بررسی اثر دیازینون بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و پراکسیداسیون لیپیدهای مغز موش صحرایی

مریم صالحی[I]

*دکترمهوش جعفری[II]

دکترعلیرضا عسگری[III]

دکتر مسعود صالح مقدم[IV]

محمد سلیمیان[V]

مریم عباس نژاد[VI]

منصوره حاج غلامعلی[VI]

چکیده

زمینه و هدف: ارگانوفسفره‌ها سبب افزایش تولید رادیکالهای آزاد و تخریب سیستم آنتی‌اکسیدانت بدن می‌گردند. دیازینون یکی از گسترده ترین ارگانوفسفره هایی است که امروزه در کشاورزی بکار می‌رود. هدف از این مطالعه ارزیابی اثر دیازینون روی سیستم اکسیدان- آنتی‌اکسیدان مغز موش صحرایی است.

روش کار: در مطالعه تجربی حاضر موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار به صورت تصادفی در ٤ گروه قرار گرفتند: گروه کنترل (روغن ذرت بعنوان حلال دیازینون) و سه گروه آزمایش که دیازینون را در دوزهای mg/kg ۳۰، ۵۰ و ۱۰۰ بصورت داخل صفاقی دریافت کردند. ٢٤ ساعت پس از تزریق، حیوانات با اتر بیهوش و بافت مغز جدا گردید. بعد از هموژنه کردن بافت مغز، فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT)، گلوتاتیون S- ترانسفراز (GST) و لاکتات دهیدروژناز (LDH) و میزان گلوتاتیون (GSH) و مالون دی آلدئید (MDA) توسط روش‌های بیوشیمیایی اندازه‌گیری شد. معنی‌دار بودن نتایج توسط آنالیز واریانس (ANOVA) به همراه تست توکی تعیین شد.

یافته‌ها: به دنبال تجویز دیازینون، فعالیت آنزیم‌های SOD، GST و LDH در دوزهای بیشتر از mg/kg ۵۰ در مقایسه با کنترل بطور معنی‌داری افزایش یافت، در حالیکه میزان فعالیت آنزیم CAT تغییر معنی‌داری را نشان نداد. همچنین کاهش میزان گلوتاتیون مغز در دوزهای بیشتر از mg/kg ۵۰ دیازینون مشاهده شد. میزان MDA فقط در دوز mg/kg ۱۰۰ در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی‌داری را نشان داد.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه پیشنهاد می‌کند که دیازینون احتمالاً باعث تولید رادیکال‌های آزاد شده و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت ناشی از افزایش ظرفیت سم زدایی بافت مغز می‌باشد. کاهش GSH نشاندهنده نارسایی سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانت برای مقابله با رادیکال‌های آزاد است و افزایش MDA با پراکسیداسیون غشای مغز همراه است که در نهایت ممکن است منجر به آسیب اکسیداتیو بافت مغز گردد.

کلیدواژه‌ها: ۱- دیازینون ۲- سیستم آنتی‌اکسیدانت ۳- موش صحرایی ٤- بافت مغز

تاریخ دریافت: ۸۸/۷/۲۷، تاریخ پذیرش: ۸۹/۲/۱۸

مقدمه

ترکیبات ارگانوفسفره ترکیبات سمی هستند که بطور وسیع به عنوان آفت کش و حشره کش در کشاورزی، صنعت و باغبانی استفاده می‌شوند.[۱] همچنین این ترکیبات در چندین حمله شیمیایی توسط نیروهای عراقی در طی جنگ ایران- عراق بکار رفته است. به دلیل دسترسی آسان و سمیت بالای این ترکیبات، میزان بروز مسمومیت‌های تصادفی و خودکشی وسیع بوده و مسئوول حدود صد هزار مسومیت در هر سال در دنیا است.[۲] در ایران این ترکیبات یکی از علل مرگ و میر ناشی از مسمومیت هستند.[۳]

دیازینون از مهمترین حشره‌کش‌های ارگانوفسفره است که برای کنترل انواع حشرات در کشاورزی استفاده می‌شود. این ترکیب به آسانی از روده جذب شده و بسرعت در طی چند ساعت جذب می‌شود.[٤و٥]

I) پژوهشگر، گروه بیوشیمی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌ا...(عج)، تهران، ایران.

II) دانشیاربیوشیمی، مرکز تحقیقات علوم اعصاب کاربردی، گروه بیوشیمی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌ا...(عج)، تهران، ایران(* مؤلف مسؤول)

III) استاد فیزیولوژی، گروه فیزیولوژی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی ورزش،، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌ا...(عج)، تهران، ایران

IV) استادیار، گروه بیوشیمی واحد علوم پایه، دانشگاه پیام نور، مشهد، ایران

V) پژوهشگر، مرکز تحقیقات آسیب‌های شیمیایی، گروه بیوشیمی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌ا...(عج)، تهران، ایران

VI) پژوهشگر، گروه بیوشیمی واحد علوم پایه، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-11-19]

