ORIGINAL ARTICLE

The study regarding effect of paraoxon on oxidative stress index in kidney tissue of rats

Maryam Abbasnezhad[1], Mahvash Jafari[2], Alireza Asgari[3], Reza Hajihoseini[4], Mansoureh Hajigholamali[4], Maryam Salehi[5], Mohammad Salimian[1]

[1] Department of Biochemistry, Chemical Injuries Research Center, Faculty of Medicine, Military medicine Institute, Baqiyatallah (a.s) University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[2] Department of Biochemistry, Applied Neuroscience Research Center, Faculty of Medicine, Military medicine Institute, Baqiyatallah (a.s) University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[3] Department of Physiology, Sport Physiology Research Center, Faculty of Medicine, Baqiyatallah (a.s) University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[4] Department of Biochemistry, Payame Noor University, Tehran, Iran
[5] Department of Biochemistry, Razavi Khorasan Payame Noor University, Mashhad, Iran

(Received 14 July, 2009 ; Accepted 23 December, 2009)

Abstract

Background and purpose: Paraoxon is the active form of parathion, which is an organophosphate pesticide (OP). The toxic effects of some OPs are not limited to inhibition of cholinesterase, they are capable to produce free radicals and induce disturbance in body antioxidant systems. The purpose of this study was to evaluate the effect of paraoxon on oxidative stress index in the kidney of rat.

Materials and methods: Wistar male rats were randomly divided in four groups including: control (corn oil as paraoxon solvent) and three paraoxon groups receiving different doses (0.3, 0.7 and 1mg/kg) by intraperitoneal injection. 24 hours after injection, animal was given anesthesia and kidney tissue removed. After kidney tissue hemogenation, superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT), lactate dehydrogenase (LDH) and glutathione S- transferase (GST) activities, glutathione (GSH) and malondialdehyde (MDA) levels were determined by biochemical methods.

Results: At doses higher than 0.3 mg/kg paraoxon, kidney SOD and CAT activities were significantly increased, comparing with the control, while GSH level was significantly decreased. There were no significant changes observed in GST, LDH activities and MDA levels.

Conclusion: The results suggest that paraoxon induces the production of free radicals and oxidative stress. The enhanced activity of antioxidant enzymes in kidney of rats probably was a function of the increased detoxification capacity. Depletion of tissue GSH is a prime factor, which can impair the cell's defense against the toxic actions of free radicals.

Key words: Paraoxon, oxidative stress index, rat, kidney tissue

J Mazand Univ Med Sci 2009; 19(73): 17-26 (Persian).

Archive of SID

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-08]

www.SID.ir

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره نوزدهم شماره ۷۳ آذر و دی سال ۱۳۸۸ (۲۶-۱۷)

بررسی اثر پاراکسون بر شاخص های استرس اکسیداتیو بافت کلیه موش صحرایی

مریم عباس نژاد[۱] مهوش جعفری[۲] علیرضا عسگری[۳] رضا حاجی حسینی[۴]
منصوره حاجی غلامعلی[۴] مریم صالحی[۵] محمد سلیمیان[۱]

چکیده

سابقه و هدف : پاراکسون از گروه ارگانوفسفره بوده که متابولیت فعال پاراتیون در بدن می‌باشد. اثرات سمی برخی از ارگانوفسفره‌ها تنها محدود به مهار کولین استراز نمی‌باشد، بلکه آنها قادر به تولید رادیکال‌های آزاد و اختلال در سیستم‌های آنتی‌اکسیدان بدن هستند. هدف از این مطالعه ارزیابی شاخص‌های استرس اکسیداتیو در بافت کلیه موش صحرایی به دنبال تجویز حاد پاراکسون بود.

مواد و روش ها : موشهای آزمایشگاهی نر نژاد ویستار بطور تصادفی به ۴ گروه تقسیم شدند: گروه کنترل که روغن ذرت را بعنوان حلال پاراکسون و سه گروه آزمایش که دوزهای مختلف پاراکسون (۰/۳، ۰/۷و۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) را بصورت داخل صفاقی دریافت کردند. ۲۴ ساعت پس از تزریق، حیوانات با اتر بیهوش و بافت کلیه آنها خارج گردید. بعد از هموژنه کردن بافت کلیه، فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، گلوتاتیون اس- ترانسفراز و لاکتات دهیدروژناز و همچنین غلظت گلوتاتیون و مالون‌دی‌آلدئید توسط روش‌های بیوشیمیایی تعیین شد.

یافته ها : به دنبال تجویز پاراکسون، میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز در غلظت‌های بالاتر از ۰/۳ mg/kg پاراکسون بطور معنی‌داری افزایش یافت، در حالیکه غلظت گلوتاتیون در این دوزها بطور قابل توجهی کاهش یافت. فعالیت گلوتاتیون اس- ترانسفراز و لاکتات دهیدروژناز و میزان مالون دی‌آلدئید در مقایسه با گروه کنترل تغییر معنی‌داری نداشت.

