

بررسی واکنشهای عصبی وابسته به دوز ناشی از مسمومیت شیمیایی فتل در رت

✉ محمد رضا نیکروش Ph.D.*، مهدی جلالی Ph.D.*

* دانشیار گروه آناتومی دانشکده پزشکی مشهد

تاریخ وصول: بهمن ماه ۸۲. تاریخ پذیرش: اردیبهشت ماه ۸۳

چکیده

هدف: مطالعه و ارزیابی تأثیر دوزهای متفاوت فتل در رابطه با بروز واکنشهای سیستم عصبی با استفاده از حیوان آزمایشگاهی (رت).
مواد و روشها: در این پژوهش از ۳ گروه آزمون و یک گروه کنترل رت بالغ استفاده شد که گروههای آزمون به مدت ۱۰ روز به ترتیب، مورد تجویز ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ mg/kg فتل تزریقی به صورت داخل صفاقی قرار گرفتند و در طول این دوره، واکنشهای رفتاری حیوانات، با استفاده از ثبتهای الکتروفیزیولوژی به دست آمده مورد آنالیز آماری قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج حاصل از این تجربه نشان می‌دهد که به فاصله ۳ تا ۵ دقیقه بعد از تزریق واکنشهای رفتاری ناشی از تحریک سیستم عصبی به صورت لرز و تشنج بروز می‌نماید که بین ۷ تا ۱۴ دقیقه به طول می‌انجامد. این نتایج همچنین گویای این موضوع است که دامنه تشنج با دوز تزریقی نسبت مستقیم دارد به گونه‌ای که متناسب با غلظت فتل، عکس‌العمل سیستم عصبی در برابر مسمومیت حاصل از آن به صورت بازتابهای خفیف، ملایم و شدید بروز می‌نماید و در شرایط حاد به مرگ حیوان منجر می‌شود.

نتیجه‌گیری: این مشاهدات تأییدی بر این مدعا است که قبل از اینکه فتل به عنوان یک ترکیبات شیمیایی مسمومیت‌زا به صورت سیستمیک بر ارگانیزم موجود زنده تأثیر بگذارد و اختلالات گزارش شده ناشی از مسمومیت مزمن را بروز دهد، باعث تأثیرگذاری مستقیم بر عملکرد سیستم عصبی می‌شود و به ایجاد اختلالات حاد در کار این سیستم می‌انجامد تا آنجا که حتی می‌تواند در مدت زمانی اندک به بلوک نمودن فعالیتهای قلبی و تنفسی منجر شوند و در پاره‌ای از موارد حتی مرگ موجود زنده را به دنبال داشته باشند.

کلیدواژه‌ها: فتل، مسمومیت‌زایی، واکنشهای عصبی، رت

مقدمه

سنتز داروها و کرمهای آرایشی بی‌خطر دانسته شده است اما این نکته را نباید از نظر دور داشت که هنوز هم در بسیاری از موارد این ماده به طور مستقیم و در سطح وسیعی مورد استفاده قرار می‌گیرد که از آن جمله می‌توان به تثبیت اجساد در سالنهای تشریح دانشکده‌های پزشکی اشاره نمود. بنابراین طبیعی به نظر می‌رسد که مسمومیت‌های ناشی از تماسهای شغلی برای کسانی که با این ترکیب خطرناک و نفوذپذیر سر و کار دارند، عواقب نامطلوبی را به دنبال داشته باشد [۱ و ۲]. در این پژوهش به این جهت علائم رفتاری وابسته به دوز فتل مورد توجه قرار گرفته است که از یک سو این ماده شیمیایی براساس تصویری که از سموم شیمیایی به ذهن می‌آید سم شناخته نمی‌شود و از سوی دیگر آثار ناشی از مسمومیت با آن می‌تواند مشابه با

امروزه ترکیبات شیمیایی مختلف با قابلیت مسمومیت‌زایی فراوان وجود دارد که می‌تواند زندگی بشر و بسیاری از موجودات زنده را در زنجیره‌های حیات به مخاطره اندازد. در این میان فتل به عنوان یکی از این موارد با کاربرد وسیع در صنایع الکترونیک، پتروشیمی، تهیه رنگها و رزینها و فرآوردههای دارویی و بهداشتی و ضد عفونی کننده در زمره ترکیبات عدیده‌ای است که به لحاظ اهمیت مصرف مانند بسیاری از ترکیبات شیمیایی دیگر سمیت آن به طور شایسته مورد توجه قرار نگرفته است. در این رابطه اگر چه بر اساس گزارش بعضی از محققین استفاده از غلظتهای پایین فتل در زمینه