این ترکیب با فسفریلاسیون اسیدآمینه سرین در جایگاه فعال آنزیم استیل کولین استراز باعث مهار آنزیم شده که تجمع استیل کولین در سیناپس‌های کولینرژیک و وقوع بحران کولینرژیک تشنج و در موارد حاد ضایعه مغزی و مرگ را به دنبال دارد.[۳و۶]

بطور طبیعی در طی متابولیسم بدن گونه‌های فعال اکسیژن (ROS: Reactive Oxygen Species) تشکیل می‌گردد که قادرند با ماکرومولکول‌های مهم بدن نظیر لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک واکنش دهند. در شرایط طبیعی بین تولید و حذف ROS تعادل وجود دارد. عدم تعادل در این فرایندها منجر به استرس اکسیداتیو و تغییرات پاتولوژیکی در سلول‌های مختلف می‌شود. اثرات مضر احتمالی ROSها از طریق سیستم حمایتی آنتی‌اکسیدانت سلولی شامل آنزیم‌هایی مانند سوپراکسیددیسموتاز (SOD) و کاتالاز (CAT) خنثی می‌شود. همچنین گلوتاتیون (GSH) به عنوان آنتی‌اکسیدانت باعث افزایش حلالیت سموم و دفع سموم از طریق کلیه می‌شود.[۷-۹]

بسیاری از اثرات ارگانوفسفره‌ها ارتباطی به مهار آنزیم استیل کولین استراز نداشته، بلکه توسط مکانیسم‌های دیگر سلولی القاء می‌شود. یکی از مکانیسم‌هایی که بسیار مورد توجه قرار گرفته است، تولید رادیکال‌های آزاد توسط این ترکیبات و به دنبال آن تغییر در سیستم آنتی‌اکسیدانت سلول و پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء می‌باشد.[۱۰و۱۱] مالاتیون باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مثل SOD و CAT در اریتروسیت‌ها، بزاق و پلاسما و نواحی مختلف مغز نظیر هیپوکامپ و کورتکس می‌شود.[۱۲و۱۳] نتایج مشابهی با مطالعه اثر لیندان بر قلب موش صحرایی بدست آمده است.[۱۴] فنیتون با تغییر GSH و MDA موجب اختلال در سیستم آنتی‌اکسیدان می‌شود.[۱۵] از طرف دیگر اثر سمیت کلرپیریفوس و دیازینون بر سیستم مرکزی اعصاب را به القاء استرس اکسیداتیو نسبت می‌دهند.[۱۶] تفاوت در نوع و گونه مورد بررسی، دوز و زمان مواجهه وجه تمایز مطالعات مختلف است. به دلیل تنوع استخلافها در ساختمان شیمیایی ارگانوفسفره‌ها و اثرات متفاوت بر روی بافتهای مختلف، مطالعات تکمیلی جهت درک مکانیسم عمل این ترکیبات ضروری است. مطالعات روی اثر دیازینون بر روی سیستم آنتی‌اکسیدانت بافتها بصورت in vivo بسیار اندک است. در مطالعه حاضر اثر تجویز دوزهای حاد دیازینون بر شاخصهای استرس اکسیداتیو در مغز موش صحرایی بررسی می‌شود.

روش کار

مواد شیمیایی: نیتروبلوتترازولیوم (NBT)، ۱-کلرو ۲،٤ دی نیترو بنزن (CDNB)، دی تیو- بیس - نیتروبنزوئیک اسید (DTNB)، تری کلرواستیک اسید (TCA) و آلبومین سرم گاوی (BSA) از شرکت مرک (آلمان) خریداری شدند. کلیه مواد شیمیایی با درجه خلوص بالا از شرکت مرک یا سیگما خریداری شدند. دیازینون (خلوص ۱۰۰ درصد) از شرکت Supelco – USA خریداری شد. محلول ذخیره با غلظت mg/ml ٤۰۰ در روغن ذرت تهیه شد و رقت‌های مناسب با استفاده از بافر فسفات سدیم ۱۰ میلی مولار pH =۷/٤ از آن بدست آمد.

حیوانات: این مطالعه بر روی موشهای صحرایی نر نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۵۰-۲۰۰ گرم انجام گرفت. حیوانات در حیوانخانه دانشگاه علوم پزشکی بقیه ۰۰۰۱ تحت شرایط طبیعی نور، تاریکی، غذا و آب قرارگرفتند. موازین اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی که مورد تایید کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌ا...(عج) بود، هنگام کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت گردید.

تیمار حیوانات: این مطالعه از نوع مطالعه تجربی است. حیوانات به روش تصادفی به ٤ گروه (در هر

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-11-19]

گروه ۷ سر) تقسیم شدند: گروه کنترل که روغن ذرت را بعنوان حلال و ۳ گروه آزمایش (تجربی) که دوزهای مختلف دیازینون (۳۰،۵۰mg/kg و ۱۰۰) را بصورت داخل صفاقی دریافت نمودند. ۲٤ ساعت بعد از تزریق با بیهوش نمودن حیوانات به وسیله اتر بافت مغز خارج گردید و بعد از شستشو با سرم فیزیولوژی و خارج شدن خون و جدا کردن قسمت‌های زاید، به نیتروژن مایع انتقال داده شد. در روز آزمایش، بافتهای منجمد شده پس از توزین با نسبت ۱ به ۱۰ در بافر فسفات سالین هموژن نموده و در g ۱۲۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه در ٤°C سانتریفوژ گردید. از محلول رویی جهت سنجش شاخص‌های مورد نظر استفاده شد.

