

Protective Effect of Edaravone against Nephrotoxicity and Neurotoxicity of Acute Exposure to Diazinon

Milad Vahidirad¹,
Milad Arab-Nozari²,
Hamidreza Mohammadi³,
Fatemeh Shaki⁴

¹ MSc Student in toxicology, Islamic Azad University, North Tehran Branch, Tehran, Iran

² PhD Student in Toxicology, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

³ Associate Professor, Department of Toxicology and Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

⁴ Assistant Professor, Department of Toxicology and Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received July 12, 2017 ; Accepted September 9, 2018)

Abstract

Background and purpose: Diazinon (Dz) is a widely used insecticide. It can cause nephrotoxicity and neurotoxicity by induction of oxidative stress. Edaravone is a drug with antioxidant effect that is used in treatment of acute infraction disorders. In this study we used edaravone for ameliorating diazinon induced kidney and brain damage.

Materials and methods: Twenty four male Wistar rats were divided into the following groups: Control (normal saline), Dz (150mg/kg) and edaravone (10mg/kg and 20mg/kg) that were injected 30min before Dz. After 24 hr, the animals were anesthetized and the brain and kidney tissues were separated. Then oxidative stress factors were evaluated. Blood serum samples were also taken to determine the levels of BUN, creatinine, and nitric oxide.

Results: Dz significantly increased oxidative stress markers such as reactive oxygen species (ROS), lipid peroxidation, protein carbonyl, and glutathione oxidation in kidney and brain tissues. Also, the levels of BUN, creatinine and nitric oxide increased after Dz injection. Interestingly, edaravone administration significantly decreased ROS production in rats' kidney and brain tissues ($p < 0.05$). It also significantly protected kidney and brain against lipid peroxidation and glutathione oxidation ($p < 0.05$). Edaravone treatment could noticeably inhibit diazinon induced protein carbonyl production in both tissues. Furthermore, edaravone significantly ameliorated the increased levels of BUN, creatinine, and nitric oxide due to Dz administration ($p < 0.05$).

Conclusion: These data suggested that edaravone can prevent nephrotoxicity, neurotoxicity and acute toxicity of diazinon via reducing oxidative stress.

Keywords: diazinon, edaravone, nephrotoxicity, neurotoxicity, oxidative stress

J Mazandaran Univ Med Sci 2018; 28 (165): 175-182 (Persian).

* **Corresponding Author:** Fatemeh Shaki- Department of Toxicology and Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran (E-mail: fshaki.tox@gmail.com)

بررسی اثرات محافظتی اداراون بر کاهش سمیت کلیوی و عصبی ناشی از مواجهه حاد با دیازینون

میلاد وحیدی راد^۱

میلاد عرب نوذری^۲

حمیدرضا محمدی^۳

فاطمه شکی^۴

چکیده

سابقه و هدف: دیازینون یک حشره کش پرمصرف است که می تواند با واسطه استرس اکسیداتیو سبب ایجاد سمیت کلیوی و عصبی شود. اداراون یک دارو با خاصیت آنتی اکسیدانی است که در درمان اختلالات انفراکتوسی به کار می رود. در این مطالعه از اداراون برای کاهش آسیب کلیوی و مغزی ناشی از دیازینون استفاده گردید.

مواد و روش ها: ۲۴ راس رت نر ویستار به گروه های زیر تقسیم شدند: کنترل، دیازینون ۱۵۰ mg/kg، اداراون ۱۰ mg/kg و ۲۰ mg/kg که ۳۰ دقیقه قبل از دیازینون تزریق شدند. بعد از ۲۴ ساعت، حیوانات بیهوش شده و بافت های کلیه و مغز جهت بررسی فاکتورهای استرس اکسیداتیو جدا شد. هم چنین میزان اوره و کراتینین و نیتریک اکساید در خون اندازه گیری گردید.