استنتاج : نتایج پیشنهاد می‌کند که تجویز حاد پاراکسون باعث القا تولید رادیکال‌های آزاد و استرس اکسیداتیو می‌شود. افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت نشان‌دهنده فعال شدن سیستم دفاعی سلول جهت خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد و تخلیه سطح گلوتاتیون ناشی از نارسایی سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانت سلول در مقابله با رادیکال‌های آزاد می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: پاراکسون، شاخص‌های استرس اکسیداتیو، موش صحرایی، بافت کلیه

مقدمه

ترکیبات ارگانوفسفره دسته‌ای از آفت‌کش‌های شیمیایی هستندکه بطور وسیع درکشاورزی، دامپزشکی، صنعت، باغبانی و منازل استفاده می‌شوند. مسمومیت با این مواد یکی از مشکلات بهداشتی در جهان می‌باشد(۱)

مولف مسئول: مهوش جعفری- تهران: دانشگاه علوم پزشکی بقیها...(عج)، دانشکده پزشکی، گروه بیوشیمی E-mail: jafari@bmsu.ac.ir
۱. گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات آسیب های شیمیایی دانشگاه علوم پزشکی بقیها...(عج)، پژوهشکده طب رزمی
۲. گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات علوم اعصاب کاربردی دانشگاه علوم پزشکی بقیها...(عج)، پژوهشکده طب رزمی
۳. گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی ورزش دانشگاه علوم پزشکی بقیها...(عج)
۴. گروه بیوشیمی، دانشگاه پیام نور تهران، واحد علوم پایه
۵. گروه بیوشیمی، دانشگاه پیام نور مشهد، واحد علوم پایه
تاریخ دریافت : ۸۸/۴/۲۳ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۸۸/۶/۷ تاریخ تصویب : ۸۸/۱۰/۲

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-08]

www.SID.ir

و در ایران بعنوان سومین علت مسمومیت و علت اصلی مرگ و میر ناشی ازمسمومیت گزارش شده است(۲). این ترکیبات مهارکننده آنزیم‌های کولین استراز هستند که با فسفریله کردن اسید آمینه سرین موجود در جایگاه فعال آنزیم، پیوندی قوی و غیر قابل برگشت با آنزیم ایجاد نموده و با مهار آنزیم باعث افزایش سطح استیل کولین می‌شوند که منجر به وقوع بحران کولینرژیک، تشنج و در موارد حاد ضایعه مغزی و مرگ می‌شوند(۳). پاراکسون محصول متابولیسم اکسیداتیو پاراتیون است که یکی از سمی‌ترین آفت‌کش‌ها محسوب می‌شود. شدت مسمومیت حاد این ارگانوفسفره نسبت به سایرعوامل حائز اهمیت است و با وجود ممنوعیت استفاده از این ارگانوفسفره، هنوز استفاده آن بطور وسیع ادامه دارد(۵،۴).

در شرایط طبیعی بین تولید و حذف رادیکال‌های آزاد تعادل وجود دارد. عدم تعادل در این فرآیندها موجب استرس اکسیداتیو می‌گردد که اگر این استرس شدید یا طولانی شود می‌تواند باعث آسیب‌های جدی سلولی گردد(۶). آنزیم‌های آنتی اکسیدان عهده‌دار عمل سم‌زدایی رادیکال‌های آزاد می‌باشند که کاتالاز[1] (CAT) و سوپراکسید دیسموتاز[2](SOD) از آنزیم‌های کلیدی این سیستم بشمار می‌روند و گلوتاتیون[3] (GSH)، تیول غیر پروتئینی اصلی موجودات هوازی و فراوانترین آنتی‌اکسیدان غیر آنزیمی داخل سلولی می‌باشد(۷،۸).

تاکنون طیف وسیعی از اثرات متفاوت برای ترکیبات ارگانوفسفره گزارش شده است. بسیاری از این اثرات ارتباطی با مهار آنزیم استیل کولین استراز ندارد، بلکه توسط مکانیسم‌های دیگر سلولی القا می‌شود(۹). مطالعات نشان می‌دهد که ارگانوفسفره‌ها با تولید رادیکال‌های آزاد باعث تغییر در سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی سلول و پراکسیداسیون لیپیدی غشاء می‌شوند(۲،۱۰،۱۱). به دنبال تجویز خوراکی مالاتیون به موش صحرایی تغییر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و افزایش پراکسیداسیون لیپیدها در اریتروسیت‌ها، بزاق و پلاسما گزارش شده است(۲،۱۲). نتایج مشابهی با مطالعه اثر لیندان بر قلب موش‌صحرایی بدست آمده است(۱۳). از طرف دیگر، در مطالعه اثر کلرپیریفوس و سیپرمترین بر کبد موش کوچک آزمایشگاهی، افزایش غلظت‌های سرمی شاخص‌های عملکرد کبدی و تغییر در شاخص‌های آنتی‌اکسیدان گزارش شده است(۱۱). تفاوت در نوع ترکیب و گونه مورد بررسی، دوز و زمان مواجهه، وجه تمایز مطالعات مختلف می‌باشد. به دلیل تنوع استخلاف‌ها در ساختمان شیمیایی ارگانوفسفره ها و اثرات متفاوت بر روی بافت‌های مختلف، مطالعات تکمیلی جهت درک مکانیسم عمل این ترکیبات ضروری است. مطالعات روی اثر پاراکسون بر روی سیستم آنتی‌اکسیدانی بافت‌ها بصورت in vivo بسیار اندک است. در این مطالعه اثر تجویز حاد پاراکسون بر شاخص‌های استرس اکسیداتیو و لیپید پراکسیداسیون در بافت کلیه موش صحرایی بررسی شد.

