

## *The Protective role of selenium in preventing tissue damage induced by diazinon in rats*

Mohammad Shokrzade<sup>1</sup>, Ali Abbasi<sup>2</sup>, Amir Shadborestan<sup>3</sup>, Mahmoud Omid<sup>3</sup>, Fereshte Jivad<sup>3</sup>

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

<sup>2</sup> Forensic Mazandaran

<sup>3</sup> Student Research Committee, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received January 5, 2013; Accepted February 20, 2013)

### **Abstract**

**Background and purpose:** Diazinon (DZN) is a commonly used organophosphorous (OP) pesticide. It is synthetic chemical substance with broad spectrum insecticide activity [3]. Toxic effects of diazinon are due to the inhibition of acetyl cholinesterase activity, an enzyme needed for proper nervous system function. It has been widely used throughout the world with applications in agriculture and horticulture for controlling insects [4,5]. The Se is an essential dietary trace element which plays an important role in a number of biological processes [18] consists of antioxidant and anti mutagenic properties

**Materials and methods:** In the experiment, a total of 45 rats (200-250 gr) were used. The rats were randomly divided into 9 groups with five animals in each group. Animals were concurrently administered intraperitoneally with DZN in proper solvent (20 mg/kg body weight (b.w.)) and Se at three different doses (0.5, 1, and 2 mg/kg b.w.) for 30 consecutive days. After necropsy, liver and kidneys of all animals were isolated and fixed in 10% buffered formalin. Using examples of common practices pathology tissue sections, 5 microns thick sections by microtome and prepared for staining with hematoxylin - eosin were prepared.

**Results:** In the liver of groups that diazinon had received, focal hepatic necrosis was created. Exposure also causes dilation of sinusoids in the liver parenchyma. Selenium in Dose of 0.5mg / kg as the control group, although high dose 2mg / kg causes fibrosis and focal necrosis, venous congestion and spasticity. In groups with diazinon received Selenium 0.5 mg / kg lead to inflammatory cell infiltration in the portal tract and central vein dilatation. Together with the selenium 2 mg/kg diazinon caused necrosis and hepatic necrosis in zone 3 and spasticity. However, in this study, diazinon was induced inflammation but no significant change in kidney of rat's necrosis and destruction of epithelial cells were not observed.

**Conclusion:** This study showed that diazinon has the ability to cause liver and kidney damage, although the damage is less in kidney in comparison with liver damage. It was also observed that selenium in dose of 0.5 mg / kg is able to reduce the damage; however the damage increased when the dose was increasing. It seems, selenium has a harmful role in increased doses, and it results to necrosis and fibrosis.

**Keywords:** Diazinon, Selenium, Pathology, Antioxidant

## بررسی نقش محافظتی سلیوم در جلوگیری از آسیب بافتی ناشی از دیازینون در موش‌های صحرایی

دکتر محمد شکرزاده<sup>۱</sup>.....دکتر علی عباسی<sup>۲</sup>.....امیر شادبوستان<sup>۳</sup>.....محمود امیدی<sup>۳</sup>..... فرشته جیواد<sup>۳</sup>

### چکیده

**سابقه و هدف** دیازینون یک حشره کش ارگانوفسفره است و منجر به مهار آنزیم استیل کولین استراز می‌شود، این آنزیم برای فعالیت مطلوب سیستم عصبی مورد نیاز است. سلیوم یک ریز مغزی با عملکردهای مهم آنتی اکسیداتی، آنتی موتاژنیک و نیز پیشگیری کننده از بدخیم شدن سلول‌های نرمال است. هدف این مطالعه بررسی نقش محافظتی سلیوم در جلوگیری از آسیب بافتی ناشی از دیازینون در موش‌های صحرایی است.

**مواد و روش‌ها:** این مطالعه روی موش‌های آزمایشگاهی نر نژاد ویستار در محدوده‌ای وزنی ۲۵۰-۲۰۰g انجام گرفت (n=۵). حیوانات به طور تصادفی به ۹ گروه تقسیم شدند و به مدت ۴ هفته مواد شیمیایی را به صورت داخل صفاقی دریافت کردند. بعد از کالبدگشایی کبد و کلیه جداسازی شد و در فرمالین بافری ۱۰ درصدی پایدار گردید سپس با استفاده از شیوه‌های رایج پاساژ بافت و تهیه مقاطع آسیب‌شناسی، برش‌هایی با ضخامت ۵ میکرون توسط میکروتوم تهیه و جهت رنگ‌آمیزی با هماتوکسیلین-ائوزین آماده گردیدند.

