

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

کاووس طهماسبی (MSc)<sup>۱</sup> - دکترمهوش جعفری (PhD)<sup>۲</sup> - دکترمریم صالحی (PhD)<sup>۳</sup>

\*نویسنده مسئول: استاد بیوشیمی، مرکز تحقیقات آسیب‌های شیمیایی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه... (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 آنتی‌اکسیدان‌های بالقوه، سلول‌ها را از استرس اکسیداتیو محافظت می‌کنند.

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

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه تجربی، موش‌های صحرائی نر نژاد ویستار به طور تصادفی به ۶ 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. ۲۴ ساعت بعد از تزریق، موش‌ها توسط اتر بیهوش و بافت مغز سرعت جدا شد. پس از هموژنه بافت‌ها، عملکرد آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT)، گلوتاتیون S-ترانسفراز (GST) و لاکتات دهیدروژناز (LDH) و غلظت گلوتاتیون (GSH) و مالون دی‌آلدنید (MDA) توسط روش‌های بیوشیمیایی تعیین شد.

**نتایج:** دیازینون سبب افزایش عملکرد آنزیم‌های SOD ( $p < 0.001$ )، GST ( $p < 0.01$ )، غلظت MDA ( $p < 0.01$ )، کاهش عملکرد آنزیم‌های CAT، LDH و غلظت GSH ( $p < 0.01$ ) در مغز شد. تجویز ویتامین E یا C مانع تغییر این متغیرها شد.

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

**کلید واژه‌ها:** استرس اکسیداتیو/دیازینون / مغز / موش‌های صحرائی / ویتامین‌های C / ویتامین‌های E

مجله دانشگاه علوم پزشکی گیلان، دوره بیست و شش، شماره ۱۰۱، صفحات: ۷۳-۶۶

## مقدمه

حدود صد هزار مسمومیت در هر سال در دنیا است. در ایران این ترکیبات یکی از علل مرگ و میر ناشی از مسمومیت هستند (۴-۱). 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 استیل‌کولین استراز می‌باشد (۵-۴).

ارگانوفسفره‌ها علاوه بر مهار آنزیم استیل‌کولین استراز می‌توانند باعث ایجاد رادیکال‌های آزاد شوند (۲ و ۴). آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مهم مانند سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز

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 سفریله نمودن اسید آمینه سرین موجود در جایگاه فعال آنزیم کولین استراز، اتصالاتی محکم و غیرقابل برگشت با آنزیم ایجاد نموده و آنرا مهار و باعث افزایش سطح استیل‌کولین و اختلالات کلینریژیک می‌شود. مسمومیت با این مواد یکی از مشکلات بهداشت جهانی است که مسئول

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

۲- استاد بیوشیمی، مرکز تحقیقات آسیب‌های شیمیایی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه... (عج)، تهران

۳- دانشجوی دکتری علوم اعصاب، مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی بقیه... (عج)، تهران

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 (۱۴-۱۰). 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 (۱۴). 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 ۴۰۰ mg/ml در روغن ذرت و ویتامین E با غلظت ۶۰۰ mg/ml در روغن ذرت و ویتامین C با غلظت ۲۰۰ mg/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 ۲۲±۲ درجه سانتی‌گراد در محل نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی بقیه ... 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 ... (عج) بود، هنگام کار با موش‌های آزمایشگاهی رعایت شد.

حیوانات به روش تصادفی به ۶ گروه (در هر گروه ۶ سر) تقسیم شدند: گروه کنترل که روغن ذرت را به عنوان حلال دیازینون، گروه DZN که ۱۰۰ mg/kg دیازینون (۱۴)، 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

(CAT) و گلوکاتایون-S-ترانسفراز (GST) از آنزیم‌های کلیدی جهت سم‌زدایی رادیکال‌های آزاد به شمار می‌روند. گلوکاتایون (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 (۶-۷). مطالعات مختلف نشان می‌دهند که دیازینون از طریق ایجاد رادیکال‌های آزاد باعث تغییر عملکرد آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، کاهش غلظت گلوکاتایون 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 (۵، ۸).

