Archive of SID

Original Paper

Effect of garlic extract and N-acetylcysteine against fenvalerate-induced oxidative stress in the serum and testis tissue of rat

Parisa Raji (M.Sc), M.Sc in Biochemistry, Department of Cellular and Molecular Biology, Faculty of Basic Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran. ORCID ID: 0000-0002-7484-2222

***Bagher Seyedalipour (Ph.D)**, **Corresponding Author**, Assistant Professor, Department of Cellular and Molecular Biology, Faculty of Basic Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran. **b.seyedalipour@umz.ac.ir** ORCID ID: 0000-0002-3854-9328

Akbar Hajizadeh Moghaddam (Ph.D), Associate Professor, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran. ORCID ID: 0000-0002-0843-8440

Downloaded from goums.ac.ir at 8:59 +0430 on Wednesday July 17th 2019

Abstract

Background and Objective: Fenvalerate is a component of the pyrethroid pesticide induces oxidative stress. This study was done to determine the effect of garlic extract (GE) and N-acetylcysteine (NAC) against fenvalerate-induced oxidative stress in the serum and testis tissue of rat.

Methods: In this experimental study, 42 Wistar rats were randomly allocated into 7 groups including: control group, sham group (normal saline), the first experimental group receiving NAC (80 mg/kg/bw), the second experimental group receiving fenvalerate (10 mg/kg/bw), the third experimental group receiving fenvalerate (10 mg/kg/bw) + garlic extract (40 mg/kg/bw), the fourth experimental group receiving fenvalerate (10 mg/kg/bw) + NAC (80 mg/kg/bw) and the fifth experimental group receiving fenvalerate (10 mg/kg/bw) + garlic extract (40 mg/kg/bw) + NAC (80 mg/kg/bw). Injection of fenvalerate was performed intraperitoneally for 7 consecutive days in animals of intervention groups. Afterwards, for 10 consecutive days, NAC and garlic extract were injected. In this study, 1/40 LD50 fenvalerate was used. The activity of the catalase (CAT), glutathione S-transferase (GST), malondialdehyde (MDA) and total antioxidant capacity (TAC) were determined in serum and testis tissue in all animals.

Results: MDA level of serum and testis tissue in fenvalerate group increased significantly compared to the control group ($P<0.05$). The injection of NAC and garlic extract alone ($P<0.05$) as well as garlic extract in combination with NAC reduced MDA level of serum and testis tissue compared to fenvalerate group ($P<0.05$). Serum TAC level was significantly reduced in fenvalerate group compared to control ($P<0.05$). Serum TAC level was significantly increased in fenvalerate + GE group, fenvalerate + NAC group and fenvalerate + GE + NAC group compated to the fenvalerate group ($P<0.05$). GST activity of serum was significantly increased in fenvalerate group compared to control ($P<0.05$). GST activity of serum was significantly reduced in NAC, garlic extract and combination of NAC and garlic extact groups compared to fenvalerate group ($P<0.05$).

Conclusion: In this animal model study, low dose (10 mg/kg/bw) fenvalerate induces oxidative stress. Garlic extract and N-acetylcysteine (alone and in combination) improve injures caused by fenvalerate.

Keywords: Garlic extract, N-acetylcysteine, Fenvalerate, Antioxidant enzymes, Oxidative stress, Rat

Received 6 May 2018 **Revised** 23 Jun 2018 **Accepted** 27 Jun 2018

Cite this article as: Parisa Raji, Bagher Seyedalipour, Akbar Hajizadeh Moghaddam. [Effect of garlic extract and N-acetylcysteine against fenvalerate-induced oxidative stress in the serum and testis tissue of rat]. J Gorgan Univ Med Sci. 2019 Summer; 21(2): 32-41. [Article in Persian]

www.SID.ir

Archive of SID

تحقیقی

اثر عصاره هیدروالکلی سیر و N–استیل سیستئین بر استرس اکسیداتیو ناشی از فن‌والریت بر سرم و بیضه موش صحرایی

پریسا راجی، کارشناس ارشد بیوشیمی، گروه سلولی و مولکولی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران، ایران. ORCID ID: 0000-0002-7484-2222
*** دکتر باقر سید علیپور**، استادیار، گروه زیست سلولی و مولکولی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران. ORCID ID: 0000-0002-3854-9328
دکتر اکبر حاجی زاده مقدم، دانشیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران. ORCID ID: 0000-0002-0843-8440

Downloaded from goums.ac.ir at 8:59 +0430 on Wednesday July 17th 2019

چکیده

زمینه و هدف: *فن‌والریت (Fenvalerate) جزء حشره‌کش پیرتیروئیدی است که سبب القاء استرس اکسیداتیو می‌شود. این مطالعه به منظور تعیین اثر عصاره هیدروالکلی سیر (Garlic extract:GE) و N–استیل‌سیستئین (N-acetylcysteine: NAC) بر استرس اکسیداتیو ناشی از القاء فن‌والریت بر سرم و بیضه موش صحرایی انجام شد.*

روش بررسی: *در این مطالعه تجربی ۴۲ سر موش صحرایی به‌طور تصادفی در ۷ گروه ٦ تایی قرار گرفتند. گروه ها شامل کنترل، شم (نرمال سالین)، گروه تجربی اول دریافت کننده داخل صفاقی N–استیل سیستئین (۸۰ mg/kg/bw)، گروه تجربی دوم دریافت کننده فن‌والریت (۱۰ mg/kg/bw)، گروه تجربی سوم دریافت کننده عصاره هیدروالکلی سیر (٤٠ mg/kg/bw) به‌علاوه فن‌والریت (۱۰ mg/kg/bw)، گروه تجربی چهارم دریافت کننده N–استیل سیستئین (۸۰ mg/kg/bw) به‌علاوه فن‌والریت (۱۰ mg/kg/bw) و گروه تجربی پنجم دریافت کننده N–استیل سیستئین (۸۰ mg/kg/bw) به‌علاوه عصاره هیدروالکلی سیر (٤٠ mg/kg/bw) به‌علاوه فن‌والریت (۱۰ mg/kg/bw) بودند. تزریق فن والریت به‌صورت داخل صفاقی به مدت ۷ روز متوالی برای گروه‌های تجربی انجام شد. پس از آن برای ۱۰ روز متوالی N–استیل سیستئین و عصاره سیر تزریق شد. در این مطالعه از یک‌چهلم LD50 فن‌والریت استفاده شد. بعد از خونگیری، جداسازی سرم و بیضه، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز (activity of the catalase: CAT)، گلوتاتیون s–ترانسفراز (Glutathione S-transferase: GST)، سطح مالون‌دی‌آلدئید (malondialdehyde: MDA) و آنتی‌اکسیدان تام (total antioxidant capacity: TAC) اندازه‌گیری و مقایسه گردید.*

یافته‌ها: *سطح MDA سرم و بیضه گروه فن‌والریت در مقایسه با گروه کنترل به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (P<۰/۰۵). تزریق N–استیل سیستئین و عصاره هیدروالکلی سیر به تنهایی و نیز عصاره هیدروالکلی سیر در ترکیب با N–استیل سیستئین باعث کاهش آماری معنی دار MDA در مقایسه با گروه فن‌والریت در بیضه و سرم شد (P<۰/۰۵). سطح TAC سرم در گروه فن‌والریت در مقایسه با گروه کنترل کاهش آماری معنی‌داری یافت (P<۰/۰۵). سطح TAC سرم در گروه‌های تجربی سوم، چهارم و پنجم در مقایسه با گروه فن‌والریت افزایش آماری معنی‌داری نشان داد (P<۰/۰۵). فعالیت GST سرم در گروه فن‌والریت نسبت به کنترل افزایش یافت (P<۰/۰۵). تزریق N–استیل سیستئین و عصاره هیدروالکلی سیر به تنهایی و در ترکیب باهم باعث کاهش آماری معنی‌دار GST سرم در مقایسه با گروه دریافت کننده فن والریت شد (P<۰/۰۵).*

نتیجه‌گیری: *فن‌والریت در دوز پایین (۱۰mg/kg/bw) سبب ایجاد استرس اکسیداتیو می‌شود. تزریق N–استیل سیستئین و عصاره هیدروالکلی سیر به تنهایی و در ترکیب با هم، می‌توانند آسیب ناشی از فن‌والریت را بهبود دهند.*

کلید واژه‌ها: *عصاره هیدروالکلی سیر ، N–استیل سیستئین ، فن‌والریت ، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان ، استرس اکسیداتیو ، موش صحرایی*

* نویسنده مسؤول : دکتر باقر سیدعلیپور ، پست الکترونیکی b.seyedalipour@umz.ac.ir
نشانی : بابلسر، دانشگاه مازندران، دانشکده علوم پایه، گروه زیست سلولی و مولکولی، تلفن ۰۱۱-۳۵۳۰۲۴۰۵
وصول مقاله: ۱۳۹۷/۲/۱٦ ، اصلاح نهایی: ۱۳۹۷/٤/۲ ، پذیرش مقاله: ۱۳۹۷/٤/٦

