

## Evaluation of Oxidative Stress Biomarkers in Rat Heart Exposed to Diazinon and Vitamins E and C

Tahmasebi K.<sup>1</sup> MSc, Jafari M.\* PhD, Ahmadi A.<sup>2</sup> MSc

\*Chemical Injuries Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

<sup>1</sup>Biochemistry Department, Medicine Faculty, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

<sup>2</sup>Students Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

### Abstract

**Aims:** Organophosphates such as diazinon (DZN) induce the production of free radicals and oxidative stress. The aim of this study was to evaluate the role of vitamins E and C as antioxidants in reduction of DZN-induced oxidative stress in rat heart.

**Materials & Methods:** In present experimental study, 36 male Wistar rats were randomly divided into six groups; control (corn oil as DZN solvent), DZN (100mg/kg), vitamin E (150mg/kg), vitamin C (200mg/kg), vitamin E+DZN and vitamin C+DZN. 24 hours after intraperitoneal injection, animals were anesthetized by ether, and heart tissue was quickly removed. After tissues homogenation, 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. The data were statistically analyzed using Instat 3.3 by analysis of variance (ANOVA) followed by post hoc Tukey test.

**Findings:** DZN increased SOD, CAT and GST activities ( $p < 0.01$ ) and MDA level ( $p < 0.05$ ), while decreased LDH activity ( $p < 0.05$ ) and GSH content ( $p < 0.01$ ) in heart compared with the control group. Administration of vitamins E and C inhibited changing of these parameters.

**Conclusion:** Administration of vitamins E and C as antioxidant decreases DZN-induced oxidative stress by scavenging free radicals.

### Keywords

Diazinon [<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68003976>];  
Vitamin E [<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68014810>];  
Vitamin C [<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68001205>];  
Oxidative Stress [<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68018384>];  
Heart [<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68006321>];  
Rat [<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68051381>]

---

\* Corresponding Author

Tel: +982122289942

Fax: +982126127281

Address: Biochemistry Department, Medicine Faculty, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Araj Treeways, Artesh Boulevard, Tehran, Iran

m.jafari145@gmail.com

Received: November 12, 2014

Accepted: February 14, 2015

ePublished: April 16, 2015

## ارزیابی شاخص‌های استرس اکسیداتیو در قلب موش صحرایی بعد از مواجهه با دیازینون و ویتامین‌های C و E

کاوس طهماسبی MSc

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

مهوش جعفری \* PhD

مرکز تحقیقات آسیب‌های شیمیایی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه... (ع)، تهران، ایران

عباس احمدی MSc

مرکز تحقیقات دانشجویان، دانشگاه علوم پزشکی بقیه... (ع)، تهران، ایران

### چکیده

**اهداف:** ارگانوفسفرها نظیر دیازینون باعث القای تولید رادیکال‌های آزاد و استرس اکسیداتیو می‌شوند. هدف از مطالعه حاضر، بررسی اثر ویتامین‌های E و C به‌عنوان آنتی‌اکسیدان در کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از دیازینون در قلب موش صحرایی بود.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه تجربی، ۳۶ موش صحرایی نر نژاد ویستار به‌طور تصادفی به ۶ گروه عتایی کنترل (روغن ذرت به‌عنوان حلال دیازینون)، دیازینون (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، ویتامین E (۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، ویتامین C (۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، دیازینون- ویتامین E و دیازینون- ویتامین C تقسیم شدند. ۲۴ ساعت بعد از تزریق داخل‌صفاقی، موش‌ها توسط اتر بیهوش شده و بافت قلب به‌سرعت جدا شد. پس از هم‌وزنه‌کردن بافت‌ها، فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز، کاتالاز، گلوکاتایون S- ترانسفراز و لاکتات‌دهیدروژناز و غلظت‌های گلوکاتایون و مالون‌دی‌آلدئید با روش‌های بیوشیمیایی اندازه‌گیری شد. تحلیل اطلاعات با استفاده از نرم‌افزار InStat 3.3 و آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه به‌همراه آزمون تعقیبی توکی صورت گرفت.

**یافته‌ها:** دیازینون باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز، کاتالاز و گلوکاتایون S- ترانسفراز ( $p < 0/01$ )، افزایش غلظت مالون‌دی‌آلدئید ( $p < 0/05$ ) و کاهش فعالیت لاکتات‌دهیدروژناز ( $p < 0/05$ ) و غلظت گلوکاتایون ( $p < 0/01$ ) در قلب نسبت به گروه کنترل شد. تجویز ویتامین‌های E و C مانع تغییرات این پارامترها شد.