یافته ها: دیازینون به طور معنی داری سبب افزایش مارکرهای استرس اکسیداتیو مانند ROS، لیپیدپراکسیداسیون، پروتئین کربونیل و اکسیداسیون گلوتاتیون در کلیه و مغز شد. هم چنین افزایش در میزان اوره، کراتینین و نیتریک اکساید بعد از تزریق دیازینون مشاهده شد. تجویز اداراون به طور معنی داری رادیکال های آزاد را در کلیه و مغز کاهش داد و به صورت معنی داری از کلیه و مغز در برابر پراکسیداسیون لیپیدی و اکسیداسیون گلوتاتیون محافظت کرد. تجویز اداراون توانست به میزان قابل توجهی تولید پروتئین کربونیل توسط دیازینون را در هر دو بافت مهار کند. علاوه بر این، اداراون به طور معنی داری سبب کاهش در میزان اوره و کراتینین و نیتریک اکساید ناشی از دیازینون، گردید.

استنتاج: این نتایج پیشنهاد می کند که اداراون می تواند سمیت کلیوی، عصبی و سمیت حاد ناشی از دیازینون را از طریق کاهش استرس اکسیداتیو مهار کند.

واژه های کلیدی: دیازینون، اداراون، سمیت کلیوی، سمیت عصبی، استرس اکسیداتیو

مقدمه

دیازینون یک ترکیب ارگانوفسفره است که به طور وسیع در صنعت و کشاورزی مورد استفاده قرار می گیرد (۱). مصرف بیش از حد دیازینون همراه با مخاطرات محیطی فراوان بر سیستم های بیولوژیک است. مکانیسم اولیه سمیت ارگانوفسفره ها مهار آنزیم استیل کولین استراز است اما مطالعات نشان می دهد تولید گونه های فعال

دیازینون یک ترکیب ارگانوفسفره است که به طور وسیع در صنعت و کشاورزی مورد استفاده قرار می گیرد (۱). مصرف بیش از حد دیازینون همراه با مخاطرات محیطی

E-mail: fshaki.tox@gmail.com

مؤلف مسئول: فاطمه شکی - ساری: کیلومتر ۱۷ جاده فرح آباد، مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم، دانشکده داروسازی

۱. دانشجو کارشناسی ارشد سم شناسی، واحد شمال تهران، دانشگاه آزاد اسلامی تهران، تهران، ایران

۲. دستیار سم شناسی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۳. دانشیار، گروه سم شناسی / داروشناسی، دانشکده داروسازی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۴. استادیار، گروه سم شناسی / داروشناسی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

© تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۴/۲۱ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۶/۴/۲۸ تاریخ تصویب: ۱۳۹۷/۶/۱۸

اکسیژن (ROS) و تخلیه آنتی اکسیدان های اندوژن یکی از مهم ترین مکانیسم های مسمومیت با این ترکیبات است (۲). مطالعات مختلف نقش دیازینون را در ایجاد سمیت کلیوی و عصبی با واسطه استرس اکسیداتیو نشان داده است (۴،۳). درواقع گونه های فعال اکسیژن تولید شده تحت شرایط پاتولوژیک و فیزیولوژیک در بافت های پستانداران، قادر به حمله به ماکرومولکول های سلولی و واکنش با لیپیدها، پروتئین ها و DNA و ایجاد آسیب های سلولی می باشد (۵). عدم توانایی در سیستم آنتی اکسیدانی بدن در مقابله با رادیکال های آزاد، منجر به شروع سیگنال های مرگ سلولی و متعاقب آن آسیب بافتی خواهد شد (۶). لذا ترکیباتی که دارای خاصیت آنتی اکسیدانی باشند می توانند در کاهش آسیب ناشی از دیازینون موثر باشند (۷، ۸). اداراون یک ترکیب جاروب کننده رادیکال های آزاد است که امروزه در درمان اختلالات ایسکمیک مانند انفارکتوس میوکارد به کار می رود (۹). مطالعات مختلف نشان داده است که اداراون سبب افزایش دفاع آنتی اکسیدانی و نیز کاهش لیپید پراکسیداسیون و اکسیداسیون پروتئین ها در مدل های حیوانی مختلف شده است (۱۰، ۱۱). هدف مطالعه حاضر بررسی اثرات محافظتی اداراون علیه سمیت کلیوی و عصبی ناشی از دیازینون، با تاکید بر روی مکانیسم استرس اکسیداتیو و آسیب بافتی ناشی از آن در موش صحرایی نر می باشد.