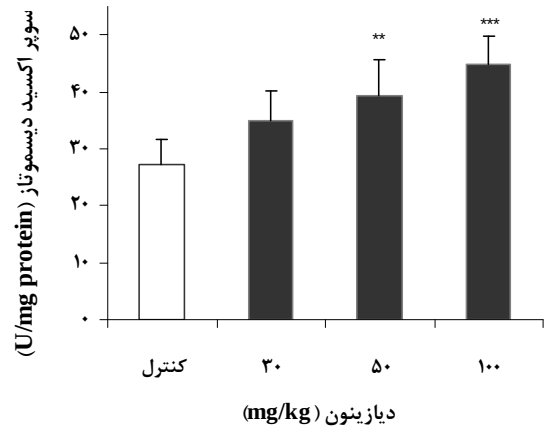
سنجش فعالیت آنزیم‌ها: فعالیت آنزیم SOD با روش Winterbourn سنجیده شد.[۱۷] فعالیت آنزیم CATبا روش Aebi سنجیده شد.[۱۸] فعالیت آنزیم GST با روش Habig سنجیده شد.[۱۹] فعالیت آنزیم LDH با استفاده از کیت پارس آزمون سنجیده شد. فعالیت ویژه آنزیمها بر حسب واحد بر میلی گرم پروتئین محاسبه شد.

تعیین غلظت GSH، MDA و پروتئین: برای تعیین میزان GSH بافت از روش Tietz استفاده شد.[۲۰] برای تعیین محصول نهایی پراکسیداسیون لیپیدها (MDA) از روش Satho استفاده شد.[۲۱] برای تعیین غلظت پروتئین از روش برادفورد استفاده شد.[۲۲]

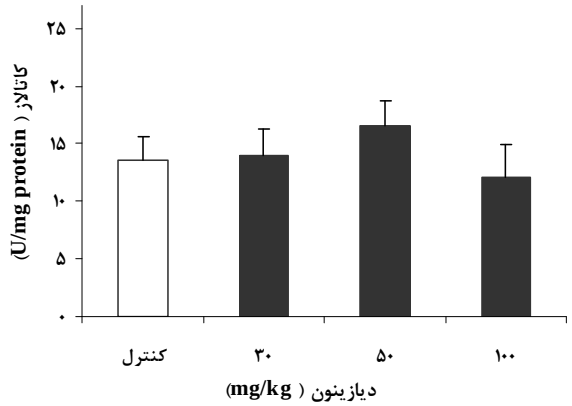
تجزیه وتحلیل داده‌ها: تجزیه و تحلیل اطلاعات با استفاده از نرم افزار INSTAT بصورت آزمون آنالیز واریانس یک طرفه به همراه تست Tokey انجام شد. P<۰/۰۵ مرز معنی‌دار بودن اطلاعات در نظر گرفته شد. نتایج بصورت mean ±SD بیان شدند.

یافته‌ها

اثر دوزهای مختلف دیازینون بر فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز مغز در شکلهای شماره ۱ و ۲ نشان می‌دهد که فعالیت آنزیم SOD در دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن موش صحرایی بطور معنی‌داری در مقایسه با کنترل افزایش می‌یابد و تغییر معنی‌داری در فعالیت آنزیم کاتالاز مشاهده نمی شود. افزایش فعالیت آنزیم SOD در دوزهای مختلف دیازینون درمقایسه با دوزهای دیگر معنی‌دار نیست.



شکل شماره ۱- اثر دوزهای مختلف دیازینون بر فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز مغز موش صحرایی بعد از ۲٤ ساعت. $P<0/01^{**}$ و $P<0/001^{***}$ در مقایسه با گروه کنترل معنی‌دار است.

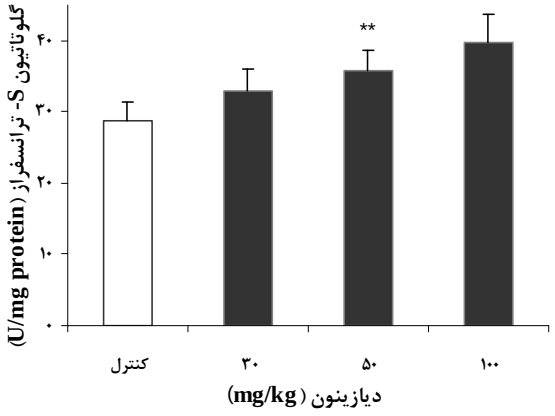


شکل شماره ۲- اثر دوزهای مختلف دیازینون بر فعالیت آنزیم کاتالاز مغز موش صحرایی بعد از ۲٤ ساعت.

