پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و دوم شماره ۹۷ بهمن سال ۱۳۹۱ (۲۰۶-۱۹۸)

بررسی اثر محافظتی ال-کارنیتین برسطح مالون دی آلدهید در لیپید پراکسیداسیون غشای سلولی در موش صحرایی مواجهه یافته با سم دیازینون

محمد شکرزاده[۱]
نعمت الله آهنگر[۱]
مهریار زرگری[۲]
زهرا گیلانی[۳]
امیر شادبورستان[۴]
محمود امیدی[۴]

چکیده

سابقه و هدف: دیازینون یک حشره‌کش ارگانوفسفره است که به میزان زیادی در باغبانی، کشاورزی و دامپروری کاربرد دارد. دیازینون می‌تواند از طریق دستگاه گوارش، سیستم تنفسی و پوست وارد بدن شود و باعث اخلال در فرایند احیاء، تغییر در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و افزایش پراکسیداسیون لیپیدی در بسیاری از ارگان‌ها شود. هدف از این مطالعه، بررسی اثر تحت مزمن مواجهه با سم دیازینون بر پراکسیداسیون لیپیدی غشای سلول و اثر محافظتی مصرف ال-کارنیتین بر این روند می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه از موش نر نژاد ویستار استفاده شده که به ۸گروه (هر گروه ۵ سر) تقسیم شدند. گروه کنترل (نرمال سالین)، دیازینون (۲۰ mg/kg)، ال-کارنیتین با دوزهای ۱۵۰mg/kg و ۱۰۰ و ۵۰ و ۳ گروه دیگر ترکیبی از دیازینون و هر یک از دوزهای ال-کارنیتین را به صورت داخل صفاقی (IP) به مدت ۴ هفته دریافت کردند. ۲۴ ساعت پس از آخرین تزریق، حیوانات توسط تزریق کتامین بیهوش شدند و ۲ml از خون قلب حیوانات خارج شد. سپس غلظت مالون دی آلدهید (MDA) بر حسب میکرومولار تیوباربیتوریک اسید با روش lappena محاسبه شد. اطلاعات با استفاده از رایانه وارد نرم افزار SPSS شد و با آزمون آماری کراسکال والیس و من ویتنی با سطح معنی‌داری ۰/۰۵ تفاوت بین گروه‌ها مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها: غلظت سرمی MDA در گروه دریافت کننده دیازینون نسبت به گروه کنترل (p= ۰/۰۰۹) افزایش معنی‌داری داشته است و هم چنین سطح سرمی MDA در گروه‌های دریافت کننده ترکیب دیازینون و دوزهای مختلف ال-کارنیتین نسبت به گروه دریافت‌کننده دیازینون، کاهش معنی‌داری را نشان می‌دهد (p= ۰/۰۱۴).

استنتاج: ال-کارنیتین باعث بهبود پراکسیداسیون لیپیدی تولید شده در بدن توسط سم دیازینون می‌شود و با کاهش سطح مالون دی آلدهید (MDA) در خنثی سازی رادیکال‌های آزاد ناشی از سم دیازینون مؤثر است.

واژه های کلیدی: دیازینون، استرس اکسیداتیو، لیپیدپراکسیداسیون، ال.کارنتین، مالون دی آلدهید

مقدمه

آفت‌کش‌ها نقش مهمی در کنترل آفات خصوصاً حشره‌کش‌های شیمیایی که امروزه استفاده می‌شوند در کشورهای در حال توسعه ایفا می‌کنند. همه یک نوع سم عصبی بوده و از طریق مسموم کردن سیستم

مؤلف مسئول: زهرا گیلانی- ساری: کیلومتر ۱۸ جاده خزر آباد، مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم، دانشکده داروسازی E-mail: Gilanizahra68@yahoo.com

۱. مرکز تحقیقات علوم دارویی، گروه سم شناسی/فارماکولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران

۲. گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران

۳. دانشجوی دکتری داروسازی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران

۴. دانشجوی کارشناسی ارشد سم شناسی، گروه سم شناسی/فارماکولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران

تاریخ دریافت : ۹۱/۸/۵ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۹۱/۹/۲۹ تاریخ تصویب : ۹۱/۱۱/۲

