بررسی پارامترهای هماتولوژیک خون ماهی کپور نقره‌ای در مسمومیت با تری‌کلروفن

دکتر سعید نظیفی[1] دکتر فرید فیروزبخش[2] دکتر مینا قاضی‌زاده[3]

مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، دوره ۵۶، شماره ۲، ۲۷-۲۳، (۱۳۸۰)

به‌منظور بررسی اثر تری‌کلروفن برروی پارامترهای هماتولوژیک خون ماهی، تعداد ۶۰ ماهی کپور نقره‌ای انتخاب و به سه گروه شاهد (۱۲ عدد)، مصرف‌کننده دوز ۰/۲۵ppm (۲۴ عدد) و مسموم‌شده با دوز ۱ppm (۲۴ عدد) تری‌کلروفن تقسیم شدند. در مورد گروههای مصرف‌کننده دوز ۰/۲۵ppm و مسموم‌شده با دوز ۱ppm تری‌کلروفن در زمانهای پیش از شروع آزمایش (شاهد)، ۱۲، ۲۴، ۳۶ و ۴۸ ساعت پس از مسمومیت تجربی، خونگیری به‌عمل آمد. در هر نمونه خون، تعداد گلبولهای قرمز، غلظت هموگلوبین، میزان هماتوکریت، شاخصهای گلبولی، تعداد گلبولهای سفید، درصد هتروفیلها، منوسیتها، لنفوسیتها، گلبولهای سفید دژنره و تعداد ترومبوسیتها اندازه‌گیری شدند. نتایج به‌دست آمده از این پژوهش نشان می‌دهند که بین گروه شاهد و گروههای مصرف‌کننده دوزهای ۰/۲۵ppm و ۱ppm تری‌کلروفن از نظر تعداد گلبولهای قرمز، غلظت هموگلوبین، میزان هماتوکریت، تعداد گلبولهای سفید و درصد هتروفیلها، لنفوسیتها، منوسیتها و گلبولهای سفید دژنره اختلاف آماری معنی‌دار وجود دارد (P<۰/۰۵). بین گروه شاهد و گروه مصرف‌کننده دوز ۰/۲۵ppm تری‌کلروفن از نظر هیچ‌یک از پارامترهای هماتولوژیک خون اختلاف آماری معنی‌دار مشاهده نشد (P>۰/۰۵) با افزایش دوز سم به ۱ppm، افزایش معنی‌داری در درصد هتروفیلها و گلبولهای سفید دژنره و کاهش معنی‌داری در تعداد گلبولهای قرمز، غلظت هموگلوبین، میزان هماتوکریت، تعداد گلبولهای سفید، درصد لنفوسیتها و منوسیتهای خون ماهی کپور نقره‌ای مشاهده شد (P<۰/۰۵). پس از ایجاد مسمومیت با دوزهای ۰/۲۵ppm و ۱ppm تری‌کلروفن در زمانهای مختلف پس از مسمومیت تنها در مورد درصد گلبولهای سفید دژنره در مسمومیت با دوز ۱ppm، اختلاف آماری معنی‌دار مشاهده شد (P<۰/۰۵) و در مورد سایر پارامترها در زمانهای مختلف پس از مسمومیت هیچ‌گونه تغییر معنی‌داری دیده نشد. در این پژوهش هیچ‌گونه اثر متقابلی بین دوز سم تری‌کلروفن و زمانهای مختلف پس از تجویز سم، در مورد هیچ‌یک از پارامترهای هماتولوژیک خون ماهی کپور نقره‌ای به‌دست نیامد. به‌طور خلاصه، تری‌کلروفن در دوز ۱ppm اثرات قابل توجهی بر پارامترهای هماتولوژیک خون ماهی کپور نقره‌ای دارد.

واژه‌های کلیدی : مسمومیت، تری‌کلروفن، هماتولوژی، ماهی، کپور نقره‌ای.

