بررسی اثر حفاظتی روی بر بیومارکرهای آسیب اکسیداتیو در تماس حاد با مالاتیون در موش صحرایی نر

مهشید عبدالملکی[۱]، حسن قاسمی[۱]، توکل حیدری شایسته[۱]، مصطفی حسینی ذیجود[۱]، اکرم رنجبر[۱*]

۱) دانشگاه علوم پزشکی همدان

تاریخ دریافت: ۹۲/۴/۱۷ تاریخ پذیرش: ۹۲/۱۰/۱۱

چکیده

مقدمه: مالاتیون یکی از پر مصرف ترین سموم ارگانوفسفره است که به طور عمومی در دنیا استفاده می شود. علاوه بر مهار آنزیم کولین استراز در القاء استرس اکسیداتیو و افزایش اکسیدان ها نیز نقش دارد. از طرفی دیگر روی نیز یک عنصر حیاتی و اساسی بوده که خاصیت آنتی اکسیدانی داشته و نقش محافظت کننده ای در برابر رادیکال های آزاد ایفاء می کند. هدف از این مطالعه، بررسی اثر روی بر مسمومیت با آفت کش ارگانو فسفره همانند مالاتیون در موش صحرایی نر بود.

مواد و روش ها: در این مطالعه از ۲۰ راس موش صحرایی نر نژاد ویستار با محدوده وزنی ۲۵۰-۱۸۰گرم، استفاده شد. ابتدا حیوانات به طور تصادفی به چهار گروه(هر گروه ۵ سر) تقسیم شدند. چهار گروه ۵ تایی که گروه تیمار با مالاتیون(۲۵۰ mg/kg به روش داخل صفاقی) و گروه شاهد تیمار با نرمال سالین و گروه درمان با روی(۵ mg/kg) و گروه درمان با روی و مالاتیون ۲۵۰mg/kg+۵mg/kg به عنوان گروه های مورد مطالعه انتخاب شدند و بعد از ۴۸ ساعت حیوانات را کشته و در نمونه پلاسمای خون آن ها فعالیت آنزیم کولین استراز، ظرفیت آنتی اکسیدان های تام و گروه های تیول پلاسما اندازه گیری شد. سپس داده ها توسط نرم افزار SPSS و با آزمون آماری OneWayANOVA مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. سطح معنی داری $P<0.05$ در نظر گرفته شد.

یافته های پژوهش: نتایج تست های آماری نشان داد که مالاتیون میزان فعالیت آنزیم کولین استراز و هم چنین ظرفیت آنتی اکسیدان های تام و گروه های تیول پلاسما را در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی داری داده است. در حالی که روی ظرفیت آنتی اکسیدان های تام و گروه های تیول پلاسما را در مقایسه با گروه مالاتیون افزایش معنی داری داد.

بحث و نتیجه گیری: با توجه به نتایج فوق به نظر می رسد که روی می تواند باعث کاهش اثرات سمی مالاتیون که از طریق افزایش رادیکال های آزاد ایجاد می گردد، شود و شاید در درمان مسمومیت های حاد و مزمن با ارگانو فسفره هایی همانند مالاتیون گردد

واژه های کلیدی: مالاتیون، روی، رت، استرس اکسیداتیو

* نویسنده مسئول: دانشگاه علوم پزشکی همدان

Email: *akranjbar1389@yahoo.com*

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-12]

مقدمه

ترکیبات ارگانوفسفره یکی از عمومی ترین مواد شیمیایی هستند که در محیط زیست، آفت ها و حشرات را کنترل می کنند. مکانیسم اصلی سمیت آفت کش های ارگانوفسفره، مهار غیر قابل برگشت فعالیت آنزیم استیل کولین استراز(AChE) در سیستم عصبی مرکزی و محیطی می باشد،(۱،۲). مالاتیون یکی از ترکیباتی است که به طور عمومی در دنیا به خصوص در کشورهای در حال توسعه استفاده می شود. علاوه بر مهار آنزیم AChE، استرس اکسیداتیو نیز به عنوان یک مکانیسم مولکولی اصلی در سمیت مالاتیون در پلاسما، کبد، پانکراس، عضلات و مغز شناخته شده است.(۳،۴)