مقدمه

سموم پیروتروئید مانند فن‌والریت و دلتامترین در کشاورزی کاربرد بسیاری دارند. منبع آلودگی شیمیایی محیط زیست به دلیل استفاده گسترده آنها در کشاورزی بوده و اثرات نامطلوب آفت کش ها به عنوان یک نگرانی جدی در طول چند دهه گذشته شناخته شده است (۱). عصاره گل داوودی (*Chrysanthemum*) به عنوان پیرتروئید طبیعی به مدت طولانی شناخته شده که استرهای پیروتوئیک اسید موجود در آن مسؤول فعالیت حشره‌کشی پیرتروئید است (۲). پیرتروئیدها را می‌توان به دو نوع عمده تیپ یک و دو تقسیم کرد. تیپ یک (T): پیرتروئید سنتزی نوع یک با ساختمان سیکلو پروپان کربوکسیلیک استر مانند پرمترین و آلترین

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from goums.ac.ir at 8:59 +0430 on Wednesday July 17th 2019

هستند. تیپ ۲ (CS): در این نوع پیرتروئیدهای حاوی Cyanomoiety α مانند فن‌والریت (Fenvalerate) و دلتامترین قرار دارند. Chargui و همکاران گزارش نمودند به دلیل متابولیسم سریع و سمیت کم برای حیوانات غیرهدف و همچنین توان بالقوه آنها در ازبین بردن بسیاری از آفات، کشورهای زیادی از این سم استفاده می کنند (۳). فن‌والریت برای محافظت یک طیف گسترده‌ای از محصولات مانند پنبه، سویا، سبزیجات و سیب استفاده می شود. بر اساس گزارش‌ها فن‌والریت سبب ایجاد استرس اکسیداتیو و ROS می‌گردد. عدم تعادل در تولید و حذف ROSها توسط بدن، منجر به استرس اکسیداتیو و تغییرات پاتولوژیکی در سلول های مختلف می شود (۴). فن‌والریت از طریق اختلال در آنزیم کولین استراز بر سیستم عصبی تاثیر می گذارد. همچنین فن‌والریت با کاهش توده بدن، افزایش توده کبد و گسترش شبکه آندوپلاسمی صاف در سلول های کبدی در ارتباط است و همچنین باعث افزایش فعالیت آنزیم های ALT و AST می شود (۵). پیرتروئیدها از طریق تولید رادیکال‌های آزاد باعث تغییر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نظیر کاتالاز (activity of the catalase: CAT)، گلوتاتیون s-ترانسفراز (Glutathione S-transferase: GST) و سطح مالون‌دی‌آلدئید (malondialdehyde: MDA) در بافت کلیه، کبد و بیضه شده که در نهایت منجر به استرس اکسیداتیو می‌شوند (۶).

سیر با نام علمی *Allium Sativum* از خانواده *Alliaceae* و جزء گیاهان دارویی است. از لحاظ دارویی نیز مورد توجه بوده و در طول تاریخ برای درمان اسهال شدید، یبوست و عفونت های انگلی و برای پایین آوردن تب، مبارزه با عفونت گوش و تسکین درد معده استفاده شده است (۷). ترکیبات موجود در سیر به دو گروه سولفوره که حداقل دارای ۳۳ ترکیبات گوگردار مانند آلین، آلیسین، S-آلیل سیستئین(SAC) و S-آلیل مرکاپتوسیستئین(SAMC) تقسیم می شوند. آلین مهم ترین ترکیب سیر است که یک آلکیل مشتق شده از سولفوکسید سیستئین است و ترکیب بیولوژیکی فعال آن، آلیسین نام دارد. یکی دیگر از ترکیبات سولفوردار که در سیر تازه وجود دارد؛ گاماگلوتامیل سیستئین است که پس از هیدرولیز شدن و اکسید شدن به آلین تبدیل می شود (۸). اثرات مفید SAC در ایسکمی مغزی، نقش مکانیسم حفاظتی آن با مهار رادیکال‌های آزاد به واسطه پراکسیداسیون لیپیدی است (۹). S-آلیل سیستئین و عصاره سیر سبب کاهش MDA، فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز و کلسترول در سرم و سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز در بافت کبدی می‌شود (۱۰). برخی از اجزای سیر فعالیت ضدسرطانی دارند. پس از واکنش با آنتی‌اکسیدان‌های اندوژن از جمله سیستئین و گلوتاتیون، اکثریت سولفیدهای آلیل سیر به S-آلیل مرکاپتو گلوتاتیون کونژوگه تبدیل می‌شود (۱۱).

N-استیل‌سیستئین (N-acetylcysteine: NAC) فرم استیله اسیدآمینه L-سیستئین است و به سنتز گلوتاتیون کمک نموده و به عنوان سم‌زدایی کننده و همچنین دارای عملکرد مستقیم به عنوان ازبین برنده رادیکال های آزاد است. در بعضی از مطالعات گزارش شده NAC یکی از ماده موثر در گیاهان آلیوم است (۱۲). NAC تلفیقی از گروه‌های تیول سلولی است و برای محافظت از سلول‌ها در برابر حمله واسطه های اکسیژن فعال استفاده می شود. به دلیل وجود اسید آمینه حاوی گوگرد در NAC دارای بسیاری از خواص بیولوژیکی است که آن را به عنوان یک دارو با برنامه‌های متعدد درمانی مورد استفاده قرار می‌دهند. تفاوت در دوز و زمان مواجه وجه تمایز مطالعاتی مختلف در ارتباط با سموم و نقش محافظتی ترکیبات آنتی اکسیدان است. به دلیل تنوع در دریافت دوز و اثرات مختلف در سرم و بافت بیضه، پژوهش در جهت درک مکانیسم این ترکیبات ضروری است. مطالعات در خصوص اثرات فن‌والریت و نقش عصاره سیر و N-استیل سیستئین به تنهایی و در ترکیب با هم بر سیستم آنتی‌اکسیدان به صورت in vivo به‌خصوص در سرم و بافت بیضه ارایه نشد. این مطالعه به منظور تعیین اثر عصاره هیدروالکلی سیر و N-استیل‌سیستئین بر استرس اکسیداتیو ناشی از القاء فن‌والریت بر سرم و بیضه موش صحرایی انجام شد.

روش بررسی

این مطالعه تجربی روی ۴۲ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با محدوده سنی ۱۴-۱۲ هفته و محدوده وزنی ۲۲۰-۱۷۰ گرم تهیه شده از پژوهشکده انستیتو پاستور آمل در دانشکده علوم پایه دانشگاه مازندران واحد بابلسر طی سال ۱۳۹۶ انجام شد.

مطالعه مورد تایید کمیته اخلاق (IR.UMZ.REC.396006) دانشگاه مازندران قرار گرفت.

موش‌های صحرایی در لانه حیوانات به‌صورت گروهی در شرایط نور کافی اتاق (۱۲ ساعت تاریکی - روشنایی)، محدوده دمایی ۲۴-۲۲ درجه سانتی گراد و مطابق اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی نگهداری شدند.

فن‌والریت (FV)، N-استیل سیستئین (NAC)، ۱-کلرو ۲،۴ دی‌نیتروبنزن (CDNB)، ۲، ۴، ۶ تریس (۲-پیریدیل)، S-تریزین (TPTZ)، تری‌کلرواستیک اسید (TCA) و H2O2 از شرکت‌های مرک و سیگما آلدریچ خریداری شدند.

برای تهیه عصاره هیدروالکلی سیر، حبه های سیر مورد استفاده از گونه *Allium sativum L* از استان همدان تهیه و توسط متخصص گیاه‌شناسی دانشگاه مازندران با کد هرباریوم ۸۱۱۹ شناسایی گردید. بعد از جدا کردن پوست، حبه های سیر تازه با آب مقطر استریل شسته و تمیز شدند و سپس با اسکالپل به قطعات کوچک‌تر تقسیم شدند و در ادامه سیر تمیز شده به‌طور جداگانه خورد و له گردید.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from goums.ac.ir at 8:59 +0430 on Wednesday July 17th 2019

سپس در بالن یک لیتری به ازای هر ۵۰ گرم از سیر خورد (له) شده، ۴۰۰ میلی لیتر الکل ۹۶ درصد اضافه و به مدت ۴۸ ساعت خیسانده شد. سپس توسط کاغذ صافی و قیف بوخنر صاف گردید. بر روی مواد باقیمانده، الکل ۷۰ درصد ریخته و بعد از ۲۴ ساعت به مدت ۵ دقیقه در دور ۳۰۰۰ سانتریفیوژ شده و مایع رویی نید فیلتر و به مایع اول اضافه گردید. سپس با دستگاه تقطیر در خلاء (روتاری) حلال‌پراکنی صورت گرفت. عصاره در دمای منفی درجه سانتی‌گراد ذخیره و در مواقع نیاز با محلول سرم فیزیولوژی غلظت‌های نهایی آماده شد (۱۳). به‌طوری که به ازای وزن موش مقدار عصاره وزن شده و به هر موش ۰/۵ میلی‌لیتر عصاره هیدروالکلی سیر با دوز ۴۰ mg/kg/bw به‌صورت درون صفاقی تزریق شد. با توجه به وزن موش که حدود ۲۵۰ گرم بود ۱۰ میلی‌گرم از عصاره هیدروالکلی سیر وزن شد و با محلول سرم فیزیولوژی حل شد و ۰/۵ میلی‌لیتر به هر موش تزریق شد.

