

## *The Protective Effect of Vitamin A, C, and E on the Superoxide Dismutase Enzyme Activity in Rat Erythrocytes Exposed to Diazinon*

Mohammad Shokrzadeh<sup>1</sup>,  
Sakine Sadat Hosseini Payam<sup>2</sup>,  
Mehryar Zargari<sup>3</sup>,  
Ali Abasi<sup>4</sup>,  
Saeed Abedian<sup>5</sup>,  
Isa Layali<sup>6</sup>,  
Amir Shadborestan<sup>2</sup>,  
Mahmood Omid<sup>2</sup>,  
Elham Ahmadi Basiri<sup>7</sup>

<sup>1</sup> Pharmacological Sciences Research Center, Department of Toxicology & Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

<sup>2</sup> M.Sc Student in Toxicology, Student Research Committee, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

<sup>3</sup> Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

<sup>4</sup> Pathologist, Forensic Medicine, Mazandaran, Sari, Iran

<sup>5</sup> Department of Immunology and Microbiology, Diabetic Research Center, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

<sup>6</sup> Department of Biochemistry, Islamic Azad University, Sari, Iran

<sup>7</sup> M.Sc Student in Biostatistics, Faculty of Health, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received December 17, 2011 ; Accepted February 12, 2012)

### **Abstract**

**Background and purpose:** Diazinon is an organo-phosphate insecticide used for pest control in the agricultural fields and gardens. It is easily absorbed through intestine, respiratory system and skin and is metabolized in the liver to diazoxon which is more toxic. This study aimed at examining the effect of diazinon on superoxide dismutase enzyme activity in rat erythrocyte and investigating the effect of antioxidant vitamins.

**Materials and methods:** In this study, Wistar rats were divided into 9 groups. The groups were administered normal saline, soybean oil, diazinon (30 mg/kg), vitamins E, C, A (100 mg/kg, 500 mg/kg, 400 IU/kg, respectively) and combination of diazinon with the mentioned doses of each vitamin intraperitoneally (IP) for 14 days. Seven days after the last injection, the rats were anesthetized and one ml of blood was taken from their heart; erythrocytes were aspirated and lysed. Hemolysis was used to measure superoxide dismutase enzyme activity. Data analysis was run using SPSS and the differences between the groups were analyzed applying Kruskal-Wallis and Mann Whitney tests at the significance level of 0.05

**Results:** The activity of superoxide dismutase enzymes was significantly higher in the diazinon-exposed group in comparison to the control group ( $P= 0.008$ ). Diazinon/vitamin groups displayed a significantly increased level of enzyme activity compared to the control group ( $P= 0.005$ ), as well.

**Conclusion:** Diazinon increases the production of superoxide free radicals which in turn leads to oxidative stress. Vitamins, as non-enzymatic antioxidants, are probably effective in reducing the levels of free radicals and restoring antioxidants enzymes.

**Key words:** Diazinon, superoxide dismutase, oxidative stress, vitamin E, C, A

J Mazand Univ Med Sci 2012; 22(Supple 1): 30-38 (Persian).

# بررسی اثر محافظتی ویتامین‌های E، C و A بر فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز در گلبول‌های قرمز موش صحرایی مواجهه یافته با سم دیازینون

محمد شکرزاده<sup>۱</sup>سکینه سادات حسینی پیام<sup>۲</sup>مهریار زرگری<sup>۳</sup>علی عباسی<sup>۴</sup>سعید عابدیان<sup>۵</sup>عیسی لیالی<sup>۶</sup>امیر شادبورستان<sup>۲</sup>محمود امیدی<sup>۲</sup>الهام احمدی باصیری<sup>۷</sup>

## چکیده

**سابقه و هدف:** دیازینون یک حشره کش ارگانوفسفره است که برای کنترل آفات در مزارع کشاورزی و باغات استفاده می‌شود. دیازینون به آسانی از جداره روده، سیستم تنفسی و پوست جذب شده و در کبد به دیازکسون که سمی تر است متابولیزه می‌شود. هدف از این مطالعه، بررسی اثر دیازینون به صورت مزمن بر فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز اریتروسیت موش صحرایی و تأثیر مصرف ویتامین‌های آنتی اکسیدانت می‌باشد.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه از موش‌های صحرایی که به ۹ گروه تقسیم شدند استفاده شد. گروه شاهد (نرمال سالین)، کنترل (روغن سویا)، دیازینون (۳۰ mg/kg)، ویتامین‌های E، C و A (به ترتیب با دوزهای ۱۰۰ mg/kg، ۵۰۰ mg/kg و ۴۰۰ IU/kg) و سه گروه دیگر ترکیبی از دیازینون و هر یک از ویتامین‌ها را با مقادیر ذکر شده به صورت داخل صفاقی به مدت ۱۴ روز دریافت کردند. ۷ روز بعد از آخرین تزریق حیوانات بیهوش شدند و یک میلی لیتر خون از قلب آن‌ها گرفته شد. گلبول‌های قرمز خون جدا و لیز شد. از همولیزات برای سنجش فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز استفاده شد. اطلاعات با استفاده از رایانه وارد نرم‌افزار SPSS گردید. سپس با آزمون‌های آماری کراسکال والیس و من ویتنی با سطح معنی داری ۰/۰۵ آزمون تفاوت بین گروه‌ها مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

