

ارزیابی تغییرات هیستوپاتولوژیک سم تریسیکلazol بر بافت مغز در موش صحرائی نژاد ویستار

زهرا هرسینی^۱، سید محمد حسینی^{۱*}، فرشته پورعبدالحسین^۲

^۱گروه پاتولوژی، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی، بابل، ایران، ^۲گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران

تاریخ وصول: ۱۴۰۳/۱/۲۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۰/۱۵

چکیده

زمینه و هدف: منابع غذایی انسان همواره به وسیله عوامل آسیب‌رسان بی‌شماری از جمله بقایای سموم و آفت‌کش‌های مورد استفاده در کشاورزی تهدید می‌شوند، که در این میان قارچ‌کش سیستمیک تریسیکلazol (TCZ) به علت اثرات سیتوتوکسیک، بسیار مورد توجه قرار گرفته است. بنابر این هدف از این مطالعه تعیین و ارزیابی تغییرات هیستوپاتولوژیک سم تریسیکلazol بر بافت مغز در موش صحرائی نژاد ویستار بود.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی که در سال ۱۴۰۱ به مدت ۲۸ روز به منظور بررسی کیفی ضایعات پاتولوژیکی و شمارش کمی نورون‌های مغزی انجام شد، ۳۲ سر موش صحرائی نژاد ویستار وارد مطالعه شدند و در چهار گروه هشت‌تایی شامل؛ کنترل، دریافت‌کننده سم به صورت خوراکی با دوزهای (A) ۵۰، (B) ۳۷/۵ و (C) ۲۵ (میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) استفاده و پس از نمونه‌برداری از بافت مغز، لام‌ها با رنگ‌آمیزی نیسل و هماتوکسیلین - آئوزین بررسی شدند. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از آزمون‌های آماری کلموگروف - اسمیرنف، آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون مقایسه چندگانه توکی تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: بررسی‌های صورت گرفته در گروه‌های دریافت‌کننده سم، ضایعات پاتولوژیکی از جمله نکروزه شدن نورون‌ها و افزایش سلول‌های میکروگلیا در ناحیه هیپوکامپ و قشر مغز را نشان داد که متعاقب آن نتایج شمارش سلولی مشخص‌کننده کاهش معنی‌دار تعداد نورون‌ها در ناحیه قشر مغز A (۱۵۷/۲۰ ± ۴/۶۸)، B (۱۶۷/۲۰ ± ۴/۹۴) و C (۱۸۶/۶۰ ± ۵/۴۶) و نواحی مختلف هیپوکامپ (CA1-4، DG) در تمامی گروه‌ها نسبت به گروه کنترل بود ($p < 0/05$).

نتیجه‌گیری: نتایج پژوهش نشان داد که ترکیب ضد قارچ تری سیکلazol باعث آسیب و مرگ پاتولوژیک نورون‌ها در قشر مغز و نواحی مختلف هیپوکامپ و کاهش تعداد سلول‌های این نواحی می‌شود و شدت ضایعات با افزایش دوز رابطه مستقیم دارد.

واژه‌های کلیدی: تری سیکلazol، سمیت عصبی، هیستوپاتولوژی، قارچ‌کش، موش صحرائی

*نویسنده مسئول: سید محمد حسینی، بابل، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد بابل، گروه پاتولوژی

Email: dr_hosseini2323@yahoo.com

"نشریه علمی پژوهشی ارمغان دانش وابسته به دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یک نشریه با دسترسی آزاد است و تمامی مقالات منتشر شده در این نشریه به صورت دسترسی آزاد منتشر می‌شوند."

مقدمه

همزمان با رشد پایدار جمعیت، استفاده از الگوهای استاندارد که منجر به افزایش بهره‌وری و بازدهی بیشتر محصولات غذایی شده، از اهمیت بالایی برخوردار بوده و بسیار مورد توجه قرار گرفته است. با این حال ما با جهانی در حال تغییر مواجه می‌باشیم که در آن منابع غذایی انسان به وسیله عوامل آسیب‌زای بی‌شماری تهدید می‌شوند. از اواسط قرن بیستم تا به امروز همزمان با ظهور کشاورزی به شیوه مدرن، پاتوژن‌های قارچی با توجه به چرخه زندگی سریع و تنوع سویه‌های آن‌ها، جدی‌ترین تهدید زیستی برای از بین بردن محصولات کشاورزی و آسیب‌پذیری امنیت غذایی محسوب می‌شوند (۱). بنابراین استراتژی‌های ضدقارچی به منظور مدیریت خسارات ناشی از آفات گیاهی، منجر به ساخت و تغییر فرمولاسیون قارچ‌کش‌های مصنوعی باقابلیت تأثیرگذاری بر اجزای حیاتی سلول قارچی و کنترل رشد آن‌ها شده است. علی‌رغم مزایای بی‌شمار، به کار بردن گسترده این ترکیبات چالش‌های زیادی از جمله اثرات جانبی باقی مانده سموم بر محصولات کشاورزی و خطرات اکوتوکسیکولوژیکی وابسته به خواص شیمیایی ناشی از بقایای قارچ‌کش‌ها را به دنبال دارد (۲). گزارش‌های حاصل از پژوهش‌های انجام شده پیرامون سمیت قارچ‌کش‌های سیستمیک، ارتباط میان قرار گرفتن در معرض این سموم و اختلالات غدد درون‌ریز، تغییرات پاتوفیزیولوژی سیستم عصبی و تولیدمثلی را نشان داده‌اند (۳-۶).