✉ آدرس مکاتبه: مشهد، خیابان دانشگاه، دانشکده پزشکی،
Email: Nikravesh@hotmail.com
کد پستی ۹۱۳۷۶

طریق یک قطعه سخت‌افزاری رابط (Interface) به کامپیوتر وارد شد. سپس براساس برنامه نرم‌افزاری spot-plot که برای ثبت اینگونه واکنشها نوشته شده بود دامنه نوسانات مربوط به هر شوک ناشی از تزریق، از ۱ تا ۶ با دقت ۱/۰ درجه‌بندی شده و به ثبت رسید. در این رتبه‌بندی عدد صفر به معنی عدم پاسخ، عدد ۱ اولین علامت پاسخ به تحریک و عدد ۶ ملاک شدیدترین پاسخ قلمداد شد. از نظر بروز علائم ظاهری نیز واکنش خفیف به صورت تغییر حالت در لاله گوشهای حیوان و کز کردن، واکنش ملایم به صورت لرز و واکنشهای شدید به صورت تشنج ارزیابی شد. بدین ترتیب واکنشهای عصبی هر یک از حیوانات که می‌توانست به صورت لرز ملایم، لرز شدید و تشنج بروز نماید، براساس دامنه شدت و مدت، درجه‌بندی شد و به کمک نرم‌افزار آماری این استات (Instat) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. تزریق به این دلیل در فواصل زمانی یک روز در میان صورت گرفت که فنل تزریقی در هر نوبت در بدن تجزیه شده و آثار تزریق بعدی تحت تأثیر آن قرار نگیرد.

یافته‌ها

نتایج حاصل از تجویز فنل نشان داد که عوارض ناشی از تأثیر ماده به فاصله تقریبی ۱ دقیقه پس از تزریق بروز می‌کند و بین ۳ تا ۵ دقیقه تظاهرات آن به اوج خود می‌رسد. طول مدت این واکنشها در گروههای آزمون مختلف نیز متغیر بود (جدول ۱). در این حالت واکنشهای رفتاری مربوط به دریافت هر نوبت تزریق در گروه آزمون ۱ به صورت لرز خفیف بروز نمود و حدود ۷ دقیقه طول کشیده و سپس از میان رفت. در مورد گروه آزمون ۲، دامنه واکنش نسبت به گروه قبلی در هر نوبت افزایش نشان داد. در گروه آزمون ۳ تظاهرات پس از هر نوبت تزریق به صورت لرز شدید بروز نمود و منجر به تشنج شد و حدود ۱۴ دقیقه طول کشید (نمودار ۱). علاوه بر این؛ در میان نمونه‌های این گروه نشانه‌های مرگ از روز سوم (پس از دومین تزریق) ظاهر شد و تا روز پنجم (پس از سومین تزریق) همه نمونه‌های این گروه را در بر گرفت. در مرحله بعد، نتایج حاصل از ثبت واکنشهای مربوط به هر یک از نمونه‌ها که پس از هر نوبت تزریق در یک فایل جداگانه ذخیره شده و میانگین براساس

عکس‌العملهای موجود زنده در مقایسه با سایر مواد سمی از قبیل حشره‌کشها، آفت‌کشها و جنگ افزارهای شیمیایی قلمداد شود [۴ و ۳]. گزارشهای موجود نشان می‌دهند که بسته به میزان حساسیت و مقاومت بدن، مصرف ۸ تا ۱۵ گرم فنل می‌تواند باعث مسمومیت منجر به مرگ انسان شود [۵]. به همین دلیل همه ساله گزارشهای متعددی مبنی بر تلفات ناشی از مسمومیت با این ماده در جهان منتشر می‌شود [۶]. بنابراین تماس با فنل یا مواد شیمیایی مشابه در شرایطی که حتی به صورت آگاهانه انجام گرفته باشد، می‌تواند مسمومیت تدریجی و ایجاد ضایعات سیستمیک را به دنبال داشته باشد که این موضوع نیز کمتر مورد توجه قرار گرفته است.