**یافته‌ها:** فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز در گروه دیازینون نسبت به گروه کنترل ( $p=0/008$ ) و گروه‌های دیازینون + ویتامین‌ها نسبت به گروه کنترل ( $p=0/005$ ) افزایش معنی داری داشته است.

**استنتاج:** دیازینون منجر به افزایش تولید رادیکال‌های آزاد سوپر اکسید و در نتیجه استرس اکسیداتیو می‌شود. احتمالاً ویتامین‌ها به عنوان آنتی اکسیدانت‌های غیر آنزیمی در کاهش سطح رادیکال‌های آزاد و احیاء آنزیم‌های آنتی اکسیدانت موثر واقع می‌شوند.

**واژه‌های کلیدی:** دیازینون، سوپر اکسید دیسموتاز، استرس اکسیداتیو، ویتامین‌های E، C و A

## مقدمه

حشره کش‌های ارگانوفسفره گروه عمده‌ای از حشره کش‌های شیمیایی هستند که امروزه در جهان به طور گسترده استفاده می‌شوند (۱). این گروه از حشره کش‌ها علاوه بر استفاده در مزارع کشاورزی و باغات، در مناطق

E-mail: hosini.payam@yahoo.com

مؤلف مسئول: سکینه سادات حسینی پیام - ساری، کیلومتر ۱۸ جاده خزر آباد، مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم، دانشکده داروسازی

۱. مرکز تحقیقات علوم دارویی، گروه سم شناسی / فارماکولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران

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

۳. گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران

۴. پاتولوژیست، پزشکی قانونی مازندران

۵. گروه ایمنی شناسی و میکروبی شناسی، مرکز تحقیقات دیابت، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران

۶. گروه بیوشیمی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری

۷. دانشجوی کارشناسی ارشد آمار زیستی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی مازندران

تاریخ دریافت: ۹۰/۹/۲۶ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۹۰/۱۰/۲۶ تاریخ تصویب: ۹۰/۱۱/۲۳

مسکونی نیز برای کنترل آفات، حفاظت از بهداشت عمومی، صنعت و دامپزشکی نیز به کار گرفته می شوند (۳،۲). سموم ارگانوفسفره به طور عمومی سمیت بالای دارند و مهم ترین عامل بیماری و مرگ و میر ناشی از مسمومیت ها در کشورهای جهان سوم هستند (۴). دیازینون از مهم ترین حشره کش های ارگانوفسفره است که برای کنترل انواع حشرات در کشاورزی استفاده شده است. دیازینون در محیط های آبی به سرعت تجزیه می شود ولی ممکن است نیمه عمر آن در خاک های معدنی هوازی بیش از یک ماه باشد (۵،۱).

این ترکیب به آسانی و به سرعت در طی چند ساعت از روده جذب می شود (۶). همچنین از طریق تماس پوستی و تنفسی نیز جذب شده و به سرعت در زمان کوتاهی در کبد به دیازوکسون متابولیزه می شود. بیشتر ترکیبات ارگانوفسفره در کبد توسط سیستم سیتوکروم P450 از طریق دسولفوراسیون اکسیداتیو به متابولیت فعال سمی تبدیل می شوند (۷).

مکانیسم شناخته شده ارگانوفسفره ها مهار آنزیم استیل کولین استراز در پایانه های سیناپسی سمپاتیک و پاراسمپاتیک و در نتیجه، تجمع نوروترانسمیتر استیل کولین در سیناپس های عصبی و تحریک بیش از حد گیرنده های کولینرژیک نیکوتینی و موسکارینی است (۹،۸). ارگانوفسفره ها از جمله دیازینون با فسفریله کردن پروتئین های هسته (پروتامین) باعث تغییراتی در ساختار کروماتین و DNA اسپرم در طی مراحل اسپرماتوزن می شود و همچنین در بافت بیضه نفوذ کرده و باعث کاهش وزن و قطر بیضه، کاهش قطر لوله های منی بر، کاهش حرکت و بقاء اسپرم، کاهش سلول های ژرمینال، لایدیگ، سرتولی و تغییر کیفیت منی می شود. در نهایت تولید اسپرم را کاهش داده و تعداد اسپرم غیر طبیعی را افزایش می دهد (۱۰). در تخمدان نیز باعث نکروزه شدن بافت آن و کاهش قابل توجهی در تعداد فولیکول های گر آف و افزایش فولیکول های آترتیک و کاهش وزن تخمدان می شود (۱۱). دیازینون بر روی هورمون های جنسی