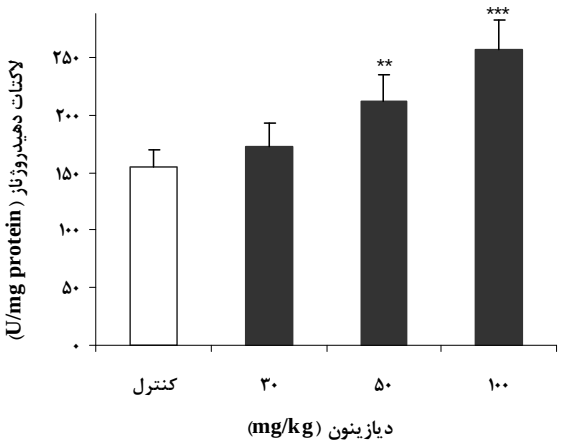
همچنین اثر غلظت‌های مختلف دیازینون بر فعالیت آنزیم‌های GST و LDH مغز در شکل‌های شماره ۳ و ٤

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-11-19]

نشان می‌دهد که فعالیت هر دو آنزیم در دوزهـای ۵۰ و ۱۰۰ میلـی گـرم بـر کیلـوگرم وزن بـدن مـوش بطـور معنی‌داری در مقایسه با کنترل افزایش می‌یابـد. فعالیـت آنـــزیم LDH در دوزهـــای ۵۰ mg/kg (P<۰/۰۵) و ۱۰۰ mg/kg (P<۰/۰۰۱) دیازینون و فعالیت آنزیم GST در دوز ۱۰۰ mg/kg (P<۰/۰۰۱) در مقایـــسه بـــا دوز ۳۰mg/kg بطور معنی‌دار افزایش می‌یابد (P<۰/۰۰۱).



شکل شماره ۳- اثر دوزهـای مختلـف دیـازینون بـر فعالیت آنـزیم گلوتـاتیون S– ترانـسفراز مغـز مـوش صـحرایی بعـد از ۲۴ سـاعت. P<۰/۰۱** و P<۰/۰۰۱*** در مقایسه با گروه کنترل معنی‌دار است.



شکل شماره ۴- اثر دوزهـای مختلـف دیـازینون بـر فعالیت آنـزیم لاکتات دهیدروژناز مغز موش صحرایی بعد از ۲۴ ساعت. P<۰/۰۱** و P<۰/۰۰۱*** در مقایسه با گروه کنترل معنی‌دار است.

بررسی اثر دیـازینون بـر دوزهـای مختلـف GSH و MDA (جدول شماره ۱) نشان می‌دهد کـه غلظـت GSH در دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلـوگرم وزن بـدن موش بطور معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل کاهش می‌یابد و تنهـا در دوز ۱۰۰ mg/kg افـزایش معنـی‌داری در میزان MDA مغز مشاهده شد. کـاهش غلظـت GSH در دوز ۵۰ mg/kg (P<۰/۰۱) و دوز ۱۰۰ mg/kg (P<۰/۰۱) در مقایسه با دوز ۳۰ mg/kg دیازینون بطور معنی‌دار کاهش مـی‌یابـد. غلظـت MDA در دوز ۱۰۰ mg/kg در مقایـسه بـا دوز ۳۰ mg/kg دیـازینون بطـور معنی‌داری افزایش می‌یابد (P<۰/۰۵).

جـدول شـماره ۱- اثـر دوزهـای مختلـف دیـازینون برغلظـت گلوتاتیون و مالون دی آلدئید مغز

شاخص nmol/mg protein	کنترل	دیازینون (mg/kg) ۳۰	۵۰	۱۰۰
گلوتاتیون	۹/۱۰۴۲±۱/۳۱۹	۸/۶۲۳±۱/۸۸۹	۵/۷۸۹±۱/۳۲۴**	۴/۰۰۹۸±۱/۰۶۶***
مـــــالون دی‌آلدئید	۴/۴۸۶±۰/۵۲۴۱	۴/۷۵۴±۰/۴۷۱۵	۵/۰۱۴±۰/۵۲۱	۵/۷۴۷±۰/۶۴۵۲**

P<۰/۰۱** و P<۰/۰۰۱*** در مقایسه بـا گـروه کنتـرل معنـی‌دار است.

بحث و نتیجه‌گیری

بافـت مغـز بـه دلایـل بیوشـیمیایی، فیزیولـوژیکی و آناتومی خاص در مقابل آسیب‌های اکسیداتیو آسیب‌پـذیر است.[۲۳] این بافت ۲۰ درصد اکسیژنی را که در بدن تولیـد می‌شود، مصرف می‌کند و میزان آنزیمهای آنتی‌اکسیدانت آن پـایین اسـت.[۲۴] نتـایج حاصـل از ایـن مطالعـه نـشان می‌دهد که تجویز دیازینون بصورت حاد موجب افـزایش فعالیت آنـزیمSOD، بـدون تغییـر در فعالیـت آنـزیم CAT مغـز مـی‌گـردد. آنـزیم SOD باعـث تبـدیل رادیکـال سـوپر اکسـید بـه H_2O_2 مـی‌شـود و آنـزیم CAT باعـث خنثی شدن H_2O_2 و تبدیل به H_2O و O_2 مـی‌شـود.[۷و۸] در ایـن مطالعـه افـزایش در فعالیـت SOD ناشـی از تجـویز دیـازینون باعـث کـاهش رادیکـال سوپراکسید و افـزایش H_2O_2 در بافت مغز می‌گردد. با توجه به عدم تغییر فعالیت