در این میان قارچ‌کش سیستمیک

تری‌سیکلازول (TCZ) به عنوان یک بنزوتیازول منحصرراً برای کنترل و از بین بردن بیماری قارچی بلاست که به دلیل انتشار گسترده، جدی‌ترین بیماری در تمام مراحل رشد برنج محسوب می‌شود، ساخته شده است (۷). بر اساس پژوهش‌های آزمایشگاهی صورت گرفته، این ترکیب ضدقارچ مانند دیگر قارچ‌کش‌های خانواده تریازول به علت چربی دوستی بالا در برابر تجزیه هیدرولیتیک و فتوشیمیایی پایدار بوده، به راحتی در محیط هیدرولیز نمی‌شود و بیشتر از ۱۱ ماه در خاک ماندگاری دارد (۸ و ۹). تری‌سیکلازول اغلب از طریق بلع، استنشاق یا نفوذ پوستی وارد بدن انسان یا حیوانات می‌شود (۱۰).

از آن جایی که سمیت قارچ‌کش‌ها محدود به آفات هدف آن‌ها نبوده، بنابراین تری‌سیکلازول از طریق متابولیت‌های گیاهی به طور مستقیم یا از طریق قرار گرفتن به صورت غیرمستقیم در جریان آب با توجه به فراهمی زیستی مطلق بیش از ۹۰ درصد از راه خوراکی و سرعت جذب بالا، می‌تواند اثرات بیولوژیکی متفاوتی در انسان و حیوانات ایجاد کند (۱۱). بعضی از یافته‌های پژوهش‌های صورت گرفته نشان می‌دهد TCZ با تولید رادیکال‌های آزاد واکنش‌هایی را در بدن القا می‌کند که منجر به شکستن پیوندهای شیمیایی ماکرو و میکرو مولکول‌ها و به دنبال آن تغییراتی در متابولیسم کربوهیدرات‌ها، لیپیدها و پروتئین‌ها و در نهایت مرگ سلولی می‌شود (۱۲ و ۱۳). از دیگر عوارضی که به دنبال قرار

گرفتن در معرض این ترکیب ضد قارچ گزارش شده، تغییر در فعالیت آنزیم‌های کبدی به عنوان بافت هدف اصلی به علت مهار سیتوکروم P450 و اختلال در سنتز کلسترول و همچنین تخریب رده‌های سلولی، کاهش تعداد سلول‌های اسپرما توژنیک و اختلال در بافت بیضه بوده است (۱۵ و ۱۴). همچنین در پژوهش‌های متعدد صورت گرفته مشخص شد مشتقات قارچ‌کش‌های خانواده تریازول منجر به تغییرات نوروپاتولوژیکی قابل توجهی در سیستم عصبی مرکزی و محیطی همراه با اختلالات رفتاری به دنبال انحطاط نورون‌های مغزی در مدل‌های حیوانی می‌شوند (۱۸-۱۶) و از آن جایی که مغز یک شبکه پیچیده بزرگ است که در آن نورون‌ها با یکدیگر ارتباط برقرار می‌کنند و اتصالات بین آن‌ها از رفتار عملکردی مغز پشتیبانی می‌کند و در راستای آن به دلیل فعالیت متابولیکی بالا و نیاز مطلق به گلوکز، در صورت آسیب به نورون‌ها با الگوهای سمیت متفاوت، ناهنجاری‌های عملکردی موضعی یا گسترده‌ای در سیستم عصبی ایجاد می‌شود (۲۰ و ۱۹). در این میان نتایج حاصل از پژوهش‌های انجام شده، آسیب‌پذیری و حساسیت بالای نورون‌های ناحیه هیپوکامپ و قشر مغز نسبت به سایر نواحی مغزی و تغییرات سلولی در برابر سمیت عوامل مضر شیمیایی را نشان داده‌اند (۲۱).

با توجه به اهمیت موارد ذکر شده و از آن جایی که تاکنون بر اساس بررسی‌های حاضر در منابع معتبر علمی مطالعه‌ای در زمینه آسیب سیستم

عصبی از جمله تغییرات سلولی بافت مغز به دنبال استفاده قارچ‌کش سیستمیک تریسیکلazol انجام نشده است، بنابراین هدف از این مطالعه تعیین و ارزیابی تغییرات هیستوپاتولوژیک سم تریسیکلazol بر بافت مغز در موش صحرایی نژاد ویستار بود.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی که در سال ۱۴۰۱ در دانشگاه آزاد اسلامی واحد بابل انجام شد. تعداد ۳۲ سر موش صحرایی نر آلبینو، نژاد ویستار با میانگین وزنی 20 ± 200 گرم و محدوده سن ۸-۶ هفته، تهیه شده از پژوهشکده شمال انستیتو پاستور ایران تحت شرایط استاندارد (چهار رت در هر قفس) در حیوان خانه با دمای 5 ± 23 درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۵۵ درصد و چرخه نور/تاریکی ۱۲ ساعت استفاده گردید. پژوهش حاضر با شرایط نگهداری یکسان برای کلیه گروه‌ها همراه با دسترسی آزاد به آب و رژیم غذایی استاندارد و پس از گذشت یک هفته جهت سازگاری با شرایط محیط انجام پذیرفت. تمامی پروتکل‌های آزمایشگاهی مطابق با دستورالعمل‌های ثبت شده در کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد بابل رعایت گردید.

