مجله دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد/ دوره ۱۵، شماره ۴/ مهر و آبان ۱۳۹۲/ ۹۲-۸۳

مقاله پژوهشی

بررسی اثر پنتوکسی فیلین بر روی آسیب های میتوکندریایی القا شده توسط مالاتیون در کبد موش صحرایی نر

دکتر اکرم رنجبر[1]*، مریم بعیری[2]

[1]گروه داروشناسی و سم شناسی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران؛ [2]مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۱/۹/۸ اصلاح نهایی: ۹۲/۱/۲۵ تاریخ پذیرش: ۹۲/۲/۲

چکیده:

زمینه و هدف: **مالاتیون از حشره کش های ارگانوفسفره ای است که استرس اکسیداتیو را از طریق تولید رادیکال های آزاد و تغییر سیستم آنتی اکسیدانی ایجاد می نماید. هدف این مطالعه بررسی اثرات حفاظت احتمالی پنتوکسی فیلین (PTX) در آسیب اکسیداتیو القاء شده در اثر مالاتیون بر میتوکندری کبد موش صحرایی نر می باشد.**

روش بررسی: **در این مطالعه تجربی ۲۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم به طور تصادفی به ٤ گروه تقسیم شدند. گروه اول (شاهد) نرمال سالین، گروه دوم مالاتیون به میزان ۲۰۰mg/kg/day، گروه سوم پنتوکسی فیلین به میزان ۵۰ mg/kg/day و گروه چهارم پنتوکی فیلین و مالاتیون با هم دریافت نمودند. بعد از دو هفته درمان، بافت کبد و میتوکندری های آن جدا شدند. فعالیت آنزیم های کاتالاز (CAT)، سوپراکسیددیسموتاز (SOD)، میزان پراکسیداسیون لیپیدی (LPO) و درصد بقاء میتوکندری کبد اندازه گیری شد. داده ها با آزمون های آماری آنالیز واریانس یک طرفه و توکی در نرم افزار SPSS تحلیل شدند.**

یافته ها: **فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز در گروه مالاتیون به همراه پنتوکسی فیلین، نسبت به گروهی که فقط مالاتیون دریافت کردند، در کبد کاهش معنی داری نشان داد (P<۰/۰۵). مالاتیون فعالیت آنزیم CAT را در کبد به طور معنی داری در مقایسه با گروه شاهد افزایش داد (P<۰/۰۵). گروه هایی که پنتوکسی فیلین و مالاتیون با هم و پنتوکسی فیلین به تنهایی دریافت نمودند، نیز کاهش معنی داری در فعالیت این آنزیم در کبد نشان دادند (P<۰/۰۵). درصد بقاء میتوکندری در گروهی که پنتوکسی فیلین به تنهایی و مالاتیون به همراه پنتوکسی فیلین دریافت نمودند، نسبت به گروهی که مالاتیون دریافت کردند، افزایش معنی داری نشان داد (P<۰/۰۵).**

نتیجه گیری: **با توجه به نتایج فوق به نظر می رسد مکانیسم سمیت مالاتیون در کبد به وسیله مواد آنتی اکسیدانی همانند پنتوکسی فیلین بهبود یابد.**

واژه های کلیدی: استرس اکسیداتیو، پنتوکسی فیلین، کبد، مالاتیون، میتوکندری.

مقدمه:

ارگانوفسفره ها دسته ای از آفت کش ها هستند که به طور وسیعی در کشاورزی، دامپزشکی، صنعت، منازل و نیز به عنوان عوامل عصبی جنگی استفاده می شوند. این ترکیبات بیشترین مسمومیت های اتفاقی را باعث می شوند که عوارض آن به صورت حاد یا مزمن آشکار می شود (۲،۱). ارگانوفسفره ها با مهار آنزیم کولین استراز سبب افزایش استیل کولین و بنابراین تحریک رسپتورهای نیکوتینی و موسکارینی می‌شوند (۵-۳). مالاتیون یک ارگانوفسفره تماسی است که به طورگسترده به عنوان حشره کش و آفت کش و

*نویسنده مسئول: همدان، دانشگاه علوم پزشکی همدان، گروه داروشناسی و سم شناسی، تلفن: ۰۹۱۸۳۱۶۰۱۴۲،

