Journal of Ardabil University of Medical Sciences

Vol.15, No.2, Summer 2015, Pages 116- 127

Study of the Protective Effect of N-Acetyl Cysteine against Acute Diazinon-Induced Oxidative Stress in Rat Brain and Heart

Tahmasebi K[1], Jafari M*[2], Izadi F[3]

1. Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Baqiyatallah (a.s) University of Medical Sciences, Tehran, Iran
2. Chemical Injuries Research Center, Baqiyatallah (a.s) University of Medical Sciences, Tehran, Iran
3. Department of Biology, Faculty of Biology, Islamic Azad University, Tehran, Iran
**** Corresponding Author***. Tel: +982122289942-82725 Fax: +982126127281 E-mail: m.jafari145@gmail.com

Received: Dec 15, 2014 Accepted: May 23, 2015

ABSTRACT

Background & objectives: Diazinon (DZN) as an organophosphate pesticide widely used in agriculture is associated with reducing the antioxidant capacity of the cell. Use of thiol compounds such as N-acetyl cysteine (NAC) as an antioxidant decreases oxidative stress in the cells. The aim of this study was to investigate the effect of NAC as an antioxidant against DZN- induced oxidative stress in rat brain and heart.

Methods: In present experimental study, male Wistar rats were randomly divided into four groups including: control group (corn oil as DZN solvent), DZN group (100 mg/kg), NAC group (160 mg/kg), and NAC+DZN, all of which were given intraperitoneally. 24 hours after injection, animals were anesthetized by ether, and the brain and heart tissues were 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 and GST activities and MDA level and decreased LDH activity and GSH content in brain and heart. Also, DZN increased CAT activity in the heart and increased it in the brain. Administration of NAC inhibited the change in these parameters.

Conclusion: DZN through free radical production leads to enhanced membrane lipid peroxidation, depleted GSH content and oxidative stress induction in the brain and the heart. Administration of NAC as antioxidant decreases the DZN-induced oxidative stress by scavenging free radicals and GSH synthesis, but its protection is not complete.

Keywords: Diazinon, N-acetyl Cysteine, Oxidative Stress, Brain, Heart, Rat.

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2024-07-03]

بررسی اثر محافظتی N– استیل سیستئین در استرس اکسیداتیو القا شده ناشی از مواجهه حاد دیازینون در مغز و قلب موش صحرایی

کاووس طهماسبی[۱]، مهوش جعفری[۲*]، فریده ایزدی[۳]

۱. گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌ا... (عج)، تهران، ایران
۲. مرکز تحقیقات آسیب‌های شیمیایی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌ا... (عج)، تهران، ایران
۳. گروه بیولوژی، دانشکده بیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
*نویسنده مسئول. تلفن: ۸۲۷۲۵- ۲۲۲۸۹۹۴۲ ۰۲۱ فاکس: ۲۶۱۲۷۲۸۱ ۰۲۱ پست الکترونیک: m.jafari145@gmail.com

چکیده

زمینه و هدف: دیازینون به عنوان یک ارگانوفسفره به طور وسیع در کشاورزی استفاده می‌شود که با کاهش توانایی آنتی اکسیدانی سلول همراه است. استفاده از ترکیبات تیول‌دار مانند N- استیل سیستئین (NAC) به عنوان آنتی اکسیدان می‌تواند باعث کاهش استرس اکسیداتیو سلولی گردد. بنابراین در این مطالعه اثر NAC در کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از دیازینون در مغز و قلب موش صحرایی مورد بررسی قرار گرفت.

روش کار: در این مطالعه تجربی، موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار به طور تصادفی به ٤ گروه تقسیم شدند: گروه کنترل، گروه دیازینون (۱۰۰ mg/kg)، گروه NAC (۱۶۰ mg/kg)، گروه دیازینون- NAC که دیازینون و NAC را به صورت تزریق داخل صفاقی دریافت کردند. بعد از ٢٤ ساعت، موش‌ها توسط اتر بیهوش و بافت‌های مغز و قلب به سرعت جدا شد. پس از هموژنه‌کردن بافت‌ها، فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT)، گلوتاتیون S- ترانسفراز (GST) و لاکتات دهیدروژناز (LDH) و غلظت‌های گلوتاتیون (GSH) و مالون دی آلدئید (MDA) از طریق روش‌های بیوشیمیایی تعیین شدند.

یافته ها: دیازینون سبب افزایش فعالیت SOD و GST و میزان MDA و کاهش فعالیت LDH و میزان GSH مغز و قلب و همچنین سبب افزایش فعالیت آنزیم CAT در قلب وکاهش فعالیت این آنزیم در مغز می‌گردد. تجویز NAC مانع تغییرات این پارامترها در مغز و قلب می‌شود.

نتیجه گیری: دیازینون با تولید رادیکال‌های آزاد سبب افزایش لیپید پراکسیداسیون غشاء، کاهش غلظت GSH و القاء استرس اکسیداتیو در مغز و قلب می‌شود. تجویز NAC به عنوان آنتی اکسیدان از طریق پاکسازی رادیکال‌های آزاد و افزایش سنتز گلوتاتیون تا حدی باعث کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از دیازینون می‌شود.

واژه‌های کلیدی: دیازینون، N– استیل سیستئین، استرس اکسیداتیو، مغز، قلب، موش صحرایی

دریافت: ۹۳/۹/۲٤ **پذیرش:** ۹٤/۳/۲

مقدمه

سموم ارگانوفسفره نظیر دیازینون به عنوان حشره‌کش در باغات و مزارع کشاورزی مورد استفاده قرار می‌گیرد و همچنین برخی مانند تابون، سارین و سومان جزء عوامل مخرب اعصاب در جنگ شیمیایی استفاده شدند. با توجه به قابلیت تجمع پایین و ماندگاری کوتاه مدت این ترکیبات در محیط زیست، به میزان فراوان مورد استفاده قرار می‌گیرند. مسمومیت با این ترکیبات یکی از مشکلات بهداشت جهانی بوده و در ایران سومین علت مرگ و میر را به خود اختصاص داده است. این ترکیبات با فسفریله نمودن اسید آمینه سرین موجود در جایگاه فعال آنزیم کولین استراز باعث مهار این آنزیم و افزایش سطح استیل کولین و اختلالات کولینرژیک و وقوع تشنج می‌شود [٤-۱]. دیازینون از طریق پوست، دستگاه گوارش و مسیر هوایی (در صورت تبخیر)

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2024-07-03]

جذب شده و عمدتا از راه کلیه دفع می‌شود. این ترکیب در کبد توسط آنزیم‌های میکروزومی اکسید شده و به دیازوکسون تبدیل می‌شود که مهارکننده قوی‌تر برای آنزیم کولین استراز می‌باشد [٤،٥].