نیز اثر کرده، سطح LH و FSH را افزایش و سطح تستوسترون را به طور معنی داری کاهش می دهد (۱۰). دیازینون ممکن است باعث جهش در ژن ها، تخریب کروموزوم، اثر منفی بر تمایز سلولی و القای مرگ سلولی، توقف تقسیم میتوزی در سلول های جنین و کاهش سنتز DNA شود (۱۰) از طرف دیگر دیازینون به خاطر تاثیر بر فعالیت سیستم آندوکراین و بیان ژن تنظیم کننده آن ها اثرات زیان آور شامل تغییر فاکتورهای خونی (HCT, Hb, RBC) و تغییر سطح گلوکز خون در اثر مواجهه را ایجاد می کند (۱۱). اثرات مخرب ترکیبات ارگانوفسفره به این موارد محدود نمی شود، بلکه تاثیرات غیر کولینرژیکی مانند آسیب به غشاهای سلول، تولید رادیکال آزاد و اختلال در سیستم آنتی اکسیدانت نیز مشاهده شده است (۷). یکی از مکانیسم هایی که بسیار مورد توجه قرار گرفته است، تولید رادیکال های آزاد توسط این ترکیبات و به دنبال آن تغییر در سیستم آنتی اکسیدانت سلول و پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء می باشد (۱۲). تحقیقات نشان داده است حشره کش های ارگانوفسفره موجب افزایش تولید گونه های فعال اکسیژن (ROS) شده و رادیکال های اکسیژن فعال با پراکسیداسیون لیپیدها باعث صدمه به غشاء سلولی و مرگ سلول می شوند (۱۳). گونه های اکسیژن فعال مانند آنیون سوپر اکسید و هیدروژن پراکسید و رادیکال هیدروکسیل ترکیبات فعالی هستند که می توانند به لیپیدها، DNA، اسیدهای نوکلئیک و پروتئین ها صدمه زده و ممکن است باعث تغییرات ژنتیکی شوند. همچنین استرس اکسیداتیو ایجاد شده در اثر ترکیبات ROS باعث کاهش گلووتاتیون در کلیه و صدمات کلیوی می شود (۱۴). گونه های اکسیژن فعال همچنین باعث اختلال در مورفولوژی، بقاء، تحرک و عملکرد اسپرم شده و با تسریع مراحل مرگ سلول های جنسی باعث کاهش تعداد اسپرم و قدرت باروری در جنس نر می شوند (۱۵،۱۶). بنابراین بدن باید بتواند اینگونه رادیکال ها را احیاء و حذف کند (۱۷،۱۸). سلول ها به وسیله آنتی اکسیدانت های

آنزیمی و غیر آنزیمی می توانند این صدمات را کاهش دهند (۱۸).

اثرات مضر احتمالی ترکیبات ROS از طریق سیستم حمایتی آنتی اکسیدانت سلولی شامل آنزیم هایی مانند سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و کاتالاز (CAT) خنثی می شود (۱۹). مجموعه آنزیمی سوپر اکسید دیسموتاز و کاتالاز اولین خط دفاعی سلول در برابر سمیت ناشی از رادیکال های آزاد می باشد آنزیم SOD باعث تبدیل رادیکال سوپر اکسید به  $H_2O_2$  می شود (۲۰). افزایش فعالیت SOD یک سیستم جبرانی در برابر اثر حشره کش ها بر روی سلول ها می باشد و مقدار این افزایش وابسته به دو عامل بوده که شامل وسعت استرس اکسیداتیو ایجاد شده و پاسخ انطباقی سلول به افزایش رادیکال های آزاد است (۱۸). خصوصیت مهم این آنزیم، قابل القاء بودن آن تحت شرایط استرس اکسیداتیو می باشد (۲۱).

در مواردی که در اثر مواجهه با غلظت های بالای رادیکال های آزاد کمبود آنزیم های آنتی اکسیدانت در بدن مشاهده می شود مصرف آنتی اکسیدانت های غیر آنزیمی مانند برخی از ویتامین ها توانایی بدن را در حذف رادیکال ها بالا می برد (۲۲). از بین ویتامین ها، ویتامین E، C و A به عنوان عوامل آنتی اکسیدانت شناخته شده اند برخی از مطالعات نشان داده است که این ویتامین ها باعث مهار رادیکال های آزاد شده و می توانند اثرات سمیت ناشی از ارگانو فسفرها را بهبود بخشند (۲۳-۲۵). ویتامین E از خانواده ویتامین های محلول در چربی بوده و از غشاء سلول و لیپوپروتئین ها در برابر پراکسیداسیون محافظت می کند (۲۳، ۲۶). چندین مطالعه دیگر نشان داده است ویتامین E از طریق مهار رادیکال های آزاد نیز می تواند به طور موثری از عمل پراکسیداسیون در سیستم های بیولوژیکی جلوگیری کند (۲۳). تایید مطالعه سوزان جون<sup>۱</sup> و همکاران نیز نشان داد ویتامین E استرس اکسیداتیو ناشی از مالاتیون و دی متوات در

