



Histopathological changes following the use of thiophanate methyl fungicide in brain tissue of Wistar rats

Zahra Harsini ¹, Seyed Mohammad Hosseini ^{*1}, Fereshteh Pourabdolhossein ²

¹ Department of Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Babol Branch, Babol, Iran

² Department of Physiology, Faculty of Medicine, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran

*Corresponding author: Seyed Mohammad Hosseini, Department of Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Babol Branch, Babol, Iran

Email: dr_hosseini2323@yahoo.com

Received: 26 August 2023 Revised: 18 November 2023 Accepted: 18 November 2023

Abstract

Background and Aim: Thiophanate methyl fungicide, which is used to control the most common fungal diseases in agricultural products, causes high cytotoxic effects in cells through changes in the physiological homeostasis. The present study was conducted to evaluate the histopathological changes following the use of thiophanate methyl fungicide in the brain tissue of Wistar rats.

Methods: In this experimental study, 32 male Wistar rats were randomly assigned into 4 groups of 8, one control group and three groups receiving thiophanate methyl poison dissolved in corn oil with doses of 1328 (group A), 996 (group B) and 664 (group C) (mg/kg body weight). At the end, Nissl and hematoxylin-eosin staining was done to evaluate the damage caused in the brain tissue.

Results: Evaluations on the brain tissue showed a range of pathological changes in the cerebral cortex of group A and necrosis of neurons in all groups receiving thiophanate methyl poison, followed by a decrease in the density of neurons in the hippocampus and cerebral cortex, and the amount of this decrease in all areas of the CA2,3 area in groups A (106.40 ± 5.12) and B (126.10 ± 5.22) was higher than group C (161.30 ± 6.79) ($P < 0.05$).

Conclusion: Thiophanate methyl fungicide causes a decrease in the density of neurons in these areas in the central nervous system through damage to the cells of the cerebral cortex and the main areas of the hippocampus, which increased the severity of this damage after increasing the dose of the fungicide.

Keywords: Thiophanate methyl, Hippocampus, Histopathology, Nissl



تغییرات هیستوپاتولوژیکی متعاقب مصرف قارچ کش تیوفانات متیل در بافت مغز موش صحرایی

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

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

دریافت مقاله: ۱۴۰۲/۰۶/۴ اصلاح مقاله: ۱۴۰۲/۰۸/۲۷ پذیرش مقاله: ۱۴۰۲/۰۸/۲۷

چکیده

زمینه و هدف: قارچ کش تیوفانات متیل که برای کنترل شایع‌ترین بیماری‌های قارچی در محصولات کشاورزی استفاده می‌شود، از طریق تغییر در هموستاز فیزیولوژیکی، اثرات سیتوتوکسیک بالایی در سلول‌ها ایجاد می‌کند. مطالعه حاضر با هدف ارزیابی تغییرات هیستوپاتولوژیکی متعاقب مصرف قارچ کش تیوفانات متیل در بافت مغز موش صحرایی و پستار انجام شد.

روش‌ها: در این مطالعه تجربی ۳۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار به صورت تصادفی در ۴ گروه ۸ تایی، یک گروه کنترل و سه گروه دریافت‌کننده سم تیوفانات متیل حل شده در روغن ذرت با دوزهای ۱۳۲۸ (گروه A)، ۹۹۶ (گروه B) و ۶۶۴ (گروه C) (میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) تخصیص یافتند. در پایان برای ارزیابی آسیب‌های ایجادشده در بافت مغز، رنگ‌آمیزی نیسل و هماتوکسیلین-اتوزین انجام شد.

یافته‌ها: ارزیابی‌ها بر روی بافت مغز، طیفی از تغییرات پاتولوژیکی در ناحیه قشر مغز گروه A و نکروز نورون‌ها در تمامی گروه‌های دریافت‌کننده سم تیوفانات متیل و به دنبال آن کاهش تراکم نورونی هیپوکامپ و قشر مغز را نشان داد که میزان این کاهش در تمامی نواحی از جمله ناحیه CA2,3 دو گروه A ($106/4 \pm 5/12$) و B ($126/5 \pm 10/22$) نسبت به گروه C ($161/6 \pm 30/79$) بیشتر بود ($P < 0/05$).

نتیجه‌گیری: قارچ کش تیوفانات متیل از طریق آسیب به سلول‌های قشر مغز و نواحی اصلی هیپوکامپ باعث کاهش تراکم نورون‌های این نواحی در سیستم عصبی مرکزی می‌گردد که پس از افزایش دوز این قارچ کش شدت آسیب‌ها نیز افزایش پیدا کرده است.

