Downloaded from journal.gums.ac.ir at 4:07 IRDT on Thursday May 24th 2018

تعدیل استرس اکسیداتیو ناشی از دیازینون در مغز موش صحرایی توسط ویتامین های C و E

کاووس طهماسبی(MSc)[1]- *دکترمهوش جعفری(PhD)[2]- دکترمریم صالحی(PhD)[3]

*نویسنده مسئول: استاد بیوشیمی، مرکز تحقیقات آسیب‌های شیمیایی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌ا...(عج)، تهران

پست الکترونیک: m.jafari145@gmail.com

تاریخ دریافت مقاله:۹۵/۰۸/۰۲ تاریخ ارسال:۹۴/۱۱/۰۲ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۱/۲۴

چکیده

مقدمه: دیازینون یک حشره‌کش ارگانوفسفره است که سبب استرس اکسیداتیو می‌شود. ویتامین‌های E و C به عنوان آنتی اکسیدان‌های بالقوه، سلول‌ها را از استرس اکسیداتیو محافظت می‌کنند.

هدف: تعیین تعدیل استرس اکسیداتیو ناشی از دیازینون توسط ویتامین‌های C و E در مغز موش صحرایی.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار به طور تصادفی به ٦ گروه تقسیم شدند. گروه کنترل (روغن ذرت بعنوان حلال دیازینون)، گروه دیازینون (۱۰۰ mg/kg)، گروه ویتامین E (۱۵۰ mg/kg)، گروه ویتامین C (۲۰۰ mg/kg) و گروه دیازینون- ویتامین E و گروه دیازینون- ویتامین C به صورت تزریق داخل صفاقی دریافت کردند. ٢٤ ساعت بعد از تزریق، موش‌ها توسط اتر بیهوش و بافت مغز بسرعت جدا شد. پس از هموژنه بافت‌ها، عملکرد آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT)، گلوتاتیون S- ترانسفراز (GST) و لاکتات دهیدروژناز (LDH) و غلظت گلوتاتیون (GSH) و مالون دی آلدئید (MDA) توسط روش‌های بیوشیمیایی تعیین شد.

نتایج: دیازینون سبب افزایش عملکرد آنزیم‌های SOD (p<۰/۰۰۱) ، GST (p<۰/۰۱) ، غلظت MDA (p<۰/۰۱) ، کاهش عملکرد آنزیم های LDH، CAT و غلظت GSH (p<۰/۰۱) در مغز شد. تجویز ویتامین E یا C مانع تغییر این متغیرها شد.

نتیجه‌گیری: تجویز ویتامین E یا C به عنوان آنتی اکسیدان احتمالاً از طریق پاکسازی رادیکال‌های آزاد باعث کاهش سمیت دیازینون اما نه بطور کامل می‌شود.

کلید واژه ها: استرس اکسیداتیو/دیازینون / مغز / موش های صحرایی / ویتامین ای/ ویتامین ث

مجله دانشگاه علوم پزشکی گیلان، دوره بیست و شش، شماره ۱۰۱، صفحات: ۷۳-٦٦

مقدمه

حشره‌کش‌های ارگانوفسفره به طور گسترده برای کنترل حشرات در محیط انسان و در امور کشاورزی و دامپروری و صنعت استفاده می‌شوند. تماس مستقیم با این حشره‌کش‌ها و تماس غیرمستقیم از طریق مصرف بقایای این حشره‌کش‌ها روی فرآورده‌های کشاورزی و دامی افراد زیادی از جمله کارگران و کشاورزان و خانواده‌های آنها درگیر می‌کند. این ترکیبات با فسفریله نمودن اسید آمینه سرین موجود در جایگاه فعال آنزیم کولین استراز، اتصالی محکم و غیرقابل برگشت با آنزیم ایجاد نموده و آنرا مهار و باعث افزایش سطح استیل‌کولین و اختلالات کلینرژیک می‌شود. مسمومیت با این مواد یکی از مشکلات بهداشت جهانی است که مسئول حدود صد هزار مسمومیت در هر سال در دنیا است. در ایران این ترکیبات یکی از علل مرگ و میر ناشی از مسمومیت هستند(٤-١). دیازینون (DZN) یکی از ترکیبات مهم ارگانوفسفره است که بعنوان حشره‌کش علیه آفات نباتی و حشرات منازل استفاده می‌گردد. دیازینون از راه پوست، دستگاه گوارش و تنفسی جذب شده و به سرعت در زمان کوتاهی در کبد به دیازوکسون متابولیزه می‌شود که مهار کننده قوی آنزیم استیل کولین استراز می‌باشد (٥-٤).