مواد و روش ها

تعداد ۲۴ سر موش صحرایی نر با محدوده وزنی ۲۵۰-۲۰۰ گرم جهت انجام این مطالعه انتخاب شدند. تمام مراحل نگهداری و آزمایشات باتوجه به دستورالعمل های ثبت شده در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی مازندران انجام شد. حیوانات به طور تصادفی به چهار گروه ۶ تایی تقسیم شدند: گروه اول (کنترل) نرمال سالین و گروه دوم دیازینون با دوز ۱۵۰ mg/kg (حل شده در روغن زیتون) به صورت داخل

صفاقی دریافت کردند. به گروه سوم و چهارم به ترتیب ۱۰ mg/kg و ۲۰ از اداراون، نیم ساعت قبل از تزریق دیازینون و به صورت داخل صفاقی تزریق شد. بعد از ۲۴ ساعت حیوان بیهوش و نمونه خون تهیه شد و بافت های مغز و کلیه جدا شد.

تعیین غلظت پروتئین: محتوی پروتئین در بافت کلیه و مغز با روش برادفورد و با کمک معرف کوماسی بلو تعیین شد (۱۲).

اندازه گیری میزان گونه های فعال اکسیژن با فلوری متری: اندازه گیری سطوح ROS با استفاده از معرف DCFH-DA انجام شد (۱۳).

اندازه گیری محتوی گلو تاتیون: محتوی گلو تاتیون به کمک معرف DTNB اندازه گیری شد (۱۴).

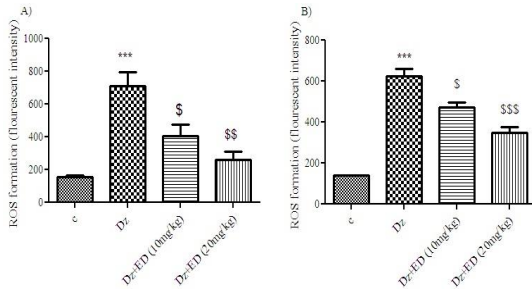
اندازه گیری میزان لیپید پراکسیداسیون: اندازه گیری میزان مالون دی آلدهید (MDA) به عنوان مارکر لیپید پراکسیداسیون توسط روش تیوباربتوریک اسید انجام شد (۱۵).

اندازه گیری پروتئین کربونیل: تعیین مقدار پروتئین کربونیل به کمک معرف گوانیدین هیدروکلرید انجام شد (۱۶).

اندازه گیری نیتریک اکساید: اندازه گیری NO با کمک کیت های تجاری براساس واکنش گریس انجام شد (۱۷). آنالیز آماری: نتایج برحسب میانگین $\pm$ انحراف معیار گزارش شد و آنالیز آماری توسط نرم افزار آماری SPSS مدل ۱۴ و به کمک تست های آماری آنوای یکطرفه با پست تست Tukey انجام شد. حدود معنی داری $p < 0.05$ در نظر گرفته شد.

یافته ها و بحث

امروزه مسمومیت با ارگانوفسفره ها یکی از رایج ترین دلایل مراجعه به بیمارستان و بستری در ICU در کشورهای در حال توسعه می باشد (۱۸). مکانیسم اصلی مسمومیت ناشی از ارگانوفسفره ها مهار آنزیم استیل کولین استراز است، ولی مطالعات زیادی نشان