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 (آسکوربیک اسید) 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 (۹-۱۰). 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 (۹-۱۳).

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

3.3 بصورت آنالیز واریانس یک طرفه به همراه تست توکی انجام شد.  $p < 0.05$  مرز معنی‌دار بودن اطلاعات در نظر گرفته شد و نتایج بصورت  $Mean \pm SD$  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 ( $p < 0.001$ ) و GST ( $p < 0.01$ ) و کاهش عملکرد آنزیم‌های LDH و CAT ( $p < 0.01$ ) در مقایسه با گروه کنترل می‌شود ( $p < 0.01$ ). همچنین تجویز دیازینون همراه ویتامین‌های E و C باعث افزایش معنی‌دار عملکرد آنزیم‌های SOD و GST در گروه دیازینون- ویتامین E ( $p < 0.05$ ) و در گروه دیازینون- ویتامین C ( $p < 0.01$ ) و کاهش ( $p < 0.05$  به ترتیب) در مقایسه با گروه کنترل می‌گردد. کاهش عملکرد آنزیم‌های SOD در گروه‌های دیازینون- ویتامین E در مقایسه با گروه دیازینون معنی‌دار است ( $p < 0.01$ ). تغییر سایر عملکرد آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گروه‌های دیازینون- ویتامین E و دیازینون- ویتامین C در مقایسه با گروه دیازینون معنی‌دار نیست.

۲۰۰ ویتامین C و گروه DZN+E که  $100 \text{ mg/kg}$  دیازینون و  $150 \text{ mg/kg}$  ویتامین E را به صورت تزریق داخل صفاقی دریافت کردند. 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، به نیتروژن مایع انتقال داده شد و سپس در دمای  $-70^\circ\text{C}$  تا زمان انجام آزمایش نگهداری شد. در روز آزمایش بافت‌ها به دقت وزن و با نسبت ۱ به ۱۰ در بافر فسفات سالین همورژنه و به مدت ۱۵ دقیقه با دور  $16000 \text{ g}$  در  $4^\circ\text{C}$  سانتریفوژ شد. از مایع رویی جهت سنجش شاخص‌های مورد نظر استفاده شد.

عملکرد آنزیم SOD به روش Winterbourn سنجیده شد (۱۶). 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

جدول ۱: عملکرد آنزیم‌های SOD، CAT، GST و LDH در گروه‌های مختلف در بافت مغز موش صحرایی بعد از ۲۴ 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  $Mean \pm SD$  بیان شد.  $p < 0.05$ ،  $p < 0.01$  و  $p < 0.001$  نسبت به گروه کنترل معنی‌دار است.  $p < 0.05$  نسبت به گروه دیازینون معنی‌دار است.  $p < 0.05$  نسبت به گروه E معنی‌دار است.  $p < 0.05$  نسبت به گروه C معنی‌دار است. SOD، سوپراکسیددیسموتاز، CAT: کاتالاز، GST: S-گلوتاتیون ترانسفراز و LDH: لاکتات دهیدروژناز.

جدول ۲: غلظت‌های GSH و MDA در گروه‌های مختلف در بافت مغز موش صحرایی بعد از ۲۴ ساعت

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

نتایج بصورت Mean ± SD بیان شد.  $p < 0.05$  و  $p < 0.01$  \* نسبت به گروه کنترل معنی دار است.  $p < 0.05$  # نسبت به گروه دیازینون معنی دار است.  $p < 0.05$  ‡ نسبت به گروه E معنی دار است.  $p < 0.05$  § نسبت به گروه C معنی دار است. GSH، گلوپروتئین و MDA: مالون‌دی‌الدئید.

