

Comparison of antioxidant properties of N- acetylcysteine and vitamins E and C on diazinon-induced oxidative stress in rat spleen

Javad Heydari¹, Mahvash Jafari², Saeed Khazaie¹

Background and Aim: Organophosphate insecticides such as diazinon (DZN) can disrupt the body's antioxidant defense system. Antioxidants protect cells against oxidative stress.

In the present study, antioxidant properties of N- acetylcysteine (NAC) and vitamins E and C in reducing oxidative stress caused by DZN in rat spleen were compared.

Materials and Methods: In this experimental study, 48 male Wistar rats were randomly divided into eight equal groups including, control, DZN (100 mg/kg), NAC (160 mg/kg), vitamin E (150 mg/kg), vitamin C (200 mg/kg), NAC+DZN, vitamin E+DZN, and vitamin C+DZN groups. Twenty-four hours after intraperitoneal injection the animals were anesthetized and their spleen tissues were quickly removed. After tissues' homogenization superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione S-transferase (GST), lactate dehydrogenase activities, as well as glutathione (GSH) and malondialdehyde levels were determined using biochemical methods.

Results: DZN increased SOD and GST activities, but it decreased CAT activity and GSH content in the spleen. Administration of the antioxidant NAC or vitamin E caused SOD and GAT improvement.

Conclusion: DZN induces oxidative stress in the spleen. NAC, through increasing the synthesis of GSH, vitamins E, and C- by removing free radicals- reduce DZN-induced oxidative stress. Comparing the effects of these antioxidants on GSH and GST activity indicates that the antioxidant value of NAC is greater than vitamins E and C.

Key Words: Diazinon, N-acetyl cysteine, Vitamins E and C, Oxidative stress, Rat spleen

Journal of Birjand University of Medical Sciences. 2016; 23(2):101-109.

Received: January 16, 2016

Accepted: August 23, 2016

¹ Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

² **Corresponding Author;** Chemical Injuries Research Center, Department of Biochemistry, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Email: m.jafari145@gmail.com

Tel: +982182483422

Fax: +982126127281

مقایسه خواص آنتی اکسیدانی N- استیل سیستئین و ویتامین های E و C بر روی استرس اکسیداتیو ناشی از دیازینون در طحال موش صحرایی

جواد حیدری¹، مهوش جعفری² سعید خزایی¹

چکیده

زمینه و هدف: حشره کش های ارگانوفسفره نظیر دیازینون می توانند سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی بدن را مختل کنند. آنتی اکسیدان ها از استرس اکسیداتیو سلول ها محافظت می کنند. در این مطالعه، خواص آنتی اکسیدانی N-استیل سیستئین (NAC) و ویتامین های E و C در کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از دیازینون در بافت طحال موش صحرایی مقایسه شد. **روش تحقیق:** در این مطالعه تجربی، تعداد 48 موش صحرایی نر نژاد ویستار به طور تصادفی به 8 گروه مساوی شامل گروه های: کنترل، دریافت کننده دیازینون (100 mg/kg)، دریافت کننده NAC (160 mg/kg)، دریافت کننده ویتامین E (150 mg/kg)، دریافت کننده ویتامین C (200 mg/kg)، دریافت کننده دیازینون با NAC، دریافت کننده دیازینون با ویتامین E و دریافت کننده دیازینون با ویتامین C تقسیم شدند. 24 ساعت بعد از تزریق داخل صفاقی، حیوانات بیهوش و بافت های طحال آنها جدا شدند. بعد از هموژنه کردن بافت ها، آنزیم های سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT)، گلوکاتایون S- ترانسفراز (GST) و لاکتات دهیدروژناز و غلظت های گلوکاتایون (GSH) و مالون دی آلدئید از طریق روش های بیوشیمیایی تعیین شدند. **یافته ها:** دیازینون سبب افزایش فعالیت SOD و GST و کاهش فعالیت آنزیم CAT و غلظت GSH در طحال گردید ($P < 0/01$). تجویز آنتی اکسیدان های NAC و یا ویتامین E، سبب بهبود SOD و GAT گردید. **نتیجه گیری:** دیازینون باعث القای استرس اکسیداتیو در طحال می شود. NAC از طریق افزایش سنتز گلوکاتایون و ویتامین های E و C از طریق پاکسازی رادیکال های آزاد، باعث کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از دیازینون می شود. مقایسه اثرات این آنتی اکسیدان ها بر روی غلظت گلوکاتایون و فعالیت GST نشان می دهد که خاصیت آنتی اکسیدانی NAC بیشتر از ویتامین های E و C است.

