing instructions and the approval of the ethics committee in the research of the Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran (ethics code 6/19/7506021).

Thin tissue samples taken from various organs were stabilized in 10% buffer of formalin and after preparing tissue sections in the Cancer Biology Research Center at the Iranian Cancer Institute of Tehran University of Medical Sciences located in Imam Khomeini Hospital, Tehran, undergoing histopathology. Were located.

In vitro studies: The effect of *in vitro* cytotoxicity was assessed by MTT and micronucleus tests and their inhibitory effect on normal fibroblast cell line of L929 mice. Changes in cell line morphology adjacent to Malathion were also evaluated and recorded.

929L cell culture, cell morphology evaluation and MTT test: First, 929L cells (prepared from Pasteur Institute, Iran, cell bank) in 25 cc cell culture flasks (Nunc, Denmark) in PRMI medium -1640 (PRMI-1640 with 10% FCS 2 μ M L-glutamine, 100 units of penicillin, 100 μ g / ml

streptomycin, 12.5 μ M HEPES (Guipco, Scotland), at 37 ° C and 5% CO₂ was cultured in a CO₂ incubator (Uricox Company, Germany) until the cells reached the desired number and morphology.

(After 3-4 passages) After separating the cells from the surface of the flask by trypsin-EDTA (Guipco, Scotland), the attachment and the value of 10⁵ cells were performed on the trypan blue test. The number of cells was 5 × 10⁴ / ml in plate wells of 6 cells for cell culture (Nanak, Denmark) with or without Malathion. Concentrations used (10, 25, 50, 100 μ g / ml) were added to 929L cells. Changes in morphology and general characteristics of the cells were evaluated after 48 hours, in terms of plate surface connectivity and granule content, with a reverse light microscope (Motic, China), and recorded with a digital camera.

The effect of cytotoxicity of the compounds was assessed using MTT colorimetric test and quantitative evaluation of in vitro cell proliferation and the percentage of living cells was calculated using the control method using the following formula (Formula 1).

$$\frac{\text{"OD-Blank OD Drug Affected Wells"} - (\text{OD-Blank OD Control}) \times 100}{\text{OD-Blank OD Control}} \times 100$$

Finally, according to the values of light absorption obtained with ELISA reader, the percentage of growth inhibition related to each concentration was calculated using Formula 2.

$$\frac{\text{"Percentage of cell growth inhibition"} = \frac{\text{"Mean percentage for each OD treatment group"} - \text{"Mean percentage for OD control group"}}{\text{"Mean percentage for OD control group"}} \times 100$$

IC₅₀ was calculated after drawing the curve using different concentrations of toxins and the percentage of viable cells.

Micronucleus test: The method of study, in this test, dual-nucleated cells were stopped in the cytokinesis stage based on the proposed Fenech method, which after cell culture and adding Malathion with different concentrations, after 24 hours of cell harvesting was performed. The percentage of micronucleus double-nucleated cells as well as the total number of double-nucleated cells were calculated.

$$\text{Percentage of micronuclei} = \frac{\text{number of micronucleus dual-celled cells}}{\text{total number of dual-nucleated cells}} \times 100$$

Result

Histopathological studies of the liver: To evaluate the effects of compounds on liver tissue, hematoxylin-eosin staining was used to identify

histological changes compared to normal tissue. The studied parameters were tumor and cytotoxicity and necrosis in the central areas, hepatitis, bile retention, and steatosis. In the Malathion group, Malathion with benzene and benzene hepatotoxicity was observed.

In histopathological studies of kidneys in different groups, the study parameter was tumor, cytotoxicity, and necrosis in the areas of intricate tubules (PCT), distal tubules (DCT), collecting ducts (CT), glomerular lesions and interstitial nephritis. Which was identified in the Malathion group associated with benzene and benzene necrosis of renal cells. As you can see in Table 1, by inhibiting different concentrations of Malathion (100, 50, 25, 10 micrograms per liter) on mouse L929 fibroblasts, cell growth inhibition was significantly inhibited. The highest inhibitors at concentrations of 50 and 100 μ g / l were 27.19 and 30.24, respectively.

The mean light absorption at concentrations of 25, 50, 100 μ g / ml was significantly different from the average light absorption with the control group and therefore P < 0.05 was obtained.

The average light absorption at concentrations of 50 and 100, respectively 3. / . And 32. / . It was found that this indicates high cell death and more cytotoxic effect than the control group.

The percentage of micronucleus abundance in Malathion is not significant as it increases with increasing dose. By inhibiting different concentrations of benzene (100, 50, 25, 10 μ g / ml) on mouse fibroblast L929 cells, cell growth inhibition was significant, with the highest inhibition at 50 and 100 μ g. Per liter were 54.46 and 63.75, respectively.

The average light absorption at concentrations of 25, 10, 50, 100 micrograms per liter was significantly different from the average light absorption with the control group and therefore P < 0.05 was obtained.

The average light absorption at concentrations of 50 and 100, respectively / 298. And 234. / . It was found that this indicates high cell death and a greater cytotoxic effect than the control group.

Conclusions

World-renowned international environmental and health regulatory bodies, including the International Agency for Research on Cancer (IARC) and the US Environmental Protection Agency (EPA), classify benzene as the first group

of carcinogens (Group A or completely carcinogenic). Due to the definiteness of these effects, benzene has been used as a definitive carcinogen (positive control) in the present study. In April 2000, the United States described EPA Malathion as "evidence of carcinogenicity, but not sufficient to assess human carcinogenic potential by all routes of exposure." This classification was based on Comino's findings that Malathion causes hepatocellular carcinoma in laboratory animals at higher doses than exposure.

Recent research has emphasized the need to strengthen the EPA's classification of carcinogens. In this study, we investigated the effects of Malathion as a widely used pesticide on male mice and *in vitro* after skin contact, examined the pathology of internal organs and its effects on 1929 fibroblasts in mice. Other cytotoxicity tests were performed.

Studies have shown that different doses of Malathion affect blood parameters. In another study, high-dose Malathion caused bone marrow failure and aplastic anemia. Although the study of acute toxicity with Malathion showed adverse effects in humans and animals tested, the chronic toxicity study showed that a group of volunteers who consumed low-dose Malathion for 1.5 months had significant inhibition. They did not show blood cholinesterase activity.

Little is known about the hepatic effects of Malathion on agricultural workers. Recent scientific data, however, have shown that Malathion and other pesticides stimulate liver and kidney tissue stimulation in laboratory animals. Malathion has also been reported to cause genetic damage in a variety of laboratory studies, including the study of mice fed Malathion-stained grains. Epidemiological studies with human blood cells have suggested DNA damage and oxidative stress

as a process that could mechanically link pesticide exposure to a number of health consequences, according to the Environmental Protection Agency. In the United States, there is evidence that Malathion causes cancer.

A 2013 study by Sadeghi, Koohi et al. On the behavioral effects of Malathion showed the acute toxicity of organophosphates in rodents after exposure to the anxious behavior caused by chronic contact with Malathion in adult male mice. They also showed long. Absorption of Malathion occurs through the gastrointestinal tract, respiratory tract and its main pathway, the skin. Skin is the predominant route of exposure for people who are dealing with a decline in killers due to their jobs.