مواد و روش ها

مواد:

نیتروبلوتترازولیوم (NBT)، دی‌تیوبیس نیترو بنزوئیک اسید (DTNB) و تتراتوکسی پروپان از شرکت سیگما (آلمان) و ۱- کلرو-۲، ۴ دی نیترو بنزن (CDNB)، تری کلرو استیک اسید (TCA) و آلبومین سرم گاوی (BSA) از شرکت مرک (آلمان) خریداری شدند. اتیل پاراکسون (خلوص ۹۹ درصد) از شرکت سیگما خریداری شد. محلول ذخیره آن با غلظت ۴mg/ml در روغن ذرت تهیه شد و رقت‌های مناسب با استفاده از بافر فسفات سدیم ۱۰ میلی‌مولار با pH =۷ از آن بدست آمد. از دستگاه اسپکتروفتومتری مدل GENE sys 10UV جهت قرائت جذب‌ها در طول موج مختلف استفاده گردید.

1. Catalase
2. Superoxide Dismutase
3. Glutathione

Archive of SID
www.SID.ir
[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-08]

حیوانات:

این مطالعه بر روی موش‌های آزمایشگاهی نر نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۵۰-۲۰۰ گرم خریداری شده از دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا... انجام گرفت. حیوانات در شرایط ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی در حیوانخانه دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا... (عج) نگهداری می‌شدند. دسترسی حیوانات به آب و غذا (خوراک موش تهیه شده از شرکت خوراک دام پارس ایران) آزاد بود. موازین اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی که مورد تایید کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا... (عج) بود، هنگام کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت گردید.

تیمار حیوانات:

حیوانات بطور تصادفی به ۴ گروه (در هر گروه ۷ سر) تقسیم شدند: گروه کنترل که روغن ذرت را بعنوان حلال و ۳ گروه آزمایش که دوزهای مختلف پاراکسون یعنی ۰/۳، ۰/۷ و ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن که بترتیب $0/5LD_{50}$، $1LD_{50}$ و $1/5LD_{50}$ پاراکسون است، را بصورت داخل صفاقی دریافت کردند. ۲۴ساعت پس از تزریق، با بیهوش نمودن حیوانات بوسیله اتر، بافت کلیه خارج گردید و بعداز شستشو با سرم فیزیولوژی و خارج شدن خون و جدا کردن قسمت‌های زاید، به نیتروژن مایع انتقال داده شد. در روز آزمایش، بافت‌های منجمد شده به دقت توزین و با نسبت ۱:۱۰ در بافر فسفات سالین هموژنه شد. پس از آن نمونه‌ها در دور ۱۲۰۰۰ در ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ گردید. ازمحلول رویی جهت سنجش شاخص‌های بیوشیمیایی مورد نظر استفاده شد.

سنجش فعالیت آنزیم SOD:

سنجش فعالیت آنزیم SOD بر پایه قدرت سوپراکسید دیسموتاز در مهار احیاء نیتروبلوتترازولیوم بوسیله یون سوپراکسید با استفاده از روش Winterbourn انجام گرفت(۱۴). ۲۰ میکرولیتر از بافت هموژنه، EDTA ۰/۱ مولار در سدیم سیانید ۰/۳ میلی مولار و NBT ۱/۵ میلی‌مولار در یک کووت اضافه و بعد از مخلوط‌کردن به مدت ۵ تا ۸ دقیقه در دمای ۳۷ درجه قرارگرفت. سپس بعد از اضافه کردن ریبوفلاوین ۱۲ /۰ میلی مولار در بافر فسفات پتاسیم ۰/۶۷ مولار با pH=۷/۸، به‌مدت ۱۰ تا ۱۲ دقیقه در درجه حرارت اتاق قرار داده و جذب در طی ۵ دقیقه در طول موج ۵۶۰ نانومتر قرائت شد. فعالیت ویژه آنزیم بر حسب واحد بر میلی گرم پروتئین محاسبه شد.

سنجش فعالیت آنزیم CAT:

فعالیت آنزیم کاتالاز از روش Aebi (۱۵) و با استفاده از تجزیه پراکسید هیدروژن (H_2O_2) در طول موج ۲۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. به حجم معینی از عصاره بافتی اتانول مطلق (۰/۰۱mg/ml) اضافه و به مدت نیم ساعت در یخ اینکوبه گردید. سپس به آن تریتون X-100 ده درصد با غلظت نهایی یک درصد اضافه شد. این محلول جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم استفاده شد. ۲۰ میکرولیتر از نمونه با بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی مولار با pH=۷ و محلول H_2O_2 ۳۰ میلی مولار مخلوط کرده و جذب در طی ۳ دقیقه قرائت شد و فعالیت ویژه آنزیم بر حسب واحد بر میلی‌گرم پروتئین محاسبه گردید.

سنجش فعالیت آنزیم[1] GST:

اندازه‌گیری فعالیت این آنزیم به روش Habig انجام شد(۱۶). یک میلی لیتر محلول واکنش حاوی بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی مولار pH =۷/۴ شامل یک میلی‌مولار EDTA، ۲۰ میلی‌مولار GSH و ۲۰ میلی‌مولار CDNB می‌باشد. واکنش با اضافه کردن ۲۰ میکرولیتر از عصاره بافتی شروع شد. تغییرات جذب در طول موج ۳۴۰ نانومتر به مدت ۵ دقیقه قرائت شد. فعالیت ویژه آنزیم بر حسب واحد بر میلی‌گرم پروتئین بیان شد.

1. Glitathione S-Transferase

Archive of SID
[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-08]
www.SID.ir

سنجش فعالیت آنزیم LDH:

فعالیت آنزیم LDH با استفاده از کیت پارس آزمون سنجیده شد. جذب نمونه‌ها در طی ۳ دقیقه در طول موج ۳۴۰ نانومتر قرائت شد و فعالیت ویژه آنزیم بر حسب واحد بر میلی‌گرم پروتئین محاسبه گردید.