موش‌ها به صورت تصادفی به چهار گروه هشت‌تایی شامل؛ یک گروه کنترل و سه گروه تجربی دریافت‌کننده سم تریسیکلazol تقسیم شدند. گروه کنترل فقط آب مقطر و سه گروه دیگر سم TCZ را در سه سطح ۱۰، ۱۵ و ۲۰ درصد از میانگین دوز

کشنده (LD50) با دوزهای (A) ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم، (B) ۳۷/۵ میلی گرم بر کیلوگرم و (C) ۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم دریافت کردند. سموم در روغن ذرت حل و بر اساس وزن بدن تنظیم شدند. ترکیبات روزانه و به مدت ۲۸ روز به صورت خوراکی تجویز (۲۲) و مصرف آب و غذا هر روز به صورت دستی کنترل شد. در روز بیست و نهم، جهت ایجاد بیهوشی از داروی کتامین (۷۰ میلی گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم) به صورت داخل صفاقی استفاده و حیوانات با رعایت اصول اخلاقی کشته شدند.

جهت بررسی‌های بافت‌شناسی، پس از خارج نمودن مغز موش‌ها از درون جمجمه نمونه‌های حاصل به منظور تثبیت، حفظ یکپارچگی ساختار و مورفولوژی مناسب سلول‌ها بلافاصله در محلول فرمالین ۱۰ درصد به مدت ۴۸ ساعت قرار داده شدند و پس از طی کردن مراحل آماده‌سازی بافت و جداسازی در بلوک‌های پارافینی، برای تهیه اسلایدهای میکروسکوپی برش‌هایی در سطوح کروئال با ضخامت ۸ میکرومتر (در ناحیه برگما، ۲/۵ تا ۴/۵ میلی متر از هیپوکامپ) با استفاده از دستگاه میکروتوم (مدل -۱۵۱۲ Leitz) ایجاد گردید. بر اساس پروتکل‌های رایج آزمایشگاهی در جهت بررسی مورفولوژی و شناسایی ساختار پایه‌ای نورون‌های سالم از نورون‌های تخریب شده در بافت مغز، اسلایدها به وسیله رنگ آمیزی هماتوکسیلین - ائوزین و نیسل با استفاده از کریزل اسات بنفش (Cresyl Violet) مورد

بررسی قرار گرفتند (۲۳). به منظور انجام بررسی‌های کمی و شمارش سلول‌ها، ۴ برش متوالی ایجاد شده با فاصله ۱۰۰ میکرومتر از نواحی قشر مغز، CA1، CA2، CA3، CA4 dentate gyrus (DG) هیپوکامپ انتخاب و به وسیله میکروسکوپ نوری (مدل Olympus CX31) با بزرگ‌نمایی ۴۰× سلول‌های این نواحی شمارش شدند. ۱۲۰ میلی متر مربع متناوب در قشر و ۳۲ میلی متر مربع در مناطق CA1-4 و ۴۲ میلی متر مربع در DG هیپوکامپ محاسبه شد. تصاویر به وسیله میکروسکوپ ثبت و ارزیابی نورون‌های این نواحی با استفاده از نرم‌افزار صورت پذیرفت (۲۴ و ۲۵).

برای ارزیابی شدت ضایعات پاتولوژیکی و مقایسه آن بین گروه‌ها در نواحی قشر مغز و هیپوکامپ از سیستم امتیازدهی به صورت: - = بدون تغییرات پاتولوژیکی، + = تغییرات خفیف (mild)، ++ = تغییرات ملایم (moderate)، +++ = تغییرات شدید (severe) استفاده گردید (۲۶).

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون‌های آماری کلموگروف - اسمیرنف، آنالیز واریانس یک‌طرفه و مقایسه چندگانه توکی تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

یافته‌های حاصل از بررسی‌های هیستوپاتولوژیکی با استفاده از رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین - ائوزین و نیسل به دنبال تجویز تری‌سیکلانول در ناحیه قشر مغز و هیپوکامپ؛

تغییرات مورفولوژیکی مبنی بر مرگ سلولی (پیکنوز شدن هسته، هیپراٹوزینوفیلیک شدن سیتوپلاسم و تغییر اندازه نوروں‌ها) و افزایش سلول‌های میکروگلیا را نشان داد (شکل ۱). که بیشترین میزان نکروز و انحطاط نوروں‌ها در گروه A نسبت به سایر گروه‌ها دیده شد. البته پس از دریافت تری سیکلازول با دوز ۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم هیچ گونه شواهد میکروسکوپی از گلیوز در هیچ کدام از دو نواحی مشاهده نگردید (جدول ۱). همچنین در گروه کنترل، نوروں‌ها دارای هسته‌های کروی مشخص و سیتوپلاسم کاملاً واضح بودند که نشان از طبیعی بودن مشخصات سلولی، هیستولوژیک و عدم وجود تغییرات دژنراتیو خاص در کل بافت می باشد.