مکانیسم عمل دیگر ترکیبات ارگانوفسفره القاءِ تولید رادیکال آزاد و استرس اکسیداتیو است. مطالعات مختلف نشان می‌دهد که بعضی از سموم ارگانوفسفره با افزایش تولید رادیکال‌های آزاد باعث تغییر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نظیر سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) و گلوتاتیون S- ترانسفراز (GST) و کاهش میزان گلوتاتیون (GSH) و افزایش پراکسیداسیون لیپید و در نهایت ایجاد استرس اکسیداتیو و مرگ سلولی می‌شود [۷-٤]. آنتی‌اکسیدان‌ها اجسامی شیمیایی هستند که با دادن یک الکترون به رادیکال‌های آزاد که برای بدن مضر هستند، آنها را به یک مولکول بی‌ضرر تبدیل می‌کنند و بدین ترتیب از تولید رادیکال آزاد جلوگیری می‌کنند و سلول‌های بدن را در مقابل واکنش‌های اکسیداتیو زیان‌آور حفظ می‌کنند. بنابراین استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها جهت کاهش سمیت ارگانوفسفره‌ها مفید است. درمان‌های آنتی‌اکسیدانی شامل ویتامین‌های E و C و یا داروهایی با خاصیت و فعالیت آنتی‌اکسیدانی نظیر N- استیل سیستئین است [۱۰-۸]. N– استیل سیستئین (NAC) به عنوان یک آنتی‌اکسیدان و پیش‌ساز گلوتاتیون می‌تواند به‌طور طبیعی اثرات آسیب‌های داخل سلولی رادیکال‌های آزاد را خنثی کند [۱۱،۱۲]. اثر حفاظتی NAC در کاهش استرس اکسیداتیو القا شده توسط مالاتیون در کبد موش‌های صحرایی در مطالعات in vitro و in vivo نشان داده شده است [۱۳،۱٤]. شادنیا و همکاران اثر حفاظتی NAC را در کاهش استرس اکسیداتیو القاءِ شده توسط دیازینون خوراکی بعد از ٤ هفته نشان دادند [۱۵،۱۶]. پنا- للپس[1] و همکاران نشان دادند که تزریق داخل صفاقی NAC قبل از تجویز دی کلروس به ماهی در زمان‌های مختلف تا ۹۶ ساعت باعث افزایش غلظت GSH و GST می‌شود [۱۷].

اختلاف ساختمانی ارگانوفسفره‌ها می‌تواند روی نحوه عملکرد آنها در بافت‌های مختلف تاثیر بگذرد. همچنین با توجه به اثرات مختلف آنتی‌اکسیدان‌ها بر سمیت این ترکیبات، انجام مطالعات تکمیلی جهت درک دقیق‌تر مکانیسم عمل آنها ضروری می‌نماید. اگرچه چندین مطالعه روی نقش حفاظتی NAC روی کاهش سمیت دیگر ارگانوفسفره‌ها انجام شده است [۱۷-۱۳]، لیکن مطالعات اندکی روی تجویز این آنتی‌اکسیدان و دیازینون بصورت داخل صفاقی بر روی بیومارکرهای استرس اکسیداتیو در بافت‌های مختلف انجام شده است [۱۸]. در ضمن مطالعات انجام شده در دوز سم، روش تزریق، نوع بافت، نوع حیوان و مدت زمان تیمار با هم متفاوت هستند. در مطالعه حاضر نقش NAC در کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از دیازینون در مغز و قلب موش صحرایی با سنجش شاخص‌های استرس اکسیداتیو بررسی شد.

روش کار

این مطالعه یک مطالعه تجربی است. دیازینون از شرکت سوپلکو[2] (آمریکا) با بیشتر از ۹۸٪ خلوص خریداری شد و محلول ذخیره (استوک) با غلظت ٤۰۰mg/ml در روغن ذرت به صورت تازه تهیه گردید. N– استیل سیستئین از شرکت سیگما[3] (آلمان) خریداری و محلول ذخیره با غلظت ۱۶۰mg/ml در آب مقطر به صورت تازه تهیه گردید.

حیوانات

این مطالعه بر روی موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۵۰-۲۰۰ گرم انجام شد.

[1] Pena-Llopis

[2] Supelco

[3] Sigma

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2024-07-03]

موش‌ها در شرایط ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی در دمای ۲±۲۲ درجه سانتی گراد در محل نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌ا... قرار گرفتند. دسترسی حیوانات به آب و غذا آزاد بود.

تیمار حیوانات

حیوانات به طور تصادفی به ٤ گروه (در هر گروه ۶ سر) تقسیم شدند: گروه کنترل که روغن ذرت را به عنوان حلال دیازینون، گروه دیازینون که mg/kg ۱۰۰ دیازینون [۱۹]، گروه NAC که mg/kg ۱۶۰ NAC [۲۰،۱۶] و گروه دیازینون- NAC که به طور هم زمان mg/kg۱۰۰ دیازینون و mg/kg ۱۶۰ NAC را به صورت داخل صفاقی دریافت کردند. ۲٤ ساعت [۲۱،۲۲] بعد از تزریق با بیهوش نمودن حیوانات به وسیله اتر بافت مغز و قلب خارج گردید و بعد از شستشو با سرم فیزیولوژی و خارج‌شدن خون و جدا کردن قسمت‌های زاید، به نیتروژن مایع انتقال داده شد و سپس در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان انجام آزمایش نگهداری شد. در روز آزمایش بافت‌ها به دقت توزین و با نسبت ۱ به ۱۰ در بافر فسفات سالین هموژنه نموده و به مدت ۱۵ دقیقه با دور g۱۶۰۰۰ در °C ٤ سانتریفوژ گردید. از مایع رویی جهت سنجش شاخص‌های مورد نظر استفاده شد.

سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز

فعالیت این آنزیم به روش وینتربورن[1] سنجیده شد [۲۳]. به حجم مناسبی از بافت هموژنه، EDTA۰/۱ مولار در سدیم سیانید ۰/۳ میلی مولار و نیتروبلوتترازولیوم ۱/۵ میلی مولار در یک کووت اضافه و بعد از مخلوط کردن به مدت ۵ دقیقه در ۳۷°C قرار گرفت. سپس ریبوفلاوین ۰/۱۲ میلی‌مولار در بافرفسفات پتاسیم ۰/۰۶۷ مولار با pH=۷/۸ اضافه و به مدت ۱۲ دقیقه در درجه حرارت اتاق قرار گرفت. جذب در طی ۵ دقیقه در طول موج ۵۶۰ نانومتر قرائت شد و فعالیت ویژه بر حسب واحد بر میلی‌گرم پروتئین محاسبه شد.

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز از روش ایبی[2] استفاده شد [۲٤]. واکنش با اضافه‌کردن H_2O_2 ۳۰ میلی مولار به حجم مناسبی از عصاره نمونه بافتی در بافر فسفات سدیم ۵۰ میلی مولار pH =۷ شروع شد. سپس جذب در طی ۳ دقیقه در طول موج ۲٤۰ نانومتر قرائت شد. فعالیت ویژه بر حسب واحد بر میلی‌گرم پروتئین محاسبه شد.

اندازه گیری فعالیت آنزیم گلوتاتیون S- ترانسفراز

اندازه‌گیری فعالیت این آنزیم به روش هابیگ[3] انجام شد [۲۵]. یک میلی‌لیتر محلول واکنش حاوی بافرفسفات پتاسیم ۵۰ میلی مولار با pH= ۷/٤ شامل EDTA یک میلی مولار، GSH ۲۰ میلی مولار و ۱-کلرو ۲،٤دی نیترو بنزن ۲۰ میلی مولار است. واکنش با اضافه کردن حجم معینی از عصاره بافتی شروع شد. تغییرات جذب در طول موج ۳٤۰ نانومتر در طی ۵ دقیقه قرائت گردید. فعالیت ویژه بر حسب واحد بر میلی‌گرم پروتئین بیان شد.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم لاکتات دهیدروژناز (LDH)

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم لاکتات دهیدروژناز با استفاده از کیت پارس آزمون انجام شد. ۱۰ میکرولیتر نمونه را با یک میلی‌لیتر از محلول مخلوط شده ۱ و ۲ موجود در کیت اضافه و اختلاف جذب بین صفر و ۳ دقیقه در طول موج ۳٤۰ نانومتر قرائت شد. فعالیت آنزیم بر حسب واحد بر میلی‌گرم پروتئین محاسبه گردید.

سنجش میزان مالون دی آلدئید (MDA)

برای تعیین محصول نهایی پراکسیداسیون لیپیدها از روش کی[4] استفاده شد [۲۶]. به حجم معینی از عصاره

[1] Winterbourn

[2] Abei
[3] Habig
[4] Kei

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2024-07-03]

بافتی، ۱/۵ میلی‌لیتر TCA ۱۰ درصد اضافه شد. به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ گردید. سپس ۱/۵ میلی‌لیتر از مایع رویی را برداشته و ۲ میلی‌لیتر اسید تیوباربیتوریک ۰/۶۷ درصد اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه در بن ماری جوش قرار داده شد. سپس ۲ میلی‌لیتر n- بوتانل به محلول اضافه و بعد از ورتکس شدید، به مدت ۱۵ دقیقه در g ٤۰۰۰ سانتریفوژ شد. سپس جذب محلول رویی صورتی رنگ در طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد. غلظت مالون دی آلدئید با استفاده از ۱ و ۱ و ۳ و ۳ تترا اتوکسی پروپان به عنوان استاندارد تعیین شده و غلظت مالون دی آلدئید بر حسب نانومول بر میلی‌گرم پروتئین محاسبه شد. محلول استاندارد MDA در غلظت‌های ۲۰ – ۰/۲ میکرومولار در اسیدسولفوریک ۱۰ درصد تهیه شد.

سنجش میزان GSH

برای سنجش میزان گلوتاتیون بافت از روش تیتز[1] استفاده شد [۲۷]. غلظت مناسبی از نمونه هموژنه با ۱۰ میکرولیتر اسیدسولفوسالیسیلیک ۵ درصد مخلوط و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ٤ درجه سانتیگراد با دور g۲۰۰۰ سانتریفوژ شد. ۱۰۰ میکرولیتر از محلول رویی برداشته به ۸۱۰ میکرولیتر دی سدیم فسفات ۰/۳ مولار اضافه شد. سپس با اضافه‌کردن ۹۰ میکرولیتر دی تیو- بیس- نیتروبنزوئیک اسید ۰/٤ درصد محلول در سیترات سدیم ۱ درصد واکنش شروع گردید. تغییرات جذب در طول موج ٤۱۲ نانومتر در طی ۵ دقیقه قرائت شد. با استفاده از محلول گلوتاتیون ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر منحنی استاندارد گلوتاتیون رسم گردید و غلظت گلوتاتیون بر حسب نانومول بر میلی‌گرم پروتئین محاسبه گردید. محلول استاندارد گلوتاتیون در غلظت‌های ۲۰۰ – ۲۵ میکرومولار تهیه شد.