مواد و روشها

برای انجام این پژوهش از ۲۴ رت نژاد Wistar نر دوماهه استفاده شد که به صورت اتفاقی به ۴ گروه ۶ تایی (۳ گروه آزمون و یک گروه کنترل) تقسیم شدند. برای ایجاد واکنشهای عصبی ناشی از مسمومیت، از فنل merk استفاده شد که با حجم لازم از آب مقطر با غلظتهای مورد نظر آماده شد و سپس با حجم ۵/۰ میلی‌لیتر در هر نوبت در گروههای آزمون مورد تزریق داخل صفاقی قرار گرفت. به منظور تعیین تظاهرات ناشی از تجویز، با در نظر گرفتن حداقل دوز آستانه تحریک (دوز مینیمم)، دوز متوسط و دوز بالا، به ترتیب در هر نوبت به هر یک از گروههای آزمون سه گانه به ترتیب ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ mg/kg وزن بدن، فنل به صورت یک روز در میان در طول یک دوره ۱۰ روزه تزریق شد [۷]. به گروه کنترل نیز مطابق روش فوق حجم مشابهی از آب مقطر تزریق شد تا ضمن ایجاد استرس ناشی از تزریق مسمومیتی برای حیوان ایجاد نشود. پس از هر نوبت تزریق حیوانات تحت شرایط استاندارد حیوانخانه (با حرارت 24 ± 1 درجه سانتی‌گراد) به قفسهای انفرادی کوچک منتقل شده و با زمان پیدایش اولین تحریکات، طول دوره واکنش و شدت بروز آن طی هر نوبت تزریق در هر یک از نمونه‌ها ثبت شد. برای این منظور در هر نوبت با ثابت نمودن یک الکتروود که در لابلای موها بر پشت حیوان تثبیت شده بود، ارتعاشات از طریق یک کالبراتور به اسیلوسکوپ و سپس از

جدول ۱. خصوصیات دستگاه لیزر مورد استفاده

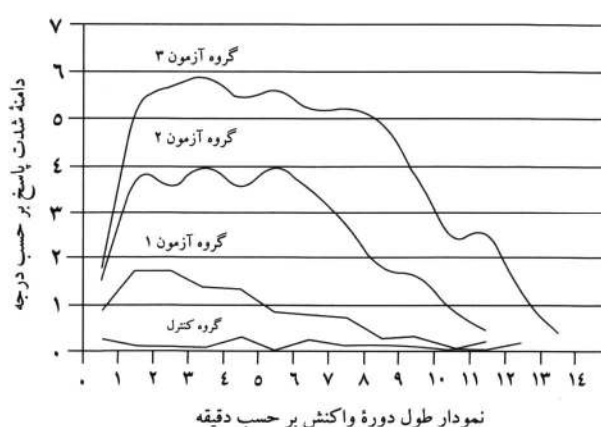
گروه	نمونه ۱	نمونه ۲	نمونه ۳	نمونه ۴	نمونه ۵	نمونه ۶	میانگین کل گروه
آزمون ۱	$1/81 \pm 0/42$	$1/76 \pm 0/30$	$1/90 \pm 0/12$	$1/80 \pm 0/22$	$1/93 \pm 0/08$	$1/96 \pm 0/11$	$1/86 \pm 0/08$
آزمون ۲	$3/88 \pm 0/94$	$3/71 \pm 0/72$	$3/58 \pm 0/69$	$3/96 \pm 0/25$	$3/56 \pm 0/78$	$3/95 \pm 0/22$	$3/66 \pm 0/26$
آزمون ۳	$5/21 \pm 1/12$	$5/18 \pm 1/39$	$5/70 \pm 0/76$	$5/86 \pm 1/13$	$5/43 \pm 0/97$	$5/80 \pm 1/20$	$5/52 \pm 0/29$
کنترل	$0/25 \pm 0/27$	$0/13 \pm 0/12$	$0/39 \pm 0/14$	$0/82 \pm 0/10$	$0/81 \pm 0/30$	$0/08 \pm 0/05$	$0/17 \pm 0/28$

اعداد داخل پرانتز مربوط به SEM است.

در مقایسه هر یک از گروههای آزمون نسبت به همدیگر و همچنین نسبت به گروه کنترل محاسبه شده است ($P < 0.0001$).