میانگین تعداد و تراکم نوروںی در نواحی مختلف هیپوکامپ (CA1، CA2، CA3، CA4، DG) در گروه‌های دریافت کننده سم تری سیکلازول با دوزهای

۳۷/۵ میلی گرم بر کیلوگرم و ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم در مقایسه با گروه کنترل به طور قابل توجهی کاهش یافت ($p < 0.05$) به گونه ای که کمترین تعداد نوروں‌ها در گروه A مشاهده گردید، اما در گروه C کاهش معنی دار تعداد نوروں‌ها نسبت به گروه کنترل تنها در ناحیه CA1 هیپوکامپ دیده شد (جدول ۲).

همچنین میانگین تعداد نوروں‌های شمارش شده از مقاطع تهیه شده در ناحیه قشر مغز در گروه A ($107/20 \pm 4/68$)، B ($167/20 \pm 4/94$) و C ($186/60 \pm 5/46$) کاهش تراکم نوروںی نسبت به گروه کنترل که دارای میانگین تعداد نوروںی $201/50 \pm 2/62$ بود را نشان داد. کد حرف‌ها مشخصه میانگین‌های هر گروه بوده و تفاوت حروف در یک ستون نشان دهنده اختلاف معنی داری نسبت به یکدیگر می باشد ($p < 0.05$) (جدول ۲).

جدول ۱: مقایسه شدت تغییرات پاتولوژیکی در نواحی قشر مغز و هیپوکامپ بین گروه‌های دریافت کننده سم تری سیکلازول و گروه کنترل

	نکروز		گلیوز	
	قشر مغز	هیپوکامپ	قشر مغز	هیپوکامپ
گروه کنترل	-	-	-	-
گروه TCZ A	+++	+++	++	+
گروه TCZ B	++	++	+	+
گروه TCZ C	+	+	-	-

امتیازدهی به صورت: - = بدون تغییرات پاتولوژیکی، + = تغییرات خفیف (mild)، ++ = تغییرات ملایم (moderate) و +++ = تغییرات شدید (severe)

جدول ۲: مقایسه تعداد نورون‌های نواحی مختلف هیپوکامپ بین گروه‌های دریافت‌کننده سم تری‌سیکلزول و گروه کنترل

میانگین $\pm$ خطای استاندارد				
DG	CA4	CA2,3	CA1	
۱۹۰/۰۰ $\pm$ ۲/۹۲ ^a	۸۰/۰۰ $\pm$ ۲/۵۴ ^a	۱۸۲/۹۵ $\pm$ ۵/۶۹ ^a	۲۰۳/۳۰ $\pm$ ۲/۸۲ ^a	کنترل
۱۴۵/۸۰ $\pm$ ۴/۳۵ ^b	۴۸/۸۰ $\pm$ ۲/۵۱ ^c	۱۰۳/۰۰ $\pm$ ۴/۷۹ ^c	۱۲۶/۰۰ $\pm$ ۴/۷۷ ^c	تری‌سیکلزول (A)
۱۵۶/۲۰ $\pm$ ۵/۲۲ ^b	۶۰/۳۰ $\pm$ ۳/۲۸ ^b	۱۴۳/۷۰ $\pm$ ۷/۸۳ ^b	۱۴۶/۲۰ $\pm$ ۶/۸۴ ^c	تری‌سیکلزول (B)
۱۷۷/۰۰ $\pm$ ۵/۷۳ ^a	۷۴/۳۰ $\pm$ ۳/۴۰ ^a	۱۶۹/۸۰ $\pm$ ۴/۴۳ ^a	۱۸۰/۳۰ $\pm$ ۶/۶۱ ^b	تری‌سیکلزول (C)

بحث

اثرات بهداشتی مستقیم و یا غیرمستقیم مرتبط با قرارگرفتن موجودات غیرهدف از جمله انسان در محیطی آلوده به سموم شیمیایی، از مهم‌ترین عوامل تهدیدکننده سلامت عمومی به‌شمار می‌آید که می‌تواند منجر به بروز بیماری‌ها و مشکلات زیست محیطی پایدار شود (۲۷)، بنابراین هدف از این مطالعه تعیین و ارزیابی تغییرات هیستوپاتولوژیک سم تری‌سیکلزول بر بافت مغز در موش صحرایی نژاد ویستار بود.