ارگانوفسفره ها با مهار آنزیم کولین استراز سبب افزایش استیل کولین و بنا بر این تحریک رسپتورهای نیکوتینی و موسکارینی می شوند،(۵ ،۶). مالاتیون یک ارگانوفسفره تماسی است که به طور گسترده به عنوان حشره کش و آفت کش و به عنوان داوری ضد کرم در دام پزشکی استفاده می شود،(۷). مطالعات نشان می دهد که اثرات سمی برخی از ارگانوفسفره ها محدود به مهار آنزیم کولین استراز نیست، بلکه به دنبال بحران کلینرژیک تغییراتی مانند آسیب به غشاهای سلولی، تولید گونه های فعال اکسیژن ROS و اختلال در سیستم آنتی اکسیدانی بدن نیز مشاهده می شود،(۸). در شرایط طبیعی بین تولید و حذف گونه های فعال اکسیژن دار تعادل وجود دارد. عدم تعادل در این فرایند موجب استرس اکسیداتیو خواهد شد.(۹،۱۰)

در بدن سیستم های دفاعی خاصی برای مقابله با آسیب این گونه های فعال تعبیه شده است که عبارتند از سیستم های دفاع آنتی اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی. برای افزایش دفاع آنتی اکسیدانی می توان از مود آنتی اکسیدانی مانند ترکیبات حاوی فلاوونوئید یا موادی مانند سلنیم و... استفاده نمود.(۱۱،۱۲)

از طرفی دیگر عنصر روی یک عنصر حیاتی و اساسی بوده که ارتباط نزدیکی با فعالیت بیش از ۳۰۰ آنزیم به خصوص پلیمراز و سایر متالوآنزیم ها سنتز پروتئین ها و نوکلئیک اسیدها و تقسیم سلولی دارد هم چنین در فعالیت تولید مثل، اسپرماتوژنز و پایدار ماندن ساختمان کروماتین در هسته سلولی دارای نقش به سزایی است. روی یک عنصر آنتی اکسیدانی است و نقش مهم و محافظت کننده ای در برابر گونه های فعال اکسیژن دار دارد،(۱۵-۱۳). بنا بر این با توجه به مکانیسم های جدید سمیت آفت کش های ارگانو فسفره این مطالعه به منظور بررسی اثرات درمانی روی را بر تماس حاد با مالاتیون انجام گرفته تا اثرات درمانی ترکیباتی همانند عنصر روی در این گونه مسمومیت ها از طریق کاهش آسیب ناشی از گونه های فعال اکسیژن دار بررسی شود.

مواد و روش ها

در این مطالعه تجربی از موش صحرایی نر نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۵۰-۱۸۰ گرم استفاده شد. حیوانات در شرایط حیوانخانه با دسترسی آزاد به آب و غذا و برخوردار بودن از ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند. موازین اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت شد. سپس حیوانات به طور تصادفی به چهار گروه(۵ راس موش در هر گروه) تقسیم شدند. گروه های مورد مطالعه شامل، گروه تیمار با مالاتیون(۲۵۰mg/kg به روش داخل صفاقی) و گروه شاهد تیمار با نرمال سالین، گروه تیمار با روی(۵ mg/kg) و گروه تیمار با روی و مالاتیون(mg/kg ۵+۲۵۰mg/kg)،(۱۶)، به عنوان گروه های مورد مطالعه انتخاب شدند. و بعد از ۴۸ ساعت حیوانات را کشته و در نمونه پلاسمای خون آن ها بیومارکرهای زیراندازه گیری شد.

اندازه گیری میزان ظرفیت آنتی اکسیدان های تام پلاسما(TAC) به روش FRAP: این روش بر اساس توانایی پلاسما در احیای یون های Fe^{3+}(فریک) به Fe^{2+}(فرو) در حضور ماده ای به نام(tripuridyl-S-triazine) TPTZ استوار است. کمپلکس Fe^{2+} +TPTZ، کمپلکس آبی رنگی با ماکزیمم جذب در nm ۵۹۳ است. میزان قدرت احیاء کنندگی پلاسما یا هر نمونه ای از طریق افزایش غلظت کمپلکس فوق توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه گیری می شود.(۱۷)