**نتیجه‌گیری:** ویتامین‌های E و C به‌عنوان آنتی‌اکسیدان از طریق پاکسازی رادیکال‌های آزاد در قلب باعث کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از دیازینون می‌شوند.

**کلیدواژه‌ها:** دیازینون؛ ویتامین E؛ ویتامین C؛ استرس اکسیداتیو؛ قلب؛ موش صحرایی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۰۸/۲۱

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۱/۲۷

\*نویسنده مسئول: m.jafari145@gmail.com

### مقدمه

ارگانوفسفرهای حشره‌کش به‌طور شایع در کشاورزی استفاده می‌شوند و اثرات آلوده‌کنندگی آنها روی زیست محیطی و حیوانات مورد توجه قرار گرفته است. این حشره‌کش‌ها از طریق پوست، سیستم گوارش و مسیر هوایی (در صورت تبخیر) جذب شده و از طریق خون به قسمت‌های مختلف بدن می‌روند. این مواد، مسئول حدود ۱۰۰ هزار مسمومیت در سال در دنیا هستند. در ایران این ترکیبات یکی از علل مرگ‌ومیر ناشی از مسمومیت هستند. اثرات ناشی از مسمومیت با این ترکیبات بسیار متنوع و پیچیده است. مهم‌ترین عوارض کلینیکی مسمومیت با ارگانوفسفرها ناشی از مهار استیل‌کولین‌استراز است که منجر به تجمع استیل‌کولین در سیناپس‌های سیستم عصبی مرکزی و محیطی و تشنج و در نهایت مرگ می‌شود [۴-۱]. دیازینون یکی از ترکیبات مهم ارگانوفسفره است که به‌عنوان حشره‌کش علیه آفات نباتی و حشرات منازل استفاده می‌شود. در سال‌های اخیر، این سم به‌طور وسیع برای کنترل کرم ساقه‌خوار برنج مورد استفاده قرار گرفته است و همچنین به‌عنوان داروی ضدانگل نیز به‌کار می‌رود. این ترکیب به‌آسانی از روده جذب می‌شود و این جذب به‌سرعت طی چند ساعت صورت می‌گیرد و در زمان کوتاهی در کبد به دیازوکسون متابولیزه می‌شود که از مهارکننده‌های قوی آنزیم استیل‌کولین‌استراز است [۴، ۵].

در معرض قرارگیری حاد و تحت حاد با بعضی از ارگانوفسفرها علاوه بر مهار استیل‌کولین‌استراز، باعث افزایش تولید رادیکال‌های آزاد می‌شود [۴، ۵]. رادیکال‌های آزاد قادرند به ماکرومولکول‌های مختلف در بدن نظیر پروتئین‌ها، لیپیدها و اسیدهای نوکلئیک اتصال یابند و باعث تخریب ساختمان و عمل آنها شوند. اثرات مضر رادیکال‌های آزاد از طریق سیستم حمایتی آنتی‌اکسیدان سلولی شامل آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) و گلوکاتایون S- ترانسفراز (GST) و آنتی‌اکسیدان غیرآنزیمی مانند گلوکاتایون (GSH) خنثی می‌شوند. عدم تعادل بین تولید رادیکال‌های آزاد و سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدان در بدن باعث استرس اکسیداتیو می‌شود که علت ایجاد بسیاری از بیماری‌ها است [۶، ۷]. مطالعات مختلف نشان می‌دهد که بعضی ارگانوفسفرها از طریق تولید رادیکال‌های آزاد باعث تغییر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، کاهش غلظت گلوکاتایون و افزایش پراکسیداسیون لیپیدها در بافت‌ها شده که در نهایت منجر به استرس اکسیداتیو و مرگ سلولی می‌شود [۴، ۵، ۸، ۹].

با توجه به تاثیر ارگانوفسفرها روی سیستم آنتی‌اکسیدان احتمالاً استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها در جهت درمان این افراد می‌تواند کمک‌کننده باشد [۲، ۱۰، ۱۱]. ویتامین E (آلفا-توکوفرول)، آنتی‌اکسیدان فعال و لیپوفیلی در غشای بیولوژیکی است که به پایداری غشا از طریق پاکسازی رادیکال‌های آزاد و کاهش پراکسیداسیون لیپیدها در غشا کمک می‌کند. این ویتامین در تمام

نگهداری حیوانات آزمایشگاهی یکی از دانشگاه‌های علوم پزشکی شهر تهران قرار گرفتند. دسترسی حیوانات به آب و غذا آزاد بود. موازین اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی که مورد تایید کمیته اخلاق دانشگاه بود، رعایت شد. کلیه مواد شیمیایی مورد نیاز با درجه خلوص بالا از شرکت مرک و سیگما (آلمان) خریداری شد. دیازینون (Supelco؛ ایالات متحده) با غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و ویتامین E (سیگما؛ آلمان) با غلظت ۶۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در روغن ذرت و ویتامین C (سیگما؛ آلمان) با غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در آب مقطر به صورت تازه تهیه شد.