اریتروسیت ها را کاهش می دهد (۲۷). ویتامین C یک آنتی اکسیدانت با وزن مولکولی پایین و موثر در فاز آبی است که از قسمت های مختلف سلول در برابر رادیکال های آزاد اکسیژن و نیتروژن محلول در آب حفاظت می کند (۲۸). ترکیب ویتامین E و C باعث کاهش پراکسیداسیون لیپیدها می کند و همچنین فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانت را احیاء می کند (۱۸).

طیف وسیعی از اثرات متفاوت برای ترکیبات ارگانو فسفره گزارش شده است. در مطالعه فورتانو<sup>۲</sup> و همکاران و همچنین عبداللهی به دنبال تجویز خوراکی مالاتیون به موش صحرایی تغییر فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانت نظیر سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) و کاتالاز (CAT) و افزایش پراکسیداسیون لیپیدها در اریتروسیت ها، بزاق، پلاسما و نواحی مختلف مغز مانند هیپوکامپ و کورتکس مشاهده شده است (۲۹، ۳۰). در مطالعه سوزان جون و همکاران مشخص شد فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز در اریتروسیت های موش صحرایی مواجهه یافته با ارگانو فسفرها افزایش یافته است (۲۷). از طرف دیگر، در مطالعه اثر کلرپیریفوس و سیپرترین بر کبد موش کوچک آزمایشگاهی، افزایش غلظت های سرمی شاخص های عملکرد کبدی (AST، ALT، ALP) و کاهش آنزیم های آنتی اکسیدان (SOD، CAT، GSH، GST، GR، GPX) گزارش شده است (۳۱). تفاوت در نوع ترکیب و گونه مورد بررسی، مقدار و زمان مواجهه، وجه تمایز مطالعات مختلف می باشد. به دلیل تنوع استخلاف ها در ساختمان شیمیایی ارگانو فسفرها و اثرات متفاوت بر روی بافت های مختلف، مطالعات تکمیلی جهت درک مکانیسم عمل این ترکیبات ضروری است. هدف از مطالعه حاضر، بررسی اثر تجویز دیازینون به صورت مزمن بر شاخص های استرس اکسیداتیو و تأثیر مصرف ویتامین های آنتی اکسیدانت بر اریتروسیت موش صحرایی می باشد.

2. Fortunato

1. Susan John

## مواد و روش ها

### مواد شیمیایی و دستگاه ها

مواد شیمیایی مورد استفاده، شامل سم دیازینون (به فرم تکنیکال با خلوص ۹۶ درصد، ساپلکو<sup>۱</sup> ایلات متحده) از شرکت گل سم استان گلستان تهیه شد و در روغن سویا حل و به صورت صفاقی در مقدار غیرکشنده با توجه به میزان LD<sub>50</sub> تزریق شد. ویتامین های A، E و C از شرکت سیگما تهیه شد و با دوز مناسب توسط حلال روغن سویا (برای ویتامین های A و E) به گروه های مورد مطالعه (با سم بعد از تزریق دیازینون) به صورت صفاقی و روزانه به حیوان تزریق شد. دیگر مواد شیمیایی مورد نیاز با خلوص بالا از شرکت مرک یا سیگما خریداری شد. از دستگاه اسپکتروفتومتری دو شعاعی مدل SHIMADZU -UV 1800 ساخت کشور ژاپن جهت قرائت جذب ها در طول موج ۵۰۵ نانومتر استفاده شد.

### مطالعه حیوانی

این مطالعه روی موش های صحرایی نر نژاد ویستار با محدوده وزنی  $10 \pm 180$  گرم و سن ۸ هفته که از انستیتو پاستور خریداری شده بود انجام شد. حیوانات در مرکز نگهداری حیوانات آزمایشگاهی در دانشکده داروسازی ساری تحت شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، غذا و آب قرار گرفتند. موازین اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی، هنگام کار با حیوانات رعایت شد.