تری‌کلروفن (نگون " Neguvon "، مازوتن " Masoten "، یا دیپترکس " Dipterex ") با نام شیمیایی ۱-۱- دی‌متیل -۲-۲- و ۲ تری‌کلرو ۱- هیدروکسی اتیل فسفات یک ترکیب ارگانوفسفره است که برای کنترل ترماتودهای مونوژن خارجی، شپشهای ماهی، کرم آبشش، کرمهای قلابدار و زالو به میزان ۰/۲۵ppm در آب استفاده می‌شود (۱۲ و ۳). تری‌کلروفن داروی نسبتاً بی‌خطری است که مصرف آن در برخی حیوانات تأیید شده است. سموم ارگانوفسفره از راه آبششها، آب، غذا و پوست می‌توانند وارد بدن ماهی شوند. بعد از اینکه سم وارد بدن شد، جذب خون شده و به‌وسیله آلبومین در خون جابه‌جا می‌شود. نشانه‌های مسمومیت در ماهی به مقدار سم بستگی دارد. در اثر مسمومیت، تحریک، هیجان‌زدگی و کاهش تغذیه در ماهیان دیده می‌شود. اگر شدت مسمومیت زیاد باشد گرفتگی عضلانی و انحراف ستون مهره‌ها از پهلو نیز رخ می‌دهد (۱۲ و ۳). در ماهی نیز همانند پستانداران، استیل کولین نقش اصلی را در انتقال پیامهای عصبی در سیناپسهای کلینرژیکی به‌عهده دارد. آنزیم استیل‌کولین استراز به‌وسیله سموم ارگانوفسفره مهار می‌شود. دوز ارگانوفسفره برای مهار استیل‌کولین استراز و مرگ ماهی بستگی به گونه ماهی و ترکیب ارگانوفسفره دارد (۶ و ۳). در زمینه اثرات سموم ارگانوفسفره برروی متابولیسم بدن، کبد، کلیه و سایر بافتها گزارشهایی وجود دارد (۶، ۵، ۳). تاکنون در زمینه اثرات تری‌کلروفن برروی پارامترهای هماتولوژیک خون ماهی تحقیقی به‌عمل نیامده است. هدف از پژوهش حاضر بررسی اثر تری‌کلروفن با دوز درمانی ۰/۲۵ppm و دوز مسموم‌کننده ۱ppm برروی پارامترهای هماتولوژیک خون ماهی کپور نقره‌ای است. مسلماً تغییرات پارامترهای هماتولوژیک خون در اثر مسمومیت می‌تواند نمودی از تغییرات بافت خونساز و بافتهای گوناگون ماهی در خلال مسمومیت باشد. با انجام این پژوهش مشخص خواهد شد که آیا تری‌کلروفن در دوز درمانی ۰/۲۵ppm اثر نامطلوبی بر پارامترهای هماتولوژیک خون دارد یا خیر؟ در ضمن، در دوز مسموم‌کننده ۱ppm نیز تا چه اندازه برروی پارامترهای هماتولوژیک خون تأثیر می‌گذارد چون ممکن است در اثر اشتباه پرسنل استخرهای پرورش ماهی، تری‌کلروفن، بیش از دوز درمانی داده شود و مشکلاتی را به‌وجود آورد.

مواد و روش کار

برای انجام این پژوهش از ماهیان کپور نقره‌ای با وزن متوسط ۵۵۰ گرم، طول ۲۸ سانتیمتر و سن ۷ ماه استفاده شد. پس از تخلیه ماهیان از تانک حمل و نقل، آنها به مدت ۴۸ ساعت در آکواریومهایی که از نظر اکسیژن، درجه حرارت و pH در شرایط مطلوب بودند قرار گرفتند (pH=۷ و T=۲۲°C) تا استرسهای ناشی از حمل و نقل برطرف گردد. حجم آکواریومها ۱۲۰×۱۲۰×۹۰ و از جنس فایبرگلاس بود. سپس ماهیان به سه گروه تقسیم شدند :

۱ - تعداد ۱۲ ماهی به‌عنوان گروه شاهد

۲ - تعداد ۲۴ ماهی به‌عنوان گروه مصرف‌کننده دوز درمانی ۰/۲۵ppm

۳ - تعداد ۲۴ ماهی به‌عنوان گروه مسموم‌شده با دوز ۱ppm

آکواریومهای مربوط به هر سه گروه از نظر درجه حرارت و pH آب یکسان بودند. نمونه‌گیری در زمانهای ۱۲، ۲۴، ۳۶ و ۴۸ ساعت پس از تجویز سم صورت گرفت. لازم به ذکر است که برای مقایسه گروههای مسموم‌شده با دوزهای مختلف تری‌کلروفن از ۱۲ عدد ماهی به‌عنوان گروه شاهد استفاده شد. اما زمانی که قرار شد اثر یک دوز خاص از تری‌کلروفن (مانند ۰/۲۵ppm یا ۱ppm) در زمانهای مختلف پس از مسمومیت مورد ارزیابی قرار گیرد، پیش از ایجاد مسمومیت از تمام ۲۴ ماهی به‌عنوان گروه شاهد نمونه‌گیری شد. آنگاه پس از ایجاد مسمومیت، اثر تری‌کلروفن در زمانهای پس از مسمومیت مورد ارزیابی قرار گرفت. خونگیریها از ساقه دمی و به روش جانبی صورت گرفت. برای خونگیری، ابتدا چند فلس از محل مورد نیاز برداشته و سپس با پارچه و پنبه خشک گردید. در این روش، سوزن از سمت جانبی با زاویه ۴۵ درجه و به اندازه یک فلس زیر خط جانبی وارد می‌شد. هنگامی که سوزن به ستون مهره‌ها برخورد می‌کرد کمی آن را جابه‌جا کرده تا سوزن بین ستون مهره‌ها یعنی درون ورید ساقه دمی قرار گیرد (۸). میزان خون برداشت‌شده از هر ماهی حدود ۲/۵ میلی‌لیتر بود. پس از خونگیری، نمونه‌های خون در درون لوله‌های حاوی

