[DOI: 10.18869/acadpub.hrjbaq.2.2.77]

Downloaded from hrjbaq.ir at 18:45 +0330 on Monday September 25th 2017

Study of Effect of N-Acetyl Cysteine on Reduction of Paraoxon-Induced Oxidative Stress in Brain and Heart Tissues

Maryam Gholamloo [1], Mahvash Jafari [* 2]

[1] Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

[2] Chemical Injuries Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

*** Corresponding Author:** Professor Mahvash Jafari, Chemical Injuries Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran. Tel: 021-82483422, E-mail: m.jafari145@gmail.com

Received: 2016/09/7 **Accepted: 2016/11/13** **Online published: 2017/03/4**

Abstract

Introduction: Organophosphate (OP) pesticide is used as chemical warfare nerve agents against both military and civilian population during the Iran–Iraq War. Paraoxon (POX) as an OP acts via the inhibition of cholinesterase and disturbance in body antioxidant systems. The aim of this study was to investigate the effect of N-acetyl cysteine (NAC) as an antioxidant against POX- induced oxidative stress in rat brain and heart.

Materials and Methods: In present experimental study, male Wistar rats were randomly divided into four groups including: control group (corn oil as POX solvent), POX group (0.7 mg/kg), NAC group (160 mg/kg), and NAC+ POX, all of which were given intraperitoneally. 24 hours after injection, animals were anesthetized by ether, and brain and heart tissues were quickly removed. After tissues hemogenation, cholinesterase (ChE), 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. Finally data were analyzed by one-way Anova.

Results: POX increased SOD ($P<0.001$), CAT ($P<0.01$) and GST ($P<0.001$) activities and decreased ChE ($P<0.05$) activity and GSH ($P<0.05$) content in brain and heart. Also, POX decreased LDH ($P<0.05$) activity and increased and MDA ($P<0.01$) level in brain. Administration of NAC inhibited the change in these parameters.

Conclusions: POX induces oxidative stress in brain and heart via free radical production, depleted GSH content. Administration of NAC as antioxidant decreases POX-induced oxidative stress by free radicals scavengering and also GSH synthesis stimulation.

Keywords: Paraoxon, N-acetyl cysteine, Oxidative stress, Brain, Heart

©2017 Deputy of Research and Technology of Baqiyatallah Hospital

[DOI: 10.18869/acadpub.hrjbaq.2.2.77]
Downloaded from hrjbaq.ir at 18:45 +0330 on Monday September 25th 2017

بررسی تأثیر داروی ان- استیل سیستئین بر کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از پاراکسون در بافت‌های مغز و قلب

مریم غلاملو [۱]، مهوش جعفری [۲،*]

[۱] گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌ا...(عج)، تهران، ایران

[۲] مرکز تحقیقات آسیب‌های شیمیایی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌ا...(عج)، تهران، ایران

[*] **نویسنده مسئول:** پروفسور مهوش جعفری، مرکز تحقیقات آسیب‌های شیمیایی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌ا...(عج)، تهران، ایران. تلفن: ۸۲۴۸۳۴۲۲-۰۲۱، ایمیل: m.jafari145@gmail.com

دریافت: ۱۳۹۵/۶/۱۷ پذیرش: ۱۳۹۵/۸/۲۳ انتشار آنلاین: ۱۳۹۵/۱۲/۱۴

چکیده

مقدمه: ارگانوفسفره‌ها به عنوان عوامل اعصاب در چندین حمله شیمیایی علیه افراد نظامی و غیر نظامی ایرانی در جنگ ایران-عراق استفاده شد. پاراکسون از گروه ارگانوفسفره بوده که از طریق مهار کولین استراز و اختلال در سیستمهای آنتی‌اکسیدان بدن عمل می‌کنند. در این مطالعه اثر N – استیل سیستئین (NAC) در کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از پاراکسون در بافت‌های مغز و قلب بررسی شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار به طور تصادفی به ۴ گروه تقسیم شدند. گروه کنترل، گروه پاراکسون (۰/۷ mg/kg)، گروه NAC (۱۶۰ mg/kg) و گروه پاراکسون-NAC. بعد از ۲۴ ساعت، موش‌ها بیهوش و بافت‌های مغز و قلب بسرعت جدا شد. سپس فعالیت آنزیم‌های کولین استراز (ChE)، سوپراکسیددیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT)، گلوتاتیون S- ترانسفراز (GST) و لاکتات دهیدروژناز (LDH) و غلظت‌های گلوتاتیون (GSH) و مالون دی‌آلدئید (MDA) از طریق روش‌های بیوشیمیایی تعیین شدند. در نهایت داده‌ها به روش آماری آنالیز واریانس یک طرفه تحلیل شدند.

یافته‌ها: پاراکسون باعث افزایش فعالیت SOD (P<۰/۰۰۱)، CAT (P<۰/۰۱) و GST (P < ۰/۰۰۱) و کاهش فعالیت ChE (P < ۰/۰۵) و غلظت GSH (P < ۰/۰۵) در مغز و قلب و همچنین سبب و کاهش فعالیت LDH (P < ۰/۰۵) و افزایش میزان MDA (P < ۰/۰۱) در مغز می‌گردد. تجویز NAC مانع تغییرات این پارامترها در هر دو بافت می‌شود.