ارگانوفسفره‌ها علاوه بر مهار آنزیم استیل‌کولین‌استراز می‌توانند باعث ایجاد رادیکال‌های آزاد شوند(٢و٤). آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مهم مانند سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز

۱- کارشناس ارشد بیوشیمی، گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌ا...(عج)، تهران

۲- استاد بیوشیمی، مرکز تحقیقات آسیب های شیمیایی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌ا...(عج)، تهران

۳- دانشجوی‌دکتری علوم اعصاب،مرکز تحقیقات‌علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌ا...(عج)، تهران

Downloaded from journal.gums.ac.ir at 4:07 IRDT on Thursday May 24th 2018

(CAT) و گلوتاتیون-S-ترانسفراز (GST) از آنزیم‌های کلیدی جهت سم‌زدایی رادیکال‌های آزاد به شمار می‌روند. گلوتاتیون(GSH) به عنوان آنتی‌اکسیدان غیرآنزیمی باعث افزایش حلالیت و دفع سموم از کلیه‌ها می‌شود. اختلال در توازن اکسیدان‌ها و آنتی‌اکسیدان‌های بدن منجر به آسیب‌های بافتی و استرس اکسیداتیو می‌شود(۷-٦). مطالعات مختلف نشان می‌دهند که دیازینون از طریق ایجاد رادیکال‌های آزاد باعث تغییر عملکرد آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، کاهش غلظت گلوتاتیون و عملکرد آنزیم لاکتات‌دهیدروژناز(LDH) به عنوان بیومارکر لیز سلولی و افزایش مالون‌دی‌آلدئید(MDA) به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدها در بافت‌ها شده که در نهایت منجر به استرس اکسیداتیو و مرگ سلولی می‌شود (٤،٥و٨).

ویتامین E (آلفا- توکوفرل) آنتی‌اکسیدان فعال و محلول در چربی موجود در غشای بیولوژیکی است که در پاکسازی رادیکال‌های آزاد و کاهش پراکسیداسیون لیپیدها در غشاء نقش مهمی دارد و به ثبات و پایداری غشاء کمک می‌کند(۹). ویتامین C (آسکوربیک‌اسید) آنتی‌اکسیدان مهم محلول در آب است و مهم‌ترین پاک‌کننده رادیکال‌های آزاد در مایعات خارج سلولی است. این ویتامین می‌تواند ویتامین E اکسید شده را مجدداً احیا نماید. بنابراین عملکرد دو ویتامین E و C همبستگی و با میانکنش مستقیم با رادیکال‌های آزاد در محیط آبی از پراکسیداسیون لیپیدها جلوگیری می‌کنند(۱۰-۹). چندین مطالعه نشان داده‌اند که ویتامین‌های E و C می‌توانند سمیت سلولی ارگانوفسفره‌ها و از جمله دیازینون را کاهش دهند و از تغییر برخی از متغیرهای بیوشیمیایی جلوگیری کنند (۱۳-۹).

با توجه به افزایش مصرف روز افزون حشره‌کش‌های ارگانوفسفره‌ی مختلف نظیر دیازینون، بررسی اثر این ترکیبات بر انسان و حیوانات آزمایشگاهی از اهمیت به سزایی برخوردار شده‌است. درک مکانیسم عمل موشکافانه دیازینون و اثرهای متفاوت آن بر بافت‌های مختلف و همچنین اثر گوناگون آنتی‌اکسیدان‌ها بر این سمیت، مطالعات تکمیلی را ضروری می‌نماید. اگرچه اثر حفاظتی و درمانی ویتامین E یا C بر متغیرهای آسیب سلولی در خون و سلول‌ها بررسی شده است، ولی مطالعات اندکی بر روی بیومارکرهای استرس اکسیداتیو در بافت‌های مختلف انجام شده‌است. در ضمن مطالعات انجام شده در دوز سم، روش تزریق، نوع بافت، نوع حیوان و مدت زمان تیمار با هم متفاوت هستند (١٤-١٠). Yilmaz و همکاران نشان دادند که تجویز خوراکی دیازینون با غلظت ۳۳۵ mg/kg باعث افزایش پراکسیداسیون لیپیدها بدون تغییر معنی‌دار عملکرد آنتی‌اکسیدان‌ها در مغز موش صحرایی می‌شود و تجویز ترکیب ویتامین‌های E و C باعث افزایش عملکرد SOD و کاهش پراکسیداسیون لیپیدها و استرس اکسیداتیو در مغز می‌شود(١٤). در مطالعه ما نقش حفاظتی ویتامین E یا C به تنهایی در کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از تجویز داخل صفاقی دیازینون با غلظت ۱۰۰ mg/kg در مغز موش صحرایی بررسی شد.

مواد و روش‌ها

مواد شیمیایی مورد نیاز با درجه خلوص بالا از شرکت مرک و سیگما (آلمان)، ویتامین C و ویتامین E از شرکت سیگما و دیازینون از شرکت Supelco -USA خریداری شد. محلول‌های ذخیره (stock) دیازینون با غلظت ٤۰۰mg/ml در روغن ذرت و ویتامین E با غلظت ٦۰۰ mg/ml در روغن ذرت و ویتامین C با غلظت ۲۰۰mg/ml در آب مقطر بصورت تازه تهیه شد.

