

اثر حاد دیازینون بر سیستم آنتی‌اکسیدان بافت قلب موش صحرایی

صدیق احمدی^۱ PhD، مهوش جعفری^{*} MSc، علیرضا عسگری^۲ MSc، مریم صالحی^۳ MSc^{*} مرکز تحقیقات آسیب‌های شیمیایی و "گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه... (عج)، تهران، ایران^۱ گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه... (عج)، تهران، ایران^۲ مرکز تحقیقات فیزیولوژی ورزشی و "گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه... (عج)، تهران، ایران^۳ مرکز تحقیقات علوم اعصاب کاربردی و "گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه... (عج)، تهران، ایران

چکیده

اهداف: دیازینون از گسترده‌ترین سموم ارگانوفسفره است که در کشاورزی استفاده می‌شود. بعضی از سموم ارگانوفسفره سبب افزایش تولید رادیکال‌های آزاد و تخریب سیستم آنتی‌اکسیدان بدن می‌شوند. هدف این مطالعه بررسی اثر دیازینون بر سیستم آنتی‌اکسیدان قلب موش صحرایی بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه موش‌های نر نژاد ویستار نگهداری شده در یکی از دانشگاه‌های علوم پزشکی شهر تهران به صورت تصادفی در چهار گروه ۷ تایی قرار گرفتند. گروه کنترل روغن ذرت را به عنوان حلال دیازینون و ۳ گروه آزمایش دیازینون را در دوزهای ۳۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به صورت تزریق داخل صفاقی دریافت کردند. ۲۴ ساعت پس از تزریق حیوانات با اثر بی‌هوش شدند و بافت قلب جدا شد. بعد از هموژنه کردن بافت قلب، فعالیت آنزیم‌های سوپر اکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT)، گلوتاتیون S- ترانسفراز (GST) و لاکتات دهیدروژناز (LDH) و نیز میزان گلوتاتیون (GSH) و مالون دی‌آلدئید (MDA) اندازه‌گیری شد. تحلیل اطلاعات با استفاده از نرم‌افزار INSTAT و با آزمون‌های آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون توکی انجام شد.

یافته‌ها: فعالیت آنزیم‌های SOD، CAT و GST در دوزهای بالاتر از ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دیازینون افزایش داشت، ولی میزان GSH در مقایسه با گروه کنترل کاهش یافت. افزایش غلظت MDA و فعالیت آنزیم LDH در دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دیازینون معنی‌دار بود.

نتیجه‌گیری: دیازینون باعث القا تولید رادیکال‌های آزاد و استرس اکسیداتیو وابسته به دوز می‌شود. افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و تخلیه سطح گلوتاتیون نشان‌دهنده آسیب اکسیداتیو بافتی و افزایش سطح MDA ناشی از پراکسیداسیون لیپیدهای غشای قلب است.

کلیدواژه‌ها: استرس شغلی، کارکنان نظامی، پرسش‌نامه HSE

Acute effect of diazinon on the antioxidant system of rat's heart tissue

Ahmadi S.¹ PhD, Jafari M.* MSc, Asgari A. R.² MSc, Salehi M.³ MSc^{*} "Chemical Injuries Research Center" & "Department of Biochemistry, Faculty of Medicine",
Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran¹ Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran² "Sport Physiology Research Center" & "Department of Physiology, Faculty of Medicine",
Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran³ "Applied Neurosciences Research Center" & "Department of Biochemistry, Faculty of Medicine",
Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Abstract

Aims: Diazinon is one of the most frequent organophosphate (Ops) insecticides that is widely used in agriculture. Some OPs are capable to produce free radicals and induce disturbance in body antioxidant systems. The aim of this study is to evaluate the effects of diazinon on antioxidant system in rat's heart.

Materials & Methods: Male Wistar rats of One of Tehran medical universities were randomly divided into four 7-member groups. The control group received corn oil as diazinon solvent and three experimental groups received 30, 50 and 100 mg/kg of diazinon by intra-peritoneal injection. 24 hours after injection, the animals received ether anesthesia and heart tissue was removed. After heart tissue homogenization, 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 data was analyzed by INSTAT software using one-way variance analysis and Tukey's test.

Results: At doses higher than 30 mg/kg of diazinon, enhanced activities of SOD, CAT and GST were observed, while GSH level significantly decreased compared to the control group. MDA level and LDH activity increased at 100 mg/kg dose of diazinon.

Conclusion: Diazinon induces the production of free radicals and oxidative stress in a dose- dependent manner. The enhanced activity of antioxidant enzymes and depleted GSH content is indicative of oxidative tissue injury and the increased MDA level is indicative peroxidation of membrane lipids of heart.