آن انجام گرفت، مشخص شد که این ماده با قدرت نفوذپذیری و قابلیت جذب بالایی که از خود نشان می‌دهد، طیف وسیعی از عوارض سیستمیک را بر ارگانیزم موجود زنده بر جای می‌گذارد [۸-۱۰] که از آن جمله می‌توان به عوارض قلبی - عروقی و هماتوتوکسیک [۲]. اختلالات تنفسی [۱۱]، نارسایی کلیه و کبد [۱۲] و بروز عوارض کارسینوژنیک [۱۳] در این گونه اعضا اشاره کرد. یافته‌های برخی دیگر از پژوهشگران نیز بیان‌کننده این موضوع است که مسمومیت با فنل و رادیکالهای حاصل از آن می‌تواند در کار سیستم ایمنی بدن ایجاد اختلال نموده و مرگ سلولی را در بافتهای جنینی به دنبال داشته باشد [۱۴ و ۱۵] و از این طریق طی دوران بارداری به بروز عوارض توکسیک، موتاژنیک و مرگ جنینی منجر شود [۱۶ و ۱۷]. نتایج حاصل از تجویز فنل در ۳ دوز متفاوت نشان داد که (صرفنظر از سایر آثار آن) بسته به میزان دوز مورد استفاده، اثرهای متفاوتی از واکنشهای سیستم عصبی ظاهر می‌شود که دامنه آن از لرز خفیف تا تشنج شدید متغیر است. یک فرضیه توجیهی که برای این گونه رفتارها می‌توان بیان کرد، از این مسأله است که فنل قادر است از راه بر هم زدن سطح نوروترانسمیترهایی از قبیل استیل کولین باعث اختلال در کار سیستم مرکزی و پایانه‌های حرکتی اعصاب محیطی شود [۷]. یک احتمال دیگر اینکه متابولیت‌های حاصل از آن نیز قادر است به‌طور ثانویه این تأثیرگذاری را تشدید نماید و منجر به بروز این‌گونه واکنشها شود [۱۶]. در این رابطه از تأثیرگذارترین این متابولیت‌ها می‌توان از کاتکول و کینول نام برد که از متابولیت‌های عمده فنل به حساب می‌آیند [۱۳] و با اثر بخشی بر عملکرد سیستم عصبی مرکزی و ساختارهای سیناپسی، فعالیت‌های این سیستم را تحت تأثیر قرار

درجه‌بندی انجام شده تعیین شد و مورد مقایسه بین گروهی قرار گرفت. میانگین حاصل از این محاسبات در گروه کنترل کمتر از ۰/۰۵، در گروه آزمون ۱، بین ۱ تا ۲، در گروه آزمون ۲، بین ۲ تا ۴ و در گروه آزمون ۳ نیز بین ۴ تا ۶ درجه تعیین شد (جدول ۱). در حالت واکنشهای ناشی از ۳ دوز تزریقی گروه کنترل واکنش واضحی بروز نداد و دامنه شدت پاسخ در هر مرحله کمتر از ۱ بود که از نظر مقیاس درجه‌بندی فاقد ارزش محسوب شد. براساس نتایج حاصل از ثبت میانگینهای به‌دست آمده در نمودار مربوط به گروههای آزمون مشخص می‌شود که دامنه شدت (محور عمودی) در این گروهها بین ۱ تا ۶ متغیر است. این واکنشها که طی دقایق اندکی پس از تزریق (محور افقی) به اوج خود رسیده است، در گروههای آزمون مختلف (حداکثر تا دقیقه چهاردهم) فروکش نموده است.