واژه های کلیدی: دیازینون، N- استیل سیستئین، ویتامین های E و C، استرس اکسیداتیو، طحال

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند. 1395; 23 (2): 101-109.

پذیرش: 1395/06/02

دریافت: 1394/10/26

¹گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه... (عج)، تهران، ایران

²نویسنده مسؤول؛ مرکز تحقیقات آسیب های شیمیایی، گروه بیوشیمی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه... (عج)، تهران، ایران

آدرس: تهران، میدان ونک، خیابان ملاصدرا، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج)، دانشکده پزشکی، گروه بیوشیمی

تلفن: 021-82483422 نمابر: 021-26127281 پست الکترونیکی: m.jafari145@gmail.com

مقدمه

دiazinon یا دیمپلایت (Dimpylate)، یکی از ترکیبات مهم ارگانوفسفره است که به عنوان حشره کش در کشاورزی، باغبانی، دام پزشکی و منازل استفاده می شود. در سال های اخیر از این سم به طور وسیع برای کنترل کرم ساقه خوار برنج و همچنین به عنوان داروی ضد انگل استفاده می گردد. Diazinon بعد از جذب در خاک، به میزان کمی توسط نور و در محیط های آبی به سرعت تخریب می گردد. نیمه عمر این سم ممکن است در خاک های معدنی هوازی بیش از یک ماه باشد و می تواند به صورت فعال بیولوژیکی، 6 ماه یا بیشتر در خاک باقی بماند. Diazinon از طریق پوست، دستگاه گوارش و مسیر هوایی (در صورت تبخیر) جذب شده و به سرعت در زمان کوتاهی در کبد توسط آنزیم های میکروزومی، اکسید شده و به Diazoxon تبدیل می شود (1-3).

اثرات سمی ارگانوفسفره ها توسط چند مکانیسم در سطح سلول القا می شود. 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 می شود (3، 4). همچنین ارگانوفسفره ها با افزایش تولید رادیکال های آزاد، باعث القای استرس اکسیداتیو و در نهایت مرگ سلولی می گردد (1، 3-5). با توجه به اینکه آنتی اکسیدان ها قادرند با افزایش تولید رادیکال های آزاد مقابله کنند، استفاده از آنها می تواند برای کاهش سمیت ارگانوفسفره ها مفید باشد. ویتامین های E (آلفا - توکوفرول) و C (اسید آسکوربیک) و N-استیل سیستئین (NAC)، سه آنتی اکسیدان مهم هستند که در پاکسازی رادیکال های آزاد شرکت می کنند (3، 6). چندین مطالعه نشان دادند که NAC و ویتامین های E و C می توانند سمیت سلولی ارگانوفسفره ها را کاهش دهند و از تغییرات بعضی از پارامترهای بیوشیمیایی جلوگیری کنند (3، 6-8). مطالعات قبلی اثر حفاظتی NAC و آلفا - توکوفرول را در کاهش استرس اکسیداتیو القا شده توسط Diazinon خوراکی

بعد از 4 هفته را نشان دادند (9، 10). Pena-Llopis و همکاران نشان دادند که تزریق داخل صفاقی NAC قبل از تجویز دی کلروس به ماهی، باعث افزایش فعالیت سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی بدن می شود (11).