E-mail: akranjbar1389@yahoo.com

Archive of SID

www.SID.ir

به عنوان داوری ضد کرم در دامپزشکی استفاده می شود (۶). مطالعات نشان می دهد که اثرات سمی برخی از ارگانوفسفره ها محدود به مهار آنزیم کولین استراز نیست، بلکه به دنبال بحران کلینرژیک (افزایش استیل کولین) تغییراتی مانند آسیب به غشاهای سلولی، تولید رادیکال های آزاد و اختلال در سیستم آنتی اکسیدانی بدن نیز مشاهده می شود (۸،۷). در شرایط طبیعی بین تولید و حذف رادیکال های آزاد تعادل وجود دارد. عدم تعادل در این فرایند موجب استرس اکسیداتیو خواهد شد (۹). مطالعات نشان می دهد که اختلال عملکرد میتوکندری در اغلب بافت های بدن به علت مصرف زیاد اکسیژن باعث افزایش تولید رادیکال های آزاد می گردد و در نتیجه استـــرس اکسیداتیو، آسیب این بافت ها القاء می شود (۱۰). کبد به خاطر ذخایر آنتی اکسیدانی از جمله بافت های مهم در سم زدایی سموم به شمار می‌رود (۱۲،۱۱). مطالعات نشان می‌دهند که گونه‌های فعال اکسیژن دار (ROS) در سمیت ارگانوفسفره ها به ویژه مالاتیون در انسان (۱۳) و رت (۱۵،۱۴،۸) نقش دارد. از طرفی پنتوکسی فیلین (از دسته مهارکننده های فسفودی استراز ۴ (PDE4) است که کاهنده تجمع پلاکتـــی و پایین آورنده فیبرینوژن بوده و بر روی واسطه های التهابی و نوتروفیل ها موثر است (۱۷،۱۶). پنتوکسی فیلین همچنین باعث کاهش پراکسیداسیون لیپیدی در بیماران دیابتیک شده است و به نظر می رسد خواص آنتی اکسیدانی داشته باشد (۱۸).

به منظور درک مکانیسم اثرات داروی های مهار کننده آنزیم فسفو دی استراز همانند پنتوکسی فیلین بر آسیب اکسیداتیو میتوکندری بافت کبد، از طریق اثر بر فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) و همچنین ارزیابی سطح پراکسیداسیون لیپیدی در کبد و میتوکندری بافت کبد، درصد بقاء میتوکندری در رابطه با سمیت ناشی از مالاتیون در این مطالعه بررسی و مطالعه شده است.

روش بررسی:

این مطالعه تجربی بر روی موش های صحرایی نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۵۰-۱۸۰ گرم انجام شد. حیوانات تا زمان آزمایش در شرایط ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی با دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند. موازین اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت شد. سپس حیوانات به طور تصادفی به ۴ گروه (۵ موش در هر گروه) تقسیم شدند. گروه شاهد که نرمال سالین، گروه دوم مالاتیون (۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن)، گروه سوم پنتوکسی فیلین (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و گروه چهارم مالاتیون و پنتوکسی فیلین (۵۰+۲۰ ،میلی گرم بر کیلوگرم) را به صورت داخل صفاتی به مدت ۱۴ روز دریافت نمودند. مقادیر تجویزی بر اساس مطالعه قبلی ما انجام شد (۱۹). ۲۴ ساعت پس از تزریق، با بیهوش کردن موش ها به وسیله اتر، بافت کبد خارج و به نیتروژن مایع انتقال یافت.

جهت تهیه و جداسازی میتوکندری، کبد موش های نر صحرایی پس از جدا شدن، چند بار شستشو داده و همزمان به وسیله قیچی به قطعات ریز تبدیل شد. بافت به دست آمده به این طریق توسط هموژنایزر، یکنواخت گردید. این کار با ۸ الی ۱۰ مرتبه بالا و پایین بردن پوتر انجام شد. جداکردن میتوکندری کبد با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ و در دور ۷۰۰۰ به مدت ۲۰ دقیقه، سه بار انجام شد (۲۰). سپس نمونه ها در ۸۰- جهت سنجش شاخص های بیوشیمیایی فریز و نگهداری شدند. لازم به ذکر است کلیه مراحل بر روی یخ انجام شدند.

برای ارزیابی پراکسیداسیون لیپیدی روش کالریمتریک به کار برده شد. به حجم مناسبی از بافت هموژنه و میتوکندری بافت، اسید تری کلرواستیک ۲۰ درصد اضافه و به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد. بعد از جدا کردن به مایع رویی اسیدتیوباربیتوریک ۰/۶۷ درصد اضافه نموده و به مدت ۳۰ دقیقه در بن ماری جوش قرار داده سپس n-بوتانل اضافه نموده و بعد از ورتکس به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ نموده و جذب

Archive of SID

www.SID.ir

مایع رویی در برابر استاندارد تترا اتوکسی پروپان در طول موج nm ۵۳۲ قرائت شد (۲۱).

جهت سنجش فعالیت سوپراکسیددیسموتاز (SOD)، حجم مناسبی از بافت هموژنیزه شده و میتوکندری آن را با EDTA ۰/۱ مولار در سدیم سیانید ۰/۳ میلی مولار و نیترو بلوتترازولیوم ۳ میلی مولار در یک کووت اضافه و بعد از مخلوط کردن به مدت ۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه قرارگرفت. سپس ریبوفلاوین ۰/۱۲ میلی مولار در بافر فسفات ۰/۰۶۷ مولار با PH= ۷/۸ به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شد. جذب طی ۵ دقیقه در طول موج ۵۶۰ نانومتر خوانده و فعالیت ویژه بر حسب واحد بر میلی گرم پروتئین محاسبه شد (۲۲).

فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) با استفاده از روش ابی (Aeibi) و به دنبال تجزیه پراکسیدهیدروژن (H_2O_2) در طول موج نمودن ۲۴۰ نانومتر اندازه گیری شد. واکنش با اضافه نمودن H_2O_2 ۳۰ میلی مولار به حجم مناسبی از بافت هموژنیزه شده و میتوکندری آن در بافر فسفات سدیم ۵۰ میلی مولار و PH=۷ شروع شد. سپس جذب طی ۳ دقیقه در طول موج ۲۴۰ نانومتر قرائت و فعالیت ویژه بر حسب واحد بر میلی گرم پروتئین محاسبه شد (۲۳).

برای سنجش فعالیت میتوکندری از روش رنگ سنجی، که در آن نمک تترازولیوم (MTT) به وسیله آنزیم دهیدروژناز میتوکندریایی به فورمازون بنفش رنگ تبدیل می شود، استفاده شد. سلول های مرده قادر به تبدیل MTT به فورمازون نیستند. بعد از انکوباسیون به هرکدام از چاهک ها محلول MTT و دی متیل سولفوکسید (DMSO) اضافه کرده و سپس جذب محلول فوق در ۵۶۰nm و طول موج رفرنس ۶۳۰ nm با ELISA reader قرائت گردید (۲۴).

برای سنجش میزان پروتئین نیز از روش برادفورد استفاده شد. برای این منظور حجم مناسبی از نمونه را به حجم ۱ میلی لیتر رسانده و ۳ میلی لیتر از محلول برادفورد به آن اضافه و به مدت ۱۰ دقیقه انکوبه شد. سپس در طول مـــوج ۵۹۵ نانومتر جـذب قرائت و غلظت پروتئین نمونه‌ها از روی منحنی استاندارد پروتئین با استفاده از محلول یک میلی گرم در میلی لیتر آلبومین سرم گاوی محاسبه شد (۲۵).

در این مطالعه، داده ها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS تجزیه و تحلیل شدند. بعد از انجام تست نرمالیته (Kolmogorov Smirnov= K.S) از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه one-way ANONA و Post Hoc توکی برای مقایسه میانگین گروه ها استفاده و P<۰/۰۵ معنی دار در نظر گرفته شد. نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شدند.

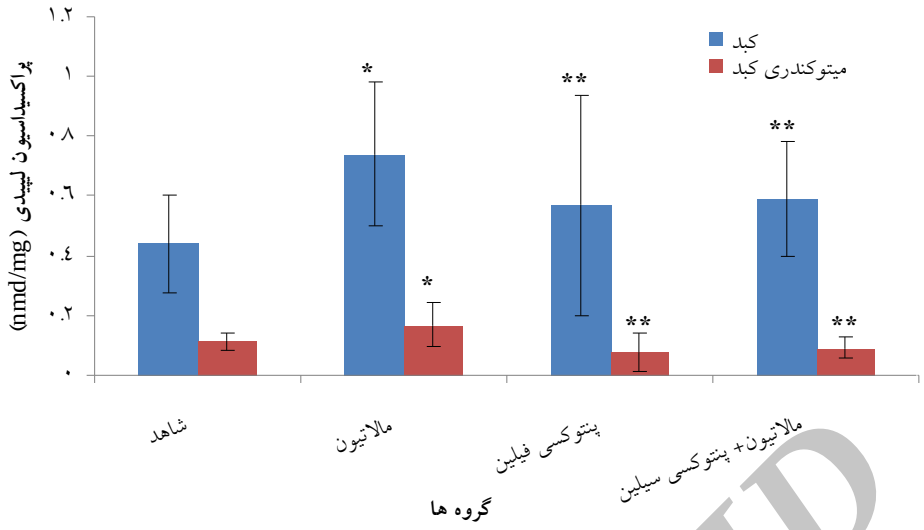
یافته ها:

میزان پراکسیداسیون لیپیدی در گروهی که مالاتیون دریافت کردند نسبت به گروه شاهد در دو نمونه کبد و میتوکندری کبد افزایش معنی داری یافت (P<۰/۰۵). همچنین گروهی که پنتوکسی فیلین دریافت کردند، در نمونه های کبد و میتوکندری کبد کاهش معنی‌داری نسبت به گروهی که مالاتیون دریافت کردند، نشان داد (P<۰/۰۵). گروه مالاتیون و پنتوکسی فیلین نیز کاهش معنی داری را در میزان پراکسیداسیون لیپیدی در دو نمونه کبد و میتوکندری کبد نسبت به گروهی که مالاتیون به تنهایی دریافت کردند ایجاد نمود (P<۰/۰۵) (نمودار شماره ۱).

فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در نمونه کبد در گروه های پنتوکسی فیلین و مالاتیون به همراه پنتوکسی فیلین هم نسبت به گروه شاهد و هم نسبت به گروه مالاتیون کاهش معنی داری نشان داد (P<۰/۰۵) و فعالیت این آنزیم در نمونه های میتوکندری تغییر معنی داری نشان نداد (نمودار شماره ۲).

