

## *In Vivo Protective Effect of Myricetin on Liver Biochemical Damage Induced by Endosulfan*

Mohammad Shokrzadeh<sup>1</sup>,  
Hanieh Ebrahimnejad<sup>2</sup>,  
Ali Zear<sup>3</sup>,  
Aroona Chabra<sup>4</sup>,  
Farshad Naghshvar<sup>5</sup>,  
Amirhossein Ahmadi<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Associate Professor, Department of Toxicology and Pharmacology, Pharmaceutical Sciences Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

<sup>2</sup> Pharm.D Student, Student Research Committee, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

<sup>3</sup> MSc Student in Toxicology, Student Research Committee, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

<sup>4</sup> PhD Student of Pharmacognosy, Student Research Committee, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

<sup>5</sup> Professor, Department of Pathology, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received March 14, 2016 ; Accepted August 6, 2016)

### **Abstract**

**Background and purpose:** Endosulfan is an organochlorine insecticide that is absorbed orally, subcutaneously and by inhalation in humans and animals and disturbs the reduction process, changes the activity of antioxidant enzymes and increases the lipid peroxidation in many organs. The aim of this study was to evaluate the protective effect of myricetin against endosulfan induced liver damage.

**Materials and methods:** In an experimental study 42 male Wister rats were randomly divided into 7 groups (n=6 per group). Group I served as the control and the experimental groups were as follows: group II- V received endosulfan 10 mg/kg and myricetin 5, 10, 15, and 20 mg/kg/ip for 30 days, respectively. Group VI was treated only by 10 mg/kg endosulfan and group VII as positive control received 10 mg/kg cyclophosphamide (ip, 30 days). Twenty four hours after the last injection, all rats were anesthetized using ethyl ether. Alanine aminotransferase (ALT), aspartate transaminase (AST), alkaline phosphatase (ALP), and superoxide dismutase (SOD) levels were measured in plasma. Liver glutathione (GSH) levels were also determined.

**Results:** Administration of endosulfan caused elevation in ALT, AST, ALP and SOD levels, but the activity of GSH decreased in liver tissue. Receiving myricetin along with endosulfan significantly increased body antioxidant activity and normalized the liver enzyme levels ( $P < 0.05$ ).

**Conclusion:** Our results indicated that myricetin with antioxidant effect could protect cells against harmful free radicals. Therefore, further clinical trials are suggested.

**Keywords:** endosulfan, antioxidants, glutathione, liver

## بررسی اثر محافظتی میریستین بر آسیب بیوشیمیایی کبد ناشی از اندوسولفان در شرایط درون تنی

محمد شکرزاده<sup>۱</sup>  
حانیه ابراهیم نژاد<sup>۲</sup>  
علی زیار<sup>۳</sup>  
آرونا چابرا<sup>۴</sup>  
فرشاد نقشوار<sup>۵</sup>  
امیر حسین احمدی<sup>۲</sup>

### چکیده

**سابقه و هدف:** اندوسولفان یک حشره کش ارگانوکلره است که در پستانداران از طریق خوراکی، استنشاقی و زیرپوستی جذب می شود و باعث اختلال در فرایند احیا، تغییر در فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان و افزایش پراکسیداسیون لیپیدی در بسیاری از اندام ها شود. لذا در این پژوهش توانایی محافظت سلولی میریستین در برابر آسیب ناشی از اندوسولفان بر کبد ارزیابی شد.

**مواد و روش ها:** در این مطالعه تجربی، از موش های صحرایی نر استفاده شد که به طور تصادفی به ۷ گروه و به تعداد ۶ سر تقسیم شدند. (I) گروه نرمال، (II) ۵ mg/kg میریستین + اندوسولفان (۱۰ mg/kg)، (III) ۱۰ mg/kg میریستین + اندوسولفان (۱۰ mg/kg)، (IV) ۱۵ mg/kg میریستین + اندوسولفان (۱۰ mg/kg)، (V) ۲۰ mg/kg میریستین + اندوسولفان (۱۰ mg/kg)، (VI) ۱۰ mg/kg اندوسولفان تنها و (VII) ۱۰ mg/kg سیکلوفسفامید را به مدت ۳۰ روز به صورت داخل صفاقی دریافت کردند. ۲۴ ساعت پس از آخرین تزریق، خونگیری انجام شد و سطح آنزیم های آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آسپارات آمینوترانسفراز (AST)، آلکالین فسفاتاز (ALP)، سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و گلوکوتایون کبدی اندازه گیری شد.