۱) گروه آموزشی علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز، شیراز - ایران.
۲) گروه آموزشی علوم پایه دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان - ایران.
۳) دانش‌آموخته دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان - ایران.

جدول ۱ – میزان* پارامترهای هماتولوژیک خون ماهی کپور نقره‌ای در مسمومیت با تری‌کلروفن

پارامترهای هماتولوژیک	گروههای آزمایشی			اختلاف آماری معنی‌دار (P<۰/۰۵)
	شاهد (n = ۱۲)	مصرف‌کننده دوز ۰/۲۵ppm تری‌کلروفن (n = ۲۴)	مسمومیت با دوز ۱ppm تری‌کلروفن (n = ۲۴)	
تعداد گلبولهای قرمز (×۱۰⁶/µl)	۱/۷۶±۰/۱۲[a]	۱/۶۹±۰/۲۱[a]	۱/۴۲±۰/۱۱[b]	S
غلظت هموگلوبین (g/dl)	۱۲/۹۰±۰/۹۴[a]	۱۲/۷۲±۰/۷۲[a]	۱۰/۲۹±۰/۲۸[b]	S
هماتوکریت (%)	۲۸/۴۸±۰/۹۴[a]	۲۸/۲۳±۰/۸۳[a]	۲۳/۳۰±۰/۹۸[b]	S
MCV (fl)	۱۶۱/۸۱±۱۱/۰۱	۱۶۷/۰۴±۲۳/۳۷	۱۶۴/۰۱±۱۳/۷۵	NS
MCH (pg)	۷۳/۲۹±۸/۳۱	۷۵/۲۶±۶/۹۰	۷۲/۴۶±۴/۳۶	NS
MCHC (%)	۴۵/۲۹±۴/۴۸	۴۵/۰۵±۲/۴۵	۴۴/۱۶±۲/۰۵	NS
تعداد گلبولهای سفید (×۱۰³/µl)	۹/۹۶±۲/۷۳[a]	۹/۲۶±۵/۸۹[a]	۵/۷۹±۴/۰۵[b]	S
هتروفیل (%)	۵۵/۵۶±۴/۴۴[a]	۵۶/۶۴±۳/۱۸[a]	۷۲/۹۰±۴/۰۷[b]	S
لنفوسیت (%)	۴۱/۵۰±۴/۴۶[a]	۴۰/۵۷±۲/۶۶[a]	۲۴/۸۶±۴/۴۷[b]	S
منوسیت (%)	۲/۹۳±۰/۸۴[a]	۲/۷۹±۱/۰۰[a]	۲/۲۲±۰/۷۹[b]	S
گلبولهای سفید دژنره (%)	۰/۰۰±۰/۰۰[a]	۰/۰۰±۰/۰۰[a]	۱۵/۹۲±۳/۵۸[b]	S
تعداد ترومبوسیت (×۱۰³/µl)	۲۸/۸۱±۳/۸۵	۲۹/۷۸±۶/۱۳	۲۵/۳۴±۳/۸۴	NS

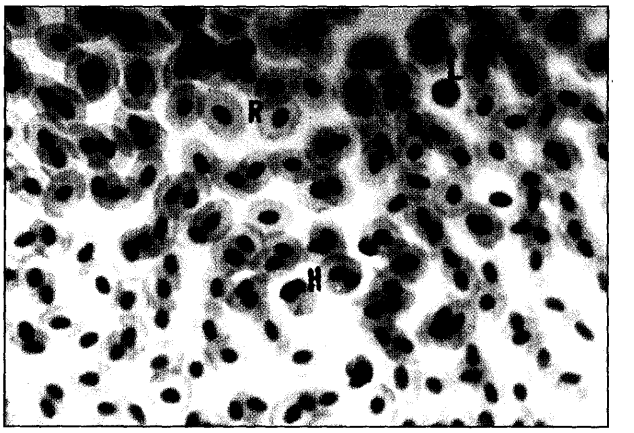
جدول ۲ – میزان* پارامترهای هماتولوژیک خون ماهی کپور نقره‌ای در زمانهای مختلف پس از مصرف دوز ۰/۲۵ppm تری‌کلروفن (n = ۲۴)