به منظور مقابله با اثرات ناخوشایند ارگانوفسفره ها، شناخت مکانیسم عمل دقیق آن برای تولید داروهای جدید و به کارگیری روش های درمانی مناسب و در نهایت به حداقل رساندن صدمات و تلفات، لازم و ضروری است. با توجه به پاسخ های مختلف سیستم آنتی اکسیدان بدن به انواع مختلف ارگانوفسفره ها در بافت های مختلف و همچنین اثرات مختلف آنتی اکسیدان ها بر این سمیت، مطالعات تکمیلی برای درک عملکرد این ترکیبات ضروری می نماید. با وجود مطالعات مختلف روی نقش این آنتی اکسیدان ها بر روی کاهش سمیت ارگانوفسفره ها (6-11)، مقایسه خواص آنتی اکسیدانی این آنتی اکسیدان ها و Diazinon به صورت داخل صفاقی بر روی نشانگرهای زیستی استرس اکسیداتیو در بافت طحال انجام نشده است.

طحال به دلیل داشتن ماکروفاژ فراوان و تولید لنفوسیت ها، نقش مهمی در سیستم ایمنی و دفاعی بدن ایفا می کند. با توجه به اهمیت بافت طحال، عوامل شیمیایی مختلف می تواند باعث تغییر عملکرد طحال شوند (12). در مطالعه حاضر، خواص آنتی اکسیدانی NAC و ویتامین های E و C در کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از Diazinon در بافت طحال موش صحرایی، با سنجش شاخص های استرس اکسیداتیو مقایسه شد.

روش تحقیق

این مطالعه تجربی بر روی 48 سر موش صحرایی نر از نژاد ویستار در محدوده وزنی 200-250 گرم انجام شد. موش ها در شرایط 12 ساعت نور و 12 ساعت تاریکی در دمای $22 \pm 2^\circ\text{C}$ ، در محل نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا... نگهداری شدند. دسترسی

استیک اسید (EDTA) 0/1 مولار در سدیم سیانید 0/3 میلی مولار و نیتروبولوتترازولیم 1/5 میلی مولار در یک کووت اضافه و بعد از مخلوط کردن به مدت 5 دقیقه، در دمای 37°C قرار گرفت؛ سپس ریوفلاوین 0/12 میلی مولار در بافر فسفات پتاسیم 0/067 مولار با $\text{pH}=7/8$ اضافه و به مدت 12 دقیقه در درجه حرارت اتاق قرار گرفت. جذب در طی 5 دقیقه در طول موج 560 نانومتر قرائت شد و فعالیت ویژه بر حسب واحد بر میلی گرم پروتئین محاسبه شد.

برای اندازه گیری فعالیت آنزیم کاتالاز، از روش Abei استفاده شد (14). واکنش، با اضافه کردن H_2O_2 30 میلی مولار به حجم مناسبی از عصاره نمونه بافتی در بافر فسفات سدیم 50 میلی مولار با $\text{pH}=7$ ، شروع شد؛ سپس جذب در طی 3 دقیقه در طول موج 240 نانومتر قرائت شد. فعالیت ویژه بر حسب واحد بر میلی گرم پروتئین محاسبه شد.

اندازه گیری فعالیت گلوکوتاتیون S- ترانسفراز (GST) به روش Habig انجام شد (15). یک میلی لیتر محلول واکنش حاوی بافر فسفات پتاسیم 50 میلی مولار با $\text{pH}=7/4$ شامل: EDTA یک میلی مولار، GSH 20 میلی مولار و 1- کلرو 2، 4 دی نیترو بنزن 20 میلی مولار است. واکنش با اضافه کردن حجم معینی از عصاره بافتی شروع شد. تغییرات جذب در طول موج 340 نانومتر در طی 5 دقیقه قرائت گردید. فعالیت ویژه بر حسب واحد بر میلی گرم پروتئین بیان شد.

اندازه گیری فعالیت آنزیم لاکتات دهیدروژناز (LDH) با استفاده از کیت پارس آزمون انجام شد. 10 میکرو لیتر نمونه با یک میلی لیتر از محلول مخلوط شده 1 و 2 موجود در کیت، اضافه و اختلاف جذب بین صفر و 3 دقیقه در طول موج 340 نانومتر قرائت شد. فعالیت آنزیم بر حسب واحد بر میلی گرم پروتئین محاسبه گردید.