Archive of SID
www.SID.ir

عصبی ارگانیسم هدف عمل می‌کنند. با وجودی که سیستم عصبی مرکزی در حشرات پیشرفت زیادی کرده است با این حال مشابه سیستم عصبی مرکزی در پستانداران نمی‌باشد، در مقابل به نظر می‌رسد سیستم عصبی محیطی در آن‌ها چندان پیچیده نبوده و شباهت‌های زیادی را بهم نشان می‌دهند. بنابراین آفت‌کش‌ها غالباً در ایجاد سمیت در ارگان هدف اختصاصی نیستند و پستانداران از جمله انسان‌ها، به مسمومیت با این ترکیبات بسیار حساسند. حشره کش‌ها نسبت به سایر آفت‌کش‌ها سمیت حاد بالاتری در گونه‌های غیر هدف ایجاد می‌کنند. برخی از آن‌ها، مانند حشره‌کش‌های ارگانوفسفره، یکی از مهم‌ترین عوامل ایجاد مسمومیت و مرگ در گروه‌های بزرگ انسانی می‌باشند(۱). ترکیبات ارگانوفسفره برای اولین بار در آلمان و قبل از جنگ جهانی دوم ساخته شدند و امروزه، ۳۰۰۰۰۰ مورد مسمومیت شدید با این ترکیبات گزارش شده است. ارگانوفسفره‌ها در بین سایر حشره‌کش‌ها به عنوان قوی‌ترین سم برای مهره داردان مطرح هستند(۲). امروزه مصرف رایج این ترکیبات در محیط‌های عمومی و کشاورزی باعث ایجاد مسمومیت‌های حاد و مزمن شده و به عنوان یک آلاینده محیطی مطرح می‌باشند. به همین دلیل، نگرانی‌های عمومی در مورد تجمع این حشره‌کش‌ها در فرآورده‌های غذایی و آب مطرح می‌شود. مواجهه با این ترکیبات می‌تواند از طریق دستگاه گوارش، سیستم تنفسی و پوست باشد. مسمومیت می‌تواند به دلیل استفاده در مزارع کشاورزی، خودکشی و یا تماس اتفاقی با این مواد ایجاد شود(۳).

دیازینون (0,0-diethyl-0-[2-isopropyl-6-methyl-4-pyrimidin-yl] phosphorothionate) یک حشره‌کش ارگانوفسفره است که به صورت گسترده، در کشاورزی و دامپزشکی استفاده می‌شود و به عنوان یک مهارکننده برگشت ناپذیر آنزیم استیل کولین استراز مطرح است(۴). دیازینون پس از مالاتیون یکی از پرکاربردترین ترکیب ارگانوفسفره در جهان است(۵) آنزیم استیل کولین استرازنوروترانسمیتر استیل کولین را هیدرولیز می‌کند. علایم بالینی اصلی مسمومیت حاد با این نوع حشره کش‌ها ناشی از مهار برگشت ناپذیر فعالیت این آنزیم در خون و سیستم عصبی می‌باشد، بدین ترتیب تجمع استیل کولین و فعال شدن گیرنده‌های موسکارینی و نیکوتینی اتفاق می‌افتد که می‌تواند منجر به مرگ شود. سرعت تجمع استیل کولین به دوز حشره کش وابسته است. بنابراین هدف اصلی این ترکیبات، سیستم عصبی مرکزی و محیطی است. همچنین ارگانوفسفره‌ها باعث اخلال در فرآیند احیاء، تغییر در فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان و افزایش پراکسیداسیون لیپیدی در بسیاری از ارگان‌ها می‌شوند. ارگان‌هایی که می‌توانند توسط این ترکیبات تحت تأثیر قرار بگیرند شامل کبد،کلیه،عضله،سیستم ایمنی و سیستم خونی می‌باشد(۶). در برخورد مزمن و تحت مزمن مکانیسم اصلی سمیت با این ترکیبات به علت ایجاد استرس اکسیداتیو است(۷). در حالت طبیعی در اثر فعالیت و متابولیسم سلول‌ها مقداری رادیکال آزاد تولید می‌شود که به وسیله عوامل آنتی‌اکسیدان در بدن نظیر سوپر اکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) و گلوتاتیون (GSH) خنثی می‌شود. بین این دو فرآیند در بدن تعادل وجود دارد. لذا هر عاملی که باعث تولید رادیکال آزاد و یا کاهش آنتی‌اکسیدان‌ها شود، این تعادل را برهم می‌زند و در نهایت باعث ایجاد استرس اکسیداتیو شده و به دنبال آن، شرایط ایجاد تغییرات پاتولوژیک در بدن فراهم می‌آید(۸) ارگانوفسفره ها از جمله دیازینون به علت افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن و مهار اثرات آنتی‌اکسیدانی در ارگانیسم باعث ایجاد استرس اکسیداتیو می‌شوند(۹).

پراکسیداسیو نلیپیدی یک پدیده طبیعی است که به طور مداوم و در مقادیر کم در بدن اتفاق می‌افتد. این واکنش های پراکسیداسیو نیبرایسلول‌ها و غشای آن‌ها