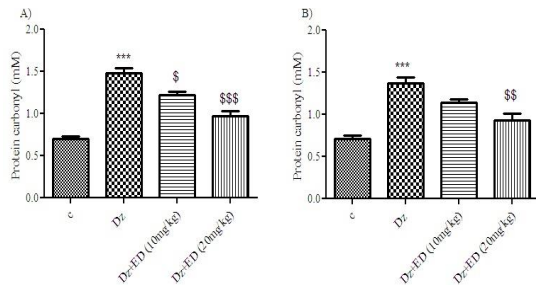


نمودار شماره ۱: تاثیر اداراون (ED) بر میزان ROS تولید شده توسط دیازینون (Dz) در بافت‌های مغز (قسمت A) و کلیه (قسمت B). نتایج به صورت $\text{mean} \pm \text{SD}$ حاصل ۶ بار تکرار آزمایش گزارش شده است. *** نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه کنترل (C) است ($p < 0.001$). \$: نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه دیازینون است ($p < 0.05$). \$\$: نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه دیازینون است ($p < 0.01$). \$\$\$: نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه دیازینون است ($p < 0.001$).

رادیکال‌های آزاد می‌توانند به لیپیدهای غشا حمله کنند و از آن‌جائی که اسیدهای چرب غیر اشباع موجود در ساختار غشا (PUFA) به اکسیداسیون توسط ROS حساس هستند، این رادیکال‌ها می‌توانند با حمله به آن‌ها سبب آسیب‌های غشایی شوند (۲۷). همان‌طور که در نمودار شماره ۲ نشان داده شده است، در این مطالعه تجویز 20 mg/kg از اداراون، میزان لیپید پراکسیداسیون القا شده توسط دیازینون به عنوان یک مارکر مهم آسیب‌های غشایی را در هر دو بافت کاهش داد. یکی دیگر از آسیب‌های رادیکال‌های آزاد حمله به پروتئین‌های سلولی و تولید پروتئین کربونیل است (۲۸). در مطالعه حاضر اداراون توانست میزان تولید پروتئین کربونیل ناشی از دیازینون را به طور قابل توجهی در هر دو بافت کلیه و مغز کاهش دهد (نمودار شماره ۳). گلو‌تاتیون یک تری‌پتید است که نقش مهمی در سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی طبیعی بدن برعهده دارد (۲۹). طبق نمودار شماره ۴، تجویز اداراون با دوز 20 mg/kg ، کاهش گلو‌تاتیون ناشی از تجویز دیازینون را مهار کرد. در مطالعات قبلی نشان داده شده است که مواجهه با دیازینون می‌تواند سبب افزایش سطوح NO شود (۳۰، ۳۳). برخی ترکیبات آنتی‌اکسیدان می‌توانند از تولید NO و آثار مخرب ناشی از آن در بافت‌ها جلوگیری کنند.

داده است که استرس اکسیداتیو نقش مهمی در آسیب بافتی ناشی از ارگانوفسفرها دارد (۲۰، ۱۹). همان‌طور که در تصاویر شماره ۱ تا ۴ مشاهده می‌شود، تجویز دیازینون سبب افزایش مارکرهای استرس اکسیداتیو شامل ROS، لیپید پراکسیداسیون، پروتئین کربونیل و اکسیداسیون گلو‌تاتیون در هر دو بافت کلیه و مغز شد. القای استرس اکسیداتیو توسط دیازینون قبلاً در مطالعات مختلفی به اثبات رسیده بود. در این مطالعات، دیازینون سبب کاهش گلو‌تاتیون (۲۲، ۲۱) و افزایش لیپید پراکسیداسیون (۲۴، ۲۳) در کلیه و مغز موش صحرایی شده بود که این مطالعات، نتایج مطالعه حاضر را تایید می‌کند. بافت مغز به دلیل دارا بودن میزان زیاد چربی و نیز ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کم، یکی از آسیب پذیرترین ارگان‌های بدن نسبت به آسیب‌های اکسیداتیو است (۲۵). از سوی دیگر رادیکال‌های آزاد می‌توانند عملکرد طبیعی کلیه را نیز به همین طریق تحت تاثیر قرار دهند (۲۰).