**یافته ها:** تجویز اندوسولفان باعث افزایش سطح آنزیم های ALT, AST, ALP و سوپراکسید دیسموتاز و کاهش فعالیت گلوکوتایون کبدی شد. تجویز میریستین همزمان با مصرف اندوسولفان به طور معناداری فعالیت آنتی اکسیداتی را افزایش داده و سطح آنزیم های کبدی را تعدیل نموده است ( $p < 0/05$ ).

**استنتاج:** نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان می دهد که میریستین به عنوان یک ترکیب آنتی اکسیدان، از سلول ها در برابر عوامل زیان آور با خاصیت تولید رادیکال های آزاد محافظت می کند. لذا کار آزمای های بالینی بیش تری توصیه می شود.

**واژه های کلیدی:** اندوسولفان، آنتی اکسیدان ها، گلوکوتایون، کبد

### مقدمه

با وجود مصرف روز افزون سموم آفت کش، با وجود مصرف روز افزون سموم آفت کش، مواجهه انسان با این گونه سموم تقریباً غیر قابل اجتناب بوده و می تواند به صورت غیر عمدی و تصادفی متعاقب استفاده از سموم آفت کش و یا باقی ماندن آن ها در

**مؤلف مسئول:** آرونا چابرا - ساری: کیلومتر ۱۸ جاده خزر آباد، مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم، دانشکده داروسازی E-mail: Aroona\_Chabra2@yahoo.com

۱. دانشیار، گروه سم شناسی و داروشناسی، مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۲. دانشجوی دکتری حرفه ای داروسازی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۳. دانشجوی کارشناسی ارشد سم شناسی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۴. دانشجوی دکتری تخصصی فارماکولوژی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۵. استاد، گروه پاتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۲/۲ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۵/۷/۱۲ تاریخ تصویب: ۱۳۹۵/۹/۳

محیط زیست اتفاق افتد. طبق مطالعات انجام شده، میزان مسمومیت در کشورهای در حال توسعه، ۱۳ برابر بیش تر از کشورهای صنعتی می باشد. هم چنین کشورهای در حال توسعه، ۸۵ درصد از تولید جهانی آفت کش ها را مصرف می نمایند (۱).

خواص فیزیکی و شیمیایی سموم آلی کلردار و متابولیت های آنها، سبب می شود که این ترکیبات به سهولت وارد بدن موجودات شوند. حلالیت بالا در چربی و حلالیت کم در آب، منجر به تجمع آنها در بافت چربی می شود. میزان تجمع در موجودات بر حسب نوع، مدت و غلظت تماس در شرایط محیطی متفاوت است. این تجمع پذیری نشان می دهد که اثرات سمی می تواند در موجودات و حتی در مناطق دورتر از منطقه آلوده رخ دهد. سرعت تجزیه بیولوژیکی و شیمیایی این ترکیبات بسیار پایین بوده و به سهولت توسط خاک و رسوبات جذب می شوند، که در دراز مدت می توانند منبع آلودگی برای موجودات زنده در خاک باشند (۲، ۳).

سیکلودی آنها (مانند اندوسولفان) روی گیرنده های گابا تاثیر می گذارند و جریان یون کلر را کاهش می دهد. علامت شاخص در این مسمومیت، تشنج است (۲). اندوسولفان ( $C_9H_6Cl_6O_3S$ ) یک حشره کش ارگانوکلره بوده و دارای ۲ ایزومر 64-67  $\alpha$ : درصد و 29-32  $\beta$ : درصد است که ایزومر  $\alpha$  نسبت به ایزومر  $\beta$  برای حشرات و پستانداران خطرناک تر است (۳). اندوسولفان با دارا بودن خاصیت آندروژنیک، سبب تاخیر در بلوغ جنسی شده و در سنتز هورمون های جنسی، اختلال ایجاد می کند. هم چنین با استرادیول در اتصال به گیرنده های استروژن رقابت می کند و از این طریق، مانع عملکرد صحیح هورمونی می شود (۴). اندوسولفان توانایی ایجاد تغییر در ماده ژنتیکی به ویژه کروموزوم ها را در محیط های کشت سلولی دارد و به مقدار زیادی در بافت کبد و کلیه تجمع می یابد.

مطالعات بسیاری اثبات نمودند که آفت کش ها از طریق تولید رادیکال های آزاد (ROS) منجر به ایجاد

استرس اکسیداتیو و القای لیپید پراکسیداسیون در پستانداران می شوند. اندوسولفان در انسان و حیوان از طریق خوراکی، استنشاقی و زیرپوستی جذب می شود.  $LD_{50}$  اندوسولفان در رت به ترتیب برای ایزومرهای  $\alpha$  و  $\beta$ ، ۷۶ و ۲۴۰ mg/kg است (۵). مطالعات مختلف نشان داده اند که اندوسولفان دارای خصوصیات ژنوتوکسیک است.