### تیمار حیوانات

حیوانات به طور تصادفی به ۹ گروه (در هر گروه ۵ سر) تقسیم شدند. گروه شاهد نرمال سالین (۵ ml/kg)، گروه کنترل روغن سویا (به عنوان حلال دیازینون و ویتامین های محلول در چربی با دوز ۱۰ mg/kg)، گروه سوم سم دیازینون به میزان

LD<sub>50</sub> ۱/۲ (تقریباً ۳۰ mg/kg bw (۳۲،۱۰)، گروه چهارم ویتامین E به میزان ۱۰۰ mg/kg bw (۲۵)، گروه پنجم ویتامین C به میزان ۵۰۰ mg/kg bw (۲۵)، گروه ششم ویتامین A به میزان ۴۰۰ IU/kg bw (۳۳)، گروه هفتم دیازینون و ویتامین E، گروه هشتم دیازینون و ویتامین C و گروه نهم دیازینون و ویتامین A (به میزان های ذکر شده فوق)، به صورت صفاقی به مدت ۱۴ روز دریافت کردند. سپس ۷ روز بعد از آخرین تزریق ۱ میلی لیتر خون با سرنگ هپارینه از قلب حیوانات گرفته شد و به لوله آزمایش انتقال یافت. نمونه ها در ۳۵۰۰ دور به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد و پلاسما آن جدا گردید. گلبول های قرمز باقی مانده با سرم فیزیولوژی ۹ درصد به نسبت ۱ به ۲ برای ۳ مرتبه شستشو داده شد. سپس ۲ میلی لیتر آب دو بار تقطیر به گلبول های قرمز شستشو داده شده اضافه شد و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی گراد انکوبه شد تا گلبول ها لیز شوند. از همولیزاتی که به این ترتیب تهیه شد برای سنجش آنزیم SOD استفاده شد. نکته مهم این که در هیچ گروهی حیوان تلف شده در طول مطالعه وجود نداشت.

### سنجش فعالیت آنزیم SOD

برای سنجش فعالیت آنزیم SOD به روش Woolliams<sup>۱</sup> و همکاران از کیت سنجش SOD (راندوکس RanSOD آلمان) استفاده شد (۳۴).

### تجزیه و تحلیل داده ها

اطلاعات حاصل از گروه های مورد مطالعه ابتدا توسط رایانه وارد نرم افزار نسخه ۱۸ spss گردید و سپس با استفاده از آزمون آماری ناپارامتریک، کراسکال-والیس مقایسه بین میانگین و انحراف از معیار گروه ها به عمل آمد و همچنین در داخل گروه ها از آزمون من ویتنی استفاده شد که  $p < 0.05$  به عنوان معنی دار در نظر گرفته شد.

1. Supelco

## یافته ها

در این مطالعه اثر دیازینون و ویتامین های E، C و A بر فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز در گلبول های قرمز موش صحرایی مورد بررسی قرار گرفت. مقایسه میانگین فعالیت SOD در گروه های تحت آزمایش با استفاده از آزمون آماری کراسکال-والیس در سطح ۰/۰۵ معنی دار شد ( $p=0/017$ ) سپس برای مقایسه میانگین بین گروه ها از آزمون آماری من ویتنی استفاده شد. در جدول شماره ۱ فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز در گروه های مختلف به صورت میانگین و انحراف معیار نشان داده شده است. فعالیت آنزیم SOD در گروه دریافت کننده دیازینون ( $503/7 \pm 46/3$ ) نسبت به گروه دریافت کننده روغن سویا (گروه کنترل  $285 \pm 55$ ) افزایش معنی داری داشته است ( $p=0/008$ ). فعالیت این آنزیم در گروه مواجهه یافته با دیازینون در مقایسه با گروه های که ویتامین های E، C، A (به ترتیب  $307/3 \pm 46/1$ ،  $306/2 \pm 84/3$ ،  $295/0 \pm 145/2$ ) را به تنهایی دریافت نمودند نیز افزایش معنی داری نشان داد ( $p=0/008$ ). با استفاده از آزمون آماری من ویتنی نشان داده شد فعالیت آنزیم SOD در گروه های که دیازینون را همراه ویتامین های E، C و A دریافت کرده اند نسبت به گروه روغن سویا (گروه کنترل) افزایش معنی داری داشته است ( $p=0/005$ ). همچنین فعالیت آنزیم SOD در

جدول شماره ۱: میانگین فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز (SOD)

در حیوانات مورد مطالعه

| گروه های            | تعداد نمونه | میانگین فعالیت آنزیم SOD (U/ml) * |
|---------------------|-------------|-----------------------------------|
| تحت آزمایش          | در هر گروه  | (Mean $\pm$ SD)                   |
| نرمال سالین         | ۵           | $201/8 \pm 25$                    |
| روغن سویا           | ۵           | $285/0 \pm 55$                    |
| دیازینون            | ۵           | $503/7 \pm 46/3$                  |
| ویتامین E           | ۵           | $295/0 \pm 145/2$                 |
| ویتامین C           | ۵           | $306/2 \pm 84/3$                  |
| ویتامین A           | ۵           | $307/3 \pm 46/1$                  |
| دیازینون+ ویتامین E | ۵           | $355/2 \pm 67/2$                  |
| دیازینون+ ویتامین C | ۵           | $420/6 \pm 70/8$                  |
| دیازینون+ ویتامین A | ۵           | $415/2 \pm 101/2$                 |

\* میزان فعالیت SOD در گروه های تحت آزمایش با روش آزمون کروسکال والیس و در سطح معنی داری ۰/۰۵ آزمون شد ( $p=0/017$ ).