در این مطالعه میزان BUN و Cr بعد از تزریق دیازینون افزایش یافت که تائید کننده سمیت کلیوی دیازینون بود. مطالعات قبلی نقش حفاظتی برخی آنتی‌اکسیدان‌ها مانند تیموکینون و عصاره زنجبیل را در مقابل سمیت دیازینون نشان داده‌اند (۲۶، ۲۱). اداراون یک دارو با خاصیت آنتی‌اکسیدانی است که در درمان اختلالات ایسکمیک انفارکتوس حاد مغزی و قلبی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۹). اثرات محافظتی اداراون در شرایط پاتولوژیکی که استرس اکسیداتیو در آن دخیل است، در مطالعات قبلی به خوبی نشان داده شده است (۱۱، ۹). برای مثال، Zhan و همکارانش در سال ۲۰۱۳ نشان دادند تجویز اداراون می‌تواند سمیت عصبی ناشی از مواجهه با استرپتوزوسین را از طریق مهار فاکتورهای استرس اکسیداتیو در موش‌های صحرایی کاهش دهد (۱۰). در این مطالعه نشان داده شد که تجویز اداراون با هر دو دوز 20 mg/kg و 10 mg/kg توانست تولید ROS ناشی از دیازینون را در هر دو بافت کلیه و مغز مهار کند (نمودار شماره ۱).



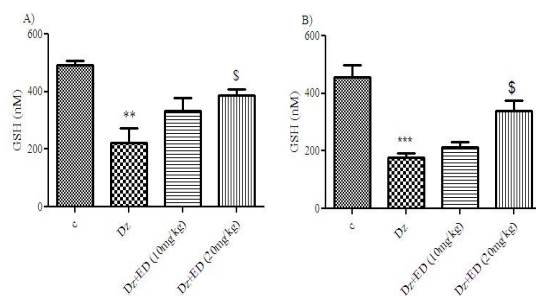
نمودار شماره ۳: تاثیر ادارون (ED) بر میزان پروتئین کربونیل تولید شده توسط دیازینون (Dz) در بافت های مغز (قسمت A) و کلیه (قسمت B). نتایج به صورت $\text{mean} \pm \text{SD}$ حاصل ۶ بار تکرار آزمایش گزارش شده است.

*** نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه کنترل (C) است ($p < 0.001$).

\$ نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه دیازینون است ($p < 0.05$).

\$\$ نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه دیازینون است ($p < 0.01$).

\$\$\$ نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه دیازینون است ($p < 0.001$).



نمودار شماره ۴: تاثیر ادارون (ED) بر اکسیداسیون گلوتاتیون ناشی از دیازینون (Dz) در بافت های مغز (قسمت A) و کلیه (قسمت B). نتایج به صورت $\text{mean} \pm \text{SD}$ حاصل ۶ بار تکرار آزمایش گزارش شده است.

*** نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه کنترل (C) است ($p < 0.001$).

*** نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه کنترل است ($p < 0.001$).

\$ نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه دیازینون است ($p < 0.05$).

جدول شماره ۱: تاثیر ادارون (ED) بر میزان نیترژن اوره خون و کراتینین تولید شده توسط دیازینون (Dz)

گروه	نیترژن اوره خون (میلی گرم بر دسی لیتر) (انحراف معیار $\pm$ میانگین)	کراتینین (میلی گرم بر دسی لیتر) (انحراف معیار $\pm$ میانگین)
C	13 $\pm$ 1.2	0.6 $\pm$ 0.08
Dz	66 $\pm$ 6.4*	1.34 $\pm$ 0.17*
Dz+ED (10mg/kg)	38.7 $\pm$ 5.1	1.02 $\pm$ 0.11
Dz+ED (20mg/kg)	30.6 $\pm$ 2.6\$	0.83 $\pm$ 0.15\$

نتایج به صورت $\text{mean} \pm \text{SD}$ حاصل ۶ بار تکرار آزمایش گزارش شده است.