کلیدواژه‌ها: تیوفانات متیل، هیپوکامپ، هیستوپاتولوژی، نیسل

پذیرفته حساسیت بالای نورون‌های ناحیه هیپوکامپ و قشر مغز نسبت به قارچ‌کش‌ها مصرفی را گزارش کرده‌اند [۱۱، ۱۲] و به دلیل آن که هیپوکامپ و قشر مغز از جمله ساختارهای مؤثر در فرآیند تشکیل حافظه به شمار می‌آیند، به دنبال آسیب به سلول‌های عصبی این نواحی و تغییر در پردازش اطلاعات ورودی، بروز بیماری‌های مرتبط با اختلالات یادگیری و حافظه شایع است [۱۳]. بر اساس بررسی‌های صورت گرفته در منابع معتبر علمی تاکنون مطالعه‌ای در زمینه آسیب سیستم عصبی از جمله تغییرات بافت مغز به دنبال استفاده قارچ‌کش سیستمیک تیوفانات متیل انجام نشده است و از آنجایی که اساس بررسی‌های نوروتوکسیکولوژی بر این فرض استوار است که تغییرات آناتومیکی (ماکروسکوپی و میکروسکوپی) در حیوانات پس از قرار گرفتن در معرض یک عامل خاص، احتمالاً در انسان‌های در معرض قرارگیری نیز از نظر کیفی رخ می‌دهد [۱۴]؛ بنابراین مطالعه حاضر با هدف ارزیابی تغییرات هیستوپاتولوژیکی متعاقب مصرف قارچ‌کش تیوفانات متیل در بافت مغز موش صحرایی و یستار انجام شد.

روش‌ها

نوع مطالعه و حیوانات مورد آزمایش: این مطالعه تجربی در سال ۱۴۰۱ در آزمایشگاه پاتولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد بابل، بر روی ۳۲ سر موش صحرایی (rat) نر آلبینو، نژاد ویستار با وزن 20 ± 20 گرم و حدود سن ۶-۸ هفته انجام شد. حیوانات پس از یک هفته برای سازگاری با شرایط محیط و در طول دوره پژوهش ضمن رعایت دستورالعمل‌های اخلاقی در حیوان خانه با دمای 23 ± 5 درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۵۵ درصد و چرخه روشنایی/تاریکی ۱۲ ساعت با دسترسی آزاد به رژیم غذایی و آب نگهداری شدند.

گروه‌های آزمایشی: رت‌ها به صورت تصادفی به ۴ گروه ۸تایی شامل یک گروه کنترل و سه گروه تجربی دریافت‌کننده سم تیوفانات متیل تقسیم شدند. گروه اول به عنوان گروه کنترل فقط آب عاری از آفت‌کش و سه گروه دیگر سم تیوفانات متیل را در سه سطح دوز ۱۰، ۱۵ و ۲۰ درصد میانگین دوز کشنده (LD_{50}) این سم با دوزهای ۱۳۲۸ (گروه A)، ۹۹۶ (گروه B) و ۶۶۴ (گروه C) (میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) در حلال روغن ذرت و تنظیم شده بر اساس وزن بدن دریافت کردند. ترکیبات، روزانه و به مدت ۲۸ روز به صورت خوراکی تجویز شدند [۱۵].

هیستوپاتولوژی: در روز ۲۹ مطالعه از داروی کتامین به میزان 70 mg/kg و زایلازین به میزان 20 mg/kg به صورت تزریق داخل صفاقی برای بی‌هوشی و سپس آسان‌کشی استفاده گردید. در ادامه موش‌ها به منظور بررسی بافت‌شناسی نمونه برداری و به جهت حفظ مورفولوژی مناسب سلول‌ها، نمونه‌های حاصل بلافاصله در محلول فرمالین ۱۰٪ قرار داده شدند و پس از طی کردن مراحل آماده‌سازی بافت، با استفاده از دستگاه میکروتوم (مدل Leitz ۱۵۱۲) برش‌هایی

امروزه بهبود کیفیت و مبارزه با بیماری‌های محصولات کشاورزی، در پاسخ به افزایش تقاضا برای دریافت مواد غذایی از اهمیت بالایی برخوردار است. به دلیل این‌که قارچ‌ها عامل بسیاری از بیماری‌های گیاهی و کاهش تولیدات کشاورزی در سراسر جهان هستند، اقدامات کنترل شیمیایی در مدیریت بیماری‌های قارچی گیاهان رایج بوده و بیشتر این اقدامات متکی بر استفاده از قارچ‌کش‌های سیستمیک با قابلیت جذب و ذخیره توسط گیاهان و مواجه با پاتوژن‌ها است. دوره بهینه باقیمانده این قارچ‌کش‌ها با توجه به ویژگی‌های فیزیولوژیکی میزبان، چرخه زندگی پاتوژن و ویژگی‌های محیطی، متفاوت است [۱]. با این حال به کار بردن آفت‌کش‌ها در گیاهان و باقی‌مانده‌های آنها برای گونه‌های غیر هدف از جمله حیوانات به عنوان بخشی از زنجیره غذایی انسان دارای اثرات نامطلوبی می‌باشد [۲].