مطالعات اپیدمیولوژی نشان می دهد که مصرف سبزیجات و میوه جات موجب محافظت بدن در مقابل انواع بیماری ها از جمله سرطان می شود (۶، ۷). افزایش ROS می تواند به پروتئین، چربی، DNA و قندها آسیب بزند و در نتیجه منجر به فرایندهای دژنراتیو و بیماری گردد. ارگانیسیم های هوازی دارای سیستم دفاع آنتی اکسیدانتی هستند و از آسیب های ناشی از اکسیداتیو استرس جلوگیری می کنند. این مکانیسم های دفاعی شامل سوپراکسید دسموتاز (SOD)، که دیسموتاسیون آنیون سوپراکسید به  $H_2O_2$  را کاتالیز می کند، کاتالاز (CAT)، که  $H_2O_2$  را به آب و یک ملکول اکسیژن تبدیل می کند، و گلوکوتاتیون پراکسیداز وابسته به سلنیوم (GPx)، که با استفاده از گلوکوتاتیون، تخریب  $H_2O_2$  و هیدروپراکسید را تسهیل می کند (۸، ۹).

فلاونوئیدها از نظر ساختاری، ترکیبات پلی فنلی هتروژن هستند که به طور گسترده، در منابع غذایی گیاهی وجود دارند و اثرات مفید بسیاری دارند که از جمله آن می توان به حفاظت در برابر بیماری های قلبی - عروقی، سرطان، دیابت و اختلالات نورودژنراتیو اشاره کرد. قسمت عمده این اثر بخشی ناشی از خصوصیات آنتی اکسیدانتی و توانایی آنها در تعدیل بسیاری از فعالیت های آنزیمی است. فلاونوئیدها با استفاده از مکانیسم های مختلف، هم به صورت کوتاه مدت و هم بلندمدت، علیه استرس اکسیداتیو فعالیت می کنند (۹). با توجه به این که مکانیسم اصلی در ژنوتوکسیسیتی اندوسولفان، شرایط استرس اکسیداتیو ناشی از افزایش رادیکال های آزاد می باشد، لذا ترکیبات مهار کننده رادیکال های آزاد، موجب خنثی کردن اثرات مخرب

تاکنون هیچ مطالعه‌ای بر روی اثرات محافظتی آن در برابر آسیب بیوشیمیایی ناشی از اندوسولفان گزارش نشده است، این مطالعه جهت ارزیابی توانایی میزان محافظت میریستین در برابر سمیت بیوشیمیایی ناشی از اندوسولفان در کبد موش های صحرایی آزمایشگاهی انجام شده است.

## مواد و روش ها

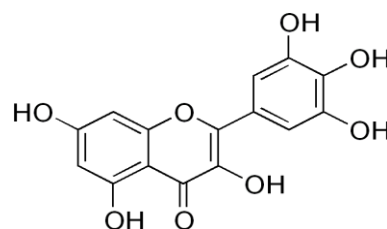
میریستین و اندوسولفان از شرکت سیگما، EDTA و DTNB و گلو تاتیون استاندارد از شرکت مرک آلمان و بافر تریس (pH = 8/9) از شرکت Aldrich تهیه شد. این مطالعه تجربی، روی موش های صحرایی نر با سن ۸-۱۰ هفته و وزن  $20 \pm 160$  گرم که از موسسه پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی مازندران تهیه شده بود، انجام شد. حیوانات در مرکز نگهداری حیوانات آزمایشگاهی در دانشکده داروسازی ساری تحت وضعیت کنترل شده (درجه حرارت بین ۲۰ تا ۲۵ درجه سانتی گراد) و روشنایی دوره ای ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، غذا و آب قرار گرفتند. موازین اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی، در طی انجام طرح رعایت شد.

حیوانات به طور تصادفی به ۷ گروه و به تعداد ۶ سر تقسیم و به مدت ۳۰ روز تیمار شدند. گروه اول روغن زیتون (حلال اندوسولفان و میریستین) و نرمال سالین (حلال سیکلوفسفامید) با دوز  $10 \text{ ml/kg}$ ، گروه دوم تا پنجم اندوسولفان با دوز  $10 \text{ mg/kg}$  و دوزهای مختلف از میریستین ( $5 \text{ mg/kg}$ ،  $10$ ،  $15$ ،  $20$ )، گروه ششم اندوسولفان تنها با دوز  $10 \text{ mg/kg}$  و گروه هفتم سیکلوفسفامید به عنوان کنترل مثبت با دوز  $10 \text{ mg/kg}$  به صورت داخل صفاقی دریافت کردند.