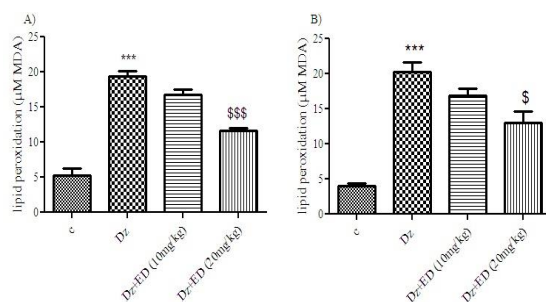
* نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه کنترل (C) است ($p < 0.05$).

\$ نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه دیازینون است ($p < 0.05$).

برای مثال کورکومین، با مهار آنزیم NOS سبب کاهش تولید NO شده است (۳۱). مطالعات مختلفی نقش ادارون را در کاهش میزان NO و ممانعت از آسیب های مغزی و کلیوی حاصله بیان کرده اند (۳۲).

در این مطالعه تجویز ادارون افزایش NO القا شده توسط دیازینون را مهار کرد. ادارون همچنین باعث کاهش در میزان BUN و Cr در گروه های دریافت کننده دیازینون شد (جدول شماره ۱)، که این پاسخ می تواند تأیید کننده اثر ادارون در کاهش آسیب کلیوی ناشی از دیازینون باشد. دیازینون با القای استرس اکسیداتیو و آسیب به ماکرومولکول های سلولی می تواند باعث فعال شدن سیگنالینگ مرگ سلولی از جمله نکروز و آپوپتوز و نهایتاً القای آسیب بافتی شود (۳۳). در مقابل ادارون با مهار استرس اکسیداتیو می تواند مانع فعال شدن مسیرهای فوق و آسیب بافتی ناشی از دیازینون شود.

مطالعه حاضر نشان داد ادارون با مهار فرایند استرس اکسیداتیو می تواند سمیت کلیوی و عصبی ناشی از دیازینون را کاهش داده و داروی مناسبی برای به کارگیری در شرایط پاتولوژیکی که استرس اکسیداتیو در آنها دخیل است، باشد (نمودار شماره ۵).



نمودار شماره ۵: تاثیر ادارون (ED) بر میزان لیپید پراکسیداسیون القا شده توسط دیازینون (Dz) در بافت های مغز (قسمت A) و کلیه (قسمت B). نتایج به صورت $\text{mean} \pm \text{SD}$ حاصل ۶ بار تکرار آزمایش گزارش شده است.

*** نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه کنترل (C) است ($p < 0.001$).

\$ نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه دیازینون است ($p < 0.05$).

\$\$\$ نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه دیازینون است ($p < 0.001$).

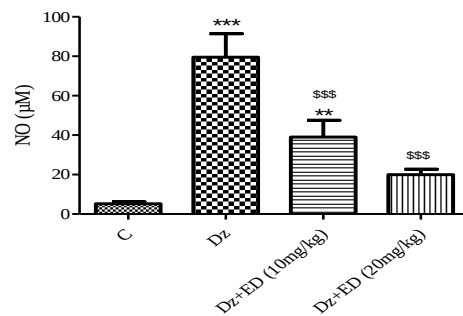
***: نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه کنترل (C) است ($p < 0.001$).

** : نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه کنترل است ($p < 0.01$).

\$\$\$: نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه دیازینون است ($p < 0.001$).

سپاسگزاری

این مقاله حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد آقای میلاد وحیدی راد می باشد و منابع مالی آن توسط مرکز علوم دارویی دانشگاه آزاد اسلامی تهران واحد شمال تامین شد.



نمودار شماره ۵: تاثیر اदारاون (ED) بر سطح سرمی نیتریک اکساید (NO) تولید شده توسط دیازینون (Dz): نتایج به صورت mean±SD حاصل ۶ بار تکرار آزمایش گزارش شده است.