حیوانات به روش تصادفی به ۶ گروه عتایی تقسیم شدند؛ گروه کنترل روغن ذرت (به عنوان حلال دیازینون)، گروه دیازینون ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دیازینون [۴]، گروه ویتامین E ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ویتامین E، گروه ویتامین C ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ویتامین C [۱۷]، گروه دیازینون-C ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دیازینون و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ویتامین C و گروه دیازینون-E ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دیازینون و ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ویتامین E را به صورت تزریق داخل صفاقی دریافت کردند.

۲۴ ساعت بعد از تزریق با بی‌هوش نمودن حیوانات به وسیله اتر، بافت قلب خارج شد و بعد از شستشو با سرم فیزیولوژی و خارج شدن خون، به نیتروژن مایع انتقال داده شد و سپس در دمای -۷۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان انجام آزمایش نگهداری شد. در روز آزمایش، بافت قلب به طور کامل به دقت توزین شد و با نسبت یک به ۱۰ در بافر فسفات‌سالین هم‌وزنه شد و به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۱۶۰۰۰g در ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ شد. از مایع رویی به منظور سنجش شاخص‌های مورد نظر استفاده شد.

برای سنجش فعالیت آنزیم SOD از روش ویتربورن [۱۸]، برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز از روش ایبی [۱۹] و برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم GST از روش هابیگ [۲۰] استفاده شد. اندازه‌گیری فعالیت آنزیم لاکتات دهیدروژناز (LDH) نیز با استفاده از کیت پارس‌آزمون انجام شد. فعالیت ویژه آنزیم‌ها بر حسب واحد بر میلی‌گرم پروتئین مورد محاسبه قرار گرفت. همچنین برای تعیین میزان غلظت مالون‌دی‌آلدئید (MDA) به عنوان محصول نهایی پراکسیداسیون لیپیدها از روش ساتو [۲۱]، برای سنجش میزان گلوتاتیون (GSH) بافت از روش تیتنر [۲۲] و برای تعیین غلظت پروتئین از روش بر/دفور [۲۳] استفاده شد.

تجزیه و تحلیل اطلاعات با استفاده از نرم‌افزار InStat 3.3 انجام شد. برای مقایسه گروه‌ها با گروه کنترل و بین گروه‌ها از آنالیز واریانس یک‌طرفه به همراه آزمون توکی استفاده شد.

## یافته‌ها

دیازینون باعث افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های SOD، CAT و GST ( $p < 0.01$ ) و کاهش فعالیت آنزیم LDH ( $p < 0.05$ ) در

بافت‌ها انتشار می‌یابد و در بافت چربی ذخیره می‌شود. ویتامین E از طریق لنف وارد جریان خون شده، به لیپوپروتئین‌ها متصل شده و به کبد انتقال می‌یابد و بعد از متابولیته شدن عمدتاً در صفرا و به میزان کمی از طریق ادرار دفع می‌شود [۱۲]. ویتامین C (اسیدآسکوربیک) آنتی‌اکسیدان مهم محلول در آب است که پاکسازی رادیکال‌های آزاد در مایعات خارج سلولی را به عهده دارد. این ویتامین می‌تواند ویتامین E اکسیدشده را مجدداً احیا نماید و به همراه یکدیگر از آسیب‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد و ایجاد استرس اکسیداتیو جلوگیری نمایند. ویتامین C به طور کامل جذب شده و به صورت انتشار ساده و انتقال فعال وارد سلول‌ها می‌شود و بعد از متابولیته شدن، از طریق ادرار دفع می‌شود [۱۰، ۱۳]. چند مطالعه نشان دادند که ویتامین‌های E و C می‌توانند سمیت سلولی ارگانوفسفرها را کاهش دهند و از تغییرات بعضی از پارامترهای بیوشیمیایی جلوگیری کنند [۸-۱۱]. مطالعه // - سناوی و همکاران در مورد اثر حفاظتی ویتامین E روی سمیت دیازینون در کبد موش سوری بعد از ۱۴ روز نشان داد که ویتامین E از القای استرس اکسیداتیو ناشی از دیازینون جلوگیری می‌کند [۱۴]. مطالعه // رولگو و همکاران "در آزمایشگاه" نشان داد که تجویز دی‌کلروس (Diclorvos) باعث کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و افزایش پراکسیداسیون لیپیدها در اریتروسیت‌ها شده و تجویز ویتامین‌های E و C مانع این تغییرات می‌شود [۱۵]. مطالعه // الزوقیایی و همکاران نیز اثر حفاظتی ویتامین C را در کاهش استرس اکسیداتیو القا شده توسط مالاتیون بعد از ۴ هفته نشان دادند [۱۶].