نتیجه‌گیری: پاراکسون از طریق تولید رادیکال‌های آزاد و کاهش غلظت گلوتاتیون باعث القاء استرس اکسیداتیو در بافت مغز و قلب می‌شود. همچنین تجویز NAC به عنوان عامل آنتی‌اکسیدان از طریق سنتز گلوتاتیون و پاک‌سازی رادیکال‌های آزاد می‌تواند باعث کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از پاراکسون گردد.

کلمات کلیدی: پاراکسون، N– استیل سیستئین، استرس اکسیداتیو، مغز، قلب.

تمامی حقوق نشر برای معاونت پژوهش بیمارستان بقیه الله محفوظ است.

[DOI: 10.18869/acadpub.hrjbaq.2.2.77]
Downloaded from hrjbaq.ir at 18:45 +0330 on Monday September 25th 2017

مقدمه

ترکیبات ارگانوفسفره ترکیبات سمی هستند که بطور وسیع به عنوان حشره کش در کشاورزی استفاده می‌شوند. کشور عراق از این ترکیبات به عنوان عوامل اعصاب جنگی در چندین حمله شیمیایی علیه افراد نظامی و غیر نظامی ایرانی طی جنگ علیه ایران استفاده نمود. مسمومیت با حشره کش‌ها یکی از دلایل مرگ و میر در کشورهای در حال توسعه است و هر ساله صد هزار مورد مسمومیت و ۲۲۰۰۰۰ مورد مرگ با این ترکیبات گزارش می‌شود. در ایران این ترکیبات به عنوان سومین علت مسمومیت و علت اصلی مرگ و میر ناشی از مسمومیت گزارش شده‌اند. ارگانوفسفره‌ها از طریق فسفویلاسیون سرین در جایگاه فعال آنزیم کولین استراز باعث مهار آنزیم و عدم تجزیه استیل کولین می‌شوند. افزایش استیل کولین باعث تحریک پذیری زیاد گیرنده‌های نیکوتینی و موسکارینی شده که در نهایت منجر به وقوع بحران کولینرژیک تشنج و در موارد حاد ضایعه مغزی و مرگ می‌شود [۱-۳].

پاراتیون یکی از سمی‌ترین آفت کش‌های ارگانوفسفره محسوب می‌شود که شدت مسمومیت حاد آن نسبت به سایر عوامل حائز اهمیت است و با وجود ممنوعیت استفاده از این ارگانوفسفره، هنوز استفاده از آن به طور وسیع ادامه دارد. این ترکیب از راه پوست، دستگاه گوارش (خوردن و آشامیدن) و تنفسی جذب شده و به سرعت در زمان کوتاهی در کبد از طریق اکسیداسیون و دسولفوراسیون به پاراکسون متابولیزه می‌شود. پاراکسون فرم فعال پاراتیون در بدن است و از مهارکننده قوی آنزیم استیل کولین استراز می‌باشد. پاراکسون در بدن توسط پاراکسوناز موجود در پلاسما و کبد متابولیزه می‌شود [۳, ۴].

تاکنون طیف وسیعی از اثرات متفاوت برای ترکیبات ارگانوفسفره‌ها گزارش شده است. بسیاری از این اثرات ارتباطی با مهار آنزیم کولین استراز ندارد، بلکه توسط مکانیسم‌های دیگر سلولی القا می‌شود. یکی از این مکانیسم‌ها تولید رادیکال‌های آزاد و اختلال در سیستم‌های آنتی‌اکسیدان بدن است [۳, ۴]. مطالعات مختلف نشان می‌دهد که بعضی از ارگانوفسفره ها از طریق افزایش تولید رادیکال‌های آزاد باعث تغییر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نظیر سوپراکسیددیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) و گلوتاتیون S-ترانسفراز (GST) و افزایش مالون دی آلدئید (MDA) به عنوان بیومارکر پراکسیداسیون لیپیدها در بافت‌های مختلف می‌شود [۱-۵]. همچنین تجویز پاراکسون بصورت داخل صفاقی در بافت‌های مختلف موش صحرایی بعد از ۴ و ۲۴ ساعت باعث افزایش فعالیت آنزیمهای SOD، CAT و GST و کاهش میزان گلوتاتیون (GSH) و افزایش پراکسیداسیون لیپیدها و در نهایت ایجاد استرس‌اکسیداتیو می‌شود [۲-۴, ۶].

بنابر این استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها جهت کاهش سمیت ارگانوفسفره‌ها مفید است. آنتی‌اکسیدان‌ها باعث پاک‌سازی رادیکال‌های آزاد شده و سلول‌های بدن را در مقابل واکنش‌های اکسیداتیو زیان آور حفظ می‌کنند [۱, ۲]. N– استیل سیستئین (NAC) به عنوان یک آنتی‌اکسیدان و پیش ساز گلوتاتیون می‌تواند بطور طبیعی اثرات آسیب‌های داخل سلولی رادیکال‌های آزاد را خنثی کند [۲, ۷]. اثر حفاظتی NAC در کاهش استرس اکسیداتیو القا شده توسط مالاتیون در کبد موش‌های صحرایی در مطالعات in vitro و in vivo نشان داده‌اند [۸, ۹]. Shadnia و همکاران اثر حفاظتی NAC و را در کاهش استرس‌اکسیداتیو القاء شده توسط دیازینون خوراکی بعد از ۴ هفته نشان دادند [۱۰]. خزایی و همکاران نشان دادند که پاراکسون سبب القاء استرس اکسیداتیو در طحال و اریتروسیت‌ها شده و تجویز NAC باعث کاهش آن می‌شود [۲].