Malathion skin absorption is fast. However, the amount of absorption is highly dependent on the dose and location of exposure. In addition, a paper published by Kambo et al. In 2001 states that our knowledge of the carcinogenic effects of Malathion is not sufficient to provide a definitive classification.

Little is known about the hepatic effects of Malathion on agricultural workers. Recent scientific data, however, have shown that Malathion and other pesticides stimulate liver and kidney tissue in laboratory animals.

Acknowledgment

The authors would like to express their gratitude to the Department of Comparative Biosciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran.

Conflict of Interest: The authors declare that there are no conflict of interest regarding the publication of this manuscript.

مطالعه سرطان‌زایی بنزن و تأثیرات مالاتیون بر آن در موش سوری

مژگان اصغری^{۱*}، گودرز صادقی هاشجین^۲، علی اکبر گلابچی فر^۳، محمد کاظم کوهی^۴، احد محمدنژاد^۵، ساناز ریسمانچی^۶، محمد طاهری^۷

۱. دکترای تخصصی فارماکولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران

۲. استاد، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران

۳. استادیار، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران

۴. دانشیار، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران

۵. دکترای تخصصی پاتولوژی، مرکز تحقیقات بیولوژی سرطان، انستیتو کانسر ایران، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۶. استادیار مرکز تحقیقات بیولوژی سرطان، انستیتو کانسر ایران، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۷. دکترای تخصصی بیوتکنولوژی، آزمایشگاه مرکزی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۲/۰۷

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۳/۱۶

چکیده

زمینه و هدف: در این پژوهش، ارتباط بین سرطان و قرار گرفتن در معرض مواد سمی موجود در محیط زیست بررسی می‌شود. بدین منظور از دو ماده که می‌دانیم (بنزن) و احتمال می‌دهیم (ارگانوفسفاتها) باعث ایجاد سرطان شوند به علت کاربرد وسیع آن‌ها در صنایع و مواجهه انسان با آن‌ها استفاده گردید.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی ۶۰ سر موش سوری نر بالغ به چهار گروه شامل کنترل، مالاتیون، مالاتیون همراه بنزن و بنزن تقسیم شدند. گروه کنترل صرفاً با سرم فیزیولوژی آزمایش شدند. سایر گروه‌ها به‌جز گروه بنزن به مدت ۴۵ روز در تماس جلدی با مالاتیون بودند. بعد از این دوره، بنزن به گروه مالاتیون همراه بنزن از طریق گاوژ (به مدت ۱۷ هفته) به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در روغن ذرت (۵ ml/kg) خورانیده شد. پس از کالبدگشایی، از ارگان‌های موردنظر نمونه‌های بافتی برداشته شد، همچنین سمیت سلولی با آزمون MTT و میکرونوکلئوس به‌صورت برون‌تنی سنجیده شد و درصد IC50 تعیین گردید.

یافته‌ها: مشاهدات میکروسکوپی بافت کبد، مبین هیپاتوتوکسیسیته و بافت کلیه سمیت کلیوی در گروه مالاتیون همراه بنزن بود. درصد فراوانی میکرونوکلئوس‌ها در غلظت ۱۰۰ μg/ml، ۵۰ μg/ml، ۲۵ μg/ml در تمام گروه‌ها در مقایسه با گروه کنترل، معنی‌دار بود (P < ۰/۰۵). در آزمون MTT درصد مهار رشد سلولی در غلظت‌های ۱۰۰ μg/ml، ۵۰ μg/ml، ۲۵ μg/ml، ۱۰ μg/ml در تمام گروه‌ها به‌طور معنی‌داری با درصد مهار رشد سلولی با گروه کنترل متفاوت بود (P < ۰/۰۵).

نتیجه‌گیری: طبق یافته‌های این مطالعه، دوزهای مشخصی از مالاتیون به تنهایی و همراه با بنزن سبب سمیت سلولی و پیش‌سرطان‌زایی در آزمون‌های سمیت سلولی می‌شوند. مالاتیون تأثیرات سرطان‌زایی ناشی از بنزن را تشدید می‌کند.

* نویسنده مسئول: مژگان

اصغری

نشانی:، تهران، دانشگاه تهران،

دانشکده دامپزشکی، گروه علوم

زیستی مقایسه‌ای

تلفن: ۰۹۱۹۲۱۷۶۸۸۷

رایانامه:

dr.mozhgan_asghari@yahoo.com

شناسه ORCID:

0000-0002-7918-2198

شناسه ORCID نویسنده اول:

0000-0002-7918-2198

کلیدواژه‌ها:

مالاتیون، بنزن، سرطان‌زایی،

موش سوری، سمیت سلولی

۱. مقدمه

مطالعات درون تنی: در مطالعه‌های درون تنی حیوانات شاهد در طول درمان، صرفاً با تجویز سرم فیزیولوژی از هر طریقی که سایر مواد تجویز شدند در معرض قرار گرفتند و سایر گروه‌ها به‌جز گروه بنزن به مدت ۴۵ روز در تماس جلدی با مالاتیون بودند. پس از این دوره، بنزن به گروه مالاتیون همراه بنزن از طریق گاوآژ (به مدت ۱۷ هفته) به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در روغن ذرت (۵ ml/kg) خورانیده شد.

تمامی موش‌ها در قفس‌های 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 ۱۹/۶/۲۱/۶۰۶۰۷۵).

نمونه‌های بافتی نازک اخذ شده از ارگان‌های مختلف در فرمالین ۱۰ درصد بافر، پایدار گردید و پس از تهیه مقاطع بافتی در مرکز پژوهش‌های بیولوژی سرطان در انیستیتو کانسر ایران مربوط به دانشگاه علوم پزشکی تهران واقع در بیمارستان امام خمینی تهران مورد آزمون هیستوپاتولوژی قرار گرفتند.

مطالعات برون تنی: اثر سمیت سلولی به‌صورت برون تنی با آزمون MTT و میکرونوکلئوس و اثر مهارکنندگی آن‌ها بر رده سلولی فیبروبلاست طبیعی موش L929 ارزیابی شد. تغییرات مورفولوژی رده سلولی در مجاورت مالاتیون نیز ارزیابی و ثبت گردید.

کشت سلول‌های L929، ارزیابی مورفولوژی سلولی و آزمون MTT: ابتدا سلول‌های L929 (تهیه شده از بانک سلولی انیستیتو پاستور ایران، تهران) را در فلاسک‌های کشت سلولی ۲۵ سی‌سی (Nunc, Denmark) در محیط پی آر ام آی -۱۶۴۰ (PRMI-1640) همراه با ۱۰٪ FCS ۲ میکرومولار آل - گلوتامین، ۱۰۰ واحد پنی‌سیلین، ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر استرپتومایسین، ۱۲/۵ میکرومولار HEPES (گیپ کو، اسکاتلند) و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و در ۵٪ CO₂ در انکوباتور (Co₂, Uricox Company, Germany) کشت و پاساژ داده شدند تا این که سلول‌ها از لحاظ تعداد و مورفولوژی به حد مطلوب برسند (پس از ۳-۴ پاساژ). پس از جدا کردن سلول‌ها از سطح فلاسک توسط تریپسین- ادیتات (گیپ کو، اسکاتلند) شمارش و ارزیابی حیاتی سلول‌ها با آزمون تریپان بلو انجام شد. تعداد cell/ml ۱۰^۴ × ۵ در چاهک-های پلیت ۶ خانه مخصوص کشت سلولی (نانک، دانمارک) به همراه یا بدون مالاتیون کشت داده شد. غلظت‌ها مورداستفاده (۱۰۰، ۲۵، ۵، ۱) میکروگرم بر میلی‌لیتر بود که به سلول‌های

سال‌هاست که ابتلا به سرطان در جوامع مختلف، آمار بالایی را به خود اختصاص داده است در حالی که عامل اصلی و واقعی این بیماری ناشناخته است اما دانشمندان و پزشکان بر این باورند که ترکیبی از عوامل ژنتیکی و محیطی در این بیماری نقش دارند.