برای سنجش میزان مالون دی آلدئید (MDA) به عنوان محصول نهایی پراکسیداسیون لیپیدها، از روش Satho استفاده شد (16). به حجم معینی از عصاره بافتی، 1/5 میلی لیتر TCA 10 درصد اضافه شد و به مدت 10 دقیقه

حیوانات به آب و غذا آزاد بود. موازین اخلاقی کار با حیوان های آزمایشگاهی که مورد تأیید کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی بقیه ... (عج) بود، هنگام کار با موش های آزمایشگاهی رعایت شد.

حیوان ها به روش تصادفی به 8 گروه (در هر گروه 6 سر) تقسیم شدند که عبارت بودند از: 1) گروه کنترل که روغن ذرت را به عنوان حلال Diazینون دریافت کردند؛ 2) گروه دریافت کننده 100mg/kg Diazینون؛ 3) گروه دریافت کننده 150mg/kg NAC؛ 4) گروه دریافت کننده 200mg/kg ویتامین E؛ 5) گروه دریافت کننده Diazینون به همراه NAC؛ 6) گروه دریافت کننده Diazینون به همراه ویتامین E و 8) گروه دریافت کننده Diazینون به همراه ویتامین C که به طور هم زمان Diazینون را به همراه آنتی اکسیدان ها یکبار و تک دوز به صورت داخل صفاقی دریافت کردند.

کلیه مواد شیمیایی مورد نیاز، با درجه خلوص بالا از شرکت Merck و Sigma (آلمان) خریداری شد. NAC، ویتامین C و ویتامین E از شرکت Sigma و Diazینون از شرکت Supelco آمریکا خریداری گردید. Diazینون با غلظت 400mg/ml NAC با غلظت 160mg/ml ، ویتامین E با غلظت 600mg/ml در روغن ذرت و ویتامین C با غلظت 200mg/ml در آب مقطر به صورت تازه تهیه شد.

24 ساعت بعد از تزریق، با بیهوش نمودن حیوان ها به وسیله اتر، بافت طحال خارج گردید و بعد از شستشو با سرم فیزیولوژی و خارج شدن خون، به نیتروژن مایع انتقال داده شد؛ سپس در دمای 70°C - تا زمان انجام آزمایش نگهداری شد. در روز آزمایش، بافت ها به دقت توزین و با نسبت 1 به 10 در بافر فسفات سالین هموژنه شد و به مدت 15 دقیقه با دور 16000g در دمای 4°C سانتریفوژ گردید. از مایع رویی برای سنجش شاخص های مورد نظر استفاده شد.

فعالیت آنزیم SOD به روش Winterbourn سنجیده شد (13). حجم مناسبی از بافت هموژنه اتیلن دی آمین ترا

گاوی (BSA) محاسبه گردید.

تجزیه و تحلیل اطلاعات با استفاده از نرم افزار InStat (ویرایش 3/3) با کمک آزمون‌های آماری آنالیز واریانس یک طرفه به همراه تست توکی انجام شد. $P < 0/05$ مرز معنی دار بودن اطلاعات در نظر گرفته شد و نتایج به صورت $\text{Mean} \pm \text{SEM}$ بیان شد.

یافته‌ها

نتایج حاصل از اثر دیازینون، NAC و ویتامین‌های C و E به تنهایی و در ترکیب با هم بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان و LDH بافت طحال که در جدول یک ارائه شده است، نشان داد که دیازینون باعث افزایش معنی دار فعالیت آنزیم‌های SOD و GST ($P < 0/01$) و کاهش فعالیت آنزیم CAT ($P < 0/01$) بدون تغییر فعالیت آنزیم LDH در مقایسه با گروه کنترل شد. همچنین تجویز دیازینون با ویتامین‌های C و E، باعث افزایش فعالیت آنزیم GST در مقایسه با گروه کنترل گردید ($P < 0/05$). تغییر فعالیت آنزیم SOD در گروه دیازینون - ویتامین E و تغییر فعالیت آنزیم CAT در گروه دیازینون - NAC در مقایسه با گروه دیازینون، معنی دار بود ($P < 0/05$).

