

Original Paper

Effect of garlic extract and N-acetylcysteine against fenvalerate-induced oxidative stress in the serum and testis tissue of rat

Parisa Raji (M.Sc), M.Sc in Biochemistry, Department of Cellular and Molecular Biology, Faculty of Basic Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran. ORCID ID: 0000-0002-7484-2222

***Bagher Seyedalipour (Ph.D)**, **Corresponding Author**, Assistant Professor, Department of Cellular and Molecular Biology, Faculty of Basic Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran. b.seyedalipour@umz.ac.ir ORCID ID: 0000-0002-3854-9328

Akbar Hajizadeh Moghaddam (Ph.D), Associate Professor, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran. ORCID ID: 0000-0002-0843-8440

Abstract

Background and Objective: Fenvalerate is a component of the pyrethroid pesticide induces oxidative stress. This study was done to determine the effect of garlic extract (GE) and N-acetylcysteine (NAC) against fenvalerate-induced oxidative stress in the serum and testis tissue of rat.

Methods: In this experimental study, 42 Wistar rats were randomly allocated into 7 groups including: control group, sham group (normal saline), the first experimental group receiving NAC (80 mg/kg/bw), the second experimental group receiving fenvalerate (10 mg/kg/bw), the third experimental group receiving fenvalerate (10 mg/kg/bw) + garlic extract (40 mg/kg/bw), the fourth experimental group receiving fenvalerate (10 mg/kg/bw) + NAC (80 mg/kg/bw) and the fifth experimental group receiving fenvalerate (10 mg/kg/bw) + garlic extract (40 mg/kg/bw) + NAC (80 mg/kg/bw). Injection of fenvalerate was performed intraperitoneally for 7 consecutive days in animals of intervention groups. Afterwards, for 10 consecutive days, NAC and garlic extract were injected. In this study, 1/40 LD50 fenvalerate was used. The activity of the catalase (CAT), glutathione S-transferase (GST), malondialdehyde (MDA) and total antioxidant capacity (TAC) were determined in serum and testis tissue in all animals.

Results: MDA level of serum and testis tissue in fenvalerate group increased significantly compared to the control group ($P<0.05$). The injection of NAC and garlic extract alone ($P<0.05$) as well as garlic extract in combination with NAC reduced MDA level of serum and testis tissue compared to fenvalerate group ($P<0.05$). Serum TAC level was significantly reduced in fenvalerate group compared to control ($P<0.05$). Serum TAC level was significantly increased in fenvalerate + GE group, fenvalerate + NAC group and fenvalerate + GE + NAC group compared to the fenvalerate group ($P<0.05$). GST activity of serum was significantly increased in fenvalerate group compared to control ($P<0.05$). GST activity of serum was significantly reduced in NAC, garlic extract and combination of NAC and garlic extract groups compared to fenvalerate group ($P<0.05$).

Conclusion: In this animal model study, low dose (10 mg/kg/bw) fenvalerate induces oxidative stress. Garlic extract and N-acetylcysteine (alone and in combination) improve injures caused by fenvalerate.

Keywords: Garlic extract, N-acetylcysteine, Fenvalerate, Antioxidant enzymes, Oxidative stress, Rat

Received 6 May 2018

Revised 23 Jun 2018

Accepted 27 Jun 2018

اثر عصاره هیدروالکلی سیر و N-استیل سیستئین بر استرس اکسیداتیو ناشی از فن والریت بر سرم و بیضه موش صحرایی

ORCID ID: 0000-0002-7484-2222

پریسا راجی، کارشناس ارشد بیوشیمی، گروه سلولی و مولکولی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران، ایران.

ORCID ID: 0000-0002-3854-9328

* دکتر باقر سیدعلیپور، استادیار، گروه زیست سلولی و مولکولی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران.

ORCID ID: 0000-0002-0843-8440

دکتر اکبر حاجی زاده مقدم، دانشیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: فن والریت (Fenvalerate) جزء حشره کش پیرتروئیدی است که سبب القاء استرس اکسیداتیو می شود. این مطالعه به منظور تعیین اثر عصاره هیدروالکلی سیر (Garlic extract:GE) و N-استیل سیستئین (N-acetylcysteine: NAC) بر استرس اکسیداتیو ناشی از القاء فن والریت بر سرم و بیضه موش صحرایی انجام شد.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی ۴۲ سر موش صحرایی به طور تصادفی در ۷ گروه ۶ تایی قرار گرفتند. گروه ها شامل کنترل، شرم (نرمال سالین)، گروه تجربی اول دریافت کننده داخل صفاقی N-استیل سیستئین (۸۰ mg/kg/bw)، گروه تجربی دوم دریافت کننده فن والریت (۱۰ mg/kg/bw)، گروه تجربی سوم دریافت کننده عصاره هیدروالکلی سیر (۴۰ mg/kg/bw) به علاوه فن والریت (۱۰ mg/kg/bw)، گروه تجربی چهارم دریافت کننده N-استیل سیستئین (۸۰ mg/kg/bw) به علاوه فن والریت (۱۰ mg/kg/bw) و گروه تجربی پنجم دریافت کننده N-استیل سیستئین (۸۰ mg/kg/bw) به علاوه عصاره هیدروالکلی سیر (۴۰ mg/kg/bw) به علاوه فن والریت (۱۰ mg/kg/bw) بودند. تزریق فن والریت به صورت داخل صفاقی به مدت ۷ روز متوالی برای گروه های تجربی انجام شد. پس از آن برای ۱۰ روز متوالی N-استیل سیستئین و عصاره سیر تزریق شد. در این مطالعه از یک چهارم LD50 فن والریت استفاده شد. بعد از خونگیری، جدا سازی سرم و بیضه، فعالیت آنزیم های کاتالاز (activity of the catalase: CAT)، گلوکاتایون s-ترانسفراز (Glutathione S-transferase: GST)، سطح مالون دی آلدئید (malondialdehyde: MDA) و آنتی اکسیدان تام (total antioxidant capacity: TAC) اندازه گیری و مقایسه گردید.