به منظور مقابله با اثرات ناخوشایند ارگانوفسفره ها، شناخت مکانیسم عمل دقیق آن برای تولید داروهای جدید و بکار گیری روش‌های درمانی مناسب و در نهایت به حداقل رساندن صدمات و تلفات، لازم و ضروری است. با توجه به تنوع ساختمان شیمیایی ارگانوفسفره ها و اثرات متفاوت آنها بر روی بافت‌های مختلف و همچنین اثرات مختلف آنتی‌اکسیدان‌ها بر این سمیت، مطالعات تکمیلی جهت درک عملکرد این ترکیبات را ضروری می‌نماید. اگرچه چندین مطالعه روی نقش حفاظتی NAC روی کاهش سمیت ارگانوفسفره ها انجام شده است [۸-۱۱]، ولیکن مطالعات روی تجویز این آنتی‌اکسیدان و پاراکسون بصورت داخل صفاقی بر روی بیومارکرهای استرس اکسیداتیو در بافت‌های مختلف اندک می‌باشد [۲]. در ضمن مطالعات انجام شده در دوز سم، مسیر تزریق، نوع بافت، نوع حیوان و مدت زمان تماس با هم متفاوت هستند. در مطالعه حاضر نقش NAC در کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از پاراکسون در بافت‌های مغز و قلب (بافت‌های هدف ارگانوفسفره) موش صحرایی با سنجش شاخص‌های استرس اکسیداتیو بررسی شد.

مواد و روش‌ها

مواد شیمیایی: مواد شیمیایی مورد نیاز با درجه خلوص بالا از شرکت‌های Merk و Sigma (آلمان) خریداری شد. NAC و اتیل پاراکسون نیز با خلوص ۹۹ درصد از شرکت سیگمای آلمان خریداری شد. اتیل پاراکسون با غلظت ۴mg/ml در روغن ذرت و NAC با غلظت ۱۶۰ mg/ml در آب مقطر بصورت تازه تهیه شد.

[DOI: 10.18869/acadpub.hrjbaq.2.2.77]
Downloaded from hrjbaq.ir at 18:45 +0330 on Monday September 25th 2017

حیوانات: این مطالعه بر روی موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۵۰-۲۰۰ گرم انجام شد. موش‌ها در شرایط ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی در دمای ۲±۲۲ درجه سانتی گراد در محل نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا... قرار گرفتند. دسترسی حیوانات به آب و غذا آزاد بود. موازین اخلاقی کار با حیوان‌های آزمایشگاهی که مورد تأیید کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا... (عج) بود، هنگام کار با موش‌های آزمایشگاهی رعایت شد.

تیمار حیوانات: در این مطالعه تجربی، حیوانات به طور تصادفی به ۴ گروه (در هر گروه ۶ سر) تقسیم شدند: گروه کنترل که روغن ذرت را به عنوان حلال پاراکسون، گروه پاراکسون که ۰/۷ mg/kg پاراکسون [۲, ۳]، گروه NAC که ۱۶۰ mg/kg NAC [۱۰, ۱۱] و گروه پاراکسون- NAC که به طور هم زمان پاراکسون و NAC را به صورت داخل صفاقی دریافت کردند. ۲۴ ساعت [۳, ۵] بعد از تزریق با بیهوش نمودن حیوانات به وسیله اتر، به سرعت بافت‌های مغز و قلب خارج گردید و بعد از شستشو با سرم فیزیولوژی و خارج شدن خون و جدا کردن قسمت‌های زاید، به نیتروژن مایع انتقال داده شد و سپس در دمای ۷۰°C- تا زمان انجام آزمایش نگهداری شد. در روز آزمایش بافت‌ها توزین و با نسبت ۱ به ۱۰ در بافر فسفات سالین هموژنه نموده و به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۱۶۰۰۰g در ۴°C سانتریفوژ گردید. از مایع رویی جهت سنجش شاخص‌های استرس اکسیداتیو استفاده شد.

سنجش فعالیت آنزیم‌ها: فعالیت آنزیم SOD به روش Winterbourn سنجیده شد [۱۲]. برای اندازه گیری فعالیت آنزیم کاتالاز از روش Abei استفاده شد [۱۳]. اندازه گیری فعالیت آنزیم GST به روش Habig انجام شد [۱۴]. برای اندازه گیری فعالیت آنزیم استیل کولین استراز (AChE) در مغز و بوتیریل کولین استراز (BChE) در قلب از روش Ellman استفاده شد [۱۵]. اندازه گیری فعالیت آنزیم لاکتات دهیدروژناز (LDH) با استفاده از کیت پارس آزمون انجام شد. فعالیت ویژه آنزیمها بر حسب واحد بر میلی گرم پروتئین محاسبه شد.

تعیین غلظت‌های GSH، MDA و پروتئین: برای سنجش میزان GSH بافت از روش Tietz استفاده شد [۱۶]. برای تعیین میزان MDA بعنوان محصول نهایی پراکسیداسیون لیپیدها از روش Kei استفاده شد [۱۷]. برای تعیین غلظت پروتئین نیز از روش برادفورد استفاده شد [۱۸].

