ABSTRACT

Student name: Khairy Abd El Moneim Ibrahim

Title of the thesis:

Neurotoxic effect of some pesticides on brain development and thyroid hormones

Degree : Master of Science (Biochemistry)

Introduction: In the present work two classes of pesticides (organophosphate and pyrethroid, and their combination) were studied for their developmental neurotoxicity.
Method: Dam rats were daily gavages during the first 10 days of lactation with cypermethrin, diazinon, carbimazole, and thyroxin beside the combination of each pesticide with carbimazole or thyroxin. Blood sample, brain and liver were taken after 10 and 21 days post delivery.
Results: Mortality in neonates was observed in all groups. There were changes in both dams and offspring body weight, physiological land marks of the neonates and open field parameters. It was found that, there were changes in Plasma, liver and brain cholinesterase, carboxylestrase, paraoxonase, arylestrase and ATPases, plasma T3 and T4 level in dam and neonates. Caspase-3 and DNA fragmentation percent were increased.
Conclusion: Cypermethrin, diazinon and their combination produced disturbance in thyroid hormones in both dams and offspring, affected the neonate's behavior and produced apoptosis via up regulation of caspase-3 and inhibition of acetylcholinestrse.

Key words: cypermethrin, diazinon, carbimazole, thyroxin, estrases, ATPase, thyroid hormones, DNA fragmentation, caspase-3, neonates, brain.

Supervisors:

Signature:

1- Prof. Dr. Sherif Mourad Sherif

2- Dr. Ahmed Ibrahim Amin

3- Dr. Khaled Hassan Ahmed

Prof. Dr. Mohamed Ahmed Badawy
Signature:
Chairman of Chemistry Department
Faculty of Science- Cairo University

المستخلص

اسم الطالب: خيرى عبدالمنعم ابراهيم

عنوان الرسالة:

التاثير السام العصبى لبعض المبيدات على نمو المخ وهرمونات الغدة الدرقية

الدرجه: ماجستير فى العلوم (كيمياء حيوى)

مقدمة : فى هذا العمل تم دراسة التاثير السام العصبى على النمو لنوعين من المبيدات (مركبات الفسفور العضوى والبريرثيدنات)

الطريقة: تم تجريع الامهات خلال العشرة ايام الاولى لمرحلة الرضاعة بالسيبرمثرين والديازينون والكربيمازول والثيروكسين والجمع بين كلا من المبيدات سواء مع الكربيمازول او الثيروكسين. تم اخذ عينات الدم والمخ والكبد بعد ١٠و٢١ يوم من الولادة.

النتيجة:لوحظت نسبة الموت فى كل معاملات الدراسة وقد كانت هناك تغيرات ملحوظة فى كلا من الامهات و الصغار من وزن الجسم و دلالت التغيرات الفسيولوجية واختبار الحقل المفتوح.

كانت هناك تغيرات ملحوظة فى البلازما والكبد والمخ فى الكولين استريز و الكربوكسيل استريز والباراوكسينيز و الاريل استيريز والأدينوسين ترايفوسفاتيز ومستوى هرمونات الغدة الدرقية فى الامهات ورضع الفئران كما كانت هناك زيادة ملحوظة فى نشاط كاسباس ٣ و نسبة الحمض النووى المجزئ.

الخلاصة: انتجت المعاملة بالسيبرميثرين و الديازينون والجمع بينهما اضطرابات فى هرمونات الغدة الدرقية فى الامهات والمواليد، والتاثير على سلوك رضع الفئران وموت الخلية المبرمج عن طريق زيادة تنظيم كاسباس ٣ وتثبيط الاستيل كولين استيريز.

الكلمات الدالة: سيبرمثرين، ديازينون، كربيمازول، الثيروكسين، استيرز، الأدينوسين ترايفوسفاتيز، هرمونات الغدة الدرقية، الحمض النووى المجزئ، كاسباس ٣، رضع الفئران، المخ.

توقيع السادة المشرفون:

١- أ.د. شريف مراد شريف
٢- د. أحمد ابراهيم امين
٣- د. خالد حسن أحمد

يعتمـــد،،،،
أ.د/ محمد أحمد بدوى

رئيس مجلس قسم الكيمياء
كلية العلوم – جامعة القاهرة

Table of Contents

	Page
Introduction.....	1
Review of literature.....	3
Materials and methods…….....	37
I- Pesticides and thyroid drugs used…….....	37
II- Animals and experimental design……...	37
III- Method……...	41
1- Physiological and neurobehavioral development test…….....	41
2- Determination of Adenosine Triphosphatases (ATPase) activity…..	42
3- Determination of Acetylcholinesterase (AchE) activity.....	45
4- Determination of Carboxylesterase activity……...	47
5- Determination of Paraoxonase activity……...	48
6- Determination of Arylestrase activity…….	49
7- Polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE)…….....	50
8- Determination of the total T4…….....	53
9- Determination of the total T3…….....	54
10- Caspase-3 assay……...	55
11- DNA gel electrophoresis……..	58
12- Quantification of DNA fragmentation…….....	61

Statistical analysis…… 62

Results…….. 63

Discussion…… 132

Summary and Conclusion…… 149

Reference……. 153

Arabic summary……... 183

List of Abbreviations

Ach…….	Acetylcholine
AchE……...	Acetylcholinesterase
AE……..	Arylesterase
Apaf-1…….....	Apoptotic protease activation factor-1
ATP……	Adenosine triphosphate
ATPase……...	Adenosine-triphosphatase
BAT……	Brown adipose tissue
BBB……	Blood brain barrier
BChE……..	Butyrylcholinesterase
Bcl-2…….....	B-cell lymphoma2
C6…….....	Gliotypic cells
CB……..	Carbamate
CE…….....	Carboxylesterase
ChAT……..	Choline acetyltransferase
ChE……....	Cholinesterase
CNS……	Central nerves system
CRB……	Carbimazole
CS-syndrome……..	Choreoathetosis and salivation syndrome
CYP……	Cypermethrin
D1…….....	Iodothyronine deiodinases, type 1

D2……..	Iodothyronine deiodinases, type 2
D3……..	Iodothyronine deiodinases, type 3
dATP……..	deoxyadenosine triphosphate
DEET…….	N, N-diethyl-m-toluamide
DISC……..	Death-inducing signaling complex
DNA……...	Deoxy-ribose nucleic acid
DOPAC……..	3, 4-dihydroxyphenylacetic acid
DZ……..	Diazinon
E…….....	Embryonic day
GABA…….....	Gama amino butyric acid
HDL…….....	High-density lipoproteins
LDL…….....	Low-density lipoprotein
MAP2…….	Microtubule-associated proteins2
mb-AchE……	membrane bound acetylcholinestrse
MyHC……	Myosin heavy chain
Native PAGE…….	Non-denaturing polyacrylamide gel electrophoresis
Ops…….	Organophosphorus compounds
PC12……...	Neuronotypic cells
PCD……	Programmed cell death
PND……	Postnatal days
PON……	Paraoxonase
T3……...	Tri-iodothyronine

T4……..	Tetra-iodothyronine
TCDD…….	2, 3, 7, 8-tetrachloro- p -dioxin
TH……..	Thyroxin
THs…….	Thyroid hormones
TNF……	Tumor necrosis factor
TRAIL……	Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand
TRs…….	Thyroid hormones receptors
T-syndrome……	Tremors syndrome
Tx……..	Thyroidectomy
VSCC…….	Voltage sensitive calcium channel
VSCC…….	Voltage-sensitive chloride channel
VSSC……..	Voltage-sensitive sodium channel