

# بررسی اثر دیازینون بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و پراکسیداسیون لیپیدهای مغز

## موش صحرائی

### چکیده

**زمینه و هدف:** ارگانوفسفرها سبب افزایش تولید رادیکالهای آزاد و تخریب سیستم آنتی‌اکسیدانت بدن می‌گردند. دیازینون یکی از گسترده‌ترین ارگانوفسفره‌هایی است که امروزه در کشاورزی بکار می‌رود. هدف از این مطالعه ارزیابی اثر دیازینون روی سیستم اکسیدان- آنتی‌اکسیدان مغز موش صحرائی است.

**روش کار:** در مطالعه تجربی حاضر موش‌های صحرائی نر نژاد ویستار به صورت تصادفی در ۴ گروه قرار گرفتند: گروه کنترل (روغن ذرت بعنوان حلال دیازینون) و سه گروه آزمایش که دیازینون را در دوزهای mg/kg ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ بصورت داخل صفاقی دریافت کردند. ۲۴ 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)، گلوکوتاتیون S- ترانسفراز (GST) و لاکتات دهیدروژناز (LDH) و میزان گلوکوتاتیون (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 گلوکوتاتیون 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 صحرائی ۴- بافت مغز

مریم صالحی I

\*دکتر مهوش جعفری II

دکتر علیرضا عسگری III

دکتر مسعود صالح مقدم IV

محمد سلیمیان V

مریم عباس نژاد VI

منصوره حاج غلامعلی VI

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

### مقدمه

مسئول حدود صد هزار مسمومیت در هر سال در دنیا است.<sup>(۲)</sup> در ایران این ترکیبات یکی از علل مرگ و میر ناشی از مسمومیت هستند.<sup>(۳)</sup>

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.<sup>(۴)</sup>

ترکیبات ارگانوفسفره ترکیبات سمی هستند که بطور وسیع به عنوان آفت کش و حشره کش در کشاورزی، صنعت و باغبانی استفاده می‌شوند.<sup>(۱)</sup> 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

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

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

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

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

اکسیداتیو نسبت می‌دهند.<sup>(۱۶)</sup> 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:** نیتروبلوتترازولیموم (NBT)، ۱- کلرو ۲،۴-دی نیترو بنزن (CDNB)، دی تیو- بیس - نیتروبنزوتیک اسید (DTNB)، تری کلرواستیک اسید (TCA) و آلومین 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 ۴۰۰ در روغن ذرت تهیه شد و رقت‌های مناسب با استفاده از بافر فسفات سدیم ۱۰ میلی مولار pH = ۷/۴ 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 ۰۰۰ تحت شرایط طبیعی نور، تاریکی، غذا و آب قرارگرفتند. موازین اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی که مورد تایید کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی بقیه... (عج) بود، هنگام کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت گردید.

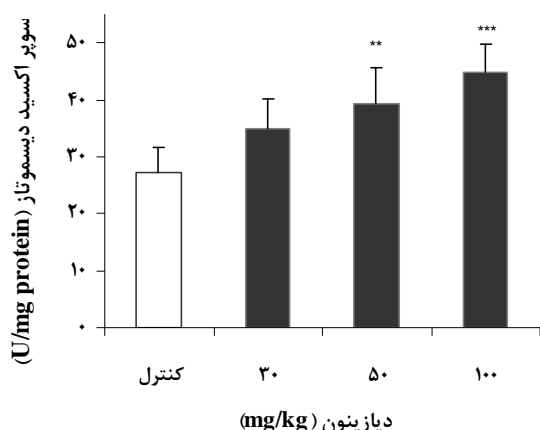
**تیمار حیوانات:** این مطالعه از نوع مطالعه تجربی است. حیوانات به روش تصادفی به ۴ گروه (در هر

این ترکیب با فسفریلاسیون اسیدآمینو 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.<sup>(۱۷)</sup>

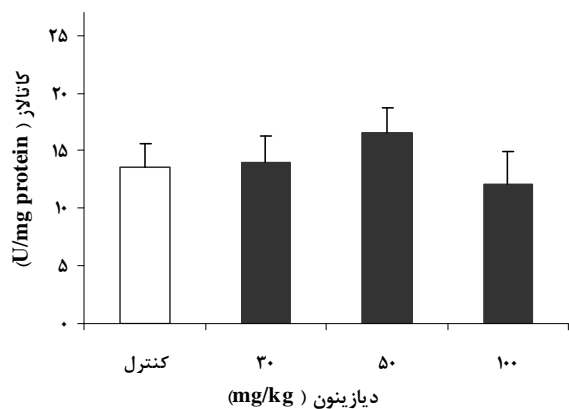
بطور طبیعی در طی متابولیسم بدن گونه‌های فعال اکسیژن (ROS: Reactive Oxygen Species) تشکیل می‌گردد که قادرند با ماکرومولکول‌های مهم بدن نظیر لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک واکنش دهند. در شرایط طبیعی بین تولید و حذف ROS تعادل وجود دارد. عدم تعادل در این فرایندها منجر به استرس اکسیداتیو و تغییرات 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 حالیت سموم و دفع سموم از طریق کلیه می‌شود.<sup>(۷-۹)</sup>