نتایج حاصل از اثر دیازینون، NAC و ویتامین‌های C و E به تنهایی و در ترکیب با هم بر غلظت‌های GSH و MDA اریتروسیت‌ها که در جدول 1 ارائه شده است، نشان داد که دیازینون باعث کاهش معنی دار غلظت GSH ($P < 0/01$) بدون تغییر در غلظت MDA و همچنین تجویز دیازینون با ویتامین‌های C و E باعث کاهش غلظت GSH ($P < 0/05$) در مقایسه با گروه کنترل شد. NAC به تنهایی باعث افزایش غلظت GSH گردید ($P < 0/05$). افزایش غلظت GSH در گروه‌های آنتی اکسیدان‌ها با دیازینون در مقایسه با گروه دیازینون معنی دار نبود.

سانتریفوژ گردید. سپس 1/5 میلی لیتر از مایع رویی برداشته و 2 میلی لیتر اسید تیوباریتوریک 0/67 درصد اضافه شد و به مدت 30 دقیقه در بن ماری جوش قرار داده شد. سپس 2 میلی لیتر n-بوتانل به محلول اضافه و بعد از ورتکس شدید، به مدت 15 دقیقه در 4000g سانتریفوژ شد. سپس جذب محلول رویی صورتی رنگ، در طول موج 532 نانومتر خوانده شد. غلظت مالون دی آلدئید با استفاده از 1 و 1 و 3 و 3 تترا اتوکسی پروپان به عنوان استاندارد تعیین شده و غلظت مالون دی آلدئید بر حسب نانومول بر میلی گرم پروتئین محاسبه شد. محلول استاندارد MDA در غلظت‌های 20 - 0/2 میکرومولار در اسیدسولفوریک 10 درصد تهیه شد.

برای سنجش میزان گلوکوتاتیون بافت، از روش Tietz استفاده شد (17). غلظت مناسبی از نمونه هموژنه با 10 میکرولیتر اسیدسولفوسالسیلیک 5 درصد مخلوط و به مدت 10 دقیقه در دمای 4 درجه سانتی گراد با دور 2000g سانتریفوژ شد. 100 میکرولیتر از محلول رویی برداشته شد و به 810 میکرولیتر دی سدیم فسفات 0/3 مولار اضافه شد. سپس با اضافه کردن 90 میکرولیتر دی تیو-بیس-نیتروبنزوئیک اسید 0/4 درصد محلول در سیترات سدیم 1 درصد، واکنش شروع گردید. تغییرات جذب در طول موج 412 نانومتر در طی 5 دقیقه قرائت شد. با استفاده از محلول گلوکوتاتیون یک میلی گرم بر میلی لیتر، منحنی استاندارد گلوکوتاتیون رسم گردید و غلظت گلوکوتاتیون بر حسب نانومول بر میلی گرم پروتئین محاسبه شد. محلول استاندارد گلوکوتاتیون در غلظت‌های 200 - 25 میکرومولار تهیه شد.

برای تعیین غلظت پروتئین از روش Bradford استفاده شد (18). حجم مناسبی از عصاره بافتی، به حجم یک میلی لیتر رسانده شد و 3 میلی لیتر از محلول Bradford به آن اضافه و به مدت 10 دقیقه انکوبه گردید؛ سپس در طول موج 595 نانومتر، جذب قرائت شد. غلظت پروتئین، با رسم منحنی استاندارد با استفاده از محلول 1mg/ml آلبومین سرم

جدول 1- مقایسه فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان و لاکتات دهیدروژناز (LDH) در بافت طحال موش صحرایی در بین گروه های کنترل و تیمار بعد از 24 ساعت