تجزیه و تحلیل داده‌ها: تجزیه و تحلیل اطلاعات با استفاده از نرم افزار SPSS ورژن ۲۲ بصورت آنالیز واریانس یک طرفه به همراه تست توکی انجام شد. نتایج بصورت Mean ± SEM بیان شد. P<۰/۰۵ مرز معنی دار بودن اطلاعات در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

نتایج حاصل از اثر پاراکسون و NAC به تنهایی و در ترکیب با هم بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مغز و قلب در جدول ۱ نشان داد که پاراکسون باعث افزایش معنی دار فعالیت آنزیم‌های SOD (P =۰/۰۰۰)، CAT (P=۰/۰۰۲) و GST (P=۰/۰۰۰) و کاهش فعالیت آنزیم‌های LDH (P=۰/۰۱۴) و AChE (P=۰/۰۰۳) در مغز و افزایش معنی دار فعالیت آنزیم‌های SOD (P=۰/۰۰۱)، CAT (P=۰/۰۰۱) و GST (P=۰/۰۰۱) و کاهش فعالیت آنزیم BChE (P=۰/۰۱۳) در قلب در مقایسه با گروه کنترل شد. همچنین تجویز پاراکسون به همراه NAC باعث افزایش معنی دار فعالیت آنزیم‌های SOD (P=۰/۰۰۲) و کاهش آنزیم LDH (P=۰/۰۳۱) مغز و CAT (P=۰/۰۰۲) و GST (P=۰/۰۰۴) در قلب در مقایسه با گروه کنترل شد. افزایش فعالیت GST در گروه پاراکسون-NAC در مقایسه با گروه پاراکسون معنی دار است (P=۰/۰۲۲). تغییر فعالیت سایر آنزیم‌ها در گروه پاراکسون-NAC در مقایسه با گروه پاراکسون معنی دار نبود.

نتایج حاصل از اثر پاراکسون و NAC به تنهایی و در ترکیب با هم بر غلظت‌های GSH و MDA مغز و قلب در جدول ۲ نشان داد که کاهش غلظت GSH در گروه پاراکسون در مغز (P=۰/۰۰۰) و قلب (P=۰/۰۱۷) (P<۰/۰۵) و افزایش غلظت MDA در گروه پاراکسون (P=۰/۰۱۰) در مغز در مقایسه با گروه کنترل معنی دار است. افزایش غلظت GSH در گروه پاراکسون-NAC در مقایسه با گروه پاراکسون معنی دار است (P=۰/۰۰۷). همچنین کاهش غلظت GSH بعد از تجویز پاراکسون به همراه NAC در هر دو بافت در مقایسه با گروه کنترل و کاهش غلظت MDA در مقایسه با گروه پاراکسون معنی دار نبود.

[DOI: 10.18869/acadpub.hrjbaq.2.2.77]
Downloaded from hrjbaq.ir at 18:45 +0330 on Monday September 25th 2017

جدول ۱: اثر پاراکسون و NAC به تنهایی و در ترکیب باهم بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مغز و قلب موش صحرایی بعد از ۲۴ ساعت

	کنترل	پاراکسون	NAC	پاراکسون-NAC
SOD				
مغز	۲۹/۶۳±۱/۱۷	۴۰/۳۱±۱/۵۴***	۳۰/۵۲±۱/۳۹	۳۸/۶۹±۱/۹۵**
قلب	۳۳/۶۳±۱/۴۵	۴۳/۳۱±۱/۳۹***	۲۹/۷۵±۱/۴۸	۳۹/۰۵±۱/۵۱
CAT				
مغز	۱۸/۹۹±۱/۳۸	۲۸/۷۴±۱/۸۴**	۱۶/۸۷±۱/۷۱	۲۶/۷۹±۱/۴۲*
قلب	۲۶/۴۸±۱/۳۶	۳۷/۶۶±۱/۸۷***	۲۷/۵۶±۱/۳۳	۳۶/۵۳±۱/۸۸**
GST				
مغز	۲۷/۳۱±۱/۱۳	۳۴/۸۵±۱/۰۱***	۲۶/۸۳±۱/۱۴	۳۰/۱۳±۰/۸۸#
قلب	۳۶/۹۷±۱/۴۶	۴۷/۷۴±۱/۶۹***	۳۹/۱۷±۱/۵۹	۴۵/۸۱±۱/۶۱**
LDH				
مغز	۱۶۲/۰۷±۶/۰۷	۱۲۹/۲۹±۷/۴۵*	۱۵۹/۱۹±۵/۱۱	۱۳۲/۶۶±۸/۳۱*
قلب	۱۳۲/۱۲±۶/۰۸	۱۲۲/۴۲±۳/۸۵	۱۳۳/۵۸±۴/۴۴	۱۲۵/۵۱±۵/۲۸
ChE				
مغز	۱۰/۳۷۱±۰/۴۱	۷/۹۵±۰/۴۹**	۱۰/۰۳±۰/۳۳	۹/۱۱±۰/۵۴
قلب	۸/۳۸±۰/۴۳	۶/۶۱±۰/۳۹*	۸/۷۱±۰/۳۶	۷/۰۲±۰/۲۶

* P < ۰/۰۵، ** P < ۰/۰۱ و *** P < ۰/۰۰۱، نسبت به گروه کنترل معنی‌دار است و # P < ۰/۰۵ نسبت به گروه پاراکسون معنی دار است.