Archive of SID

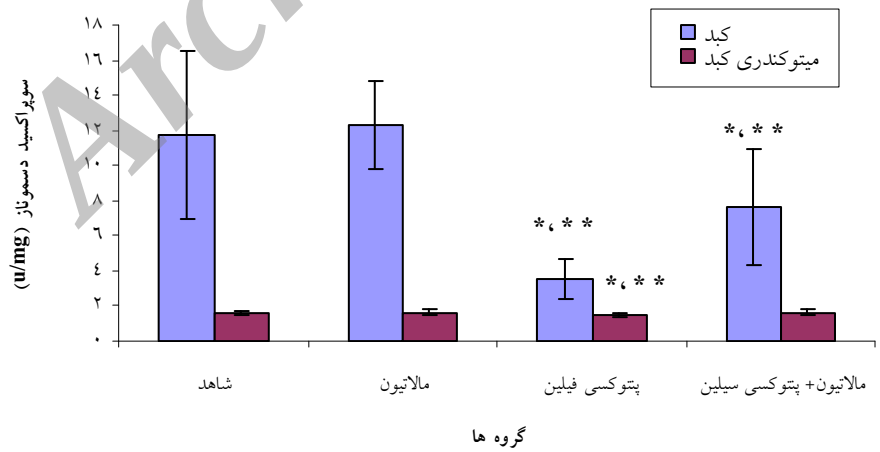
www.SID.ir



نمودارشماره ۱: میزان پراکسیداسیون لیپیدی در بافت کبد و میتوکندری کبد موش های مورد مطالعه

*داده ها به صورت "میانگین ± انحراف استاندارد" می باشند، تعداد نمونه در هر گروه ۵ می باشد، *اختلاف معنی دار ($P<0/05$) با گروه شاهد، **اختلاف معنی دار ($P<0/05$) با گروه مالاتیون*

فعالیت آنزیم کاتالاز در نمونه کبد به طور معنی داری در گروهی که مالاتیون دریافت کردند، نسبت به گروه شاهد افزایش یافت ($P<0/05$). همچنین در گروه پنتوکسی فیلین و مالاتیون به همراه پنتوکسی فیلین کاهش معنی داری در فعالیت این آنزیم در نمونه کبد نسبت به گروه مالاتیون مشاهده شد ($P<0/05$) (نمودار شماره ۳).

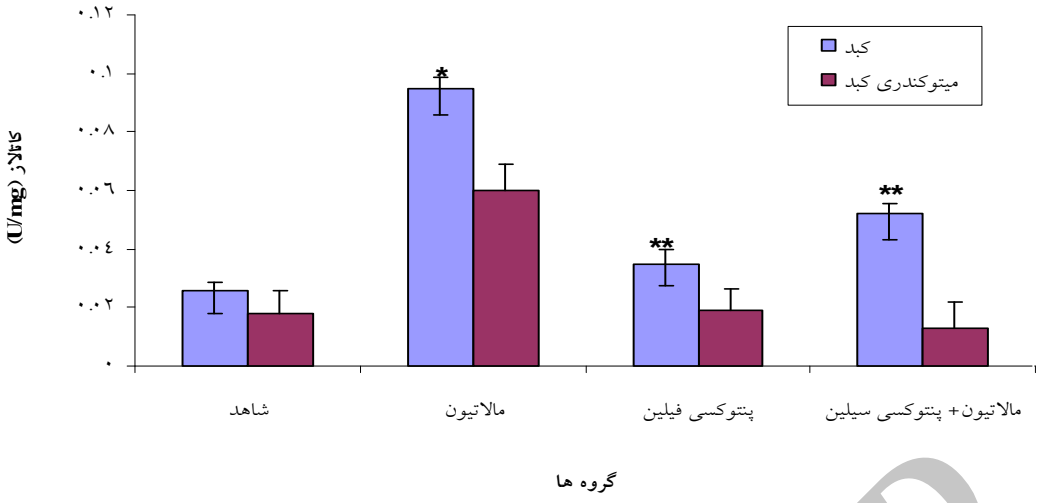


نمودارشماره ۲: میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در بافت کبد و میتوکندری کبد موش های مورد مطالعه

*داده هابه صورت "میانگین ± انحراف استاندارد" می باشند، تعداد نمونه در هر گروه ۵ می باشد، *اختلاف معنی دار ($P<0/05$) با گروه شاهد، **اختلاف معنی دار ($P<0/05$) با گروه مالاتیون.*

