M.Sc. thesis abstract

Neurotoxic, Genotoxic and Oxidative Stress of Certain Organophosphorus Compounds in Albino Rats: The Protective Role of N-Acetylcysteine

Eslam Mohamed Ezz El-Din Abdallah Ibrahim[1], Nabila Saber Ahmed[1], Khaled Ahmed Osman[1], Ayman Salah El-Seedy[2]

[1]Pesticide Chemistry and Technology Department, Faculty of Agriculture Alexandria University
[2] Genetics Department, Faculty of Agriculture, Alexandria University

ABSTRACT

The present study aimed to investigate the toxicity of either chlropyrifos-ethyl (CPF-E) or chlropyrifos-methyl (CPF-M) on albino male rats by determining the median lethal doses (LD_{50}). Also, the present study was carry out to study the effect of the sub-lethal doses of each pesticide alone or combined with N-acetylcysteine (NAC) orally administered after 1, 7 and 14 daily doses by observing the changes in neurobehavior, and investigating certain biomarkers and cytogenetic parameters. The present results illustrated that the oral LD_{50} values were found to be 197.04 and 2020.73 mg/kg b.w., for CPF-E and CPF-M, respectively. Also, the results showed that when rats orally treated either with 1/25 LD_{50} of CPF-E, 1/10 LD_{50} of CPF-M, 150 mg/kg b.w. of NAC, 150 mg/kg b.w. of NAC plus 1/25 LD_{50} of CPF-E or 150 mg/kg b.w. of NAC plus 1/10 LD_{50} of CPF-M after 1, 7 and 14 daily doses, both CPF-E and CPF-M induced significant changes in the neurobehavior activity, body gain and weight and relative of some organs, inhibit the enzyme activities of AChE, BuChE, PON, ATP-ase, CAT and GST as well as GSH level, while the levels of NO, Ca^{+2} , LPO, CYC-R and total protein significantly increased in the tested tissues. Regarding the effect of CPF-E and CPF-M on genetic parameters, the obtained results revealed that both CPF-E and CPF-M in treated animals induced significant increase in the chromosomal aberration, micronucleus and DNA concentration, while mitotic index were significantly decreased compared with control animals. However, when NAC co- administered either with CPF-E or CPF-M attenuated the genetic damage of these parameters compared to rats treated only either with CPF-E or CPF-M. It general, both CPF-E and CPF-M induced adverse outcomes in the neurobehavioral activities besides the biochemical and genetic markers in treated animals. However, the supplementation of NAC to rats treated either with CPF-E or CPF-M attenuated the tested parameters and significantly restored to control values. Because NAC exhibited marked beneficial effects against CPF-E and CPF-M toxicity, therefore it has a role in the management of some OPs poisoning such as chlropyrifos-ethyl and chlropyrifos-methyl.

الملخص

تهدف الدراسة الحالية إلى تقدير سمية مبيدى الكلوروبيريفوس-إيثايل والكلوروبيريفوس-ميثايل على ذكور الجرذان البيضاء وذلك بتقدير الجرعة القاتلة لنصف عدد الجرذان المعاملة، وكذلك دراسة تأثير الجرعة تحت المميتة من المبيدين منفردين أو بعد خلطهما مع مركب ن– أسيتيل سيستئين لدراسة التاثير الوقائى لهذا المركب على الجرذان بعد معاملتها بجرعة واحدة او بجرعات متكررة لمدة 7 و14 يوم، مع ملاحظة التغيرات فى السلوك العصبى وقياس بعض المؤشرات البيوكيمائية والتاثيرات الضارة على الكروموسومات و المادة الوراثية.

تمثلت دراسات التغير فى السلوك العصبى فى عدة اختبارات مثل الميدان المفتوح، اللوح المثقوب، متاهة الصليب المرتفع وصندوق الاضاءة/الظلام، أما المؤشرات البيوكيمائية فقد تمثلت فى تقدير الزيادة أو الفقد في وزن الحيوانات وكذلك تقدير نشاط بعض الانزيمات مثل أنزيمى الأسيتيل والبيوتريل كولين إستريز، إنزيم ادينوسين ثلاثي الفوسفات، إنزيم باراأوكسونيز، إنزيم الكاتاليز، انزيم الجلوتاثيون اس ترانسفيريز وأخيرا اختزال السيتوكروم سى، بالاضافة الى تقدير مستويات كل من الجلوتاثيون المختزل، أكسدة اللبيدات، الكالسيوم، أكسيد النيتريك والبروتين الكلى. من ناحية اخرى اشتملت مؤشرات السمية الوراثية تقدير كل من الشذوذ الحادث للكروموسومات ومدى الانقسام الميتوزى للخلايا واختبار النواه الصغيرة بالاضافة الى تركيز الحمض النووى (دى ان ايه) فى نسيج الكبد.