قارچ‌کش سیستمیک تیوفانات متیل (TM) از خانواده بنزیمیدازول‌ها که با مکانیسم مهار سنتز DNA از تقسیم سلولی در قارچ‌ها جلوگیری کرده، برای کنترل شایع‌ترین بیماری‌های قارچی در محصولات کشاورزی استفاده می‌شود و می‌تواند پس از استفاده برای مدت طولانی در محیط باقی بماند [۳]. این ترکیب شیمیایی به سرعت توسط دستگاه گوارش جذب و به طور گسترده در سراسر بدن توزیع می‌گردد و در نهایت به ترکیبات بنزیمیدازول متابولیزه شده [۴] که در این میان ۵- هیدروکسی کاربندازیم سولفات، متابولیت اصلی آن در ادرار و ۴- هیدروکسی تیوفانات متیل و کاربندازیم، متابولیت‌های اصلی در مدفوع می‌باشند [۵]. تیوفانات متیل از طریق دخالت در فرایندهای بیولوژیکی و اختلال در هموستاز فیزیولوژیکی بدن از جمله کاهش سنتز ATP، تغییر در عملکرد پروتئین‌های غشای سلولی و افزایش نفوذپذیری آن، اختلال در عملکرد میتوکندری، تولید بیش از حد رادیکال‌های آزاد و متعاقب آن ایجاد استرس اکسیداتیو دارای اثرات سیتوتوکسیک بالایی می‌باشد [۶، ۷].

از آنجایی که مغز یکی از فعال‌ترین اندام‌های بدن از نظر متابولیسم بوده و سلول‌های آن برای تأمین انرژی تنها به متابولیسم هوازی وابسته می‌باشند [۸]، بنابراین؛ در صورت عدم تعادل در تأمین انرژی و به علت برخورداری بودن از ظرفیت محدود برای ترمیم و دفاع آنتی‌اکسیدانی، عوامل آسیب‌رسان شیمیایی که تابعی از ویژگی‌های ماده شیمیایی و اجزای تشکیل‌دهنده سیستم عصبی می‌باشند قادر به ایجاد اثرات نامطلوب در سیستم عصبی هستند که ممکن است به شکل مستقیم یا غیرمستقیم در سایر اندام‌های محیطی نیز نمود پیدا کند [۹]. ماهیت چربی‌دوستی و کوچک بودن اندازه ذرات از جمله شروط لازم برای عبور ترکیبات آفت‌کش از سد خونی مغزی و به دنبال آن آسیب به غشا و میتوکندری سلول‌های سیستم عصبی و تغییرات در نفوذپذیری این سد حفاظتی در برابر سایر ترکیبات شیمیایی می‌باشد [۱۰]. در این میان تحقیقات صورت

نتایج

نتایج حاصل از ارزیابی‌های هیستوپاتولوژی با استفاده از رنگ‌آمیزی Nissl و H&E، هیچ‌گونه تغییرات مورفولوژیکی مبنی بر آسیب در سلول‌های ناحیه هیپوکامپ و قشر مغز در گروه کنترل را نشان نداد و همچنین در گروه C تنها نکروز در ناحیه قشر مغز مشاهده گردید. در گروه B پیکنوزه شدن هسته و هیپرتروفی نیوفیلیک شدن سیتوپلاسم در هر دو ناحیه قشر مغز و هیپوکامپ نشان‌دهنده مرگ سلولی و نکروزه شدن نورون‌ها بود که بر اساس معیار رتبه بندی شدت ضایعات، به صورت خفیف مشاهده شد (جدول ۱). پس از دریافت دوز 1328 mg/kg/BW در گروه A طیفی از تغییرات پاتولوژیکی از جمله نکروز نورون‌ها و گلیوز در هر دو ناحیه مورد بررسی دیده شد. البته پرخونی پس از دریافت این دوز از سم تیوفانات متیل تنها در ناحیه قشر مغز مشاهده گردید (شکل ۱).

به دنبال آنالیزهای آماری صورت گرفته در سلول‌های شمارش شده در ناحیه قشر مغز موش‌هایی که در معرض این ترکیب شیمیایی قرار گرفتند، کاهش تعداد نورون‌ها در گروه B (۱۷۷/۶۰ ± ۵/۲۶) و C (۱۸۴/۲۰ ± ۲/۶۴) را نسبت به گروه کنترل (۲۰۱/۲ ± ۵۰/۶۲) نشان دادند. همچنین کمترین تعداد سلول در گروه A (۱۶۳/۶۰ ± ۵/۲۶) ثبت شد.