حیوانات به ۷ گروه ۶ تایی به شرح زیر تقسیم شدند.

الف) گروه کنترل (C): هیچ مداخله‌ای صورت نگرفت و فقط آب و غذای کافی مصرف نمود.

ب) گروه شم (SH): دریافت کننده داخل صفاقی ۰/۵ میلی لیتر سرم فیزیولوژی ۰/۹ درصد (به‌عنوان حلال روزانه).

ج) گروه تجربی اول (NAC): دریافت کننده داخل صفاقی N-استیل سیستئین (۸۰ mg/kg/bw).

د) گروه تجربی دوم (F): دریافت کننده داخل صفاقی فن‌والریت (۱۰ mg/kg/bw).

ه) گروه تجربی سوم (F+GE): دریافت کننده داخل صفاقی عصاره هیدروالکلی سیر (۴۰ mg/kg/bw) به‌علاوه فن‌والریت (۱۰ mg/kg/bw).

و) گروه تجربی چهارم (F+NAC): دریافت کننده داخل صفاقی N-استیل سیستئین (۸۰ mg/kg/bw) به‌علاوه فن‌والریت (۱۰ mg/kg/bw).

ز) گروه تجربی پنجم (F+GE+NAC): دریافت کننده داخل صفاقی N-استیل سیستئین (۸۰ mg/kg/bw) به‌علاوه عصاره هیدروالکلی سیر (۴۰ mg/kg/bw) به‌علاوه فن‌والریت (۱۰ mg/kg/bw).

لازم به ذکر است روزانه محلول فن‌والریت با دوز ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن توسط سرم فیزیولوژی تهیه گردید. با توجه به LD50 گزارش شده در مطالعات قبلی در این مطالعه از یک‌چهلم LD50 برای آزمایش استفاده شد (۱۴). سپس به مدت ۷ روز در شرایط استریل با حجم ۰/۵ میلی لیتر به صورت داخل صفاقی به گروه‌های تجربی دوم تا پنجم توسط سرنگ انسولین تزریق شد. پس از ۲۴ ساعت از آخرین تزریق فن‌والریت، عصاره هیدروالکلی سیر با دوز ۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن به گروه‌های تجربی سوم و پنجم و N-استیل سیستئین با دوز ۸۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن به گروه‌های تجربی اول، چهارم و پنجم به حجم ۰/۵ میلی‌لیتر با سرنگ انسولین به صورت داخل صفاقی به مدت ۱۰ روز تزریق گردید. برای استفاده از عصاره هیدروالکلی سیر از مطالعه Rafieian-Kopaei و همکاران استفاده شد (۱۳). دوز مورد استفاده N-استیل سیستئین براساس مطالعه Maeda و همکاران تعیین شد (۱۵). مدت زمان تزریق آنتی‌اکسیدان‌ها به‌صورت داخل صفاقی براساس مطالعه Wispriyono انجام شد (۱۶).

۲۴ ساعت پس از آخرین تزریق با رعایت شرایط ناشتا، خونگیری از قلب تحت بیهوشی عمیق صورت گرفت. ابتدا حیوانات را فیکس و سپس عمل جمع آوری خون از قلب به‌وسیله سرنگ ۵ میلی لیتری انجام گردید. نمونه خون به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۳۰۰۰ سانتریفوژ شد تا سرم از خون جدا شود. نمونه‌های سرم جمع آوری شده تا زمان انجام سنجش تست‌های آنتی‌اکسیدانی در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

بعد از بیهوش نمودن حیوانات بافت بیضه خارج گردید و بعد از شستشو با سرم فیزیولوژی و خارج شدن خون و جدا کردن قسمت های زاید به منظور به‌دست آوردن وزن مطلق و وزن نسبی، توزین شدند و سپس به نیتروژن مایع در دمای منفی ۷۰ درجه سانتی‌گراد تا زمان انجام آزمایش منتقل و نگهداری شد. در روز آزمایش بافت‌های بیضه به دقت توزین و با نسبت ۱ به ۵ در بافر فسفات سالین هموژنه و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با دور ۱۰۰۰۰ سانتریفوژ شدند. از مایع رویی به منظور سنجش شاخص‌های آنتی‌اکسیدان استفاده گردید.

محاسبه تغییرات وزن مطلق و نسبی بافت بیضه: وزن حیوانات در ابتدا و انتهای آزمایش به‌طور دقیق اندازه‌گیری شد. برای اندازه گیری وزن مطلق بیضه، بعد از جداسازی و شستشو با سرم فیزیولوژی قسمت‌های زاید جدا گردید و بیضه‌ها وزن شدند. میانگین وزن مطلق بیضه برای هر گروه اندازه گیری شد. برای محاسبه وزن نسبی، وزن بافت بیضه برای هر موش بر وزن کل موش در آخرین روز تقسیم و در عدد ۱۰۰ ضرب گردید.

سنجش میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدان تام (TAC) به روش FRAP: این روش بر اساس قدرت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها در جهت احیاء یون Fe^{3+} (فریک) به یون Fe^{2+} (فرو) و در حضور ماده‌ای تحت عنوان ۲، ۴، ۶ تریس (۲-پیریدیل) S-تریازین (TPTZ) انجام می‌شود. محلول FRAP شامل بافر استات سدیم ۰/۳ مولار (pH=۳/۶)، محلول TPTZ ۱۰ میلی مولار در HCl ۴۰ میلی‌مولار و محلول FeCl3. 6 H2O ۲۰ میلی‌مولار است. برای انجام آزمایش،

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from goums.ac.ir at 8:59 +0430 on Wednesday July 17th 2019

۵۰ میکرولیتر از نمونه را به ۱/۵ میلی لیتر معرف FRAP افزوده و به مدت ۱۰ دقیقه در بن ماری با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار گرفت. برای محاسبه میزان آنتی اکسیدان تام موجود در نمونه های مورد مطالعه از نمودار استاندارد FeCL3. 6H2O استفاده شد. در سرم بر حسب µM و در بافت بیضه بر حسب µM/g tissue گزارش گردید.

سنجش فعالیت آنزیم CAT: فعالیت آنزیم کاتالاز با روش Aebi سنجش شد. حجم مخلوط واکنش در کوت ۱/۵ میلی لیتری انجام شد. حجم مخلوط واکنش شامل ۴۹۰ میکرولیتر محلول ۳۰ میلی مولار آب اکسیژنه و ۱۰ میکرولیتر نمونه و یک میلی لیتر بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی مولار (pH=۷) بود. واکنش با افزودن سوبسترا شروع و تغییرات جذب به مدت ۳۰ ثانیه در طول موج ۲۴۰ نانومتر و حرارت ۲۵ درجه اندازه گیری شد. فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از ضریب خاموشی H2O2 که مساوی با ۰/۰۴۳۶ mM -1 cm-1 است؛ براساس قانون بیرلامبرت (A=εdc) محاسبه و به صورت (U/ml) برای سرم و (U/g tissue) برای بیضه گزارش گردید.

تعیین غلظت MDA: برای تعیین محصول نهایی پراکسیداسیون لیپید ها (MDA) در نمونه سرم و بیضه ابتدا ۵۰ میکرولیتر از نمونه در ۱۹۵۰ میکرولیتر معرف [MDAشامل تیوباربیتوریک اسید (TBA)، تری کلرواستیک (TCA)، هیدروکلریک اسید (HCL) در آب مقطر] اضافه شد و به مدت ۱۵ دقیقه در آب ۱۰۰ درجه قرار گرفت. بعد از خنک شدن محلول، به مدت ۸ دقیقه با دور g ۲۵۰۰ سانتریفیوژ شد. یک میلی لیتر از محلول رویی سانتریفیوژ شده برداشته و جذب در طول موج ۵۳۵ نانومتر خوانده شد. همچنین محلول بلانک حاوی ۵۰ میکرولیتر آب مقطر و ۱۹۵۰ میکرولیتر از معرف MDA است. غلظت MDA با استفاده از ضریب خاموشی ۱۵۶ mM-1Cm-1 بر اساس قانون بیرلامبرت (A=εdc) محاسبه و به صورت µmol در سرم و nmol/g tissue در بافت بیضه گزارش گردید.

سنجش فعالیت آنزیم GST: برای سنجش فعالیت آنزیم گلوتاتیون s-ترانسفراز در نمونه سرم، به ۵۰ میکرولیتر از نمونه سرم ۲۸۵۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی مولار و ۵۰ میکرولیتر گلوتاتیون افزوده شد و به عنوان بلانک با آن دستگاه صفر گردید. سپس با افزودن ۵۰ میکرولیتر CDNB افزایش جذب در طی ۵ دقیقه در طول موج ۳۴۰ نانومتر قرائت شد. برای اندازه گیری GST در نمونه بافت هموژنه بیضه، به ۲۰ میکرولیتر از نمونه بافت هموژنه ۲۸۸۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی مولار (pH=۶/۵) و ۵۰ میکرولیتر گلوتاتیون یک میلی مولار افزوده شد و به عنوان بلانک با آن دستگاه صفر گردید. سپس با افزودن ۵۰ میکرولیتر CDNB یک میلی مولار افزایش جذب در طی ۵ دقیقه در طول موج ۳۴۰ نانومتر قرائت گردید و بر حسب U/ml در سرم و U/g tissue در بافت بیضه بیان شد.