**نتایج:** در کبد گروه‌هایی که دیازینون دریافت کرده بودند، نکروز فوکال و کانونی هپاتوسیت‌ها ایجاد گردید و باعث اتساع سینوزوئیدها و خونریزی در پارانشیم کبد گردید. سلیوم در دوز ۰/۵ mg/kg مشابه گروه کنترل بود هر چند در دوز بالا ۲ mg/kg باعث فیروز و نکروز فوکال، احتقان وریدها و اسپاستی لیتیک می‌شود. در گروه‌هایی که همراه با دیازینون سلیوم ۰/۵ mg/kg باعث ارتشاح سلول‌های التهابی در پورتال تراکت و اتساع وریدهای مرکزی گردید. دیازینون همراه با سلیوم ۲ mg/kg باعث نکروز در ۳ zone کبدی و نکروز اسپاستی لیتیک می‌گردد.

**استنتاج:** این مطالعه نشان داد که دیازینون توانایی ایجاد آسیب در بافت کبد را داراست هر چند در بافت کلیه آسیب کمتری ایجاد کرد و نشان داده شد که سلیوم در دوز ۰/۵ mg/kg قادر به کاهش این آسیب بود ولی زمانی که دوز آن افزایش می‌یافت خود به عنوان یک عامل آسیب‌زا عمل کرده و منجر به نکروز و فیروز می‌گردد.

**واژه‌های کلیدی:** دیازینون، سلیوم، پاتولوژی، آنتی اکسیدانت

### مقدمه

بیولوژیکی هستند. هر چند بدن انسان با سیستم‌های دفاعی، هم‌چون فرایند سمیت‌زدایی از طریق آنزیم‌های مختلف تجهیز شده ولی مواجه طولانی با این ترکیبات منجر به بیماری‌زایی و ایجاد سرطان می‌شود (۲، ۱).

امروزه افراد با بسیاری از ترکیبات شیمیایی از جمله سیگار، آلاننده‌ها، سموم، فلزات سنگین، اشعه‌های یونیزان و دارو در مواجهه هستند. این ترکیبات قادر به افزایش استرس اکسیداتیو و نیز عوارض دیگری در بافت‌های

**مؤلف مسئول:** امیر شادبوستان - گروه سم‌شناسی و فارماکولوژی، دانشکده داروسازی، کمیته تحقیقات دانشجویی دانشگاه علوم پزشکی مازندران  
amir.shadboorestan@gmail.com

۱. گروه سم‌شناسی و فارماکولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۲. پزشکی قانونی استان مازندران

۳. کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

تاریخ دریافت: ۹۱/۶/۱۲ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۹۱/۷/۲۲ تاریخ تصویب: ۹۱/۱۱/۱۷

حشره کش ارگانوفسفره است که به میزان زیادی مورد استفاده قرار می گیرد. این ترکیب سنتتیک دارای طیف وسیع عملکردی در از بین بردن حشرات است (۳). دیازینون منجر به مهار آنزیم استیل کولین استراز می شود، این آنزیم برای فعالیت مطلوب سیستم عصبی مورد نیاز است. دیازینون کاربرد وسیعی در کشاورزی دارد و برای کنترل انواع آفت کش ها مورد استفاده قرار می گیرد (۴،۵).

دیازینون باعث تغییر در آنزیم های کبدی و شاخص های بیوشیمیایی و تورم میتوکنندری در هیپاتوسیت ها می شود (۶). علاوه بر این باعث اثرات سمی در سلول های خونی، طحال، تیموس و غده های لنفاوی است. فرایندهای متابولیکی منجر به تولید رادیکال های آزاد بسیار فعال و ناپایدار می شوند و سبب آسیب اکسیداتیو به بافت ها و سلول ها می شوند (۷).