MDA U/mg protein	GSH U/mg protein	LDH U/mg protein	GST U/mg protein	CAT U/mg protein	SOD U/mg protein	پارامترها
9/59±0/82	37/85±1/75	111/38±3/90	113/26±5/44	17/08±0/80	33/24±1/45	کنترل
11/42±0/13	28/90±1/49**	94/46±4/41	145/13±5/17**	13/05±0/61**	41/06±1/72**	دiazینون
9/25±0/74	44/46±1/65*,#	114/33±3/72	116/66±4/31	18/82±0/84	33/26±1/09	NAC
9/41±0/76	37/39±1/28	115/05±4/92	118/44±5/96	17/66±0/56	32/39±1/46	ویتامین E
9/79±0/82	36/34±1/30	112/44±5/58	121/13±5/41	17/13±0/76	32/83±1/22	ویتامین C
11/56±0/81	32/72±1/29	101/05±4/69	132/22±4/49	16/25±0/49#	38/39±1/17	دiazینون - NAC
9/89±0/88	30/99±1/05*	102/01±4/85	138/29±4/32*	14/58±0/40	34/85±1/42#	دiazینون - ویتامین E
10/64±0/89	30/15±1/49*	99/97±5/85	139/32±5/17*	14/67±1/01	35/73±1/12	دiazینون - ویتامین C

نتایج به صورت Mean±SEM بیان شد. *P<0/05 و **p<0/01 نسبت به گروه کنترل معنی دار است. #P<0/05 نسبت به گروه ديازینون معنی دار است. NAC: N - استیل سیستین، SOD: سوپراکسید دیسموتاز، CAT: کاتالاز، GST: گلوکوتایون S- ترانسفراز و LDH: لاکتات دهیدروژناز، #P<0/001 نسبت به سه گروه ديازینون-آنتی اکسیدان معنی دار است.

بحث

افزایش فعالیت SOD ناشی از تجویز ديازینون، بیانگر فعال شدن سیستم دفاعی آنزیمی سلول برای خنثی نمودن رادیکال های آزاد تولید شده است. افزایش فعالیت SOD باعث کاهش رادیکال های سوپراکسید و افزایش میزان H_2O_2 شده و کاهش فعالیت آنزیم CAT منجر به عدم خنثی شدن H_2O_2 شده که در نهایت ممکن است موجب آسیب بافتی شود. تغییر فعالیت آنزیم های SOD و CAT بعد از استفاده از NAC و ویتامین های E و C، احتمالاً مربوط به توانایی این آنتی اکسیدان ها در حذف مستقیم ROS می باشد (7، 20).

مطالعات نشان دادند که به دنبال تجویز بعضی از ارگانوفسفره ها، فعالیت دو آنزیم SOD و CAT افزایش (1، 5، 7، 21) و یا کاهش (4، 6، 22) می یابد. 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 تیمار می باشد. چند مطالعه نشان دادند که ديازینون سبب افزایش فعالیت SOD و CAT کبد و کلیه و قلب و تجویز همزمان NAC و ویتامین های E و C باعث کاهش فعالیت این آنزیم ها می شود

نتایج این مطالعه نشان داد که ديازینون با افزایش فعالیت آنزیم های SOD و GST و کاهش فعالیت CAT و غلظت GSH، باعث القای استرس اکسیداتیو در بافت طحال می شود. تجویز NAC و ویتامین های E و C مانع تغییرات این پارامترها می شود. تجویز بعضی از ارگانوفسفره ها باعث تولید رادیکال های آزاد و آسیب به ساختمان و عمل ماکرومولکول های مختلف بدن می شود. برای خنثی کردن رادیکال های آزاد در بدن، آنزیم های آنتی اکسیدان نظیر: SOD و CAT فعال می شوند. آنزیم SOD آنیون های سوپراکسید را به H_2O_2 تبدیل می کند. آنزیم CAT باعث خنثی شدن H_2O_2 و تبدیل آن به آب و اکسیژن مولکولی می شود (19).