اندازه گیری میزان گروه های تیول پلاسما(TTG): گروه های تیول پلاسما نیز یکی دیگر از مارکرهای آسیب رادیکال های آزاد می باشد. این عومل به آسیب اکسیداتیو حساس بوده و در نتیجه این آسیب ها کاهش می یابند. برای ارزیابی این عوامل از روش کالریمتری Hu از معرف ۲ دی تیو نیتروبنزوئیک اسید(DTNB) در طول موج ۴۱۲nm استفاده شد.(۱۸)

اندازه گیری فعالیت آنزیم کولین استراز(ChE): روش متداول برای اندازه گیری فعالیت آنزیم کولین استراز روش Ellman است که از سال ۱۹۶۱ رایج شد. در این روش فعالیت این آنزیم در پلاسما و گلبول قرمز اندازه گیری می

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-12]

شود. در این روش از معرف Ellman(۲ دی تیو نیتروبنزوئیک اسید DTNB) و دستگاه اسپکتروفتومتر، طول موج ۴۱۲nm استفاده شد.(۱۹)

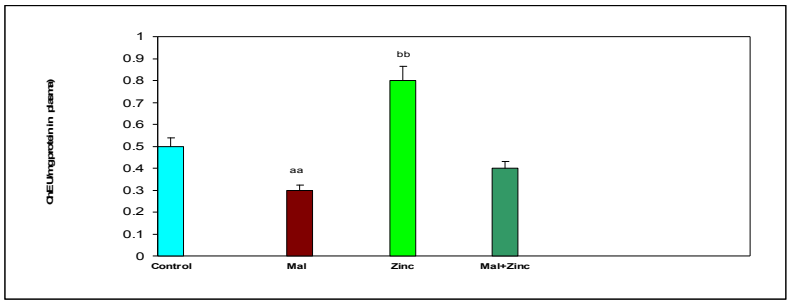
در این مطالعه ، داده ها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS vol.16 تجزیه و تحلیل شد. بعد از انجام تست نرمالیته (Kolmogorov Smirnov)K.S از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه One-way ANONA و Post Hoc توکی برای مقایسه میانگین گروه ها استفاده شد. P<0.05 معنی دار در نظر گرفته شد. نتایج به صورت میانگین±انحراف معیار بیان شد.

یافته های پژوهش

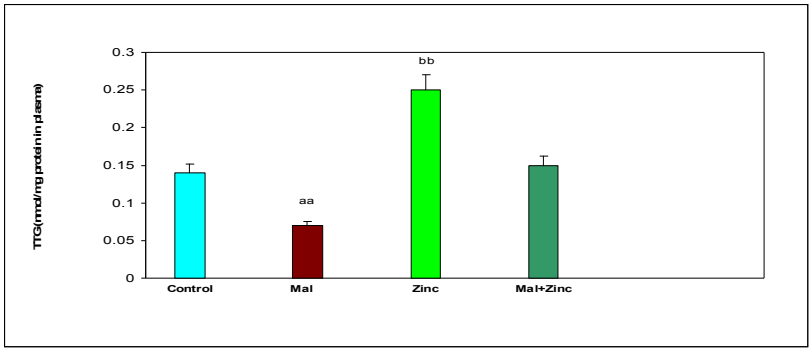
فعالیت آنزیم کولین استراز در گروهی که مالاتیون دریافت کردند نسبت به گروه کنترل کاهش معنی داری یافت.(P<0.05) هم چنین گروهی که روی دریافت کردند افزایش معنی داری نسبت به گروهی که مالاتیون دریافت کردند، نشان داد.(P<0.05، نمودار شماره ۱)

گروه های تیول پلاسما در گروهی که مالاتیون دریافت کردند نسبت به گروه کنترل کاهش معنی داری نشان داد.(P<0.05) هم چنین گروه های تیول در گروهی که روی دریافت نمودند افزایش معنی داری در مقایسه با گروهی که مالاتیون دریافت نمودند، نشان داد.(P<0.05، نمودار شماره ۲)

ظرفیت آنتی اکسیدان های تام پلاسما نیز به طور معنی داری در گروهی که مالاتیون دریافت کردند، نسبت به گروه کنترل کاهش یافت.(P<0.05) هم چنین در گروهی که روی دریافت کرده بودند، ظرفیت آنتی اکسیدان های تام پلاسما افزایش معنی داری در مقایسه با گروهی که مالاتیون دریافت نمودند، نشان داد.(P<0.05، نمودار شماره ۳)