N:NAC– استیل سیستئین، SOD: سوپر اکسید دیسموتاز، CAT: کاتالاز، GST: گلوتاتیون S- ترانسفراز، LDH: لاکتات دهیدروژناز، ChE: کولین استراز

جدول ۲: اثر پاراکسون و NAC به تنهایی و در ترکیب با هم بر غلظت‌های GSH و MDA مغز و قلب موش صحرایی بعد از ۲۴ ساعت

	کنترل	پاراکسون	NAC	پاراکسون-NAC
GSH				
مغز	۱۱/۱۲±۰/۳۹	۷/۴۸±۰/۵۴***	۱۲/۱۹±۰/۴۱	۱۰/۱۱±۰/۶۳#
قلب	۹/۴۸±۰/۴۵	۷/۱۶±۰/۴۹*	۱۰/۱۸±۰/۴۱	۸/۸۸±۰/۶۱
MDA				
مغز	۵/۴۸±۰/۳۹	۷/۴۸±۰/۴۸**	۵/۱۴±۰/۲۹	۶/۷۸±۰/۴۱
قلب	۱۰/۱۱±۰/۳۳	۱۲/۰۱±۰/۴۱	۱۰/۰۳±۰/۳۹	۱۱/۲۹±۰/۴۴

* P < ۰/۰۵، ** P < ۰/۰۱ و *** P < ۰/۰۰۱ نسبت به گروه کنترل معنی‌دار است و # P<۰/۰۵ نسبت به گروه پاراکسون معنی دار است.

NAC: N – استیل سیستئین، GSH: گلوتاتیون و MDA: مالون دی آلدئید

بحث

بافت‌های مغز و قلب از بافت‌های هدف ارگانوفسفره‌ها هستند. با توجه به نقش حساس و پایین بودن میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان این بافت‌ها، آن‌ها نسبت به استرس اکسیداتیو حساس‌تر هستند [۱۹]. نتایج این مطالعه نشان داد که پاراکسون با افزایش فعالیت آنزیم‌های SOD، CAT و GST و کاهش غلظت GSH در مغز و قلب باعث القاء استرس اکسیداتیو در هر دو بافت می‌شود. تجویز NAC تاحدی مانع تغییرات این پارامترها گردید.

[DOI: 10.18869/acadpub.hrjbaq.2.2.77]
Downloaded from hrjbaq.ir at 18:45 +0330 on Monday September 25th 2017

پاراکسون با افزایش رادیکال‌های آزاد سبب فعال شدن سیستم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدان نظیر آنزیم‌های SOD و CAT می‌شود. آنزیم SOD باعث تبدیل رادیکال سوپر اکسید به H2O2 می‌شود و آنزیم CAT باعث خنثی شدن H_2O_2 و تبدیل آن به H_2O و O_2 می‌شود [۲, ۴]. افزایش فعالیت SOD در این مطالعه باعث کاهش رادیکال سوپراکسید و افزایش H_2O_2 در بافت‌های مغز و قلب می‌گردد و افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز باعث خنثی شدن H_2O_2 تولید شده می‌شود. کاهش فعالیت آنزیم‌های SOD و CAT در مقایسه با گروه دیازینون بعد از استفاده از NAC، احتمالاً مربوط به توانایی این آنتی‌اکسیدان در حذف مستقیم رادیکال‌های آزاد می‌باشد [۹]. نتایج این مطالعه هم سو با نتایج چند مطالعه است. مطالعه غنی و همکاران نشان دادکه مصرف پاراکسون بصورت داخل صفاقی بعد از ۴ ساعت در موش صحرایی موجب افزایش فعالیت آنزیمهای SOD و CAT در بافت مغز می‌گردد [۶]. مطالعه جعفری و همکاران نشان داد که تجویز پاراکسون بصورت داخل صفاقی باعث افزایش فعالیت آنزیمهای SOD و CAT در قلب، کلیه، مغز و کبد، ریه و طحال بعد از ۲۴ ساعت می‌شود [۳, ۴]. از طرف دیگر، مطالعه دیگر کاهش فعالیت آنزیم‌های SOD و CAT را بعد از تجویز مالاتیون در موش صحرایی نشان می‌دهد [۲۰]. این اختلاف نتایج در مطالعات مختلف ناشی از نوع، نژاد و گونه حیوان، نوع سم، نوع بافت، مسیر تجویز ماده سمی، دوز و زمان مواجهه می‌باشد. Uner و همکاران نشان دادند تجویز فن تیون به تنهایی و به همراه NAC به صورت داخل صفاقی روی فعالیت SOD و CAT مغز برای ۹۶ ساعت تاثیری ندارد، در حالیکه NAC به تنهایی باعث افزایش فعالیت SOD می‌شود [۲۱]. خزایی و همکاران نشان دادند که پاراکسون سبب افزایش فعالیت SOD و CAT در اریتروسیت‌ها و تجویز همزمان NAC باعث کاهش فعالیت این آنزیم‌ها می‌شود [۲].

نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که پاراکسون سبب افزایش فعالیت GST در مغز و قلب موش صحرایی شده و تجویز NAC سبب کاهش فعالیت این آنزیم در مقایسه با گروه پاراکسون می‌شود. GST به عنوان آنزیم آنتی‌اکسیدان کمکی باعث اتصال GSH به به مواد سمی شده و ترکیباتی با سمیت کمتر ایجاد می‌کند. بنابراین نقش مهمی در حفاظت از بافت‌ها در برابر آسیب و استرس اکسیداتیو می‌شود [۳, ۱۴]. افزایش فعالیت GST در این مطالعه با افزایش مصرف GSH همراه است. افزایش GST در اثر تزریق پاراکسون نشان دهنده افزایش دفاع بدن در مقابل این سم و دفع سریعتر آن است [۱۴]. نتایج چند مطالعه با نتایج این مطالعه مطابقت دارد. مطالعات جعفری و همکاران نشان دادندکه تجویز دیازینون در مغز، ریه و قلب [۴, ۵] و تجویز پاراکسون در قلب، کلیه، ریه و طحال باعث افزایش فعالیت آنزیم GST بعد از ۲۴ ساعت می‌شود [۳, ۴]. از طرف دیگر Uzun و همکاران نشان دادند که مصرف کلرپیریفوس روزانه بصورت گاواژ توسط موش صحرایی به مدت ۴ هفته باعث کاهش فعالیت آنزیم GST در ریه موش صحرایی می‌شود [۲۲]. معمولاً دوزهای کم سموم منجر به افزایش و دوزهای بالای آن باعث مهار فعالیت آنزیم‌ها می‌گردند. Pena-Llopis و همکاران نشان دادند که تزریق داخل صفاقی N- استیل سیستئین سه ساعت قبل از تجویز دی کلروس به ماهی در زمان‌های مختلف تا ۹۶ ساعت باعث افزایش فعالیت GST می‌شود. NAC باعث افزایش تحمل به این ارگانوفسفره می‌شود [۲۳]. Uner و همکاران نشان دادند فن تیون باعث افزایش GST و تزریق داخل صفاقی NAC قبل از تجویز فن تیون به ماهی باعث کاهش GST می‌شود [۲۱]. ایزدی و همکاران در سال ۲۰۱۴ نشان دادند که دیازینون سبب افزایش فعالیت GST کبد و کلیه و تجویز NAC باعث کاهش فعالیت GST کبد می‌شود [۱۱].

از شاخص‌های اصلی پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع لیپیدهای غشاء،MDA است [۲, ۵]. در مطالعه حاضر افزایش سطح MDA در مغز بدون تغییر در قلب در اثر تجویز پاراکسون مشاهده می‌شود که این افزایش ناشی از تولید رادیکال‌های آزاد توسط پاراکسون و افزایش پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء می‌باشد. استفاده از NAC سبب کاهش سطح MDA در مغز می‌شود. کاهش سطح MDA می‌تواند مربوط به قابلیت NAC در حذف مستقیم رادیکال‌های آزاد و مهار پراکسیداسیون لیپیدها توسط رادیکال‌های آزاد باشد. چندین مطالعه نشان دادندکه تجویز ارگانوفسفره های مختلف نظیر فن تیون، پاراکسون و دیازینون باعث افزایش غلظت MDA در بافت‌های مختلف شده و تجویز NAC باعث کاهش غلظت آن می‌شود [۲, ۱۱, ۲۱].

لیپیدپراکسیداسیون غشاء باعث تراوش آنزیمهای سیتوزولی مثل LDH می‌شود. LDH شاخص سمیت یک ماده شیمیایی و لیز سلولی است [۳, ۵]. در این مطالعه کاهش فعالیت LDH در مغز بدون تغییر در قلب بعد از تجویز پاراکسون معنی دار است. کاهش فعالیت این آنزیم احتمالاً ناشی از افزایش آسیب بافتی و تراوش آن به داخل سرم می‌باشد [۳]. استفاده از NAC با حذف رادیکال‌های آزاد و جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء، مانع آزادشدن 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 [۳, ۵]. ولیکن مطالعات دیگر، افزایش فعالیت LDH را در کبد، پانکراس، مغز و قلب پس از تجویز دیازینون نشان می‌دهد

[DOI: 10.18869/acadpub.hrjbaq.2.2.77]
Downloaded from hrjbaq.ir at 18:45 +0330 on Monday September 25th 2017

[۲۴, ۲۵]. ایزدی و همکاران نشان دادند که دیازینون سبب افزایش فعالیت LDH کبد و تجویز NAC باعث کاهش فعالیت LDH می‌شود [۱۱].

گلوتاتیون (GSH) به عنوان مهمترین آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی سلولی باعث جمع آوری مستقیم ROS ها می‌شود و همچنین به عنوان کوفاکتور برای آنزیم‌های گلوتاتیون پراکسیداز و GST عمل می‌کند. تخلیه GSH در نهایت باعث افزایش پراکسیداسیون لیپیدی می‌شود [۳, ۵]. در مطالعه حاضر تجویز پاراکسون سبب کاهش غلظت گلوتاتیون در مغز و قلب موش صحرایی می‌شود. تجویز NAC کاهش غلظت گلوتاتیون در هر دو بافت را جبران می‌کند. از آن جایی که فعالیت GST در هر دو بافت مغز و قلب در اثر دیازینون افزایش پیدا کرده است، کاهش گلوتاتیون این بافت‌ها می‌تواند ناشی از افزایش فعالیت آنزیم GST و مصرف آن به عنوان سوبسترا توسط این آنزیم باشد. جبران کاهش گلوتاتیون توسط NAC می‌تواند ناشی از عمل NAC به عنوان پیش ساز گلوتاتیون و شرکت آن در سنتز این آنتی‌اکسیدان سلولی و همین طور عملکرد مستقیم آن در حذف رادیکال‌های آزاد باشد [۹]. مطالعات دیگر هم سو با نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که تجویز دیازینون و پاراکسون موجب کاهش گلوتاتیون در بافت‌های مختلف می‌گردد [۲, ۳, ۵]. Uner و همکاران نشان دادند که تزریق داخل صفاقی NAC قبل از تجویز فن تیون به ماهی باعث افزایش غلظت GSH می‌شود [۲۱]. چند مطالعه دیگر نشان داد که تزریق داخل صفاقی N- استیل سیستئین قبل از تجویز آندوسولفان و دی کلروس به ماهی باعث افزایش غلظت گلوتاتیون، نسبت GSH/GSSG و فعالیت گلوتاتیون ردوکتاز در کبد و مغز می‌شود [۲۳, ۲۶]. Yurumez و همکاران نشان دادند که تجویز NAC یک ساعت قبل و بعد از مسمومیت با فن تیون باعث ذخیره گلوتاتیون و کاهش MDA خون در هر دو حالت حفاظتی و درمانی می‌شود [۲۷]. خزایی و همکاران نشان دادند که پاراکسون سبب کاهش میزان GSH طحال و اریتروسیت ها و تجویز NAC باعث افزایش غلظت GSH می‌شود [۲].