تعیین غلظت پروتئین

برای تعیین غلظت پروتئین از روش برادفورد استفاده شد [۲۸]. حجم مناسبی از عصاره بافتی به حجم ۱ میلی‌لیتر رسانده شده و ۳ میلی‌لیتر از محلول برادفورد به آن اضافه و به مدت ۱۰ دقیقه انکوبه گردید. سپس در طول موج ۵۹۵ نانومتر جذب قرائت شد. غلظت پروتئین با رسم استاندارد با استفاده از محلول ۱mg/ml آلبومین سرم گاوی (BSA) محاسبه گردید.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

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

یافته‌ها

نتایج حاصل از اثر دیازینون و N– استیل سیستئین به تنهایی و در ترکیب با هم بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و آنزیم LDH مغز و قلب در جدول ۱ نشان می‌دهد که دیازینون سبب افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های SOD در مغز ($p<۰/۰۰۱$) و قلب ($p<۰/۰۱$)، CAT در قلب ($p<۰/۰۱$) و آنزیم GST در مغز و قلب ($p<۰/۰۱$) و کاهش فعالیت آنزیم‌های CAT در مغز ($p<۰/۰۱$) و LDH مغز ($p<۰/۰۱$) و قلب ($p<۰/۰۵$) در مقایسه با گروه کنترل می‌شود. همچنین تجویز دیازینون با همراه NAC باعث افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های SOD در مغز ($p<۰/۰۱$) و قلب ($p<۰/۰۱$)، CAT در قلب ($p<۰/۰۱$) و آنزیم GST در مغز و قلب ($p<۰/۰۵$) و کاهش فعالیت آنزیم‌های CAT ($p<۰/۰۱$) و LDH ($p<۰/۰۵$) در مغز در مقایسه با گروه کنترل می‌گردد. تغییر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گروه دیازینون-NAC در مقایسه با گروه دیازینون معنی‌دار نیست.

[1] Tietz

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2024-07-03]

نتایج حاصل از اثر دیازینون و NAC به تنهایی و در ترکیب با هم بر روی غلظت گلوتاتیون و مالون دی آلدئید در مغز و قلب موش صحرایی در جدول ۲ نشان می‌دهد که دیازینون باعث کاهش غلظت گلوتاتیون در مغز و قلب ($p<۰/۰۱$) و افزایش غلظت مالون دی آلدئید در مغز ($p<۰/۰۱$) و قلب ($p<۰/۰۵$) در مقایسه با گروه کنترل می‌شود. همچنین تجویز NAC به همراه دیازینون سبب افزایش غلظت مالون دی آلدئید در مغز ($p<۰/۰۵$) در مقایسه با گروه کنترل می‌شود. کاهش غلظت گلوتاتیون و افزایش غلظت مالون دی آلدئید در گروه دیازینون-NAC در مقایسه با گروه دیازینون معنی‌دار نیست.

جدول ۱. اثر دیازینون و N – استیل سیستئین (NAC) به تنهایی و در ترکیب با هم بر روی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و لاکتات دهیدروژناز در مغز و قلب موش صحرایی بعد از ۲۴ ساعت

پارامترها (U/mg protein)		کنترل	دیازینون	NAC	دیازینون- NAC
سوپراکسیددیسموتاز	مغز	۳۰/۲±۳/۳	۴۴/۱±۴/۷***	۳۲/۱±۳/۴	۴۰/۴۲±۴/۸۹**
	قلب	۳۵/۱±۴/۱	۴۵/۹±۳/۷**	۳۸/۰±۵/۲	۴۴/۱۱±۴/۹۲**
کاتالاز	مغز	۱۶/۸±۱/۸	۱۲/۳±۱/۷**	۱۹/۰±۱/۸	۱۲/۶۶±۱/۵۱**
	قلب	۲۷/۲±۳/۳	۳۶/۳±۴/۹**	۲۹/۵±۲/۷	۳۵/۸۱±۳/۴۹**
گلوتاتیون S– ترانسفراز	مغز	۲۶/۸±۲/۶	۳۶/۵±۴/۲**	۲۸/۰±۴/۲۵	۳۵/۱۱±۴/۲۶*
	قلب	۳۸/۳±۳/۸	۴۹/۶±۴/۲**	۳۹/۶۷±۴/۰۲	۴۶/۵۵±۵/۲۳*
لاکتات دهیدروژناز	مغز	۱۵۴/۷±۱۵/۶	۱۲۰/۴±۱۰/۲**	۱۵۹/۶۷±۱۷/۵۹	۱۲۴/۹۳±۱۳/۳۴*
	قلب	۱۳۹/۶±۱۳/۲	۱۱۳/۱±۹/۵*	۱۳۶/۴۷±۱۴/۵۳	۱۲۱/۸۱±۱۱/۰۲

$p<۰/۰۵$*، $p<۰/۰۱$** و $p<۰/۰۰۱$*** نسبت به گروه کنترل معنی‌دار است.

جدول ۲. اثر دیازینون و N – استیل سیستئین (NAC) به تنهایی و در ترکیب با هم بر روی غلظت گلوتاتیون و مالون دی آلدئید در مغز و قلب موش صحرایی بعد از ۲۴ ساعت

پارامترها (nmol/mg protein)		کنترل	دیازینون	NAC	دیازینون- NAC
گلوتاتیون	مغز	۱۰/۱۲±۰/۹۷	۷/۹۹±۰/۶۵**	۹/۴۵±۰/۸۹	۸/۹۶±۰/۹۶
	قلب	۹/۷۹±۰/۹۱	۷/۷۱±۰/۸۵**	۹/۳۶±۰/۶۲	۸/۴۵±۰/۷۹
مالون دی آلدئید	مغز	۵/۳۷±۰/۷۶	۷/۴۷±۰/۹۹**	۵/۷۷±۰/۶۹	۷/۱۳±۰/۹۸*
	قلب	۱۰/۹۲±۰/۸۶	۱۲/۷۴±۰/۹۵*	۱۱/۰۷±۰/۸۳	۱۱/۷۳±۰/۸۹

$p<۰/۰۵$* و $p<۰/۰۱$** نسبت به گروه کنترل معنی‌دار است.