در سال‌های اخیر، هم‌زمان با رشد و توسعه صنایع شیمیایی در جوامع انسانی و دسترسی زیاد افراد به سموم و داروهای مسمومیت ناشی از مواجهه شغلی افزایش یافته است. بنزن از هیدروکربن‌های آلی فراری می‌باشد که قرار گرفتن طولانی و مواجهه شغلی با آن سبب ایجاد و پیشرفت سرطان می‌شود و آزمایش‌های حیوانی نیز نشان‌دهنده این مطلب است. علی‌رغم این مسئله، بنزن یکی از پرمصرف‌ترین ترکیبات شیمیایی با کاربردی بسیار وسیع در محیط‌های صنعتی و علمی می‌باشد که امروزه به سبب احتراق حجم زیاد سوخت‌های فسیلی (بنزین، گازوئیل و زغال سنگ) به یکی از اصلی‌ترین آلاینده‌های هوا در شهرهای بزرگ نیز تبدیل شده است. از سویی دیگر گزارش‌های متناقضی وجود دارند که نشان‌دهنده تأثیرات سرطان‌زایی ارگانوفسفات‌ها در مدل‌های حیوانی هستند و مطالعات اپیدمیولوژیک در انسان نیز در این مورد هشداردهنده می‌باشد. ارگانوفسفات‌ها شامل انواع زیادی از سموم دفع آفات هستند که رایج‌ترین آنها مالاتیون است. حشره‌کش مالاتیون در کشاورزی علیه آفات غلات و درختان میوه سردسیری و برای کنترل حشرات در مناطق مسکونی استفاده می‌شود و تولید آن در مقیاس قابل‌توجهی ادامه دارد. شواهد محدودی در خصوص سرطان‌زایی مالاتیون در انسان وجود دارد. گزارش‌های متناقضی وجود دارند که نشان‌دهنده تأثیرات سرطان‌زایی ارگانوفسفات‌ها در مدل‌های حیوانی هستند و مطالعات اپیدمیولوژیک در انسان نیز در این مورد هشداردهنده می‌باشد. با این حال، تحقیقات قاطع و جامعی در این رابطه صورت نگرفته است. در این تحقیق، احتمال تشدید یا تشدید نشدن تأثیرات سرطان‌زایی بنزن توسط ارگانوفسفات منتخب (مالاتیون) به‌صورت تجربی بررسی می‌شود.

۲. مواد و روش کار

این مطالعه تجربی روی ۶۰ سر موش سوری سفید نر بالغ از نژاد بالبسی با وزن تقریبی ۳۰-۲۰ گرم و سن متوسط ۱۰ تا ۱۲ هفته انجام شده که از مرکز پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران تهیه شده‌اند و به‌طور تصادفی به چهار گروه ۱۵ تایی شامل گروه کنترل، مالاتیون، بنزن و مالاتیون همراه بنزن تقسیم شدند.

L۹۲۹ اضافه شد. تغییرات مورفولوژی و خصوصیات عمومی سلول‌ها پس از ۴۸ ساعت از نظر قابلیت اتصال به سطح پلیت و میزان گرانبه‌ی با میکروسکوپ نوری معکوس (موتیک، چین) ارزیابی شد و با دوربین دیجیتال ثبت گردید. اثر سمیت سلولی ترکیب‌ها با استفاده از آزمون رنگ‌سنجی MTT و ارزیابی کمی پرولیفراسیون سلولی در برون‌تنی سنجیده شد و درصد سلول‌های زنده با استفاده از کنترل از روش فرمول زیر محاسبه گردید (فرمول ۱).

$$\text{OD بلانک} - \text{OD چاهک‌های تحت تاثیر دارو} \times 100 = \frac{\text{OD بلانک} - \text{OD کنترل}}{\text{OD کنترل}}$$

در نهایت با توجه به مقادیر جذب نوری به دست آمده با دستگاه خوانش الایزا، درصد مهار رشد مربوط به هر غلظت با به‌کارگیری فرمول شماره ۲ محاسبه شد.

$$\left(\frac{\text{درصد نیگنایم OD رامیت هورگ ره یارب}}{\text{درصد نیگنایم OD لرتنگ هورگ یارب}} \right) = \text{یلولس دشر راهم درصد} \times 100$$

IC50 پس از رسم منحنی، با به‌کارگیری غلظت‌های مختلف سموم و درصد سلول‌های زنده محاسبه گردید.

آزمون میکرونوکلئوس

روش بررسی، در این آزمون، سلول‌های دو هسته‌ای متوقف در مرحله سیتوکینز براساس روش پیشنهادی فنچ^۱ بود که پس از کشت سلول و افزودن مالاتیون با غلظت‌های مختلف، پس از گذشت ۲۴ ساعت برداشت سلولی انجام شد. بدین منظور پس از جدا کردن سلول‌ها با تریپسین ۲۵ درصد و سانتریفیوژ آن (سیگما ۳-۱۰)، به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۱۰۰۰ rpm، فیکساتور (متانول ۱:۸ اسید استیک) به رسوب سلولی اضافه شد. سوسپانسیون حاصل روی لام گسترش داده شد و در دمای اتاق خشک گردید. رنگ‌آمیزی لام‌ها با رنگ گیمسا ۱۰ درصد و به مدت ۷ دقیقه انجام شد. شمارش سلولی با میکروسکوپ (Olympus BH2) با بزرگ‌نمایی ۱۰۰۰ انجام شد. در هر لام حدود ۳۰۰ تا ۷۰۰ سلول دو هسته‌ای شمارش شد و درصد سلول‌های دو هسته‌ای دارای میکرونوکلئوس همچنین تعداد کل سلول‌های دو هسته‌ای محاسبه گردید.

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

تجزیه و تحلیل آماری: برای تجزیه و تحلیل آماری، از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه استفاده شد. با توجه به 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 به کار گرفته شد. محاسبات آماری به کمک نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ انجام و سطح معنی‌داری $P < 0.05$ در نظر گرفته شد. داده‌ها در بخش نتایج به صورت $\text{Mean} \pm \text{SE}$ بیان شده‌اند. برای ترسیم نمودارها از نرم‌افزار Excel و برای به دست آوردن IC50 از نرم‌افزار Prism استفاده شد.

۳. یافته‌ها

در مطالعه هیستوپاتولوژیک کبد به منظور بررسی تأثیرات ترکیب‌ها در بافت کبد از رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین (H & E) برای شناسایی تغییرات بافت‌شناسی در مقایسه با بافت طبیعی استفاده شد (شکل ۱). متغیرهای مورد مطالعه عبارت بودند از: بررسی تومور و سمیت سلولی و نکروز در نواحی مرکزی، هیپاتیت، احتباس صفرا، استئاتوز^۲ بود که در گروه مالاتیون، مالاتیون همراه بنزن و بنزن هپاتوتوکسیسیته مشاهده شد.