یافته ها: سطح MDA سرم و بیضه گروه فن والریت در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی داری افزایش یافت ($P < 0/05$). تزریق N-استیل سیستئین و عصاره هیدروالکلی سیر به تنهایی و نیز عصاره هیدروالکلی سیر در ترکیب با N-استیل سیستئین باعث کاهش آماری معنی دار MDA در مقایسه با گروه فن والریت در بیضه و سرم شد ($P < 0/05$). سطح TAC سرم در گروه فن والریت در مقایسه با گروه کنترل کاهش آماری معنی داری یافت ($P < 0/05$). سطح TAC سرم در گروه های تجربی سوم، چهارم و پنجم در مقایسه با گروه فن والریت افزایش آماری معنی داری نشان داد ($P < 0/05$). فعالیت GST سرم در گروه فن والریت نسبت به کنترل افزایش یافت ($P < 0/05$). تزریق N-استیل سیستئین و عصاره هیدروالکلی سیر به تنهایی و در ترکیب با هم باعث کاهش آماری معنی دار GST سرم در مقایسه با گروه دریافت کننده فن والریت شد ($P < 0/05$).

نتیجه گیری: فن والریت در دوز پایین (۱۰ mg/kg/bw) سبب ایجاد استرس اکسیداتیو می شود. تزریق N-استیل سیستئین و عصاره هیدروالکلی سیر به تنهایی و در ترکیب با هم، می توانند آسیب ناشی از فن والریت را بهبود دهند.

کلید واژه ها: عصاره هیدروالکلی سیر، N-استیل سیستئین، فن والریت، آنزیم های آنتی اکسیدان، استرس اکسیداتیو، موش صحرایی

* نویسنده مسؤول: دکتر باقر سیدعلیپور، پست الکترونیکی b.seyedalipour@umz.ac.ir

نشانی: بابلسر، دانشگاه مازندران، دانشکده علوم پایه، گروه زیست سلولی و مولکولی، تلفن ۰۱۱-۳۵۳۰۲۴۰۵

وصول مقاله: ۱۳۹۷/۲/۱۶، اصلاح نهایی: ۱۳۹۷/۴/۲، پذیرش مقاله: ۱۳۹۷/۴/۶

مقدمه

عنوان پیرتروئید طبیعی به مدت طولانی شناخته شده که استرهای پیرو توییک اسید موجود در آن مسؤول فعالیت حشره کشی پیرو تویید است (۲). پیرو توییدها را می توان به دو نوع عمده تیپ یک و دو تقسیم کرد. تیپ یک (T): پیرو تویید سنتزی نوع یک با ساختمان سیکلو پروپان کربوکسیلیک استر مانند پرمترین و آلترین

سموم پیرو تروئید مانند فن والریت و دلتامترین در کشاورزی کاربرد بسیاری دارند. منبع آلودگی شیمیایی محیط زیست به دلیل استفاده گسترده آنها در کشاورزی بوده و اثرات نامطلوب آفت کش ها به عنوان یک نگرانی جدی در طول چند دهه گذشته شناخته شده است (۱). عصاره گل داوودی (*Chrysanthemum*) به

N-استیل سیستین (N-acetylcysteine: NAC) فرم استیله اسید آمینه L-سیستین است و به سنتز گلو تاتیون کمک نموده و به عنوان سم زدایی کننده و همچنین دارای عملکرد مستقیم به عنوان ازبین برنده رادیکال های آزاد است. در بعضی از مطالعات گزارش شده NAC یکی از ماده موثر در گیاهان آلیوم است (۱۲). NAC تلفیقی از گروه های تیول سلولی است و برای محافظت از سلول ها در برابر حمله واسطه های اکسیژن فعال استفاده می شود. به دلیل وجود اسید آمینه حاوی گوگرد در NAC دارای بسیاری از خواص بیولوژیکی است که آن را به عنوان یک دارو با برنامه های متعدد درمانی مورد استفاده قرار می دهند. تفاوت در دوز و زمان مواجهه وجه تمایز مطالعاتی مختلف در ارتباط با سموم و نقش محافظتی ترکیبات آنتی اکسیدان است. به دلیل تنوع در دریافت دوز و اثرات مختلف در سرم و بافت بیضه، پژوهش در جهت درک مکانیسم این ترکیبات ضروری است. مطالعات در خصوص اثرات فن والریت و نقش عصاره سیر و N-استیل سیستین به تنهایی و در ترکیب با هم بر سیستم آنتی اکسیدان به صورت *in vivo* به خصوص در سرم و بافت بیضه ارایه نشد. این مطالعه به منظور تعیین اثر عصاره هیدروالکلی سیر و N-استیل سیستین بر استرس اکسیداتیو ناشی از القاء فن والریت بر سرم و بیضه موش صحرائی انجام شد.