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.<sup>(۱۱،۱۰)</sup> مالاتیون باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مثل SOD و CAT در اریتروسیت‌ها، بزاق و پلاسما و نواحی مختلف مغز نظیر هیپوکامپ و کورتکس می‌شود.<sup>(۱۲،۱۳)</sup> نتایج مشابهی با مطالعه اثر لیندان بر قلب موش صحرایی بدست آمده است.<sup>(۱۴)</sup> فنیتون با تغییر GSH و MDA موجب اختلال در سیستم آنتی‌اکسیدان می‌شود.<sup>(۱۵)</sup> از طرف دیگر اثر سمیت کلرپیریفوس و دیازینون بر سیستم مرکزی اعصاب را به القاء استرس

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 نمی‌شود. افزایش فعالیت آنزیم SOD در دوزهای مختلف دیازینون در مقایسه با دوزهای دیگر معنی‌دار نیست.



شکل شماره ۱- اثر دوزهای مختلف دیازینون بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز مغز موش صحرایی بعد از ۲۴ 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 ۲۴ ساعت.

همچنین اثر غلظت‌های مختلف دیازینون بر فعالیت آنزیم‌های GST و LDH مغز در شکل‌های شماره ۳ و ۴

گروه ۷ سر) تقسیم شدند: گروه کنترل که روغن ذرت را بعنوان حلال و ۳ گروه آزمایش (تجربی) که دوزهای مختلف دیازینون (۳۰، ۵۰ mg/kg و ۱۰۰) را بصورت داخل صفاقی دریافت نمودند. ۲۴ 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 ۱۲۰۰۰ g به مدت ۱۵ دقیقه در ۴°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 CAT با 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 MDA، GSH 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 و تحلیل داده‌ها:** تجزیه و تحلیل اطلاعات با استفاده از نرم افزار INSTAT بصورت آزمون آنالیز واریانس یک طرفه به همراه تست Tokey انجام شد.  $P < 0.05$  مرز معنی‌دار بودن اطلاعات در نظر گرفته شد. نتایج بصورت  $\text{mean} \pm \text{SD}$  بیان شدند.

## یافته‌ها

اثر دوزهای مختلف دیازینون بر فعالیت آنزیم‌های

در دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن موش بطور معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل کاهش می‌یابد و تنها در دوز ۱۰۰ mg/kg افزایش معنی‌داری در میزان MDA مغز مشاهده شد. کاهش غلظت GSH در دوز ۵۰ mg/kg ( $P < 0.01$ ) و دوز ۱۰۰ mg/kg ( $P < 0.01$ ) در مقایسه با دوز ۳۰ mg/kg دیزاینون بطور معنی‌دار کاهش می‌یابد. غلظت MDA در دوز ۱۰۰ mg/kg در مقایسه با دوز ۳۰ mg/kg دیزاینون بطور معنی‌داری افزایش می‌یابد ( $P < 0.05$ ).

جدول شماره ۱- اثر دوزهای مختلف دیزاینون بر غلظت گلوکاتینون و مالون دی آلدئید مغز

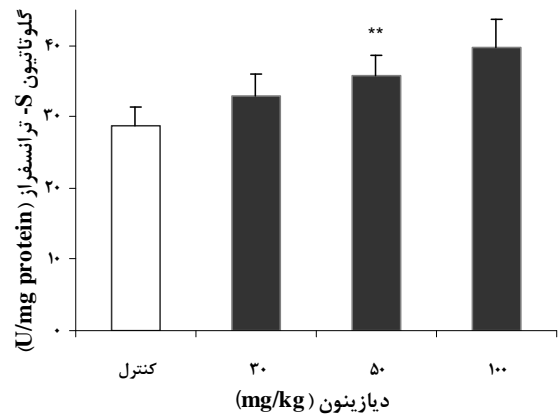
شاخص nmol/mg protein	دیزاینون (mg/kg)			کنترل
	۱۰۰	۵۰	۳۰	
گلوکاتینون	۴/۰۰۹±۱/۰۶۶***	۵/۷۸۹±۱/۳۲۴**	۸/۶۲۳±۱/۸۸۹	۹/۱۰۴۲±۱/۳۱۹
مالون دی‌آلدئید	۵/۷۴۷±۰/۶۴۵۲**	۵/۰۱۴±۰/۵۲۱	۴/۷۵۴±۰/۴۷۱۵	۴/۴۸۶±۰/۵۲۴۱

$P < 0.01$  و  $P < 0.001$  در مقایسه با گروه کنترل معنی‌دار است.