اولا: السمية الحادة

تم تجريع ذكور الجرذان بجرعات مختلفة من مبيد الكلوربيريفوس-إيثايل قدرها 80، 132، 218 و 359 ملليجرام/ كجم من وزن الجسم، بينما في حالة الكلوربيريفوس- ميثايل كانت الجرعات 550، 1183، 2542 و 5466 ملليجرام/ كجم من وزن الجسم، على التوالى فى 4 مجاميع كل مجموعة تحتوى على 5 فئران، بالإضافة إلى استخدام مجموعة ضابطة تم تجريعها بزيت ذرة. تم ملاحظة علامات السمية على الفئران وعد الحيونات الميتة حتى اليوم الرابع عشر .أظهرت النتائج أن قيمة الجرعة النصف مميتة لمبيدي الكلوربيريفوس- إيثايل وكلوربيريفوس- ميثايل قد بلغت 197.04 و 2020.73 ملليجرام/كجم من وزن الجسم، على التوالى.

ثانياً: تأثير المعاملات على السلوك العصبى

تم تقسيم الحيوانات عشوائياً إلى 6 مجاميع كل مجموعة تحتوي على 5 حيوانات. المجموعة الأولى تم تجريعها بزيت الذرة كمعاملة ضابطة، بينما المجموعتين الثانية والثالثة تم تجريعهما يوميا لمدة1، 7 و14 يوم بجرعة تحت مميتة قدرها 25/1 من قيمة الجرعة النصف مميتة (7.88 ملليجرام/كجم) من مبيد الكلوروبيريفوس- إيثايل و10/1 للكلوربيريفوس- ميثيل (202.07 ملليجرام/كجم)، على التوالي. أما المجاميع الرابعة والخامسة والسادسة تم تجريعها بجرعة قدرها 150 ملليجرام/ كجم وزن الجسم من مركب ن- أسيتيل سيستئين، 25/1 من قيمة الجرعة النصف مميتة من الكلوربيريفوس- إيثايل +150 ملليجرام/ كجم من وزن الجسم من مركب ن- اسيتيل سيستئين و 10/1 من قيمة الجرعة النصف مميتة من الكلوروبيريفوس-ميثايل +150 ملليجرام/ كجم من وزن الجسم من مركب ن- أسيتيل سيستئين، على التوالي لمدة لمدة 1، 7 و14 يوم. تم ملاحظة الحيوانات خلال فترة التجربة وإجراء إختبارات السلوك العصبي. أظهرت النتائج أن المعاملة بمبيدي الكلوروبيروفوس- إيثايل والكلوروبيروفوس- ميثايل أدت إلى حدوث تغيرات معنوية في السلوك العصبي للحيوانات المعاملة مقارنة بالحيوانات غير المعاملة، في حين أن معاملة الحيوانات التي تم معاملتها سواء بالكلوروبيروفوس إيثايل أو الكلوروبيروفوس- ميثايل خلطاً مع مركب ن- أسيتيل سيستئين أدي إلى تحسن في السلوك العصبي للجرذان عند مقارنتها بالجرذان المعاملة بالكلوروبيروفوس- إيثايل والكلوروبيروفوس- ميثايل.

ثالثا: تأثير المعاملات على المؤشرات البيوكيمائية

وتم سحب عينات من دم الحيوانات بعد 1، 7 و14 يوم من المعاملة وفصل السيرم. وبعد ذلك تم ذبح الحيوانات بعد 14 يوم ثم تشريحها للحصول على المخ، الكبد والرئة وعظام الفخذ الأيمن والأيسر حيث تم حفظ الأنسجة في المجمد لحين تقديرالمؤشرات الكيميائية والوراثية.

أظهرت النتائج أن هناك إنخفاضاً معنوياً فى وزن للحيوانات المعاملة بكلا المبيدين وكذلك فى وزن المخ والوزن النسبى له نتيجة المعاملة سواء بالكلوروبيروفوس- إيثايل أو الكلوروبيروفوس- ميثايل. من ناحية أخرى أدت المعاملة بكلا المبيدين إلى زيادة معنوية فى وزن الكبد والوزن النسبي لها، في حين لم يتأثر وزن الرئة والوزن النسبي له، وكان لمركب ن- أسيتيل سيستئين دور مخفف لتحسين وزن الجسم والأعضاء موضع الدراسة.