تعیین غلظت GSH:

برای سنجش میزان گلوتاتیون بافت‌ها از روش Tietze استفاده شد(۱۷). ۲۰ میکرولیتر از نمونه هموژنه رقیق شده با اسید-۵- سولفوسالیسیلیک ۵ درصد (غلظت نهایی ۵ درصد) مخلوط شد. نمونه در دمای ۴ درجه به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۲۰۰۰ سانتریفوژ شد. ۱۰۰ میکرولیتر از محلول رویی به ۸۱۰ میکرولیتر دی سدیم فسفات ۰/۳ مولار اضافه شد. سپس با اضافه کردن ۹۰ میکرولیتر معرف DTNB ۰/۰۴ درصد در سیترات سدیم ۰/۱ درصد واکنش شروع گردید. تغییرات جذب در ۴۱۲ نانومتر در طی ۵ دقیقه قرائت شد. با استفاده از محلول گلوتاتیون ۱mg/ml منحنی استاندارد رسم و غلظت گلوتاتیون نمونه ها محاسبه گردید.

سنجش غلظت MDA[1]:

برای تعیین محصول نهایی پراکسیداسیون لیپیدها (MDA) از روش Satho استفاده شد(۱۸). به ۵۰۰ میکرولیتر از بافت هموژنه، TCA ده درصد اضافه و به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ گردید. به ۱/۵ میلی‌لیتر از مایع رویی، ۲ میلی‌لیتر تیوباربیتوریک اسید ۰/۶۷درصد اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه در بن ماری جوش قرار گرفت. سپس ۲ میلی‌لیتر n- بوتانل به محلول اضافه و بعد از ورتکس شدید به‌مدت ۱۵ دقیقه در دور ۴۰۰۰ سانتریفوژ شد. جذب محلول رویی صورتی رنگ در طول موج ۵۳۲ نانومتر قرائت شد. غلظت مالون دی آلدئید با استفاده از ۱و۱و۳و۳ تترا اتوکسی پروپان به عنوان استاندارد تعیین شد.

تعیین غلظت پروتئین:

برای اندازه گیری پروتئین از روش برادفورد استفاده شد(۱۹). ۵ میکرولیتر از عصاره بافتی را به حجم ۱ میلی‌لیتر رسانده و۳ میلی‌لیتر از محلول برادفورد به آن اضافه و به مدت ۱۰ دقیقه اینکوبه گردید. سپس جذب آن در طول موج ۵۹۵ نانومتر قرائت شد و منحنی استاندارد پروتئین با استفاده از محلول BSA ۱ mg/ml رسم و غلظت پروتئین با استفاده از نمودار محاسبه شد.

تجزیه و تحلیل داده ها:

تجزیه و تحلیل اطلاعات با استفاده از نرم افزار INSTAT بصورت آزمون آنالیز واریانس یک طرفه به همراه تست Tukey انجام شد. $p<0/05$ مرز معنی‌دار بودن اطلاعات در نظر گرفته شد.

یافته ها

اثر دوزهای مختلف پاراکسون بر فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز بافت کلیه در نمودارهای شماره ۱و۲ آمده است. فعالیت هر دو آنزیم در دوزهای ۰/۷و۱ میلی گرم بر کیلوگرم وزن پاراکسون در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی‌داری را نشان می‌دهد. افزایش فعالیت SOD دردوز ۱ mg/kg پاراکسون درمقایسه با دوز۰/۳ معنی‌دار می‌باشد ($p<0/05$) و همچنین افزایش فعالیت CAT در دوزهای ۰/۷ ($p<0/001$) و ۱ ($p<0/01$) میلی‌گرم بر کیلوگرم پاراکسون در مقایسه با دوز ۰/۳ mg/kg معنی‌دار می‌باشد.

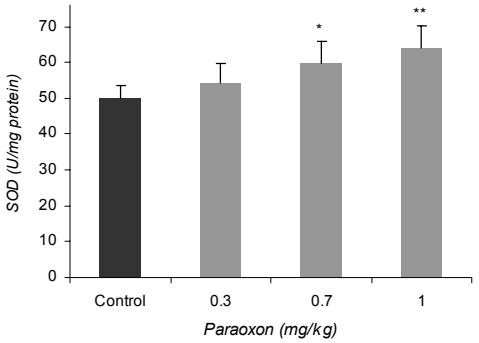
اثر دوزهای مختلف پاراکسون بر فعالیت آنزیم‌های GST و LDH کلیه در نمودارهای شماره ۳ و۴ نشان داده شده است. افزایش فعالیت آنزیم GST و کاهش فعالیت آنزیم LDH در دوزهای مختلف پاراکسون در مقایسه با گروه کنترل و بین دوزهای مختلف معنی‌دار نمی‌باشد.

بررسی اثر پاراکسون بر روی غلظت GSH و MDA (جدول شماره ۱) نشان می‌دهد که غلظت GSH در

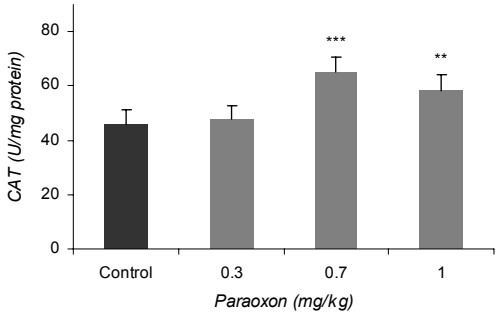
1. Malondialdehyde

www.SID.ir
Archive of SID
[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-08]

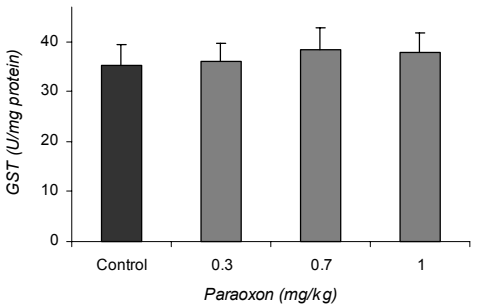
دوزهای ۰/۷ و ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن موش بطور معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل کاهش یافته و این کاهش در بین دوزهای مختلف معنی‌دار نمی‌باشد. افزایش غلظت MDA در دوزهای مختلف پاراکسون در مقایسه با گروه کنترل و بین دوزهای مختلف معنی دار نمی‌باشد.