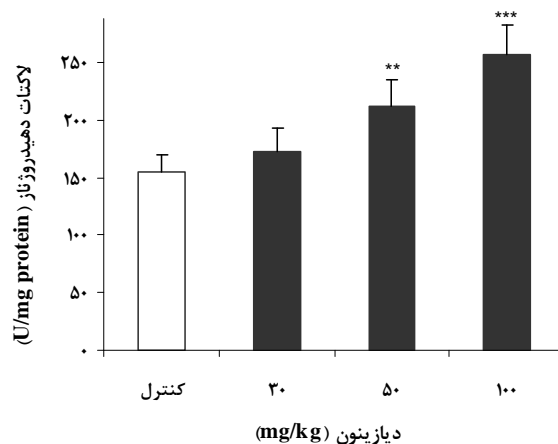
### بحث و نتیجه‌گیری

بافت مغز به دلایل بیوشیمیایی، فیزیولوژیکی و آناتومی خاص در مقابل آسیب‌های اکسیداتیو آسیب‌پذیر است.<sup>(۲۳)</sup> این بافت ۲۰ درصد اکسیژنی را که در بدن تولید می‌شود، مصرف می‌کند و میزان آنزیمهای آنتی‌اکسیدانت آن پایین است.<sup>(۲۴)</sup> نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که تجویز دیزاینون بصورت حاد موجب افزایش فعالیت آنزیم SOD، بدون تغییر در فعالیت آنزیم CAT مغز می‌گردد. آنزیم SOD باعث تبدیل رادیکال سوپر اکسید به  $H_2O_2$  می‌شود و آنزیم CAT باعث خنثی شدن  $H_2O_2$  و تبدیل به  $H_2O$  و  $O_2$  می‌شود.<sup>(۸،۷)</sup> در این مطالعه افزایش در فعالیت SOD ناشی از تجویز دیزاینون باعث کاهش رادیکال سوپر اکسید و افزایش  $H_2O_2$  در بافت مغز می‌گردد. با توجه به عدم تغییر فعالیت

نشان می‌دهد که فعالیت هر دو آنزیم در دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن موش بطور معنی‌داری در مقایسه با کنترل افزایش می‌یابد. فعالیت آنزیم LDH در دوزهای ۵۰ mg/kg ( $P < 0.05$ ) و ۱۰۰ mg/kg ( $P < 0.001$ ) دیزاینون و فعالیت آنزیم GST در دوز ۱۰۰ mg/kg ( $P < 0.001$ ) در مقایسه با دوز ۳۰ mg/kg بطور معنی‌دار افزایش می‌یابد ( $P < 0.001$ ).



شکل شماره ۳- اثر دوزهای مختلف دیزاینون بر فعالیت آنزیم گلوکاتینون S- ترانسفراز مغز موش صحرایی بعد از ۲۴ ساعت.  $P < 0.01$  و  $P < 0.001$  در مقایسه با گروه کنترل معنی‌دار است.



شکل شماره ۴- اثر دوزهای مختلف دیزاینون بر فعالیت آنزیم لاکتات دهیدروژناز مغز موش صحرایی بعد از ۲۴ ساعت.  $P < 0.01$  و  $P < 0.001$  در مقایسه با گروه کنترل معنی‌دار است.

بررسی اثر دیزاینون بر دوزهای مختلف GSH و MDA (جدول شماره ۱) نشان می‌دهد که غلظت GSH

افزایش حلالیت سموم و دفع آنها از بدن می‌گردد. بنابراین نقش مهمی در محافظت بافتها بر علیه آسیب و استرس اکسیداتیو دارد.<sup>(۳۷)</sup> 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 ارگانوفسفرها گزارش شده است.<sup>(۴۰-)</sup> در حالیکه در مطالعات دیگر بدون تغییر و یا کاهش فعالیت را نشان می‌دهد.<sup>(۴۱،۳۹)</sup> 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.