پارامترهای هماتولوژیک	زمان پس از مسمومیت (ساعت)					اختلاف آماری معنی‌دار (P<۰/۰۵)
	پیش از مسمومیت (شاهد)	۱۲	۲۴	۳۶	۴۸	
تعداد گلبولهای قرمز (×۱۰⁶/µl)	۱/۷۹±۰/۱۴	۱/۷۵±۰/۲۲	۱/۶۱±۰/۱۹	۱/۵۷±۰/۲۷	۱/۷۱±۰/۱۸	NS
غلظت هموگلوبین (g/dl)	۱۲/۸۹±۰/۸۷	۱۲/۸۱±۰/۶۵	۱۲/۷۹±۰/۸۵	۱۲/۵۹±۰/۷۶	۱۲/۶۲±۰/۶۸	NS
هماتوکریت (%)	۲۸/۵۹±۰/۹۷	۲۸/۱۶±۰/۹۱	۲۹/۱۱±۰/۷۵	۲۷/۵۲±۱/۰۲	۲۸/۱۴±۰/۸۶	NS
MCV (fl)	۱۵۹/۷۲±۲۰/۱۷	۱۶۰/۹۱±۲۴/۱۸	۱۸۰/۸۰±۱۹/۶۵	۱۷۵/۲۸±۲۱/۴۱	۱۶۴/۵۶±۲۲/۹۴	NS
MCH (pg)	۷۲/۰۱±۶/۱۶	۷۳/۲±۷/۱۹	۷۹/۴۴±۵/۷۱	۸۰/۱۹±۷/۴۳	۷۳/۸۰±۶/۱۶	NS
MCHC (%)	۴۵/۰۸±۲/۲۱	۴۵/۴۹±۲/۱۶	۴۳/۹۳±۲/۷۴	۴۵/۷۴±۲/۲۷	۴۴/۸۴±۲/۳۲	NS
تعداد گلبولهای سفید (×۱۰³/µl)	۹/۸۸±۲/۸۳	۹/۱۲±۴/۷۱	۹/۴۱±۵/۱۱	۹/۰۹±۴/۱۳	۹/۲۹±۳/۹۷	NS
هتروفیل (%)	۵۶/۹۵±۴/۷۵	۵۵/۳۵±۴/۱۷	۵۸/۲۹±۳/۲۴	۵۷/۴۶±۳/۷۲	۵۴/۹۳±۳/۹۶	NS
لنفوسیت (%)	۴۰/۲۶±۴/۱۹	۳۸/۴۹±۱/۷۹	۳۹/۷۵±۲/۱۶	۴۲/۵۱±۲/۷۹	۴۰/۴۵±۲/۴۷	NS
منوسیت (%)	۲/۷۹±۰/۷۶	۲/۴۹±۱/۰۲	۲/۸۸±۰/۶۷	۲/۶۹±۰/۶۲	۲/۹۴±۰/۹۳	NS
گلبولهای سفید دژنره (%)	۰/۰۰±۰/۰۰	۰/۰۰±۰/۰۰	۰/۰۰±۰/۰۰	۰/۰۰±۰/۰۰	۰/۰۰±۰/۰۰	NS
تعداد ترومبوسیت (×۱۰³/µl)	۲۸/۴۲±۳/۱۳	۲۹/۸۳±۱۲/۸۴	۲۸/۹۶±۷/۹۴	۲۸/۶۷±۱۳/۴۴	۳۰/۴۶±۱۶/۴۵	NS

جدول ۳ – میزان* پارامترهای هماتولوژیک خون ماهی کپور نقره‌ای در زمانهای مختلف پس از مسمومیت با دوز ۱ppm تری‌کلروفن (n = ۲۴)