آنزیم‌های کولین استراز از آنزیمهای مورد هدف ارگانوفسفره ها هستند. اندازه گیری فعالیت این آنزیم در تشخیص مسمومیت با مواد حشره کش از ارزش بالایی برخوردار است [۵]. در مطالعه حاضر تجویز پاراکسون سبب کاهش فعالیت آنزیم BChE در قلب و آنزیم AChE در مغز موش صحرایی می‌شود و تجویز NAC کاهش فعالیت این آنزیم را در هر دو بافت جبران می‌کند. مطالعات Oruc و همکارش نشان دادندکه تجویز دیازینون برای ۵، ۱۵ و ۳۰ روز به ماهی آب آزاد باعث کاهش فعالیت آنزیم بوتیریل کولین استراز در همه زمانها و غلظت‌ها در کبد و تنها در ۳۰ روز در ماهیچه می‌شود [۲۸, ۲۹]. John و همکاران نشان دادند که تجویز خوراکی دیمتوآت یا مالاتیون به موش صحرایی بعد از سه روز موجب مهار فعالیت استیل کولین استراز اریتروسیت ها می‌گردد [۳۰]. مطالعه جعفری و همکاران نشان داد که تجویز دیازینون در مغز و قلب سبب کاهش آنزیم کولین استراز می‌گردد [۵]. همچنین مطالعه Uner و همکاران نشان دادند تجویز فن تیون به تنهایی و به همراه NAC به صورت داخل صفاقی روی فعالیت آنزیم استیل کولین استراز مغز برای ۹۶ ساعت تاثیری ندارد [۲۱]. Shadnia و همکاران اثر حفاظتی NAC را بر مهار فعالیت استیل کولین استراز توسط دیازینون خوراکی بعد از ۴ هفته نشان دادند [۱۰].

با توجه به استفاده وسیع ترکیبات ارگانوفسفره به عنوان حشره کش در کشاورزی و همچنین به عنوان عوامل اعصاب مانند تابون و سومان در جنگ عراق علیه ایران، مسمومیت این ترکیبات یکی از مشکلات حال و آینده می‌باشد. در این مطالعه نشان داده شد که پاراکسون از طریق القاء استرس اکسیداتیو باعث ایجاد سمیت در بافت‌های مغز و قلب می‌شود و استفاده از داروی NAC می‌تواند تا حد زیادی از ایجاد این سمیت جلوگیری کند. از آنجا که مکانیسم عمل ترکیبات ارگانوفسفره مشابه هم می‌باشد، بنابر این می‌توانیم از این دارو جهت کاهش سمیت سایر ترکیبات این گروه نظیر عوامل اعصاب استفاده کنیم.

نتیجه گیری

در مجموع نتایج این مطالعه پیشنهاد می‌کند که پاراکسون باعث مهار آنزیم کولین استراز و القاء استرس اکسیداتیو از طریق تولید رادیکال‌های آزاد، کاهش غلظت گلوتاتیون در بافت‌های مغز و قلب می‌شود. از طرفی تجویز NAC به عنوان عامل آنتی‌اکسیدان از طریق سنتز گلوتاتیون و پاک‌سازی رادیکال‌های آزاد، باعث کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از پاراکسون می‌شود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان لازم است از مریم صالحی، جواد رسولی و حسین مهدوی‌نسب جهت یاری در مراحل اولیه مطالعه تشکر نمایند. این طرح تحقیقاتی با حمایت مالی مرکز تحقیقات آسیب‌های شیمیایی دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا... (عج) انجام شده است که بدین وسیله از کلیه مسئوولین مرکز مربوطه تشکر و قدردانی می‌شود.

[DOI: 10.18869/acadpub.hrjbaq.2.2.77]
Downloaded from hrjbaq.ir at 18:45 +0330 on Monday September 25th 2017