دیازینون از دستگاه گوارش، پوست و یا سیستم تنفسی (در صورت استنشاق) جذب می شود و راه عمده دفع آن از طریق کلیه است. آنزیم های میکروزومال موجود در کبد دیازینون را اکسید کرده و به ترکیباتی که مهار کننده قوی تر استیل کولین استراز مثل دیازوکسان، هیدروکسی دیازوکسان و هیدروکسیل دیازینون تبدیل می کنند (۸). دیازینون از نظر شدت خطر به عنوان یک حشره کش تیپ II (متوسط) طبقه بندی می شود (۹).

در حالت طبیعی مقداری رادیکال آزاد در اثر فعالیت و متابولیسم سلول ها تولید می شود که به وسیله عوامل آنتی اکسیدان در بدن نظیر سوپر اکسید دسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) و گلوتاتیون (GSH) خنثی می شود. بین این دو فرایند در بدن تعادل وجود دارد. لذا هر عاملی که با تولید رادیکال آزاد یا کاهش آنتی اکسیدانت ها این تعادل را برهم بزند، در نهایت باعث استرس اکسیداتیو می شود و به دنبال آن، شرایط ایجاد تغییرات پاتولوژیک در بدن فراهم می آید. آنتی اکسیدانت ها می توانند بدن انسان را در مقابل

رادیکال های آزاد و اثرات ROS حفاظت کنند و پیشرفت بسیاری از بیماری های مزمن و پراکسیداسیون لیپیدها را به تأخیر بیندازند (۱۰).

سلنیوم یک ریز مغزی با عملکرد مهم آنتی اکسیدانتی، نقش آنتی موژنیک و نیز پیشگیری کننده از بدخیم شدن سلول های نرمال است. حداقل ۲۵ سلنو پروتئین انسانی و ۲۴ نوع موشی از آن وجود دارد (۱۱). اثر حفاظتی آن به حضور آن در آنزیم های آنتی اکسیدانتی مثل گلوتاتیون پراکسیداز و تیوردوکسین ردوکتاز مربوط است که نقش مهمی در حفاظت از DNA و دیگر اجزای سلولی در مقابل آسیب اکسیداتیو دارند. برخی از مکانیسم هایی که حاکی از اثرات آنتی کارسینوژنیک سلنیوم است عبارت از: نقش سلنو آنزیم ها در احیای آسیب DNA، تعدیل اکسیداتیو استرس، کاهش التهاب، سمیت زدایی، بهبود عملکرد سیستم ایمنی، افزایش پروتئین ساپرس کننده تومور p۵۳، غیرفعال سازی پروتئین کیناز C، تغییر در متیلاسیون DNA، القای آپوپتوز در سلول های سرطانی و مهار رگ زایی می باشد (۱۲).

ترکیبات خاصی (سلنیوم، ویتامین E، ویتامین C و  $\beta$ -کاروتن و ...) می توانند رادیکال های آزاد را جاروب کند. برخی از آنزیم ها نیز این توانایی را دارند که رادیکال های آزاد را غیرفعال کنند (سوپر اکسید دسموتاز، کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز). سوپر اکسید دسموتاز یک آنزیم حاوی Mn و Cu/Zn است که به ترتیب در میتوکنندری و سیتوپلاسم حضور دارد. کاتالاز یک آنزیم حاوی آهن است که در پراکسی زوم ها وجود دارد. گلوتاتیون پراکسیداز هم دارای سلنیوم در ساختار خود است که نقش آنتی اکسیدانتی خود را از طریق سمیت زدایی از هیدروژن پراکسید و لیپید پراکسیدها به انجام می رساند (۱۳). هدف از این مطالعه بررسی اثر حفاظتی سلنیوم بر رت هایی است که به صورت تحت حاد با دیازینون مواجهه یافته اند.

## مواد و روش‌ها

سلنیت سدیم و فرمالین، از شرکت مرک و دیازینون تکنیکال با درجه خلوص ۹۵ درصد از شرکت گل سم گرگان خریداری شد. این مطالعه روی موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار سن ۸ تا ۱۰ هفته و وزن  $225 \pm 250$  گرم انجام شد. پس از انتقال موش‌ها از انستیتو پاستور آمل به حیوان خانه دانشکده داروسازی ساری به ۹ گروه ۵ تایی تقسیم شدند و در قفس‌های مربوطه قرار گرفتند. سپس به مدت یک هفته به منظور عادت کردن حیوانات به محیط جدید بدون هیچگونه تزریقی نگهداری شدند. سپس به مدت ۴ هفته مواد ذیل را که به صورت داخل صفاقی دریافت کردند.