در مطالعات هیستوپاتولوژیک کلیه در گروه‌های مختلف، پارامتر مورد مطالعه بررسی تومور و سمیت سلولی و نکروز در نواحی لوله‌های پیچیده نزدیک (PCT)، لوله پیچیده دور (DCT)، مجاری جمع‌کننده (CT)، ضایعات گرومرول و نفزیت بینابینی بود که در گروه مالاتیون همراه بنزن و بنزن نکروز سلول‌های کلیوی مشخص شد.

همان‌طور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود با تأثیر دادن غلظت‌های مختلف از مالاتیون (۱۰۰، ۵۰، ۲۵، ۱۰ میکروگرم بر لیتر) بر سلول‌های L929 فیروبلاست موش، مهارکنندگی رشد سلول‌ها قابل ملاحظه بود به‌صورتی که بالاترین مهارکنندگی در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم بر لیتر به ترتیب ۲۷/۱۹ و ۳۰/۲۴ بود.

میانگین جذب نوری در غلظت‌های ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به‌طور معنی‌داری با میانگین جذب نوری با گروه کنترل متفاوت است و از این رو $P < 0.05$ به دست آمده است.

میانگین جذب نوری در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ به ترتیب ۰/۳ و ۰/۳۲، به دست آمده است که این نشان‌دهنده مرگ سلولی بالا و اثر سمیت سلولی بیشتر نسبت به گروه کنترل می‌باشد.

جدول ۱. درصد فراوانی میکرونوکلتوس‌ها در مالاتیون

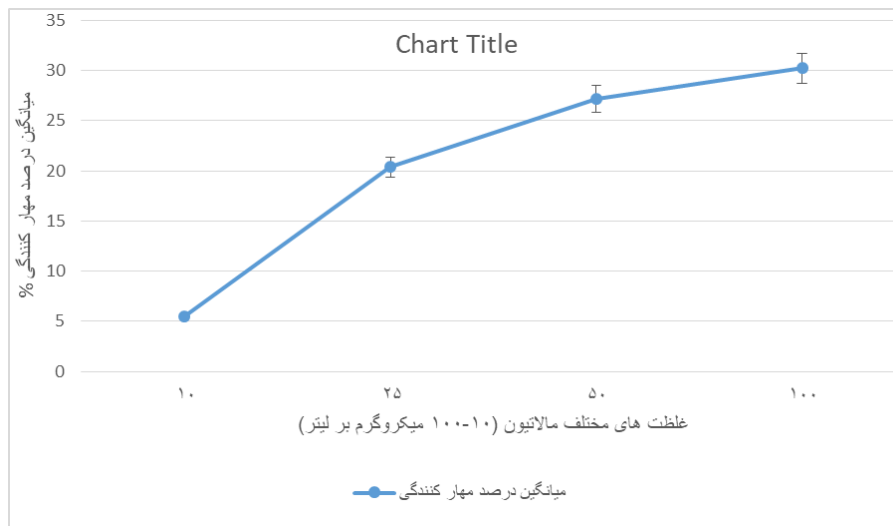
غلظت	میانگین جذب نوری ± انحراف معیار	میانگین درصد مهارکنندگی
۱۰	۰.۹ ± ۰.۱	۵/۵
*۲۵	۰.۴ ± ۰.۷	۲۰/۳۷
*۵۰	۰.۳ ± ۰.۲	۲۷/۱۹
*۱۰۰	۰.۳۲ ± ۰.۲۱	۳۰/۲۴
کنترل	۰.۱ ± ۰.۱	

P<0.05*

ارتباط مهارکنندگی رشد سلول‌ها و غلظت‌های مورد استفاده در سلول‌های سرطانی در نمودار ۱ قابل مشاهده است. طبق این نمودار روند مهار کنندگی رشد سلول‌ها با افزایش غلظت افزایش می‌یابد.

طول موج نوری خوانده شده و میانگین مهارکنندگی رشد سلول‌ها (مالاتیون)

با بررسی جذب نوری خوانده شده از دستگاه الیزا در پلیت‌های مختلف می‌توان سمیت سلولی غلظت‌های مورد استفاده مالاتیون را بر سلول‌ها مشاهده کرد.



نمودار ۱. اثر غلظت‌های متفاوت مالاتیون (10-100 µg/ml) که به صورت لگاریتمی نشان داده شده است بر سلول‌های فیبروبلاست L929 موش پس از ۲۴ ساعت با آزمون MTT

۲۲/۹۰ میکروگرم بر میلی لیتر بود.

هر نقطه بیانگر Mean±SD است. تعداد تکرار برای هر غلظت

۳ بار می‌باشد. IC₅₀ دارو برای این رده سلولی بعد از ۲۴ ساعت

جدول ۲. درصد فراوانی میکرونوکلتوس‌ها در مالاتیون

غلظت‌های مورد استفاده (میکروگرم بر میلی لیتر)	فراوانی میکرونوکلتوس (%)
کنترل	۳/۰۴
۱۰	۳/۶۲
۲۵	۳/۸۵
۵۰	۳/۶۵
۱۰۰	۴/۰۴

نوری در غلظت‌های ۱۰، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ میکروگرم بر لیتر به‌طور معنی‌داری با میانگین جذب نوری با گروه کنترل متفاوت می‌باشد و از این رو $P < 0.05$ به‌دست آمده است.

میانگین جذب نوری در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ به‌ترتیب ۲۹۸ و ۲۳۴٪ به‌دست آمده است که این نشان‌دهنده مرگ سلولی بالا و اثر سمیت سلولی بیشتر نسبت به گروه کنترل می‌باشد.

با توجه به جدول ۲ درصد فراوانی میکرونوکلیوس‌ها در مالاتیون با توجه به این که با افزایش دوز افزایش داشته است اما معنی‌دار نیست. با تأثیر دادن غلظت‌های مختلف از بنزن (۱۰۰، ۵۰، ۲۵، ۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) بر روی سلول‌های L929 فیبروبلاست موش، مهارکنندگی رشد سلول‌ها قابل ملاحظه بود به صورتی که بالاترین مهارکنندگی در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم بر لیتر به‌ترتیب ۵۴/۴۶ و ۶۳/۷۵ بود. میانگین جذب

جدول ۳. میانگین درصد مهارکنندگی بنزن

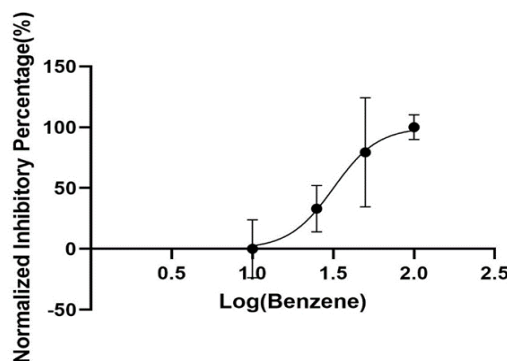
غلظت	میانگین جذب نوری \pm انحراف معیار	میانگین درصد مهارکنندگی
*۱۰	0.472 ± 0.43	۱۸/۷۴
*۲۵	0.415 ± 0.65	۳۳/۶
*۵۰	0.298 ± 0.62	۵۴/۴۶
*۱۰۰	0.234 ± 0.49	۶۳/۷۵
کنترل	0.509 ± 0.8	

$P < 0.05^*$

سلول‌ها مشاهده کرد. ارتباط مهارکنندگی رشد سلول‌ها و غلظت‌های مورد استفاده در سلول‌های سرطانی در نمودار قابل مشاهده است. روند مهارکنندگی رشد سلول‌ها با افزایش غلظت افزایش می‌یابد.