Archive of SID
www.SID.ir

سمی هستند. با این حال به طور طبیعی توسط مکانیسم‌های بیولوژیک خنثی می‌شوند. استرس اکسیداتیو شدید در اثر ازدیاد تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن ایجاد شده و پراکسیداسیو نغیر قابل کنترلی ایجاد می‌کند که می‌تواند به سلول‌ها آسیب برساند. مهم‌ترین محصول نهایی رادیکال آزاد مالون دی آلدهید (MDA) است که یکی از محصولات پراکسیداسیون لیپیدها می‌باشد(۱۰). ال- کارنیتین (γ-trimethylamin-B-hydroxy butyric acid) یک ماده طبیعی است که از دو اسید امینه لیزین و متیونین ساخته می‌شود. به علاوه، ال ـ کارنیتین در کبد و کلیه تولید شده و سپس به عضلات اسکلتی و قلبی منتقل می‌شود(۱۱) این ترکیب به عنوان یک حامل در انتقال اسیدهای چرب از غشای داخلی میتوکندری برای انجام روند بتا اکسیداسیون ایفای نقش می‌کند. در واقع این ترکیب به عنوان فاکتور اساسی برای برخی از آنزیم‌های دخیل در انتقال اسیدهای چرب بلند زنجیر مطرح است. همچنین، این ترکیب باعث خروج متابولیت‌های سمی از فضای داخلی میتوکندری می‌شود(۱۲).

ال کارنیتین به عنوان یک کاهنده رادیکال آزاد در بافت‌های انسان و آنتی اکسیدان مطرح است که اثرات آنتی‌اکسیدانی این ترکیب به علت پاکسازی رادیکال‌های هیدروکسیل و مهار تولید این رادیکال‌ها در سیستم واکنشی فنتون (Fenton) می‌باشد(۱۳) این ترکیب باعث مهار تجمع پلاکتی و تحریک تولید گلبول‌های قرمز شده(۱۴) و در تنظیم روند نسخه‌برداری DNA و مهار شکست DNA نقش دارد(۱۵). ال-کارنیتین باعث محافظت عضله قلب در برابر ایسکمی، انفارکتوس قلبی و بیماری‌های عضله قلب در نارسایی قلبی می‌شود(۱۶). ال- کارنییتن یک تثبیت کننده غشای سلول است که دارای اثر محافظتی بر بافت مغزی می‌باشد(۱۵). هم چنین، اثر محافظتی ال-کارنیتین به عنوان کاهنده رادیکال آزاد در روند پیری به اثبات رسیده است(۱۷). در این مطالعه اثر محافظتی ال- کارنیتین بر پراکسیداسیون لیپیدی در مواجهه تحت مزمن با سم دیازینون مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

دیازینون تکنیکال با درجه خلوص ۹۵ درصد از شرکت گل سم گرگان، ال- کارنیتین، تری کلرواستیک اسید (TcA)، بوتیلیتدهیدروکسی تولوئن (BHT)، تیوباربیتوریک اسید (TBA) و سدیم دودسیل سولفات (SDS) از شرکت مرک تهیه شد.

مطالعه حیوانی

این مطالعه روی موش‌های آزمایشگاهی نر نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۵۰-۲۰۰ گرم که از انسیتو پاستور خریداری شده بود انجام شد، حیوانات در محل نگهداری حیوانات آزمایشگاهی در دانشکده داروسازی تحت شرایط طبیعی تاریکی و روشنایی و آب و غذا قرار گرفتند. موزاین اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی در حین کار رعایت شد.

تیمار حیوانات

حیوانات به طور تصادفی به ۸ گروه (هر گروه ۵سر) تقسیم شدند و به مدت ۴هفته مواد شیمیایی (سم دیازینون و ال- کارنیتین) را به صورت داخل صفاتی (IP) دریافت کردند. گروه کنترل نرمال سالین، گروه دوم سم دیازینون با دوز ۲۰mg/kg (کنترل مثبت)، گروه سوم و چهارم و پنجم هر کدام به ترتیب دوزهای ۱۵۰mg/kg و ۱۰۰ و ۵۰ از ال کارنیتین را دریافت کردند. گروه های ششم و هفتم و هشتم هر کدام به ترتیب دوزهای ۱۵۰mg/kg و ۱۰۰ و ۵۰ از ال-کارنیتین را به همراه دیازینون (۲۰mg/kg) دریافت کرده‌اند. ۳ دوز متفاوت از داروی ال- کارنیتین بر اساس مطالعات قبلی انجام شده و مقالات موجود انتخاب شده است(۱۲،۱۸،۱۹).

Archive of SID

www.SID.ir

۲۴ ساعت بعد از آخرین تزریق، حیوانات توسط تزریق کتامین بیهوش شدند و حدود ۲ml از خون قلب حیوان خارج شد و به لوله آزمایش منتقل شد. نمونه‌ها در دور ۳۵۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شدند و سرم آن‌ها جدا گردید و تا زمان آزمایش در ۷۰ ـ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

برای اندازه گیری سطح مالون دی آلدهید (MDA) از روش LAPENNA استفاده شد(۲۰) بدین منظور، ۰/۵ml از سرم به لوله آزمایش درب دار منتقل شد. سپس ۰/۳ml از محلول TCA ٪۱۵ و ۰/۳ ml از محلول 0.25 HCL نرمال و ۰/۳۷۵ ml از محلول تیوباربیتوریک اسید به نمونه اضافه شد. سپس ۲/۵ mM از ماده BHT که در حداقل مقدار اتانول حل شده اضافه می‌شود. در ادامه مقدار ۰/۱ ml از ۸/۱ SDS درصد به نمونه اضافه شد و سپس نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در بن ماری با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند.