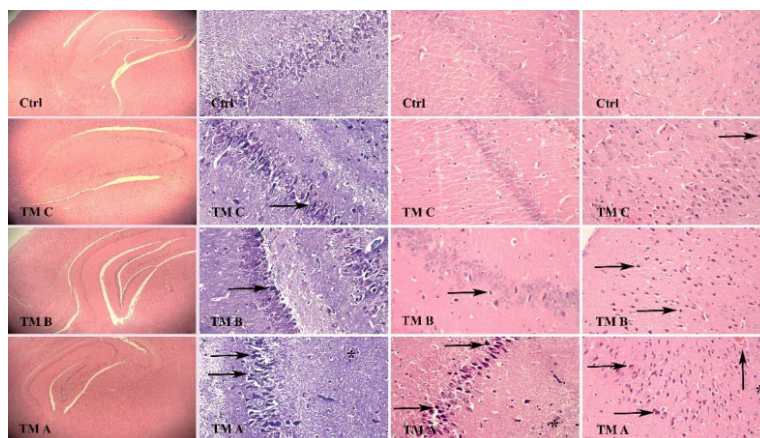
در دوز 664 mg/kg/BW اثر گذاری سم تیوفانات متیل تنها بر روی قشر مغز و ناحیه CA1 هیپوکامپ، کاهش معنادار نورون‌ها نسبت به گروه کنترل را نشان داد ($P < 0.05$). همچنین در نواحی مختلف هیپوکامپ (CA1, CA2, CA3, CA4, DG) کاهش قابل توجه تعداد نورون‌ها نسبت به گروه کنترل مشاهده گردید که میزان این کاهش در دو گروه A و B نسبت به گروه C بیشتر بود ($P < 0.05$) (جدول ۲).

در سطوح کرونال با ضخامت ۸ میکرومتر (در ناحیه برگما، ۲/۵ تا ۴/۵ میلی‌متر از هیپوکامپ) تهیه و بر روی لام قرار داده شد و بر اساس پروتکل‌های رایج آزمایشگاهی لام‌ها با رنگ آمیزی Nissl و hematoxylin and eosin (H&E) بررسی شدند [۱۶].

شدت ضایعات هیستوپاتولوژی در ناحیه قشر مغز و هیپوکامپ با استفاده از سیستم امتیازدهی به صورت؛ بدون تغییرات پاتولوژیکی (-)، تغییرات خفیف (mild) (+)، تغییرات ملایم (moderate) (++)، تغییرات شدید (severe) (+++) ارزیابی گردید [۱۷، ۱۸]. همچنین به منظور شمارش نورون‌های قشر مغز، ناحیه dentate gyrus (DG) و نورون‌های هرمی نواحی CA1، CA2، CA3، CA4 هیپوکامپ به طور متوسط ۹ برش از یک حیوان در هر گروه انتخاب (تعداد=۵) و تصاویری توسط میکروسکوپ Olympus CX31 از این نواحی ثبت شدند. برای محاسبه تعداد نورون‌ها، ۱۲۰ میلی‌متر مربع متناوب در ناحیه قشری مغز و ۳۲ میلی‌متر مربع در مناطق CA1-4 و ۴۳ میلی‌متر مربع در DG هیپوکامپ با استفاده از نرم‌افزار (Tucsen, Capture Fuzhou, China) بررسی شدند [۱۹، ۲۰].

محاسبات آماری: نرمالیتی داده‌ها با آزمون کلموگروف-اسمیرنف بررسی شد. داده‌های حاصل از ارزیابی هیستوپاتولوژی با نرم‌افزار SPSS و ویرایش ۲۶ به صورت میانگین \pm خطای استاندارد (Means \pm SEM) گزارش شد و با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) و آزمون مقایسه چندگانه توکی (Tukey) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. $P < 0.05$ به عنوان سطح معناداری در نظر گرفته شد.

ملاحظات اخلاقی: این مطالعه کد اخلاق (IR.IAU.BABOL.REC.1400.122) از دانشگاه علوم پزشکی بابل دریافت نمود و همه مفاد معاهده هلسینکی و دستورالعمل کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت گردید.



شکل ۱. بافت مغز و هیپوکامپ. شرایط نرمال بافتی در گروه کنترل (Ctrl)، نکروز (فلش به سمت راست)، گلیوز (ستاره)، پرخونی (فلش به سمت بالا). ستون‌ها از سمت چپ به ترتیب رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین بزرگنمایی $\times 4$ ، نیسل هیپوکامپ، رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین هیپوکامپ، رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین قشر مغز بزرگنمایی $\times 40$ (تعداد=۵) TM A: گروه متیل تیوفانات 1328mg/kg/bw، TM B: گروه متیل تیوفانات 996mg/kg/bw، TMC: گروه متیل تیوفانات 664mg/kg/bw

جدول ۱. توصیف کیفی شدت تغییرات پاتولوژیکی در نواحی قشر مغز و هیپوکامپ بین گروه‌های دریافت‌کننده سم تیوفانات متیل و گروه کنترل

گروه‌ها	نکروز		گلیوز		پرخونی	
	هیپوکامپ	قشر مغز	هیپوکامپ	قشر مغز	هیپوکامپ	قشر مغز
کنترل	-	-	-	-	-	-
تیوفانات متیل A	++	++	+	+	+	+
تیوفانات متیل B	+	+	-	-	-	-
تیوفانات متیل C	-	+	-	-	-	-

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

جدول ۲. مقایسه تعداد نورون‌های نواحی قشر مغز و هیپوکامپ در گروه‌های دریافت‌کننده سم و کنترل