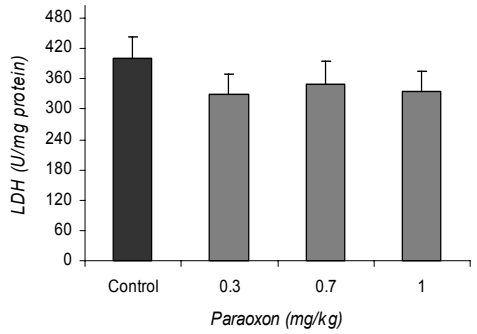
نمودار شماره ۱: فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز کلیه در حضور دوزهای مختلف پاراکسون بعد از۲۴ساعت($p<0/05^{*}$ و $p<0/01^{**}$ در مقایسه با کنترل)



نمودار شماره ۲: فعالیت آنزیم کاتالاز کلیه در حضور دوزهای مختلف پاراکسون بعد از ۲۴ ساعت($p<0/01^{**}$ و $p<0/001^{***}$ در مقایسه با گروه کنترل)



نمودار شماره ۳: فعالیت آنزیم گلوتاتیون S – ترانسفراز کلیه در حضوردوزهای مختلف پاراکسون بعد از ۲۴ ساعت



نمودار شماره ٤: فعالیت آنزیم لاکتات دهیدروژناز کلیه در حضوردوزهای مختلف پاراکسون بعد از ۲۴ ساعت

بحث

کلیه جایگاه حذف و حفظ متابولیت‌های فعال است. متابولیت‌های پاراکسون از طریق کلیه‌ها دفع می‌گردند. کلیه‌ها مسئول برداشتن گلوتاتیون از جریان خون بوده و ۵۰ تا ۶۰ درصد نوسازی گلوتاتیون پلاسما را انجام می‌دهند(۲۰). مجموعه آنزیمی سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز اولین خط دفاعی سلول در برابر سمیت ناشی از رادیکال‌های آزاد می‌باشد(۷). آنزیم SOD باعث تبدیل

جدول شماره ۱: اثر پاراکسون بر روی غلظت گلوتاتیون و مالون دی آلدئید

شاخص (nmol/mg protein)	کنترل انحراف معیار ± میانگین	پاراکسون (mg/kg) ۰/۳ انحراف معیار ± میانگین	۰/۷ انحراف معیار ± میانگین	۱ انحراف معیار ± میانگین
گلوتاتیون	۳۹/۵۳ ± ۴/۱۸	۳۴/۸۳ ± ۴/۲۹	۳۰/۲۷ ± ۵/۵۹*	۲۸/۹۴ ± ۴/۸۶**
مالون دی آلدئید	۱۰/۳۴ ± ۱/۶۷	۱۰/۳۰ ± ۱/۵۱	۱۱/۲۵ ± ۱/۸۷	۱۲/۳۳ ± ۱/۹۸

$p<0/05^{*}$ و $p<0/01^{**}$ در مقایسه با گروه کنترل

Archive of SID
[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-08]
www.SID.ir

رادیکال سوپراکسید به H_2O_2 شده و آنزیم CAT باعث خنثی شدن H_2O_2 و تبدیل آن به H_2O و O_2 می‌شود. در این مطالعه تجویز حاد پاراکسون (۰/۳ mg/kg<) موجب افزایش فعالیت آنزیم SOD و CAT بافت کلیه گردید. افزایش فعالیت SOD باعث کاهش رادیکال سوپراکسید در بافت کلیه شد و H_2O_2 تولید شده در طی این واکنش با افزایش فعالیت CAT خنثی شد. افزایش در فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان بیانگر تطابق سلول یا بافت با استرس ایجاد شده است (۲۱،۱۲).

مطالعه Kaur و همکاران نشان داد که مصرف کلروپیریفوس در موش‌ها، فعالیت SOD و CAT را بطور معنی‌داری در اریتروسیت‌ها افزایش می‌دهد(۲۲). همچنین مطالعه غنی و همکارانش نشان داد که مصرف پاراکسون بصورت داخل صفاقی در موش صحرایی بعد از ۴ ساعت موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های SOD و CAT در بافت مغز می‌گردد(۲۳). از طرف دیگر در بعضی از مطالعات به دنبال تجویز ترکیبات آفت‌کش، کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت گزارش شده است. Fetoui و همکاران با مطالعه اثر LTC (Lambda-Cyhalothrin) که نوعی حشره‌کش است، کاهش فعالیت SOD و افزایش فعالیت CAT مغز و اریتروسیت‌های موش را گزارش نمودند(۲۴). مطالعه Yu نشان داد که کلروپیریفوس باعث کاهش فعالیت آنزیم‌های SOD و CAT شبکیه چشم موش‌ها می‌شود(۲۵). این اختلاف نتایج در مطالعات مختلف ناشی از نوع، نژاد و گونه حیوان، نوع بافت، مسیر تجویز ماده سمی و دوز و زمان مواجهه می‌باشد.