گروه های که ترکیب دیازینون و هر یک از ویتامین ها ( $415/2 \pm 101/2$ ،  $420/6 \pm 70/8$ ،  $355/2 \pm 67/2$ ) را دریافت کردند در مقایسه با گروه های که ویتامین ها را به تنهایی دریافت کردند افزایش معنی داری داشته است ( $p=0/005$ ). میانگین فعالیت SOD در گروه دریافت کننده دیازینون در مقایسه با گروه هایی که ترکیب سم و ویتامین ها را دریافت کرده اند تفاوت معنی داری نداشت.

## بحث

همان گونه که در بخش نتایج مطالعه حاضر قید شد بین فعالیت آنزیم SOD و سم دیازینون ارتباط وجود دارد و تجویز این سم باعث افزایش معنی داری در فعالیت آنزیم SOD در گلبول های قرمز موش صحرایی در مقایسه با گروه های دریافت کننده روغن سویا و گروه های دریافت کننده ویتامین ها گردید. همچنین فعالیت آنزیم SOD در گروه های که با سم و ویتامین های E، C و A همزمان (نیم ساعت بعد از تجویز سم) مواجهه داشتند نسبت به گروه های که تنها ویتامین و یا حلال ویتامین (روغن سویا) را دریافت نمودند افزایش معنی داری داشته است. طبق نتایج جدول شماره ۱ در گروه هایی که ترکیب سم و ویتامین را دریافت کرده اند نسبت به گروهی که تنها سم دریافت کرده است میانگین فعالیت آنزیم SOD کاهش پیدا کرده است. هر چند این کاهش از نظر آماری معنی دار نیست ولی احتمال داده می شود تجویز ویتامین های آنتی اکسیدانت مقداری از اثرات دیازینون را اصلاح کرده باشد. Kaur و همکاران نشان دادند که مصرف کلروپیریفوس در موش ها، فعالیت SOD را به طور معنی داری در اریتروسیت ها افزایش می دهد (۳۵). همچنین مطالعه غنی و همکارانش نشان داد که مصرف پاراکسون به صورت داخل صفاقی در موش صحرایی بعد از ۴ ساعت موجب افزایش فعالیت آنزیم های SOD دریافت مغز می گردد (۳۶). در مطالعه Yamamoto و همکاران مشاهده شد مواجهه پروانه ابریشم با دیازینون

قرمز موش صحرایی شده و رادیکال‌های سوپراکسید با پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء منجر به مرگ گلبول‌ها و در نتیجه استرس اکسیداتیو می‌شوند. گلبول‌ها با افزایش فعالیت آنزیم SOD ظرفیت سم‌زدایی خود را بالا برده و از این طریق رادیکال‌های سوپراکسید را به پراکسید هیدروژن که خاصیت اکسیداتیو کمتری دارد تبدیل می‌کنند. پراکسید هیدروژن نیز خود از عوامل اکسیدانت است و باعث صدمه به سلول‌ها و بافت‌ها می‌شود. آنزیم کاتالاز که از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت بدن است پراکسید هیدروژن را به آب و اکسیژن شکسته و اثر آن را خنثی می‌کند. بنابراین پیشنهاد می‌شود با توجه به وجود تناقض در اثرات سموم مختلف حشره کش در ارگان‌های متفاوت بدن تمرکز مطالعات بعدی بر روی تفاوت‌های ساختاری سموم و تاثیر آن بر مکانیسم سمیت آن‌ها پایه‌گذاری شود.

### سپاسگزاری

این طرح تحقیقاتی با حمایت مالی اداره کل پزشکی قانونی استان مازندران به شماره ثبت ۹۲۳۹۵/پ مورخه ۱۴۰۲/۹۰ اجرایی گشته و بدینوسیله از تمامی همکاران پزشکی قانونی که ما را در اجرایی شدن این پروژه یاری نموده‌اند کمال تشکر را داریم.