با توجه به تنوع ساختمان شیمیایی ارگانوفسفرها و اثرات متفاوت آنها بر بافت‌های مختلف و همچنین اثرات مختلف آنتی‌اکسیدان‌ها بر این سمیت، مطالعات تکمیلی برای درک مکانیزم عمل دقیق این ترکیبات ضروری به نظر می‌رسد. اگر چه اثر حفاظتی و درمانی ویتامین‌ها روی پارامترهای آسیب سلولی در خون و سلول مورد بررسی قرار گرفته، ولیکن مطالعات اندکی روی تجویز این آنتی‌اکسیدان‌ها و دیازینون به صورت داخل صفاقی روی بیومارکرهای استرس اکسیداتیو در بافت‌های مختلف انجام شده است. در ضمن مطالعات انجام شده در دوز سم، مسیر تزریق، نوع بافت، نوع حیوان و مدت‌زمان تماس با یکدیگر متفاوت هستند [۸-۱۱].

هدف از مطالعه حاضر، بررسی اثر ویتامین‌های E و C به عنوان آنتی‌اکسیدان در کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از دیازینون در قلب موش صحرایی با سنجش شاخص‌های استرس اکسیداتیو بود.

## مواد و روش‌ها

این مطالعه تجربی روی ۳۶ موش صحرایی نر نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۵۰-۳۰۰ گرم انجام شد. موش‌ها در شرایط ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی در دمای  $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$  در محل

مقایسه با گروه دیازینون معنی دار نبود. همچنین دیازینون باعث کاهش معنی دار غلظت GSH ( $p < 0.01$ ) و افزایش معنی دار غلظت MDA ( $p < 0.05$ ) در مقایسه با گروه کنترل شد. کاهش غلظت MDA و افزایش غلظت GSH در گروه‌های دیازینون-E و دیازینون-C در مقایسه با گروه دیازینون معنی دار نبود (جدول ۱).

**جدول ۱** اثر دیازینون و ویتامین‌های C و E به تنهایی و در ترکیب با هم، بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و غلظت‌های گلوکوتایون (GSH) و مالون‌دی‌آلدئید (MDA) در قلب موش صحرایی بعد از ۲۴ ساعت

پارامترها	گروه کنترل	گروه دیازینون	گروه ویتامین E	گروه ویتامین C	گروه دیازینون-E	گروه دیازینون-C
آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (واحد بر میلی‌گرم پروتئین)						
سوپراکسیددیسموتاز	۳۳/۱۸±۴/۳۸	۴۳/۸۸±۴/۷۳**	۳۶/۳۲±۴/۶۷	۳۷/۷۵±۳/۶۵	۴۲/۶۴±۳/۶۸*	۴۱/۵۹±۴/۵۸*
کاتالاز	۲۴/۸۳±۱/۹۱	۲۹/۴۳±۱/۹۱**	۲۴/۵۵±۱/۹۸	۲۲/۸۱±۱/۸۷	۲۷/۲۲±۱/۸۶	۲۷/۵۹±۱/۷۲
گلوکوتایون S- ترانسفراز	۴۲/۴۵±۴/۱۶	۵۳/۲۶±۴/۹۴**	۴۴/۱۴±۳/۱۲	۴۱/۵۶±۳/۴۸	۵۱/۴۴±۴/۳۱*	۵۱/۵۹±۳/۸۴*
لاکتات دهیدروژناز	۱۳۳/۸۶±۱۴/۳۶	۱۰۸/۰۹±۱۱/۵۳*	۱۳۴/۶۷±۱۰/۴۵	۱۳۱/۵۹±۱۲/۷۲	۱۱۳/۹۲±۱۳/۲۳	۱۰۹/۱۲±۹/۲۵*
غلظت‌های گلوکوتایون و مالون‌دی‌آلدئید (نانومول بر میلی‌گرم پروتئین)						
گلوکوتایون	۱۰/۶۱±۱/۰۸	۷/۹۲±۰/۸۵**	۱۰/۴۴±۱/۱۴	۹/۹۱±۱/۱۵	۹/۱۶±۱/۴۴	۸/۸۹±۱/۰۶
مالون‌دی‌آلدئید	۹/۷۴±۰/۹۹	۱۱/۹۸±۱/۰۲*	۹/۵۱±۱/۰۷	۹/۲۵±۱/۰۱	۱۱/۲۹±۱/۰۷	۱۱/۴۲±۱/۳۹

\* $p < 0.05$  و \*\* $p < 0.01$  نسبت به گروه کنترل

## بحث

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 است. نتایج این تحقیق موافق نتایج مطالعاتی است که نشان می‌دهند ویتامین‌های E و C باعث کاهش سمیت ارگانوفسفره‌هایی مانند دیازینون، میتیل‌پاراتیون، مالاتیون و کلروپیریفوس در بافت‌های مختلف می‌شوند [۱۱، ۱۶، ۲۹-۲۶].