۲۴ ساعت پس از آخرین تزریق، موش ها با اتیل اتر بیهوش گشته و با سرنگ هپارینه حدوداً ۲ سی سی از قلب حیوانات خونگیری جهت اندازه گیری سطح آنزیم های آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آسپارات

این رادیکال ها می شوند و موجب کاهش عوارض برخوردار این رادیکال های آزاد با ماکرومولکول های حیاتی مانند DNA می گردند (۱۰). مواد بیولوژیک با منشأ گیاهی، به علت سهولت دسترسی، حداقل عوارض جانبی و قیمت مناسب، به عنوان جایگزینی شایسته برای داروهای صنعتی، همواره مورد بحث بوده و از چند دهه اخیر به طور خاص مورد توجه محققین قرار گرفته اند (۱۱).

میریستین (3, 5, 7, 3', 4', 5'-hexahydroxyflavone) یک فلاونوئید طبیعی است که در چای، قهوه، میوه و سبزیجات به وفور یافت می شود. کاربردهای درمانی مختلفی برای آن گزارش شده است که از آن جمله می توان به اثرات ضد ویروسی، ضد میکروبی و پیشگیری از تجمع پلاکتی اشاره کرد. هم چنین نشان داده شده است که میریستین دارای اثرات آنتی اکسیدانتی و محافظت سلولی است (۱۲). ساختار شیمیایی آن که دارای گروه های متعدد هیدروکسیل است، باعث ایجاد قدرت آنتی اکسیدانتی بالایی می شود، ضمن این که توانایی از بین بردن اکسی رادیکال ها را به نحو چشمگیری افزایش می دهد (تصویر شماره ۱) (۱۳).



تصویر شماره ۱: ساختار مولکولی میریستین

هر ساله، زراعت های بهاره و در سال های اخیر جالیز و صیفی جات در مناطق مختلف ایران در سطح وسیعی کشت می گردد، لذا از انواع سموم شیمیایی من جمله اندوسولفان به صورت گسترده استفاده می شود (۱۴). به سبب این که میریستین یک ماده طبیعی و گیاهی بی خطر و بدون عوارض جانبی می باشد و مطالعات قبلی نشان داده اند که این ماده به خوبی توانایی مهار شرایط اکسیداتیو را داراست، لذا با توجه به این که

شدند و با استفاده از نرم افزار SPSS 16 به صورت آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (One way ANOVA) تجزیه و تحلیل انجام شد. در مقایسه میانگین بین گروه‌ها،  $p < 0/05$  به عنوان سطح معنادار تلقی گردید.

## یافته ها

میانگین یافته‌های آزمایشگاهی حاصل از اثر محافظتی میریستین بر سمیت بیوشیمیایی اندوسولفان بر کبد موش صحرائی در جدول شماره ۱ نشان داده شده است.

در بین گروه‌های تحت مطالعه، سطح گلوکوتایون سرم در گروه کنترل بیش تر بوده و گروه دریافت کننده سیکلوفسفامید (شاهد) کم ترین مقدار را دارا می‌باشد. تزریق داخل صفاقی حاد اندوسولفان منجر به کاهش معنادار سطح گلوکوتایون سرم در گروه دریافت کننده اندوسولفان تنها در مقایسه با گروه کنترل شده است ( $P < 0/05$ )، که با تزریق میریستین ۳۰ دقیقه پس از دریافت اندوسولفان و نمونه برداری بعد از ۲۴ ساعت، افزایش معنی داری را در سطح گلوکوتایون سرم گروه‌های تحت مطالعه به دلیل اثرات حفاظتی نشان داده است ( $p < 0/05$ ). داده‌های جدول شماره ۱ نشان می‌دهد که تزریق اندوسولفان سبب افزایش معناداری در سطح آنزیم‌های سوپر اکسید دیسموتاز در بافت کبدی در مقایسه با گروه کنترل شده است ( $p < 0/05$ ) و مصرف میریستین سطح آن را تا ۱۴/۶۷ درصد کاهش داده است. نتایج حاصل از ارزیابی آنزیم‌های ALT، AST و