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-11-19]

آنزیم کاتالاز، غلظت بالای H_2O_2 در بافت مغز موجب آسیب بافتی و ایجاد استرس اکسیداتیو می‌گردد. مطالعات نشان می‌دهد که مصرف پاراکسون، دیازینون و کلروپیریفوس توسط موش صحرایی موجب افزایش فعالیت آنزیمهای SOD و CAT در بافت‌های مغز، قلب و اریتروسیت‌ها می‌گردد.[۲۷-۲۵] افزایش فعالیت آنزیمهای آنتی‌اکسیدان در قلب و پلاسمای موش صحرایی پس از تجویز لیندان (۳ هفته) و مالاتیون (٤ هفته) نیز گزارش شده است.[۳و۲۸] از طرف دیگر در بعضی از مطالعات به دنبال تجویز ترکیبات آفت کش، کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت گزارش شده است. تجویز کلرپیریفوس و سیپرمترین و فوزالون باعث کاهش فعالیت آنزیمهای SOD و CAT کبد موش صحرایی و اریتروسیت‌ها می‌شود.[۲۹و۳۰] این اختلاف نتایج در مطالعات مختلف ناشی از نوع، نژاد و گونه حیوان، نوع سم و بافت، مسیر تجویز ماده سمی و دوز و زمان مواجهه می‌باشد. دوزهای بالای ارگانوفسفره باعث مهار فعالیت آنزیمها می‌شود.[۳۰]

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که فعالیت آنزیم LDH بافت مغز در دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن دیازینون افزایش می‌یابد. فعالیت این آنزیم با میزان مرگ سلولی و لیز شدن سلولها رابطه مستقیم دارد.[۳۱] در مطالعات حیوانی نیز افزایش فعالیت LDH پس از مسمومیت با سیپرمترین، دیازینون، لیندون و کلرپیریفوس مشاهده شده است.[۳۵-۳۲] در حالیکه تجویز اندوسولفان به ماهی، موجب کاهش فعالیت LDH کبد و عضله اسکلتی می‌گردد.[۳٦] نتایج مختلف می‌تواند ناشی از اختلاف در نوع مسیر تجویز، غلظت سم مورد استفاده، نژاد و گونه حیوان، نوع بافت و حتی ایزوآنزیمهای خاص LDH باشد.

در این مطالعه دیازینون در دوزهای بالاتر از ۳۰mg/kg موجب افزایش فعالیت آنزیم GST در بافت مغز می‌گردد. آنزیم GST با استفاده از GSH باعث افزایش حلالیت سموم و دفع آنها از بدن می‌گردد. بنابراین نقش مهمی در محافظت بافتها بر علیه آسیب و استرس اکسیداتیو دارد.[۳۷] افزایش GST در اثر تزریق دیازینون نشان‌دهنده افزایش دفاع بدن در مقابل این سم و دفع سریعتر آن است. افزایش فعالیت GST بدنبال تجویز بعضی از ارگانوفسفره‌ها گزارش شده است.[٤۰-۳۸] در حالیکه در مطالعات دیگر بدون تغییر و یا کاهش فعالیت را نشان می‌دهد.[۲۹و٤۱] این تفاوتها ناشی از نوع و دوز بکار رفته ارگانوفسفره در گونه‌های مختلف حیوانی است. دوزهای کم سموم منجر به افزایش و دوزهای بالای آن باعث مهار فعالیت آنزیم‌ها می‌گردند.

گلوتاتیون می‌تواند بطور مستقیم و یا به عنوان سوبسترای آنزیمهای گلوتاتیون پراکسیداز و گلوتاتیون S-ترانسفراز در سم زدایی پراکسید هیدروژن، لیپید هیدرو پراکسیدها و ترکیبات الکتروفیلیک شرکت نماید. تخلیه گلوتاتیون ممکن است منجر به افزایش پراکسیداسیون لیپیدها، آسیب به DNA، توقف تکامل و کاهش مقاومت در برابر آسیب اکسیداتیو گردد.[٤۲و٤۳] مطالعه حاضر نشان می‌دهد که تجویز دیازینون موجب کاهش غلظت گلوتاتیون در بافت مغز می‌گردد. مطالعات Khan و همکاران نشان دادند که مصرف سیپرمترین و مالاتیون توسط موش صحرایی موجب کاهش گلوتاتیون کبد می‌گردد.[٤۱] همچنین تجویز دیازینون و متیل پاراتیون به ماهی باعث کاهش GSH بافت کبد، ماهیچه سفید و آبشش می‌گردد.[۳۸و٤٤]