GST یکی دیگر از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان است که با اتصال GSH به تعدادی از سوبستراهای الکتروفیل، ترکیباتی با سمیت کمتر ایجاد می‌کند [۶، ۲۰]. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که دیازینون سبب افزایش فعالیت GST در قلب موش صحرایی شده و تجویز ویتامین‌های E و C سبب کاهش فعالیت این آنزیم در مقایسه با گروه دیازینون شده است. افزایش فعالیت GST با افزایش مصرف GSH همراه است. افزایش GST در اثر تزریق دیازینون نشان‌دهنده افزایش دفاع بدن در مقابل این سم و دفع سریع‌تر آن است [۲۰]. مطالعات دیگر نشان می‌دهند که به‌دنبال تجویز بعضی از ارگانوفسفره‌ها، فعالیت GST بدون تغییر [۳۰] بوده یا افزایش [۵، ۲۵، ۲۹] یا کاهش [۲۴، ۲۷، ۲۸، ۳۱] داشته است. معمولاً دوزهای کم سموم منجر به افزایش و دوزهای بالای آن باعث مهار فعالیت آنزیم‌ها می‌شوند. همچنین چندین بررسی نشان می‌دهند که تجویز ویتامین‌های E و C از تغییرات فعالیت GST ناشی از ارگانوفسفره‌ها در بافت‌های مختلف جلوگیری می‌کند [۱۱، ۲۹-۲۷]. MDA از مهم‌ترین بیومارکرهای پراکسیداسیون لیپیدها است و افزایش غلظت آن نشان‌دهنده اختلال در مکانیزم‌های

بافت قلب به‌صورت یک پمپ به‌منظور خون‌رسانی به سایر بافت‌ها عمل می‌کند. ماهیچه قلب نمی‌تواند اکسیژن را برای استفاده ذخیره کند و باید اکسیژن و سایر مواد مغذی پیوسته به‌منظور عمل مناسب قلب تامین شود. از طرفی دیگر، میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان این بافت در مقایسه با سایر بافت‌های دیگر اندک است، به همین دلیل نسبت به استرس اکسیداتیو حساس‌تر است [۴، ۹]. براساس نتایج این مطالعه، تجویز دیازینون باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های SOD و CAT قلب موش صحرایی شد. تجویز ویتامین‌های E و C تا حدی سبب کاهش فعالیت این آنزیم‌ها در مقایسه با گروه دیازینون شد. دیازینون با افزایش رادیکال‌های آزاد سبب فعال شدن سیستم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدان شامل آنزیم‌های SOD و CAT می‌شود. افزایش فعالیت SOD در این مطالعه باعث کاهش رادیکال سوپراکسید و افزایش  $H_2O_2$  در بافت قلب می‌شود و افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز باعث خنثی‌شدن  $H_2O_2$  می‌شود [۶، ۷]. کاهش فعالیت آنزیم‌های SOD و CAT بعد از تجویز ویتامین‌های E و C، احتمالاً مربوط به توانایی آنها در حذف مستقیم ROSها است [۱۱، ۲۴]. مطالعات نشان داده‌اند که تجویز دیازینون، پاراکسون و دیمتوات (Dimethoate) موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های SOD و CAT در بافت‌های مختلف در موش صحرایی و ماهی می‌شود [۵، ۱۱، ۲۵، ۲۶]، در حالی که مطالعات دیگر کاهش فعالیت آنزیم‌های SOD و CAT را در بافت‌های مختلف بعد از تجویز دیازینون، دیمتوات، مالاتیون، کلروپیریفوس (Chlorpyrifos) و آندوسولفان نشان می‌دهند [۸، ۱۶، ۲۹-۲۷].