Archive of SID

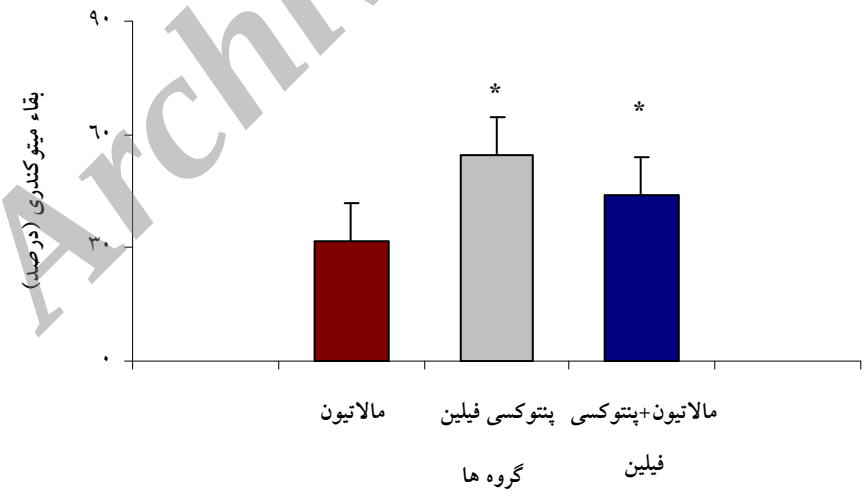
www.SID.ir



نمودارشماره ۳: میزان فعالیت انزیم کاتالاز در بافت کبد و میتوکندری کبد موش های مورد مطالعه

*داده ها به صورت "میانگین ± انحراف استاندارد" می باشند، تعداد نمونه در هر گروه ۵ می باشد، *اختلاف معنی دار (P<۰/۰۵) با گروه شاهد، **اختلاف معنی دار (P<۰/۰۵) با گروه مالاتیون.*

درصد بقاء میتوکندری در گروهی که پنتوکسی فیلین به تنهایی دریافت نمودند و گروهی که مالاتیون به همراه پنتوکسی فیلین دریافت کردند نسبت به گروهی که مالاتیون دریافت کردند، افزایش معنی داری در نمونه میتوکندری کبد نشان داد (P<۰/۰۵) (نمودار شماره ۴).



نمودارشماره ۴: مقایسه میزان درصد بقاء میتوکندری کبد موش های مورد مطالعه

*داده هابه صورت "میانگین ± انحراف استاندارد" می باشند، تعداد نمونه در هر گروه ۵ می باشد، *اختلاف معنی دار (P<۰/۰۵) با گروه مالاتیون.*

Archive of SID

www.SID.ir

بحث:

یافته های این مطالعه نشان داد که تجویز مالاتیون باعث افزایش معنی داری در میزان پراکسیداسیون لیپیدی در کبد و میتوکندری کبد و فعالیت آنزیم های CAT و SOD در کبد نسبت به گروه شاهد می شود. همچنین پنتوکسی فیلین به تنهایی و یا همراه مالاتیون باعث تعدیل فعالیت آنزیم های فوق و همچنین میزان پراکسیداسیون لیپیدی در این گروه ها نسبت به گروهی که مالاتیون دریافت کردند، می شود.

ارگانوفسفره ها دسته ای از حشره کش ها هستند که به علت خاصیت تجزیه شوندگی به طور گسترده ای در کشاورزی استفاده می شوند. به هر حال سمیت القاء شده توسط آن ها غیر قابل اجتناب است (۲۶). بدیهی است که مکانیسم اصلی سمیت آنها مهار آنزیم کولین استراز است (۲۷،۵). اما در سال های اخیر ثابت شده است که عمده ترین مکانیسم در سمیت حاد و مزمن توسط ارگانوفسفره ها از طریق ایجاد استرس اکسیداتیو می باشد (۲۸،۱۳). مطالعات اخیر نشان می دهد که ارگانوفسفره هایی همانند مالاتیون بخشی از سمیت شان را مستقل از فعالیت های آنتی کولین استرازی شان القاء می کنند، همانند القاء استرس اکسیداتیو که از طریق افزایش رادیکال های آزاد یا تضعیف سیستم آنتی اکسیدانی در بافت هایی همانند مغز (۲۹،۲۰)، کبد (۳۰،۳۱) و خون (۳۲) ایجاد می شود. شواهدی نیز وجود دارد مبنی بر اینکه آنتی اکسیدان ها و مهارکننده های فسفو دی استراز از آسیب اکسیداتیو و نیتروزاتیوی که توسط ارگانوفسفره ها ایجاد می شود، جلوگیری می کنند (۱۹، ۳۵-۳۳). مطالعات قبلی نشان می دهد افزایش تولید سوپراکسید به مهار کمپلکس I زنجیره انتقال الکترون میتوکندری پس از تماس با مالاتیون وابسته است (۳۷،۳۶). به هر حال کمپلکس I میتوکندری منبع اصلی تولید گونه های فعال اکسیژن دار در فرایندهای پاتولوژیک می باشد (۳۹،۳۸). همچنین ثابت شده که ارگانوفسفره ها تولید سوپراکسید میتوکندریایی را افزایش می دهند و درنتیجه از طریق اثر بر عملکرد میتوکندری باعث افزایش آسیب اکسیداتیو می گردند (۳۹،۲۰). در این مطالعه نیز نشان داده شد که مالاتیون عملکرد میتوکندری کبد را از طریق افزایش گونه های فعال اکسیژن دار مختل می کند و پنتوکسی فیلین به تنهایی یا ترکیب با مالاتیون بعضی از بیومارکرهای استرس اکسیداتیو همانند پراکسیداسیون لیپیدی و کاتالاز را به طور معنی داری بهبود می بخشد. در مورد اثرات مثبت پنتوکسی فیلین در مطالعه حاضر، نشانه های حمایت کننده ای وجود دارد که cAMP و cGMP قادرند که استرس اکسیداتیو سلولی را کاهش دهند (۴۰). شواهد بیشتری وجود دارد که فایده پنتوکسی فیلین را در کاهش استرس اکسیداتیو در بعضی از بیماری ها همانند دیابت (۴۱) و کولیت (۴۲) نشان می دهد. نتایج این مطالعه همچنین نشان می دهد که پنتوکسی فیلین تعادل اکسیداتیو استرس را در بافت کبد و میتوکندری بافت کبد تعدیل می کند. قابل توجه است که در این مطالعه درصد بقاء میتوکندری نیز اختلال عملکرد میتوکندری القاء شده توسط مالاتیون را نشان می دهد. شواهدی نیز وجود دارد که نوکلئوتیدهای حلقوی برای جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدی القاء شده توسط رادیکال های آزاد در سلول های مختلف و مدل های حیوانی نقش موثری دارند که در مطالعات مختلف نشان داده شده است (۴۵-۴۳).