تحلیل آماری: داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS-22 تجزیه و تحلیل شدند. برای بررسی وجود اختلاف بین گروه ها از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و به دنبال آن از آزمون توکی استفاده شد. داده‌ها به صورت میانگین و انحراف معیار (Mean±SD) گزارش و اختلاف بین گروه‌ها در سطح کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار تلقی گردید.

یافته‌ها

نتایج حاصل از اثر سم فن والریت به تنهایی و در ترکیب با N –استیل سیستئین و عصاره هیدروالکلی سیر بر وزن اولیه و نهایی بدن و وزن مطلق و نسبی بافت بیضه در بین گروه های مورد مطالعه در جدول یک نشان داده شده است. وزن بافت مطلق بیضه (راست و چپ) در گروه تجربی دوم نسبت به کنترل به‌طور غیرمعنی‌داری کاهش یافت. افزایش وزن مطلق بافت بیضه راست در گروه تجربی سوم (۱/۵۷۱±۰/۰۴۶ گرم) نسبت به کنترل (۱/۳۶۲±۰/۰۴۱ گرم) (P<۰/۰۰۷) و همچنین نسبت به گروه تجربی دوم (۱/۳۲۲±۰/۰۴۳

جدول ۱ : میانگین و انحراف معیار وزن مطلق و نسبی بیضه موش‌های صحرایی نر در گروه‌های مورد مطالعه

گروه‌ها	میانگین و انحراف معیار وزن مطلق (گرم)		میانگین و انحراف معیار وزن نسبی (گرم)	
	بیضه راست	بیضه چپ	بیضه راست	بیضه چپ
کنترل	۱/۳۶۲±۰/۰۴۱	۱/۳۹۶±۰/۰۳۶	۰/۶۸۳±۰/۰۱۶	۰/۷۰۰±۰/۰۱۱
شم	۱/۴۹۵±۰/۰۳۸	۱/۴۶۴±۰/۰۳۸	۰/۷۴۹±۰/۰۴۳	۰/۷۴۸±۰/۰۴۲
تجربی اول	۱/۴۵۶±۰/۰۱۵	۱/۳۹۶±۰/۰۱۳	۰/۷۴۳±۰/۰۲۸	۰/۷۰۰±۰/۰۲۴
تجربی دوم	۱/۳۲۲±۰/۰۴۳	۱/۳۲۳±۰/۰۳۳	۰/۷۲۷±۰/۰۱۷	۰/۷۲۹±۰/۰۱۴
تجربی سوم	#* ۱/۵۷۱±۰/۰۴۶	۱/۴۲۸±۰/۰۲۸	۰/۷۵۸±۰/۰۳۰	۰/۶۸۳±۰/۰۰۶
تجربی چهارم	۱/۴۶۷±۰/۰۳۳	** ۱/۵۳۱±۰/۰۶۲	۰/۷۱۰±۰/۰۳۳	۰/۷۳۸±۰/۰۴۱
تجربی پنجم	۱/۴۵۱±۰/۰۳۷	۱/۴۳۷±۰/۰۴۸	۰/۷۰۰±۰/۰۲۴	۰/۶۴۹±۰/۰۳۲

گروه کنترل: بدون مداخله؛ گروه شم: دریافت کننده داخل صفاقی ۰/۵ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی ۰/۹ درصد؛ گروه تجربی اول: دریافت کننده داخل صفاقی N–استیل سیستئین (۸۰ mg/kg/bw)؛ گروه تجربی دوم: دریافت کننده داخل صفاقی فن‌والریت (۱۰ mg/kg/bw)؛ گروه تجربی سوم: دریافت کننده داخل صفاقی عصاره سیر (۴۰ mg/kg/bw) به‌علاوه فن‌والریت (۱۰ mg/kg/bw)؛ گروه تجربی چهارم: دریافت کننده داخل صفاقی N–استیل سیستئین (۸۰ mg/kg/bw) به‌علاوه فن‌والریت (۱۰ mg/kg/bw)؛ گروه تجربی پنجم: دریافت کننده داخل صفاقی N–استیل سیستئین (۸۰ mg/kg/bw) به‌علاوه عصاره سیر (۴۰ mg/kg/bw) به‌علاوه فن‌والریت (۱۰ mg/kg/bw)

** P<۰/۰۱ نسبت به گروه کنترل؛ ** P<۰/۰۱ و # P<۰/۰۰۱ نسبت به گروه تجربی دوم*

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from goums.ac.ir at 8:59 +0430 on Wednesday July 17th 2019

جدول ۲ : میانگین و انحراف معیار میزان آنزیم‌های کاتالاز و گلوتاتیون S-ترانسفراز در سرم و بافت بیضه موش‌های صحرایی مورد مطالعه

گروه‌ها	میانگین و انحراف معیار			
	آنزیم کاتالاز		آنزیم گلوتاتیون S-ترانسفراز	
	سرم (U/ml)	بیضه (U/g tissue)	سرم (U/ml)	بیضه (U/g tissue)
کنترل	۲/۸۱± ۱۹/۶۵	۰/۵۴± ۳۵۳/۰۸	۴/۸۶± ۷۴/۳۱	۴۱/۹۱± ۳۱۵/۶۳
شم	۵/۰۳± ۲۱/۱۵	۳۳/۳۵± ۳۵۹/۸۵	۴/۳۴± ۸۹/۵۸	۹/۵۰± ۳۰۸/۰۸
تجربی اول	۳/۴۷± ۱۹/۷۳	۲۲/۰۹± ۲۲۸/۳۶	۱۲/۴۵± ۶۷/۲۸ ##	۱۶/۰۹± ۲۷۵/۳۶
تجربی دوم	۴/۷۳± ۲۵/۲۲	۴۷/۵۱± ۳۶۷/۹۷	۶/۸۴± ۱۳۴/۰۳ *	۲۵/۳۷± ۲۳۷/۵۰
تجربی سوم	۴/۱۷± ۱۶/۶۷	۴۰/۷۰± ۳۴۲/۴۹	۱۵/۰۷± ۹۱/۶۷ #	۲۵/۳۷± ۳۴۲/۱۹
تجربی چهارم	۳/۲۲± ۱۷/۶۸	۶۵/۸۱± ۳۱۹/۲۶	۱۰/۰۲± ۹۰/۲۸ #	۴۶/۶۹± ۲۹۱/۳۹
تجربی پنجم	۳/۹± ۱۶/۱۰	۳۳/۰۵± ۱۸۳/۰۸ **	۳/۸۷± ۷۹/۸۶ ##	۴۲/۰۵± ۲۸۱/۳۳

گروه کنترل: بدون مداخله؛ گروه شم: دریافت کننده داخل صفاقی ۰/۵ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی ۰/۹ درصد؛ گروه تجربی اول: دریافت کننده داخل صفاقی N-استیل سیستئین (۸۰ mg/kg/bw)؛ گروه تجربی دوم: دریافت کننده داخل صفاقی فن‌والریت (۱۰ mg/kg/bw)؛ گروه تجربی سوم: دریافت کننده داخل صفاقی عصاره سیر (۴۰ mg/kg/bw) به‌علاوه فن‌والریت (۱۰ mg/kg/bw)؛ گروه تجربی چهارم: دریافت کننده داخل صفاقی N-استیل سیستئین (۸۰ mg/kg/bw) به‌علاوه فن‌والریت (۱۰ mg/kg/bw)؛ گروه تجربی پنجم: دریافت کننده داخل صفاقی N-استیل سیستئین (۸۰ mg/kg/bw) به‌علاوه عصاره سیر (۴۰ mg/kg/bw) به‌علاوه فن‌والریت (۱۰ mg/kg/bw)

* P<۰/۰۰۱ نسبت به گروه کنترل؛ ** P<۰/۰۵ ، # P<۰/۰۱ و ## P<۰/۰۰۱ نسبت به گروه تجربی دوم

گرم) (P<۰/۰۰۱) از نظر آماری معنی‌دار بود (جدول یک). افزایش معنی داری در وزن مطلق بافت بیضه چپ در گروه تجربی چهارم (۰/۰۶۲±۱/۵۳۱ گرم) نسبت به گروه تجربی دوم (۰/۰۳۳±۱/۳۲۳ گرم) (P<۰/۰۱۱) مشاهده شد. افزایش آماری غیرمعنی داری در وزن نسبی بافت بیضه راست گروه های تجربی دوم، سوم و چهارم نسبت به کنترل مشاهده شد. کاهش وزن نسبی بیضه راست در گروه‌های تجربی چهارم و پنجم نسبت به گروه تجربی دوم از نظر آماری معنی‌دار نبود. وزن نسبی بافت بیضه چپ گروه‌های تجربی دوم و چهارم نسبت به کنترل افزایش غیرمعنی‌داری یافت. وزن نسبی بافت بیضه چپ گروه های تجربی اول و سوم نسبت به کنترل هیچ تغییری نشان نداد. کاهش وزن نسبی بافت بیضه چپ گروه های تجربی اول، سوم و پنجم نسبت به گروه تجربی دوم از نظر آماری معنی‌دار نبود (جدول یک).