طول موج نوری خوانده شده و میانگین مهارکنندگی رشد سلول‌ها (بنزن)

با بررسی جذب نوری خوانده شده از دستگاه الیزا در پلیت‌های مختلف می‌توان سمیت سلولی غلظت‌های مورد استفاده بنزن را بر



نمودار ۲. تأثیر غلظت‌های متفاوت بنزن ($100-10 \mu\text{g/ml}$) که به صورت لگاریتمی نشان داده شده بر سلول‌های فیبروبلاست L929 موش سوری پس از ۲۴ ساعت توسط آزمون MTT

هر نقطه بیانگر $\text{Mean} \pm \text{SD}$ است. تعداد تکرار برای هر غلظت ۳ بار می‌باشد. با تأثیر دادن غلظت‌های مختلف از ترکیب مالاتیون به همراه بنزن (۱۰۰، ۵۰، ۲۵، ۱۰ میکروگرم بر لیتر) بر سلول‌های L929 فیبروبلاست موش، مهارکنندگی رشد سلول‌ها قابل ملاحظه بود.

جدول ۴. میانگین درصد مهارکنندگی

غلظت میکروگرم بر میلی‌لیتر	میانگین جذب نوری \pm انحراف معیار	میانگین درصد مهارکنندگی
*۱۰	0.42 ± 0.3	۴۲/۷۵
*۲۵	0.43 ± 0.1	۴۰/۰۳
*۵۰	0.40 ± 0.1	۵۰/۴۴
*۱۰۰	0.32 ± 0.3	۶۰/۳۲
کنترل	0.5 ± 0.3	

است. IC_{50} دارو برای این رده سلولی پس از ۲۴ ساعت ۳۱/۷۳ میکروگرم بر میلی لیتر بود.

میانگین جذب نوری در غلظت‌های ۱۰، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ میکروگرم بر لیتر به‌طور معنی‌داری با میانگین جذب نوری با گروه کنترل متفاوت می‌باشد و از این رو $P < 0.05$ به‌دست آمده

جدول ۵. درصد فراوانی میکرونوکلئوس‌ها در بنزن

غلظت‌های مورد استفاده (میکروگرم بر میلی لیتر)	فراوانی میکرونوکلئوس (%)
کنترل	۳/۵۵
۱۰	۱۳/۰۵
۲۵	۱۸/۰۲
*۵۰	۲۱/۰۹
*۱۰۰	۲۴/۰۶

$P < 0.05$ *

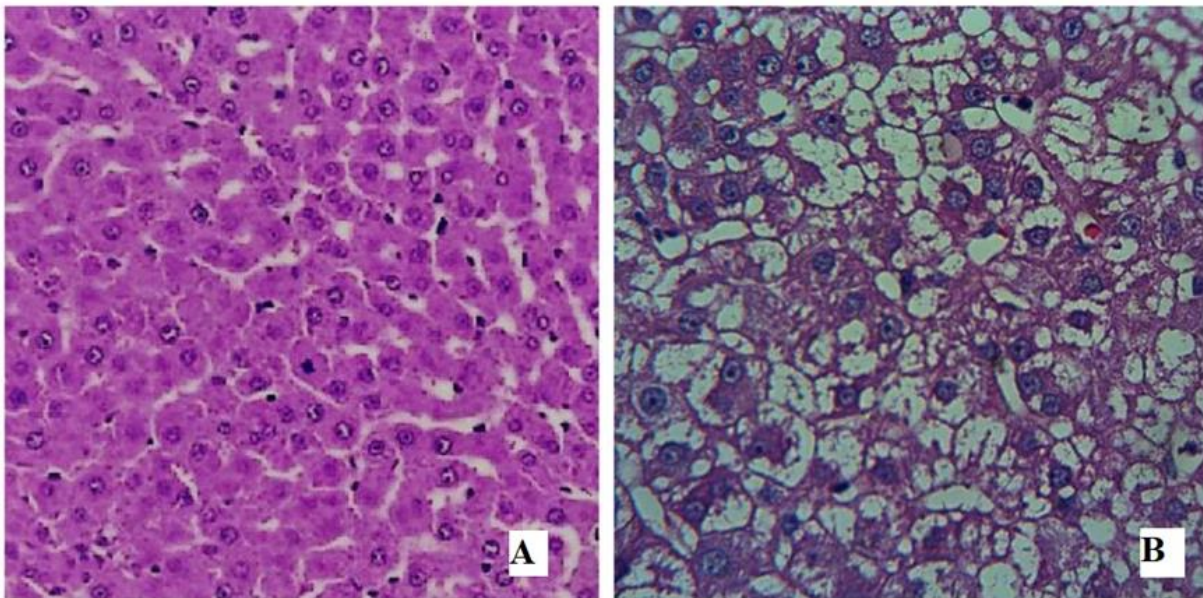
جدول ۶. درصد فراوانی میکرونوکلئوس‌ها در ترکیب مالاتیون و بنزن

غلظت‌های مورد استفاده (میکروگرم بر میلی لیتر)	فراوانی میکرونوکلئوس (%)
کنترل	۳/۰۱
۱۰	۳/۴
۲۵	۳/۹
۵۰	۶/۸
*۱۰۰	۷/۱

$P < 0.05$ *

معنی‌دار است.

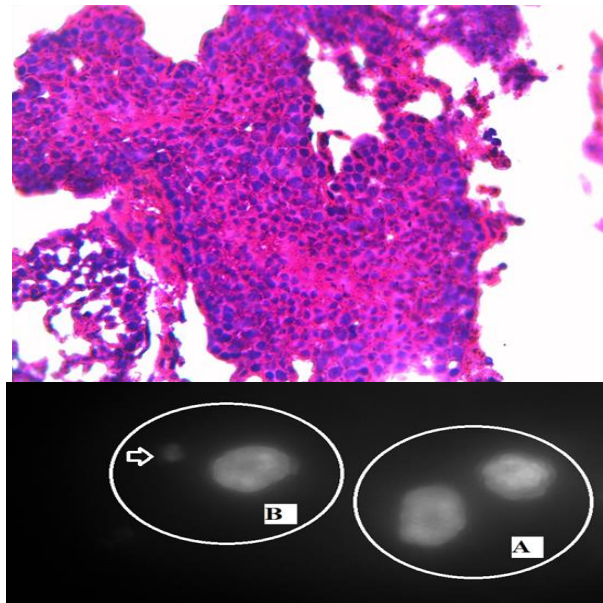
با توجه به جدول ۶ درصد فراوانی میکرونوکلئوس‌ها در ترکیب مالاتیون با بنزن در غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر



شکل ۱. کبد در گروه دریافت‌کننده مالاتیون به‌صورت جلدی به میزان ۱ میلی لیتر با غلظت ۱ PPM از طریق چکاندن در ناحیه پوست پشت حیوان است (۴۰۰× H&E)

A: بافت کبد در گروه شاهد با مورفولوژی طبیعی نشان داده شده است.