آمینوترانسفراز (AST)، آلکالن فسفاتاز (ALP) و سوپراکسید دیسموتاز صورت پذیرفت. پس از جراحی، کبد حیوان برای اندازه گیری گلوکوتایون خارج گردید. پس از سانتریفوژ نمونه‌های خونی، سرم آن‌ها جدا شد و سطح آنزیم‌های ALT، AST، ALP اندازه گیری شد. گلبول‌های قرمز باقیمانده با سرم فیزیولوژی ۹ درصد به نسبت ۱ به ۲ سه مرتبه شستشو داده شدند. سپس ۲ میلی لیتر آب دوبار تقطیر به گلبول‌های قرمز شستشو داده شده، اضافه گردید و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی گراد انکوبه شد. از همولیزات تهیه شده به منظور سنجش فعالیت آنزیم SOD به روش Woolliams و همکاران استفاده شد (۱۵).

جهت اندازه گیری گلوکوتایون احیاء به روش Elman، به ۰/۱ گرم از کبد موش، ۱ میلی لیتر EDTA افزوده شد و تحت هموژناسیون قرار گرفت. سپس ۰/۵ میلی لیتر دیگر EDTA و ۱/۵ میلی لیتر TCA ۱۰ درصد اضافه و به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد.

یک میلی لیتر از محلول رویی به لوله سانتریفیوژ دیگر منتقل گردید و ۲/۵ میلی لیتر بافر تریس ۰/۴ مولار و ۰/۵ میلی لیتر DTNB اضافه شد. لوله به آرامی تکان داده شده تا رنگ زرد یکنواختی در آن پدیدار گردد. در نهایت جذب محلول حاصل در طول موج ۴۲۱ نانومتر قرائت شد. با مقایسه جذب حاصل با منحنی استاندارد، غلظت گلوکوتایون محاسبه و بر اساس میکرومول بر هر گرم وزن کبد ارائه شد (۱۶).

داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار گزارش

جدول شماره ۱: اثر محافظتی میریستین بر میانگین پارامترهای بیوشیمیایی در آسیب کبدی ناشی از آندوسولفان در گروه‌های مختلف

گروه تیمار	پارامترهای بیوشیمیایی				
	SOD $\mu\text{mol/g}$	ALP U/L	AST U/L	ALT U/L	GSH $\mu\text{mol/g}$
کنترل (حلال)	۶۴/۶۶ $\pm$ ۳/۵۱	۱۵۳/۶۶ $\pm$ ۴/۵	۱۳۹ $\pm$ ۳	۸۵ $\pm$ ۴/۵۸	۱۱۴ $\pm$ ۹/۶
سیکلو فسفامید (شاهد)	۱۰۷ $\pm$ ۴/۵۸	۱۸۵/۳۳ $\pm$ ۶/۳۳	۱۶۹ $\pm$ ۲	۱۲۰/۳۳ $\pm$ ۱/۲۵	۵۰/۳۳ $\pm$ ۳/۵۱
اندوسولفان + میریستین ۵ mg/Kg	۸۳ $\pm$ ۳/۶	۱۸۷/۶۶ $\pm$ ۶/۰۲	۱۶۷/۳۳ $\pm$ ۲/۵۱	۱۰۲ $\pm$ ۱/۷۳	۸۳ $\pm$ ۳/۵۱
اندوسولفان + میریستین ۱۰ mg/Kg	۷۹/۳۳ $\pm$ ۳/۷۸	۱۷۱/۶۶ $\pm$ ۴/۰۵	۱۵۹/۶۶ $\pm$ ۲/۵۱	۹۷/۶۶ $\pm$ ۲/۵۱	۷۶/۶۶ $\pm$ ۴/۱۶
اندوسولفان + میریستین ۱۵ mg/Kg	۷۲/۶۶ $\pm$ ۲/۵۱	۱۶۹/۶۶ $\pm$ ۳/۵	۱۵۴/۶۶ $\pm$ ۳/۵۱	۹۵ $\pm$ ۳/۵۱	۸۵/۶۶ $\pm$ ۵/۲۹
اندوسولفان + میریستین ۲۰ mg/Kg	۶۹/۶۶ $\pm$ ۱/۵۲	۱۶۲ $\pm$ ۳/۰۶	۱۴۸/۳۳ $\pm$ ۳/۰۵	۸۵ $\pm$ ۱	۱۰۱/۳۳ $\pm$ ۵/۵۶
اندوسولفان	۸۴/۳۳ $\pm$ ۳/۰۵	۱۹۴ $\pm$ ۷/۵	۱۶۵/۳۳ $\pm$ ۴/۰۴	۱۱۱/۲۱ $\pm$ ۱	۷۱/۳۳ $\pm$ ۳/۰۱