Keywords: Diazinon, Antioxidant System, Rat, Heart Tissue

مقدمه

کلریپرفوس و سپرمتین بر کبد موش کوچک آزمایشگاهی، افزایش غلظت‌های سرمی شاخص‌های عملکرد کبدی و تغییر در شاخص‌های آنتی‌اکسیدان گزارش شده است [۱۲]. به دلیل تنوع استخلاف‌ها در ساختمان شیمیایی ارگانوفسفره‌ها و اثرات متفاوت روی بافت‌های مختلف، مطالعات تکمیلی به منظور درک مکانیزم عمل این ترکیبات ضروری است. مطالعات روی اثر دیازینون بر سیستم آنتی‌اکسیدان بافت‌ها در محیط زنده بسیار اندک است. هدف از مطالعه حاضر، بررسی اثر تجویز دوزهای حاد دیازینون بر شاخص‌های استرس اکسیداتیو در قلب موش صحرایی بود.

مواد و روش‌ها

این مطالعه روی موش‌های آزمایشگاهی نر نژاد ویستار با محدوده وزنی ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم انجام شد. حیوانات در مرکز نگهداری حیوانات آزمایشگاهی در یکی از دانشگاه‌های علوم پزشکی شهر تهران، تحت شرایط طبیعی نور، تاریکی، غذا و آب قرار گرفتند. موازین اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی که مورد تایید کمیته اخلاق دانشگاه بود، هنگام کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت شد. مواد شیمیایی مورد استفاده، شامل ۱-کلرو، ۲-دی‌نیتروبنزن (CDNB)، نیتروبلوتترازولیموم (NBT)، دی‌تی‌سویس-نیتروبنزنوئیک‌اسید (DTNB)، تری‌کلرواستیک‌اسید (TCA) و دیگر مواد شیمیایی مورد نیاز با درجه خلوص بالا از شرکت مرک و سیگما خریداری شدند. محلول ذخیره (استوک) دیازینون (Supelco؛ ایالات متحده) با غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در روغن ذرت به صورت تازه تهیه شد.

تیمار حیوانات: حیوانات به روش تصادفی به ۴ گروه (هر گروه ۷ سر) تقسیم شدند. گروه کنترل، روغن ذرت را به عنوان حلال و ۳ گروه آزمایشی دوزهای مختلف دیازینون (۳۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) را به صورت داخل صفاقی دریافت نمودند. ۲۴ ساعت بعد از تزریق با بیهوش نمودن حیوانات به وسیله اتر، بافت قلب خارج شد و بعد از شستشو با سرم فیزیولوژی و جدا کردن قسمت‌های زاید، به نیتروزن مایع انتقال یافت و سپس در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان انجام آزمایش نگهداری شد. در روز آزمایش، بافت مورد نظر، توزین و با نسبت ۱ به ۱۰ در بافر فسفات‌سالین هم‌وزن شده و سپس به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۱۲۰۰g در ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ شد. مایع رویی برای سنجش شاخص‌های مورد نظر مورد استفاده قرار گرفت.

سنجش فعالیت آنزیم SOD: فعالیت آنزیم SOD با روش ویتیربورن سنجیده شد [۱۳]. در یک کووت، به حجم مناسبی از بافت هم‌وزن، EDTA ۰/۱ مولار در سدیم سیانید ۰/۳ میلی‌مولار و NBT ۱/۵ میلی‌مولار اضافه شد و بعد از مخلوط کردن به مدت ۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس ریپرفلاوین ۰/۱۲ میلی‌مولار در بافر فسفات‌پتاسیم ۰/۰۶۷ مولار با $pH=7/8$

مسموم ارگانوفسفره به عنوان حشره‌کش در صنعت و مزارع کشاورزی مورد استفاده قرار می‌گیرند. گروهی نیز مانند تابون، سارین و مالاتیون در جنگ‌های شیمیایی به عنوان عوامل مخرب اعصاب به کار می‌روند [۱]. این ترکیبات، سالانه مسئول حدود ۱۰۰ هزار مسمومیت در دنیا هستند و در ایران یکی از علل مرگ‌ومیر ناشی از مسمومیت به شمار می‌آیند [۲]. این ترکیبات از طریق فسفریلاسیون اسیدآمین سرین در جایگاه فعال آنزیم کولین‌استراز موجب غیرفعال شدن این آنزیم می‌شوند. آنزیم فسفریله، غیرفعال بوده و قادر به هیدرولیز استیل‌کولین نیست. در نتیجه، منجر به تجمع استیل‌کولین در سیناپس‌های سیستم عصبی مرکزی و محیطی و تحریک بیش از حد سیناپس‌های کولینرژیک نیکوتینی و موسکارینی می‌شود [۳]. سرعت غیرفعال شدن (فسفریلاسیون آنزیم) و فعال شدن مجدد (دفسفریلاسیون آنزیم)، به طور قابل توجهی برای عوامل مختلف ارگانوفسفره متفاوت است و این امر مسئول اختلاف در سمیت ارگانوفسفره‌ها است [۴]. اکثر ترکیبات ارگانوفسفره در کبد توسط سیستم سیتوکروم P₄₅₀ از طریق دسولفوراسیون اکسیداتیو به متابولیت فعال سمی خود تبدیل می‌شوند. اثرات مخرب این ترکیبات ارگانوفسفره به مهار آنزیم محدود نمی‌شود، بلکه تاثیرات غیرکولینرژیک مانند آسیب به غشاهای سلول، تولید رادیکال آزاد و اختلال در سیستم آنتی‌اکسیدان نیز مشاهده شده است [۵].