B: تجمع چربی در سیتوپلاسم سلول‌های کبدی و پیکنوزده شدن هسته سلول‌های کبدی در تصویر با نشان‌گر مشخص است.



A: سلول دو هسته‌ای دارای میکرونوکلئوس
 B: سلول دو هسته‌ای
 شکل ۲. مالاتیون با غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر

۴. بحث و نتیجه‌گیری

مالاتیون، بر پارامترهای خونی تأثیر دارد. در مطالعه‌های دیگر، مالاتیون با دوز بالا، سبب نارسایی مغز استخوان و کم‌خونی آپلاستیک شد (۲).

اگرچه مطالعه سمیت حاد با مالاتیون، تأثیرات زبان‌آور در انسان و حیوانات تحت آزمایش را نشان می‌دهد اما پژوهش سمیت مزمن نشان داد که گروهی از داوطلبانی که در مدت زمان ۱/۵ ماه، دوز کم مالاتیون مصرف کرده‌اند، مهار قابل توجهی از فعالیت کولین استراز خون را نشان ندادند (۱). اطلاعات کمی در مورد تأثیرات کبدی مالاتیون در کارگران کشاورزی وجود دارد. با این حال، داده‌های علمی اخیر نشان داده‌اند که مالاتیون و سایر سموم دفع آفات باعث تحریکات بافتی کبد و کلیه در حیوانات آزمایشگاهی می‌شوند (۳). همچنین گزارش شده است که مالاتیون باعث ایجاد آسیب ژنتیکی در انواع پژوهش‌های آزمایشگاهی، از جمله بررسی موش‌های تغذیه شده با دانه‌های آغشته با مالاتیون می‌شود. در پژوهش‌های اپیدمیولوژیک با سلول‌های خونی انسان آسیب DNA و استرس اکسیداتیو به‌عنوان فرایندی پیشنهاد شده است که می‌تواند به‌صورت مکانیکی قرار گرفتن در معرض آفت‌کش‌ها را به تعدادی از پیامدهای سلامتی مرتبط کند. طبق آژانس محافظت محیط زیست آمریکا، شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد مالاتیون باعث سرطان می‌شود. در

سازمان‌های معتبر بین‌المللی قانون‌گذاری محیط زیست و بهداشتی در دنیا از جمله آژانس بین‌المللی تحقیقات سرطان (IARC) و سازمان حفاظت محیط زیست آمریکا (EPA) بنزن را به عنوان گروه اول مواد سرطان‌زا (گروه A یا کاملاً سرطان‌زا) طبقه‌بندی کرده است. با توجه به قطعی بودن این تأثیرات، در مطالعه حاضر از بنزن به‌عنوان یک سرطان‌زای قطعی (کنترل مثبت) استفاده شده است. در آوریل ۲۰۰۰، ایالات متحده آمریکا EPA مالاتیون را این‌گونه توصیف کرد: «شواهد، حاکی از سرطان‌زایی است اما برای ارزیابی پتانسیل سرطان‌زا انسانی توسط کلیه مسیرهای مواجهه، کافی نیست». این طبقه‌بندی با توجه به یافته‌های کمینوا مبنی بر این که مالاتیون باعث ایجاد کارسینوم سلول‌های کبدی در حیوانات آزمایشگاهی با دوزهای بالاتر از مواجهه می‌شود، انجام شد (۹).

پژوهش‌های اخیر بر لزوم تقویت طبقه‌بندی سرطان‌زایی EPA تأکید کرده است. در این مطالعه تأثیرات مالاتیون به‌عنوان یک آفت‌کش پر مصرف روی موش سوری نر بررسی شد و به‌صورت درون‌تنی پس از تماس جلدی به بررسی پاتولوژیک ارگان‌های داخلی پرداخته شد و همچنین تأثیرات آن بر فیبروبلاست‌های رده 1929 موش سوری بررسی و سایر آزمون‌های سمیت سلولی نیز انجام شد. پژوهش‌های انجام شده نشان دادند که دوزهای متفاوت از

در موش‌ها مشاهده نکردند (۱۷).

پژوهشگران، یک مطالعه ۸۰ هفته‌ای با مالاتیون را در موش‌های سوری با دوزهای ۰، ۱۴۹۰ یا ۲۹۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در روز انجام دادند. آنها هیچ مدرکی مبنی بر ارتباط بین بروز تومور و قرار گرفتن در معرض مالاتیون پیدا نکردند (۲۸).

در یک مطالعه دو ساله، پژوهشگران، دوزهای خوراکی ۲، ۳۵۹، ۷۳۹ یا ۸۶۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم مالاتیون در روز را به موش‌های سوری ماده تجویز کردند. آن‌ها از نظر آماری، افزایش قابل توجهی را در آدنوم‌های کبدی و کارسینوما بالاترین دوز آزمایش شده مشاهده کردند (۱۳).

در یک پژوهش عیارسنجی زیستی در موش‌ها، مالاتیون را با دوزهای مختلف از ۱۷/۴ 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 (۲۹).

EPA در سال ۱۹۹۹ مالاتیون را به‌عنوان سرطان‌زای پیشنهادی، طبقه‌بندی کرد. علاوه بر این در مقاله‌ای که کامبو و همکاران در سال ۲۰۰۱ انتشار دادند بیان شده است که اطلاعات ما در مورد اثرات سرطان‌زایی مالاتیون به حدی نیست که بتوانیم طبقه‌بندی قاطعی در مورد آن ارائه کنیم.

اطلاعات کمی در مورد اثرات کبدی مالاتیون در کارگران کشاورزی وجود دارد. با این حال، داده‌های علمی اخیر نشان داده‌اند که مالاتیون و سایر سموم دفع آفات باعث تحریک بافت کبدی و کلیه در حیوانات آزمایشگاهی می‌شوند.

در پژوهشی که در سال ۲۰۰۳ انجام شد به اثرات پوستی مالاتیون بر ارگان‌های داخلی بدن در رت پرداختند. موش‌ها ۴ ساعت در روز به مدت ۲۸ روز از ناحیه دم آغشته به مالاتیون شدند. دوزهای مورد استفاده ۸ mg و ۱۶ mg در مطالعه‌ای که به بررسی اثرات پاتولوژی مالاتیون بر بافت کبد و کلیه ماهی حوض پرداخته بودند مشاهده کردند که علائم آسیب‌شناسی در کبد شامل نکروز، خون‌ریزی و هیپرتروفی بود. در کلیه نیز تخریب لوله‌ها و خونریزی و دژنراسیون واکوئلی مشاهده شد؛ بنابراین از این مطالعه این نتیجه حاصل می‌شود که در غلظت‌های کم و کمتر از کشنده نیز سم اثرات تخریبی خود را بر ماهی می‌گذارد (۱۶). در مطالعه ما بافت کلیه، آثار سمیت سلولی را نشان نداد.