نتایج این مطالعه نشان داد که تجویز ديازینون باعث افزایش فعالیت آنزیم SOD و کاهش فعالیت آنزیم CAT در بافت طحال می شود. تجویز NAC و ویتامین های E و C، سبب کاهش فعالیت آنزیم SOD و افزایش فعالیت آنزیم CAT در مقایسه با گروه ديازینون گردید. در این مطالعه

نشان‌دهنده افزایش دفاع بدن در مقابل این سم است که با افزایش مصرف GSH همراه است (15). جبران کاهش گلوتاتیون می‌تواند ناشی از عمل NAC به‌عنوان پیش‌ساز گلوتاتیون و همین‌طور عملکرد مستقیم ویتامین‌های C و E در حذف رادیکال‌های آزاد باشد (20). چندین مطالعه نشان دادند که تجویز ارگانوفسفره‌های مختلف، باعث افزایش فعالیت GST و کاهش گلوتاتیون در بافت‌های مختلف شده و تجویز NAC و ویتامین‌های E و C باعث بهبود آن می‌شود (5، 9-11، 25).

نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد که دیازینون احتمالاً از طریق تولید رادیکال‌های آزاد و کاهش غلظت گلوتاتیون، باعث القای استرس اکسیداتیو در بافت طحال می‌شود. آنتی‌اکسیدان‌ها شامل NAC از طریق افزایش سنتز گلوتاتیون و ویتامین‌های E و C از طریق پاکسازی رادیکال‌های آزاد، باعث کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از دیازینون می‌شود. اگرچه مقایسه اثرات آنتی‌اکسیدانی هر سه آنتی‌اکسیدان نسبت به هم معنی‌دار نبود، اما با توجه به غلظت گلوتاتیون و فعالیت GST به نظر می‌رسد که خاصیت آنتی‌اکسیدانی NAC تا حدودی بیشتر از ویتامین E و C است.

تقدیر و تشکر

این مقاله برگرفته از طرح تحقیقاتی با کد 328 و کد اخلاق IR.bmsu.1393.184 است که با حمایت مالی مرکز تحقیقات آسیب‌های شیمیایی دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا... (عج) انجام شد. بدین‌وسیله از خانم‌ها فریده ایزدی و مریم صالحی و آقایان جواد رسولی و حسین مهدوی‌نسب برای همکاری در مراحل اولیه مطالعه و نیز از کلیه مسئولین مرکز تحقیقات آسیب‌های شیمیایی، تشکر و قدردانی می‌شود.

(3، 6، 21-24). Uner و همکاران نشان دادند تجویز فنتون به‌تنهایی و به‌همراه NAC، روی فعالیت SOD و CAT تأثیری ندارد (25).

افزایش تولید رادیکال‌های آزاد توسط دیازینون، منجر به افزایش پراکسیداسیون لیپیدهای غشا می‌شود که یکی از نشانگرهای زیستی شاخص آن MDA است. افزایش پراکسیداسیون لیپیدهای غشا، باعث تراوش آنزیم‌های سیتوزولی مثل LDH به داخل سرم می‌شود (6، 23). در مطالعه حاضر، تجویز دیازینون افزایش معنی‌داری را در میزان MDA و فعالیت LDH نشان نداد که نشان‌دهنده حضور استرس اکسیداتیو در مراحل اولیه است که هنوز منجر به پراکسیداسیون لیپیدها نگردیده است. مطالعات جعفری و همکاران (1391) و طهماسبی و همکاران (1391) نشان دادند که افزایش غلظت MDA و کاهش فعالیت LDH در بافت‌های طحال، مغز، قلب، کبد و کلیه، بعد از تجویز دیازینون و پاراکسون مشاهده می‌شود (4، 5). چندین مطالعه نشان دادند که تجویز ارگانوفسفره‌های مختلف نظیر: دیازینون، فن‌تیون و مالاتیون باعث افزایش غلظت MDA و کاهش فعالیت LDH شده و تجویز NAC و ویتامین‌های E و C باعث تعدیل این دو پارامتر می‌شود (7، 9، 22، 25).