گروه‌ها	Mean±SE				
	DG	CA4	CA2,3	CA1	Cortex
کنترل	a1۹۰/۲±۰۰/۹۲	a۸۰/۲±۰۰/۵۴	a۱۸۲/۵±۹۵/۶۹	a۲۰۳/۲±۳۰/۸۲	a۲۰۱/۲±۵۰/۶۲
تیوفانات متیل A	c۱۵۰/۴±۰۰/۸۶	c۵۱/۳±۶۰/۲۹	b۱۰۶/۵±۴۰/۱۲	c۱۳۲/۴±۳۰/۴۵	c۱۶۳/۵±۶۰/۲۶
تیوفانات متیل B	b۱۶۶/۴±۲۰/۲۴	b,c۶۲/۳±۴۰/۱۴	b۱۲۶/۵±۱۰/۲۲	c۱۴۱/۴±۳۰/۴۵	c,b۱۷۷/۵±۶۰/۲۶
تیوفانات متیل C	a,b۱۷۷/۳±۲۰/۱۰	a,b۷۰/۳±۲۰/۶۸	a۱۶۱/۶±۳۰/۷۹	b۱۸۴/۳±۹۰/۰۶	b۱۸۴/۲±۲۰/۶۴

کد حرف‌ها مشخصه میانگین‌های هر گروه بوده و تفاوت حروف در یک ستون نشان‌دهنده اختلاف معناداری نسبت به یکدیگر می‌باشد (one way ANOVA, Tukey's test) ($P < 0.05$)

بحث

طبق نتایج مطالعه حاضر بالاترین دوز مصرفی قارچ‌کش سیستمیک تیوفانات متیل (1328 mg/kg/BW) بیشترین اثرات سیتوتوکسیک را در نورون‌های قشر مغز و نواحی موردبررسی هیپوکامپ در رت‌ها ایجاد کرد و از آنجایی که سطوح انرژی موردنیاز برای فعالیت عملکردی سلول‌ها در نواحی مختلف مغز با یکدیگر متفاوت است، در صورت کمبود انرژی در دسترس به علت ترکیبات نوروتوکسین از جمله آفت‌کش‌ها، اثرات گسترده‌ای بر مورفولوژی و عملکرد بسیاری از سیستم‌های حیاتی سلول‌ها وارد می‌گردد. بنابراین استدلال می‌شود به علت اینکه نورون‌های قشر مغز و هیپوکامپ نسبت به سایر نواحی به انرژی بیشتری نیاز دارند ممکن است کاهش انرژی در دسترس سلول‌های مغزی یکی از علت‌های تغییرات پاتولوژیکی مشاهده شده در این مطالعه باشد [۲۱-۲۳]. ارزیابی این‌گونه اثرات نامطلوب آفت‌کش‌هایی که به‌منظور بهبود کیفیت و بهره‌وری بیشتر محصولات کشاورزی مورد استفاده قرار می‌گیرند، یک پارامتر مهم در رابطه با سلامت جانداران محسوب می‌شود [۲۴].

در مطالعات پیشین نشان داده شده که برخی ویژگی‌های دستگاه عصبی مانند سیستم آنتی‌اکسیدانی ضعیف و پیچیدگی‌های عملکردی و مولکولی آن می‌تواند با افزایش خطر اختلالات عصبی به دنبال استفاده از این ترکیبات همراه باشد [۲۵-۲۸].

در این رابطه تعدادی از مطالعات اپیدمیولوژیک ارتباط میان شروع و گسترش بیماری‌های نورودژنراتیو به علت قرار گرفتن در معرض قارچ‌کش‌ها و به دنبال آسیب به سلول‌ها در نواحی مختلف

سیستم عصبی را نشان داده‌اند [۲۹]. از جمله در پژوهش صورت گرفته توسط Lafon و همکاران مشخص گردید استفاده از باقی‌مانده‌های ترکیب قارچ‌کش‌های سایپرودینیل، مپانی پیریم و پیریمتانیل منجر به تغییرات پاتولوژیکی گسترده در بافت مغز و از بین رفتن و انحطاط نورون‌های ناحیه هیپوکامپ می‌شود [۳۰]. همچنین مرگ نورون‌ها به علت کاهش انرژی در دسترس سلول‌ها بر اثر استفاده از قارچ‌کش‌های کروزوکسیم متیل، سیازوفامید و پیراکلاستروبین در مطالعه‌ای که توسط Regueiro و همکاران انجام پذیرفت، نشان داده شده است [۳۱].