MDA به عنوان مارکر استرس اکسیداتیو، آخرین محصول تجزیه لیپیدها است. افزایش سطح MDA نشاندهنده افزایش آسیب غشاء سلولی است.[٤۵] در مطالعه حاضر تجویز دیازینون موجب افزایش غلظت MDA در بافت مغز گردید. پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء، منجر به آسیب بافتی و ایجاد استرس اکسیداتیو می‌شود. مطالعات نشان می‌دهند که تجویز خوراکی دی متوآت، متیل پاراتیون و مالاتیون به موش صحرایی موجب تغییر فعالیت آنزیمهای آنتی اکسیدان و افزایش

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-11-19]

پراکسیداسیون لیپیدها در اریتروسیت می‌گردد.[۱۲و۴۶] به علاوه با مطالعه اثر دیازینون بر بافتهای مختلف ماهی در بعضی بافتها افزایش MDA (آبشش، ماهیچه و لوله گوارش) و در بعضی عدم تغییر (کلیه) مشاهده شده است.[۴۷] نتایج مطالعات متعدد نشان می‌دهد که سطوح پائین یا فقدان پراکسیداسیون لیپیدی، منعکس کننده اثرات محافظتی آنزیمهای آنتی‌اکسیدان است.[۴۸]

بنابر این یکی از مکانیسم‌های عمل مهم دیازینون در ایجاد آسیب سلولی، اختلال در سیستم آنتی‌اکسیدانت و القاء استرس اکسیداتیو است. درک نحوه عملکرد و مکانیسم عمل این ارگانوفسفره می‌تواند راهکارهای جدیدی جهت مقابله با اثرات سوء آن ارائه دهد. برای مثال می‌توان از عوامل آنتی اکسیدان بعنوان یک روش درمانی مفید برای کنترل بعضی از عوارض جانبی ناشی از مسمومیت با عوامل ارگانوفسفره استفاده نمود. این مطالعه محدویت پژوهشی ندارد.

در مجموع نتایج پیشنهاد می‌کند که اثر دیازینون روی سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانت مغز در یک طرح وابسته به دوز است. افزایش فعالیت آنزیم‌ها احتمالاً ناشی از افزایش ظرفیت سم زدایی بافت مغز است. کاهش GSH نشاندهنده نارسایی سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانت برای مقابله با ROS است و افزایش MDA با پراکسیداسیون غشای مغز همراه است که در نهایت ممکن است منجر به آسیب اکسیداتیو بافت مغز گردد.

تقدیر و تشکر

این تحقیق با استفاده از حمایت مالی مراکز تحقیقات شیمیایی و علوم اعصاب کاربردی دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا... در قالب طرح تحقیقاتی انجام گردیده است که بدین وسیله نویسندگان مقاله مراتب تقدیر و تشکر خود را از مسوولین آن مراکز ابراز می‌دارند.

فهرست منابع

1- Hoffman U, Papendrof T. Organophosphate poisonings with parathion and diamethoate. Intensive Care Med. 2006; 32: 464– 68

2- Sudakin DL, Power LE. Organophosphate exposures in the United States: a longitudinal analysis of incidents reported to poison centers. J Toxicol Environ Health. 2007; 70: 141-47

3- Abdollahi M, Mostafalou S, Pournourmohammadi S, Shadnia S. Oxidative stress and cholinesterase inhibition in salvia and plasma of rats following subchronic exposure to malathion. Comp Biochem Physiol. 2004; 137: 29-34

4- GarWtt SJ, Jones K, Mason HJ, Cocker J. Exposure to the organophosphate diazinon: data from a human volunteer study with oral and dermal doses. Toxicol Lett. 2002; 134: 105–13

5- Ogutcu A, Uzunhisarcikli M, Kalender S, Durak D, Bayrakdar F, Kalender Y. The effects of organophosphate insecticide diazinon on malondialdehyde levels and myocardial cells in rat heart tissue and protective role of vitamin E. Pes Biochem Physiol. 2006; 86: 93–98

6- Singh B, Dogra TD, Tripathi CB. A study of serum cholinesterase activity in agricultural and industrial workers occupationally exposed to organophosphates insecticides. Int J Med Toxicol. 2002; 5: 2–5

7- McCord JM. The evolution of free radicals and oxidative stress. Am J Med. 2000; 108: 652–59

8- Mates JM, Perez-Gomez C, Decastro IN. Antioxidant enzymes and human diseases. Clin Biochem. 1999; 32: 595-603

9- Meister A. Glutathione metabolism. Methods Enzymol. 1995; 251: 3–7

10- Stom JE, Rozman KK, Doull J. Occupational exposure limits for 30 organophosphate pesticides based on inhibition of red blood cell acetylcholinesterase. Toxicology. 2000; 150: 1-29

11- Saulsbury MD, Heyliger SO, Wang K, Johnson DJ. Chlorpyrifos induces oxidative stress in oligodendrocyte progenitor cells. Toxicology. 2009; 259: 1–9

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-11-19]

12- John S, Kale M, Rathore N, Bhatnagar D. Protective effect of vitamine E in climethoate and malathion induced oxidative stress in rat erythrocytes. J Nut Biochem. 2001; 12: 500-4

13- Fortunato JJ, Feier G, Vitali AM, Petronilho F, Dal-Pizzol C, Quevedo FJ. Malathion-induced oxidative stress in rat brain regions. Neurochem Res. 2006; 31: 671–78