نتایج اثر فن‌والریت و گروه‌های عصاره هیدروالکلی سیر و N-استیل سیستئین به تنهایی و در ترکیب با هم در سنجش توتال آنتی‌اکسیدان (TAC) سرم موش‌های صحرایی مورد مطالعه در نمودار یک-الف آمده است. سطح توتال آنتی اکسیدان گروه تجربی دوم در مقایسه با کنترل، کاهش آماری معنی‌داری نشان داد (P<۰/۰۱). گروه‌های تجربی اول (P<۰/۰۱)، تجربی پنجم (P<۰/۰۱) و تجربی سوم (P<۰/۰۰۱) نسبت به کنترل افزایش آماری معنی‌داری نشان داد. همان‌طور که در نمودار یک مشاهده می شود؛ سطح توتال آنتی‌اکسیدان گروه‌های تجربی اول، سوم و پنجم افزایش آماری معنی داری در مقایسه با گروه تجربی دوم در سطح P<۰/۰۰۱ نشان دادند.

مقایسه اثر فن‌والریت و گروه‌های عصاره هیدروالکلی سیر و N-استیل‌سیستئین در سنجش توتال آنتی‌اکسیدان (TAC) بیضه موش های صحرایی در نمودار یک-ب آمده است. سطح توتال آنتی‌اکسیدان گروه تجربی دوم در مقایسه با گروه کنترل به‌طور غیرمعنی‌داری کاهش یافت. همچنین در بقیه گروه‌ها نیز در مقایسه با کنترل تغییر آماری معنی‌داری نداشتند. همان‌طور که در نمودار یک مشاهده می‌شود؛ سطح توتال آنتی‌اکسیدان گروه‌های تجربی اول، سوم، چهارم و پنجم نسبت به گروه تجربی دوم افزایش آماری غیرمعنی‌داری یافتند.

اثر فن والریت به تنهایی و در ترکیب با N -استیل سیستئین و عصاره هیدروالکلی سیر بر روی سطح MDA سرم در گروه های مورد مطالعه تغییرات آماری معنی داری را نشان دادند (P<۰/۰۰۱). گروه تجربی دوم در مقایسه با گروه کنترل افزایش آماری معنی‌داری (P<۰/۰۰۱) نشان داد. همچنین در بقیه گروه‌ها نیز افزایش نسبت به کنترل مشاهده شد؛ اما این تغییرات از نظر آماری معنی‌دار نبود.

همان‌طوری که در نمودار ۲-الف مشاهده می شود؛ سطح MDA در گروه‌های تجربی اول، سوم و پنجم در مقایسه با گروه تجربی دوم کاهش آماری معنی‌داری نشان داد (P<۰/۰۱).

نتایج حاصل از اثر فن‌والریت به تنهایی و در ترکیب با N-استیل سیستئین و عصاره هیدروالکلی سیر بر بافت بیضه در بین گروه‌های مورد مطالعه تغییرات آماری معنی‌داری را نشان داد (P<۰/۰۰۱). همان‌طوری که در نمودار ۲-ب مشاهده می‌شود؛ سطح MDA درگروه تجربی دوم در مقایسه با کنترل به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (P<۰/۰۰۱)؛ اما با تزریق عصاره هیدروالکلی سیر و N-استیل سیستئین در گروه‌های تجربی اول، سوم و پنجم تا حدی باعث بهبود و کاهش اثر سم شد. سطح MDA گروه های تجربی اول، چهارم و پنجم نسبت به گروه تجربی دوم به‌طور معنی‌داری کاهش نشان دادند (P<۰/۰۱).

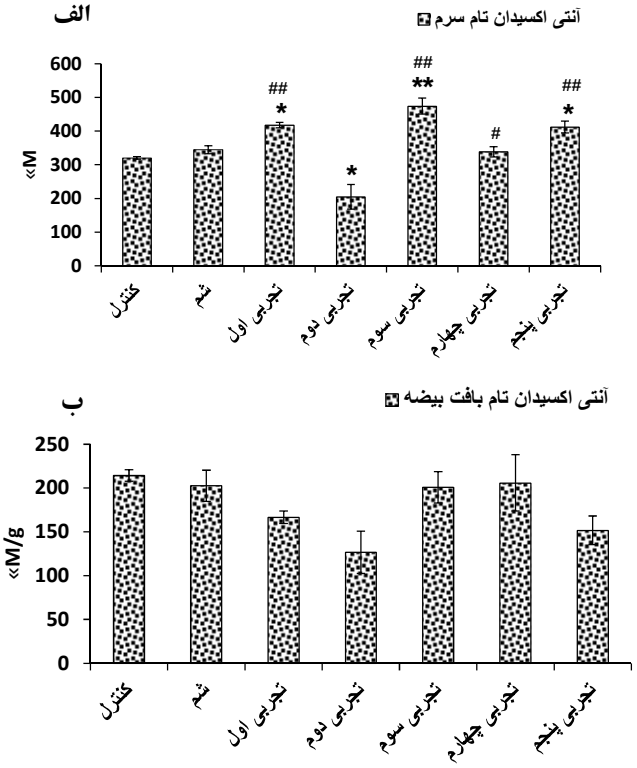
نتایج حاصل از اثر فن‌والریت به تنهایی و در ترکیب با N-استیل

www.SID.ir

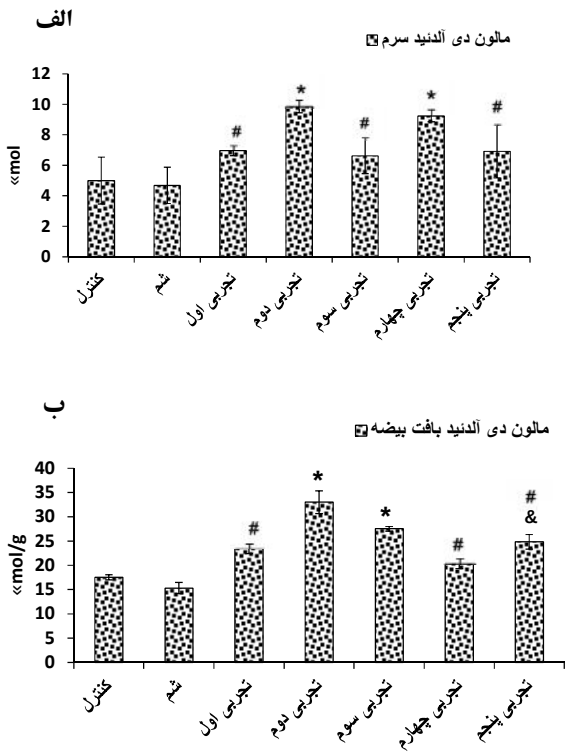
Archive of SID

Downloaded from goums.ac.ir at 8:59 +0430 on Wednesday July 17th 2019

سیستئین و عصاره هیدروالکلی سیر بر فعالیت گلوتاتیون S–ترانسفراز و کاتالاز در سرم و بافت بیضه در بین گروه‌های مورد مطالعه در جدول ۲ نشان داده شده است. فعالیت CAT در گروه تجربی دوم نسبت به کنترل در سرم و بافت بیضه به‌طور غیرمعنی‌داری افزایش یافت. تجویز عصاره هیدروالکلی سیر و N–استیل سیستئین در گروه‌های تجربی سوم، چهارم و پنجم در سرم و بافت بیضه باعث کاهش نسبت به کنترل شد؛ اما از نظر آماری معنی‌دار نبود. همان‌طوری که در جدول ۲ مشاهده می‌شود؛ فعالیت GST سرم در گروه تجربی دوم نسبت به کنترل به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (P<۰/۰۰۶). تجویز عصاره هیدروالکلی سیر و N–استیل سیستئین در گروه تجربی سوم (P<۰/۰۴۳)، گروه تجربی چهارم (P<۰/۰۴۸)، گروه تجربی پنجم (P<۰/۰۱۲)و گروه تجربی اول (P<۰/۰۰۲) باعث کاهش معنی‌داری نسبت به فن‌والریت در سرم گردید (جدول ۲).