نمودار ۱. ثبت میانگین واکنشهای متفاوت در گروههای آزمون

بحث

براساس مطالعاتی که قبلاً در زمینه فنل و اثرهای مربوط به

می‌کنند و به موازات آن باعث کاهش تونیسیته عضلانی جداری عروق تغذیه‌کننده عضلات اسکلتی و بعضی از عضلات صاف سیستم تنفسی و لوله گوارش می‌شوند و در کار این دستگاه‌ها ایجاد اختلال می‌نمایند [۱۸]. بنابراین با تکیه بر این‌گونه شواهد و نتایج ثبت شده، طبیعی به نظر می‌رسد که تشنج و لرزی که به فاصله تقریبی ۳ تا ۵ دقیقه پس از تزریق فنل در نمونه‌های تجربی به وقوع می‌پیوندد، بیان‌کننده فاصله زمانی جذب آن و تأثیرگذاری بر سیستم عصبی از طریق گردش خون است. به این ترتیب تا زمانی که غلظت فنل در حدی است که آثار تحریکی آن بر سیستم عصبی اعمال می‌شود. تشنج و لرز نیز ادامه دارد. از سوی دیگر؛ علاوه بر این‌که فنل به طور مستقیم بر سیستم عصبی و به تبع آن بر سایر دستگاه‌های بدن تأثیر می‌گذارد، در مورد آزاد سازی استیل کولین مکانیسم دوگانه‌ای را از خود بروز می‌دهد. این موضوع احتمالاً به آن معنی است که به فاصله اندکی پس از تجویز آن، سطح استیل کولین در بخش‌هایی از سیستم عصبی مرکزی از قبیل استریاتوم و کورتکس مغز کاهش می‌یابد در حالی که مقدار استیل کولین پایانه‌های حرکتی اعصاب محیطی افزایش سطح قابل ملاحظه‌ای از خود نشان می‌دهد [۷]. این دوگانگی که خود احتمالاً یکی از دلایل بروز لرز و تشنجات عصبی ناشی از تأثیرگذاری فنل و متابولیت‌های آن محسوب می‌شود شاید به تفاوت نوع گیرنده‌ها در این دو بخش از سیستم عصبی مربوط باشد. با این توصیف اگرچه ریشه‌یابی مسمومیت‌های مزمن حاصل از مواجهه با این‌گونه ترکیبات ممکن است به راحتی قابل پیگیری نباشد اما جذب مستقیم این‌گونه موارد در کوتاه مدت به مسمومیت‌هایی منجر می‌شود که اولین اثرهای آن به صورت واکنش‌های رفتاری بروز می‌نماید.

References

1. Acheson CM, Zhou Q, Shan Y. Comparing the solid phase and saline extract Microtox assays for two polycyclic aromatic hydrocarbon-contaminated soils. *Environ Toxicol Chem* 2004; 23(2): 245-51.
2. Zeman K. The effects of occupational exposure to hydrocarbons on some immune parameters of workers of phenol division of a petrochemical plant. *Pol J Occup Med* 1990; 3(4): 399-407.
3. Proudfoot AT. Pentachlorophenol poisoning. *Toxicol Rev* 2003; 22(1): 3-11.
4. Ren S. Prediction of the mechanisms of toxic action of phenols: baseline-category logit models. *Aquat Toxicol* 2003; 65(1): 111-5.
5. Hadad LM, Winchester JF. Clinical management of poisoning and drug overdose. 2nd Ed. Sanders company, Philadelphia, 1990; p. 385.

می‌دهند [۱۸]. با توجه به گزارش‌های فوق و نتایج حاصل از این تجربه می‌توان گفت که فنل نیز مانند بسیاری از سموم شیمیایی پس از نفوذ به بدن، حداقل به دو صورت اعمال اثر می‌کند؛ اول اینکه مستقیماً از طریق جریان خون بر سیستم عصبی تأثیر گذاشته شده و فعالیت‌های آن را دچار اختلال می‌نماید. دوم اینکه تحت تأثیر فعالیت میکروزوم‌های کبدی به ایجاد رادیکال‌های سمی جدیدی می‌انجامد و زمینه واکنش‌های بعدی را فراهم می‌نماید [۲۱-۱۸]. در تأیید این نظریه، بررسی ساختمان مولکولی رادیکال‌های یاد شده نشان می‌دهد که کاتکول بخش آروماتیک و سمپاتومیمتیک میانجیهایی از قبیل دوپامین، آدرنالین و نورآدرنالین است و چون این‌گونه ترکیبات برای سیستم سمپاتیک نقش آدرنژیک پیدا می‌کنند، به نظر می‌رسد که هر سه ترکیب فوق در زمرة کاتکول آمین‌ها قرار می‌گیرند و به عنوان گروه عمده‌ای از نوروترانسمیترها محسوب می‌شوند که بسته به موقعیت و مکانیسم عمل اختصاصی خود، از طریق مداخله در عملکرد سیستم عصبی مرکزی و الباف پس عقده‌ای سمپاتیک، سایر دستگاه‌های بدن را نیز تحت تأثیر قرار می‌دهند. تحقیقات نشان می‌دهد که تشدید فعالیت سمپاتومیمتیک‌ها می‌تواند به صورت تحریک سیستم عصبی مرکزی و در نتیجه بی‌خوابی، کم‌اشتهایی، اختلالات تنفسی و همچنین تحریک عضله قبل و افزایش نیروی انقباضی آن بروز نماید [۲۲]. علاوه بر این؛ فنل و متابولیت‌های حاصل از آن می‌توانند با تأثیرگذاری بر روند متابولیسم، گلیکوژنولیز کبدی و عضلانی را بالا برده و منجر به افزایش مصرف اکسیژن شوند که این خود زمینه‌ساز بروز اختلالات تنفسی است [۱۸]. موضوع دیگر اینکه سمپاتومیمتیک‌ها موجب انقباض جدار آن دسته از عروق محیطی می‌شوند که پوست و غشاهای مخاطی را تغذیه