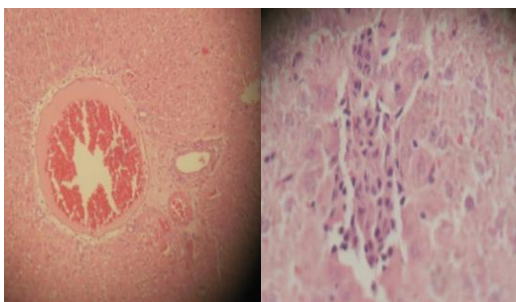
گروه ۱ (نرمال سالین)، ۲ (روغن سویا)، ۳ (دیازینون  $20 \text{ mg/kg}$ )، گروه‌های ۴، ۵ و ۶ (دوزهای  $0.5$ ،  $1$  و  $2 \text{ mg/kg}$  سلنیت سدیم)، و گروه‌های ۷ و ۸ و ۹ (دوزهای  $0.5$ ،  $1$  و  $2 \text{ mg/kg}$  سلنیت سدیم + دیازینون  $20 \text{ mg/kg}$ ).

بعد از کالبدگشایی کبد و کلیه تمامی حیوانات جداسازی شد و سپس در فرمالین بافری ۱۰ درصدی پایدار گردید. از نمونه‌های فوق با استفاده از شیوه‌های رایج پاساژ بافت و تهیه مقاطع آسیب‌شناسی، برش‌هایی با ضخامت ۵ میکرون توسط میکروتوم تهیه و جهت رنگ آمیزی با هماتوکسیلین-ئوزین آماده گردیدند. و نمونه‌های بافتی توسط پاتولوژیست بررسی شد بزرگنمایی تصاویر  $\times 400$ .

## یافته‌ها

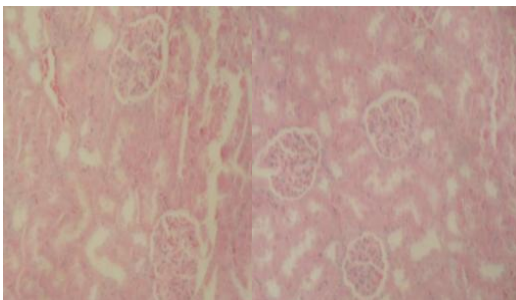
در کبد گروه‌هایی که دیازینون دریافت کرده بودند، نکروز فوکال و کانونی هپاتوسیت‌ها ایجاد گردید. همچنین باعث اتساع سینوزوئیدها و خونریزی در پارانشیم کبد گردید. سلنیوم در دوز  $0.5 \text{ mg/kg}$  مشابه گروه کنترل بود هر چند در دوز بالا  $2 \text{ mg/kg}$  باعث فیروز و نکروز

فوکال، احتقان وریدها و اسپاستی لیتیک می‌شود. در گروه‌هایی که همراه با دیازینون سلنیوم  $0.5 \text{ mg/kg}$  باعث ارتشاح سلول‌های التهابی در پورتال تراکت و اتساع وریدهای مرکزی گردید. دیازینون همراه با سلنیوم  $2 \text{ mg/kg}$  باعث نکروز در zone کبدی و نکروز اسپاستی لیتیک می‌گردد (تصویر شماره ۱). هر چند در این بررسی دیازینون تنها باعث ایجاد التهاب گردید ولی نتوانست تغییر قابل ملاحظه‌ای در کلیه موش‌های صحرایی ایجاد کند به نحوی که نکروز و تخریب سلول‌های اپیتلیال قابل مشاهده نبود (تصویر شماره ۲).