بحث

نتایج این مطالعه نشان داد که دیازینون با افزایش فعالیت آنزیم‌های SOD وGST و غلظت MDA و کاهش فعالیت آنزیم LDH و غلظت گلوتاتیون باعث القاءِ استرس اکسیداتیو در مغز و قلب می‌شود. تجویز NAC از این تغییرات تاحدی جلوگیری می‌کند. بافت‌های مغز و قلب از بافت‌های هدف ارگانوفسفره‌ها هستند. با توجه به نقش حساس و پایین بودن میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان این بافت‌ها، آنها نسبت به استرس اکسیداتیو حساس‌تر هستند [۴،۲۹].

چند مطالعه نشان می‌دهد که بعضی از ارگانوفسفره‌ها باعث تولید رادیکال‌های آزاد می‌شوند [۷-۵]. رادیکال‌های آزاد قادرند با ماکرومولکول‌های مختلف در بدن نظیر پروتئین، لیپیدها و اسیدهای نوکلئیک اتصال و باعث تخریب

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2024-07-03]

ساختمان و عمل آنها شوند. برای خنثی‌کردن رادیکال‌های آزاد در بدن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان شامل SOD و CAT فعال می‌شوند. آنزیم SOD آنیون‌های سوپراکسید را به H_2O_2 تبدیل می‌کند. آنزیم CAT باعث خنثی‌شدن H_2O_2 و تبدیل آن به آب و اکسیژن مولکولی می‌شود [۸،۹]. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که تجویز دیازینون باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های SOD و CAT در قلب و SOD در مغز موش صحرایی می‌شود، در حالی‌که این سم فعالیت CAT در مغز را کاهش می‌دهد. در این مطالعه افزایش فعالیت SOD و CAT ناشی از تجویز دیازینون بیانگر فعال‌شدن سیستم دفاعی آنزیمی سلول برای خنثی‌نمودن رادیکال‌های آزاد تولید شده است. افزایش فعالیت SOD باعث کاهش رادیکال‌های سوپراکسید و افزایش میزان H_2O_2 شده و افزایش فعالیت CAT باعث کاهش میزان H_2O_2 و جلوگیری از آسیب بافتی می‌شود. افزایش فعالیت SOD به همراه کاهش فعالیت آنزیم CAT در بافت‌های مغز منجر به افزایش غلظت H_2O_2 در این بافت می‌شود که در نهایت ممکن است موجب آسیب بافتی شود. تجویز NAC فقط سبب کاهش فعالیت آنزیم SOD در مغز موش صحرایی در مقایسه با گروه دیازینون می‌گردد. این کاهش فعالیت آنزیم بعد از استفاده از NAC، احتمالا مربوط به توانایی NAC در حذف مستقیم ROS[1]ها می‌باشد [۱٤].

نتایج این مطالعه هم‌سو با نتایج چند مطالعه است. مطالعات اورک[2] و همکاران نشان داد که تجویز دیازینون با دوزهای ppb[3] ۰/۰۳۶، ۰/۰۱۸ و ۰/۰۰۳۶ برای ۵، ۱۵ و ۳۰ روز به ماهی آب آزاد باعث افزایش فعالیت آنزیم SOD بعد از ۵ روز در کبد و شش و افزایش فعالیت آنزیم CAT بعد از ۱۵ روز در بافت کبد همراه با کاهش فعالیت آنزیم بوتیریل کولین استراز در همه زمان‌ها و غلظت‌ها در کبد و تنها در ۳۰ روز در ماهیچه می‌شود [۳۰،۵]. جان[4] و همکاران نشان دادند که تجویز خوراکی دیمتوآت[5] با دوز mg/kg ۳ یا مالاتیون[6] با دوز mg/kg ۱۳/۵ به موش صحرایی بعد از سه روز موجب افزایش فعالیت SOD و کاتالاز و مهار فعالیت استیل کولین استراز اریتروسیت‌ها می‌گردد [۳۱]. مطالعه غنی و همکاران نشان داد که مصرف پاراکسون بصورت داخل صفاقی در دوزهای mg/kg ۰/۳۵ و ۰/۷ بعد از ٤ ساعت در موش صحرایی موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های SOD و CAT در بافت مغز می‌گردد [۳۲]. مطالعه جعفری و همکاران نشان داد که تجویز پاراکسون در دوزهای mg/kg۱-۰/۷ بصورت داخل صفاقی باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های SOD و CAT در قلب، کلیه، مغز و کبد و طحال بعد از ۲٤ ساعت می‌شود [۳۳] و همچنین تجویز دیازینون در دوزهای mg/kg ۲۰۰-۵۰ در مغز و قلب سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های SOD و CAT و کاهش آنزیم کولین استراز می‌گردد [۱۹].

از طرف دیگر، مطالعه ایسیک[7] و همکاران نشان داد که تجویز دیازینون و متیل پاراتیون با دوز ppm[8] ۰/۵ به ماهی بعد از ۲٤ ساعت باعث کاهش فعالیت آنزیم SOD در کبد و شش می‌شود [۲۲]. ال-شنای[9] و همکاران نشان دادند که تجویز دیازینون در دوزهای mg/kg ۱۶/۲۵ و ۳۲/۵ به صورت داخل صفاقی منجر به کاهش فعالیت آنزیم‌های SOD و CAT در کبد موش بعد از ۱٤ روز می‌شود [۳٤]. همچنین مطالعه عبدو[10] و همکاران، کاهش فعالیت آنزیم‌های SOD و استیل کولین استراز سرم موش

[1] Reactive Oxygen Speacies
[2] Oruc
[3] Parts Per Billion
[4] John
[5] Dimethoate
[6] Malathion
[7] Isik
[8] Parts Per Million
[9] El-Shenawy
[10] Abdou

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2024-07-03]

صحرایی ماده بعد از تجویز خوراکی دیازینون در دوزهای ۲۰-۸ mg/kg به مدت سه هفته را نشان داد [۳۵]. آنر[1] و همکاران نشان دادند تجویز فن تیون (۱/۷۲ mg/L) به تنهایی و به همراه NAC (۴۰۰ mg/kg) به صورت داخل صفاقی روی فعالیت SOD و CAT و استیل کولین استراز مغز برای ۹۶ ساعت تاثیری ندارد، در حالی‌که NAC با غلظت ۰/۵mg/kg به تنهایی باعث افزایش فعالیت SOD می‌شود [۳۶]. ایزدی و همکاران نشان دادند که دیازینون (۱۰۰ mg/kg) سبب افزایش فعالیت SOD و CAT کبد و کلیه و تجویز همزمان NAC (۱۶۰ mg/kg) باعث کاهش فعالیت SOD کبد و فعالیت آنزیم CAT در کبد و کلیه می‌شود [۱۸].