ارزیابی اثرات نامطلوب قارچ‌کش‌ها به عنوان یک پارامتر مهم در رابطه با سلامت جانداران مطرح می‌باشد (۲۸). به همین علت در این مطالعه تجربی که برای اولین بار اثر قارچ‌کش سیستمیک تری‌سیکلزول بر روی نورون‌های مغزی مورد بررسی قرار گرفت، مشخص گردید به دنبال قرار گرفتن در معرض این ترکیب شیمیایی بیشترین تغییرات پاتولوژیکی در دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و پس از آن در دوز ۳۷/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم در نواحی قشر مغز و هیپوکامپ ایجاد می‌شود. همچنین از آن جایی که بافت مغز آسیب‌پذیرترین اندام در برابر سموم محیطی

مصنوعی به‌شمار می‌آید، به علت تعاملات پیچیده شیمیایی این سموم با نورون‌های مغزی، اختلال در فیزیولوژی طبیعی سلول‌ها، تغییرات برگشت‌ناپذیر، انحطاط پیش‌رونده نورون‌ها و آسیب‌پذیری بیشتر در سیستم عصبی رخ می‌دهد (۳۰ و ۲۹)، بنابراین می‌توان استدلال نمود که قارچ‌کش‌ها در صورت عبور از سد خونی مغزی منجر به آسیب سلول‌های مغزی شده که شدت آسیب وارده بستگی به دوز مصرفی دارد.

انواع آسیب‌های محیطی و پاتوفیزیولوژیک موضعی مانند آسیب عصبی حاصل از نوروتوکسین‌ها و عوامل التهابی، باعث فعال شدن میکروگلیاها به عنوان اولین پاسخ در سیستم عصبی مرکزی می‌شوند (۳۲ و ۳۱) که در پژوهش حاضر نیز دیده شد قارچ‌کش سیستمیک تری‌سیکلزول در دوزهای بالا منجر به ایجاد گلیوز در ناحیه هیپوکامپ و قشر مغز می‌شوند. در همین راستا یافته‌های حاصل از بررسی مورگان و همکاران نشان داد مصرف خوراکی قارچ‌کش سیستمیک پتکونازول از خانواده تریازول‌ها منجر به افزایش سلول‌های نوروگلیا ماده

خاکستری مغز می‌شود (۲۳) همچنین در دیگر مطالعه انجام شده برای بررسی سمیت قارچ‌کش‌ها که به وسیله احمد و همکاران بر روی قارچ‌کش سیستمیک سیموکسانیل انجام شد، تغییرات پاتولوژیکی متعددی از جمله؛ گلیوز، در بافت مغز موش‌های صحرایی پس از مصرف مشاهده گردید (۲۴).

سنجش‌های *in-vivo* و *in-vitro* نشان دادند که ترکیبات قارچ‌کش مشتق شده از خانواده تریازول‌ها از جمله تریسیکلزول می‌توانند باعث اختلالات برگشت‌ناپذیر متابولیک‌های بدن، بر هم زدن تعادل آنتی‌اکسیدانی، تغییر فاکتورهای خونی و اختلالات نورواناتومیکی سلول‌های مغزی شوند، به همین علت این ترکیبات ضدقارچ در زیر مجموعه سموم ژنتیکی و سلولی طبقه‌بندی می‌شوند (۱۶-۱۷).

قارچ‌کش‌های خانواده تریازول با مکانیسم‌های متعددی از جمله تغییرات کانال‌های یونی سلول‌های مغزی و تولید رادیکال‌های آزاد منجر به ایجاد سمیت عصبی شده (۳۶ و ۳۵) و با توجه به حساسیت بالای نورون‌های مغزی و توانایی ضعیف در جبران آسیب وارد شده، این سموم می‌توانند باعث تغییرات مورفولوژی و مرگ پاتولوژیک نورون‌های مغزی به خصوص در نواحی قشر مغز و هیپوکامپ گردند (۳۸ و ۳۷) پژوهش‌های قبلی نشان داد قرار گرفتن در معرض قارچ‌کش دیفنوکونازول از خانواده تریازول‌ها منجر به افزایش رادیکال‌های آزاد، اختلال در یکپارچگی سد خونی مغزی، التهابات عصبی و در

نهایت منجر به مرگ سلول‌های عصبی شد (۳۹). علاوه بر این گزارش‌های دیگر نشان می‌دهد که تخریب نورون‌های مغزی به دنبال به کار بردن قارچ‌کش‌های سیستمیک می‌تواند به علت کاهش انرژی در دسترس سلول‌ها نیز رخ دهد (۴۰). به طور مشابه در پژوهش حاضر نیز قرار گرفتن در معرض ترکیب ضدقارچ تریسیکلزول باعث تخریب، نکروز و انحطاط نورون‌های مغزی گردید.