ترکیبات خانواده بنزیمیدازول با توجه به عملکرد وسیع و فعالیت‌های متنوع آنها مورد توجه گسترده‌ای قرار گرفته است. با این حال مطالعات صورت گرفته نشان‌دهنده آن است که برخی از مشتقات بنزیمیدازول‌ها بر وضعیت سیستم عصبی تأثیر می‌گذارد از جمله اینکه قارچ‌کش بنومیل منجر به برخی ناهنجاری‌های سیستمیک مرتبط با بافت مغز جنین می‌گردد [۳۲]. همچنین بر اساس پژوهش صورت گرفته توسط Ebedy و همکاران بر روی کاربندازیم، مشخص شده این ترکیب شیمیایی منجر به تغییرات نوروپاتولوژیکی در ناحیه قشر مغز و هیپوکامپ و سمیت عصبی وابسته به دوز می‌گردد [۱۱]. در همین راستا، قارچ‌کش تیوفانات متیل که متعلق به این خانواده می‌باشد از طریق تغییر در متابولیسم و تنظیم سطح انرژی موردنیاز سلول‌ها، کاهش سطح گلوکز، افزایش سطح رادیکال‌های آزاد و مهار برخی از آنزیم‌های متابولیکی، منجر به از بین رفتن یکپارچگی و سیالیت غشای سلولی

دیده شد. لذا نتایج حاصل با یافته‌های مطالعه Morgan و همکاران در ارتباط با آسیب‌های نورونی و افزایش سلول‌های نوروگلیا ماده خاکستری مغز، به دنبال مصرف خوراکی قارچ کش سیستمیک پنکونازول [۳۷] و همچنین مطالعه انجام شده توسط احمد و همکاران با هدف بررسی بافت مغز موش‌های صحرایی پس از مصرف قارچ کش سیستمیک سیموکسانیل که منجر به تغییرات پاتولوژیکی متعددی از جمله گلیوز شد، همسو می‌باشد [۳۸].

نتیجه گیری

یافته‌های حاصل از ارزیابی‌های هیستوپاتولوژیک در پژوهش حاضر نشان داد قرار گرفتن در معرض قارچ کش سیستمیک تیوفانات متیل، قشر مغز و نواحی هیپوکامپ را تحت تأثیر قرار می‌دهد که شدت این ضایعات در دوزهای بالاتر بیشتر است و تغییرات پاتولوژیکی با کاهش دوز به صورت خفیف‌تر مشاهده می‌شود.

تشکر و قدردانی: بدین وسیله از همکاری که در انجام این مطالعه ما را یاری کرده‌اند، تقدیر و تشکر می‌گردد.

نقش نویسندگان: همه نویسندگان در نگارش اولیه مقاله یا بازنگری آن سهیم بودند و همه با تایید نهایی مقاله حاضر، مسئولیت دقت و صحت مطالب مندرج در آن را می‌پذیرند.

تضاد منافع: نویسندگان تصریح می‌کنند که هیچ گونه تضاد منافی در مطالعه حاضر وجود ندارد.

منابع

1. Carisse O. Fungicides: BoD-Books on Demand; 2010. 74-69. doi:10.5772/555
2. NathPandit D, Rani U. MohitaSardana, Tricyclazole Induced Changes in Certain Haematological Indices of Channapunctatus (Bloch) as Diagnostic Biomarkers of Stress Response. Int J Pharm Sci 2021; 12(1): b97-103 doi:10.22376/ijpbs.2021.12.1.b97-103
3. SILVA JN, Monteiro NR, Antunes PA, Favareto APA. Maternal and developmental toxicity after exposure to formulation of chlorothalonil and thiophanate-methyl during organogenesis in rats. Anais da Academia Brasileira de Ciências 2020; 92 doi:10.1590/0001-3765202020191026 PMID:33206784
4. Iyer P, Makris S. Developmental and reproductive toxicology of pesticides. Hayes' Handbook of Pesticide Toxicology: Elsevier; 2010. p. 381-440. doi:10.1016/B978-0-12-374367-1.00012-4
5. Organization WH, Residues WECOP, Food FPoEoPRi, Environment t, Residues WEGoP. Pesticide Residues in Food-2006: Evaluations:

و در نهایت با تأثیر بر عملکرد بیولوژیکی سلول‌ها منجر به مرگ آنها می‌گردد [۶، ۷، ۳۳].

شمارش کمی سلول‌ها و تراکم آنها به‌ویژه نورون‌های مغزی در جهت درک تأثیر سموم مختلف و میزان تخریب سلول‌های سیستم عصبی صورت می‌گیرد [۳۴]. داده‌های آسیب‌شناسی حاصل از بررسی‌های میکروسکوپی صورت گرفته در این پژوهش نشان داد سم تیوفانات متیل منجر به ایجاد برخی ویژگی‌های مورفولوژی مبنی بر نکروز نورون‌ها در قشر مغز و هیپوکامپ و به دنبال آن کاهش تعداد و تراکم نورون‌های این نواحی در تمامی دوزهای مورد استفاده می‌شود که البته این کاهش تعداد نورون‌ها در ناحیه قشر مغز ارتباط مستقیمی با افزایش دوز داشته است. در همین رابطه پژوهش‌های متعدد نشان‌دهنده آن است که کاهش تعداد نورون‌های قشر مغز و هیپوکامپ به دنبال مرگ سلولی از ویژگی‌های بارز مسمومیت با قارچ‌کش‌ها است. در همین راستا یافته‌های حاصل در این مطالعه نیز با نتایج پژوهش صورت گرفته توسط Hassanen و همکاران که نشان دادند قارچ‌کش سیستمیک هایمکسازول با مکانیسم برهم زدن تعادل سیستم آنتی‌اکسیدانی باعث تغییرات پاتولوژیکی قابل توجهی از جمله دژنراسانس و نکروز نورون‌ها و به دنبال آن کاهش تعداد و تراکم سلولی و گلیوز در ناحیه قشر مغز و هیپوکامپ موش‌های صحرایی می‌شود [۳۵]، همسو می‌باشد.