پارامترهای هماتولوژیک	زمان پس از مسمومیت (ساعت)					اختلاف آماری معنی‌دار (P<۰/۰۵)
	پیش از مسمومیت (شاهد)	۱۲	۲۴	۳۶	۴۸	
تعداد گلبولهای قرمز (×۱۰⁶/µl)	۱/۵۹±۰/۳۲	۱/۳۷±۰/۲۱	۱/۴۱±۰/۹۶	۱/۴۹±۰/۵۳	۱/۵۱±۰/۲۵	NS
غلظت هموگلوبین (g/dl)	۱۱/۱۷±۱/۴۳	۱۰/۵۰±۱/۳۴	۱۱/۱۲±۱/۲۳	۹/۵۸±۱/۵۲	۱۰/۳۶±۲/۲۳	NS
هماتوکریت (%)	۲۴/۹۲±۱/۶۹	۲۲/۶۲±۳/۵۰	۲۴/۵۳±۳/۳۲	۲۳/۰۵±۰/۸۲	۲۴/۱۶±۴/۱۱	NS
MCV (fl)	۱۵۶/۷۲±۲۲/۶۵	۱۶۵/۱۱±۲۱/۹۷	۱۷۳/۹۷±۱۸/۴۳	۱۵۴/۶۹±۲۲/۱۶	۱۶۰/۰۰±۲۳/۱۹	NS
MCH (pg)	۷۰/۲۵±۵/۱۹	۷۶/۶۴±۶/۲۴	۷۸/۸۶±۵/۹۲	۶۴/۲۹±۷/۱۶	۶۸/۶۰±۶/۴۳	NS
MCHC (%)	۴۴/۸۲±۲/۳۶	۴۶/۴۱±۲/۱۲	۴۵/۳۳±۲/۵۲	۴۱/۵۶±۲/۳۷	۴۲/۸۸±۲/۴۱	NS
تعداد گلبولهای سفید (×۱۰³/µl)	۹/۶۲±۲/۵۴	۴/۷۸±۱/۱۸	۵/۹۷±۰/۷۸	۶/۱۳±۰/۶۳	۵/۴۸±۰/۹۵	NS
هتروفیل (%)	۵۵/۳۲±۵/۷۹	۶۶/۲۱±۱۰/۷۶	۷۵/۹۱±۱۲/۵۲	۷۲/۴۳±۱۱/۱۴	۶۷/۶۲±۷/۲۳	NS
لنفوسیت (%)	۴۱/۳۷±۵/۲۳	۲۵/۲۷±۱۴/۱۷	۲۲/۱۴±۱۹/۱۱	۲۴/۴۱±۱۳/۱۶	۲۴/۹۶±۱۱/۰۲	NS
منوسیت (%)	۳/۳۱±۰/۶۲	۸/۵۲±۰/۷۶	۱/۹۵±۰/۲۶	۳/۱۶±۰/۹۷	۷/۴۲±۱/۱۲	NS
گلبولهای سفید دژنره (%)	۰/۰۰±۰/۰۰[a]	۱۰/۷۵±۵/۴۹[b]	۱۳/۶۹±۲/۹۲[b]	۱۸/۳۲±۱/۷۶[b]	۱۹/۷۹±۱/۲۴[b]	S
تعداد ترومبوسیت (×۱۰³/µl)	۲۷/۳۵±۳/۲۷	۲۵/۵۲±۹/۷۳	۲۹/۶۳±۱۱/۷۳	۲۲/۴۱±۷/۴۶	۲۴/۹۶±۴/۹۱	NS

* میانگین±خطای معیار (X±SE)، در هر ستون، میانگینهایی که با حروف لاتین نامتشابه نشان داده شده‌اند با یکدیگر اختلاف آماری معنی‌دار دارند (P<۰/۰۵)، S: Significant، NS: Non Significant.



تصویر ۱ – خون محیطی ماهی کپور نقره‌ای پس از مصرف دوز ۰/۲۵ppm تری‌کلروفن (رنگ‌آمیزی گیمسا ۵۰۰×). H) هتروفیل، L) لنفوسیت، R) گلبول قرمز سالم.

تصویر ۲ – خون محیطی ماهی کپور نقره‌ای در مسمومیت با دوز ۱ppm تری‌کلروفن (رنگ‌آمیزی گیمسا ۵۰۰×). در این تصویر، گلبولهای قرمز متلاشی شده و تنها هسته آنها باقی مانده است. M) منوسیت فعال‌شده، D) سلول دژنره.

EDTA ریخته و به هم زده می‌شد. شمارش گلبولهای سفید و قرمز به روش هماسیتومتری، اندازه‌گیری هموگلوبین به روش سیان‌مت هموگلوبین، سنجش هماتوکریت به روش میکروهماتوکریت، شمارش ترومبوسیت‌ها براساس شمارش غیرمستقیم از راه گسترشهای خونی، تشخیص تفریقی گلبولهای سفید براساس تهیه گسترش خون و رنگ‌آمیزی با گیمسا و سنجش شاخصهای گلبولی (MCH، MCV و MCHC) براساس فرمولهای استاندارد صورت گرفت (۹).

نتایج به‌دست آمده از این پژوهش با استفاده از آزمونهای آنالیز واریانس (ANOVA) یکطرفه و دو طرفه مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. برای پی‌بردن به اختلاف آماری معنی‌دار بین میانگینها در مورد هر پارامتر از آزمون دانکن استفاده شد. برای پی‌بردن به اختلافهای موجود بین دوزهای مختلف سم و نیز زمانهای متفاوت پس از مسمومیت در مورد هر پارامتر از آزمون آنالیز واریانس یکطرفه و برای پی‌بردن به تقابل اثر دوز سم و زمانهای پس از مسمومیت از آنالیز واریانس دوطرفه استفاده شد.