نمودار ۱ : الف) میزان آنتی اکسیدان تام سرم، ب) میزان آنتی‌اکسیدان تام بافت بیضه در موش‌های صحرایی مورد مطالعه گروه کنترل: بدون مداخله؛ گروه شم: دریافت کننده داخل صفاقی ۰/۵ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی ۰/۹ درصد؛ گروه تجربی اول: دریافت کننده داخل صفاقی N–استیل سیستئین (۸۰ mg/kg/bw)؛ گروه تجربی دوم: دریافت کننده داخل صفاقی فن‌والریت (۱۰ mg/kg/bw)؛ گروه تجربی سوم: دریافت کننده داخل صفاقی عصاره هیدروالکلی سیر (۴۰ mg/kg/bw) به‌علاوه فن‌والریت (۱۰ mg/kg/bw)؛ گروه تجربی چهارم: دریافت کننده داخل صفاقی N–استیل سیستئین (۸۰ mg/kg/bw) به‌علاوه فن‌والریت (۱۰ mg/kg/bw)؛ گروه تجربی پنجم: دریافت کننده داخل صفاقی N–استیل سیستئین (۸۰ mg/kg/bw) به‌علاوه عصاره هیدروالکلی سیر (۴۰ mg/kg/bw) به‌علاوه فن‌والریت (۱۰ mg/kg/bw)
** P<۰/۰۱ ، ** P<۰/۰۰۱ نسبت به گروه کنترل؛ # P<۰/۰۱ و ## P<۰/۰۰۱ نسبت به گروه تجربی دوم*



نمودار ۲ : الف) میزان مالون دی آلدئید سرم، ب) میزان مالون دی آلدئید بافت بیضه در موش‌های صحرایی مورد مطالعه گروه کنترل: بدون مداخله؛ گروه شم: دریافت کننده داخل صفاقی ۰/۵ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی ۰/۹ درصد؛ گروه تجربی اول: دریافت کننده داخل صفاقی N–استیل سیستئین (۸۰ mg/kg/bw)؛ گروه تجربی دوم: دریافت کننده داخل صفاقی فن‌والریت (۱۰ mg/kg/bw)؛ گروه تجربی سوم: دریافت کننده داخل صفاقی عصاره هیدروالکلی سیر (۴۰ mg/kg/bw) به‌علاوه فن‌والریت (۱۰ mg/kg/bw)؛ گروه تجربی چهارم: دریافت کننده داخل صفاقی N–استیل سیستئین (۸۰ mg/kg/bw) به‌علاوه فن‌والریت (۱۰ mg/kg/bw)؛ گروه تجربی پنجم: دریافت کننده داخل صفاقی N–استیل سیستئین (۸۰ mg/kg/bw) به‌علاوه عصاره هیدروالکلی سیر (۴۰ mg/kg/bw) به‌علاوه فن‌والریت (۱۰ mg/kg/bw)
*& P<۰/۰۱ ، * P<۰/۰۰۱ نسبت به گروه کنترل*
 # P<۰/۰۱ نسبت به گروه تجربی دوم

فعالیت GST بافت بیضه در گروه فن‌والریت نسبت به کنترل کاهش یافت و با تجویز عصاره هیدروالکلی سیر و N–استیل‌سیستئین تا حدی باعث افزایش غیرمعنی‌دار و بهبود گروه‌های تجربی اول، چهارم و پنجم شد. همان‌طوری که در نمودار ۲ مشاهده می‌شود؛ فعالیت GST در گروه‌های تجربی سوم، چهارم و پنجم نسبت به گروه تجربی دوم افزایش آماری غیرمعنی‌داری یافت.

بحث

با توجه به نتایج این مطالعه، تزریق فن والریت با دوز کم موجب افزایش سطح MDA و کاهش آنتی اکسیدان تام در سرم و بیضه و افزایش فعالیت گلوتاتیون s–ترانسفراز در سرم موش های صحرایی گردید. فن‌والریت سبب کاهش وزن بیضه گردید و تزریق N–استیل سیستئین و عصاره هیدروالکلی سیر تا حدی سبب بهبود وزن بیضه

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from goums.ac.ir at 8:59 +0430 on Wednesday July 17th 2019

گردید.

فن والریت یک ترکیب بسیار چربی دوست است. در نتیجه در بافت چربی، بیضه ها و مایع فولیکولی تخمدان تجمع می کند. تزریق فن والریت ممکن است باعث اختلالات مربوط به تولید مثل و سمیت بیضه ها در حیوانات آزمایشی شود (۱۷). در مطالعه Ismail و Mohamed سم های گروه پیرتیروئید سبب تغییرات مورفولوژیکی و هیستوشیمیایی و کاهش وزن بیضه شدند که با مطالعه ما هم‌خوانی داشت (۱۸). بنابراین کاهش وزن ایجاد شده می‌تواند ناشی از استرس اکسیداتیو باشد. سیر دارای ترکیبات مختلف از جمله پروستاگلاندین، پکتین و ویتامین‌های A، B1، B2، B6، C،E و اسید های آمینه است. ویتامین A یکی از عوامل رشد حیوانات به حساب می‌آید و فقدان این ویتامین در موش موجب توقف رشد حیوان و کاهش وزن می گردد. ویتامین A می‌تواند با تبدیل به رتینوئید موجب ذخیره چربی به صورت تری‌گلیسرید در بدن شده و موجب افزایش وزن بدن گردد (۱۹). بنابراین می توان نتیجه گرفت ویتامین A موجود در سیر تا حدی کاهش وزن را نسبت به گروه فن‌والریت جبران کند.

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد فن‌والریت سبب استرس اکسیداتیو می‌شود. در مطالعه Singh گزارش گردید فن‌والریت سبب ایجاد استرس اکسیداتیو در انسان می شود. آسیب اکسیداتیو در یک سلول یا بافت زمانی اتفاق می‌افتد که غلظت گونه‌های اکسیژن واکنشی بیش از توان آنتی‌اکسیدانی سلول باشد. N-استیل سیستئین به‌طور مستقیم از بین برنده رادیکال‌های آزاد است (۵). اثر حفاظتی N-استیل سیستئین در کاهش استرس اکسیداتیو در بافت‌های مختلف نشان داده شده است (۲۰). خواص دارویی سیر احتمالاً به دلیل وجود ترکیبات فعال مانند آلین، S-آلیل مرکاپتو سیستئین و S-آلیل سیستئین است که از بین برنده رادیکال های آزاد هستند (۲۱). مجموعه آنزیمی سوپر اکسید دسموتاز و کاتالاز اولین خط دفاعی سلول در برابر سمیت ناشی از رادیکال های آزاد هستند. کاتالاز آنزیم آنتی‌اکسیدانی است که در تمام بافت های حیوانی وجود دارد و دارای بیشترین فعالیت در کبد و گلبول‌های قرمز است. کاتالاز با تجزیه پراکسید هیدروژن به اکسیژن باعث محافظت بافت ها از رادیکال های بسیار فعال هیدروکسیل می شود (۲۲). در مطالعه حاضر سطح فعالیت CAT سرم و بیضه در گروه تجربی دوم نسبت به کنترل افزایش پیدا کرد و استفاده از N-استیل سیستئین و عصاره هیدروالکلی سیر در گروه‌های تیمار به تنهایی و با هم سبب تعدیل در افزایش سم شد. مطالعه ما نشان داد اثر آنتی اکسیدانی عصاره هیدروالکلی سیر و N-استیل سیستئین بر آنزیم کاتالاز به صورت سینرژیسم بوده است. افزایش فعالیت این آنزیم مربوط به سازوکارهای دفاعی در برابر استرس اکسیداتیو است. افزایش CAT احتمالاً ناشی از افزایش تولید ROS توسط فن‌والریت است و کاهش فعالیت آنزیم CAT بعد از استفاده از N-استیل سیستئین و عصاره هیدروالکلی سیر، احتمالاً مربوط به توانایی N-استیل سیستئین و ترکیبات موجود در سیر در حذف ROSها است. مصرف پاراکسون، دیازینون و کلروپیریفوس در موش صحرایی موجب افزایش فعالیت آنزیم CAT در بافت‌های مغز، قلب و اریتروسیت‌ها شده است (۲۳) که هم راستا با نتایج مطالعه ما است. از طرف دیگر در بعضی از مطالعات به دنبال تجویز ترکیبات آفت کش، کاهش فعالیت آنزیم CAT در موش صحرایی گزارش شده که با نتایج ما هم‌خوانی ندارد (۲۴). این اختلاف نتایج می‌تواند ناشی از روش تزریق، غلظت، دوره تزریق، نوع سم و بافت باشد. ایزدی و همکاران گزارش نمودند که تزریق سم دیازینون به موش صحرایی سبب افزایش فعالیت SOD و CAT در کبد و کلیه شده و تجویز همزمان NAC باعث کاهش فعالیت SOD و CAT در کبد و کلیه می‌شود (۲۰) که این یافته با مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد.