مشخص شده که افزایش تکثیر سلول‌های نوروگلیا به دنبال انحطاط نورون‌های مغزی، بخشی از پاسخ ایجاد شده توسط دستگاه عصبی مرکزی در مقابل آسیب وارد شده به این سیستم در برابر عوامل آسیب‌رسان خارجی یا داخلی است [۳۶] که در این مطالعه نیز در ناحیه قشر مغز و هیپوکامپ موش‌های گروه A این افزایش

World Health Organization, Food and Agriculture Organization of the United; 2007.

6. Ben Amara I, Ben Saad H, Cherif B, Elwej A, Lassoued S, Kallel C, et al. Methyl-thiophanate increases reactive oxygen species production and induces genotoxicity in rat peripheral blood. Toxicol Mechanisms Methods 2014; 24(9): 679-87. doi:10.3109/15376516.2014.961217 PMID:25179310
7. Feki A, Saad HB, Jaballi I, Magne C, Boudawara O, Zeghal K, et al. Methyl thiophanate-induced toxicity in liver and kidney of adult rats: a biochemical, molecular and histopathological approach. Cellular Molecular Biol 2017; 63(2): 20-8 doi:10.14715/cmb/2017.63.2.4 PMID:28364781
8. Ghasemnejad-Berenji M, Nemati M, Pourheydar B, Gholizadeh S, Karimipour M, Mohebbi I, Jafari A. Neurological effects of long-term exposure to low doses of pesticides mixtures in male rats: Biochemical, histological, and neurobehavioral evaluations. Chemosphere 2021; 264: 128464. doi:10.1016/j.chemosphere.2020.128464 PMID:33049502