نتایج

نتایج به‌دست آمده از بررسی اثر دوزهای مختلف سم تری‌کلروفن روی پارامترهای هماتولوژیک خون ماهی کپور نقره‌ای در جدول ۱ ارایه شده است. جداول ۲ و ۳ به‌ترتیب میزان پارامترهای هماتولوژیک خون ماهی کپور نقره‌ای را در زمانهای مختلف پس از مسمومیت با دوزهای ۰/۲۵ppm و ۱ppm تری‌کلروفن نشان می‌دهند.

نتایج به‌دست آمده از این پژوهش نشان می‌دهند که بین گروه شاهد و گروههای مصرف‌کننده دوزهای ۰/۲۵ppm و ۱ppm تری‌کلروفن از نظر تعداد گلبولهای قرمز، غلظت هموگلوبین، میزان هماتوکریت، تعداد گلبولهای سفید و درصد هتروفیلها، لنفوسیت‌ها، منوسیت‌ها و گلبولهای سفید دژنره اختلاف آماری معنی‌دار وجود دارد ($P<0/05$). بین گروه شاهد و گروه مصرف‌کننده دوز ۰/۲۵ppm تری‌کلروفن از نظر هیچ یک از پارامترهای هماتولوژیک خون اختلاف آماری معنی‌دار مشاهده نشد. به این معنی که با دوز ۰/۲۵ppm تری‌کلروفن هیچ تغییر معنی‌داری در پارامترهای هماتولوژیک خون ماهی کپور نقره‌ای رخ نداده است. با افزایش دوز سم به ۱ppm، افزایش معنی‌داری در درصد هتروفیلها و گلبولهای سفید دژنره و کاهش معنی‌داری در تعداد گلبولهای قرمز، غلظت هموگلوبین، میزان هماتوکریت، تعداد گلبولهای سفید، درصد لنفوسیت‌ها و منوسیت‌های خون ماهی کپور نقره‌ای مشاهده شد ($P<0/05$).

پس از ایجاد مسمومیت با دوزهای ۰/۲۵ppm و ۱ppm تری‌کلروفن در زمانهای مختلف پس از مسمومیت تنها در مورد درصد گلبولهای سفید دژنره در مسمومیت با دوز ۱ppm اختلاف آماری معنی‌دار مشاهده شد ($P<0/05$) و در مورد سایر پارامترها در زمانهای مختلف پس از مسمومیت هیچ گونه تغییر معنی‌داری دیده نشد. در این پژوهش، هیچ گونه اثر متقابلی بین دوز سم تری‌کلروفن و زمانهای مختلف پس از تجویز سم، در مورد هیچ یک از پارامترهای هماتولوژیک خون ماهی کپور نقره‌ای به‌دست نیامد. در آزمایش هیستوپاتولوژی مشخص‌شدکه پس از مسمومیت با دوز ۱ppm تری‌کلروفن، نکروز بافتی، خونریزی، کم‌خونی و بزرگ‌شدن سلولهای آبششها،کبد و کلیه رخ داده است. واکوئله‌شدن سیتوپلاسم، تغییر شکل هسته و نکروز سلولهای کبدی به‌طور مشخص دیده شد.

بحث

در این پژوهش، در دوز درمانی ۰/۲۵ppm تری‌کلروفن در مقایسه با ماهیان سالم (گروه شاهد)، پارامترهای هماتولوژیک خون تغییرات معنی‌داری نشان ندادند (تصویر ۱) اما در دوز مسموم‌کننده ۱ppm تری‌کلروفن تغییرات معنی‌داری در پارامترهای هماتولوژیک خون دیده شد. از مهمترین تغییرات مشاهده‌شده، درصد بالای گلبولهای سفید دژنره بود. در هتروفیلهای ماهیان مسموم، تغییرات ناشی از مسمومیت بخوبی آشکار بود. سیتوپلاسم هتروفیلها کف‌آلود، واکوئوله و بازوفیلی‌شده و دانه‌های سمی ارغوانی و گنجیدگیهای سیتوپلاسمی آبی رنگ در آنها دیده می‌شد. در دوز ۱ppm تری‌کلروفن با گذشت زمان مسمومیت، درصد هتروفیلهای سمی افزایش یافت. این نکته حکایت از افزایش تأثیر سم با گذشت زمان دارد. تغییرات دژنراتیو و ریخت‌شناسی گلبولهای سفید، شاخص خوبی برای بررسی اثر سم بر سلولهای خونی هستند. واکوئوله و فعال‌شدن منوسیت‌ها، فعال‌شدن لنفوسیت‌ها، حضور هتروفیل‌های سمی و سایر تغییرات گلبولهای سفید همگی از دلایل اثر سم تری‌کلروفن بر تابلوی گلبولهای سفید خون است (۴). در دوز ۱ppm تری‌کلروفن گلبولهای قرمز متلاشی‌شده و تنها هسته آنها باقی مانده بود. به‌طوری که در ۴۸ ساعت پس از شروع مسمومیت بسیاری از گلبولهای قرمز متلاشی شده بودند (تصویر ۲). این نکته، دلیلی بر کم‌خونی ناشی از مسمومیت