کاهش تعداد نورون‌ها و تراکم عصبی بر عملکرد مغز تأثیرگذار بوده و متعاقباً قابلیت تغییر ظرفیت پردازش اطلاعات را داشته به همین منظور شمارش کمی سلول‌ها در جهت ارزیابی تأثیرات سموم مختلف و میزان تخریب نورون‌های سیستم عصبی صورت می‌گیرد (۴۲ و ۴۱). داده‌های آسیب‌شناسی حاصل از بررسی‌های میکروسکوپی صورت گرفته در این پژوهش نشان داد؛ سم تریسیکلزول منجر به کاهش تعداد نورون‌های نواحی مختلف هیپوکامپ و قشر مغز گردید که البته این کاهش تراکم نورونی با افزایش دوز رابطه مستقیم داشت. در همین رابطه پژوهش‌های متعدد نشان دهنده آن است که یکی از ویژگی‌های بارز مسمومیت با قارچ‌کش‌ها، کاهش تعداد نورون‌های قشر مغز و هیپوکامپ به دنبال مرگ سلولی می‌باشد. از جمله در پژوهش صورت گرفته به وسیله هاسن و همکاران بر روی قارچ‌کش هایموکسازول نشان داده شد که این ترکیب با ایجاد تغییرات مورفولوژیکی قابل توجهی در نورون‌ها، منجر به نکروز و به دنبال آن

تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع در این پژوهش وجود ندارد

حمایت مالی

این تحقیق با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد بابل صورت پذیرفت.

ملاحظات اخلاقی

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه دکتری عمومی رشته دامپزشکی با کد اخلاق IR.IAU.BABOL.REC.1400.122 از دانشگاه آزاد اسلامی واحد بابل می‌باشد.

مشارکت نویسندگان

نویسندگان این مقاله در تمامی مراحل همکاری و مشارکت داشته‌اند.

کاهش تعداد و تراکم سلولی در ناحیه قشر مغز و هیپوکامپ گردید (۴۳). همچنین در پژوهش دیگری که به وسیله کورزاتکوفسکی و ترومبتا انجام شد، قارچ‌کش مانکوزب ضایعات پاتولوژی به خصوصی مبنی بر مرگ سلولی در ناحیه DG هیپوکامپ ایجاد کرد (۴۴) که یافته‌های حاصل از این پژوهش با پژوهش‌های انجام شده در ارتباط با کاهش تراکم نورونی و اثرات قارچ‌کش‌ها همسو می‌باشد.

از محدودیت‌های انجام پژوهش حاضر می‌توان به عدم سنجش شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی اشاره نمود، لذا پیشنهاد می‌شود در پژوهش‌های آتی شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی سنجش شود.

نتیجه‌گیری

با توجه به یافته‌های حاصل می‌توان نتیجه گرفت که سمیت عصبی و آسیب بافتی به دنبال استفاده از قارچ‌کش تری‌سیکلزول در دوزهای بالا منجر به افزایش شدت ضایعات خواهد بود.

تقدیر و تشکر

نویسندگان این مطالعه از زحمات همکارانی که در انجام این مطالعه ما را یاری کرده‌اند، تقدیر و تشکر می‌گردد.

REFERENCES

- 1.Steinberg G, Gurr SJ. Fungi, fungicide discovery and global food security. *Fungal Genetics and Biology*. 2020;144:103476.
- 2.Ons L, Bylemans D, Thevissen K, Cammue BP. Combining biocontrol agents with chemical fungicides for integrated plant fungal disease control. *Microorganisms*. 2020;8(12):1930.
- 3.Huang T, Zhao Y, He J, Cheng H, Martyniuk CJ. Endocrine disruption by azole fungicides in fish: A review of the evidence. *Science of The Total Environment*: 2022; 153412.
- 4.Schwartz CL, Christiansen S, Vinggaard AM, Axelstad M, Hass U, Svingen T. Anogenital distance as a toxicological or clinical marker for fetal androgen action and risk for reproductive disorders. *Archives of Toxicology*. 2019;93(2):253-72.
- 5.Jackson AC. Chronic neurological disease due to methylmercury poisoning. *Canadian Journal of Neurological Sciences*. 2018;45(6):620-3.
- 6.Pearson BL, Simon JM, McCoy ES, Salazar G, Fragola G, Zylka MJ. Identification of chemicals that mimic transcriptional changes associated with autism, brain aging and neurodegeneration. *Nature communications*. 2016;7(1):1-12.
- 7.Corvaro M, Gollapudi BB, Mehta J. A critical assessment of the genotoxicity profile of the fungicide tricyclazole. *Environmental and Molecular Mutagenesis*. 2020;61(3):300-15.
- 8.Padovani L, Capri E, Padovani C, Puglisi E, Trevisan M. Monitoring tricyclazole residues in rice paddy watersheds. *Chemosphere*. 2006;62(2):303-14.
- 9.Zubrod JP, Bundschuh M, Arts G, Brühl CA, Imfeld G, Knäbel A, et al. Fungicides: an overlooked pesticide class? *Environmental science & technology*. 2019;53(7):3347-65.
- 10.Authority EFS. Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance tricyclazole. *EFSA Journal*. 2015;13(2):4032.
- 11.Corvaro M, Bartels M. The ADME profile of the fungicide tricyclazole in rodent via the oral route: A critical review for human health safety assessment. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 2019;108:104438.
- 12.Fattahi E. Histopathological and Enzymatic Changes in Liver of Mice Treated with Tricyclazole. *Medical Laboratory Journal*. 2017;11(6):18-22.
- 13.Pandit DN, Rani U. Toxicity of tricyclazole on certain serum biochemical markers of an Indian paddy-field fish, *Channa punctatus* (Bloch). *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*. 2019;7(۶):۲۴۶-۵۰.
- 14.Rowshanaie T, Sadoughi M. The Effects of Tricyclazole on Hepatic Enzyme Changes and Tissue Damage in the Fetus of Laboratory Mice. *Journal of Babol University of Medical Sciences*. 2015;17(7):51-7.
- 15.Fattahi E, Mousavi Moghadam M, Khanbabaei R. The effect of tricyclazole on testosterone changes and testicular structure in mice. *Journal of Babol University of Medical Sciences*. 2015;17(2):43-9.
- 16.Faro LRF. Neurotoxic effects of triazole fungicides on nigrostriatal dopaminergic neurotransmission. *Fungicide*: 2010; 405-20.
- 17.Rjiba-Touati K, Ayed-Boussema I, Hamdi H, Abid S. Genotoxic damage and apoptosis in rat glioma (F98) cell line following exposure to bromuconazole. *NeuroToxicology*. 2023;94:108-16.
- 18.Rjiba-Touati K, Hamdi H, M'nassri A, Rich S, Mokni M, Abid S. Brain injury, genotoxic damage and oxidative stress induced by Bromuconazole in male Wistar rats and in SH-SY5Y cell line. *Biomarkers*. 2022(just-accepted):1-36.
- 19.Aloizou A-M, Siokas V, Vogiatzi C, Peristeri E, Docea AO, Petrakis D, et al. Pesticides, cognitive functions and dementia: A review. *Toxicology Letters*. 2020;326:31-51.
- 20.Raj A, Powell F. Models of network spread and network degeneration in brain disorders. *Biological Psychiatry: Cognitive Neuroscience and Neuroimaging*. 2018;3(9):788-97.
- 21.Ebedy YA, Hassanen EI, Hussien AM, Ibrahim MA, Elshazly M. Neurobehavioral Toxicity Induced by Carbendazim in Rats and the Role of iNOS, Cox-2, and NF-κB Signalling Pathway. *Neurochemical Research* 2022; 47(7): 1956-71.
- 22.do Amaral LA, Farias Pereira Subtil Cavalcante AC, da Silva Fleming de Almeida T, Marques Romeiro Santos M, Candeloro Portugal L, Suzuki dos Santos B, et al. Acute and subacute (28 days) oral toxicity studies of tucum almond oil (*Bactris Setosa* Mart.) in mice. *Drug and Chemical Toxicology* 2021; 45(4): 1754-60.
- 23.Suvarna KS, Layton C, Bancroft JD. Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques E-Book. 7th ed: Elsevier Health Sciences; 2012; 30.