مطالعه حاضر نشان داد که کاهش فعالیت LDH در غلظت‌های مختلف پاراکسون معنی‌دار نیست. غلظت این آنزیم با میزان مرگ سلولی و لیز شدن سلول‌ها رابطه مستقیم دارد(۲۶). چندین گزارش نشان دادند که فعالیت LDH در بافت‌ها تحت شرایط سمیت با حشره‌کش‌های مختلف کاهش می‌یابد(۲۸،۲۷). در مطالعه‌ای که توسط Fetoui و همکارانش انجام شد، فعالیت LDH در مغز موش‌ها بطور معنی‌داری در مواجهه با LTC کاهش یافته، در حالیکه در اریتروسیت‌های موش‌ها در مقایسه با گروه کنترل افزایش پیدا کرد(۲۴). Mishra و همکاران نیز نشان دادند که تجویز اندوسولفان به ماهی، موجب کاهش فعالیت LDH کبد و عضله اسکلتی می‌گردد(۲۹).

آنزیم GST با استفاده از GSH باعث افزایش حلالیت سموم و دفع آنها از بدن می‌گردد. بنابراین نقش مهمی در محافظت بافت‌ها بر علیه آسیب و استرس اکسیداتیو دارد(۳۰). این مطالعه نشان داد که پاراکسون باعث تغییرات معنی‌داری در فعالیت آنزیم GST نمی‌شود. مطالعه Kaur و همکاران نشان داد که با تجویز روزانه کلروپیریفوس (۰/۵ mg/kg) به موش‌ها برای ۲۰ هفته متوالی بطور معنی‌داری فعالیت GST را افزایش می‌دهد(۲۲). در مطالعه‌ای دیگر Khan و همکارانش نشان دادند که اثر سیپرمترین و مالاتیون بر روی کبد موش صحرایی باعث کاهش فعالیت GST می‌شود(۱۱). مطالعه اثر سم آزینفوس متیل برگونه‌ای از ماهی نشان داد که در میزان فعالیت GST کبد و کلیه تغییری ایجاد نمی‌شود(۳۱).

GSH یک تری پپتید حاوی تیول بوده و یکی از مهمترین آنتی‌اکسیدان‌های سلولی به شمار می‌رود که عملکردهای بیولوژیکی مختلفی دارد و انواع اکسیژن و متابولیت‌های واکنش‌پذیر را از بین می‌برد. بعلاوه، می‌تواند به عنوان یک سوبسترا برای آنزیم‌های گلوتاتیون پراکسیداز و گلوتاتیون S – ترانسفراز که خنثی‌کننده سموم هستند، عمل کند(۳۲،۸،۷). تخلیه GSH در نهایت باعث افزایش پراکسیداسیون لیپیدی می‌شود که منجر به آسیب DNA، توقف کامل وکاهش مقاومت در برابر آسیب اکسیداتیو می‌گردد(۳۴،۳۳). مطالعه حاضر نشان داد که تجویز حاد پاراکسون (۰/۷ mg/kg<) موجب کاهش غلظت گلوتاتیون در بافت کلیه می‌گردد. مطالعه Buyukokuroglu و همکاران نشان دادند که مصرف فنتیون به مدت ۲۴ساعت در

Archive of SID

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-08]

www.SID.ir

ماهیچه انسان سطح GSH را کاهش می‌دهد(۳۵). همچنین مطالعه Monteiro و همکاران نشان داد که مصرف متیل پاراتیون توسط ماهی موجب کاهش گلوتاتیون در بافت‌های کبد، ماهیچه سفید و آبشش می‌گردد(۳۶). مطالعه دیگری که توسط Catalgol و همکارانش انجام شد نشان داد که تری کلروفن سطح GSH را در اریتروسیت‌های انسان در حدود ۶۶ تا ۷۹ درصد کاهش داد(۳۷).

MDA یکی از مهمترین و رایج‌ترین مارکرهای پراکسیداسیون لیپیدی است و افزایش سطح MDA نشان‌دهنده اختلال در مکانیسم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی و آنزیمی است(۳۸). مطالعات اخیر نشان داده‌اند بدنبال سمیت ارگانوفسفره‌ها، سطح MDA در بافت یا خون افزایش می‌یابد، ولی در حضور آنتی اکسیدان‌ها بطور معنی‌داری کاهش می‌یابد(۳۹). در این مطالعه به دنبال تجویز پاراکسون پس از ۲۴ ساعت تغییرات معنی‌داری در میزان مالون دی‌آلدئید کلیه مشاهده نشد. شادنیا و همکاران عدم تغییر در میزان مالون دی آلدئید در پلاسمای افرادی که بطور مزمن در مواجهه با آفت‌کش‌ها قرار گرفته بودند را گزارش نمودند(۴۰). بعلاوه، با مطالعه اثر دیازینون بر بافت‌های مختلف ماهی در بعضی از بافت‌ها مانند آبشش، ماهیچه و لوله گوارش، افزایش میزان مالون دی آلدئید و عدم تغییر آن در کلیه مشاهده شده است(۴۱). Isik و همکاران نشان دادند که سطح MDA در ماهی‌های آلوده شده با متیل پاراتیون و دیازینون در طی۲۴ تا ۴۸ ساعت در بافت‌های کبد و ماهیچه افزایش می‌یابد(۴۲). در مطالعه دیگری اثر دیمتوآت در موش‌های بالغ و نوزادان آنها بررسی شد که سطح MDA افزایش پیدا کرد(۴۳). افزایش‌های متشابهی هم در سطوح MDA در بافت‌های مختلف موش‌های صحرایی بالغ بعد از تزریق ارگانوفسفره‌ها گزارش شده است(۴۵،۴۴). نتایج مطالعات متعدد نشان می‌دهد که سطوح پائین یا فقدان پراکسیداسیون لیپیدی، منعکس کننده اثرات محافظتی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان است(۴۶).