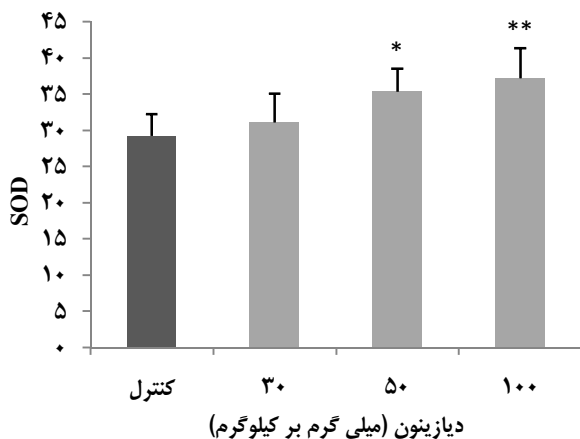
دیازینون از مهم‌ترین حشره‌کش‌های ارگانوفسفره است که از طریق تماس از راه پوست، دستگاه گوارش (خوردن، آشامیدن) و تنفس، جذب شده و به سرعت در زمان کوتاهی در کبد به دیازوکسون متابولیزه می‌شود. نیمه عمر دیازینون ممکن است در خاک‌های معدنی هواری بیش از یک ماه باشد، اما در محیط‌های آبی به سرعت تخریب می‌شود [۶]. در حالت طبیعی مقداری رادیکال آزاد در اثر فعالیت و متابولیسم سلول‌ها تولید می‌شود که به وسیله عوامل آنتی‌اکسیدان در بدن نظیر سوپراکسیددیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) و گلوکاتایون (GSH) خنثی می‌شود. بین این دو فرآیند در بدن تعادل وجود دارد. لذا هر عاملی که با تولید زیاد رادیکال آزاد یا کاهش آنتی‌اکسیدانت‌ها این تعادل را به هم بزند، در نهایت باعث استرس اکسیداتیو می‌شود و به دنبال آن، شرایط ایجاد تغییرات پاتولوژیک در سطح سلول‌ها به وجود می‌آید [۷، ۸].

مطالعات نشان می‌دهند که بعضی ارگانوفسفره‌ها از طریق تولید رادیکال‌های آزاد باعث استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپیدها در پستانداران می‌شوند [۹، ۱۰]. در اثر تجویز خوراکی مالاتیون به موش صحرایی، تغییر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و افزایش پراکسیداسیون لیپیدها در اریتروسیت، بزاق و پلاسما گزارش شده است [۲، ۱۰]. نتایج مشابهی با مطالعه اثر لیندن بر قلب موش صحرایی به دست آمده است [۱۱]. از طرف دیگر، با مطالعه اثر

میلی‌لیتر محلول ۰.۱- بوتانل به محلول فوق، اضافه و بعد از ورتکس شدید به مدت ۱۵ دقیقه در ۴۰۰g سانتی‌فیوژ شد. جذب محلول رویی صورتی‌رنگ در طول موج ۵۳۲ نانومتر قرائت شد. غلظت MDA با استفاده از ۱، ۳، ۳، ۳-تترا- اتوکسی‌پروپان (به‌عنوان استاندارد) تعیین شد.

تعیین غلظت پروتئین: برای تعیین غلظت پروتئین از روش برادفورد استفاده شد [۱۸]. حجم مناسبی از عصاره بافتی به حجم یک میلی‌لیتر رسانده شد. سپس ۳ میلی‌لیتر از محلول برادفورد به آن اضافه و به مدت ۱۰ دقیقه انکوبه شد و جذب آن در طول موج ۵۹۵ نانومتر قرائت شد. غلظت پروتئین با رسم استاندارد، با استفاده از محلول یک میلی‌گرم بر میلی‌لیتر آلبومین سرم گاوی (BSA) محاسبه شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها: تجزیه و تحلیل اطلاعات با استفاده از نرم‌افزار INSTAT و با استفاده از آزمون‌های آماری پارامتریک به‌صورت آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه به‌همراه آزمون توکی انجام شد. $p < 0.05$ مرز معنی‌دار بودن اطلاعات در نظر گرفته شد. نتایج به‌صورت میانگین \pm انحراف معیار بیان شدند.



نمودار ۱) اثر دوزهای مختلف دیازینون بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (واحد بر میلی‌گرم پروتئین) قلب موش صحرایی بعد از ۲۴ ساعت. $p < 0.05$ * و $p < 0.01$ ** نسبت به گروه کنترل، معنی‌دار است.

نتایج

فعالیت آنزیم SOD در دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دیازینون در مقایسه با گروه کنترل به‌طور معنی‌داری افزایش یافت و همچنین فعالیت این آنزیم در دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دیازینون در مقایسه با دوز ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌طور معنی‌دار افزایش پیدا کرد (نمودار ۱). افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در دوزهای بالاتر از ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دیازینون در مقایسه با گروه کنترل معنی‌دار بود و فعالیت آنزیم در دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در مقایسه با دوز ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (نمودار ۲).