پژوهشی که تأثیرات دوزهای غیرکولینرژیک مالاتیون

مطالعه صادقی، کوهی و همکاران در سال ۲۰۱۳ که در مورد تأثیرات رفتاری مالاتیون انجام شد ضمن نشان دادن رفتار اضطرابی ناشی از تماس مزمن با مالاتیون در موش نر بالغ، سمیت حاد ارگانوفسفاتها در جوندگان پس از در معرض قرار گرفتن طولانی نیز نشان داده شده است (۲۹). جذب مالاتیون از طریق دستگاه گوارش، دستگاه تنفسی و مسیر اصلی آن، پوست اتفاق می‌افتد. پوست مسیر غالب در معرض قرار گرفتن افرادی است که به‌واسطه شغل‌شان با آفت‌کش‌ها سر و کار دارند.

جذب پوستی مالاتیون، سریع است. با این حال، میزان جذب بسیار وابسته به دوز مصرفی و محل قرار گرفتن در معرض آن است (۷). در یک پژوهش توکسوکینتیک دیگر، موش‌های صحرایی نر که به‌صورت خوراکی به میزان ۲۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم مالاتیون استفاده کردند و همچنین از طریق پوستی در معرض ۴۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم مالاتیون قرار گرفتند مشاهده شد که بیش از ۹۰ درصد مالاتیون جذب‌شده طی ۲۴ ساعت، از طریق ادرار از بین می‌رود. مالاتیون باقی‌مانده در مدفوع، خون، روده‌ها، کبد و کلیه‌ها تشخیص داده شد. براساس تغییرات وزن اندام در یک مطالعه دو هفته‌ای پس از استنشاق مالاتیون در موش‌ها، سایر اندام‌های هدف برای توزیع مالاتیون و سمیت شامل کبد و کلیه بودند (۳۰). در پژوهش ما بافت کبد هیپاتوتوکسیسیته ملایم را نشان داد که در یافته‌های سایر پژوهشگران نیز مشاهده شده است.

مشاهداتی از تأثیرات سرطان‌زایی آفت‌کش‌ها در حیوان که نشان‌دهنده افزایش ابتلا به بدخیمی در کارگران در معرض است سبب تمرکز و آزمایش‌های بیشتر بر تأثیرات این سموم بر کارگران می‌باشد. پژوهش‌های متعددی روی موش انجام شده است تا مشخص شود آیا مالاتیون پتانسیل ایجاد سرطان را دارد یا خیر (۱۲). نتایج مطالعه‌ای که در آن موش‌ها به مدت طولانی به‌صورت خوراکی در معرض مالاتیون قرار گرفتند نشان‌دهنده افزایش شیوع تومورهای دهانی و بینی در موش رت و تومور کبدی در موش سوری بود (۱۴).

در یک مطالعه ۸۰ هفته‌ای در موش‌ها، مالاتیون با دوزهای ۰، ۳۵۹ و ۶۲۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم در روز به‌صورت خوراکی تجویز شد. پژوهشگران شواهد آماری مهمی از سرطان‌زایی پیدا نکردند (۱۷).

در مطالعه‌ای دیگر پژوهشگران، مالاتیون را در رژیم غذایی به میزان ۰، ۱۶۶، ۳۳۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم در روز به مدت ۱۰۳ هفته به موش‌های رت تجویز کردند، آثاری از سرطان را

شد در هیچ‌کدام از غلظت‌ها تعداد میکرونوکلیئوس‌ها معنی‌دار نبوده است. در پژوهش ما نیز با وجود افزایش تعداد میکرونوکلیئوس‌ها به‌صورت وابسته به دوز در گروه مالتیون اما معنی‌دار نبودند (۲۷).

یافته‌های مقایسه‌ای در دیگر پژوهش‌ها نشان می‌دهد که مالتیون در دوزهای ۲.۵، ۵، ۱۰ به‌صورت وابسته به دوز سبب افزایش ناهنجاری‌های کروموزومی می‌شود (۱۷).

نتایج مطالعه مزبور نشان داد که میزان هورمون‌های تستوسترون، FSH در گروه موردآزمایش کاهش معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل داشته است $P < 0.05$. افزایش میزان سرمی هورمون‌های جنسی در ارزیابی باروری انسان و حیوان مفید شناخته شده است. به‌طور کلی کاهش قابل توجه غلظت هورمون‌های جنسی در فعالیت باروری باعث اختلالات باروری در افراد مختلف که در معرض مواد شیمیایی هستند، می‌شود. نتایج مطالعه‌ای که به‌منظور بررسی نقش محافظتی عصاره چای سبز بر عملکرد بافت تخمدان روی موش‌های صحرایی تیمارشده با حشره‌کش مالتیون صورت گرفت بیان‌گر این است که مالتیون، تأثیرات سوء بر میزان ترشح هورمون‌های جنسی موش‌های ماده صحرایی و فرایند اووژنز دارد و عصاره چای سبز باعث کاهش تأثیرات منفی مالتیون می‌شود (۲۰). در پژوهش رحمانیان و همکاران که به‌منظور بررسی تأثیر حشره‌کش مالتیون بر فیزیولوژی تولیدمثلی ماده در موش‌های صحرایی صورت گرفت نتایج نشان داد که مالتیون می‌تواند احتمالاً دارای تأثیرات سوء بر میزان ترشح هورمون‌های جنسی موش‌های صحرایی ماده و اووژنز باشد (۲۷).

قدردانی و تشکر

نویسندگان از بخش علوم زیستی مقایسه‌ای دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران کمال تشکر را دارند. نویسندگان این مقاله تعارض در منافع ندارند.

(۲۰-۰۰۱ میکرومولار) بر آپوپتوز فیبروبلاست موش L929 موش را بررسی کرده است با استفاده از تجزیه و تحلیل فعال‌سازی فلوسیتومتری و فعال‌سازی کاسپاز نشان داده است که مالتیون باعث افزایش آپوپتوز در سلول‌های L929 به‌صورت وابسته به دوز و زمان می‌شود (۱۸). در پژوهش ما در آزمون MTT غلظت‌های ۲۵ تا ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر معنی‌دار بود.

سالوادوری و همکاران در پژوهشی در سال ۱۹۸۸ دریافتند که مالتیون باعث القای انحرافات کروموزومی در سلول‌های پیکری (مغز استخوان) و سلول‌های جنسی اولیه (اسپرمتوسیت اولیه) می‌شود.

پژوهش‌های صورت گرفته در خصوص سمیت ژنتیکی افراد در معرض مالتیون نشان‌دهنده افزایش انحرافات کروموزومی نسبت به سایر افراد می‌باشد. پژوهشی مشابه که گراج به بررسی اثرات سیتوژنتیک کارگران در معرض مالتیون انجام داده است نشان داد که انحرافات کروموزومی به‌صورت وابسته به دوز افزایش یافته است (۱۱).

ارزیابی ریسک سمیت سلولی کارگران در معرض مخلوطی از آفت‌کش‌های ارگانو فسفره که زلجریک و همکاران انجام داده‌اند حاکی از افزایش ناهنجاری‌های کروموزومی از جمله قطعات آسنتریک (کروموزوم‌هایی که سانترومر ندارند) بود. همچنین تغییرات کروموزومی مانند میکرونوکلیئوس هم توسط مالتیون گزارش شده است (۳۱).

پژوهش‌های دیگر صورت گرفته در خصوص تأثیرات سمیت ژنی مالتیون نشان‌دهنده آسیب‌های کروموزومی تغییرات میتوزی و تبادلات کروموزوم‌های خواهری در انسان و حیوان است به همین ترتیب کومار و همکاران تأثیر مالتیون را بر سلول‌های نوک ریشه (root tip) مطالعه قرار دادند و افزایش ناهنجاری‌های کروموزومی را به‌صورت وابسته به دوز مشاهده کردند (۳۰).