ALP به عنوان بیومارکرهای سنجش آسیب عملکرد کبدی، نشان دهنده آسیب معناداری در بافت کبدی می‌باشد، به طوری که استفاده از میریستین با دوز ۲۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن همراه با اندوسولفان سبب کاهش سطح آنزیم AST به مقدار ۱۷ واحد، آنزیم ALT به میزان ۲۶/۲۱ واحد و آنزیم ALP ۳۲ واحد شده است ( $p < 0.05$ ). در حالی که مصرف میریستین با دوز ۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن اثر محافظتی ایده‌آلی را در برابر آسیب اندوسولفان نشان نداده است. بین گروه شاهد و گروه دریافت‌کننده اندوسولفان، تنها تفاوت معناداری در ایجاد آسیب کبدی وجود نداشت و در هر دو گروه نشان دهنده آسیب جدی بیوشیمیایی است. هم‌چنین استفاده از کمک حلال در روند آزمایش، هیچ‌گونه تداخلی را در اثر محافظتی میریستین نشان نداده است.

## بحث

در این پژوهش اثر محافظتی و آنتی‌اکسیدانی میریستین بر سطح گلوکوتایون احیا، سوپر اکسید دیسموتاز و آنزیم‌های کبدی شامل ALT، AST و ALP بررسی شد. اندوسولفان سبب کاهش معنادار سطح گلوکوتایون احیا و افزایش سطح سوپر اکسید دیسموتاز و آنزیم‌های ALT، AST و ALP شده است. تجویز میریستین همراه با اندوسولفان در گروه‌های تیمار سبب افزایش معنادار سطح گلوکوتایون و کاهش معنادار سطح سوپر اکسید دیسموتاز، آنزیم‌های ALT، AST و ALP نسبت به گروه دریافت‌کننده اندوسولفان تنها شد. سطح گلوکوتایون کبدی در موش‌های دریافت‌کننده دوزهای مختلف میریستین نزدیک به سطح آن در موش‌های گروه کنترل می‌باشد که نشان دهنده این است که به سطح نرمال نزدیک شده است. بنا به تحقیق صالحی و همکاران، تماس موش‌های صحرائی با سموم ارگانوفسفره، باعث کاهش سطح GSH و افزایش سطح SOD در گروه‌های مورد بررسی شده است که با یافته‌های

تحقیق ما همخوانی دارد (۱۷). اندوسولفان همانند دیگر آفت کش‌ها قادر به تولید رادیکال‌های آزاد است. Lajmanovich و همکاران نشان دادند که اندوسولفان با دوزهای ۱۰ g/l و ۵ و ۲/۵ در اریتروسیت، سمیت ژنتیکی ایجاد می‌کند و در دوزهای ۵ و ۱۰ g/l تعداد ریز هسته را نسبت به گروه کنترل به طور معناداری افزایش می‌دهد (۱۸). در مطالعات دیگر نیز اندوسولفان با دوزهای ۲-۱۰ mg/kg در روز، فعالیت سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و مالون دی‌آلدئید را به طور معناداری نسبت به گروه کنترل افزایش داد (۱۹، ۲۰). اندوسولفان قادر به تولید گونه‌های غیرفعال اکسیژن (ROS) بوده که سبب ایجاد آسیب در ژنوم، غشای سلولی و راه اندازی لیپید پراکسیداسیون می‌گردد. مالون دی‌آلدئید (MDA)، محصول لیپید پراکسیداسیون، با DNA تداخل نموده که باعث ایجاد شکست در رشته‌های DNA، و در نتیجه گسترش شکست‌های کروموزومال می‌گردد. در مطالعه‌ای دیگر که توسط عبدالهی و همکاران در دانشگاه تهران به منظور بررسی سموم ارگانوکلره و ارگانوفسفره بر فعالیت استیل کولین استراز انجام شد، متوجه تغییرات گسترده‌ای در این قسمت توسط هر دو گروه از آفت‌کش‌ها شدند که با تغییرات ایجاد شده توسط اندوسولفان در تحقیق ما همخوانی دارد (۲۱). Perez و همکاران با استفاده از روش میکرونوکلئوس، نشان دادند که اندوسولفان با ایجاد ژنوتوکسیسیته در گیاهان با دوز (۵ μg/l)، به طور معناداری تعداد ریز هسته را افزایش می‌دهد (۲۲).