### References

1. GarWtt SJ, Jones K, Mason HJ, Cocker J. Exposure to the organophosphate diazinon: data from a human volunteer study with oral and dermal doses. *Toxicol Lett* 2002; 134(1-3): 105-113.
2. Bonilla E, Hernandez F, Corte SL, Mendoza M, Mejla J, Carrillo E, et al. Effects of the Insecticides Malathion and Diazinon on the Early Oogenesis in Mice In Vitro. *Environ Toxicol* 2008; 23(2): 240-245.
3. Hoffman U, Papendrof T. Organophosphate poisonings with parathion and diamethoate. *Intensive Care Med* 2006; 32(3): 464-468.
4. Peter JV, Cherian AM. Organic insecticides. *Anaesth Inte Care* 2000; 28(1): 11-21.
5. Ahmadi S, Jafari M, Asgari AR, Salehi M. Acute effect of diazinon on the antioxidant system of rat's heart tissue. *Kowsar Med J* 2011; 16(2): 87-93 (Persian).
6. Ogutcu A, Uzunhisarcikli M, Kalender S, Ahmed U, Papendrof T. Organophosphate poisonings with parathion and diamethoate. *Intensive Care Med* 2006; 32(3): 464-468.

باعث افزایش RNA پیامبر کد کننده SOD می‌شود (۱۷). مطالعه Ahmed و همکاران نشان داد مالاتیون باعث افزایش فعالیت SOD و CAT در اریتروسیت‌ها شده و زنجییل به عنوان آنتی‌اکسیدانت در رژیم غذایی کاهش مهمی در فعالیت این آنزیم‌ها در موش‌های مواجهه یافته داده است (۳۷). Akturk نیز نشان داد فعالیت آنزیم SOD در بافت قلب موش‌های مواجهه یافته با دیازینون افزایش یافته است. همچنین در همین آزمایش نشان داد تجویز ویتامین E و C باعث احیاء مختصر فعالیت این آنزیم شده است (۱۸). از طرف دیگر در بعضی از مطالعات به دنبال تجویز ترکیبات آفت کش، کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت گزارش شده است. Fetoui و همکاران با مطالعه اثر LTC (Lambda-Cyhalothrin) که نوعی حشره کش است، کاهش فعالیت SOD را در مغز و اریتروسیت‌های موش و افزایش MDA را گزارش نمودند (۳۸). Yu نشان داد که کلروپیریفوس باعث کاهش فعالیت آنزیم‌های SOD و CAT شبکه چشم موش‌ها می‌شود (۳۹). اختلاف نتایج در مطالعات مختلف ناشی از نوع، نژاد و گونه حیوان، نوع بافت، مسیر تجویز ماده سمی، دوز و زمان مواجهه می‌باشد. با توجه به نتایج این مطالعه حدس زده می‌شود تجویز دیازینون باعث افزایش رادیکال‌های آزاد سوپراکسید در گلبول‌های