گلوکاتینون این بافت، هم می‌تواند ناشی از افزایش فعالیت آنزیم GST و مصرف آن به‌عنوان سوبسترا توسط این آنزیم باشد و هم می‌تواند مربوط به عملکرد مستقیم آن برای حذف رادیکال‌های آزاد باشد و با توجه به نقش ویتامین‌های E و C برای حذف رادیکال‌های آزاد، کاهش فعالیت GST و مصرف گلوکاتینون را به‌دنبال دارد. مطالعات دیگر نشان می‌دهند که تجویز خوراکی دیازینون موجب کاهش گلوکاتینون کبد، کلیه و قلب می‌شود [۸، ۱۴، ۳۸]. چندین مطالعه نشان دادند که تجویز ارگانوفسفره‌های مختلف باعث کاهش گلوکاتینون در بافت‌های مختلف و تجویز ویتامین‌های A، E و C باعث بهبود آن می‌شود [۱۴، ۱۶، ۲۷، ۳۹].

از محدودیت‌های این مطالعه می‌توان به عدم اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های گلوکاتینون پراکسیداز و گلوکاتینون ردوکتاز و غلظت گلوکاتینون اکسیدشده اشاره کرد که به دلیل کمبود بودجه انجام نشد. در ضمن برای درک مکانیسم دقیق اثرات ارگانوفسفره‌ها و ویتامین‌های E و C پیشنهاد می‌شود که بیان ژن آنزیم‌های سیستم آنتی‌اکسیدان و القای مرگ سلولی از نوع آپوپتوز یا نکروز در بافت‌های مختلف بررسی شود.

### نتیجه‌گیری

دیازینون با تولید رادیکال‌های آزاد و تغییر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و افزایش پراکسیداسیون لیپیدهای غشا و کاهش غلظت گلوکاتینون باعث القای استرس اکسیداتیو در بافت قلب می‌شود. ویتامین‌های E و C به‌عنوان آنتی‌اکسیدان از طریق پاکسازی رادیکال‌های آزاد باعث کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از دیازینون می‌شوند.

**تشکر و قدردانی:** نویسندگان بر خود لازم می‌دانند از مریم صالحی، جواد رسولی و حسین مهدوی‌نسب به‌خاطر یاری در مراحل اولیه مطالعه تشکر نمایند. این طرح تحقیقاتی با حمایت مالی مرکز تحقیقات آسیب‌های شیمیایی دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌...<sup>(عج)</sup> شهر تهران انجام شده است که بدین وسیله از کلیه مسئولان مرکز مربوطه تشکر و قدردانی می‌شود.

**تاییدیه اخلاقی:** موازین اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی مورد تایید کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی مربوطه بود.

**تعارض منافع:** تعارض منافع در این مقاله وجود ندارد.

**منابع مالی:** این طرح تحقیقاتی با حمایت مالی مرکز تحقیقات آسیب‌های شیمیایی یکی از دانشگاه‌های علوم پزشکی نظامی شهر تهران انجام شده است.

### منابع

1- Baconi DL, Bârcă M, Manda G, Ciobanu AM, Bălălău C. Investigation of the toxicity of some organophosphorus

دفاعی آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی و آنزیمی است [۳۲]. در مطالعه حاضر، افزایش سطح MDA در قلب در اثر تجویز دیازینون مشاهده شد که این افزایش ناشی از تولید رادیکال‌های آزاد توسط دیازینون و افزایش پراکسیداسیون لیپیدهای غشا است. استفاده از ویتامین‌های E و C در قلب سبب کاهش سطح MDA شد. کاهش سطح MDA می‌تواند مربوط به قابلیت این ویتامین‌ها در حذف مستقیم رادیکال‌های آزاد و مهار پراکسیداسیون لیپیدها به‌وسیله رادیکال‌های آزاد باشد. مطالعات نشان می‌دهند که تجویز خوراکی دیازینون موجب افزایش پراکسیداسیون لیپیدها در بافت‌های مختلف می‌شود [۸، ۳۳، ۳۴]. چندین مطالعه نشان دادند که تجویز ارگانوفسفره‌های مختلف نظیر دیازینون، کلروپیریفوس و دیمتوات باعث افزایش غلظت MDA شده و تجویز ویتامین‌های E و C باعث کاهش غلظت آن می‌شود [۱۱، ۱۶، ۲۴، ۲۹-۲۷].