گلوتاتیون از مهمترین آنتی‌اکسیدان‌های داخل سلولی است که برای پاکسازی مستقیم رادیکال‌های آزاد و همچنین به‌عنوان کوفاکتور برای آنزیم GST عمل می‌کند. GST از آنزیم‌های کمکی سیستم آنتی‌اکسیدان است که با اتصال GSH به مواد سمی، باعث تولید ترکیباتی با سمیت کمتر می‌شود. تخلیه GSH در نهایت باعث افزایش پراکسیداسیون لیپیدها می‌شود (4، 5).

در این مطالعه تجویز دیازینون سبب افزایش فعالیت GST و کاهش غلظت GSH در بافت طحال موش صحرایی شد و تجویز NAC و ویتامین‌های C و E سبب بهبودی این پارامترها گردید. افزایش GST در اثر تزریق دیازینون،

منابع:

- 1- Oruc E. Effects of diazinon on antioxidant defense system and lipid peroxidation in the liver of *Cyprinus carpio* (L.). *Environ Toxicol*. 2011; 26(6): 571-8.
- 2- Abdou HM, ElMzoudy 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(1-3): 273-8.
- 3- Tahmasebi K, Jafari M, Ahmadi A. Evaluation of oxidative stress biomarkers in rat Heart exposed to diazinon and vitamins E and C. *Ofogh-e-Danesh*. 2015; 21(1):13-9. [Persian]
- 4- 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(8): 638-47.
- 5- 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; 34(3): 876-87.
- 6- Tahmasebi K, Jafari M, Izadi F. Study of the Protective Role of N-acetyl Cysteine against Acute Diazinon-Induced Oxidative Stress in Rat Brain and Heart. *J Ardabil Univ Med Sci*. 2015; 15(2): 116-27. [Persian]
- 7- Yilmaz N, Yilmaz M, Altuntas I. Diazinon-induced brain toxicity and protection by vitamins E plus C. *Toxicol Ind Health*. 2012; 28(1): 51-7.
- 8- 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.
- 9- 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. [Persian]
- 10- 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; 17(2): 109-15.
- 11- Pena-Llopis S, Ferrando MD, Pe?a JB. Fish tolerance to organophosphate-induced oxidative stress is dependent on the glutathione metabolism and enhanced by N-acetylcysteine. *Aquat Toxicol*. 2003; 65(4): 337-60.
- 12- Khazaie S, Jafari M, Heydari J, Salem F. Investigation of response of spleen and erythrocytes antioxidant defense system to the effects of N-acetyl cysteine against paraoxon toxicity in rat. *Urmia Med J*. 2015; 26(3): 176-84. [Persian]
- 13- Winterbourn CC, Hawkins RE, Brian M, Carrell RW. The estimation of red cell superoxide dismutase activity. *J Lab Clin Med*. 1975; 85(2): 337-41.
- 14- Aebi H. Catalase in vitro. *Methods Enzymol* 1984; 105: 121-6.
- 15- Habig WH, Jakoby WB. Glutathion S-transferases (rat and human). *Methods Enzymol*. 1981; 77: 218-31.
- 16- Satho K. Serum lipid peroxide in cerebrovascular disorders determined by a new colorimetric method. *Clin ChimActa*. 1978; 90(1): 37-43.
- 17- 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(3): 502-22.
- 18- 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.
- 19- Rafieian-Kopaei M, Baradaran A, Rafieian M. Oxidative stress and the paradoxical effects of antioxidants. *J Res Med Sci*. 2013; 18(7): 629.
- 20- 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; 2(1): 79-88.
- 21- Abdallah FB, Gargouri B, Bejaoui H, Lassoued S, Ammar-Keskes L. Dimethoate-induced oxidative stress in human erythrocytes and the protective effect of vitamins C and E in vitro. *Environ Toxicol*. 2011; 26(3): 287-91.

- 22- 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.
- 23- 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; 12(11): 895-906. [Persian]
- 24- 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. [Persian]
- 25- Uner N, Sevgiler Y, Durmaz H, Piner P, Cinkiloğlu E. N-Acetylcysteine provides dose-dependent protection against fenthion toxicity in the brain of *Cyprinus carpio* L. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*. 2009; 150(1): 33-8.