سنجش TAC به روش FRAP از طریق توانایی احیاء شدن آهن فریک Fe^{3+} به آهن فروس Fe^{2+} توسط آنتی‌اکسیدان در نمونه اندازه‌گیری می‌شود. با توجه به مطالعه حاضر سطح توتال آنتی‌اکسیدان سرم در گروه تجربی دوم نسبت به گروه کنترل به‌طور معنی داری کاهش یافت. عبدالملکی و همکاران گزارش نمودند که سم مالاتیون باعث کاهش ظرفیت آنتی اکسیدان نسبت به گروه کنترل می‌شود (۲۵) که با مطالعه ما در یک راستا است. همچنین در مطالعه حاضر پس از تجویز N-استیل سیستئین و عصاره هیدروالکلی سیر در گروه‌های تجربی سوم، چهارم و پنجم سطح توتال آنتی‌اکسیدان به‌طور معنی‌داری افزایش یافت و این تغییرات در بررسی توتال آنتی‌اکسیدان بیضه معنی‌دار نبود. Okada و همکاران گزارش نمودند که آلیسین موجود در سیر به عنوان یک ترکیب آنتی‌اکسیدان عمل نموده و خاصیت ضداکسایش آلیسین به احتمال زیاد ناشی از مهار زنجیره حمل رادیکال های پراکسیلی است (۲۶). مصرف سیر سطح سرمی آنتی‌اکسیدان تام را افزایش داده و سبب محافظت سلول های زاینده در موش های صحرایی نر بالغ می‌گردد که می‌تواند بازتاب نقش آنتی‌اکسیدانی آن باشد (۲۷).

اسیدهای چرب غیراشباع در غشاء سلولی جزء حساس‌ترین مولکول‌های بیولوژیکی هستند که در معرض حمله ROSها قرار می گیرند و این مسأله موجب افزایش میزان پراکسیداسیون لیپیدها می‌شود. MDA به عنوان شاخص استرس اکسیداتیو، آخرین محصول تجزیه لیپیدها است و افزایش سطح آن نشان‌دهنده افزایش آسیب غشا سلولی است. در مطالعه حاضر تزریق فن والریت سطح MDA در سرم و بیضه را نسبت به کنترل به‌طور معنی داری افزایش داد. احتمالاً به دلیل خصوصیات هیدروفوبی بالا فن‌والریت، می‌تواند سبب آسیب به غشاء شود. پراکسیداسیون لیپید یکی از ویژگی‌های مشخص شده افزایش استرس اکسیداتیو همراه با سمیت دلتامترین از گروه سموم پیرتروئید است (۲۸). دلتامترین با ایجاد رادیکال آزاد پراکسید و تغییر نفوذپذیری غشا، دژنره‌شدن چربی باعث

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from goums.ac.ir at 8:59 +0430 on Wednesday July 17th 2019

پراکسیداسیون لیپیدی می شود. به‌طوری که این رادیکال‌ها با حمله به اسیدهای چرب غیراشباع و آلکیله کردن گروه‌های پروتئینی و دیگر ماکرومولکول‌های سلولی منجر به تغییر فعالیت آنزیمی و در نهایت ایجاد آسیب می شوند. گرچه نمی‌توان در رابطه با مکانسیم این سم در بروز نتایج فوق به‌طور واضح نظر داد؛ اما به دلیل خاصیت هیدروفوبی احتمالاً با ایجاد گروه‌های فعال واکسید کردن لیپیدهای غشا، باعث تغییر نفوذپذیری غشای سلول‌ها و تخریب آنها می شود (۲۹).

در گروه‌های تجربی سوم، چهارم و پنجم مطالعه حاضر، سطح MDA سرم و بیضه در مقایسه با فن‌والریت به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. در بررسی گروه آنتی‌اکسیدان NAC سطح MDA سرم و بیضه کاهش معنی‌داری نسبت به فن‌والریت مشاهده شد. نتایج گروه تجربی اول و گروه تجربی چهارم در بیضه نشان می‌دهد که N–استیل سیستئین فعالیت دفاع بدن را در مقابل ROS افزایش می‌دهد. مطالعات نشان داده عصاره سیر از غشای میکروزوم کبدی موش صحرایی در برابر پراکسیداسیون لیپید محافظت می کند (۳۰). کاهش سطح MDA می‌تواند مربوط به قابلیت NAC در سنتز گلوتاتیون و مهار پراکسیداسیون لیپیدها توسط رادیکال های آزاد باشد. مطابق با پژوهش حاضر، اثر حفاظتی NAC و آلفا –توکوفرول به همراه دیازینون باعث کاهش استرس اکسیداتیو القاء شده توسط دیازینون می‌شود (۳۱) که با نتایج ما هم‌خوانی دارد. احتمالاً اثر آنتی‌اکسیدانی سیر به واسطه آمینواسیدهای حاوی سولفور، مانند S–آلیل سیستئین، S–آلیل مرکاپتوسیستئین و آلین است (۹). N–استیل سیستئین آسیب اکسیداتیو ناشی از دیازینون در بیضه موش صحرایی را بهبود می بخشد (۳۲). غشاء پلاسمایی اسپرم که غنی از اسیدهای چرب اشباع نشده است؛ بسیار حساس به حمله ROS است. اسدپور و همکاران گزارش نمودند که سرب باعث کاهش SOD و کاتالاز و افزایش MDA در بیضه می‌شود (۳۳). کاهش فعالیت آنزیم های آنتی‌اکسیدان نشان‌دهنده شکست سیستم آنتی‌اکسیدانی اولیه در برابر رادیکال های آزاد است. استفاده همزمان از عصاره آبی سیر، N–استیل سیستئین و ویتامین E سبب کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از سرب توسط کاهش پراکسیداسیون لیپید و فعال شدن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در بیضه‌های موش‌های صحرایی می‌شود (۳۳).

یکی دیگر از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان GST است که مواد سمی را با اتصال به گلوتاتیون تبدیل به مواد با سمیت کمتر می کند. بنابراین نقش مهمی در محافظت بافت‌ها علیه آسیب و استرس اکسیداتیو دارد (۳۴). در مطالعه حاضر فن‌والریت به‌طور معنی‌داری سبب افزایش فعالیت GST سرم نسبت به کنترل شد. افزایش GST پس از تزریق فن‌والریت نشان دهنده افزایش دفاع بدن در مقابل این سم و دفع سریع‌تر آن است. در مطالعه Caglayan و همکاران تجویز فن‌والریت سبب افزایش GST گردید (۱۴) که با نتایج ما هم‌خوانی داشت. در مطالعه حاضر فن‌والریت سبب کاهش آنزیم GST در بیضه موش صحرایی نر شد که می تواند دلیل بر غیرفعال شدن آنزیم در برابر سمیت فن‌والریت باشد. در مطالعه Khan و همکاران اثر مالاتیون و سایپرمترین بر روی کبد موش صحرایی باعث کاهش فعالیت GST شد (۲۴). دیازینون سبب افزایش GST کبد و کلیه و تجویز NAC باعث کاهش فعالیت GST کبد می‌شود (۲۰). در مطالعه حاضر با تزریق تجویز N–استیل سیستئین و عصاره هیدروالکلی سیر (هم به تنهایی و هم در ترکیب با هم) در سطح معنی‌داری سبب کاهش فعالیت GST سرم در مقایسه با گروه فن‌والریت گردید. مطالعه ما نشان داد اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره هیدروالکلی سیر و N–استیل سیستئین بر آنزیم GST به صورت سینرژیسم بوده است. قابلیت آنتی‌اکسیدانی به حضور ترکیبات آلی سولفوره که سطح گلوتاتیون و فعالیت GST را تنظیم می کنند؛ وابسته است (۳۵).

نتیجه‌گیری

این مطالعه نشان داد که N– استیل سیستئین و عصاره هیدروالکلی سیر حتی در دوز پایین، به‌خصوص در ترکیب با هم (اثر سینرژیسم) آسیب ناشی از فن‌والریت را کاهش داده و باعث کاهش استرس اکسیداتیو و ROS می‌شوند. بنابراین افزایش میزان مالون دی‌آلدئید، افزایش فعالیت گلوتاتیون s–ترانسفراز و کاهش سطح آنتی اکسیدان تام نشان‌دهنده تولید رادیکال‌های آزاد و استرس اکسیداتیو است.

تشکر و قدردانی

این مقاله نتیجه پایان‌نامه (شماره ۹۴۱۵۴۳۲۱۱۰۳) خانم پریسا راجی برای اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته بیوشیمی از دانشکده علوم پایه دانشگاه مازندران بود و با حمایت مالی آن دانشگاه به انجام رسید. بدین‌وسیله از تمامی مسؤولین به‌خاطر حمایت مالی، صمیمانه سپاسگزاری می گردد.

References

1. Hossain MM, Richardson JR. Mechanism of pyrethroid pesticide-induced apoptosis: role of calpain and the ER stress pathway. Toxicol Sci. 2011 Aug;122(2):512-25. doi: 10.1093/toxsci/kfr111

2. Rehman H, Aziz A T, Saggu S, Abbas Z K, Mohan A, Ansari A. Systematic review on pyrethroid toxicity with special reference to deltamethrin. J of Entomology and Zoology Studies. 2014; 2(6), 60-70.

3. Chargui I, Grissa I, Bensassi F, Hrira MY, Haouem S, Haouas Z, Bencheikh H. Oxidative stress, biochemical and histopathological alterations in the liver and kidney of female rats exposed to low doses of deltamethrin (DM): a molecular assessment. Biomed Environ Sci. 2012 Dec; 25(6): 672-83. doi: 10.3967/0895-3988.2012.06.009

4. Ahmadi-Naji R, Heidarian E, Ghatreh-Samani K. Evaluation of the effects of the hydroalcoholic extract of Terminalia chebula fruits on diazinon-induced liver toxicity and oxidative stress in rats. Avicenna J Phytomed. 2017; 7(5): 454-66.