نتایج این مطالعه پیشنهاد می‌کند که تجویز پاراکسون بصورت حاد موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان و تخلیه گلوتاتیون در بافت کلیه می‌گردد. افزایش فعالیت آنزیم‌ها احتمالاً ناشی از افزایش ظرفیت سم‌زدایی بافت کلیه است وکاهش GSH نشان‌دهنده نارسایی سیستم دفاعی آنتی اکسیدانت برای مقابله با ROS و القاء استرس اکسیداتیو است. عدم تغییر میزان مالون دی آلدئید بیانگر وجود استرس اکسیداتیو در مراحل اولیه است. با توجه به نتایج متضاد بدست آمده بنظر می‌رسد که برای درک مکانیسم دقیق ارگانوفسفره‌ها، بررسی اثر این ترکیبات بر روی بافت‌های مختلف و با روش‌های دیگر لازم می‌باشد.

سپاسگزاری

این تحقیق با استفاده از حمایت مالی مرکز تحقیقات شیمیایی و علوم اعصاب کاربردی دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا... در قالب طرح تحقیقاتی انجام گردیده است که بدین وسیله نویسندگان مقاله مراتب تقدیر و تشکر خود را از مسوولین آن مراکز ابراز می‌دارند.

References

1. Zhang CH, Malhorta SV. Increased paraoxon detection by acetylcholinesterase inactivation with ionic liquid additives. Talanta 2005; 67: 560-563.
2. Abdollahi M, Mostafalou S, Pournourmohammadi S, Shadnia S. Oxidative stress and cholinesterase inhibition in salvia and plasma of rats followig subchronic exposure to malathion. Comp Biochem Physiol 2004; 137: 29-34.
3. Worek F, Diepold C, Eyer P. Dimethyl

Archive of SID
[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-08]
www.SID.ir

phosphoryl-inhibited human cholinesterase inhibition. Reactivation and aging kenetics. Arch Toxicol 1998; 73: 7-14.

4. Lee BW, London L, Paulauskis j, Myers I, Chrisiani DC. Association between human paraoxonase gene polymophism and chronic symptoms in pesticide exposed workers. J Occup Environ Med 2003; 45: 118-122.
5. Staiiones L, Beseler C, Pesticide illness, farm practices, and neurological symptoms among Farm residents in colorad. Environ Res 2002; 90: 89-97.
6. Michiels C, Raes M, Toussaint O, Remacle J. Importance of Se-glotathion peroxidase, catalase, and Cu/Zn-SOD for cell cervival against oxidative stress. Free Radic Biol Med 1994; 17: 235-248.
7. Coban T, Mobsout A, Eke BC, Bulbul D, Berberoglu U. Glutathion and lipid peroxidation levels in human breast tumors. Neoplasma 1908; 48(3): 161-165.
8. Dringen R. Metabolism and functions of glutathione in brain. Prog Neurobiol 2000; 62: 649-671.
9. Stom JE, Rozman KK, Doull J. Occupational exposure limits for 30 organophosphate pesticides based on inhibition of red blood cell acetylcholinesterase. Toxicol 2000; 150: 1-29.
10. Sharma Y, Bashir S, Irshad M, Nag TC, Dogra TD. Dimethoate-induced effects on antioxidant status of liver and brain of rats following subchronic exposure. Toxicol 2005; 215: 173-181.
11. Khan SM, Sobti RC, Kataria L. Pesticide-induced altration in mice hepato-oxidative status and protective effects of black tea extract. Clin Chim Acta 2005; 358: 131-138.
12. John S, Kale M, Rathore N, Bhatnagar D. Protective effect of vitamine E in dimethoate and malathion induced oxidative stress in rat erythrocytes. J Nut Biochem 2001; 12: 500-504.
13. Ananya R, Subeena S, Kumar DA, Kumar DT, Kumar MS. Oxidative stress and histopathological changes in the heart following oral lindane (gammahexachlorohexane) administration in rats. Med Sci Monit 2005; 11: 325-329.
14. Winterbourn C, Hawkins R, Brian M, Carrell R. The Estimation of red cell superoxide dismutase activity. J Lab Clin Med 1975; 85: 337.
15. Aebi H. Catalase in vitro. Methods Enzymol 1984; 105: 121-126.
16. Habig WT, Jakoby WB. Glutathion S-Transferas (rat and human). Methods Enzymol 1981; 77: 218-231.
17. Burtis CA, Ashwood ER. Tietz textbook of clinical chemistry. 2nd Edition, Philadelphia: W.B. Saunders; USA; 1994. P 1990-1991.
18. Satoh K. Serum lipid peroxidation in cerebrovascular disorders determined by a new colorimetric method. Clin Chim Acta 1978; 90: 37-43.
19. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the priniple of protein-dye binding. Analytical Biochem 1976; 72: 248-254.
20. Haberle D, Wahllander A, Sies H. Assessment of the kidney function in maintenance of plasma glutathione concentration and redox state in anaestheitized rats. FEBS Lett 1979; 108: 335-340.
21. Anderson HR, Nielsen JB, Nielsen F. Antioxidative enzyme activties in human erytrocytes. Clin Chemis 1997; 43: 562-568.
22. Kaur R, Sandhu HS. In vivo changes in antioxidant system and protective role of selenium in chlorpyrifos-induced subchronic

Archive of SID

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-08]

www.SID.ir

toxicity in bubalus bubalis. Environ Toxicol Pharmacol 2008; 26: 45-48.