با تری‌کلروفن است. در این پژوهش، در اثر مسمومیت با تری‌کلروفن، هتروفیلی، لنفوپنی و منوسیتوپنی مشاهده شد. علت اصلی لنفوپنی، هتروفیلی و منوسیتوپنی را می‌توان استرس ناشی از مسمومیت و آزادشدن گلوکوکورتیکوئیدها دانست (۹، ۴، ۲). در این حالت هتروفیل‌ها بالغ بوده و هیچ نشانه‌ای از انحراف به چپ دیده نشد. هتروفیلی ناشی از کاهش مهاجرت هتروفیل‌ها از خون به بافت، تسریع خروج هتروفیل‌ها از اندامهای خونساز ماهی (کلیه، طحال و ...) به گردش خون و جابه‌جایی هتروفیل‌های حاشیه رگهای خونی به گردش خون می‌باشد. به‌دنبال استرس، هورمونهای بخش قشری غده فوق‌کلیوی آزاد شده و با متوقف‌کردن تقسیم میتوزی لنفوسیت‌ها و متلاشی‌کردن آنها و آتروفی گره‌های لنفاوی سبب لنفوپنی می‌شوند. همچنین گلوکوکورتیکوئیدها با تغییر در گردش مجدد لنفوسیت‌ها، آنها را بیشتر در گره‌های لنفاوی نگهداشته و کمتر وارد خون می‌سازند در نتیجه لنفوپنی رخ می‌دهد (۱۴، ۷، ۱). اثر مالاتیون بر پارامترهای خونی گربه‌ماهیان مورد بررسی قرار گرفته است. مالاتیون، تعداد لنفوسیت‌های T را کاهش می‌دهد (۱۳) منوسیتوپنی حاصله در اثر عملکرد گلوکوکورتیکوئیدها بر منوسیت‌های حاشیه رگهای خونی است. در نتیجه با کاهش جابه‌جایی منوسیت‌های حاشیه رگهای خونی به درون گردش خون منوسیتوپنی رخ می‌دهد (۴ و ۱)، گزارش شده است که در انتهای دوره استرس، منوسیت‌های خون افزایش می‌یابند (۱۰).

کاهش تعداد گلبولهای سفید خون (لکوپنی) می‌تواند ناشی از توکسمی و اثر مخرب سم تری‌کلروفن باشد. این حالت در سایر دامها نیز رخ می‌دهد. عموماً در دامهای اهلی در اثر توکسمی و اندوتوکسمی، لکوپنی رخ می‌دهد (۴ و ۲).

کاهش تعداد گلبولهای قرمز، غلظت هموگلوبین و میزان هماتوکریت، همگی از نشانه‌های کم‌خونی در اثر مسمومیت با تری‌کلروفن هستند. این کم‌خونی بیشتر به‌دلیل اثر سم تری‌کلروفن برروی کبد و تا حدودی کلیه می‌باشد (۴ و ۲). کبد عضو اصلی سم‌زدایی داروها و سموم است. در آزمایش هیستوپاتولوژی، نکروز مشخص سلولهای کبدی دیده شد. با توجه به آسیبهای کلیوی مشاهده شده در آزمایش هیستوپاتولوژی و کاهش اریتروپوئتین کلیوی می‌توان بروز کم‌خونی را ناشی از این نکته نیز دانست (۴). متلاشی‌شدن و تخریب گلبولهای قرمز نیز از دیگر عوامل بروز کم‌خونی در این مسمومیت می‌باشد. کم‌خونی حاصله از نوع نورموسیتیک - نورموکرومیک است. چون شاخصهای گلبولی تغییر معنی‌داری نشان ندادند (۴ و ۲). کم‌خونی حاصله را می‌توان ناشی از آسیب کبدی، کلیوی و همولیز دانست اگرچه تخریب گلبولهای قرمز و تا حدودی آسیب کبدی عوامل مؤثرتری برای ایجاد کم‌خونی هستند (۴، ۲، ۱). در پژوهشی اثرات تراکلرور کربن بر پارامترهای خونی گربه‌ماهیان به‌صورت کاهش تعداد گلبولهای قرمز، میزان هموگلوبین و هماتوکریت دیده شد. نتایج حاصله مشابه نتایج پژوهش حاضر بود (۱۱).