ترکیبات آنتی‌اکسیدانت بسیاری از سوی محققین جهت پیشگیری از عوارض سمیت سلولی و استرس اکسیداتیو آفت‌کش‌ها پیشنهاد شده است. به طور مثال مصرف ۲۰۰ mg/kg ویتامین E، اثرات حفاظتی در برابر اندوسولفان در مدل‌های حیوانی نشان داده است (۲۳). از این میان، میریستین به عنوان یک ترکیب آنتی‌اکسیدان و محافظت سلولی با حداقل عوارض جانبی، در سال‌های اخیر بسیار مورد توجه قرار گرفته است. گزارش شده

مهار تولید هیدروژن پراکسید، پراکسیداسیون لیپیدی و فعالسازی JNK همراه است (۲۳).

نتایج حاصل از مطالعه انجام شده نشان می‌دهد که میریستین دارای فعالیت محافظت سلولی ایده آلی در مدل حیوانی بوده است. از آنجا که استان مازندران قطب کشاورزی بوده و سرطان کولون در آن بسیار شایع است، میریستین به عنوان یک مکمل پیشگیری کننده از سرطان ناشی از سموم کشاورزی و آفت کش‌ها قابل مصرف است. از این رو، انجام کارآزمایی‌های بالینی در جمعیت‌های مختلف انسانی و مدل‌های حیوانی بیش‌تر پیشنهاد می‌گردد.

### سپاسگزاری

این تحقیق با حمایت مالی معاونت تحقیقات و فن‌آوری دانشگاه علوم پزشکی مازندران به‌اجراء در آمده است.

است که میریستین به صورت وابسته به دوز، سطح مالون دی‌آلدئید ناشی از اشعه UVB را کاهش داده و در بهبود عفونت‌های باکتریایی و از بین بردن رادیکال‌های آزاد ایجاد شده در اندام‌های حیاتی موثر بوده است. به تازگی اثر جدیدی از آن در کاهش خطر ابتلا به دیابت نوع ۲ به ثبت رسیده است (۲۴، ۲۵).

فرحناکی و همکاران در مطالعه‌ای خواص آنتی‌اکسیدانی میریستین استخراج شده از میوه توت سیاه وحشی را اثبات نمودند (۲۶). در مطالعات دیگری میریستین، رادیکال‌های آزاد تولید شده ناشی از مصرف داروی هیدروکسی‌اوره را در بیماران با کم‌خونی سیکل سل کاهش داده است (۲۷). Wang و همکاران نیز اظهار داشتند که میریستین از طریق مهار ROS و فعال‌سازی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت، از آسیب DNA پیشگیری می‌کند (۱۲). اثرات محافظت سلولی میریستین را می‌توان به ساختار فلاوونوئیدی آن نسبت داد که با

## References

1. EPA. Federal Insecticide Fungicide and rodenticide act Compliance Monitoring. US Environmental Protection Agency. 2003
2. US EPA office of pesticide programs. FY Annual report. Washington DC: US Environmental Protection Agency. Available at: <http://www.epa.gov/oppfead1/annual/2002/2002annualreport.pdf>.
3. Jamil K, Shaik AP, Mahboob M, Krishna D. Effect of organophosphorus and organochlorine pesticides (monochrotophos, chlorpyriphos, dimethoate and endosulfan) on human lymphocytes in-vitro. Drug Chem Toxicol 2004; 27(2): 133-144.
4. Deema P, Thompson E, Ware GW. Metabolism, storage and excretion of C-endosulfan in the mouse. J Econ Entomol 2003; 59(3): 546-550.
5. Ayub S, Verma J, Das N. Effect of endosulfan and Malathion on lipid peroxidation, nitrite and TNF-alpha release by rat peritoneal macrophages. Int Immunopharmacol 2003; 3(13-14): 1819-1828.
6. Naserian R. Study of phyto chemical and antibacterial effect of Myrtus communis PhD thesis Pharmacy. Shiraz, Shiraz Medical University; 1997. (Persian).
7. Sirmali M, Efkani U, Sirmali R, Aynur K, Yilmaz R, Altuntas IR, et al. Protective Effects of Erdosteine and Vitamins C and E Combination on Ischemia-Reperfusion-Induced Lung Oxidative Stress and Plasma Copper and Zinc Levels in a Rat Hind Limb Model. Biol Trace Elem Res 2007; 118(1): 43-52.
8. Mirzaei R, Allameh A, Mortazavi B, Khavanin A, Kamalian N. Effect of loud noise on oxidation and lipid peroxidation variation of liver tissue of rabbit. Tabibe-