اضافه شد و به مدت ۱۰ دقیقه در درجه حرارت اتاق قرار گرفت. جذب طی ۵ دقیقه در طول موج ۵۶۰ نانومتر قرائت شد. فعالیت ویژه برحسب واحد بر میلی‌گرم پروتئین محاسبه شد.

سنجش فعالیت آنزیم CAT: فعالیت آنزیم CAT با روش آئیبی سنجیده شد [۱۴]. به حجم معینی از عصاره بافتی، اتانول مطلق (۰/۰۱ میلی‌لیتر بر میلی‌لیتر) اضافه و به مدت نیم ساعت در یخ اینکوبه شد. سپس به آن، تریتون ۱۰۰-X ۱۰٪ با غلظت نهایی ۱٪ افزوده شد. این محلول به‌منظور اندازه‌گیری فعالیت آنزیم مورد استفاده قرار گرفت. واکنش با اضافه کردن H_2O_2 ۳۰ میلی‌مولار به حجم مناسبی از عصاره نمونه بافتی در بافر فسفات سدیم ۵۰ میلی‌مولار با pH=۷ شروع شد. سپس جذب طی ۳ دقیقه در طول موج ۲۴۰ نانومتر قرائت شد. فعالیت ویژه برحسب واحد بر میلی‌گرم پروتئین محاسبه شد.

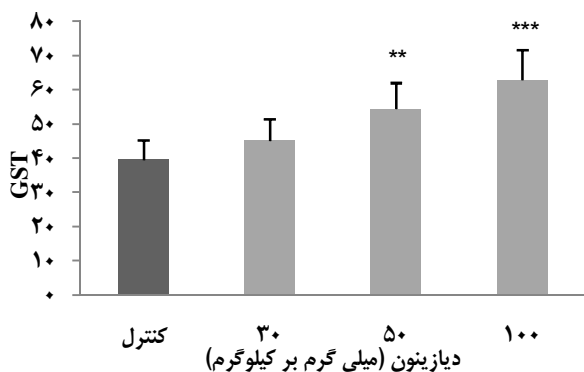
سنجش فعالیت آنزیم گلوکوتاتیون-S- ترانسفراز (GST): فعالیت آنزیم GST به‌روش هابیگ سنجیده شد [۱۵]. یک میلی‌لیتر محلول واکنش حاوی بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار با pH=۷/۴ شامل EDTA یک میلی‌مولار، GSH ۲۰ میلی‌مولار و CDNB ۲۰ میلی‌مولار بود. واکنش با اضافه کردن حجم معینی از عصاره بافتی شروع شد. تغییرات جذب در طول موج ۳۴۰ نانومتر طی ۵ دقیقه قرائت شد. فعالیت ویژه برحسب واحد بر میلی‌گرم پروتئین بیان شد.

سنجش فعالیت آنزیم لاکتات دهیدروژناز (LDH): فعالیت آنزیم LDH با استفاده از کیت مخصوص (پارس‌آزمون؛ ایران) مورد سنجش قرار گرفت. جذب نمونه‌ها طی ۳ دقیقه در طول موج ۳۴۰ نانومتر قرائت شد و فعالیت ویژه برحسب واحد بر میلی‌گرم پروتئین بیان شد.

تعیین غلظت GSH: برای تعیین میزان GSH بافت، روش تیتر مورد استفاده قرار گرفت [۱۶]. غلظت مناسبی از نمونه هم‌وزنه با اسیدسولفوسالسیلیک ۵٪ مخلوط شد و نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۲۰۰۰ g در ۴ درجه سانتی‌گراد سانتی‌فیوژ شدند. ۱۰۰ میکرولیتر از محلول رویی به ۸۱۰ میکرولیتر دی‌سدیم فسفات ۰/۳ مولار اضافه شد. سپس با اضافه کردن ۹۰ میکرولیتر معرف DTNB ۰/۰۴٪ در سیترات سدیم ۰/۱٪ واکنش شروع شد. تغییرات جذب در طول موج ۴۱۲ نانومتر طی ۵ دقیقه قرائت شد و با استفاده از محلول گلوکوتاتیون یک میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، منحنی استاندارد رسم و غلظت گلوکوتاتیون نمونه‌ها محاسبه شد.

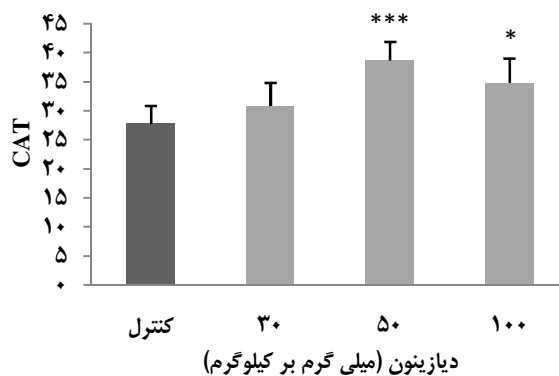
تعیین غلظت مالون‌دی‌آلدئید (MDA): برای تعیین محصول نهایی پراکسیداسیون لیپیدها (MDA) از روش ساتوه استفاده شد [۱۷]. ۰/۵ میلی‌لیتر از بافت هم‌وزنه با ۱/۵ میلی‌لیتر TCA ۱۰٪، مخلوط و به مدت ۱۰ دقیقه سانتی‌فیوژ شد. به ۱/۵ میلی‌لیتر از مایع رویی، ۲ میلی‌لیتر تیوباربی‌توریک‌اسید ۰/۶۷٪ اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه در بن‌ماری جوش قرار گرفت. سپس ۲

فعالیت آنزیم LDH در دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم دیازینون در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی داری کاهش یافت (نمودار ۳) و فعالیت آنزیم GST در دوزهای بالاتر از ۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم دیازینون در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی داری افزایش پیدا کرد (نمودار ۴). تغییر فعالیت هر دو آنزیم در دوزهای مختلف دیازینون در مقایسه با دوزهای دیگر معنی دار نبود.