لیپیدپراکسیداسیون غشا باعث تراوش آنزیم‌های سیتوزولی مانند LDH می‌شود. LDH شاخص سمیت یک ماده شیمیایی و لیز سلولی است [۲۵]. در این مطالعه، دیازینون سبب کاهش فعالیت LDH قلب شد که تجویز ویتامین‌های C و E تا حدی فعالیت این آنزیم را در مقایسه با گروه دیازینون افزایش داد. کاهش فعالیت این آنزیم احتمالاً ناشی از افزایش آسیب بافتی و تراوش آن به داخل سرم است [۳۵]. استفاده از ویتامین‌های C و E به‌علت احیای رادیکال‌های آزاد ناشی از تجویز دیازینون و در نتیجه جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدهای غشا مانع از آزاد شدن آنزیم LDH می‌شود. مطالعات نشان می‌دهد که فعالیت LDH در بافت‌های طحال، مغز، قلب، کبد و کلیه بعد از تجویز دیازینون و پاراکسون کاهش می‌یابد [۲۵، ۳۱]. ولیکن مطالعات دیگر، افزایش فعالیت LDH را در کبد، پانکراس، مغز و قلب پس از تجویز دیازینون نشان می‌دهد [۱۴، ۱۷، ۳۳]. همچنین مطالعات دیگر نشان می‌دهند که تجویز دی‌کلروس باعث افزایش فعالیت LDH و ایجاد استرس اکسیداتیو در موش صحرایی می‌شود و تجویز ویتامین‌های C و E فعالیت این آنزیم را بهبود می‌بخشد [۳۶]. در مطالعه‌ای نشان داده شد که تجویز دیازینون برای ۱۴ روز باعث افزایش فعالیت LDH کبد می‌شود و تجویز ترکیبی با ویتامین‌های A، C و E کاهش فعالیت آنزیم را به‌دنبال دارد [۳۷].

گلوکاتینون، تری‌پتید حاوی تیول و یکی از مهم‌ترین آنتی‌اکسیدان‌های سلولی است که باعث جمع‌آوری مستقیم ROSها می‌شود. همچنین می‌تواند به‌عنوان یک سوبسترا برای آنزیم‌های گلوکاتینون پراکسیداز و GST عمل کند. تخلیه GSH در نهایت باعث افزایش پراکسیداسیون لیپیدی می‌شود [۲۵، ۳۱]. در این مطالعه، تجویز دیازینون سبب کاهش غلظت گلوکاتینون در قلب موش صحرایی شد. کاهش غلظت گلوکاتینون بافت قلب تا حدی در اثر ویتامین‌های E و C جبران می‌شود. از آنجایی که فعالیت GST نیز در بافت قلب در اثر دیازینون افزایش پیدا کرده است، کاهش