این مطالعه بر روی موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۵۰-۲۰۰ گرم انجام شد. موش‌ها در شرایط ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی در دمای ۲±۲۲ درجه سانتی‌گراد در محل نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا... قرار گرفتند. دسترسی حیوانات به آب و غذا آزاد بود. موازین اخلاقی کار با حیوان‌های آزمایشگاهی که مورد تایید کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا... (عج) بود، هنگام کار با موش‌های آزمایشگاهی رعایت شد.

حیوانات به روش تصادفی به ٦ گروه(در هر گروه ٦ سر) تقسیم شدند: گروه کنترل که روغن ذرت را به عنوان حلال دیازینون، گروه DZN که ۱۰۰ mg/kg دیازینون (١٤)، گروه E که ۱۵۰ mg/kg ویتامین E، گروه C که ۲۰۰ mg/kg ویتامین C(۱۵)، گروه DZN+C که ۱۰۰ mg/kg دیازینون و mg/kg

Downloaded from journal.gums.ac.ir at 4:07 IRDT on Thursday May 24th 2018

۲۰۰ ویتامین C و گروه DZN+E که ۱۰۰ mg/kg دیازینون و ۱۵۰ mg/kg ویتامین E را به صورت تزریق داخل صفاقی دریافت کردند. 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، به نیتروژن مایع انتقال داده شد و سپس در دمای ۷۰°C- تا زمان انجام آزمایش نگهداری شد. در روز آزمایش بافت‌ها به دقت وزن و با نسبت ۱ به ۱۰ در بافر فسفات سالین هموژنه و به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۱٦۰۰۰g در ٤°C سانتریفوژ شد. از مایع رویی جهت سنجش شاخص‌های مورد نظر استفاده شد.

عملکرد آنزیم SOD به روش Winterbourn سنجیده شد (۱٦). برای اندازه‌گیری عملکرد آنزیم کاتالاز از روش Abei استفاده شد (۱۷). اندازه‌گیری عملکرد آنزیم GST به روش Habig انجام شد (۱۸). اندازه‌گیری عملکرد آنزیم LDH با استفاده از کیت پارس آزمون انجام شد. عملکرد ویژه آنزیم‌ها بر حسب واحد بر میلی گرم پروتئین محاسبه شد.

برای تعیین میزان MDA بعنوان محصول نهایی پراکسیداسیون لیپیدها از روش Kei استفاده شد(۱۹). برای سنجش میزان GSH بافت از روش Tietz استفاده شد(۲۰). برای تعیین غلظت پروتئین از روش برادفورد استفاده شد (۲۱).

تجزیه و تحلیل اطلاعات با استفاده از نرم افزار InStat ورژن 3.3بصورت آنالیز واریانس یک طرفه به همراه تست توکی انجام شد. p<۰/۰۵ مرز معنی‌دار بودن اطلاعات در نظر گرفته شد و نتایج بصورت Mean ± SD بیان شد.

نتایج

نتایج حاصل از اثر دیازینون و ویتامین‌های C و E به تنهایی و در ترکیب با هم بر عملکرد آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مغز در جدول ۱ نشان می‌دهد که دیازینون باعث افزایش معنی‌دار عملکرد آنزیم‌های SOD (p<۰/۰۰۱) و GST (p<۰/۰۱) و کاهش عملکرد آنزیم‌های LDH و CAT (p<۰/۰۱) در مقایسه با گروه کنترل می‌شود (p<۰/۰۱). همچنین تجویز دیازینون همراه ویتامین‌های E و C باعث افزایش معنی‌دار عملکرد آنزیم‌های SOD و GST درگروه دیازینون- ویتامین E (p<۰/۰۵) و در گروه دیازینون- ویتامین C (p<۰/۰۱ و p<۰/۰۵ به ترتیب) در مقایسه با گروه کنترل می‌گردد. کاهش عملکرد آنزیمSOD در گروه‌های دیازینون- ویتامین E در مقایسه با گروه دیازینون معنی‌دار است (p<۰/۰۰۱). تغییر سایر عملکرد آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گروه‌های دیازینون- ویتامین E و دیازینون- ویتامین C در مقایسه با گروه دیازینون معنی‌دار نیست.

جدول ۱: عملکرد آنزیم‌های SOD، CAT، GST و LDH در گروههای مختلف در بافت مغز موش صحرایی بعد از ۲٤ ساعت.

پارامترها (U/mg protein)	SOD	CAT	GST	LDH
کنترل	۲۴/۷۱±۲/۹۰	۱۴/۰۴±۱/۹۲	۲۹/۱۱±۲/۶۴	۱۴۶/۵۷±۱۴/۱۵
دیازینون	۳۹/۸۵±۴/۶۵***	۹/۹۸±۱/۶۴**	۳۶/۲۶±۲/۹۰**	۱۱۹/۴۹±۱۰/۸۷**
ویتامین E	۲۶/۷۸±۳/۶۲#	۱۲/۸۳±۱/۷۷#	۲۸/۳۸±۲/۸۵#	۱۴۷/۹۳±۱۰/۴۸#
ویتامین C	۲۱/۶۳±۲/۵۱#	۱۴/۳۰±۱/۴۴#	۳۰/۲۴±۳/۱۵#	۱۴۸/۸۸±۱۰/۲۳#
دیازینون- ویتامین E	۳۲/۷۹±۴/۰۱*#	۱۲/۱۰±۱/۱۷	۳۳/۹۱±۳/۳۱¥	۱۳۳/۸۵±۱۴/۲۴
دیازینون- ویتامین C	۳۴/۳۵±۴/۵۷**§	۱۱/۶۵±۱/۱۹	۳۵/۶۵±۲/۵۸**§	۱۲۷/۹۳±۹/۹۱§