References

1. Al-Attar AM, Elnaggar MH, Almalki EA. Protective effect of some plant oils on diazinon induced hepatorenal toxicity in male rats. Saudi J Biol Sci 2017; 24(6):1162-1171.
2. Salehi M, Jafari M, Asgari A, Salimian M, Abbasnezhad M, Hosseini RH, et al. Strain-Related Differences on Response of Liver and Kidney Antioxidant Defense System in Two Rat Strains Following Diazinon Exposure. Zahedan J Res Med Sci 2016; 18(2): 29-35 (Persian).
3. Tsitsimpikou C, Tzatzarakis M, Fragkiadaki P, Kovatsi L, Stivaktakis P, Kalogeraki A, et al. Histopathological lesions, oxidative stress and genotoxic effects in liver and kidneys following long term exposure of rabbits to diazinon and propoxur. Toxicology 2013; 307: 109-114.
4. Noori A, Amjad L, Yazdani F. The Antioxidant Effects of Artemisia deserti Ethanolic Extract and Diazinon on Male Rat Kidney. Zahedan J Res Med Sci 2016; 18(6): e7366.
5. Helmy H, Mohamed Sh, Desouky T, Mohamed SH, Khayria M. Naguib. Antioxidant Compounds from Rice Straw Extract and Their Effect on Diazinon Insecticide Hazard. Middle East Journal of Applied Sciences 2015; 5(03): 687-694.
6. Boroushaki MT, Arshadi D, Jalili-Rasti H, Asadpour E, Hosseini A. Protective effect of pomegranate seed oil against acute toxicity of diazinon in rat kidney. Iran J Pharm Res 2013; 12(4): 821 -827
7. Ibrahim ATA. Protective role of lycopene and vitamin E against diazinon-induced biochemical changes in Oreochromis niloticus. Afr J Environ Sci 2015; 9(6): 557-565.
8. Salehzadeh A, Abbasalipourkabir R, Shisheian B, Rafaat A, Nikkhah A, Rezaii T. The alleviating effects of sesame oil on diazinon-induced toxicity in male wistar rats. Drug Chem Toxicol 2018: 1-6.
9. Bai X, Zhang C, Chen A, Liu W, Li J, Sun Q, et al. Protective effect of edaravone on glutamate-induced neurotoxicity in spiral ganglion neurons. Neural Plasticity 2016; 2016: 4034218.
10. Zhou S, Yu G, Chi L, Zhu J, Zhang W, Zhang Y, et al. Neuroprotective effects of edaravone on cognitive deficit, oxidative stress and tau hyperphosphorylation induced by intracerebroventricular streptozotocin in rats. Neurotoxicology 2013; 38: 136-145.