بعد از پایان انکوباسیون نمونه‌ها در دمای محیط قرار گرفتند تا سرد شوند.سپس نمونه‌ها با مقدار ۲ ml از حلال ان بوتانول استخراج شدند و در ادامه لوله‌ها در دور ۳۵۰۰ به مدت ۱۰دقیقه سانتریفیوژ شدند. در انتها جذب محلول رویی در طول موج ۵۳۲ نانومتر قرائت شد(۲۰) با مقایسه جذب حاصل با منحنی استاندارد غلظت MDA محاسبه شد و بر اساس میکرومولار تیوباربیتوریک اسید ارائه می‌شود.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

اطلاعات حاصل از گروه‌های مورد مطالعه ابتدا توسط رایانه وارد نرم‌افزار SPSSنسخه ۲۰شد و سپس با استفاده از آزمون آماری ناپارامتریک، کراسکال والیس مقایسه میانگین و انحراف معیار گروه‌ها محاسبه شد و در داخل گروه‌ها از آزمون من و یتنی استفاده شد و $p<۰/۰۵$ به عنوان معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در این مطالعه اثر محافظتی ال‌کارنیتین بر پراکسیداسیون لیپیدی غشای سلولی و سطح مالون دی آلدهید سرمی مورد بررسی قرار گرفت.در جدول شماره ۱ غلظت مالون دی آلدهید سرمی را بر حسب میکرومولار در گروه‌های مختلف به صورت میانگین و انحراف معیار نشان داده شده است.

سطح سرمی مالون دی آلدهید در گروه دریافت کننده دیازینون (۸/۰۴۵±۰/۷۸۶) نسبت به گروه دریافت کننده نرمال سالین (گروه کنترل ۰/۹۱۹ درصد ± ۳/۸۲۲) افزایش معنی‌داری نشان داده شده است ($p=۰/۰۰۹$) سطح سرمی MDA در گروه دریافت‌کننده دیازینون در مقایسه با گروه‌هایی که دوزهای ۵۰ mg/kg و ۱۰۰و ۱۵۰ ال کارنیتین (به ترتیب ۱/۶۴±۲/۶۹۸ و ۲/۱۴±۳/۰۶۱ و ۱/۷۵±۳/۵۷۲) را به تنهایی دریافت کرده‌اند نیز افزایش معنی‌داری نشان داده شده است ($p=۰/۰۱۴$).

همچنین، سطح سرمی MDA در گروه دریافت‌کننده دیازینون نسبت به گروه‌هایی که دوزهای مختلف ال کارنیتین را به همراه دیازینون دریافت کرده‌اند افزایش معنی داری نشان داده است ($p=۰/۰۱۴$).

در مقایسه سطح سرمی DA در گروه‌هایی که ال-کارنیتین با دوزهای مختلف را به تنهایی مصرف کردند نسبت به گروه‌های دریافت کننده دیازینون به همراه دوزهای مختلف ال- کارنیتین اختلاف معنی داری با استفاده از آزمون کروسکال والیس مشاهده نشد. تنها اختلاف اندکی بین میانگین غلظت‌ها وجود داشت که در مصرف ال کارنیتین و دیازینون کاهش اندکی در سطح سرمی MDA نسبت به ال کارنیتین به تنهایی مشاهده شد.

غلظت سرمیMDAدر مقایسه گروه‌های دریافت کننده دوزهای ۱۵۰mg/kg و ۱۰۰ و ۵۰ نسبت به یکدیگر اختلاف معنی داری نشان نداده است.

Archive of SID
www.SID.ir

جدول شماره ۱: میانگین غلظت سرمی مالون دی آلدهید (MDA) در حیوانات مورد مطالعه

گروه های تحت آزمایش	تعداد نمونه در هر گروه	میانگین غلظت MDA* بر حسب میکرومولار (mean ±SD)
نرمال سالین	۵	۳/۸۲۲±۰/۹۱۹
دیازینون	۵	۸/۰۴۵±۰/۷۸۶
ال کاریتین ۵۰mg/kg	۵	۲/۶۹۸±۱/۶۴
ال کاریتین ۱۰۰mg/kg	۵	۳/۰۶۱±۲/۱۴
ال کاریتین ۱۵۰mg/kg	۵	۳/۵۷۲±۱/۷۵
ال -کاریتین۵۰mg/kg +دیازینون	۵	۲/۴۱۴±۱/۵۸
ال -کاریتین۱۰۰mg/kg +دیازینون	۵	۲/۳۸۷±۱/۷۶
ال -کاریتین۱۵۰mg/kg +دیازینون	۵	۲/۳۶۴±۱/۶۳

غلظت MDA بر حسب میکرو کولار تیوباریتوریک اسید به صورت میانگین و انحراف معیار بیان شده است.