نتایج بصورت Mean ± SD بیان شد. p<۰/۰۵*، p<۰/۰۱** و p<۰/۰۰۱*** نسبت به گروه کنترل معنی‌دار است. p<۰/۰۵# نسبت به گروه دیازینون معنی‌دار است. p<۰/۰۵¥ نسبت به گروه E معنی‌دار است. p<۰/۰۵§ نسبت به گروه C معنی‌دار است. SOD: سوپراکسیددیسموتاز، CAT: کاتالاز، GST: S-گلوتاتیون ترانسفراز و LDH: لاکتات دهیدروژناز.

Downloaded from journal.gums.ac.ir at 4:07 IRDT on Thursday May 24th 2018

جدول ۲: غلظت‌های GSH و MDA در گروههای مختلف در بافت مغز موش صحرایی بعد از ۲٤ ساعت

پارامترها (nmol/mg protein)	GSH	MDA
کنترل	۹/۳۹±۱/۰۲	۶/۷۶±۰/۸۵
دیازینون	۶/۷۷±۰/۸۶**	۸/۸۲±۰/۸۸**
ویتامین E	۹/۵۵±۱/۰۴#	۶/۶۲±۰/۸۵#
ویتامین C	۱۰/۱۵±۱/۱۲#	۶/۷۴±۰/۷۴#
دیازینون- ویتامین E	۷/۲۰±۱/۰۹*¥	۸/۰۵±۰/۸۶
دیازینون- ویتامین C	۶/۹۴±۱/۱۰**§	۸/۱۸±۰/۷۳

نتایج بصورت Mean ± SD بیان شد. p<۰/۰۵* و p<۰/۰۱** نسبت به گروه کنترل معنی‌دار است. p<۰/۰۵# نسبت به گروه دیازینون معنی‌دار است. p<۰/۰۵¥ نسبت به گروه E معنی‌دار است. p<۰/۰۵§ نسبت به گروه C معنی‌دار است. GSH: گلوتاتیون و MDA: مالون‌دی‌الدئید.

نتایج حاصل از اثر دیازینون و ویتامین‌های C و E به تنهایی و در ترکیب با هم بر غلظت‌های GSH و MDA مغز در جدول ۲ نشان می‌دهد که دیازینون باعث کاهش معنی‌دار غلظت GSH (p<۰/۰۱) و افزایش معنی‌دار غلظت MDA (p<۰/۰۱) و همچنین ترکیب دیازینون با ویتامین‌های E و C باعث کاهش غلظت GSH در گروه دیازینون- ویتامین E (p<۰/۰۵) و در گروه دیازینون- ویتامین C (p<۰/۰۱) در مقایسه با گروه کنترل می‌شود. کاهش غلظت MDA و افزایش غلظت GSH در گروه‌های دیازینون- ویتامین E و دیازینون- ویتامین C در مقایسه با گروه دیازینون معنی‌دار نبود.

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که دیازینون با افزایش عملکرد آنزیم‌های SOD و GST و غلظت MDA و کاهش عملکرد آنزیم‌های CAT و LDH و غلظت گلوتاتیون باعث القاء استرس اکسیداتیو در مغز می‌شود. تجویز ویتامین‌های E و C از این تغییرات تاحدی جلوگیری می‌کند. بافت مغز به دلایل بیوشیمیایی، فیزیولوژی و آناتومی خاص در مقابل آسیب‌های اکسیداتیو آسیب‌پذیر است. این بافت ۲۰ درصد اکسیژنی که در بدن تولید می‌شود، مصرف می‌کند و میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان آن پایین است (۲۲-۲۱).