گلوکاتیون می‌تواند بطور مستقیم و یا به عنوان سوبسترای آنزیمهای گلوکاتیون پراکسیداز و گلوکاتیون-S- ترانسفراز در سم زدایی پراکسید هیدروژن، لیپید هیدرو پراکسیدها و ترکیبات الکتروفیلیک شرکت نماید. تخلیه گلوکاتیون ممکن است منجر به افزایش پراکسیداسیون لیپیدها، آسیب به DNA، توقف تکامل و کاهش مقاومت در برابر آسیب اکسیداتیو گردد.<sup>(۴۲،۴۳)</sup> مطالعه حاضر نشان می‌دهد که تجویز دیازینون موجب کاهش غلظت گلوکاتیون در بافت مغز می‌گردد. مطالعات Khan و همکاران نشان دادند که مصرف سیپرمتترین و مالاتیون توسط موش صحرایی موجب کاهش گلوکاتیون کبد می‌گردد.<sup>(۴۱)</sup> همچنین تجویز دیازینون و متیل پاراتیون به ماهی باعث کاهش GSH بافت کبد، ماهیچه سفید و آبشش می‌گردد.<sup>(۴۴،۳۸)</sup>

MDA به عنوان مارکر استرس اکسیداتیو، آخرین محصول تجزیه لیپیدها است. افزایش سطح MDA نشان‌دهنده افزایش آسیب غشاء سلولی است.<sup>(۴۵)</sup> 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 متوات، متیل پاراتیون و مالاتیون به موش صحرایی موجب تغییر فعالیت آنزیمهای آنتی اکسیدان و افزایش

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.<sup>(۳۷-۳۵)</sup> افزایش فعالیت آنزیمهای آنتی‌اکسیدان در قلب و پلاسمای موش صحرایی پس از تجویز لیندان (۳ هفته) و مالاتیون (۴ هفته) نیز گزارش شده است.<sup>(۳۳،۳۸)</sup> از طرف دیگر در بعضی از مطالعات به دنبال تجویز ترکیبات آفت کش، کاهش فعالیت آنزیمهای آنتی‌اکسیدانت گزارش شده است. تجویز کلرپیریفوس و سیپرمتترین و فوزالون باعث کاهش فعالیت آنزیمهای SOD و CAT کبد موش صحرایی و اریتروسیت‌ها می‌شود.<sup>(۳۹،۳۰)</sup> 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.<sup>(۳۰)</sup>

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.<sup>(۳۱)</sup> در مطالعات حیوانی نیز افزایش فعالیت LDH پس از مسمومیت با سیپرمتترین، دیازینون، لیندون و کلرپیریفوس مشاهده شده است.<sup>(۳۵-۳۲)</sup> در حالیکه تجویز اندوسولفان به ماهی، موجب کاهش فعالیت LDH کبد و عضله اسکلتی می‌گردد.<sup>(۳۶)</sup> 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 ۳۰ mg/kg موجب افزایش فعالیت آنزیم GST در بافت مغز می‌گردد. آنزیم GST با استفاده از GSH باعث

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.

پراکسیداسیون لیپیدها در اریتروسیت می‌گردد. (۴۶ و ۴۷) به علاوه با مطالعه اثر دیازینون بر بافتهای مختلف ماهی در بعضی بافتهای 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 آنتی‌اکسیدان بعنوان یک روش درمانی مفید برای کنترل بعضی از عوارض جانبی ناشی از مسمومیت با عوامل ارگانوفسفره استفاده نمود. این مطالعه محدودیت پژوهشی ندارد.

### فهرست منابع

- Hoffman U, Papendorf T. Organophosphate poisonings with parathion and diamethoate. *Intensive Care Med.* 2006; 32: 464–68
- 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
- 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
- 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
- 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
- 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
- McCord JM. The evolution of free radicals and oxidative stress. *Am J Med.* 2000; 108: 652–59
- Mates JM, Perez-Gomez C, Decastro IN. Antioxidant enzymes and human diseases. *Clin Biochem.* 1999; 32: 595-603
- Meister A. Glutathione metabolism. *Methods Enzymol.* 1995; 251: 3–7
- 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
- Saulsbury MD, Heyliger SO, Wang K, Johnson DJ. Chlorpyrifos induces oxidative stress in oligodendrocyte progenitor cells. *Toxicology.* 2009; 259: 1–9

- 12- John S, Kale M, Rathore N, Bhatnagar D. Protective effect of vitamin 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 (gamma-hexachlorocyclohexane) 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-Transferase (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 principle 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. Exercise, 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, Mohammadi M, Jafari M, Khoshbatene A, Asgari A. Evaluation of oxidative stress index in brain tissue of rats after exposure 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 Biol 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 (gamma-hexachlorocyclohexane) 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, Usuh 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

- 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 folispor 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, Scoullou 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

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

M.Salehi, MS<sup>I</sup> \* M.Jafari, PhD<sup>II</sup> A.R.Asgari, PhD<sup>III</sup>  
M.Saleh Moghaddam, PhD<sup>IV</sup> M. Salimian, MS<sup>V</sup>  
M.Abbasnejad, MS<sup>VI</sup> M.Haj Gholamali, MS<sup>VI</sup>

## *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 homogenation, 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.