در پژوهشی که به‌منظور اثرات سمیت ژنی مالتیون روی سلول‌های HTC رت صورت گرفت مالتیون با غلظت‌های ۰.۹٪، ۰.۰۰۹٪، ۰.۰۰۹٪ در ۵ سی‌سی محیط کشت انکوبه

References

- [1]. Alfaro S, Pizarro M, Calaf M. Malignant transformation of rat kidney induced by environmental substances and estrogen. Intl J Environ Res Public Health. 2012; 9 (5): 1630-1648.
- [2]. Alavanja MC, Hofmann JN, Lynch CF, Hines CJ, Barry KH, Barker J et al. Non-Hodgkin lymphoma risk and insecticide, fungicide and fumigant use in the agricultural health study. Plos one. 2014; 9(10): 25-30.
- [3]. Arava VR, Nadkarni V, Jasti V, Process for the preparation of Malathion and its intermediate. J Arava. 2015; 7 (5): 9-11.
- [4]. Blasiak J, Stankowska D, Genotoxicity of malaoxon: Induction of oxidized and methylated bases and protective effect of α -tocopherol. Pestic Biochem Physiol. 2011; 71(4): 88-96.
- [5]. Sirvastava A, Singh D. Assessment of Malathion toxicity on cytophysiological activity, DNA damage and antioxidant enzymes in root of Allium cepa model. Scientific report. 2020; 886(10).113-121.
- [6]. Calaf GM, Echiburú-Chau C. Synergistic effect of Malathion and estrogen on mammary gland carcinogenesis. Oncol

- Rep.2012; 28(2):640-646.
- [7]. Coban FK, Ince S, Kucukkurt HH, Hazman O, Boron attenuates Malathion-induced oxidative stress and acetylcholinesterase inhibition in rats. *Drug Chem Toxicol.* 2014;38(4):391-399.
- [8]. EPA . Interactive Chemical Safety for Sustainability (iCSS) Dashboard. Washington (DC): United States Environmental Protection Agency, 2015; pp: 27-145
- [9]. EPA. Toxicity Reference Database (ToxRefDB). Computational Toxicology Research Program, United States Environmental Protection Agency. Available from ToxRefDB,2015; pp: 854-1065
- [10]. Franco JL, Posser T, Mattos JJ, Trevisan R. Biochemical alterations in juvenile carp (*Cyprinus carpio*) exposed to zinc: Glutathione reductase as a target .*Toxicol Lett.*2009; 187(3):137-143.
- [11]. Amira M. Organophosphate toxicity: updates of Malathion potential toxic effects in mammals and potential treatments. *Environmental science and pollution research .* 2020;27(5) 26036-26057.
- [12]. Giri A, Giri S, Sharma GD. Malathion and fenvalerate induce micronuclei in mouse bone marrow cells. *Environ Mol Mutagen.*2011; 52(8):607-613.
- [13]. Guha N, Ward MH, Gunier R, Colt JS, Lea CS, Buffler PA et al. Characterization of residential pesticide use and chemical formulations through self-report and household inventory: the Northern California Childhood Leukemia study. *Environ Health Perspect.* 2011;121(2):276-282.
- [14]. Hariri A, Moallem S, 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.*2011; 18(6) 499-504.
- [15]. Hamzic E, Whiting K, Gordon Smith E, Pettengell R. Characterization of bone marrow mesenchymal stromal cells in aplastic anaemia. *Br J Haematol.* 2015;169(6):804-813.
- [16]. Health Canada. Concentration of contaminants & other chemicals in food composites. Canadian Total Diet Study. Ottawa (ON): Health Canada, Food and Nutrition. 2014
- [17]. IARC. World cancer report. International Agency for Research on Cancer;2014; 115-120.
- [18]. IFA. GESTIS International Limit Values. Malathion. Bonn, Germany: Institut für Arbeitsschutz der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung, 2015
- [19]. Jara E, Winter C K, Safety levels for organophosphate pesticide residues on fruits, vegetables, and nuts. *International Journal of Food Contamination.* 2016;6(1): 1-8.
- [20]. Jira D, Janousek S, Pikula J, Vitula F, Kejlova K. Toxicity hazard of organophosphate insecticide Malathion identified by in vitro methods. *Neuroendocrinol Lett.* 2013; 33(11): 3-9.
- [21]. Karami-Mohajeri S, Abdollahi M. Toxic influence of organophosphate, carbamate, and organochlorine pesticides on cellular metabolism of lipids, proteins, and carbohydrates: a systematic review. *Human & experimental toxicology.*2013; 30(9), 1119-1140.
- [22]. Abdel-Salam OME, Galal AF, Hassanane MM et al . Grape seed extract alone or combined with atropine in treatment of Malathion induced neuro- and genotoxicity. *J Nanosci Nanotechnol.*2018; 18:564-575.
- [23]. Lerro C C, Koutros S, Andreotti G, Friesen M, Alavanja M., Blair A, Zhang Y. Organophosphate insecticide use and cancer incidence among spouses of pesticide applicators in the Agricultural Health Study. *Occupational and environmental medicine.* 2015; 72(10): 736-744.
- [24]. Akbel E, Arslan-Acaroz D, Demirel HH. The subchronic exposure to Malathion, an organophosphate pesticide, causes lipid peroxidation, oxidative stress, and tissue damage in rats: the protective role of resveratrol. *Toxicol Res (Camb).* 2018;7(9):503-512.
- [25]. Al-Hussaini TK, Abdelaleem AA, Elnashar I, Shabaan OM, Mostafa R, El-Baz MA, El-Deek SE, Farghaly TA. The effect of follicular fluid pesticides and polychlorinated biphenyls concentrations on intracytoplasmic sperm injection (ICSI) embryological and clinical outcome. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology.* 2018;220(78):39-43.
- [26]. Antony A, Shilpa O. Malathion induced cancer-linked gene expression in human lymphocytes. *Environ Res.*2020;15(9): 182-186.
- [27]. Moore PD, Patlolla AK, Tchounwou PB. Cytogenetic evaluation of Malathion-induced toxicity in Sprague-Dawley rats, *Mutation Research.* 2011;725(2): 78-82.
- [28]. Ryeo K, Bomi K. Effects of chlorpyrifos on life cycle parameters, cytochrome P450S expression, and antioxidant systems in the monogonont rotifer *Brachionus koreanus*. *Environmental Toxicology,* 2016;35(6) : 1449- 1457.
- [29]. Sadeghi Hashjin G, Sadeghi dizaj F, Attaran H, koohi M. Malathion induces anxiety in the male adult mouse. *Arch Med Sci.*2013; 9(2): 368-371.
- [30]. Arab SA, Nikravesh MR, Jalali M, Fazel A . Evaluation of oxidative stress indices after exposure to Malathion and protective effects of ascorbic acid in ovarian tissue of adult female rats. *Electron Physician.* 2018;10(5):6789-6795.
- [31]. Bhardwaj JK, Saraf P, Kumari P, Mittal M, Kumar V. N-Acetyl cysteine mediated inhibition of spermatogonial cells apoptosis against Malathion exposure in testicular tissue. *Journal of Biochem Molecular Toxicol.* 2018; 32 (4): 224-228.