9. Lester DS, Slikker Jr W, Lazarovici P. Site-selective neurotoxicity: CRC Press; 2002. doi:10.1201/9780203219096
10. Aloizou A-M, Siokas V, Vogiatzi C, Peristeri E, Docea AO, Petrakis D, et al. Pesticides, cognitive functions and dementia: A review. *Toxicol Lett* 2020; 326: 31-51 doi:10.1016/j.toxlet.2020.03.005 PMID:32145396
11. 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 Res* 2022;1-16 doi:10.1007/s11064-022-03581-5 PMID:35312909
12. Ahmed MS, Massoud AH, Derbalah AS, Ismail AA. Pathological and Biochemical Assesment of the Fungicide (Metalaxyl) on Rats. *Egypt J Comp Pathol Clin Pathol*. 2011; 24: 136-54.
13. Mumby DG, Gaskin S, Glenn MJ, Schramek TE, Lehmann H. Hippocampal damage and exploratory preferences in rats: memory for objects, places, and contexts. *Learning Memory* 2002; 9(2): 49-57. doi:10.1101/lm.41302 PMID:11992015 PMCID:PMC155935
14. Wallig MA, Bolon B, Haschek WM, Rousseau CG. Fundamentals of toxicologic pathology: Academic press; 2017.
15. 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 Chemical Toxicol* 2022; 45(4): 1754-60. doi:10.1080/01480545.2021.1871737 PMID:33441004
16. Suvarna KS, Layton C, Bancroft JD. Bancroft's theory and practice of histological techniques E-Book: Elsevier Health Sciences; 2018. 126-37 p.
17. Rewcastle GW, Kestell P, Baguley BC, Denny WA. Light-induced breakdown of flavone acetic acid and xanthenone analogues in solution. *J National Cancer Institute* 1990; 82(6): 528-9 doi:10.1093/jnci/82.6.528 PMID:2313725
18. Duncan JR, Cock ML, Scheerlinck J-PY, Westcott KT, McLean C, Harding R, Rees SM. White matter injury after repeated endotoxin exposure in the preterm ovine fetus. *Pediatric Res* 2002; 52(6):941-9 doi:10.1203/00006450-200212000-00021 PMID:12438674
19. Farokhcheh 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 Sci* 2021; 282: 119823. doi:10.1016/j.lfs.2021.119823 PMID:34273375
20. Nobakht M, Hoseini SM, Mortazavi P, Sohrabi I, Esmailzade B, Roosh NR, Omidzahir S. Neuropathological changes in brain cortex and hippocampus in a rat model of Alzheimer's disease. *Iran Biomedical J* 2011; 15(1-2):51.
21. Gatman Y, Lazarovici P, Sansonetti PJ. Cellular and Molecular Mechanisms of Toxin Action: Toxins and Signal Transduction. *Trends in Biochemical Sci* 1998; 23(5):196 doi:10.1016/S0968-0004(97)01142-0
22. Hoda SA, Cheng E. Robbins basic pathology. 10 ed: Oxford University Press US; 2017. p. 32-5.
23. Latuszynska J, Luty S, Raszewski G, Tokarska-Rodak M, Przebirowska D, Przylepa E, et al. Neurotoxic effect of dermally-applied chlorpyrifos and cypermethrin in Wistar rats. *Ann Agricultural Environmental Med* 2001; 8(2).
24. Shah T, Xu J, Zou X, Cheng Y, Zhang X, Hussain Q, Gill RA. Impact of Nanomaterials on Plant Economic Yield and Next Generation. *Advances in Phytonanotechnology: Elsevier*; 2019. p. 203-14. doi:10.1016/B978-0-12-815322-2.00008-0
25. Costa LG, Giordano G, Guizzetti M, Vitalone A. Neurotoxicity of pesticides: a brief review. *Frontiers in Bioscience-Landmark*. 2008; 13(4): 1240-9 doi:10.2741/2758 PMID:17981626
26. Gök E, Deveci E. Histopathological, immunohistochemical and biochemical alterations in liver tissue after fungicide-mancozeb exposures in Wistar albino rats. *Acta Cirúrgica Brasileira* 2022; 37 doi:10.1590/acb370404 PMID:35766670 PMCID:PMC9239557
27. Rafika D, Fadila K, Nadjoud G, Hana B, Nouredine G, Abdelhak G. Triazole Fungicide Prosaro EC 250-induced Hematological and Biochemical Alterations in Male Rabbits (*Oryctolagus Cuniculus*). *J Bioresource Manag* 2022; 9(3):9.
28. Yeltekin AÇ. Effect of Fungicide Toxicity on Apoptosis, DNA Damage, and Antioxidant Enzymes in Van Fish. *Pakistan J Zool* 2023 doi:10.17582/journal.pjz/20210806130845
29. Thrash B, Uthayathas S, Karuppagounder SS, Suppiramaniam V, Dhanasekaran M, editors. Paraquat and maneb induced neurotoxicity. *Proceedings-western Pharmacology Society*; 2007: [Western Pharmacology Society]; 1998.
30. Lafon PA, Wang Y, Arango-Lievano M, Torrent J, Salvador-Prince L, Mansuy M, et al. Fungicide residues exposure and β-amyloid aggregation in a mouse model of Alzheimer's disease. *Environmental Health Perspectives* 2020; 128(1): 017011 doi:10.1289/EHP5550 PMID:31939705 PMCID:PMC7015540
31. Regueiro J, Olguín N, Simal-Gándara J, Suñol C. Toxicity evaluation of new agricultural fungicides in primary cultured cortical neurons. *Environ Res* 2015; 140: 37-44. doi:10.1016/j.envres.2015.03.013 PMID:25825129
32. Ellis WG, Semple JL, Hoogenboom ER, Kavlock RJ, Zeman FJ. Benomyl-induced craniocerebral anomalies in fetuses of adequately nourished and protein-deprived rats. *Teratogenesis, Carcinogenesis Mutagenesis* 1987; 7(4): 357-75 doi:10.1002/tcm.1770070404 PMID:2888215
33. Traina M, Fazzi P, Macri C, Ricciardi C, Stazi A, Urbani E, Mantovani A, editors. In vivo studies on possible adverse effects on reproduction of the fungicide methyl thiophanate. *J Appl Toxicol* 1998; 18(4): 241-8. doi:10.1002/(SICI)1099-

- 1263(199807/08)18:4<241::AID-AT500>3.0.CO;2-Q
34. 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 Aging Neurosci* 2015; 7: 196 [doi:10.3389/fnagi.2015.00196](https://doi.org/10.3389/fnagi.2015.00196) PMID:26582988 PMCid:PMC4628120
35. 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 Res* 2022; 47(10):3051-62 [doi:10.1007/s11064-022-03654-5](https://doi.org/10.1007/s11064-022-03654-5) PMID:35773501 PMCid:PMC9470636
36. Burda JE, Sofroniew MV. Reactive gliosis and the multicellular response to CNS damage and disease. *Neuron* 2014; 81(2): 229-48 [doi:10.1016/j.neuron.2013.12.034](https://doi.org/10.1016/j.neuron.2013.12.034) PMID: 24462092 PMCid:PMC3984950
37. 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. *J Biochemical Mol Toxicol* 2021; 35(10): e22884. [doi:10.1002/jbt.22884](https://doi.org/10.1002/jbt.22884) PMID:34392569
38. 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 Cymoxanil Animals 2020; 10(12): 2205 [doi:10.3390/ani10122205](https://doi.org/10.3390/ani10122205) PMID:33255611 PMCid:PMC7760546

How to Cite this Article:

Harsini Z, Hosseini SM, Pourabdolhossein F. Histopathological changes following the use of thiophanate methyl fungicide in brain tissue of Wistar rats. *Feyz Med Sci J.* 2023;27(5): 493-500.
[doi: 10.48307/FMSJ.2023.0.5.494](https://doi.org/10.48307/FMSJ.2023.0.5.494)