5. Singh VK. Toxic effect of fenvalerate on serum enzyme in Wistar rats. Conference: 2nd International Conference on Advances

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from goums.ac.ir at 8:59 +0430 on Wednesday July 17th 2019

in Biological and Pharmaceutical Sciences (ICABPS'2013) Sept 17-18, 2013 Hong Kong. doi: 10.13140/2.1.1723.2642

6. Somade OT, Odekunle AE, Oluwasaanu O, Umanah NM. Extra-pulmonary oxidative stress investigations of an over-the-counter pyrethroid insecticide product in rats. Afr J Biotechnol. 2015; 14(12): 1081-87. doi: 10.5897/AJB2015.14462

7. Olaiya OG, Ailenosi SS, Adelaja A, Eniola K. Effects of aqueous extract of garlic and vitamin C on the kidney of albino rats. Asian J Exp Biol Sci. 2011; 2(3): 455-61.

8. Ho SC, Su MS. Evaluating the anti-neuroinflammatory capacity of raw and steamed garlic as well as five organosulfur compounds. Molecules. 2014 Oct; 19(11): 17697-714. doi: 10.3390/molecules191117697

9. Numagami Y, Ohnishi ST. S-allylcysteine inhibits free radical production, lipid peroxidation and neuronal damage in rat brain ischemia. J Nutr. 2001 Mar; 131 (3s): 1100S-5S. doi: 10.1093/jn/131.3.1100S

10. Asdaq SM. Antioxidant and hypolipidemic potential of aged garlic extract and its constituent, s-allyl cysteine, in rats. Evid Based Complement Alternat Med. 2015; 2015: 328545. doi: 10.1155/2015/328545

11. Zhang Y, Li HY, Zhang ZH, Bian HL, Lin G. Garlic-derived compound S-allylmercaptocysteine inhibits cell growth and induces apoptosis via the JNK and p38 pathways in human colorectal carcinoma cells. Oncol Lett. 2014 Dec; 8(6): 2591-96. doi: 10.3892/ol.2014.2579

12. Nissar AU, Farrukh MR, Kaiser PJ, Rafiq RA, Afnan Q, Bhushan S, et al. Effect of N-acetyl cysteine (NAC), an organosulfur compound from Allium plants, on experimentally induced hepatic prefibrogenic events in Wistar rat. Phytomedicine. 2013 Jul; 20(10): 828-33. doi: 10.1016/j.phymed.2013.03.009

13. Rafieian-Kopaei M, Baradaran A, Merrikhi A, Nematbakhsh M, Madihi Y, Nasri H. Efficacy of Co-administration of Garlic Extract and Metformin for Prevention of Gentamicin-Renal Toxicity in Wistar Rats: A Biochemical Study. Int J Prev Med. 2013 Mar; 4(3): 258-64.

14. Caglayan A, Kocer-Gumusel B, Erkekoglu P, Hincal F. The effects of fenvalerate on hepatic and cerebral xenobiotic metabolizing enzymes in selenium and/or iodine deficient rats. Iran J Basic Med Sci. 2016 Oct; 19(10): 1040-48.

15. Maeda T, Miyazono Y, Ito K, Hamada K, Sekine S, Horie T. Oxidative stress and enhanced paracellular permeability in the small intestine of methotrexate-treated rats. Cancer Chemother Pharmacol. 2010 May; 65(6): 1117-23. doi: 10.1007/s00280-009-1119-1

16. Wispriyono B, Iryo Y, Yoshida T, Matsuoka M, Igisu H. N-acetylcysteine fails to protect rats from acrylamide neurotoxicity. J Occup Health. 1999; 41(3): 181-82. https://doi.org/10.1539/joh.41.181

17. Mani U, Islam F, Prasad AK, Kumar P, Suresh Kumar V, Maji BK, et al. Steroidogenic alterations in testes and sera of rats exposed to formulated Fenvalerate by inhalation. Hum Exp Toxicol. 2002 Nov; 21(11): 593-97. doi: 10.1191/0960327102ht298oa

18. Ismail MF, Mohamed HM. Deltamethrin-induced genotoxicity and testicular injury in rats: comparison with biopesticide. Food Chem Toxicol. 2012 Oct; 50(10): 3421-25. doi: 10.1016/j.fct.2012.07.060

19. Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. Biological effects of essential oils--a review. Food Chem Toxicol. 2008 Feb; 46(2): 446-75. doi: 10.1016/j.fct.2007.09.106

20. Izadi F, Jafari M, Bahdoran H, Asgari A, Divsalar A, Salehi M. [The role of N-Acetyl Cysteine on reduction of Diazinon-induced oxidative stress in rat liver and kidney]. J Rafsanjan Univ Med Sci. 2014; 12(11): 895-906. [Article in Persian]

21. Yun HM, Ban JO, Park KR, Lee CK, Jeong HS, Han SB, et al. Potential therapeutic effects of functionally active compounds isolated from garlic. Pharmacol Ther. 2014 May; 142(2): 183-95. doi: 10.1016/j.pharmthera.2013.12.005

22. Bhattacharjee R, Sil PC. The protein fraction of Phyllanthus niruri plays a protective role against acetaminophen induced hepatic disorder via its antioxidant properties. Phytother Res. 2006 Jul; 20(7): 595-601. doi: 10.1002/ptr.1933

23. Ghani E, Mohammad M, Jafari M, Khoshbaten A, Asgari A. [Evaluation of oxidative stress index in brain tissue of rats after expose to paraoxon]. Kowsar Medical Journal. 2008; 13(1): 1-7. [Article in Persian]

24. Khan SM, Sobti RC, Kataria L. Pesticide-induced alteration in mice hepato-oxidative status and protective effects of black tea extract. Clin Chim Acta. 2005 Aug; 358 (1-2): 131-38. doi: 10.1016/j.cccn.2005.02.015

25. Abdolmaleki M, Ghasemi H, Heidarishayesteh T, Hosseinizaijood M, Ranjbar A. [Assessing the protective effects of zinc on oxidantive injury biomarkers in acute malathion anduction in male rats]. J Ilam Univ Med Sci. 2014; 22: 147-52. [Article in Persian].

26. Okada Y, Tanaka K, Sato E, Okajima H. Kinetic and mechanistic studies of allicin as an antioxidant. Org Biomol Chem. 2006 Nov; 4(22): 4113-17.

27. Pedraza-Chaverrí J, Maldonado PD, Medina-Campos ON, Olivares-Corichi IM, Granados-Silvestre MA, Hernández-Pando R, et al. Garlic ameliorates gentamicin nephrotoxicity: relation to antioxidant enzymes. Free Radic Biol Med. 2000 Oct; 29(7): 602-11.

28. Sharma P, Singh R. Protective role of curcumin in deltamethrin induced system toxicity in Wistar rats. Planta Med. 2013; 79(13): PB43. doi: 10.1055/s-0033-1351988

29. Aydin B. Effects of thiacloprid, deltamethrin and their combination on oxidative stress in lymphoid organs, polymorphonuclear leukocytes and plasma of rats. Pesticide Biochemistry and Physiology. 2011 Jun; 100(2): 165-71. https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2011.03.006

30. Horie T, Murayama T, Mishima T, Itoh F, Minamide Y, Fuwa T, et al. Protection of liver microsomal membranes from lipid peroxidation by garlic extract. Planta Med. 1989 Dec; 55(6): 506-8. doi: 10.1055/s-2006-962081

31. Shadnia S, Dasgar M, Taghikhani S, Mohammadirad A, Khorasani R, Abdollahi M. Protective effects of alpha-Tocopherol and N-Acetyl-Cysteine on Diazinon-induced oxidative stress and acetylcholinesterase inhibition in rats. Toxicol Mech Methods. 2007; 17(2): 109-15. doi: 10.1080/15376510600860318

32. Oksay T, Nazıroğlu M, Ergün O, Doğan S, Özatik O, Armağan A, et al. N-acetyl cysteine attenuates diazinon exposure-induced oxidative stress in rat testis. Andrologia. 2013 Jun; 45(3): 171-77. doi: 10.1111/j.1439-0272.2012.01329.x

33. Asadpour R, Azari M, Hejazi M, Tayefi, H, Zaboli N. Protective effects of garlic aquous extract (Allium sativum), vitamin E, and N-acetylcysteine on reproductive quality of male rats exposed to lead. Vet Res Forum; 2013, 4(4): 251-57.

34. Limón-Pacheco J, Gonsebatt ME. The role of antioxidants and antioxidant-related enzymes in protective responses to environmentally induced oxidative stress. Mutat Res. 2009 Mar; 674 (1-2): 137-47. doi: 10.1016/j.mrgentox.2008.09.015

35. Masjedi F, Gol A, Dabiri S, Javadi A. [Preventive effect of Garlic on histopathology of liver and markers of hepatic injury in Streptozotocin-induced diabetic rats]. Int J Endocrinol Metab. 2009; 11(4): 433-41. [Article in Persian]

www.SID.ir