تصویر شماره شماره ۱: بافت کبد

گروه کنترل (A) گروه دریافت کننده دیازینون  $20 \text{ mg/kg}$  (B) گروه دریافت کننده سلنیوم  $2 \text{ mg/kg}$  (C) گروه دیازینون و سلنیوم  $0.5 \text{ mg/kg}$  (D)



تصویر شماره ۲: بافت کلیه

گروه کنترل کلیه (A) گروه دریافت کننده دیازینون  $20 \text{ mg/kg}$  (B)  $20$

## بحث

سمیت کلیوی دیازینون و مکانیسم سمیت آن تاکنون به طور دقیق مشخص نشده است (۱). Dawood Shah و همکاران نشان دادند که دیازینون (۳۰ و ۱۵،۱۰ mg/kg) به مدت ۸ هفته) به صورت وابسته به دوز باعث کاهش سطح گلوکوتایون احیا گردید که این امر ناشی از کاهش فعالیت آنزیم‌های دخیل در متابولیسم گلوکوتایون و نیز افزایش سطح اکسیدانت‌ها در کلیه می‌باشد. تمامی دوزهای دیازینون که در این تحقیق به کار رفتند باعث ایجاد التهاب و محو فضای کپسول بومن، nuclear pycnosis، تخریب سلول‌های اپیتلیال کلیوی، نکروز پروگزیمال لوله های کلیوی و انسداد وریدها شدند (۹).

در یک مطالعه دیگر پس از مواجهه با دیازینون سطح گلیکوژن در کبد کاهش و در کپسول بومن کلیه افزایش می‌یابد. به علاوه فعالیت کولین استراز در مغز مهار، در کبد کاهش و در سلول‌های گلمرولار کلیوی افزایش یافت. همچنین آنها به این نتیجه رسیدند که دیازینون در بافت کلیه رت‌ها بیشتر از مکان‌های دیگر تجمع می‌یابد (۱۴).

هر چند در این بررسی دیازینون تنها باعث ایجاد التهاب گردید ولی نتوانست تغییر قابل ملاحظه‌ای در کلیه موش‌های صحرایی ایجاد کند به نحوی که نکروز و تخریب سلول‌های اپیتلیال قابل مشاهده نبود.

Chakroborty و همکاران در یک مطالعه به بررسی اثرات تعدیل کننده سلنیوم بر سمیت سلولی ناشی از سیکلوفسفامید پرداخته و نشان دادند که دی فنیل متیل سلنوسیانات باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های گلوکوتایون-S- ترانسفراز، گلوکوتایون پراکسیداز و کاتالاز و کاهش سطح MDA می‌شود (۱۵).

Naziroglu و همکاران با استفاده از سلنیوم و دوزهای بالای ویتامین E توانستند آسیب اکسیداتیو ناشی از سیس

پلاتین را در کبد، کلیه و بافت عدسی در رت‌ها را بکاهند. سیس پلاتین (۶ mg/kg BW) به صورت داخل صفاقی به طور معناداری ( $P < 0.05$  to  $< 0.001$ ) باعث تخلیه گلوکوتایون در کلیه شد. در صورتی که ترکیب سلنیوم (۱/۵ mg/kg BW) و ویتامین E (۱۰۰۰ mg/kg BW) علاوه بر جلوگیری از تخلیه گلوکوتایون می‌تواند از نفروپاتی و کاتاراکت ناشی از سیس پلاتین ممانعت کند (۱۶).

El-demerdash و همکاران در مطالعه‌ای به بررسی اثر محافظتی ویتامین E و سلنیوم بر سمیت ناشی از آلومینیوم پرداخته و نشان دادند که AIC13 به طور معنا داری باعث القای رادیکال‌های آزاد (TBARS) و کاهش فعالیت آنزیم گلوکوتایون-S- ترانسفراز (GST) و سطح گروه‌های سولفیدریل در موش‌های صحرایی می‌شود و سلنیوم و ویتامین E این وضعیت را بهبود می‌بخشند (۱۷). غفاری و همکاران نشان دادند که مکمل یاری توأم ویتامین E و سلنیوم در موش‌های صحرایی دیابتیک شده با استرپتوزوسین احتمالاً از طریق کاهش سطح گلوکز خون، افزایش آنزیم‌های آنتی اکسیدانت بدن موجب کاهش پراکسیداسیون لیپیدی می‌شود (۱۸).

Cemek و همکاران در مطالعه‌ای به بررسی اثرات حفاظتی ویتامین E و سلنیوم در مسمومیت با حشره کش ارگانوفسفره فنتیون پرداختند. آن‌ها نشان دادند که فنتیون باعث لیپید پراکسیداسیون و تولید رادیکال‌های آزاد می‌شود. و سلنیوم و ویتامین E به طور معناداری آسیب ناشی از آن را در رت‌ها کاهش می‌دهد (۱۹).