References

1. Bhatti G, Sidhu I, Saini N, Puar S, Singh G, Bhatti J. Ameliorative role of melatonin against cypermethrin induced hepatotoxicity and impaired antioxidant defense system in Wistar rats. Toxicol Food Technol. 2014;8(1):39-48.
2. Khazaie S, Jafari M, Heydari J, Salem F. [Investigating response of spleen and erythrocytes antioxidant defense system on the effects of n-acetyl cysteine against Paraoxon toxicity in rat]. Urmia Med J. 2015;26(3):176-84.
3. Jafari M, Salehi M, Asgari A, Ahmadi S, Abbasnezhad M, Hajihoosani R, et al. 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):876-87. DOI: 10.1016/j.etap.2012.08.011 PMID: 23021855
4. Malmir S, Jafari M. [Comparison of the effects of diazinon and paraoxon on the antioxidant system of rat lung]. Sci J Kurdistan Uni Med Sci. 2014;19(2):124-33.
5. Jafari M, Salehi M, Ahmadi S, Asgari A, Abasnezhad 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. DOI: 10.3109/15376516.2012.716090 PMID: 22871176
6. Ghani E, Mohammadi M, Jafari M, Khoshbaten A, Asgari A. [Evaluation of oxidative stress index in brain tissue of rats after expose to paraoxon]. Kowsar Med J. 2008;13(1):1-7.
7. Rushworth GF, Megson IL. Existing and potential therapeutic uses for N-acetylcysteine: the need for conversion to intracellular glutathione for antioxidant benefits. Pharmacol Ther. 2014;141(2):150-9. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2013.09.006 PMID: 24080471
8. Lasram MM, Lamine AJ, Dhouib IB, Bouzid K, Annabi A, Belhadjhmida N, et al. Antioxidant and anti-inflammatory effects of N-acetylcysteine against malathion-induced liver damages and immunotoxicity in rats. Life Sci. 2014;107(1-2):50-8. DOI: 10.1016/j.lfs.2014.04.033 PMID: 24810974
9. Mostafalou S, Abdollahi M, Eghbal MA, Saeedi Kouzehkonani N. Protective effect of NAC against malathion-induced oxidative stress in freshly isolated rat hepatocytes. Adv Pharm Bull. 2012;2(1):79-88. DOI: 10.5681/apb.2012.011 PMID: 24312774
10. 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 PMID: 20020979
11. 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 Uni Med Sci. 2014;12(11):895-906.
12. 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. PMID: 803541
13. Aebi H. Catalase in vitro. Methods Enzymol. 1984;105:121-6. DOI: 10.1016/S0076-6879(84)05016-3 PMID: 6727660
14. Habig WH, Jakoby WB. Glutathione S-transferases (rat and human). Methods Enzymol. 1981;77:218-31. DOI: 10.1016/S0076-6879(81)77029-0 PMID: 6173570
15. Ellman GL, Courtney KD, Andres V, Jr., Feather-Stone RM. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. Biochem Pharmacol. 1961;7(2):88-95. DOI: 10.1016/0006-2952(61)90145-9 PMID: 13726518
16. Tietze F. Enzymic method for quantitative determination of nanogram amounts of total and oxidized glutathione: applications to mammalian blood and other tissues. Anal Biochem. 1969;27(3):502-22. PMID: 4388022
17. Satoh K. Serum lipid peroxide in cerebrovascular disorders determined by a new colorimetric method. Clin Chim Acta. 1978;90(1):37-43. PMID: 719890
18. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal Biochem. 1976;72(1):248-54. PMID: 942051
19. Salehi M, Jafari M, Moqadam MS, Salimian M, Asghari A, Nateghi M, et al. [The effect of diazinon on rat brain antioxidant system]. Toxicol Lett. 2009;189(3):S123. DOI: 10.1016/j.toxlet.2009.06.424
20. 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. American J Pharmacol Toxicol. 2014;9(3):177-88. DOI: 10.3844/ajptsp.2014.177.188
21. Uner N, Sevgiler Y, Durmaz H, Piner P, Cinkiloglu E. N-Acetylcysteine provides dose-dependent protection against fenthion toxicity in the brain of Cyprinus carpio L. Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol. 2009;150(1):33-8. PMID: 19444991
22. Uzun FG, Kalender Y. Protective effect of vitamins C and E on malathion-induced nephrotoxicity in male rats. Gazi Uni J Sci. 2011;24(2):193-201.
23. Pena-Llopis S, Ferrando MD, Pena JB. Fish tolerance to organophosphate-induced oxidative stress is dependent on the glutathione metabolism and enhanced by N-acetylcysteine. Aquat Toxicol. 2003;65(4):337-60. PMID: 14568351
24. Akturk O, Demirin H, Sutcu R, Yilmaz N, Koylu H, Altuntas I. The effects of diazinon on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in rat heart and ameliorating role of vitamin E and vitamin C. Cell Biol Toxicol. 2006;22(6):455-61. DOI: 10.1007/s10565-006-0138-5 PMID: 16964585
25. 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. Pesticide Biochem Physiol. 2010;96(2):101-7. DOI: 10.1016/j.pestbp.2009.09.008
26. Dorval J, Hontela A. Role of glutathione redox cycle and catalase in defense against oxidative stress induced by endosulfan in adrenocortical cells of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss). Toxicol Appl Pharmacol. 2003;192(2):191-200. PMID: 14550752
27. Yurumez Y, Cemek M, Yavuz Y, Birdane YO, Buyukokuroglu ME. Beneficial effect of N-acetylcysteine against organophosphate toxicity in

[DOI: 10.18869/acadpub.hrjbaq.2.2.77]
Downloaded from hrjbaq.ir at 18:45 +0330 on Monday September 25th 2017

mice. Biol Pharm Bull. 2007;30(3):490-4. PMID: 17329844
28. Oruc E. Effects of diazinon on antioxidant defense system and lipid peroxidation in the liver of Cyprinus carpio (L.). Environ Toxicol. 2011;26(6):571-8. DOI: 10.1002/tox.20573 PMID: 20196151
29. Oruc EO, Usta D. Evaluation of oxidative stress responses and neurotoxicity potential of diazinon in different tissues of Cyprinus carpio. Environ Toxicol Pharmacol. 2007;23(1):48-55. DOI: 10.1016/j.etap.2006.06.005 PMID: 21783736
30. 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. PMID: 11834209