نتیجه گیری:

آسیب اکسیداتیو به میتوکندری کبد می تواند مسئول سمیت کبدی ایجاد شده در اثر ارگانوفسفره ها باشد، چرا که کبد اولین اندام مهم برای جذب و متابولیسم مواد شیمیایی و سموم است. اثرات مفید پنتوکسی فیلین در این مطالعه با مهار آسیب های اکسیداتیو القاء شده توسط مالاتیون و کاهش رادیکال های آزاد در بافت کبد در ارتباط است. در

Archive of SID

www.SID.ir

مجموع می توان گفت که استرس اکسیداتیو ایجاد شده در اثر مالاتیون با استفاده از پنتوکسی فیلین تعدیل می شود.

تشکر و قدردانی:

بدینوسیله از همکاری کارشناس محترم آزمایشگاه سم شناسی دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تهران جناب آقای خراسانی که در انجام این تحقیق ما را یاری نمودند قدردانی می گردد.

منابع:

1. Buckley NA, Eddleston M, Li Y, Bevan M, Robertson J. Oximes for acute organophosphate pesticide poisoning. Cochrane Database Syst Rev. 2011(2): CD005085.

2. Jayasinghe SS, Pathirana KD, Buckley NA. Effects of acute organophosphorus oisoning on function of peripheral nerves: a cohort study. PLoS One. 2012; 7(11): e49405.

3. Eddleston M, Buckley NA, Eyer P, Dawson AH. Management of acute organophosphorus pesticide poisoning. Lancet. 2008; 371(9612): 597-607.

4. Ebrahimzadeh M, Shokrzadeh M, Bioukabadi M. Effect of organophosphorous pesticides on acetyl cholinesterase activity in agricultural workers. J Shahrekord Univ Med Sci. 2005; 7(1): 1-7.

5. Dash SK, Mohanty MK, Mohanty S, Patnaik KK. Organophosphorus poisoning: victim specific analysis of mortality and morbidity. Med Sci Law. 2008; 48(3): 241-5.

6. Kukde H, Ambade V, Batra A, Keoliya A. Significance of serum cholinesterase level in organophosphate poisoning. Medico-Legal Update. 2012; 12(2): 70-4.

7. Richards AG. Malathion poisoning successfully treated with large doses of atropine. Can Med Assoc J. 1964; 91: 82-3.

8. Possamai FP, Fortunato JJ, Feier G, Agostinho FR, Quevedo J, Wilhelm Filho D, et al. Oxidative stress after acute and sub-chronic malathion intoxication in Wistar rats. Environ Toxicol Pharmacol. 2007; 23(2): 198-204.

9. Abdollahi M, Mostafalou S, Pournourmohammadi S, Shadnia S. Oxidative stress and cholinesterase inhibition in saliva and plasma of rats following subchronic exposure to malathion. Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol. 2004; 137(1): 29-34.

10. Malekirad A, Rahzani K, Ranjbar A, Shariatzade M, Badkoube Hezaveh P. The determination of saliva antioxidant capacity in 15-17 year old Students of Arak high schools. J Shahrekord Univ Med Sci. 2006; 8(2): 67-71.

11. Cadenas E, Davies KJ. Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging. Free Radic Biol Med. 2000; 29(3-4): 222-30.

12. Abass K, Lamsa V, Reponen P, Kublbeck J, Honkakoski P, Mattila S, et al. Characterization of human cytochrome P450 induction by pesticides. Toxicology. 2012; 294(1): 17-26.

13. Cerretani D, Riezzo I, Fiaschi AI, Centini F, Giorgi G, D'Errico S, et al. Cardiac oxidative stress determination and myocardial morphology after a single ecstasy (MDMA) administration in a rat model. Int J Legal Med. 2008; 122(6): 461-9.

14. Ranjbar A, Pasalar P, Abdollahi M. Induction of oxidative stress and acetylcholinesterase inhibition in organophosphorous pesticide manufacturing workers. Hum Exp Toxicol. 2002; 21(4): 179-82.