- Clin Chim Acta. 1978;90(1):37-43.
- 22- Tietze F. Enzymic method for quantitative determination of nanogram amounts of total and oxidized glutathione: Applications to mammalian blood and other tissues. *Anal Biochemistry*. 1969;27(3):502-22.
- 23- Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochemistry*. 1976;72:248-54.
- 24- Uzun FG, Kalender Y. Protective effect of vitamins C and E on malathion-induced nephrotoxicity in male rats. *Gazi Univ J Sci*. 2011;24(2):193-201.
- 25- Jafari M, Salehi M, Asgari A, Ahmadi S, Abbasnezhad M, Hajihosani R, Hajigholamali M. 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):876-7.
- 26- 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.
- 27- Nisar NA, Mudasir Sultana, Waiz HA, Para PA, Baba NA, Zargar FA, Raja WH. Experimental study on the effect of vitamin C administration on lipid peroxidation and antioxidant enzyme activity in rats exposed to chlorpyrifos and lead acetate. *Vet World*. 2013;6(8):461-6
- 28- Al-Awthman YS, Al-Duais MA, El-Sokkary GH, Aqlan EM. Protective effects of vitamins C and E on dimethoate-induced nephrotoxicity in male guinea pigs. *Annu Res Rev Biol*. 2014;4(24):4023-33.
- 29- Saxena R, Garg P. Vitamin E provides protection against in vitro oxidative stress due to pesticide (Chlorpyrifos and Endosulfan) in goat RBC. *GERF Bulletin Biosciences*. 2010;1(1):1-6.
- 30- Astiz M, De Alaniz MJ, Marra CA. Antioxidant defense system in rats simultaneously intoxicated with agrochemicals. *Environ Toxicol Pharmacol*. 2009;28(3):465-73.
- 31- Jafari M, Salehi M, Ahmadi S, Asgari A, Abbasnezhad 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.
- 32- Valavanidis A, Vlahogianni T, Dassenakis M, Scoullou M. Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants. *Ecotoxicology Environ Saf*. 2006;64(2):178-89.
- 33- 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.
- 34- Leong CT, D'Souza UJ, Iqbal M, Mustapha ZA. Lipid peroxidation and decline in antioxidant status as one of the toxicity measures of diazinon in the testis. *Redox Rep*. 2013;18(4):155-64.
- 35- Salehi M, Jafari M, Saleh-Moqadam M, Asgari A. The comparison of the effect of diazinon and paraoxon on biomarkers of oxidative stress in rat serum. *Zahedan J Res Med Sci*. 2012;14(3):18-23.
- 36- Ogutcu A, Suludere Z, Kalender Y. Dichlorvos-induced hepatotoxicity in rats and the protective effects of vitamins C and E. *Environ Toxicol Pharmacol*. 2008;26(3):355-61.
- 37- Shokrzadeh M, Shobi S, Attar H, Shayegan S, Payam pesticides in a repeated dose study in rats. *Rom J Morphol Embryol*. 2013;54(2):349-56.
- 2- Bhatti GK, Sidhu IPS, Saini NK, Puar SK, Singh G, Bhatti JS. Ameliorative role of melatonin against cypermethrin induced hepatotoxicity and impaired antioxidant defense system in wistar rats. *IOSR J Environ Sci Toxicol Food Technol*. 2014;8(1):39-48.
- 3- Yassa VF, Girgis SM, Abumourad IMK. Potential protective effects of vitamin E on diazinon-induced DNA damage and some haematological and biochemical alterations in rats. *J Mediterr Ecol*. 2011;11:31-9.
- 4- Ahmadi S, Jafari M, Asgari AR, Salehi M. Acute effect of diazinon on the antioxidant system of rat's heart tissue. *Trauma Monthly*. 2011;16(2):87-93. [Persian]
- 5- Oruc E. Effects of diazinon on antioxidant defense system and lipid peroxidation in the liver of *Cyprinus carpio* (L.). *Environ Toxicol*. 2010; 26: 571-8.
- 6- Halliwell B. Free radicals and antioxidants: Updating a personal view. *Nutr Rev*. 2012;70(5):257-65.
- 7- Rafeian-Kopaei M, Baradaran A, Rafeian M. Oxidative stress and the paradoxical effects of antioxidants. *J Res Med Sci*. 2013;18(7):629.
- 8- Shah MD, Iqbal M. Diazinon-induced oxidative stress and renal dysfunction in rats. *Food Chem Toxicol*. 2010;48(12):3345-53.
- 9- Salehi M, Jafari M, Asgari AR, Ahmadi S. The role of paraoxon toxicity on oxidative stress induction in rat heart and spleen. *Scientific J Zanjan Univ Med Sci*. 2013;21(84):13-23. [Persian]
- 10- 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.
- 11- 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.
- 12- Brigelius-Flohé R. Vitamin E and drug metabolism. *Biochem Biophys Res Commun*. 2003;305(3):737-40.
- 13- Duconge J, Miranda-Massari JR, Gonzalez MJ, Jackson JA, Warnock W, Riordan NH. Pharmacokinetics of vitamin C: insights into the oral and intravenous administration of ascorbate. *P R Health Sci J*. 2008;27(1):7-19.
- 14- El-Shenawy NS, El-Salmy F, Al-Eisa RA, El-Ahmary B. Amelioratory effect of vitamin E on organophosphorus insecticide diazinon-induced oxidative stress in mice liver. *Pestic Biochemistry Physiol*. 2010;96(2):101-7.
- 15- Eroglu S, Pandir D, Uzun FG, Bas H. Protective role of vitamins C and E in dichlorvos-induced oxidative stress in human erythrocytes in vitro. *Biol Res*. 2013;46(1):33-8.
- 16- Elzoghby RR, Hamoda AF, Abed-Ftah 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.
- 17- Gokalp O, Buyukvanli B, Cicek E, Ozer MK, Koyu A, Altuntas I, et al. The effects of diazinon on pancreatic damage and ameliorating role of vitamin E and vitamin C. *Pestic Biochemistry Physiol*. 2005;81(2):123-8.
- 18- 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.
- 19- Aebi H. Catalase in vitro. *Methods Enzymol*. 1984;105:121-6.
- 20- Habig WH, Jakoby WB. Glutathione S-transferases (rat and human). *Methods Enzymol*. 1981;77:218-31.
- 21- Satoh K. Serum lipid peroxide in cerebrovascular disorders determined by a new colorimetric method.

Med Sci. 2012;16(1):1-9. [Persian]

39- Verma RS, Mehta A, Srivastava N. Comparative studies on chlorpyrifos and methyl parathion induced oxidative stress in different parts of rat brain: Attenuation by antioxidant vitamins. Pestic Biochemistry Physiol. 2009;95(3):152-8.

SS, Ghorbani F. Effect of vitamins A, E and C on liver enzyme activity in rats exposed to organophosphate pesticide diazinon. Pak J Biol Sci. 2012;15(19):936-41.

38- Ahmadi S, Jafari M, Asgari A, Salehi M. Acute effect of diazinon on lipid peroxidation level and activities of antioxidant enzymes in rat spleen. J Kermanshah Univ

Archive of SID