بحث

یافته‌های اخیر نشان می‌دهد مواجهه با ترکیبات سمی ارگانوفسفره از جمله دیازینون باعث افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود(۲۱). گونه های فعال اکسیژن (ROS) در اثر متابولیسم دیازینون توسط آنزیم‌های سیتوکروم P450 و زیر واحد 2c19 ایجاد می‌شوند. دیازینون هم چنین باعث تغییر هموستاز ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و در نتیجه تخلیه این ترکیبات می‌شود(۶). راه دیگر تولید Ros در مسمومیت با دیازینون شامل مهار فسفریلاسیون اکسیداتیو به علت مصرف گونه‌هایی با انرژی بالا است که مصرف این گونه‌ها با انرژی بالا باعث کاهش توانایی سلول در نگهداری سطح انرژی خود می‌شود؛ به همین دلیل Ros های بیشتری می‌توانند در اندام‌های دیگر تولید شوند. بنابراین اخلال در چرخه اکسیداسیون احیاء مکانیسم دیگری است که باعث تولید گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود(۲۲). مالون دی آلدهید، محصول نهایی پراکسیداسیون لیپیدی است که برای بررسی حضور گونه‌های فعال اکسیژن و ایجاد پراکسیداسیون لیپیدی اندازه‌گیری می‌شود(۲۱).

در مطالعه اخیر نشان داده شد که مصرف دیازینون با دوز ۲۰mg/kg باعث افزایش قابل توجه سطح سرمی MDA شده است.به طوری که سطح سرمی MDA در گروه‌های دریافت کننده دیازینون نسبت به گروه کنترل افزایش معنی داری داشته است (p=۰/۰۰۹). چندین مطالعه وجود دارد که در آن‌ها به بررسی ایجاد پراکسیداسیون لیپیدی توسط دیازینون پرداخته شده است(۲۱،۲۷-۲۳).

Oksay و همکارانش در مطالعه‌ای که به بررسی اثر محافظتی ان- استیل سیستئین بر روی اثر گنادوتوکسیک دیازینون بر تستیس موش‌های صحرایی پرداختند، نشان دادند که دیازینون به طور قابل توجهی باعث افزایش پراکسیداسیون لیپیدی در بافت تستیس و افزایش سطح MDA می‌شود. همچنین در این مطالعه نشان داده شد ان- استیل سیستئین به همراه دیازینون به طور قابل ملاحظه‌ای باعث کاهش سطح MDA شده است(۲۳).

Abdou و همکارانش نشان دادند که دیازینون می‌تواند در دوزهای متفاوت mg/kg ۲۰ و۱۲ و۱۰و۸ باعث افزایش قابل توجه سطح سرمی MDA و افزایش فعالیت آنزیم لاکتات دهیدروژناز در موش‌های صحرایی ماده شود(۲۴).

Dawood shah و همکارانش در مطالعه‌ای که به بررسی سمیت کلیوی دیازینون و مکانیسم عمل این ترکیب پرداختند نشان دادند که این سم می‌تواند به صورت وابسته به دوز باعث افزایش پراکسیداسیون لیپیدی سلول‌های کلیوی و افزایش سطح MDA در بافت کلیه شود(۲۵).

Rastogi و همکارانش در مطالعه‌ای که به بررسی میزان بروز استرس اکسیداتیو در کشاورزانی که با سموم ارگانوفسفره مواجه شدند پرداختند، نشان دادند که سموم ارگانوفسفره مورد مصرف در کشاورزی از جمله دیازینون باعث افزایش قابل توجه سطح سرمی MDA در خون تام کارگران و کاهش سطح آنتی اکسیدان‌های بدن مانند گلوتاتیون پراکسیداز می‌شوند(۲۶).

صالحی و همکارانش با بررسی اثر دیازینون بر آنزیم‌های آنتی اکسیدان و پراکسیداسیون لیپیدهای مغز موش صحرایی نشان دادند که به دنبال تجویز دیازینون در دوزهای بالاتر از ۵۰mg/kg فعالیت آنزیم LDH,GST,SOD در مقایسه با گروه کنترل به طور

Archive of SID

www.SID.ir

معنی‌داری افزایش یافت درحالی‌که میزان MDA فقط در دوزهای ۱۰۰mg/kg در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی‌داری داشت(۲۷).

جعفری و همکارانش در مطالعه خود به دو دسته موش‌های ماده نژاد Wistar و Norway دوزهای 25, 50, 100, 200 mg/kg از دیازینون تزریق کردند. ۲۴ ساعت بعد از تزریق، بافت‌های مغز، قلب و کبد خارج شده و مورد بررسی قرار گرفتند. در بررسی‌های بافتی نشان داده شد که در دوزهای بالا افزایش سطح MDA و بروز پراکسیداسیون لیپیدی در همه بافت‌ها مشاهده شد. میزان بروز پراکسیداسیون لیپیدی در بافت‌ها به صورت روبرو می‌باشد: مغز > قلب > کبد. هم چنین در این مطالعه مشخص شد که نژاد Wistar نسبت به سم دیازینون حساس‌تر از نژاد Norway می‌باشد(۲۸).