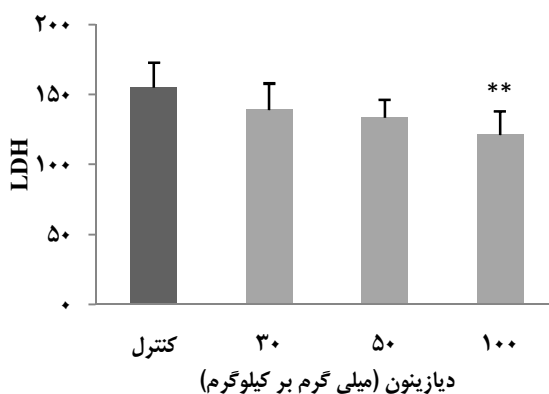


نمودار ۴) اثر دوزهای مختلف دیازینون بر فعالیت آنزیم گلوکوتایون-S-ترانسفراز (واحد بر میلی گرم پروتئین) قلب موش صحرایی بعد از ۲۴ ساعت. $p < 0.01$ و $p < 0.001$ نسبت به گروه کنترل معنی دار است.

غلظت GSH در دوزهای بالاتر از ۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم دیازینون در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی داری کاهش یافت. افزایش غلظت MDA در دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم دیازینون در مقایسه با گروه کنترل، معنی دار بود. غلظت MDA در دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم در مقایسه با دوز ۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم دیازینون به طور معنی داری افزایش پیدا کرد (جدول ۱).



نمودار ۲) اثر دوزهای مختلف دیازینون بر فعالیت آنزیم کاتالاز (واحد بر میلی گرم پروتئین) قلب موش صحرایی بعد از ۲۴ ساعت. $p < 0.05$ و $p < 0.001$ نسبت به گروه کنترل، معنی دار است.



نمودار ۳) اثر دوزهای مختلف دیازینون بر فعالیت آنزیم لاکتات دهیدروژناز (واحد بر میلی گرم پروتئین) قلب موش صحرایی بعد از ۲۴ ساعت. $p < 0.01$ نسبت به گروه کنترل معنی دار است.

جدول ۱) اثر دوزهای مختلف دیازینون (میلی گرم بر کیلوگرم) بر غلظت GSH و MDA (نانومول بر میلی گرم پروتئین) قلب موش صحرایی بعد از ۲۴ ساعت.

دوزهای مختلف دیازینون				گروه ← ماده ↓
۱۰۰	۵۰	۳۰	کنترل	
۶/۹۸۷±۱/۷۵۹*	۷/۷۵۳±۱/۳۴*	۸/۴۵۹±۱/۰۷۲	۱۱/۰۱۱±۱/۹۴۳	GSH
۱۱/۸۴۲±۰/۹۴۶*	۱۰/۴۳۰۷±۱/۰۴۸	۱۰/۰۱۳۸±۱/۰۸۳	۹/۹۸۶±۰/۸۳۵	MDA

$p < 0.05$ و $p < 0.01$ نسبت به گروه کنترل، معنی دار است.

به صورت حاد در دوزهای بالاتر از ۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های SOD و CAT می‌شود. افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان بیانگر مقابله بافت هدف در جلوگیری از ایجاد استرس اکسیداتیو است. افزایش فعالیت SOD با تبدیل رادیکال سوپراکسید به H_2O_2 باعث افزایش میزان H_2O_2 و کاهش رادیکال‌های سوپراکسید شده و افزایش فعالیت CAT باعث کاهش میزان H_2O_2 و جلوگیری از آسیب بافتی می‌شود [۷، ۸]. نتایج این تحقیق موافق نتایج مطالعاتی است که نشان می‌دهند مصرف دیازینون، مالاتیون، پاراکسون، کلروپیریفوس و لیندان توسط موش صحرایی موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های SOD و

بحث

بافت قلب به صورت یک پمپ، عمل خون‌رسانی به سایر بافت‌ها را انجام می‌دهد. ماهیچه قلب نمی‌تواند اکسیژن را برای استفاده، ذخیره کند، در حالی که برای عمل مناسب قلب باید پیوسته، اکسیژن و سایر مواد مغذی تامین شوند. از طرفی دیگر، میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان این بافت در مقایسه با بافت‌های دیگر اندک است. به همین دلیل بافت قلب نسبت به استرس اکسیداتیو حساس‌تر است [۱۹، ۲۰]. نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که تجویز دیازینون

متیل‌پاراتیون (MP) در ماهی موجب کاهش گلو‌تاتیون در بافت‌های کبد، ماهیچه سفید و آبشش می‌شود [۳۹]. در مطالعه انجام‌شده توسط کاتال‌گول و همکاران، تری‌کلوروفن سطح GSH را در حدود ۶۶ تا ۷۹٪ در اریتروسیت‌های انسان کاهش داد [۴۳]. مطالعات خان و همکاران نیز نشان داد، مصرف سیپرمتین و مالاتیون در موش صحرایی موجب کاهش گلو‌تاتیون کبد می‌شود [۲۵].