SOD اولین خط دفاعی سلول در برابر رادیکال‌های آزاد اکسیژن است و آنیون‌های سوپراکسید را به H_2O_2 و O_2 تبدیل می‌کند. آنزیم کاتالاز با میل ترکیبی بالا با H_2O_2 واکنش می‌دهد و باعث خنثی شدن آن و تبدیل آن به آب و اکسیژن مولکولی می‌شود (٦). در این مطالعه تجویز دیازینون سبب افزایش قابل توجهی در عملکرد آنزیم SOD و کاهش عملکرد آنزیم CAT در مغز موش صحرایی می‌شود. افزایش عملکرد SOD بیانگر فعال شدن سیستم دفاعی آنزیمی سلول برای خنثی نمودن رادیکال‌های آزاد تولید شده است. افزایش عملکرد SOD باعث کاهش رادیکال‌های سوپراکسید و افزایش میزان H_2O_2 شده و کاهش عملکرد آنزیم CAT منجر به افزایش غلظت H_2O_2 در بافت مغز شده که در نهایت ممکن است موجب آسیب بافتی شود. مطالعات نشان داده‌اند که تجویز دیازینون، مالاتیون، پاراکسون و دیمتوات موجب افزایش عملکرد آنزیم‌های SOD و CAT در بافت‌های مختلف در موش صحرایی و ماهی می‌شود (۵، ۱٤،۲۳و۲٤)، در حالی که مطالعات دیگر کاهش عملکرد آنزیم‌های SOD و CAT را در بافت‌های مختلف نشان می‌دهند(۸و۲۵)). این اختلاف در مطالعات ناشی از نوع، نژاد و گونه حیوان، نوع سم و بافت، مسیر تجویز ماده سمی و دوز و زمان تیمار می‌باشد. در این مطالعه تجویز ویتامین‌های E و C تا حدی سبب کاهش عملکرد آنزیم SOD و افزایش عملکرد آنزیم CAT در مغز در مقایسه با گروه دیازینون می‌گردد که احتمالاً مربوط به توانایی آنها در حذف مستقیم رادیکال‌های آزاد می‌باشد(۱۰و۱٤). سلول‌های مغز با جذب α - توکوفرول می‌توانند در مقابل واکنش‌های اکسیداتیو مقاومت کنند(۲۲). نتایج این تحقیق موافق نتایج مطالعاتی است که نشان می‌دهند که ویتامین‌های E و C باعث کاهش سمیت ارگانوفسفره‌هایی

Downloaded from journal.gums.ac.ir at 4:07 IRDT on Thursday May 24th 2018

مانند دیازینون، میتل پاراتیون، مالاتیون و کلروپیریفوس در بافت‌های مختلف موشها می‌شود(۱۰،۱٤و۲٦).

نتایج مطالعه ما نشان می‌دهد که دیازینون سبب افزایش عملکرد GST در مغز موش صحرایی شده و تجویز ویتامین‌های E و C سبب کاهش عملکرد این آنزیم در مقایسه با گروه دیازینون می‌شود. GST یکی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کمکی است که گلوتاتیون را به مواد سمی باند کرده و آنها را به موادی با سمیت کمتر تبدیل می‌کند. بنابراین افزایش عملکرد GST با افزایش مصرف GSH همراه است (۱۷و٦). افزایش GST در اثر تزریق دیازینون نشان دهنده افزایش دفاع بدن در مقابل این سم و دفع زودتر آن است. مطالعات دیگر نشان می‌دهند که بدنبال تجویز برخی از ارگانوفسفره‌ها، عملکرد GST بدون تغییر(۲۷) یا افزایش (۲۳،۵و۲۸) و یا کاهش(۱۰) را نشان می‌دهد. معمولاً دوزهای کم سموم منجر به افزایش و دوزهای بالای آن باعث مهار عملکرد آنزیم‌ها می‌گردند. همچنین چندین بررسی نشان می‌دهند که تجویز ویتامین‌های E و C از تغییرات عملکرد GST ناشی از ارگانوفسفره‌ها در بافت‌های مختلف جلوگیری می‌کند(۲٤و۱۱).

LDH یک آنزیم سیتوپلاسمی می‌باشد که جهت بررسی آسیب سلولی و به عنوان بیومارکر جهت بررسی سمیت یک ماده شیمیایی و لیز سلولی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۲۳). در این مطالعه دیازینون سبب کاهش عملکرد LDH مغز شده و عملکرد این آنزیم بعد از تجویز ویتامین‌های C و E در مقایسه با گروه دیازینون افزایش می‌یابد. کاهش عملکرد این آنزیم احتمالاً ناشی از افزایش آسیب بافتی و تراوش آن به داخل سرم می‌باشد (۲۹). استفاده از ویتامین‌های C و E به سبب احیاء رادیکال‌های آزاد ناشی از تجویز دیازینون و در نتیجه جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء و مانع از آزادشدن آنزیم LDH می‌شود. مطالعات نشان می‌دهد که عملکرد LDH در بافت‌های طحال، مغز، قلب، کبد و کلیه بعد از تجویز دیازینون و پاراکسون کاهش می‌یابد (۲۳و۲۸). ولی مطالعات دیگر، افزایش فعالیت LDH را در کبد، پانکراس، مغز و قلب پس از تجویز دیازینون نشان می‌دهد(۲۵،۳۱و۳۰)، همچنین مطالعات دیگر نشان می‌دهد که تجویز کلروپیرفوس (Chlorpyrifos) و دی‌کلرووس (Dichlorvos) باعث افزایش عملکرد LDH و ایجاد استرس اکسیداتیو در بافت‌های مختلف موش صحرایی می‌گردد و تجویز ویتامین‌های C و E باعث بهبود عملکرد این آنزیم‌ها می‌شود(۳۳و۳۲). یک مطالعه نشان داد که تجویز دیازینون برای ۱٤روز باعث افزایش عملکرد LDH کبد شده و تجویز ترکیبی با ویتامین‌های A, C و E کاهش عملکرد آنزیم را بدنبال دارد (۳٤).