Akturk و همکارانش نشان دادند که دیازینون می‌تواند باعث افزایش قابل توجه سطح MDA و افزایش فعالیت آنزیم‌های SOD و کاتالاز در بافت قلب رت شود و همچنین کاهش اندکی در سطح MDA در مصرف هم زمان دیازینون با ویتامین‌های C وE نسبت به مصرف دیازینون به تنهایی مشاهده شده است(۲۱). در مطالعه ما نیز همانند این مطالعات نشان داده شده است که دیازینون باعث افزایش سطح سرمی MDA می‌شود. ترکیبات آنتی‌اکسیدان غیر آنزیمی مانند ال- کارنیتین می‌توانند باعث خنثی شدن اثرات سمی گونه‌های فعال اکسیژن شوند. در این مطالعه نشان داده شد که مصرف ال- کارنیتین در دوزهای مختلف باعث کاهش معنی‌داری در سطح MDA نسبت به گروه‌های دریافت کننده دیازینون شده است (p =۰/۰۱۴) مطالعات زیادی انجام شده است که در آن‌ها به بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی ال ـ کارنیتین پرداخته شده است(۱۲،۱۳،۱۹،۲۹،۳۰).

Augustyniak و همکارانش در مطالعه‌ای به بررسی اثر محافظتی ال- کارنیتین بر استرس اکسیداتیو ناشی از مصرف اتانول پرداختند.در این تحقیق نشان داده شده است که اتانول باعث افزایش سطح MDA در کبد و سرم می‌شود و مصرف ال- کارنیتین باعث کاهش سطح MDA به میزان ۳۰ درصد در کبد و ۱۰ درصد در سرم نسبت به گروه دریافت کننده اتانول می‌شود(۱۳).

Mansour و همکارانش در مطالعه‌ای به بررسی اثر محافظتی استیل ال- کارنیتین (ALC) بر استرس اکسیداتیو ناشی از اشعه گاما پرداختند و نشان دادند که ALC با دوز ۲۵۰mg/kg باعث کاهش قابل توجه سطح MDA در بافت کبد و ریه موش صحرایی در گروه‌هایی که 6Gy اشعه دریافت کرده بودند شد(۱۲).

Volek و همکارانش نشان دادند که ال- کارنیتین- ال- تارترات(LCLT) دارای اثر محافظتی بر استرس اکسیداتیو ناشی از ورزش‌های سنگین می‌باشد به طوری که LCLT بعد از گذشت ۱۵ دقیقه بعد از شروع ورزش باعث کاهش قابل توجه سطح MDA سرمی نسبت به گروه دریافت کننده پلاسبو شده است(۲۹).

Rani و همکارش در مطالعه خود به بررسی اثر پاکسازی رادیکال آزاد توسط ال-کارنیتین در روند پیری پرداختند. در این مطالعه موش‌های جوان و پیر به مدت ۲۱ و ۱۴ و ۷ روز مکمل ال- کارنیتین دریافت کردند و سپس از بافت مغز هموژنه برای بررسی سطح MDA استفاده شد. نتایج نشان می‌دهد که ال-کارنیتین باعث کاهش سطح MDA در مغز موش‌های صحرایی مسن شده درحالی‌که تغییر قابل توجهی در سطح MDA مغز موش‌های صحرایی جوان دیده نشده است(۱۹).

Fatouros و همکارانش در مطالعه خود به بررسی اثر محافظتی ال-کارنیتین بر استرس اکسیداتیو در ۱۲ مرد تحت همودیالیز پرداختند. نتایج حاکی از آن بود که ال-کارنیتین باعث کاهش قابل توجه سطح MDA (به میزان ۱۹ درصد) می‌شود(۳۰). نتایج مطالعه حاضر با نتایج حاصل از این تحقیقات که نشان دهنده این امر است که ال-کارنیتین توانایی کاهش دادن سطح سرمی MDA را دارا می‌باشد هم خوانی دارد. عملکرد

Archive of SID
www.SID.ir

آنتی‌اکسیدانی ال- کارنیتین در خنثی کردن اثر دیازینون، بیشتر از همه به توانایی این ترکیب در پاکسازی رادیکال‌های آزاد مربوط می‌شود. نشان داده است که ال- کارنیتین دارای توانایی در پاکسازی رادیکال‌های سوپر اکسید می‌باشد(۱۵) رادیکال سوپر اکسید نقش مهمی در تولید سایر رادیکال‌ها مانند H_2O_2 یا رادیکال هیدروکسیل و اکسیژن تک ظرفیتی دارد که می‌تواند باعث ایجاد آسیب در لیپیدها، پروتئین‌ها و DNA شود. عملکرد پاکسازی ال- کارنیتین به گروه کربونیل موجود در این ترکیب مربوط می‌شود که می‌تواند یک عامل رادیکالی را با مکانیسم کونژوگاسیون روی کربن آلفا پایدار کند(۳۱).