MDA یکی از مهم‌ترین و رایج‌ترین مارکرهای پراکسیداسیون لیپیدی است که افزایش سطح آن، اختلال در مکانیزم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدان‌های غیرآزیمی و آزیمی را نشان می‌دهد [۴۴]. در مطالعه حاضر، تجویز دیازینون در دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌طور معنی‌داری باعث افزایش غلظت MDA شد که منجر به پراکسیداسیون لیپیدهای غشا و ایجاد استرس اکسیداتیو می‌شود. MDA یکی از آلدئیدهای مهم ناشی از پراکسیداسیون لیپیدهای غشا است. مطالعات نشان می‌دهند که تجویز خوراکی دی‌متوآت، متیل‌پاراتیون و مالاتیون به موش صحرایی موجب تغییر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و افزایش پراکسیداسیون لیپیدها در اریتروسیت می‌شود [۱۱، ۴۵]. به‌علاوه، با مطالعه اثر دیازینون بر بافت‌های مختلف ماهی، در بعضی بافت‌ها افزایش MDA (آبشش، ماهیچه و لوله گوارش) و در بعضی عدم تغییر (کلیه) مشاهده شده است [۴۶].

نتیجه‌گیری

اثر دیازینون روی سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدان قلب در یک طرح وابسته به دوز است. افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان احتمالاً ناشی از افزایش ظرفیت سم‌زدایی بافت قلب بوده و کاهش میزان گلو‌تاتیون نشان‌دهنده نارسایی سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدان برای مقابله با رادیکال آزاد است. افزایش میزان MDA می‌تواند ناشی از پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی و آسیب اکسیداتیو بافت قلب باشد.

منابع

- 1- Storm JE, Rozman KK, Doull J. Occupational exposure limits for 30 organophosphate pesticides based on inhibition of red blood cell acetylcholinesterase. *Toxicology*. 2000;150:1-29.
- 2- Abdollahi M, Mostafalou S, Pournourmohammadi S, Shadnia S. Oxidative stress and cholinesterase inhibition in salvia and plasma of rats following subchronic exposure to malathion. *Comp Biochem Physiol*. 2004;137:29-34.
- 3- Shadnia SH, Azizi E, Hosseini R, Khoei S, Fouladdel SH, Pajoumand A, et al. Evaluation of oxidative stress and genotoxicity in organophosphorus insecticide formulators. *Hum Exp Toxicol*. 2005;24(9):439-45.
- 4- Singh B, Dogra TD, Tripathi CB. A study of serum cholinesterase activity in agricultural and industrial workers occupationally exposed to organophosphates insecticides. *Int J Med Toxicol*. 2002;5:2-5.
- 5- Zhang HX, Sultatos LG. Biotransformation of the organophosphorus insecticides parathion and methyl

CAT در بافت‌های مغز، قلب و اریتروسیت می‌شود [۱۱، ۲۱، ۲۲، ۲۳، ۲۴، ۲۵]. در حالی که مطالعات دیگر کاهش فعالیت آنزیم‌های SOD و CAT در بافت‌های مختلف را نشان می‌دهند [۲۶، ۲۷، ۲۸، ۲۹]. این اختلاف نتایج در مطالعات مختلف ناشی از نوع، نژاد و گونه حیوان، نوع سم و بافت، مسیر تجویز ماده سمی، دوز و زمان مواجهه است.

در مطالعه حاضر، فعالیت LDH قلب در دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دیازینون به‌طور معنی‌داری تغییر یافت. LDH آنزیمی سیتوپلاسمی است که به‌عنوان مارکر برای بررسی سمیت یک ماده شیمیایی و بررسی آسیب سلولی مورد استفاده قرار می‌گیرد و غلظت این آنزیم با میزان مرگ و لیز سلولی رابطه مستقیم دارد [۳۰]. مطالعات حیوانی، افزایش فعالیت LDH پس از مسمومیت با سیپرمتین [۳۱]، دیازینون [۳۲]، لیندان [۳۳] و کلرپیریفوس [۳۴] را نشان داده‌اند، در حالی که تجویز اندوسولفان به ماهی موجب کاهش فعالیت LDH کبد و عضله اسکلتی می‌شود [۳۵]. نتایج مختلف می‌تواند ناشی از اختلاف در غلظت سم مورد استفاده، نوع بافت و حتی ایزوآنزیم‌های خاص LDH باشد.