11. Apaydin M, Erbas O, Taskiran D. Protection by Edaravone, a Radical Scavenger, against Manganese-Induced Neurotoxicity in Rats. *J Biochem Mol Toxicol* 2016; 30(5): 217-223.
12. Sadegh C, Schreck RP. The spectroscopic determination of aqueous sulfite using Ellman's reagent. *MURJ* 2003; 8: 39-43.
13. Zhang F, Xu Z, Gao J, Xu B, Deng Y. In vitro effect of manganese chloride exposure on energy metabolism and oxidative damage of mitochondria isolated from rat brain. *Environ Toxicol Pharmacol* 2008; 26(2): 232-236.
14. Aebi H. [13] Catalase in vitro. *Methods in Enzymology* 1984; 105: 121-126.
15. Shahani S, Behzadfar F, Jahani D, Ghasemi M, Shaki F. Antioxidant and anti-inflammatory effects of *Nasturtium officinale* involved in attenuation of gentamicin-induced nephrotoxicity. *Toxicol Mech Methods* 2017; 27(2): 107-114.
16. Vahidirad M, Arab-Nozari M, Mohammadi H, Zamani E, Shaki F. Protective effect of captopril against diazinon induced nephrotoxicity and neurotoxicity via inhibition of ROS-NO pathway. *Drug Chem Toxicol* 2018; 41(3): 287-293.
17. Abdel-Daim MM. Synergistic protective role of ceftriaxone and ascorbic acid against subacute diazinon-induced nephrotoxicity in rats. *Cytotechnology* 2016; 68(2): 279-289.
18. Peter JV, Sudarsan TI, Moran JL. Clinical features of organophosphate poisoning: A review of different classification systems and approaches. *Indian J Crit Care Med* 2014; 18(11): 735-745.
19. Tutanc M, Arica V, Yılmaz N, Nacar A, Zararsiz I, Basarslan F, et al. Effects of erdosteine on cyclosporin-A-induced nephrotoxicity. *Hum Exp Toxicol* 2012; 31(6): 565-573.
20. Lukaszewicz-Hussain A. Role of oxidative stress in organophosphate insecticide toxicity—Short review. *Pest Biochem Physiol* 2010; 98(2): 145-150.
21. Yaghubi Beklar S, Hamzeh M, Talebpour Amiri F. Protective Effect of *Zingiber officinale* against Diazinon-Induced Heart Injury via Suppression of Oxidative Stress. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2018; 27(158): 15-26 (Persian).
22. Oksay T, Nazıroğlu M, Ergün O, Doğan S, Özatik O, Armağan A, et al. N-acetyl cysteine attenuates diazinon exposure-induced oxidative stress in rat testis. *Andrologia* 2013; 45(3): 171-177.
23. Salem NA, Al Badawi MH, Hussein HH. Protective role of propolis on diazinon induced nephrotoxicity in adult male albino rats. *Eur J Anat* 2015; 19(4): 331-342.
24. Boussabbah M, Salem IB, Hamdi M, Fradj SB, Abid-Esefi S, Bacha H. Diazinon, an organophosphate pesticide, induces oxidative stress and genotoxicity in cells deriving from large intestine. *Environ Sci Pollut Res Int* 2016; 23(3): 2882-2889.
25. Yavuz D, Küçükkaya B, Haklar G, Ersöz Ö, Akoğlu E, Akalın S. Effects of captopril and losartan on lipid peroxidation, protein oxidation and nitric oxide release in diabetic rat kidney. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2003; 69(4): 223-227.
26. Danaei GH, Memar B, Ataee R, Karami M. Protective effect of thymoquinone, the main component of *Nigella Sativa*, against diazinon cardio-toxicity in rats. *Drug Chem Toxicol* 2018; 1-7.
27. Bar-Or D, Bar-Or R, Rael LT, Brody EN. Oxidative stress in severe acute illness. *Redox Biol* 2015; 4: 340-345.

28. Thanan R, Oikawa S, Hiraku Y, Ohnishi S, Ma N, Pinlaor S, et al. Oxidative stress and its significant roles in neurodegenerative diseases and cancer. *Int J Mol Sci* 2014; 16(1): 193-217.
29. Beydilli H, Yilmaz N, Cetin ES, Topal Y, Celik OI, Sahin C, et al. Evaluation of the protective effect of silibinin against diazinon induced hepatotoxicity and free-radical damage in rat liver. *Iran Red Crescent Med J* 2015; 17(4): e25310.
30. Beydilli H, Yilmaz N, Cetin ES, Topal Y, Topal H, Sozen H, et al. The effects of thymoquinone on nitric oxide and superoxide dismutase levels in a rat model of diazinon-induced brain damage. *Studies on Ethno-Medicine* 2015; 9(9): 191-195.
31. Bengmark S. Curcumin, an atoxic antioxidant and natural NFκB, cyclooxygenase-2, lipooxygenase, and inducible nitric oxide synthase inhibitor: a shield against acute and chronic diseases. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 2006; 30(1): 45-51.
32. Sattarinezhad E, Panjeshahin MR, Torabinezhad S, Kamali-Sarvestani E, Farjadian S, Pirsalami F, et al. Protective Effect of Edaravone Against Cyclosporine-Induced Chronic Nephropathy Through Antioxidant and Nitric Oxide Modulating Pathways in Rats. *Iran J Med Sci* 2017; 42(2): 170-178 (Persian).
33. Lari P, Abnous K, Imenshahidi M, Rashedinia M, Razavi M, Hosseinzadeh H. Evaluation of diazinon-induced hepatotoxicity and protective effects of crocin. *Toxicol Ind Health* 2015; 31(4): 367-376.