GST یکی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کمکی است که گلوتاتیون را به مواد سمی متصل کرده و آنها را به موادی با سمیت کمتر تبدیل می‌کند [۲۵،۸]. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که دیازینون سبب افزایش فعالیت GST در مغز و قلب موش صحرایی شده و تجویز NAC تا حدی سبب کاهش فعالیت این آنزیم در هر دو بافت در مقایسه با گروه دیازینون می‌شود. افزایش فعالیت GST با افزایش مصرف GSH همراه است. افزایش GST در اثر تزریق دیازینون نشان‌دهنده افزایش دفاع بدن در مقابل این سم و دفع سریعتر آن است [۲۵]. نتایج چند مطالعه با نتایج این مطالعه مطابقت دارد. مطالعه آرک و همکاران نشان داد که تجویز دیازینون با دوز ۰/۰۰۳۶ ppb باعث افزایش فعالیت آنزیم GST در کبد ماهی آب آزاد بعد از ۵ و ۱۵ روز بدون تغییر در ۳۰ روز می‌شود [۵]. مطالعات جعفری و همکاران نشان داد که تجویز دیازینون در دوزهای ۲۰۰-۵۰ mg/kg در مغز و قلب [۱۹] و تجویز پاراکسون در دوزهای ۱-۱/۵ mg/kg در قلب، کلیه و طحال باعث افزایش فعالیت آنزیم GST بعد از ۲۴ ساعت می‌شود [۳۳]. از طرف دیگر این محققین نشان دادند که تجویز پاراکسون در دوزهای مشابه در مغز و کبد باعث کاهش فعالیت آنزیم می‌گردد [۳۳]. همچنین اوزون[2] و همکاران نشان دادند که مصرف کلرپیریفوس (۵/۴ mg/kg یک بار در روز) روزانه بصورت گاواژ توسط موش صحرایی به مدت ۴ هفته باعث کاهش فعالیت آنزیم GST در ریه موش صحرایی می‌شود [۳۷]. معمولا دوزهای کم سموم منجر به افزایش و دوزهای بالای آن باعث مهار فعالیت آنزیم‌ها می‌گردند. پنا- للپس و همکاران نشان دادند که تزریق داخل صفاقی N- استیل سیستئین (۱۶۰ mmol/kg) سه ساعت قبل از تجویز دی کلروس در دوز ۱/۵ mg/L به ماهی در زمان‌های مختلف تا ۹۶ ساعت باعث افزایش فعالیت GST می‌شود. NAC باعث افزایش تحمل به این ارگانوفسفره می‌شود [۱۷]. آنر و همکاران نشان دادند فن تیون باعث افزایش GST و تزریق داخل صفاقی NAC قبل از تجویز فن تیون به ماهی باعث کاهش GST می‌شود [۳۶]. ایزدی و همکاران نشان دادند که دیازینون سبب افزایش فعالیت GST کبد و کلیه و تجویز NAC باعث کاهش فعالیتGST کبد می‌شود [۱۸].

در این مطالعه دیازینون سبب کاهش فعالیت آنزیم LDH در مغز و قلب شده که تجویز NAC تا حدی در مغز و بصورت کامل در قلب فعالیت این آنزیم را در مقایسه با گروه دیازینون افزایش می‌دهد. کاهش فعالیت آنزیم LDH به عنوان بیومارکر لیز سلولی و سمیت سلولی، احتمالا نشان‌دهنده تخریب غشاء سلولی و تراوش آنزیم به داخل خون می‌باشد [۳۸]. استفاده از NAC سبب احیاء رادیکال‌های آزاد ناشی از تجویز دیازینون و در نتیجه جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء و مانع از آزادشدن آنزیم LDH می‌شود. ال- شنای و همکاران نشان دادند که تجویز دیازینون در دوزهای ۱۶/۲۵ و ۳۲/۵ mg/kg به صورت داخل صفاقی منجر به

[1] Uner

[2] Uzun

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2024-07-03]

کاهش مارکرهای سمیت کبدی مانند LDH در موش بعد از ۱٤ روز می‌شود [۳٤]. مطالعه عبدو و همکاران، افزایش فعالیت LDH سرم موش صحرایی ماده بعد از تجویز خوراکی دیازینون در دوزهای ۲۰-۸ mg/kg به مدت سه هفته را نشان دادند [۳۵]. مطالعات دیگر نشان می‌دهد که فعالیت LDH در بافت‌های طحال، مغز، قلب، کبد و کلیه بعد از تجویز دیازینون و پاراکسون کاهش می‌یابد [۳۰،۲۵]. ایزدی و همکاران نشان دادند که دیازینون سبب افزایش فعالیت LDH کبد و تجویز NAC باعث کاهش فعالیت LDH می‌شود [۱۸].