Archive of SID

www.SID.ir

15. 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.

16. Na IH, Yoo SH. Chronic-binge ethanol drinking exacerbates liver damage through oxidative/nitrosative stress. Korean J Legal Med. 2011; 35(1): 22-6.

17. Haque KN, Pammi M. Pentoxifylline for treatment of sepsis and necrotizing enterocolitis in neonates. Cochrane Database Syst Rev. 2011 Oct; 5(10): CD004205.

18. Hohenberger P, Latz E, Kettelhack C, Rezaei AH, Schumann R, Schlag PM. Pentoxifyllin attenuates the systemic inflammatory response induced during isolated limb perfusion with recombinant human tumor necrosis factor-alpha and melphalan. Ann Surg Oncol. 2003; 10(5): 562-8.

19. Radfar M, Larijani B, Hadjibabaie M, Rajabipour B, Mojtahedi A, Abdollahi M. Effects of pentoxifylline on oxidative stress and levels of EGF and NO in blood of diabetic type-2 patients; a randomized, double-blind placebo-controlled clinical trial. Biomed Pharmacother. 2005; 59(6): 302-6.

20. Ranjbar A, Ghahremani MH, Sharifzadeh M, Golestani A, Ghazi-Khansari M, Baeeri M, et al. Protection by pentoxifylline of malathion-induced toxic stress and mitochondrial damage in rat brain. Hum Exp Toxicol. 2010; 29(10): 851-64.

21. Ghazi-Khansari M, Mohammadi Bardbori A. Captopril ameliorates toxicity induced by paraquat in mitochondria isolated from the rat liver. Toxicol In Vitro. 2007; 21(3): 403-7.

22. Botsoglou NA, Fletouris DJ, Papageorgiou GE, Vassilopoulos VN, Mantis AJ, Trakatellis AG. Rapid, sensitive, and specific thiobarbituric acid method for measuring lipid peroxidation in animal tissue, food, and feedstuff samples. J Agric Food Chem. 1994; 42(9): 1931-7.

23. Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. Clin Chem. 1988; 34(3): 497-500.

24. Aebi H. Catalase in vitro. Methods Enzymol. 1984; 105: 121-6.

25. Morgan DM. Tetrazolium (MTT) assay for cellular viability and activity. Methods Mol Biol. 1998; 79: 179-83.

26. 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.

27. Coronado GD, Thompson B, Strong L, Griffith WC, Islas I. Agricultural task and exposure to organophosphate pesticides among farmworkers. Environ Health Perspect. 2004; 112(2): 142-7.

28. Mahadeshwara P, Gouda HS, Hallikeri VR. Plasma cholinesterase: double-edged parameter in the diagnosis of acute organophosphorus poisoning. Med Sci Law. 2010; 50(3): 159-60.

29. Fortunato JJ, Feier G, Vitali AM, Petronilho FC, Dal-Pizzol F, Quevedo J. Malathion-induced oxidative stress in rat brain regions. Neurochem Res. 2006; 31(5): 671-8.

30. Selmi S, El-Fazaa S, Gharbi N. Oxidative stress and cholinesterase inhibition in plasma, erythrocyte and brain of rats' pups following lactational exposure to malathion. Environ Toxicol Pharmacol. 2012; 34(3): 753-60.

31. Akhgari M, Abdollahi M, Kebryaeezadeh A, Hosseini R, Sabzevari O. Biochemical evidence for free radical-induced lipid peroxidation as a mechanism for subchronic toxicity of malathion in blood and liver of rats. Hum Exp Toxicol. 2003; 22(4): 205-11.

32. Mostafalou S, Abdollahi M, Eghbal MA, Kouzehkonani NS. Protective effect of NAC against malathion induced oxidative stress in freshly isolated rat hepatocytes. Adv Pharm Bull. 2012; 2(1): 79-88.

Archive of SID

www.SID.ir

33. Durak D, Uzun FG, Kalender S, Ogutcu A, Uzunhisarcikli M, Kalender Y. Malathion-induced oxidative stress in human erythrocytes and the protective effect of vitamins C and E in vitro. Environ Toxicol. 2009; 24(3): 235-42.

34. Rezvanfar MA, Ranjbar A, Baeeri M, Mohammadirad A, Abdollahi M. Biochemical evidence on positive effects of rolipram a phosphodiesterase-4 inhibitor in malathion-induced toxic stress in rat blood and brain mitochondria. Pestic Biochem Physiol. 2010; 98(1): 135-43.

35. Ranjbar A, Salehidoost R, Baeeri M, Abdollahi M. Pentoxifylline Attenuates Malathion-Induced Oxidative Damage in Rat. Iran J Toxicol. 2009; 2(3): 211-5.

36. Delgado EH, Streck EL, Quevedo JL, Dal-Pizzol F. Mitochondrial respiratory dysfunction and oxidative stress after chronic malathion exposure. Neurochem Res. 2006; 31(8): 1021-5.