گلوتاتیون از مهم‌ترین آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی است که می‌تواند بطور مستقیم ROS ها را پاکسازی کند. همچنین GSH به عنوان کوفاکتور برای آنزیم‌های گلوتاتیون پراکسید از و GST عمل می‌کند(۲۳و۳۵). در این مطالعه تجویز دیازینون سبب کاهش غلظت گلوتاتیون در مغز موش صحرایی می‌شود. کاهش غلظت گلوتاتیون بافت مغز تا حد زیادی در اثر ویتامین‌های E و C جبران می‌شود. از آنجا که عملکرد GST نیز در بافت مغز در اثر دیازینون افزایش پیدا کرده است، کاهش گلوتاتیون این بافت می‌تواند ناشی از افزایش عملکرد آنزیم GST و مصرف آن به عنوان سوبسترا توسط این آنزیم و هم مربوط به عملکرد مستقیم آن جهت حذف رادیکال‌های آزاد باشد. با توجه به نقش ویتامین‌های E و C جهت حذف رادیکال‌های آزاد، کاهش عملکرد GST و مصرف گلوتاتیون را بدنبال دارد مطالعات دیگر نشان می‌دهد که تجویز خوراکی دیازینون موجب کاهش گلوتاتیون کبد، کلیه و قلب می‌گردد(۸،۳۰و۳٦). چندین مطالعه نشان دادند که تجویز ارگانوفسفره‌های مختلف باعث کاهش گلوتاتیون در بافت‌های مختلف و تجویز ویتامین‌های A, E و C باعث بهبود آن شود(۲٦، ۳۰و۳۷).

MDA به عنوان مارکر استرس اکسیداتیو، آخرین محصول تجزیه لیپیدها است. افزایش سطح MDA نشان دهنده افزایش پراکسیداسیون لیپیدها و آسیب غشاء سلولی است(۳۸). در مطالعه ما غلظت MDA در مغز بعد از تجویز دیازینون افزایش می‌یابد که ناشی از تولید رادیکال‌های آزاد توسط دیازینون و افزایش پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء می‌باشد. طبق این مطالعه استفاده از ویتامین‌های E و C سبب کاهش غلظت MDA در مغز موش صحرایی می‌شود و آن را به سطح کنترل نزدیک می‌کند. این کاهش غلظت MDA می‌تواند

مربوط به قابلیت ویتامین‌های E و C در حذف مستقیم رادیکال‌های آزاد و مهار پراکسیداسیون لیپیدها توسط رادیکال‌های آزاد باشد. مطالعات نشان می‌دهند که تجویز خوراکی دیازینون موجب افزایش پراکسیداسیون لیپیدها در بافت‌های مختلف می‌شود(۸،۲۵و۳۹). چندین مطالعه نشان دادندکه تجویز ارگانوفسفره‌های مختلف نظیر دیازینون، کلروپیریفوس و دیمتوات(Dimethoate) باعث افزایش غلظت MDA شده و تجویز ویتامین‌های E و C باعث کاهش غلظت آن می‌شود(۱۰،۱۲و۱٤).

نتیجه‌گیری

دیازینون با تولید رادیکال‌های آزاد و تغییر عملکرد آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و افزایش پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء و کاهش غلظت گلوتاتیون باعث القاء استرس اکسیداتیو در بافت مغز می‌شود. ویتامین‌های E و C به عنوان آنتی‌اکسیدان از طریق پاکسازی رادیکال‌های آزاد تا حدی باعث کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از دیازینون می‌شود.

سپاسگزاری و سپاسداری

نویسندگان لازم است از جواد رسولی، حسین مهدوی‌نسب و فاطمه سالم جهت یاری در مراحل اولیه مطالعه تشکر نمایند. این طرح تحقیقاتی با حمایت مالی مرکز تحقیقات شیمیایی دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا... انجام شده‌است که بدین وسیله از کلیه مسوولین مرکز مربوطه تشکر و قدردانی می‌شود. در ضمن نویسندگان اذعان دارند که تضاد منافع در این مقاله وجود ندارد.