گلوتاتیون از مهمترین آنتی‌اکسیدان‌های داخل سلولی است که جهت پاکسازی مستقیم رادیکال‌های آزاد به کار می‌رود و همچنین به عنوان کوفاکتور برای آنزیم‌های گلوتاتیون پراکسیداز و GST عمل می‌کند. تخلیه GSH در نهایت باعث افزایش پراکسیداسیون لیپیدی می‌شود [۳۳،۱۹]. در مطالعه حاضر تجویز دیازینون سبب کاهش غلظت گلوتاتیون در مغز و قلب موش صحرایی شد. تجویز NAC کاهش غلظت گلوتاتیون در هر دو بافت را جبران نمود. از آن جایی که فعالیت GST در هر دو بافت مغز و قلب در اثر دیازینون افزایش پیدا کرد، کاهش گلوتاتیون این بافت‌ها می‌تواند ناشی از افزایش فعالیت آنزیم GST و مصرف آن به عنوان سوبسترا توسط این آنزیم باشد. جبران کاهش گلوتاتیون توسط NAC می‌تواند ناشی از عمل NAC به عنوان پیش ساز گلوتاتیون و شرکت آن در سنتز این آنتی‌اکسیدان سلولی و همین طور عملکرد مستقیم آن در حذف رادیکال‌های آزاد باشد [۱٤]. مطالعات دیگر هم‌سو با نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که تجویز دیازینون و پاراکسون موجب کاهش گلوتاتیون در بافت‌های مختلف می‌گردد [۳۳،۱۹،۶]. آنر و همکاران نشان دادند که تزریق داخل صفاقی NAC قبل از تجویز فن تیون به ماهی باعث افزایش غلظت GSH می‌شود [۳۶]. چند مطالعه دیگر نشان داد که تزریق داخل صفاقی N- استیل سیستئین قبل از تجویز آندوسولفان و دی کلروس به ماهی باعث افزایش غلظت گلوتاتیون، نسبت GSH/GSSG و فعالیت گلوتاتیون ردوکتاز در کبد و مغز می‌شود [۳۹،۲۰،۱۷]. یورمز[1] و همکاران نشان دادند که تجویز NAC یک ساعت قبل و بعد از مسمومیت با فن تیون باعث ذخیره گلوتاتیون و کاهش MDA خون در هر دو حالت حفاظتی و درمانی می‌شود [٤۰]. شادنیا و همکاران اثر حفاظتی NAC (mg/kg ۱۶۰) را در کاهش مولکول‌های تیول‌دار و افزایش MDA توسط دیازینون خوراکی (mg/kg ۱۰) بعد از ٤ هفته نشان دادند [۱۵،۱۶]. ایزدی و همکاران نشان دادند که دیازینون سبب کاهش میزان GSH کبد و کلیه و تجویز NAC باعث افزایش غلظت GSH می‌شود [۱۸].

MDA از مهمترین بیومارکرهای پراکسیداسیون لیپیدها است و افزایش غلظت MDA نشان‌دهنده اختلال در مکانیسم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی و آنزیمی است [٤۱]. در مطالعه حاضر افزایش سطح MDA در مغز و قلب در اثر تجویز دیازینون مشاهده می‌شود که این افزایش ناشی از تولید رادیکال‌های آزاد توسط دیازینون و افزایش پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء می‌باشد. استفاده از NAC سبب کاهش سطح MDA در هر دو بافت می‌شود. کاهش سطح MDA می‌تواند مربوط به قابلیت NAC در حذف مستقیم رادیکال‌های آزاد و مهار پراکسیداسیون لیپیدها توسط رادیکال‌های آزاد باشد. مطالعات نشان می‌دهند که تجویز خوراکی دیازینون موجب افزایش MDA و پراکسیداسیون لیپیدها در بافت‌های مختلف می‌شود [٤۲،۳۵،۶]. چندین مطالعه نشان دادند که تجویز ارگانوفسفره‌های مختلف نظیر فن تیون و دیازینون باعث افزایش غلطت MDA در بافت‌های مختلف

[1] Yurumez

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2024-07-03]

شده و تجویزNAC باعث کاهش غلظت آن می‌شود [۴۰،۳۶،۱۸،۱۵،۱۶].

در مورد محدویت تحقیق می‌توان به اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های گلوتاتیون پراکسیداز و گلوتاتیون ردوکتاز و غلظت گلوتاتیون اکسیدشده اشاره کرد که به دلیل کمبود بودجه انجام نشد. در ضمن برای درک مکانیسم دقیق اثرات ارگانوفسفره و NAC بهتر است در مطالعات بعدی بیان ژن آنزیم‌های سیستم آنتی‌اکسیدان و القاء مرگ سلولی از نوع آپوپتوزیس و یا نکروز در بافت‌های مختلف بررسی شود.

نتیجه گیری

نتایج پیشنهاد می‌کند که دیازینون با تولید رادیکال‌های آزاد و تغییر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و افزایش لیپیدپراکسیداسیون و کاهش غلظت گلوتاتیون در بافت‌های مغز و قلب باعث القاء استرس اکسیداتیو می‌شود. NAC به‌عنوان آنتی‌اکسیدان از طریق پاکسازی رادیکال‌های آزاد و افزایش سنتز گلوتاتیون تا حدی باعث کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از دیازینون می‌شود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان لازم می‌دانند از آقایان جواد رسولی و حسین مهدوی‌نسب جهت یاری در مراحل اولیه مطالعه تشکر نمایند. این طرح تحقیقاتی با حمایت مالی مرکز تحقیقات آسیب‌های شیمیایی دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا... (عج) انجام شده است که بدین وسیله از کلیه مسئولین مرکز مربوطه تشکر و قدردانی می‌شود.

References

1- 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 Morphol Embryol. 2013 Jul; 54(2): 349-56.

2- 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 Feb; 8(1): 39-48.

3- 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. J Mediter Ecol. 2011; 11: 31-39.

4- Ahmadi S, Jafari M, Asgari A, Salehi M. Acute effect of diazinon on the antioxidant system of rat's heart tissue. Kowsar Medical J. 2011 Summer; 16(2): 87-93. (Full Text in Persian)

5- Oruc E. Effects of diazinon on antioxidant defense system and lipid peroxidation in the liver of Cyprinus carpio (L.). Environ Toxicol. 2011 Nov; 26(6): 571-8.

6- Shah MD, Iqbal M. Diazinon-induced oxidative stress and renal dysfunction in rats. Food ChemToxicol. 2010 Dec; 48(12): 3345–53.

7- Salehi M, Jafari M, Asgari A, Ahmadi S. The role of paraoxon toxicity on oxidative stress induction in rat heart and spleen. ZJMS. 2013Spring; 21(84): 13-23. (Full Text in Persian)

8- Halliwell B. Free radicals and antioxidants: Updating a personal view. Nutr Rev. 2012 May; 70(5): 257-265.

9- Rafieian-Kopaei M, Baradaran A, Rafieian M. Oxidative stress and the paradoxical effects of antioxidants. J Res Med Sci. 2013 Jul; 18(7): 629.