آلبومین در کبد سنتز شده و اکثر داروها و مواد شیمیایی به وسیله آن حمل و یا به آن متصل می‌شوند (۲۰). کاهش آلبومین در پی مواجهه با ترکیبات ارگانوفسفره می‌تواند آغازگر اختلال کبدی باشد چرا که منجر به تغییر متابولیسم و نیز سنتز پروتئین و اسیدهای آمینه در کبد

فوکال و کانونی هپاتوسیت‌ها ایجاد گردید. همچنین باعث اتساع سینوزوئیدها و خونریزی در پارانشیم کبد گردید. سلنیوم در دوز ۰/۵ mg/kg مشابه گروه کنترل بود هرچند در دوز بالا ۲ mg/kg باعث فیروز و نکروز فوکال، احتقان وریدها و اسپاستی لیتیک می‌شود. در گروههایی که همراه با دیازینون سلنیوم ۰/۵ mg/kg بود باعث ارتشاح سلول‌های التهابی در پورتال تراکت و اتساع وریدهای مرکزی گردید. دیازینون همراه با سلنیوم ۲mg/kg باعث نکروز در ۳ zone کبدی و نکروز اسپاستی لیتیک می‌گردد.

این مطالعه نشان داد که دیازینون توانایی ایجاد آسیب در بافت کبد را داراست هر چند در بافت کلیه آسیب کمتری ایجاد کرد همچنین نشان داده شد که سلنیوم در دوز ۰/۵ mg/kg قادر به کاهش این آسیب بود ولی زمانی که دوز آن افزایش می‌یافت خود به‌عنوان یک عامل آسیب زا عمل کرده و منجر به نکروز و فیروز می‌گردد.

می‌شود (۲۱). سطح آلبومین در اثر مواجهه با دیازینون کاهش می‌یابد (۲۰). حشره کش‌های ارگانوفسفره معمولا باعث افزایش کلسترول تام و سطح لیپید تام می‌شود (۲۲). که این امر ناشی از تاثیر این سموم بر نفوذپذیری غشای سلول‌های کبدی است. همچنین این امر می‌تواند ناشی از بسته شدن مجاری صفراوی کبدی باشد که در پی کاهش یا قطع ترشحات به دئودنوم است (۲۳). علی‌رغم این برخی از سموم ارگانوفسفره باعث کاهش تری‌گلیسرید و VLDL می‌شوند (۲۴).

در حیواناتی که مالاتیون، کلرپریفوس و متیل پاراتیون دریافت کرده بودند انفیلتراسیون سلول‌های مونونوکلنار، هموراژی، کلسیفیکاسیون، دژنراسیون عروقی، دیلاتاسیون سینوزوئیدها، احتقان عروقی و نکروز دیده شده است که این امر وابسته به دوز بود (۲۱).

ترکیبات ارگانوفسفره از جمله دیازینون از طریق ایجاد رادیکال‌های آزاد باعث تخریب غشای هپاتوسیت‌ها می‌شوند. در گروه دریافت کننده دیازینون در کبد، نکروز

## References

- Sporn MB. Chemoprevention of cancer. Lancet. 1993 ;342(8881):1211-1213.PMID: 7901533
- Tiwari AK. Imbalance in antioxidant defence and human diseases: multiple approach of natural antioxidants therapy. CURR SCI. 2001; 81(9): 1179-1187.
- Sarabia L, Maurer I, Bustos-Obregón E. Melatonin prevents damage elicited by the organophosphorous pesticide diazinon on the mouse testis. Ecotoxicol Environ Saf. 2009 ;72(2):663-668.PMID: 18571725
- El-Shenawy NS, El-Salmy F, Al-Eisa RA, El-Ahmary B. Amelioratory effect of vitamin E on organophosphorus insecticide diazinon-induced oxidative stress in mice liver. Pestic. Biochem. Physiol.2010; 96(2):101-107.
- Garfitt 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.PMID: 12191867
- Kalender S, Ogutcu A, Uzunhisarcikli M, Acikgoz F, Durak D, Ulusoy Y, et al. Diazinon-induced hepatotoxicity and protective effect of vitamin E on some biochemical indices and ultrastructural changes. Toxicology. 2005 ;211(3):197-206.PMID: 15925023