مولکولی می‌شود (۶). 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، مالانئون، پاراکسون و دیمتوات موجب افزایش عملکرد آنزیم‌های SOD و CAT در بافت‌های مختلف در موش صحرایی و ماهی می‌شود (۵، ۱۴، ۲۳ و ۲۴)، در حالی که مطالعات دیگر کاهش عملکرد آنزیم‌های SOD و CAT را در بافت‌های مختلف نشان می‌دهند (۸ و ۲۵). 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 (۱۰ و ۱۴). سلول‌های مغز با جذب  $\alpha$  - 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

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 ( $p < 0.01$ ) و افزایش معنی‌دار غلظت MDA ( $p < 0.01$ ) و همچنین ترکیب دیازینون با ویتامین‌های E و C باعث کاهش غلظت GSH در گروه دیازینون- ویتامین E ( $p < 0.05$ ) و در گروه دیازینون- ویتامین C ( $p < 0.01$ ) 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 گلوپروتئین 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 (۲۱-۲۲). 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

مانند دیازینون، میتل پاراتیون، مالاتیون و کلروپیریفوس در بافت‌های مختلف موشها می‌شود (۱۰، ۱۴ و ۲۶).

نتایج مطالعه ما نشان می‌دهد که دیازینون سبب افزایش عملکرد GST در مغز موش صحرائی شده و تجویز ویتامین‌های E و C با گروه دیازینون می‌شود. GST یکی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کمکی است که گلوکوتایون 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 (۱۷ و ۶). 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، ۲۸ و ۵) 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 (۲۴ و ۱۱).

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 E و C 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 E و C به سبب احیاء رادیکال‌های آزاد ناشی از تجویز دیازینون و در نتیجه جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء و مانع از آزاد شدن 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 (۲۳ و ۲۸). ولی مطالعات دیگر، افزایش فعالیت LDH را در کبد، پانکراس، مغز و قلب پس از تجویز دیازینون نشان می‌دهد (۲۵، ۳۱ و ۳۰)، همچنین مطالعات دیگر نشان می‌دهد که تجویز کلروپیریفوس

دی‌کلرووس (Dichlorvos) و دی‌کلروپیریفوس (Chlorpyrifos) باعث افزایش عملکرد LDH و ایجاد استرس اکسیداتیو در بافت‌های مختلف موش صحرائی می‌گردد و تجویز ویتامین‌های E و C باعث بهبود عملکرد این آنزیم‌ها می‌شود (۳۳ و ۳۲). یک مطالعه نشان داد که تجویز دیازینون برای ۴ روز باعث افزایش عملکرد LDH کبد شده و تجویز ترکیبی با ویتامین‌های A, C و E کاهش عملکرد آنزیم را بدنبال دارد (۳۴). گلوکوتایون از مهم‌ترین آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی است که می‌تواند بطور مستقیم ROS‌ها را پاکسازی کند. همچنین GSH به عنوان کوفاکتور برای آنزیم‌های گلوکوتایون پراکسیداز و GST عمل می‌کند (۲۳ و ۳۵). در این مطالعه تجویز دیازینون سبب کاهش غلظت گلوکوتایون در مغز موش صحرائی می‌شود. کاهش غلظت گلوکوتایون 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 گلوکوتایون این بافت می‌تواند ناشی از افزایش عملکرد آنزیم GST و مصرف آن به عنوان سوستر تا 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 گلوکوتایون را بدنبال دارد مطالعات دیگر نشان می‌دهد که تجویز خوراکی دیازینون موجب کاهش گلوکوتایون کبد، کلیه و قلب می‌گردد (۳۰، ۳۱ و ۳۶). چندین مطالعه نشان دادند که تجویز ارگانوفسفره‌های مختلف باعث کاهش گلوکوتایون در بافت‌های مختلف و تجویز ویتامین‌های A, E و C باعث بهبود آن شود (۲۶، ۳۰ و ۳۷).

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 صحرائی می‌شود و آن را به سطح کنترل نزدیک می‌کند. این کاهش غلظت MDA می‌تواند

غلظت گلوکوتایون 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 ... 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.

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 Chem Toxicol* 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

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 (۲۵۸ و ۳۹). چندین مطالعه نشان دادند که 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 (۱۴ و ۱۲، ۱۰).

### نتیجه گیری

دیازینون با تولید رادیکال‌های آزاد و تغییر عملکرد آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و افزایش پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء و کاهش

### منابع

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.

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, Hajihosani 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 induced oxidative 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, Abbasnezhad 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, Scoullou 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)<sup>1</sup>- \*Jafari M (PhD)<sup>2</sup>- Salehi M (PhD)<sup>3</sup>

\*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

---

## 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.