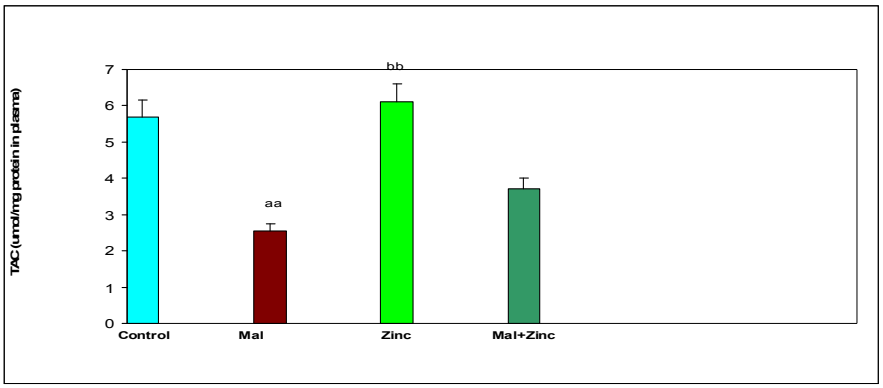


نمودار شماره ۱. میزان فعالیت آنزیم کولین استراز پلاسما در گروه های مورد مطالعه داده ها به صورت (Mean±SE, 95% CI) در گروه های مورد مطالعه n=5 می باشد. [aa] اختلاف معنی دار با گروه کنترل [bb] اختلاف معنی دار با گروه مالاتیون. گروه ها: کنترل، مالاتیون، روی، روی+ مالاتیون



نمودار شماره ۲. میزان گروه های تیول پلاسما در گروه های مورد مطالعهداده ها به صورت (Mean±SE, 95% CI) در گروه های مورد مطالعه n=5 می باشد. [aa] اختلاف معنی دار با گروه کنترل [bb] اختلاف معنی دار با گروه مالاتیون. گروه ها: کنترل، مالاتیون، روی، روی+ مالاتیون

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-12]



نمودار شماره ۳. میزان ظرفیت آنتی اکسیدان های تام پلاسما در گروه های مورد مطالعه داده ها به صورت (Mean±SE, 95% CI) در گروه های مورد مطالعه n=5 می باشد. [aa] اختلاف معنی دار با گروه کنترل [bb] اختلاف معنی دار با گروه مالاتیون. گروه ها: کنترل، مالاتیون، روی، روی+ مالاتیون

بحث و نتیجه گیری

نتایج این مطالعه سمیت مالاتیون را در القاء آسیب اکسیداتیو را نشان می دهد. نتایج فعالیت آنزیم کولین استراز در گروهی که مالاتیون دریافت کردن کاهش را نشان داد. هم چنین قدرت آنتی اکسیدانی و گروه های تیول در پاسخ به تماس مالاتیون کاهش نشان داد. ولی روی قادر است که تغییرات القاء شده توسط مالاتیون را در اغلب بیومارکرهای تست شده بهبود بخشد. مالاتیون به تنهایی فعالیت Redox-cycling دارد جائی که آن یک الکترون برای تشکیل رادیکال های آزاد و سپس انتقال آن ها به اکسیژن برای تشکیل آنیون سوپراکسید و پراکسید هیدروژن از طریق واکنش های زنجیره ای صورت می گیرد. هم چنین ثابت شده است که ارگانوفسفره ها هموستاز طبیعی آنتی اکسیدانی را ابتدا از طریق فعال سازی فعالیت آنتی اکسیدانی تغییر می دهند و سپس اگر لازم شد آنتی اکسیدان های دیگری که در این جا ذکر نشده است در تماس حاد و مزمن کاهش دهند،(۱۳،۲۰). که مطالعه حاضر نیز این نتایج مشابهی را نشان داد.