- 
7. Hariri AT, Moallem SA, Mahmoudi M, Hosseinzadeh H. The effect of crocin and safranal, constituents of saffron, against subacute effect of diazinon on hematological and genotoxicity indices in rats. *Phytomedicine*. 2011;18(6):499-504. PMID: 21036580
  8. WHO. Diazinon (Environmental Health Criteria S.). Geneva: World Health Organization; 1998.
  9. Shah MD, Iqbal M. Diazinon-induced oxidative stress and renal dysfunction in rats. *Food Chem Toxicol*. 2010;48(12):3345-3353. PMID: 20828599
  10. Johansen J, Harris A, Rychly D, Ergul A. Oxidative stress and the use of antioxidants in diabetes: Linking basic science to clinical practice. *Cardiovasc Diabetol*. 2005;4(1):5. PMID: 15862133
  11. Valdiglesias V, Páraso E, Méndez J, LaVon B. In vitro evaluation of selenium genotoxic, cytotoxic, and protective effects: a review. *Arch Toxicol*. 2010;84(5):337-351. PMID: 20033805
  12. Almondes K, Ieal G, Cozzolino S, Philippi S, Rondó P. The role of selenoproteins in cancer. *Rev Assoc Med Bras*. 2010;56(4):484-488. PMID: 20835649
  13. El-Bayoumy K. The protective role of selenium on genetic damage and on cancer. *Mutat Res*. 2001;475(1-2):123-139. PMID: 11295158
  14. Yehia M, EL-Banna S, Okab A. Diazinon toxicity affects histophysiological and biochemical parameters in rabbits. *Exp Toxicol Pathol*. 2007;59(3-4):215-225. PMID: 17933502
  15. Chakraborty P, Hossain U, Murmu N, Das JK, Pal S, Bhattacharya S. Modulation of Cyclophosphamide-Induced Cellular Toxicity by Diphenylmethyl Selenocyanate In Vivo, an Enzymatic Study. *J. Cancer Mol*. 2009;4(6):2009.
  16. Nazıroglu M, Karaoglu A, Aksoy A. Selenium and high dose vitamin E administration protects cisplatin-induced oxidative damage to renal, liver and lens tissues in rats. *Toxicology*. 2004;195(2-3):221-230. PMID: 14751677
  17. El-Demerdash F. Antioxidant effect of vitamin E and selenium on lipid peroxidation, enzyme activities and biochemical parameters in rats exposed to aluminium. *J Trace Elem Med Biol*. 2004;18(1):113-121. PMID: 15487771
  18. Ghaffari T, Nouri M, Rashidi M, Vatankhah A, Rezazadeh H, Roshangar L. Inhibition of streptozotocin-induced oxidative stress by vitamin E and selenium supplementation in diabetic rats. *Pharm Sci*. 2009;15(3):269-278.
  19. Cemek M, Büyükben A, Büyükkuroglu M, Aymelek F, Tür L. Protective roles of vitamin E (α-tocopherol), selenium and vitamin E plus selenium in organophosphate toxicity in vivo: A comparative study. *Pestic Biochem Physiol*. 2010;96(3):113-118.
  20. Ncibi S, Othman M, Akacha A, Krifi MN, Zourgi L. Opuntia ficus indica extract protects against chlorpyrifos-induced damage on mice liver. *Food Chem Toxicol*. 2008;46(2):797-802. PMID: 17980473
  21. Ojha A, Yaduvanshi S, Srivastava N. Effect of combined exposure of commonly used organophosphate pesticides on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in rat tissues. *Pestic Biochem Physiol*. 2011;99(2):148-156.
  22. Zaahkoug SAM, Helal EGE, Abd-Rabo TEI, Rashed SZA. Carbamate toxicity and

- protective effect of Vit.A and Vit.E on some biochemical aspects of male albino rats. Egypt J Hosp Med. 2000;1:60-77.
23. 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. PMID: 21791388
24. Kalender S, Uzun FG, Durak D, Demir F, Kalender Y. Malathion-induced hepatotoxicity in rats: The effects of vitamins C and E. Food Chem Toxicol. 2010;48(2):633-638. PMID: 19941925