24. Farokhchah M, Hejazian L, Akbarnejad Z, Pourabdolhossein F, Hosseini SM, Mehraei TM, et al. Geraniol improved memory impairment and neurotoxicity induced by zinc oxide nanoparticles in male wistar rats through its antioxidant effect. *Life Sciences*. 2021;282:119823.
25. Nobakht M, Hoseini SM, Mortazavi P, Sohrabi I, Esmailzade B, Roosh NR, et al. Neuropathological changes in brain cortex and hippocampus in a rat model of Alzheimer's disease. *Iranian biomedical journal*. 2011;15(1-2):51.
26. Duncan JR, Cock ML, Scheerlinck J-PY, Westcott KT, McLean C, Harding R, et al. White matter injury after repeated endotoxin exposure in the preterm ovine fetus. *Pediatric research*. 2002;52(6):941-9.
27. Boudh S, Singh JS. Pesticide contamination: environmental problems and remediation strategies. *Emerging and Eco-friendly Approaches for Waste Management 2019*: 245-69.
28. Shah T, Xu J, Zou X, Cheng Y, Zhang X, Hussain Q, et al. Impact of Nanomaterials on Plant Economic Yield and Next Generation. *Advances in Phytanotechnology*: Elsevier; 2019. p. 203-14.
29. Aggarwal V, Mehndiratta MM, Wasay M, Garg D. Environmental toxins and brain: Life on earth is in danger. *Annals of Indian Academy of Neurology*. 2022;25(Suppl 1):S15-S21.
30. Ceccarini MR, Ceccarelli V, Codini M, Fettucciari K, Calvitti M, Cataldi S, et al. The Polyunsaturated Fatty Acid EPA, but Not DHA, Enhances Neurotrophic Factor Expression through Epigenetic Mechanisms and Protects against Parkinsonian Neuronal Cell Death. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022;23(24):16176.
31. De Sousa RAL. Reactive gliosis in Alzheimer's disease :a crucial role for cognitive impairment and memory loss. *Metabolic Brain Disease* 2022; 37(4): 851-7
32. Sariol A, Mackin S, Allred M-G, Ma C, Zhou Y, Zhang Q, et al. Microglia depletion exacerbates demyelination and impairs remyelination in a neurotropic coronavirus infection. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2020;117(39):24464-74.
33. Morgan AM, Hassanen EI, Ogaly HA, Al Dulmani SA, Al-Zahrani FA, Galal MK, et al. The ameliorative effect of N-acetylcysteine against penconazole induced neurodegenerative and neuroinflammatory disorders in rats. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*. 2021;35(10):e22884.
34. Ahmed MS, Massoud AH, Derbalah AS, Al-Brakati A, Al-Abdawani MA, Eltahir HA, et al. Biochemical and histopathological alterations in different tissues of rats due to repeated oral dose toxicity of Cymoxanil. *Animals*. 2020;10(12):2205.
35. Heusinkveld HJ, Molendijk J, van den Berg M, Westerink RH. Azole fungicides disturb intracellular Ca²⁺ in an additive manner in dopaminergic PC12 cells. *toxicological sciences*. 2013;134(2):374-81.
36. Hamdi H, Graiet I, Abid-Essefi S, Eyer J. Epoxiconazole profoundly alters rat brain and properties of neural stem cells. *Chemosphere*. 2022;288:132640.
37. Hoda SA, Cheng E. Robbins basic pathology. 10nd ed. Oxford University Press US; 2017; 40.
38. Filipov NM, Lawrence DA. Developmental toxicity of a triazole fungicide: consideration of interorgan communication. *Toxicological sciences*. 2001;62(2):185-6.
39. Liu F, Wang Y, Chen L, Bello BK, Zhang T, Yang H, et al. Difenconazole disrupts the blood-brain barrier and results in neurotoxicity in carp by inhibiting the Nrf2 pathway mediated ROS accumulation. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2022;244:114081.
40. Regueiro J, Olguín N, Simal-Gándara J, Suñol C. Toxicity evaluation of new agricultural fungicides in primary cultured cortical neurons. *Environmental Research*. 2015;140:37-44.
41. Farrow L, Andronicos N, McDonald P, Hamlin A. Quantitative determination of neuronal size and density using flow cytometry. *Journal of Neuroscience Methods*. 2021;352:109081.
42. Golub VM, Brewer J, Wu X, Kuruba R, Short J, Manchi M, et al. Neurostereology protocol for unbiased quantification of neuronal injury and neurodegeneration. *Frontiers in aging neuroscience*. 2015;7:196.
43. Hassanen EI, Hussien AM, Hassan NH, Ibrahim MA, Mehanna S. A Comprehensive Study on the Mechanistic Way of Hexaflumuron and Hymexazol Induced Neurobehavioral Toxicity in Rats. *Neurochemical Research*. 2022;47(10):3051-62.
44. Kurzatkowski DM, Trombetta LD. Maneb causes pro-oxidant effects in the hippocampus of Nrf2 knockout mice. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 2013;36(2):427-36.