در مجموع مشخص گردید که تری‌کلروفن در دوز ۱ppm اثرات قابل توجهی بر پارامترهای هماتولوژیک خون ماهی کپور نقره‌ای دارد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از زحمات و همکاریهای ارزشمند سرکار خانمها فرش‌نشانی و خرم‌نیا کارشناسان محترم آزمایشگاه گروه علوم درمانگاهی و منشی محترم گروه علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز سرکار خانم شریف‌پور صمیمانه تشکر و قدردانی می‌شود.

References

1. Campbell, T.W. (1988): Tropical Fish Medicine. Fish Cytology and Hematology. Vet. Clin. North. Am. Small Anim. Pract. 18: 364-374.
2. Coles, E.H. (1986): Veterinary Clinical Pathology. 4th ed. W.B. Saunders Co., Philadelphia, pp: 43-79.
3. Coppage, D.O. and Mathew, S.E. (1974): Short-term effect of organophosphate pesticides on cholinesterase of estuarine fish and pink shrimp. Bull. Environ. Contum. Toxical. 2: 433.
4. Duncan, J.R., Prasse, K.W. and Mahaffey, E.A. (1994): Veterinary Laboratory Medicine. Clinical Pathology. 3rd ed. Iowa State University Press. Ames. Iowa. U.S.A, pp: 37-52.
5. Ferguson, H.W. (1995): Systemic Pathology of Fish. 3rd ed. Iowa State University Press, pp: 146.
6. Gantverg, A.N. and Pervoznikov, M.A. (1984): Inhibition of cholinesterase in the brain of perch, percafluviatilis (percidea) and common carp. Cyprinus carpio (Cyprinidae) under the action carbophos. J. Ichthyol. 23: 174.
7. Hines, R.S. and Spria, D.T. (1973): Ichthyophthiriasis in mirror carp II. Leukocyte response. J. Fish Biol. 5: 527-534.
8. Ikeadaly, S. and Ozaki, H. (1981): The examination of tail peduncle severing blood sampling method from aspect of observed serum constituent level in carp. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 47: 1447-1453.
9. Jain, N.C. (1986): Schalms Veterinary Hematology. 4th ed. Lea & Febiger. Philadelphia, pp: 20-80.
10. Morris, D.D. (1996): Alternation in the Leukogram. In: Large Animal Internal Medicine. Edithed by Smith, B.P. 2nd ed. Mosby - Year Book, Inc., pp: 483.
11. Sharma, R.C. and Gupta, N. (1982): Carbon tetrachloride induced hematological alternations in Clarias batrachus. Environ. Biol. 3: 127-131.
12. Stoskopf, M.K. (1993): Fish Medicine. 1st ed. W.B. Saunders Co. Philadelphia, pp: 127-131.
13. Vars, H.M. (1934): Blood studies on fish and turtles. J. Biol. Chem., 105: 135-137.
14. Weinreb, E.H. and Weinreb, S.A. (1969): Study of experimentally induced endocytosis in a teleost. I. Light microscopy peripheral blood cell response. Zool. N.Y., 54: 25-34.

Evaluation of hematological parameters in experimental intoxication with trichlorofen in the silver carp

Nazifi, S.[1], Firozbakhsh, F.[2], Ghazizadeh, M.[3]

[1]Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz - Iran. [2]Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Bahonar Kerman University, Kerman - Iran. [3]Graduated from the Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Bahonar Kerman University, Kerman - Iran.

To evaluate the effects of intoxication with trichlorofen on

hematological parameters, an experiment was conducted with 60 silver carp. All the fishes were divided to 3 different groups: Control group (12), intoxicated group with 0.25ppm of trichlorofen (24) and intoxicated group with 1ppm of trichlorofen (24). Blood samples were collected before the administration of trichlorofen for obtaining control values. Following the administration of trichlorofen, blood samples were collected 5 times at 0, 12, 24, 36 and 48 hours post administration. Following the intoxication with 0.25ppm of trichlorofen, there was no significant difference in any of the hematological parameters. After the intoxication with 1ppm of trichlorofen, the percentage of heterophils and degenerated leukocytes significantly increased ($P<0.05$). However, erythrocyte counts, hemoglobin concentration, hematocrit, leukocyte counts and the percentage of lymphocytes and monocytes significantly decreased ($P<0.05$). Following the intoxication with 0.25ppm and 1ppm of trichlorofen, in different times of post intoxication, there was no significant difference in any of the hematological parameters, except in the percentage of degenerated leukocytes. No significant interaction was observed between dose and different time of post intoxication with trichlorofen. This study showed that intoxication with trichlorofen can have profound effects on hematological parameters of silver carp.

Key words : trichlorofen intoxication, Hematological parameters, Sliver carp.