- Shargh 2009; 11(2): 11-17 (Persian).
9. Griffith O W. Determination of glutathione and glutathione disulfide using glutathione Reductase and 2-vinylpyridine. *Anal Biochem* 1980; 106(1): 207-212.
  10. Proctor PH, Reynolds ER. Free radicals and disease in man. *Physiol Chem Phys Med NMR* 1984; 16(3): 175-195.
  11. Ha KT, Yoon SJ, Choi DY, Kim DW, Kim JK, Kim CH. Protective effect of Lycium chinense fruit on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity. *J Ethnopharmacol* 2005; 96(3): 529-535.
  12. Wanga ZH, Kanga KA, Zhanga R, Piao MJ, Job SH, Kim JS, et al. Myricetin suppresses oxidative stress-induced cell damage via both direct and indirect antioxidant action. *Environ Toxicol Pharmacol* 2010; 29(1): 12-18.
  13. Delgado ME, Haza AI, García A, Morales P. Myricetin, quercetin, (+)-catechin and (-)-epicatechin protect against N-nitrosamines-induced DNA damage in human hepatoma cells. *Toxicol In Vitro* 2009; 23(7): 1292-1297.
  14. Ranjbar A, Pasalar P, Abdollahi M. Induction of oxidative stress and acetylcholinesterase inhibition in organophosphorous pesticide manufacturing workers. *Hum Exp Toxicol* 2002; 21(4): 179-182.
  15. Wooliams JA, Wiener G, Anderson PH, Mc Murray CH. Variation in the activities of glutathione peroxidase and superoxide dismutase and in the concentration of copper in the blood in various breed crosses of sheep. *Res Vet Sci* 1983; 34(3): 253-256.
  16. Ellman GL. Tissue sulfhydryl groups. *Arch Biochem Biophys* 1959; 82(1): 70-77.
  17. Salehi M, Jafari M S, Saleh-Moqadam M, Asgari A. The Comparison of the Effect of Diazinon and Paraoxon on Biomarkers of Oxidative Stress in Rat Serum *ZJRMS* 2012, 14(3): 18-23.
  18. Lajmanovich RC, Cabagna M, Peltzer PM, Stringhini GA, Attademo AM. Micronucleus induction in erythrocytes of the *Hyla pulchella* tadpoles (Amphibia: Hylidae) exposed to insecticide endosulfan. *Mutat Res* 2005; 587(1-2): 67-72.
  19. Lawrence E and Isioma T. Acute toxic effects of Endosulfan and Diazinon pesticides on adult amphibians (*Bufo regularis*). *J Environ Chem Ecotoxicol* 2010; 2(5): 73-78.
  20. Siang H Y, Yee L M, Seng C T. Acute toxicity of organochlorine insecticide endosulfan and its effect on behaviour and some hematological parameters of Asian swamp eel (*Monopterus albus*, Zuiew). *Pest Biochem Physiol* 2007; 89(1): 46-53.
  21. Abdollahi M, Mostafalou S, Pournourmohammadi S, et al. Oxidative stress and cholinesterase inhibition in saliva and plasma of rats following subchronic exposure to malathion. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol* 2004; 137(1): 29-34.
  22. Perez DJ, Menone ML, Camadro EL, Moreno VJ. Genotoxicity evaluation of the insecticide endosulfan in the wetland macrophyte *Bidens laevis* L. *Environ Pollut* 2008; 153(3): 695-698.
  23. Takhshid M A, Tavasuli A R, Heidary Y, Keshavarz M, Kargar H. Protective Effect of Vitamins E and C on Endosulfan-Induced Reproductive Toxicity in Male Rats. *Iran J Med Sci.* 2012; 37(3): 173-180.
  24. Huang JH, Huang CC, Fang JY, Yang C, Chan CM, Wu NL, et al. Protective effects of myricetin against ultraviolet-B-induced damage in human keratinocytes. *Toxicol In Vitro* 2010; 24 (1): 21-28.

25. Liu IM, Tzeng TF, Liou SS, Lan TW. Myricetin, a naturally occurring flavonol, ameliorates insulin resistance induced by a high-fructose diet in rats. *Life Sciences* 2007; 81(21-22): 1479–1488.
26. Farahnaki A, Shahidi B, Kalantari M. Phytochemical profile and antioxidant activity of wild blackberry fruit. *The first National Conference snack foods*. 2014, 30Apr-1May, Iran. Mashad;2014.
27. Henneberg R, Otuki M F, Ferreira Furman A E, Hermann P et al. Protective effect of flavonoids against reactive oxygen species production in sickle cell anemia patients treated with hydroxyurea. *Rev Bras Hematol Hemoter* 2013; 35(1): 52-55.