منابع

1. Bhatti GK, Sidhu IPS, Saini NK, Puar SK, Singh G, Bhatti JS. Ameliorative role of melatonin against cypermethrin induced hepatotoxicity and impaired antioxidant defense system in Wistar rats. IOSR Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology (IOSR-JESTFT) 2014; 8: 39-48.
2. Yassa VF, Girgis SM, Abumourad IMK. Potential protective effects of vitamin E on diazinon-induced DNA damage and some haematological and biochemical alterations in rats. Journal of Mediterranean Ecology 2011; 11: 31-39.
3. Baconi DL, Barca M, Manda G, Ciobanu AM, Balalu C. Investigation of the toxicity of some organophosphorus pesticides in a repeated dose study in rats. Rom J MorpholEmbryol. 2013; 54: 349-56.
4. Saraei F, Sadoughi M, Kaka G, Sadraie SH, Foaddodini M. Study of the Effects of Diazinon on Fetal Liver in BALB/c Mice. Iran Red Crescent Med J. 2016; 18 (4): e28076.
5. Oruc E. Effects of diazinon on antioxidant defense system and lipid peroxidation in the liver of Cyprinus carpio (L.). Environ Toxicol 2010; 26: 571-8.
6. Halliwell B. Free radicals and antioxidants: Updating a personal view. Nutr Rev 2012; 70: 257-265.
7. Rafieian-Kopaei M, Baradaran A, Rafieian M. Oxidative stress and the paradoxical effects of antioxidants. J Res Med Sci 2013; 18: 629.
8. Shah MD, Iqbal M. Diazinon-induced oxidative stress and renal dysfunction in rats. Food ChemToxicol 2010; 48: 3345–53.
9. Salehi M, Jafari M, Asgari A, Ahmadi S. The role of paraoxon toxicity on oxidative stress induction in rat heart and spleen. ZJMS 2013; 21: 13-23 [Text in Persian]
10. Uzun FG, Kalender Y. Protective effect of vitamins C and E on malathion-induced nephrotoxicity in male rats. GU J Sci 2011; 24: 193–201.
11. Elzoghby RR, Hamuoda AF, Abdel-Fatah A, Farouk M. Protective role of vitamin C and green tea extract on malathion-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity in rats. Am J Pharmacol Toxicol. 2014; 9(3): 177-88.
12. Abedini MS, Jafari M, Mirzadeh SM, Salam F. The effect of N-acetyl cysteine and vitamins E and C on diazinon-induced oxidative stress in rat erythrocytes. Daneshvar Medicine 2016; 23 (122):53-62 . [Text in Persian]
13. Abdel-Monem UM, Qar H, Attwa RA. Detoxification of dietary diazinon by clay, vitamin C and vitamin E in rabbits. World Appl Sci J 2012; 19 (1): 144-52.
14. Yilmaz N, Yilmaz M, Altuntas I. Diazinon-induced brain toxicity and protection by vitamins E plus C. ToxicolInd Health 2012; 28: 51-7.
15. Winterbourn C, Hawkins R, Brian M, Carrell R. The estimation of red cell superoxide dismutase activity. J Lab Clin Med 1975; 85: 337.
16. Aebi H. Catalase in vitro. Methods Enzymol 1984; 105: 121-6.
17. Habig WH, Jakoby WB. Glutathion S-transferases (rat and human).Methods Enzymol 1981; 77: 218-31.
18. Satoh K. Serum lipid peroxide in cerebrovascular disorders determined by a new colorimetric method. Clin Chim Acta.1978; 90: 37-43.
19. 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.
20. 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.