همچنین، مشخص شده است که ال-کارنیتین دارای توانایی پاک‌سازی H_2O_2 و رادیکال هیدروکسیل و مهار تولید رادیکال هیدروکسیل در سیستم واکنشی فنتون می‌باشد(۳۲). ال- کارنیتین هم چنین به عنوان یک شلاتور فلزات مطرح است که باعث اثرات آنتی‌پراکسیداتیو در این ترکیب می‌شود(۳۳) در واقع این ترکیب با استفاده از گروه‌های کربوکسیل و هیدروکسیل موجود در ساختار خود با یون‌های فلزی انتقالی کمپلکس می‌دهد. این عمل باعث کاهش غلظت یون‌های فلزی و در نتیجه کاهش تولید رادیکال‌های آزاد می‌شود(۱۱). ال- کارنیتین هم چنین باعث تنظیم فعالیت آنزیم‌هایی که علیه آسیب اکسیداتیو عمل می‌کنند شده و باعث حفاظت آنزیم‌های آنتی اکسیدان شامل گلوتاتیون پراکسیداز وکاتالازو سوپراکسید دیسموتاز از آسیب‌های پراکسیداتیو می‌شود(۳۴). همچنین در این مطالعه نشان داده شد که دوزهای ۱۵۰mg/kg، ۱۰۰ و ۵۰ از ال- کارنیتین نسبت به یکدیگر اختلاف معنی‌داری نداشتند و در واقع می‌توان گفت اثر محافظتی ال- کارنیتین بر پراکسیداسیون لیپیدی ناشی از سم دیازینون به صورت غیروابسته به دوز می‌باشد و افزایش دوز باعث افزایش اثر محافظتی این ترکیب نمی‌شود.

در پایان می‌توان نتیجه‌گیری کرد که اثرات محافظتی و آنتی‌اکسیدانی ال- کارنیتین می‌باشد. این اثرات احتمالاً از طریق پاکسازی رادیکال‌های آزاد و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان بدن ایجاد می‌شود. در این مطالعه نشان داده شد که ال ـ کارنیتیندر کاهش پراکسیداسیون لیپیدی ناشی از مواجهه با سم دیازینون مؤثر باشد.

سپاسگزاری

این مقاله، حاصل پایان نامه خانم زهرا گیلانی در دانشکده داروسازی در دانشگاه علوم پزشکی مازندران می‌باشد. لذا از تمام کسانی که ما را در انجام این تحقیق یاری کردند کمال تقدیر و تشکر را داریم.

References

1. Klaassen CD, Casarett and Doull`s toxicology, The basic science of poisoning. 2008; 22: 888-890
2. Rahimi R, Nikfar S, Abdollahi. Increase morbidity and mortality in acute human organophosphorate-poisoned patient treated by oximes: a meta-analysis of clinical trial. Hum exptoxicol 2006; 25: 157-162
3. Costa. Current issue in organophosphate toxicology. Clinchimacta 306 (2006): 1-13
4. Handy RD, Abed-el S, Bayomy MFF, Mahran AM, Abdeen AM, El-elaimy EA. Chronic diazinon exposure: pathologies of spleen, thymus, blood cells and lymph nodes are modulated by dietary protein or lipid in the mouse. Toxicology 2002; 172: 13-34
5. Hariri AT, Moallem S, Mahmoudi M, Memar B, Hosseinzadeh. Sub acute effect of safranol. Food and chemical toxicology 2010; 48: 2803-2808