6. **Dosemeci M.** Mortality among industrial workers exposed to phenol. *Epidemiology* 1991; 2(3): 188-93.
7. **Itho M.** The role of brain acetylcholine in phenol induced tremor in mice. *Archs Oral Biol* 1995; 40(5): 365-72.
8. **Nikraves M.R., Behnam-Rasouli M.** The study of toxic and degenerative effects of phenol, through of dermal contact in the rat, *Anatomical Sciences Journal of Iran (Persian)*, 1996; 4: 69-74.
9. **Nikraves M.R., Jalali M.** The study of embryotoxic effects of phenol in mice embryo, *Yakhteh (Persian)*, 2001; 3(9): 21-6.
10. **Jalali M., Nikraves M.R.** The study of phenol interventional effects on mouse organogenesis, *Pharmaceutical sciences journal of Tabriz university of medical sciences and health services (Persian)*. 2001; 1: 15-22.
11. **Santos A., Yastos P., Quintanilla A.** Evolution of toxicity upon wet catalytic oxidation of phenol, *Environ. Sci Technol* 2004; 38(1): 133-8.
12. **Nanbo T.** Developmental changes in hepatic microsomal interactions between UDP glucuronyl-transferase and phospholipid in the rat fetus, *Reprod. Toxicol* 1998; 12(4): 449-56.
13. **Chen H., Eastmond D.A.** Synergistic increase in chromosomal breakage within the euchromatin induced by an interaction of the benzen metabolites phenol and hydroquinone in mice. *Carcinogenesis* 1995; 16(8): 1963-9.
14. **Aoki M., Kurasaki M., Saito T.** Nonylphenol enhances apoptosis induced by serum deprivation in PC12 cells, *Life Sci* 2004; 74(18): 2301-12.
15. **Hyot P.R., Doktycz M.J., Beattie K.L.** DNA microarrays detect 4-nonylphenol-induced alterations in gene expression during zebrafish early development, *Ecotoxicology* 2003; 12(6): 469-74.
16. **Chapman D.E., Numkung M.J., Juchau M.R.** Benzen and Benzen metabolites as embryotoxic agents: effects on culture rat embryos. *Toxicol Appl Pharmacol* 1994; 128(1): 129-37.
17. **Zhao F., Mayura K., Hutchinson R.W.** Developmental toxicity and structure activity relationships of chlorophenols using human embryonic palatal mesenchymal cells. *Toxicol Lett* 1995; 78(1): 35-42.
18. **Reynold G.F.E.** Martindale, the extra pharmacopoeia, 28th Ed, Royal pharmaceutical society, London, 1982; pp. 1 & 495.
19. **Seaton M.G., Schlosser P.M.** Benzen metabolism by human liver microsomes in relation to cytochrome p450 2E1 activity, 1994; 15(9): 1799-806.
20. **Acheson C.M., Zhou Q., Shan Y.** Comparing the solid phase and saline extract Microtox assays for two polycyclic aromatic hydrocarbon-contaminated soils. *Environ Toxicol Chem* 2004; 23(2): 245-251.
21. **Ren S.** Phenol mechanism of toxic action. *Toxicol Lett* 2003; 144(3): 313-23.
22. **Morison J.E.** Phenol motor point blocks in children plasma concentrations and cardiac dysrhythmias. *Anesthesiology* 1991; 75(2): 359-62.