14- Ananya R, Subeena S, Kumar DA, Kumar DT, Kumar MS. Oxidative stress and histopathological changes in the heart following oral lindane (gammahexachlorohexane) administration in rats. Med Sci Monit. 2005; 11: 325-29

15- Yurumez Y, Cemek M, Yavuz Y, Birdane Y, Buyukokuroglu ME. Beneficial effect of N-acetylcysteine against organophosphate toxicity in mice. Biol Pharm Bull. 2007; 30: 490–94

16- Giordano G, Afsharinejad Z, Guizzetti M, Vitalone A, Kavanagh TJ, Costa LG. Organophosphorus insecticides chlorpyrifos and diazinon and oxidative stress in neuronal cells in a genetic model of glutathione deficiency. Toxicol Appl Pharmacol. 2007; 219: 181–89

17- Winterbourn C, Hawkins R, Brian M, and Carrell R. The estimation of red cell superoxide dismutase activity. J Lab Clin Med.1975; 85: 337

18- Aebi H. Catalase in vitro. Methods Enzymol. 1984; 105: 121-26

19- Habig WT, Jakoby WB. Glutathion S-Transferas (rat and human). Method enzymol. 1981; 77: 218-31

20- Tietze F. Enzymic method for quantitative determination of nanogram amounts of total and oxidized glutathione: applications to mammalian blood and other tissues. Anal Biochem. 1969; 27: 502–22

21- Satoh K. Serum lipid peroxidation in cerebrovascular disorders determined by a new colorimetric method. Clin Chim Acta. 1978; 90: 37–43

22- Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the priniple of protein-dye binding. Anal Biochem. 1976; 72: 248-54

23- Evans PH. Free radicals in brain metabolism and pathology. Br Med Bull. 1999; 49: 577-87

24- Somani SM. Exereise, drugs, and tissue specific antioxidant system. In: Somani SM, ed. Pharmacology in sport and exercise. Boca Raton: CRC Press Inc 1996. p. 57– 95

25- Ghani E. Mohmmadi M, Jafari M, Khoshbatene A, Asgari A. Evaluation of oxidative stress index in brain tissue of rats after expose to paraoxon. Kowsar Med J. 2008; 1: 1-8 (Persian)

26- Akturk O, Demirin H, Sutcu R, Yilmaz N, Koylu H, Altuntas I. The effects of diazinon on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in rat heart and ameliorating role of vitamin E and vitamin C. Cell boil Toxicol. 2006; 6: 455-61

27- Kaur R, Sandhu HS. In vivo changes in antioxidant system and protective role of selenium in chlorpyrifos-induced subchronic toxicity in bubalus bubalis. Environ Toxicol Pharmacol. 2008; 26: 45-48

28- Ananya R, Subeena S, Kumar DA, Kumar DT, Kumar MS. Oxidative stress and histopathological changes in the heart following oral lindane (gammahexachlorohexane) administration in rats. Med Sci Monit. 2005; 11: 325-29

29- Khan SM, Soti RC, Kataria L. Pesticide – induced alteration in mice hepato-oxidative status and protective effect of black tea extract. Clinical Chimica Acta. 2005; 358: 131-38

30- Altuntas I, Delibas N, Doguc D, Ozmen S. Role of reactive oxygen species in organophosphate insecticide phosalone toxicity in erythrocytes in vitro. Toxicol in Vitro. 2003; 17: 153-57

31- Agrahari SH, Pandey KC, Gopal K. Biochemical alteration induced by monocrotophos in the blood plasma of fish, Channa punctatus (Bloch). Pes Biochem Physiol. 2007; 88: 268-72

32- Manna S, Bhattacharyya D, Mandal TK, Das S. Repeated dose toxicity of alfa-cypermethrin in rats. J Vet Sci. 2004; 5: 241–45

33- Kalender S, Ogutcu A, Uzunhisarciki M, Acik Goz F. Diazinon on-induced hepatotoxicity and protective effect of vitamin E on some biochemical indices and ultrastructural changes. Toxicology. 2005; 211: 197-206

34- Etim OE, Farombi EO, Usoh IF, Akpan EJ. The protective effect of aloe vera juice on lindane induced hepatotoxicity and genotoxicity. Pakistan J Pharm Science. 2006; 19: 337-40

35- Ncibis B, Othman M, Akacha A. Opuntia ficus indica extract protects against chlorpyrifos-induced damage on mice liver. Food Chem Toxicol. 2008; 46: 797-802

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-11-19]

36- Mishra R, Shukla SP. Endosulfan mediated effects on lactate dehydrogenase from the catfish. Toxicol Lett. 1998; 95: 145

37- Habig WH, Pabst MJ, Jakoby WB. Glutathione S – transferases. J Biol Chem. 1984; 249: 7130 –139

38- Monterio DA, Almedia JA, Rantin FT, Kalinin AL. Oxidativ stress biomarkers in the fresh water characid fish, Bryconcephalus, exposed to organophosphorous insecticide folispur 600 methyl parathion. Comp Biochem Physiol. 2006; 143: 141-49