Archive of SID

www.SID.ir

6. Lukaszewich H. Role of oxidative stress in organophosphate insecticide toxicity- short review. Pesticide biochemistry and physiology 2010; 8: 145-150
7. Rajbar A, Solhi H, Mashayekhi FJ, Susanabadi A, Rezaiec A, Abdollahi M. oxidative stress in acute human poisoning with organophosphate insecticide; a case control study. Environ toxicolpharmacol 2005; 20: 88-91
8. Ahmadi S, Jafari M, Asgari A, Salehi M. Acute effect of diazinon on the antioxidant system of rat`s heart tissue. Kowsar medical journal (in Persian) 2011; 16(2): 87-93
9. Chamber JE, Car RL, Boone S, Chamber HW. The metabolism of organophosphorus insecticide. Hand book of pesticide toxicology 2001; 2: 919-927
10. Nakai A, Oya A, Kobe H, Asakura H, Yokota A, Koshino T. Changesin maternal lipid peroxidation levels and antioxidant enzymatic activities before and after delivery. J Nippon Med Sch 2000; 67(6): 434-439.
11. Glucin I, Antioxidant and antiradical activities of l-carnitine. life sciences 2006; 78: 803-811
12. Mansour H. Protective role of carnitine ester against radiation-induced oxidative stress in rats. Pharmacological Research 2006; 54: 165-171
13. Augustiniak A, Skrzydlewska E. L-carnitine in the lipid and protein protection against ethanol-induced oxidative stress. Alcohol 2009; 43: 217-223
14. Kolodziejczyk J, Saluk- juszczakJ, Wachowich B. L-carnitine protect plasma components against oxidative alteration. Nutrition 2011; 27: 693-699
15. Canbaz H, Akca T, Tataroglu C, Caglikuleci M, Dirlik M, Ayaz L, Ustunsoy AB, Tasdelen B, Aydin S. The effect of exogenous l-carnitine lipid peroxidation and tissue damage in an experimental warm hepatic ischemia-reperfusion injury model. Current therapeutic Research 2007; 68
16. Berni A, Mechini R, Filippi S, Palitti F, Amicis AD, Chessa L. L-carnitine enhances resistance to oxidative stress by reducing DNA damage in Ataxia telangiectasia cells. Mutation Research. 2008; 650: 165-174
17. Kalaiselvi T, Panneerselvam C. Effect of l-carnitine on the status of lipid peroxidation and antioxidants in aging rats. J Nutr Biochem 1998; 9: 575-581
18. Bodea F, Bocea A, Decea N. L-carnitine decreases oxidative stress induced by experimental hypobaric hypoxia. Pediatric Endocrinology, Diabetes and Metabolism 2010; 16(2): 78-81
19. Rani P, Panneerselvam C. Carnitine as a free radical scavenger in aging 2001;36:1713-1726
20. Lapenna D, Ciofani G, Pierdomenico SD, Giamberadino MA, Cuccumllo F. Reaction condition affecting the relationship between thiobarbithuric acid reactivity and lipid peroxides in human plasma. Free Radical Biology and Medicine 2001; 31: 331-335
21. Akturk D, Demirin H, Sutcu R, Yilmaz N, Koylu H, Altuntas I. The effect of diazinon on lipid peroxidation and ameliorating role of vitamin E and C. Cell Biotoxol 2005; 22: 455-461
22. Milatovich D, Gupta RC, Aschner M. Anticholine esterase toxicity, oxidative stress. Sci World JG 2006; 6: 295-310
23. Oksay T, Naziroglu M, Ergun O, Dogan S, Ozatic O, Armagan A, Ozorak A, Celik O. N-acetyl cysteine attenuates diazinon-

Archive of SID
www.SID.ir

induced oxidative stress in rat testis. Andrologia 2012; 29

24. Abdou HM, Elmazoudy RH. Oxidative damage hyperlipidemia and histologic altrations of cardiac and skeletal muscles by different doses of diazinon in female rats. 2010; 182: 273.
25. Dawood shah M, Iqbal M, Diazinon-induced oxidative stress and renal dysfunction in rats. Food and Chemical Toxicology 2010; 48(12): 3345-3363.
26. Rastogi SK, Satyanarayan PVV, Ravishankar D, Tripathi S. A study on oxidative stress and antioxidants status of agricultural workers exposed to organophosphurus insecticides during spraying Indian J Occup Environ Med 2009; 13(3): 131-134
27. Salehi M, Jafari M, Asgari A, Moghaddam MS, Salimian M, Abbassnejad M. Study of diazinon effect on antioxidant enzymes and lipid peroxidation in rat`s brain. Iran University of Medical Science Journal (in Persian) 2010; 17(7): 15-22
28. Jafari, M., Salehi, M., Ahmadi, S., Asgari, A., Abasnezhad, M., Hajigholamali, M. The role of oxidativestress in diazinon-induced tissues toxicity in Wistar and Norway rats. Toxicology Mechanisms and Methods 2012; 22(8): 638-647
29. Volek JS, Keraemer WJ, Rubin MR, Gomez AL, Ratamess NA, Gaynor P. L-carnitine l-tarterate supplementation favorably affects marker of recovery from exercise stress. Expphysiol 2008; 93(10): 1139-1146
30. Fatouros GI, Douroudos I, Panagoutsos S, Pasadakis P, Nikolaidis GM, CHatzinikolaou A, et al. Effects of L-Carnitine on Oxidative Stress Responses in Patients with Renal Disease. Official Journal of the American College of Sports Medicine 2010
31. Pietta PG. Flavonoids as antioxidants. J Nat Prod 2000; 63: 1035-1042
32. Derin N, Izgutuysal VN, Agac A, Aliciguzel Y, Demir N. L-carnitine protects gastric mucosa by decreasing ischemia-reperfusion induced lipid peroxidation. J Physiol Pharmacol 2004; 55: 595-606.
33. Muthuswamy AD, Vedagiri K, Ganesan M, Chinnakannu P. Oxidative stress-mediated macromolecular damage and dwindle in antioxidant status in aged rat in brain regions: role of l-carnitine and DL-alpha-lipoic acid. ClinChimActa 2006; 368: 84-92.
34. Uchendu CH, Ambali SF, Ayo JO. The organophpsphate, chlorpyrifos, oxidative stress and the role of some antioxidants: A review. African Journal of Agricultural Research 2012; 7(18): 2720-2728

Archive of SID

www.SID.ir