محققین در مطالعه ای در سال ۲۰۰۱ اثر روی خوراکی بر آسیب کبدی ناشی از کلرودیفوس در رت به این نتیجه رسیدند که به نظر می رسد روی هپاتوسیت های کبد را در برابر مسمومیت با ارگانوفسفره ها محافظت می کند،(۲۱). که در این مطالعه روی بیومارکرهای استرس اکسیداتیو را تقریباً در نمونه های تست شده بهبود بخشیده است. البته در مطالعه دیگری Ebisch و همکاران در سال ۲۰۰۷ با عنوان بررسی اهمیت آنتی اکسیدان های روی و فولات در جلوگیری از ناباروری به این نتیجه رسیدند که مواد مغذی همانند روی با تاثیر بر فرایندهای بیولوژیکی بدن در بهبود ناباروری موثر می باشد.(۲۲)

در مطالعه دیگری نیز اثر روی بر سمیت ناشی از مالاتیون در تماس های مزمن بررسی شد که نتایج مطالعه نشان داد که روی از تخریب کامل آنزیم استیل کولین استراز جلوگیری نکرد و تجویز روی بیان HSP60 را افزایش داد اما بیان ژن HSP70 را تغییر نداد و اثرات غیر کولینرژیکی مالاتیون(اثر بر آنزیم های آنتی اکسیدانی) توسط روی بهبود می یابد،(۲۳)، که مشابه نتایج این بررسی می باشد و تفاوت آن با این مطالعه این است که نوع این مطالعه سمیت حاد می باشد.

مواد آنتی اکسیدانی زیادی سمیت اکسیدانی ناشی از ارگانوفسفره ها به خصوص مالاتیون را تعدیل می نمایند،(۲۶-۲۴). که با توجه به مطالعه حاضر روی نیز در کاهش سمیت این سموم می تواند موثر باشد. و شاید به درمان مسمومیت های حاد و مزمن این سموم کمک نماید. اثرات آنتی اکسیداتیوی بسیاری از موادی همانند روی در کاهش سمیت غیر کولینرژیکی سموم ارگانو فسفره شاید از طریق مکانیسم های سلولی و مولکولی دقیق تری باشد که نیاز به انجام تحقیقات بیشتری دارد همانند بیان آنزیم های آنتی اکسیدانی و مسیرهای مرگ سلولی که می تواند در درمان مسمومیت های حاد و مزمن سموم ارگانوفسفره مفید باشد.

سپاسگزاری

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-12]

بدین وسیله نویسندگان از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی همدان و کمیته تحقیقات دانشجویی که این پژوهش را مورد حمایت قرار دادند کمال تشکر و قدردانی را دارند.

References

1.Marrs TC. Organophosphate poisoning. Pharmacology & therapeutics. 1993;58:51-66.
2.Kosolapoff GM. Organophosphorus compounds: Wiley New York; 1950.
3.Jira D, Janousek S, Pikula J, Vitula F, Kejlova K. Toxicity hazard of organophosphate insecticide malathion identified by in vitro methods. Neuroendocrinol Lett 2012;33:3-9.
4.Uzun FG, Kalender S, Durak D, Demir F, Kalender Y. Malathion-induced testicular toxicity in male rats and the protective effect of vitamins C and E. Food Chem Toxicol 2009;47:1903-8.
5.Abdollahi M, Ranjbar A, Shadnia S, Nikfar S, Rezaie A. Pesticides and oxidative stress: a review. Int Med J Exper Clin Res 2004;10:RA141-7.
6.Bayr H. Reactive oxygen species. Critical care medicine. 2005;33:S498-S501.
7.Aldridge W, Miles J, Mount D, Verschoyle R. The toxicological properties of impurities in malathion. Arch Toxicol 1978; 42:95-106.
8.Ranjbar A, Pasalar P, Abdollahi M. Induction of oxidative stress and acetylcholinesterase inhibition in organophosphorous pesticide manufacturing workers. Human Exper Toxicol 2002;21:179-82.
9.Mittler R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Trend Plant Sci2002; 7:405-10.
10.Thomas DD. Oxidative Stress. Encyclopedia of Biophysics: Springer; 2013. p. 1813-8.
11.Jacob RA. The integrated antioxidant system. Nutr Res 1995;15:755-66.
12.Rodrigo R, Miranda A, Vergara L. Modulation of endogenous antioxidant system by wine polyphenols in human disease. Clin Chim Acta 2011;412:410-24.
13.Powell SR. The antioxidant properties of zinc. J Nutr 2000;130:1447S-54S.
14.Bray TM, Bettger WJ. The physiological role of zinc as an antioxidant. Free Rad Biol Med 1990;8:281-91.
15.Li B, Tan Y, Sun W, Fu Y, Miao L, Cai L. The role of zinc in the prevention of diabetic cardiomyopathy and nephropathy. Toxicol Mechanism Method 2013;23:27-33.
16.Maris AF, Franco JL, Mitozo PA, Paviani G, Borowski C, Trevisan R, et al. Gender Effects of Acute Malathion or Zinc Exposure on the Antioxidant Response of Rat Hippocampus and Cerebral Cortex. Bas Clin Pharmacol Toxicol 2010;107:965-70.
17.Benzie IF, Strain J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. Anal Biochem 1996;239:70-6.
18.Hu M, Dillard C. Plasma SH and GSH measurement. Method Enzymol1994; 233:87-93.
19.Ellman GL, Courtney KD, Featherstone RM. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. Biochem Pharmacol 1961;7:88-95.
20.Ranjbar A, Solhi H, Mashayekhi FJ, Susanabdi A, Rezaie A, Abdollahi M. Oxidative stress in acute human poisoning with organophosphorus insecticides; a case control study. Environ Toxicol Pharmacol 2005; 20:88-91.
21.Goel A, Dhawan DK. Zinc supplementation prevents liver injury in chlorpyrifos-treated rats. Biol Trace Element Res 2001; 82:185-200.
22.Ebisch I, Thomas C, Peters W, Braat D, Steegers-Theunissen R. The importance of folate, zinc and antioxidants in the pathogenesis and prevention of subfertility. Human Reproduc Update 2007;13:163-74.
23.Franco JL, Posser T, Mattos JJ, Trevisan R, Brocardo PS, Rodrigues ALS, et al. Zinc reverses malathion-induced impairment in antioxidant defenses. Toxicol Lett 2009; 187:137-43.
24.Ranjbar A, Ghahremani MH, Sharifzadeh M, Golestani A, Ghazi-Khansari M, Baeeri M, et al. Protection by pentoxifylline of malathion-induced toxic stress and mitochondrial damage in rat brain. Human Exper Toxicol 2010;29:851-64.
25.Aboul-Soud M, Al-Othman MA, El-Desoky EG, Al-Othman AZ, Yusuf K, Ahmad J, et al. Hepatoprotective effects of vitamin