39- Amer M, Metwalli M, Abu El-Magd Y. Skin diseases and enzymatic antioxidant activity among workers exposed to pesticides. East Mediterr Health J. 2002; 8: 363-73

40- Monteiro DA, Rantin FT, Kalinin AL. The effects of selenium on oxidative stress biomarkers in the freshwater characid fish matrinxã, Brycon cephalus (Günther, 1869) exposed to organophosphate insecticide Folisuper 600 BR® (methyl parathion). Comp Biochem Physiol. 2009; 149: 40–49

41- Oruc E, Uner N. Combined effects of 2, 4 -d and azinphosmethyl on antioxidant enzymes and lipid peroxidation in liver of oreochromis niloticus. Comp Biochem Physiol. 2002; 127: 291-96

42- Masella R, Benedetto RD, Vari R, Filesi C, Giovannini C. Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. J Nutr Biochem. 2005; 16: 577–86

43- Winkler BS, Orselli SM, Rex TS. The redox couple between glutathione, ascorbic Acid: A chemical and physiological perspective. Free Radic Biol Med. 1994; 17: 333–49

44- Isik I, Celik I. Acute effects of methyl parathion and diazinon as inducers for oxidative stress on certain biomarkers in various tissues of rainbowtrout (Oncorhynchus mykiss). Pes Biochem Physiol. 2008; 92: 38–42

45- Valavanidis A, Vlahogianni T, Dassenakis M, Scoullos M. Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants. Ecotoxicol Environ Saf. 2006; 64: 178–89

46- Celik I, Suzek H. Subacute effects of methyl parathion on antioxidant defense systems and lipid peroxidation in rats. Food Chem Toxicol. 2008; 46: 2796–801

47- Durmaz H, Sevgiler Y, Uner N. Tissue-specific antioxidative and neurotoxic responses to diazinon in oreochromis niloticus. Pes Biochem Physiol. 2006; 84: 215-26

48- Oruc EO, Usta D. Evaluation of oxidative stress responses and neurotoxicity potential of diazinon in defferent tissues of Cyprinus carpio. Environ Toxicol Pharmacol. 2007; 23: 48-55

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-11-19]

Study of Diazinon Effect on Antioxidant Enzymes and Lipid Peroxidation in Rat's Brain

M.Salehi, MS [I] * M.Jafari, PhD [II] A.R.Asgari, PhD [III]
M.Saleh Moghaddam, PhD [Iv] M. Salimian, MS [V]
M.Abbasnejad, MS [VI] M.Haj Gholamali, MS [VI]

Abstract

Background & Aim: Organophosphates (OPs) are capable to produce free radicals and induce disturbance in body antioxidant system. Diazinon is one of the most widely used OPs in agriculture. The aim of this study was to investigate the effects of diazinon on oxidant-antioxidant system in rat's brain tissue.

Material and Method: In this experimental study, male Wistar rats were randomly divided into four groups as follows: control group(corn oil as diazinon solvent) and three case groups receiving diazinon at different doses (30, 50 and 100 mg/kg) via intraperitoneal injection. 24 hours after injection, the animals were anesthetized and their brain tissues were removed. After brain tissue hemogenation, superoxide dismutase (SOD) , catalase (CAT), lactate dehydrogenase (LDH) and glutathione S-transferase (GST) activities as well as glutathione (GSH) and malondialdehyde (MDA) levels were determined by biochemical methods. The data were statistically analyzed using analysis of variance (ANOVA) followed by post hoc analysis using Tukey test.

Results: Diazinon increased SOD, LDH and GST activities at doses of 50 and 100 mg/kg compared with the control group but decreased GSH level. There were no significant changes observed in brain CAT activity. Also, MDA concentration was significantly increased at 100 mg/kg dose in comparison with the control group.

Conclusion: The results suggest that diazinon probably causes free radical production. Enhanced activity of antioxidant enzymes and depleted GSH content are indicative of oxidative tissue injury and the increased MDA level is indicative of the damage that occurs in the membranes of brain tissues as a result of free radical generation.

Key Words: 1) Diazinon 2) Antioxidant System 3) Rat 4) Brain Tissue

I) Researcher. Department of Biochemistry. Faculty of Medicine. Military Medicine Institute. Baqiyatallah University of Medical Sciences. Tehran, Iran.
*II) Associate Professor of Biochemistry. Applied Neurosciences Research Center. Department of Biochemistry. Faculty of Medicine. Military Medicine Institute. Baqiyatallah University of Medical Sciences. Tehran, Iran.(*Corresponding Author)*
III) Professor of Physiology. Department of Physiology.Sport Physiology Research Center. Faculty of Medicine. Baqiyatallah University of Medical Sciences. Tehran, Iran.
IV) Assistant Professor of Biochemistry. Department of Biochemistry. Payame Noor University.Mashhad, Iran.
V) Researcher.Chemical Injuries Research Center. Department of Biochemistry. Faculty of Medicine. Baqiyatallah University of Medical Sciences.Tehran,Iran.
VI) Researcher. Department of Biochemistry. Payame Noor University.Tehran,Iran.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-11-19]