37. Shafiee H, Mohammadi H, Rezayat SM, Hosseini A, Baeeri M, Hassani S, et al. Prevention of malathion-induced depletion of cardiac cells mitochondrial energy and free radical damage by a magnetic magnesium-carrying nanoparticle. Toxicol Mech Methods. 2010; 20(9): 538-43.

38. Raha S, Robinson BH. Mitochondria, oxygen free radicals, disease and ageing. Trends Biochem Sci. 2000; 25(10): 502-8.

39. Beal MF. Mitochondria, free radicals, and neurodegeneration. Curr Opin Neurobiol. 1996; 6(5): 661-6.

40. Venkatesh S, Ramachandran A, Zachariah A, Oommen A. Mitochondrial ATP synthase inhibition and nitric oxide are involved in muscle weakness that occurs in acute exposure of rats to monocrotophos. Toxicol Mech Methods. 2009; 19(3): 239-45.

41. Milani E, Nikfar S, Khorasani R, Zamani MJ, Abdollahi M. Reduction of diabetes-induced oxidative stress by phosphodiesterase inhibitors in rats. Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol. 2005; 140(2): 251-5.

42. Massart J, Robin MA, Noury F, Fautrel A, Letteron P, Bado A, et al. Pentoxifylline aggravates fatty liver in obese and diabetic ob/ob mice by increasing intestinal glucose absorption and activating hepatic lipogenesis. Br J Pharmacol. 2012; 165(5): 1361-74.

43. Ghafour Rashidi Z, Dermenaki Farahani E, Aliahmadi A, Esmaily H, Mohammadirad A, Ostad SN, et al. Protection by cAMP and cGMP phosphodiesterase inhibitors of diazinon-induced hyperglycemia and oxidative/nitrosative stress in rat Langerhans islets cells: Molecular evidence for involvement of non-cholinergic mechanisms. Pestic Biochem Physiol. 2007; 87(3): 261-70.

44. Masood A, Nadeem A, Mustafa SJ, O'Donnell JM. Reversal of oxidative stress-induced anxiety by inhibition of phosphodiesterase-2 in mice. J Pharmacol Exp Ther. 2008; 326(2): 369-79.

45. Gul M, Esrefoglu M, Ozturk F, Ates B, Otlu A. The beneficial effects of pentoxifylline on caerulein-induced acute pancreatitis in rats. Dig Dis Sci. 2009; 54(3): 555-63.

Archive of SID

www.SID.ir

Journal of Shahrekord University of Medical Sciences
(J Shahrekord Univ Med Sci) 2013 Oct, Nov; 15(4): 83-92.

Original article

The effect of pentoxifylline on malathion-induced mitochondrial damage in rat liver

Ranjbar A (PhD) [1]*, Baeeri M (MSc) [2]

[1]Toxicology and Pharmacology Dept., Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, I.R. Iran; [2]Pharmaceutical Sciences Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, I.R. Iran.

Received: 28/Nov/2012 Revised: 14/Apr/2013 Accepted: 22/Apr/2013

Background and aims: Malathion is one of the toxic organophosphorus insecticides (OPIs). OPIs induce oxidative stress in various tissues through the generation of free radicals and alteration in antioxidant system. This study was aimed to investigate the possible protective effects of pentoxifylline (PTX) as a phosphodiesterase-5 inhibitor on malathion-induced oxidative damage to rat liver mitochondria.

Methods: In this experimental study, 20 male Wistar rats weighing 200-250 g were randomly assigned to 4 groups. The first group received normal saline and the second group with malathion (200 mg/kg/day). The third group received pentoxifylline (50 mg/kg/day) alone and the forth group with pentoxifylline (50 mg/kg/day) and malathion in combination. After two weeks of treatment, whole liver tissue, and liver mitochondria were isolated. The activity of antioxidant enzymes such as catalase (CAT) and superoxide dismutase (SOD) was measured. The extents of cellular lipid peroxidation (LPO) and the viability were determined in liver and liver mitochondria. Data were analyzed using analysis of variance (ANOVA) and Tukey test in SPSS software.

Results: The activity of SOD enzyme decreased significantly in the group received malathion and pentoxifylline compared to the group received malathion alone ($P<0.05$). Malathion increased significantly the activity of CAT enzyme in liver ($P<0.05$). The groups received malathion and pentoxifylline in combination and alone showed a significant decrease in the activity of CAT enzyme in liver ($P<0.05$). The viability determined in mitochondria in the groups received malathion and pentoxifylline in combination and alone showed a significant increase ($P<0.05$).

Conclusion: It is concluded that the mechanism of toxicity of malathion in liver can be recovered by antioxidants included PTX.

Keywords: **Malathion, Mitochondria, Oxidative stress, Pentoxifylline, Liver.**

Archive of SID

Cite this article as: Ranjbar A, Baeeri M. The effect of pentoxifylline on malathion-induced mitochondrial damage in rat liver. J Shahrekord Univ Med Sci. 2013 Oct, Nov; 15(4): 83-92.

*Corresponding author:
Toxicology and Pharmacology Dept., Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, I.R. Iran. Tel:00989183160142, E-mail:akranjbar1389@yahoo.com

www.SID.ir