- Durak D, Bayrakdar F, Kalender Y. The effects of organophosphate insecticide diazinon on malondialdehyde levels and myocardial cells in rat heart tissue and protective role of vitamin E. *Pes Biochem Physiol* 2006; 86(2): 93-98.
7. Zhang HX, Sultatos LG. Biotransformation of the organophosphorus insecticides parathion and methyl effects of black tea extract. *Clinica Chimica Acta* 2005; 358(Issue 2): 131-138
8. Shadnia SH, Azizi E, Hosseini R, Khoei S, Fouladdel SH, Pajoumand A, et al. Evaluation of oxidative stress and genotoxicity in organophosphorus insecticide formulators. *Hum Exp Toxicol* 2005; 24(9): 439-445.
9. Civen M, Brown CB, Morin RJ. Effects of organophosphate insecticides on adrenal cholesteryl ester and steroid metabolism. *Biochem Pharmacol* 1977; 26(20): 1901-1907.
10. Fattahi F, Parivar K, Jorsaraei SGA, Moghadamnia AA. The effect of diazinon on testosterone FSH and LH levels and testicular tissue in mice. *Iranian J Reprod Med* 2009; 7(2): 59-64.
11. Fattahi F, parivar K, Jorsaraei SGA, Moghadamnia AA. The Effects of a Single Dosage of Diazinon and Hinosan on the Structure of Testis Tissue and Sexual Hormones in Mice. *Cell J Yakhteh* 2010, 12(3): 405-410 (Persian).
12. Saulsbury MD, Heyliger SO, Wang K, Johnson DJ. Chlorpyrifos induces oxidative stress in oligodendrocyte progenitor cells. *Toxicology* 2009; 259(1-2): 1-9.
13. Rauen U, Polzar B, Stephan H, Mannherz GH, De Groot H. Cold induced apoptosis in cultured hepatocytes and liver endothelial cells: mediation by reactive oxygen species. *FASEBJ* 1999; 13(1): 155-168.
14. Shah MD, Iqbal M. Diazinon-induced oxidative stress and renal dysfunction in rats. *Food Chem Toxicol* 2010; 48(12): 3345-3353.
15. Aura Mar Gil V, Walter Cardona M, Ashok A, Sharma R, Cadavid A. Role of male factor in early recurrent embryo loss: do antioxidants have any effect. *Fertil Steril* 2009; 92(2): 565-571.
16. Arabi M, Ravinder A. Effect of Nicotine on sperm of normospermic men: Modulations by made antioxidants. *J Reprod Fertile* 2002; 3(11): 11-22.
17. Yamamoto K, Tsuji Y, Aso Y, Hamasaki T, Shirahata S, Katakura Y. Effect of diazinon exposure on antioxidant reactions in the silkworm. *Journal of Applied Entomology* 2011; 135(4): 320-325.
18. 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: 455-461.
19. Salehi M, Jafari M, Asgari A, Saleh Moghaddam M, Salimian M, Abbasnejad M, et al. Study of Diazinon Effect on Antioxidant Enzymes and Lipid Peroxidation in Rat's Brain. *Razi Journal Medical Sciences* 2010; 17(70): 15-23 (Persian).
20. Abbasnezhad M, Jafari M, Asgari A, Hajihoseini R, Hajigholamali M, Salehi M, et al. The study regarding effect of paraoxon on oxidative stress index in kidney tissue of rats. *Mazand Univ Med Sci* 2009; 19(73): 17-26.
21. 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.
22. Hundekari IA, Suryakar AN, Rathi BD. Oxidative stress and antioxidant status in acute organophosphorous pesticides poisoning cases of North Karnataka. *Environmental Health Research* 2008; 11(1): 39-44.
  23. Kalender S, Kalender Y, Durak D, Ogutcu A, Uzunhisarcikli M, Sitki Cevrimli B, Yildirim M. Methyl parathion induced nephrotoxicity in male rats and protective role of vitamins C and E. *Pes Biochem Physiol* 2007; 88(2): 213-218.
  24. Ogutcu A, Suludere Z, Kalender Y. Dichlorvos-induced hepatotoxicity in rats and the protective effects of vitamins C and E. *Environ Toxicol Pharmacol* 2008; 26(3): 355-361.
  25. Kashif SM, Zaidi R, Banu N. Antioxidant potential of vitamins A, E and C in modulating oxidative stress in rat brain. *Clinica Chimica Acta* 2004; 340(1-2): 229-233.
  26. Kalender S, Kalender Y, Ogutcu A, Uzunhisarcikli M, Durak D, Acikgoz F. Endosulfan-induced cardiotoxicity and free radical metabolism in rats: the protective effect of vitamin E. *Toxicology* 2004; 202(3): 227-235.
  27. Susan J, Manisha K, Nisha R, Deepak B. Protective effect of vitamin E in dimethoate and malathion induced oxidative stress in rat erythrocytes. *J Nutr Biochem* 2001; 12(9): 500-504.
  28. Jurczuk M, Brzóska MM, Moniuszko-Jakoniuk J. Hepatic and renal concentrations of vitamins E and C in lead- and ethanol-exposed rats. An assessment of their involvement in the mechanisms of peroxidative damage. *Food Chem Toxicol* 2007; 45(8): 1478-1486.
  29. Fortunato JJ, Feier G, Vitali AM, Petronilho F, Dal-Pizzol C, Quevedo FJ. Malathion-induced oxidative stress in rat brain regions. *Neurochem Res* 2006; 31(5): 671-678.
  30. Abdollahi M, Mostafalou S, Pournourmohammadi S, Shadnia S. 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.
  31. 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; 358(1-2): 131-138.
  32. Fattahi E, Jorsaraei SGA, Parivar K, Moghaddamnia AA. Influence of diazinon on spermatogenesis in mice. *Koomesh* 2007; 9(1): 75-82 (Persian).
  33. Uboh FE, Ekaidei IS, Ebong PE, Umoh IB. The Hepatoprotective Effect of Vitamin A against Gasoline Vapor Toxicity in Rats. *Gastroenterology Research* 2009; 2(3): 162-167.
  34. 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.
  35. Kaur R, Sandhu HS. In vivo changes in antioxidant system and protective role of selenium in chlorpyrifos-induced subchronic toxicity in *Bubalus bubalis*. *Environ Toxicol Pharmacol* 2008; 26(1): 45-48.
  36. Gani E, Mohammadi M, Jafari M, Khoshbatene A, Asgari A. Evaluation of oxidative stress index in brain tissue of rats after exposure to paraoxon. *Kowsar Med J* 2008; 13(1): 1-8 (Persian).
  37. Ahmed RS, Seth V, Pash ST, Banerjee BD.

- Influence of dietary (Zingeber officinales Rose) on oxidative stres induced by malathion in rats. Food Chem Toxico 2000; 38(5): 443-450.
38. Fetoui H, Garoui EM, Makniyadi F, Zeghal N. Oxidative stress induced by lambdacyhalothrin in rat erythrocytes and brain: Attenuation by vitamin C. Environ Toxicol Pharmacol 2008; 26(2): 225-231.
39. 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 Patol 2008; 59(6): 415-423.