آنزیم GST با استفاده از GSH باعث افزایش حلالیت سموم و دفع آنها از بدن می‌شود. بنابراین نقش مهمی در محافظت بافت‌ها علیه آسیب و استرس اکسیداتیو دارد [۳۶]. در این مطالعه، دیازینون در دوزهای بالاتر از ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم موجب افزایش فعالیت آنزیم GST در بافت قلب شد. این افزایش نشان‌دهنده افزایش مصرف GSH و افزایش دفاع بدن در مقابل این سم به‌منظور خنثی‌سازی آن است [۳۱]. مطالعات دیگر نیز نشان می‌دهند که به‌دنبال تجویز بعضی از ارگانوفسفره‌ها، فعالیت GST بدون تغییر می‌ماند [۳۷] یا این که افزایش [۲۷، ۳۸، ۳۹] یا کاهش [۲۵] نشان می‌دهد. معمولاً دوزهای کم سموم منجر به افزایش و دوزهای بالای آن باعث مهار فعالیت آنزیم‌ها می‌شوند.

گلو‌تاتیون می‌تواند به‌طور مستقیم یا به‌عنوان سوبسترای آنزیم‌های گلو‌تاتیون‌پراکسیداز و گلو‌تاتیون-S- ترانسفراز در سم‌زدایی پراکسیدهدیروژن، لیپیدهدیروپراکسیدها و ترکیبات الکتروفیلیک شرکت نماید. تخلیه گلو‌تاتیون ممکن است منجر به افزایش پراکسیداسیون لیپیدها، آسیب به DNA، توقف تکامل و کاهش مقاومت در برابر آسیب اکسیداتیو شود [۴۰، ۴۱]. مطالعه حاضر نشان می‌دهد که تجویز دیازینون در دوزهای بالاتر از ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم موجب کاهش غلظت گلو‌تاتیون در بافت قلب می‌شود. کاهش GSH احتمالاً ناشی از افزایش فعالیت آنزیم‌هایی مانند گلو‌تاتیون‌پراکسیداز و GST است که به GSH نیاز دارند. کاهش GSH باعث افزایش سمیت دیازینون می‌شود. مطالعات بیوکوکورواغلو و همکاران نشان داد که مصرف فنتیون بعد از ۲۴ ساعت، سطح GSH ماهیچه انسان را کاهش می‌دهد [۴۲]. همچنین مطالعات موتتیرو و همکاران نشان داد که مصرف