10- Yilmaz N, Yilmaz M, Altuntas I. Diazinon-induced brain toxicity and protection by vitamins E plus C. Toxicol Ind Health. 2012 May; 28(1): 51-7.

11- Atkuri KR, Mantovani JJ, Herzenberg LA, Herzenberg LA. N-Acetylcysteine--a safe antidote for cysteine/glutathione deficiency. Curr Opin Pharmacol. 2007 Aug; 7(4): 355-9.

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2024-07-03]

12- Rushworth GF, Megson IL. Existing and potential therapeutic uses for N-acetylcysteine: the need for conversion to intracellular glutathione for antioxidant benefits. Pharmacol Ther. 2014 Feb; 141(2): 150-9.
13- Lasram MM, Lamine AJ, Dhouib IB, Bouzid K, Annabi A, Belhadjhmida N, et al. Antioxidant and anti-inflammatory effects of N-acetylcysteine against malathion-induced liver damages and immunotoxicity in rats. Life Sciences. 2014 Jun; 107(1-2): 50–8.
14- Mostafalou S, Abdollahi M, Eghbal MA, Saeedi Kouzehkonani N. Protective effect of NAC against malathion-induced oxidative stress in freshly isolated rat hepatocytes. Adv Pharm Bull. 2012 Mar; 2(1): 79-88.
15- Shadnia S, Abdollahi M, Sasanian G. Effects of N-acetyl-cysteine and tocopherol on diazinon toxicity. Curr Med Chem. 2003; 10: 2705-8.
16- Shadnia S, Dasgar M, Taghikhani S, Mohammadirad A, Khorasani R, Abdollahi M. Protective effects of alpha-tocopherol and N-acetyl-cysteine on diazinon-induced oxidative stress and acetylcholinesterase inhibition in rats. Toxicol Mech Methods. 2007 Jan; 17(2): 109-115.
17- Pena-Llopis S, Ferrando MD, Pena JB. Fish tolerance to organophosphate-induced oxidative stress is dependent on the glutathione metabolism and enhanced by N-acetylcysteine. Aquat Toxicol. 2003 Dec; 65(4): 337–60.
18- Izadi F, Jafari M, Bahadoran H, Asgari AR, Divsalar A, Salehi M. The role of N-acetyl cysteine on reduction of diazinon-induced oxidative stress in rat liver and kidney. J Rafsanjan Univ Med Sci. 2014 Winter; 12(11): 895-906. (Full Text in Persian)
19- 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 Oct; 22(8): 638-47.
20- Dorval J, Hontela A. Role of glutathione redox cycle and catalase in defense against oxidative stress induced by endosulfan in adrenocortical cells of rainbow trout. Toxicol Appl Pharmacol. 2003 Oct; 192(2): 191-200.
21- 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 Feb; 81(2): 123–8.
22- 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 Sep; 92(1): 38–42.
23- Winterbourn C, Hawkins R, Brian M, Carrell R. The estimation of red cell superoxide dismutase activity. J Lab Clin Med. 1975; 85(2): 337-41.
24- Aebi H. Catalase in vitro. Methods Enzymol. 1984; 105: 121-6.
25- Habig WH, Jakoby WB. Glutathione S-transferases (rat and human). Methods Enzymol. 1981; 77: 218-31.
26- Kei K. Serum lipid peroxide in cerebrovascular disorders determined by a new colorimetric method. Clin Chim Acta.1978Nov; 90(1): 37-43.
27- 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 Mar; 27(3): 502-22.
28- Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal Biochem. 1976May; 72(1-2): 248-54.
29- Salehi M, Jafari M, Asgari A, Saleh Moghaddam M, Salimian M, Abbasnezhad M, et al. Study of diazinon effect on antioxidant enzymes and lipid peroxidation in rat's brain. Iran University of medical Sciences. 2010 Spring; 17(70): 15-23. (Full Text in Persian)
30. Oruc E, Usta D. Evaluation of oxidative stress responses and neurotoxicity potential of diazinon in different tissues of Cyprinus carpio. Environ Toxicol Pharmacol. 2007 Jan; 23(1): 48-55.
31- 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 Sep; 12(9): 500-4.

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2024-07-03]

32- Ghani E. Mohmmadi M, Jafari M, Khoshbaten A, Asgari A. Evaluation of oxidative stress index in brain tissue of rats after expose to paraoxon. Kowsar Med J. 2008 Spring; 13(1): 1-7. (Full Text in Persian)
33- Jafari M, Salehi M, Asgari A, Ahmadi S, Abbasnezhad M, Hajihoosani R, et al. Effects of paraoxon on serum biochemical parameters and oxidative stress induction in various tissues of Wistar and Norway rats. Environ Toxicol Pharmacol. 2012 Nov; 34(3): 876–87.
34- 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 Feb; 96(2): 101–7.
35- 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 Oct; 182(1-3): 273–8.
36- Uner N, Sevgiler Y, Durmaz H, Piner P, Cinkiloglu E. N-Acetylcysteine provides dose-dependent protection against fenthion toxicity in the brain of Cyprinus carpio L. Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol. 2009 Jul; 150(1): 33-8.
37- Uzun FG, Demir F, Kalender S, Bas H, Kalender Y. Protective effect of catechin and quercetin on chlorpyrifos-induced lung toxicity in male rats. Food Chem Toxicol. 2010 Jun; 48(6): 1714-1720.
38- 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 May; 14(3): 18-23.
39- Pena-Llopis S, Ferrando MD, Pena JB. Increased recovery of brain acetylcholinesterase activity in dichlorvos-intoxicated European eels Anguilla anguilla by bath treatment with N-acetylcysteine. Dis Aquat Organ. 2003 Aug; 55(2): 237-45.
40- Yurumez Y, Cemek M, Yavuz Y, Birdane YO, Buyukokuroglu ME. Beneficial effect of N-acetylcysteine againts organophosphate toxicity in mice. Biol Pharm Bull. 2007 Mar; 30(3): 490–4.
41- 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 Jun; 64(2): 178–89.
42- 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 Jul; 18(4): 155-64.

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2024-07-03]