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-12]

E/selenium against malathion-induced injuries on the antioxidant status and apoptosis-related gene expression in rats. J Toxicol Sci 2011;36:285-96.

26.Uzun FG, Kalender Y. Protective Effect of Vitamins C and E on Malathion-Induced Nephrotoxicity in Male Rats. Gazi Uni J Sci 2011;24:193-201.

Assessing the Protective Effects of Zinc on Oxidative Injury Biomarkers in Acute Malathion Induction In Male Rats

Abdolmaleki M[1], Ghasemi H[1], Heidarishayesteh T[1], Hosseinizaijood M[1], Ranjbar A[1]*

(Recived: July 8, 2013 Accepted: January 1, 2014)

Abstract

Introduction: Malathion is one of the most common toxic organophosphorus insecticides (OPIs) which is normally used in the world. In addition to enzyme inhibition, cholinesterase also plays a role in the induction of oxidative stress and increased oxidants. On the other hand, zing is a crucial element that has antioxidant properties and protects against free radicals. The objective of this study was to investigate the possible protective effects of zinc on organophosphate pesticide poisoning similar to malathion in male rats.

Materials & Methods: 20 male Male Wistar rats weighing 250-180Grm were used in this study. The 20 male rats were equally divided in to 4 groups (5 rats each). Group I (control), while Group II was given malahion. Animals of Groups III received only zinc. Group IV was given zinc+ malathion once for acute test. After the treatment, blood was isolated. The animals were killed after 48 hours and cholinestrase activity (ChE) and oxidative stress marker such as total thiol groups (TTG) and total antioxidant capacity (TAC) concentration was measured. Data were then analyzed through SPSS software by One Way Anova analysis. The significance level was cons-idered to be $p<0.05$.

Findings: Results of data analysis showed that malathion significantly reduced the activity of ChE enzyme, TTG and TAC in blood in comparison to the control group. However, zing significantly increased the capacity of TTG and TAC in comparison to the malathion group.

Discussion & Conclusion: Based on the above findings, it can be suggested that zinc can reduce the oxidative damage of malathion by increasing free radicals and can be used in organophosphate pesticide poisoning such as malathion.

Keywords: Malathion, zinc, rat, oxidative stress

1.Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran
**(corresponding author)*

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-12]