- effects of black tea extract. *Clinica Chimica Acta*. 2005;358:131-8.
- 26- Altuntas I, Delibas N, Doguc D. Role of reactive oxygen species in organophosphate insecticide phosalone toxicity in erythrocytes in vitro. *Toxicol In Vitro*. 2003;17(2):153-7.
- 27- Amer M, Metwalli M, Abu El-Magd Y. Skin diseases and enzymatic antioxidant activity among workers exposed to pesticides. *East Mediterr Health J*. 2002;8(2-3):363-73.
- 28- Tuzmen N, Candan N, Kays E. Biochemical effects of chlorpyrifos and deltamethrin on altered antioxidative defense mechanisms and lipid peroxidation in rat liver. *Cell Biochem Funct*. 2008;26(1):119-24.
- 29- Yousef MI, Awad TI, Mohamed ETI. Deltamethrin, induced oxidative damage and biochemical alterations in rat and its attenuation by vitamin E. *Toxicology*. 2006;27(3):240-7.
- 30- Agrahari SH, Pandey KC, Gopal K. Biochemical alteration induced by monocrotophos in the blood plasma of fish, *Channa punctatus* (Bloch). *Pestic Biochem Physiol*. 2007;88(3):268-72.
- 31- Manna S, Bhattacharyya D, Mandal TK, Das S. Repeated dose toxicity of alfacypermethrin in rats. *J Vet Sci*. 2004;5(3):241-5.
- 32- Kalender S, Ogutcu A, Uzunhisarciki M. Diazinon on induced hepatotoxicity and protective effect of vitamin E on some biochemical indices and ultrastructural changes. *Toxicology*. 2005;211(3):197-206.
- 33- Etim OE, Farombi EO, Usoh IF. The protective effect of Aloe vera juice on linden induced hepatotoxicity and genotoxicity. *Pak J Pharm Sci*. 2006;19(4):337-40.
- 34- Ncibis, Ben Othman M, Akacha A. *Opuntia ficus indica* extract protects against chlorpyrifos induced damage on mice liver. *Food Chem Toxicol*. 2008;46:797-802.
- 35- Mishra R, Shukla SP. Endosulfan mediated effects on lactate dehydrogenase from the catfish. *Toxicol Lett*. 1998;95(1):145.
- 36- Habig WH, Pabst MJ, Jakoby WB. Glutathione s-transferases. *J Biol Chem*. 1974;249:7130-9.
- 37- Oruc E, Uner N. Combined effects of 2, 4 -d and azinphosmethyl on antioxidant enzymes and lipid peroxidation in liver of oreochromis niloticus. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*. 200;127(3):291-6.
- 38- Monterio DA, Almedia JA, Rantin FT. Oxidative stress biomarkers in the freshwater characid fish, *Brycon cephalus*, exposed to organophosphorus insecticide Folisuper 600 (methyl parathion). *Comp Biochem Physiol C Pharmacol Toxicol Endocrinol*. 2006;143(2):141-9.
- 39- Monteiro DA, Rantin FT, Kalinin AL. The effects of selenium on oxidative stress biomarkers in the freshwater characid fish *matrinxa*, *Brycon cephalus* exposed to organophosphate insecticide Folisuper 600 BR (methyl parathion). *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*. 2009;149(1):40-9.
- 40- Nordberg J, Arner E. Reactive oxygen species, antioxidant and the mammalian thioredoxin system. *Free Radic Biol Med*. 2001;31(11):1287-312.
- 41- Masella R, Benedetto RD, Vari R. Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: Involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. *J Nutr Biochem*. 2005;16(10):577-86.
- 42- Buyukokuroglu ME, Cemek M, Tosun M, Yurumez Y, Bas O, Yavuz Y. Dantrolen may prevent organophosphate induced oxidative stress and muscle injury. *Pestic Biochem Physiol*. 2008;92(3):156-63.
- 43- Catalgol BK, Ozden S, Alpertunga B. Effects of trichlorfon on malondialdehyde and antioxidant system in human erythrocytes. *Toxicol In Vitro*. 2007;21(8):1538-44.
- parathion in male and female rat livers perfuse in situ. *Drug Metab Dispos*. 1991;19(2):473-7.
- 6- Garfitt SJ, Jones K, Mason HJ, Cocker J. Exposure to the organophosphate diazinon: Data from a human volunteer study with oral and dermal doses. *Toxicol Lett*. 2002;134(1-3):105-13.
- 7- McCord JM. The evolution of free radicals and oxidative stress. *Am J Med*. 2000;108:652-9.
- 8- Mates JM, Perez-Gomez C, Decastro IN. Antioxidant enzymes and human diseases. *Clin Biochem*. 1999;32(8):595-603.
- 9- Saulsbury MD, Heyliger SO, Wang K. Chlorpyrifos induces oxidative stress in oligodendrocyte progenitor cells. *Toxicology*. 2009;259(1-2):1-9.
- 10- John S, Kale M, Rathore N, Bhatnagar D. Protective effect of vitamin E in dimethoate and malathion induced oxidative stress in rat erythrocytes. *J Nutr Biochem*. 2001;12(9):500-4.
- 11- Ananya R, Subeena S, Kumar DA, Kumar DT, Kumar MS. Oxidative stress and histopathological changes in the heart following oral lindane (gamma-hexachlorocyclohexane) administration in rats. *Med Sci Monit*. 2005;11(9):325-9.
- 12- Giordano G, Afsharinejad Z, Guizzetti M. Organophosphorus insecticides chlorpyrifos and diazinon and oxidative stress in neuronal cells in a genetic model of glutathione deficiency. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2007;219(2-3):181-9.
- 13- Winterbourn C, Hawkins R, Brian M. 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 WT, Jakoby WB. Glutathione s-transferases (rat and human). *Methods Enzymol*. 1981;77:218-31.
- 16- 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.
- 17- Satoh K. Serum lipid peroxidation in cerebrovascular disorders determined by a new colorimetric method. *Clin Chimica Acta*. 1978;90(1):37-43.
- 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- Bishop ML, Duben-Engelkirk J, Fody E. *Clinical chemistry*. 4th ed. Lippincott: Williams and Wilkins Publication; 2000.
- 20- Thirunavukkarasu V, Antitha Nandhini AT, Anuradha CV. Cardiac lipids and antioxidant status in high fructose rats and the effect of α -lipoic acid. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2004;14(6):351-7.
- 21- Altuntas L, Kilinc L, Orhan O. The effect of diazinon on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in erythrocytes in vitro. *Hum Exp Toxicol*. 2004;23(1):9-13.
- 22- Buyukokuroglu ME, Cemek M, Yurumez Y. Antioxidative role of melatonin in organophosphate toxicity in rats. *Cell Biol Toxicol*. 2008;24(2):151-8.
- 23- Ghani E, Mohmmadi M, Jafari M. Evaluation of oxidative stress index in brain tissue of rats after expose to paraoxon. *Kowsar Med J*. 2008;13(1):1-7. [Persian]
- 24- Kaur R, Sandhu HS. In vivo changes in antioxidant system and protective role of selenium in chlorpyrifos-induced subchronic toxicity in *bubalus bubalis*. *Environ Toxicol Pharmacol*. 2008;26(1):45-8.
- 25- Khan SM, Sobti RC, Kataria L. Pesticide induced alteration in mice hepato-oxidative status and protective

oreochromis niloticus. Pestic Biochem Physiol. 2006;84(3):215-26.

46- Oruc EO, Usta D. Evaluation of oxidative stress responses and neurotoxicity potential of diazinon in deferent tissues of Cyprinus carpio. Environ Toxicol Pharmacol. 2007;23(1):48-55.

44- Valavanidis A, Vlahogianni T, Dassenakis M, Scoullas M. Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants. Ecotoxicol Environ Saf. 2006;64(2):178-89.

45- Durmaz H, Sevgiler Y, Uner N. Tissue-specific antioxidative and neurotoxic responses to diazinon in