Evaluation of Histopathological Changes of Tricyclazole Toxin on Brain Tissue in Wistar Rats

Harsini Z¹, Hosseini SM^{1*}, Pourabdolhossein F²

¹Department of Pathology, Babol Branch, Islamic Azad University, Babol, Iran, ²Department of Physiology, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran

Received: 08 Apr 2024 Accepted: 04 Jan 2025

Abstract

Background & aim: Human food sources are always threatened by countless harmful factors, including residues of toxins and pesticides used in agriculture; in the meantime, the systemic fungicide Tricyclazole (TCZ) has received much attention due to its cytotoxic effects. Hence, the purpose of the present study was to determine and evaluate the histopathological changes of tricyclazole toxin on brain tissue in Wistar rats.

Methods: The present experimental study conducted in 2022 which lasted for 28 days to qualitatively examine pathological lesions and quantitatively count brain neurons, 32 male Wistar rats were divided into four groups of eight, including: a control group, and groups receiving toxin orally at doses of (A) 50, (B) 37.5, and (C) 25 (mg/kg body weight). After sampling the brain tissue, the slides were examined with Nissl and hematoxylin-eosin staining and then the data were analyzed using SPSS-26 statistical software, followed by one-way analysis of variance and Tukey's multiple comparison test.

Results: Investigations carried out in the groups receiving the poison indicated pathological lesions, including necrosis of neurons and an increase in microglia cells in the hippocampus and cerebral cortex, followed by the results of cell counting indicating a significant decrease in the number of neurons in the cerebral cortex A ($157/20 \pm 4/68$), B ($167/20 \pm 4/94$) and C ($186/60 \pm 5/46$) and different hippocampus areas (CA1-4, DG) in all groups compared to the control group ($p < 0.05$).

Conclusion: The results of the present study revealed that the antifungal combination of tricyclazole caused damage and pathological death of neurons in the cerebral cortex and different areas of the hippocampus and decreased the number of cells in these areas; that the severity of the lesions was directly related to increasing the dose.

Keywords: Tricyclazole, Neurotoxicity, histopathology, fungicide, Rat

***Corresponding Author:** Hosseini SM, Department of Pathology, Babol Branch, Islamic Azad University, Babol, Iran
Email: dr_hosseini2323@yahoo.com

Please cite this article as follows: Harsini Z, Hosseini SM, Pourabdolhossein F. Evaluation of Histopathological Changes of Tricyclazole Toxin on Brain Tissue in Wistar Rats. Armaghane-danesh 2025; 29(6): 823-833.

The scientific research journal Armaghan Danesh, affiliated with Yasuj University of Medical Sciences, is an open-access publication. All articles published in this journal