كما أظهرت نتائج الدراسات البيوكيمائية حدوث إنخفاض معنوى فى نشاط أنزيمى الأسيتايل والبيوتريل كولين إستريز وأنزيم الباراأوكسونيز فى مخ الجرذان بعد المعاملة لليوم الرابع عشر بكلا المبيدين، بينما فى السيرم كان الانخفاض يعتمد على الزمن حتى اليوم السابع ثم حدوث استرجاع للنشاط الأنزيمي فى اليوم الرابع عشر بعد المعاملة وكان لمركب ن- أسيتايل سيستئين دور فعال فى تقليل نسبة التثبيط للأنزيمات المختبرة. من جهة أخرى, وجد أن أنزيم ادينوسين ثلاثي الفوسفات قد انخفض إنخافضاً معنوياً فى كل من المخ والسيرم للحيوانات المعاملة بالمبيدين موضوع الدراسة دون حدوث استرجاع للنشاط الأنزيمي، بينما سجلت مستويات الكالسيوم زيادة معنوية فى المخ والسيرم وكان لمركب ن- أسيتيل سيستئين دور وقائى فى التقليل من الزيادة. أيضاً أحدثا المبيدين إنخفاضاً معنوياً فى كل من مخ ورئة وكبد وسيرم للحيوانات المعاملة لإنزيم الجلوتاثيون- أس ترانسفيريز والكاتاليز وكذلك مستوى الجلوتاثيون المختزل وكان لمركب ن-

أسيتيل سيستئين دور فعال فى تقليل من نسب الإنخفاض. من جهة أخرى سجلت مستويات أكسيد النيتريك وأكسدة الليبيدات وإختزال السيتوكروم سى والمحتوى الكلي من البروتين زيادة ملحوظة معنوية فى كل من المخ والرئة والكبد والسيرم للحيوانات المعاملة بكلا المبيدين وكان لمعاملة الحيوانات التي تم معاملتها بالمبيدين ثم المعاملة بمركب ن- اسيتيل سيستئين دوراً فى التقليل من زيادة هذه المستويات.

رابعا: تأثير المعاملات على السمية الوراثية

تم تقسيم الحيوانات عشوائياً إلى 7 مجاميع كل مجموعة تحتوي على 5 حيوانات. المجموعة الأولى تم تجريعها بزيت الذرة كمعاملة ضابطة سالبة، بينما المجموعة الثانية فقد تم تجريعها بجرعة قدرها 25 ملليجرام/ كجم وزن الجسم من مركب السيكلوفوسفاميد كجموعة ضابطة موجبة. أما المجاميع من الثالثة وحتى السابعة فقد تم تجريعهما يوم بعد يوم لمدة 14 يوم بجرعة تحت مميتة قدرها 25/1 من قيمة الجرعة النصف مميتة (7.88 ملليجرام/كجم) من مبيد الكلوروبيريفوس- إيثايل و 10/1 للكلوربيريفوس- ميثايل (202.07 ملليجرام/كجم) ، 150 ملليجرام/ كجم وزن الجسم من مركب ن- أسيتيل سيستئين، 25/1 من قيمة الجرعة النصف مميتة من الكلوربيريفوس- إيثايل +150 ملليجرام/ كجم من وزن الجسم من مركب ن- أسيتيل سيستئين، 10/1 من قيمة الجرعة النصف مميتة من الكلوروبيريفوس- ميثايل +150 ملليجرام/ كجم من وزن الجسم من مركب ن- أسيتيل سيستئين، على التوالي ثم الذبح بعد الحقن بمادة الكولشسين لتثبيت الطور الاستوائى واستخلاص نخاع العظام من عظمتى الفخذ الأيمن والأيسر وذلك لفحص الكروسومات والانقسام الميتوزى للخلايا بينما فحص النواه الصغيرة دون استخدام كولشسين و كذلك كبد الجرذان لتقدير تركيز دى ان ايه.

أظهرت نتائج دلالات السمية الوراثية أن هناك زيادة ملحوظة فى شذوذ الكروموسومات والنواة الصغيرة فى نخاع عظام الجرذان وكذلك زيادة تركيز الدى ان ايه (DNA) فى نسيج الكبد فى المجاميع المعاملة بكلا المبيدين مقارنة بالمجموعة الضابطة، بينما كان هناك إنخفاضاً معنوياً فى الإنقسام الميتوزى للخلايا.

مما سبق يمكن القول أن كل من الكلوروبيروفوس-إيثايل والكلووبيروفوس-ميثايل قد أحدثا تأثيرات غير مرغوب فيها على كل من السلوك العصبي، والمؤشرات البيوكيميائية والوراثية وأن مركب ن- أسيتيل سيستئين كان له دور فعال لتعديل هذه التأثرات الضارة وبذلك يمكن استخدامه لعلاج التأثيرات الضارة الناشئة عن التسمم بمركبات الفوسفور العضوية مثل الكلوروبيروفوس- إيثايل و الكلووبيروفوس- ميثايل.