23. Gani E. Mohmmadi M, Jafari M, Khoshbatene A, Asgari A. Evaluation of oxidative stress index in brain tissue of rats after expose to paraoxon. Kowsar Med J 2008; 1: 1-8(Persian).
24. Fetoui H, Garoui EM, Makniayadi F, Zeghal N. Oxidative stress induced by lambda-cyhalothrin in rat erythrocytes and brain: Attenuation by vitamin C. Environ Toxicol Pharmacol 2008; 26: 225-231.
25. Yu F, Wang Z, Ju B, Wang Y, Wang J, Bai D. Apoptotic effect of organophosphorus insecticide chlorpyrifos on mouse retina in vivo via oxidative stress and protection of cobination of vitamin C and E. Exp Toxicol Patology 2008; 59: 415-423.
26. Agrahari SH, Pandey KC, Gopal K. Biochemical alteration induced by monocrotophos in the blood plasma of fish, Channa punctatus (Bloch). Pes Biochem Physiol 2007; 88: 268-272.
27. Tripathi G, Shukla, SP. Malate and lactate dehydrogenases of a freshwater cat fish, impact of endosulfan. Biomed Environ Sci 1990; 3: 52-58.
28. Mishra R, Shukla SP. Endosulfan effects on muscle malate dehydrogenase of the freshwater catfish Clarias batrachus. Ecotoxicol Environ 2003; 56: 425-433.
29. Mishra R, Shukla SP. Endosulfan mediated effects on lactate dehydrogenase from the catfish. Toxicol Lett 1998; 95: 145.
30. Habig WH, Pabst MJ, Jakoby WB. Glutathione S-transferases. J Biol Chem 1984; 249: 7130-7139.
31. Oruc E, Uner N. Combined effects of 2, 4 -d and azinphosmethyl on antioxidant enzymes and lipid peroxidation in liver of oreochromis niloticus. Comp Biochem Physiol. Part C 2002; 127: 291-296.
32. Winkler BS, Orselli SM, Rex TS. The redox couple between glutathione, ascorbic Acid: A chemical and physiological perspective. Free Radic Biol Med 1994; 17: 333-349.
33. Nordberg J, Arner E. Reactive oxygen species, antioxidant, and the mammalian thioredoxin system. Free. Radic Biol Med 2001; 31: 1287-1312.
34. Masella R, Benedetto RD, Vari R, Filesi C, Giovannini C. Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. J Nutrition Biochem 2005; 16: 577-586.
35. Buyukokuroglu ME, Cemek M, Tosun M, Yurumez Y, Bas O, Yavuz Y. Dantrolen may prevent organophosphate-induced oxidative stress and muscle injury. Pes Biochem Physiol 2008; 92: 156-163.
36. Monteiro DA, Rantin FT, Kalinin AL. The effects of selenium on oxidative stress biomarkers in the freshwater characid fish, Bryconcephalus exposed to organophosphate insecticide Folisuper 600. Comp Biochem Physio 2009; 149: 40-49.
37. Catalgol BK, Ozden S, Alpertunga B. Effects of trichiorfon on malondialdehyde and antioxidant system in human erythrocytes. Toxicol in vitro 2007; 21: 1538-1544.
38. Valavanidis A, Vlahogianni T, Dassenakis M, Scoullos M. Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants. Ecotox Environ Safety 2006; 64: 178-189.
39. Altuntas I, Kilinc I, Orhan H, Demirel R, Koylu H, Delibas N. The effects of diazinon on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in erythrocytes in vitro. Hum Exp Toxicol 2004; 23: 9-13.
40. Shadnia S, Azizi E, Hosseini R, Khoei S,

Archive of SID
[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-08]
www.SID.ir

Fouladdel S, Pajoumand A, et al. Evalution of oxidative stress and genotoxicity in organophosphorus insecticide formulators. Hum Exp Toxicol 2005; 24: 439-445.

41. Durmaz H, Sevgiler Y, Uner N. Tissue-specific antioxidative and neurotoxic responses to diazinon in oreochromis niloticus. Pes Biochem Physiol 2006; 84: 215-226.
42. Isik I, Celik I. Acute effects of methyl parathion and diazinon as inducers for oxidative stress on ceratin biomarkers in various tissues of rainbowtrout. Pes Biochem Physiol 2008; 92: 38-42.
43. Mahjoubisamet A, Fetoui H, Zeghal N. Nephrotoxicity induced by dimethoate in adult rats and their Suckling Pups. Pes Biochem Physiol 2008; 91: 96-103.
44. Fortunato JJ, Agostinho FR, Petronilho GZ, Dal-Pizzolre F, Quevedo J. Lipid peroxidative damage on malathion exposure in rats. Neurotox Res 2005; 9: 23-28.
45. Possamai FP, Fortunato JJ, Feier G, Agostinho FR, Quevedo J, Filho DW, et al. Oxidative stress after acute and sub chronic malathion intoxication in Wistar rats. Environ Toxicol Pharmacol 2007; 23: 198-204.
46. Oruc EO, Usta D. Evaluation of oxidative stress responses and neurotoxicity potential of diazinon in defferent tissues of Cyprinus carpio. Environ Toxicol Pharmacol 2007; 23: 48-55.

Archive of SID

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-08]

www.SID.ir