Downloaded from journal.gums.ac.ir at 4:07 IRDT on Thursday May 24th 2018

Downloaded from journal.gums.ac.ir at 4:07 IRDT on Thursday May 24th 2018

21. Salehi M, Jafari M, Asghari A, Saleh Moqadam M, Salimian M, Abbasnejad M, et al. Study of diazinon effect on antioxidant enzymes and lipid peroxidation in rat's brain. RJMS 2010; 17 (70): 15-23. [Text in persian]
22. Vatassery GT, Angerhofer CK, Know CA, Deshmukho S. Concentrations of vitamin E in various neuroanatomical regions and subcellular fraction and the uptake of vitamin E by specific areas of rat brain. Biochim Biophys Acta, 1984; 792: 118-122.
23. Jafari M, Salehi M, Asgari A, Ahmadi S, Abbasnezhad M, Hajihoosani R, Hajigholamali M. Effects of paraoxon on serum biochemical parameters and oxidative stress induction in various tissues of Wistar and Norway rats. Environ Toxicol Pharmacol 2012; 3 4: 876–887.
24. John S, Kale M, Rathore N, Bhatnagar D. Protective effect of vitamin E in dimethoate and malathion inducedoxidative stress in rat erythrocytes.J Nut Biochem 2001; 12: 500-4.
25. Abdou HM, El Mzoudy RH. Oxidative damage, hyperlipidemia and histological alterations of cardiac and skeletal muscles induced by different doses of diazinon in female rats.J Hazard Mater 2010; 182: 273–8.
26. Salehi M, Jafari M, Asgari A. Response of liver antioxidant defense system to vitamins E and C against diazinon toxicity in rat. J Sabzevar Univ Med Sci. 2015; 21(6): 1081-9. [Text in Persian]
27. Astiz M, de Alaniz MJT, Marra CA. Antioxidant defense system in rats simultaneously intoxicated with Agrochemicals. Environ Toxicol Pharmacol 2009; 28: 465–73.
28. Jafari M, Salehi M, Ahmadi S, Asgari A, Abasnezhad M, Hajigholamali M. The role of oxidative stress in diazinon-induced tissues toxicity in Wistar and Norway rats. Toxicol Mech Methods 2012; 22: 638-47.
29. Salehi M, Jafari M, Saleh-Moqadam M, Asgari A. The comparison of the effect of diazinon and paraoxon on biomarkers of oxidative stress in rat serum. Zahedan J Res Med Sci 2012; 14: 18-23.
30. El-Shenawy NS, El-Salmy F, Al-Eisa RA, El-Ahmary B. Amelioratory effect of vitamin E on organophosphorus insecticide diazinon-induced oxidative stress in mice liver. Pest Biochem Physiol 2010; 96: 101–7.
31. Gokalp O, Buyukvanl B, Cicek E, Ozer MK, Koyu A, Altuntas I, et al. The effects of diazinon on pancreatic damage and ameliorating role of vitamin E and vitamin C. Pest Biochem Physiol 2005; 81: 123–8.
32. Oral B, Guney M, Demirin H, Ozguner M, Giray SG, Take G, et al. Endometrial damage and apoptosis in rats induced by dichlorvos and ameliorating effect of antioxidant Vitamins E and C. Reprod Toxicol 2006; 22: 783–90.
33. 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. Pest Biochem Physiol 2006; 86: 93–8.
34. Shokrzadeh M, Shobi S, Attar H, Shayegan S, Payam SS, Ghorbani F. Effect of vitamin A, E and C on liver enzyme activity in rats exposed to organophosphate pesticide diazinon. Pak J Biol Sci. 2012; 15: 936-41.
35. Meister A. Glutathione metabolism. Methods Enzymol 1995; 251: 3–7.
36. Ahmadi S, Jafari M, Asgari A, Salehi M. Acute effect of diazinon on lipid peroxidation level and activities of antioxidant enzymes in rat spleen. Journal of Kermanshah University of Medical Sciences. 2012; 16: 1-9.
37. Sargazi Z, Nikravesh MR, Jalali M, Sadeghnia HR, Rahimi F, Anbarkeh 1, Leila Mohammadzadeh. Diazinon-Induced Ovarian Toxicity and Protection by Vitamins E. Iranian Journal of Toxicology 2014; 8(26): 1130-1135.
38. Valavanidis A, Vlahogianni T, Dassenakis M, Scoullos M. Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants. Ecotox Environ Safety. 2006; 64: 178–89.
39. Leong CT, D'Souza UJ, Iqbal M, Mustapha ZA. Lipid peroxidation and decline in antioxidant status as one of the toxicity measures of diazinon in the testis. Redox Rep. 2013; 18: 155-64.

Modulation of Diazinon-Induced Oxidative Stress by Vitamins E and C in rat Brain

Tahmasebi K (MSc)[1]- *Jafari M (PhD)[2]- Salehi M (PhD)[3]

***Corresponding Address:** Professor in Biochemistry, Chemical Injuries Research Center, Baqiyatallah (a.s) University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Email: m.jafari145@gmail.com

Received: 23/Oct/2016 Revised: 22/Jan/2016 Accepted: 12/Feb/2017

Downloaded from journal.gums.ac.ir at 4:07 IRDT on Thursday May 24th 2018

Abstract

Introduction: Dazinon (DZN) as organophosphate insecticide induces oxidative stress. Vitamins E and C are antioxidants protecting cells from oxidative stress.

Objective: To determine the modulation of diazinon-induced oxidative stress by vitamins E and C in rat brain.

Materials and Methods: In present experimental study, male Wistar rats were randomly divided into six groups including: control (corn oil as DZN solvent), DZN (100 mg/kg), vitamin E (150 mg/kg), vitamin C (200 mg/kg), vitamin E+DZN and vitamin C+DZN groups, all of which were given intraperitoneally. 24 hours after injection, animals were anesthetized by ether, and brain tissue was quickly removed. After tissues hemogenation, superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione S-transferase (GST) and lactate dehydrogenase (LDH) activities, as well as glutathione (GSH) and malondialdehyde (MDA) levels were determined by biochemical methods.

Results: DZN increased SOD ($p<0.001$) and GST ($p<0.01$) activities and MDA level ($p<0.01$), while it decreased CAT and LDH activities and GSH content ($p<0.01$) in brain compared with the control group. Administration of vitamin E or vitamin C inhibited the changed in these parameters.

Discussion: Administration of vitamin E or vitamin C as antioxidant decreases DZN toxicity by scavenging free radicals but it does not protect completely

.

Conflict of interest: none declared

Key word: Brain \ Diazinon \Oxidative Stress \Rats \ Vitamin C \Vitamin E, Brain, Rat

_____Journal of Guilan University of Medical Sciences, No: 101, Pages: 66-73

Please cite this article as: Tahmasebi K, Jafari M, Salehi M. Modulation of diazinon-induced oxidative stress by vitamins E and C in rat brain. J of Guilan Univ of Med Sci 2017; 26(101):66-73. [Text in Persian]

1. MSc, Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Baqiyatallah (a.s) University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
2. Professor in Biochemistry, Chemical Injuries Research Center, Baqiyatallah (a.s) University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
3. PhD student, Neurosciences Research Center, Baqiyatallah (a.s) University of Medical Sciences, Tehran, Iran.