روش بررسی

این مطالعه تجربی روی ۴۲ سر موش صحرائی نر بالغ نژاد ویستار با محدوده سنی ۱۴-۱۲ هفته و محدوده وزنی ۲۲۰-۱۷۰ گرم تهیه شده از پژوهشکده انستیتو پاستور آمل در دانشکده علوم پایه دانشگاه مازندران واحد بابلسر طی سال ۱۳۹۶ انجام شد.

مطالعه مورد تایید کمیته اخلاق (IR.UMZ.REC.396006) دانشگاه مازندران قرار گرفت.

موش های صحرائی در لانه حیوانات به صورت گروهی در شرایط نور کافی اتاق (۱۲ ساعت تاریکی - روشنایی)، محدوده دمایی ۲۴-۲۲ درجه سانتی گراد و مطابق اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی نگهداری شدند.

فن والریت (FV)، N-استیل سیستین (NAC)، ۱-کلرو ۲،۴ دی نیترو بنزن (CDNB)، ۲، ۴، ۶ تریس (۲-پیریدیل)، S-تریزین (TPTZ)، تری کلرواستیک اسید (TCA) و H₂O₂ از شرکت های مرک و سیگما آلد ریچ خریداری شدند.

برای تهیه عصاره هیدروالکلی سیر، حبه های سیر مورد استفاده از گونه *Allium sativum L* از استان همدان تهیه و توسط متخصص گیاه شناسی دانشگاه مازندران با کد هر بار یوم ۸۱۱۹ شناسایی گردید. بعد از جدا کردن پوست، حبه های سیر تازه با آب مقطر استریل شسته و تمیز شدند و سپس با اسکالپل به قطعات کوچک تر تقسیم شدند و در ادامه سیر تمیز شده به طور جداگانه خورد و له گردید.

هستند. تیپ ۲ (CS): در این نوع پیرتروئیدهای حاوی Cyanomoiety مانند فن والریت (Fenvalerate) و دلناترین قرار دارند. Chargui و همکاران گزارش نمودند به دلیل متابولیسم سریع و سمیت کم برای حیوانات غیرهدف و همچنین توان بالقوه آنها در ازبین بردن بسیاری از آفات، کشورهای زیادی از این سم استفاده می کنند (۳). فن والریت برای محافظت یک طیف گسترده ای از محصولات مانند پنبه، سویا، سبزیجات و سیب استفاده می شود. بر اساس گزارش ها فن والریت سبب ایجاد استرس اکسیداتیو و ROS می گردد. عدم تعادل در تولید و حذف ROSها توسط بدن، منجر به استرس اکسیداتیو و تغییرات پاتولوژیکی در سلول های مختلف می شود (۴). فن والریت از طریق اختلال در آنزیم کولین استراز بر سیستم عصبی تاثیر می گذارد. همچنین فن والریت با کاهش توده بدن، افزایش توده کبد و گسترش شبکه آندوپلاسمی صاف در سلول های کبدی در ارتباط است و همچنین باعث افزایش فعالیت آنزیم های ALT و AST می شود (۵). پیرتروئیدها از طریق تولید رادیکال های آزاد باعث تغییر فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان نظیر کاتالاز (activity of the catalase: CAT)، گلو تاتیون s-ترانسفراز (Glutathione S-transferase: GST) و سطح مالون دی آلدئید (malondialdehyde: MDA) در بافت کلیه، کبد و بیضه شده که در نهایت منجر به استرس اکسیداتیو می شوند (۶).

سیر با نام علمی *Allium Sativum* از خانواده *Alliaceae* و جزء گیاهان دارویی است. از لحاظ دارویی نیز مورد توجه بوده و در طول تاریخ برای درمان اسهال شدید، بیوست و عفونت های انگلی و برای پایین آوردن تب، مبارزه با عفونت گوش و تسکین درد معده استفاده شده است (۷). ترکیبات موجود در سیر به دو گروه سولفورده که حداقل دارای ۳۳ ترکیبات گوگردار مانند آلین، آلیسین، S-آلیل سیستین (SAC) و S-آلیل مر کاپتو سیستین (SAMC) تقسیم می شوند. آلین مهم ترین ترکیب سیر است که یک آلکیل مشتق شده از سولفو کسید سیستین است و ترکیب بیولوژیکی فعال آن، آلیسین نام دارد. یکی دیگر از ترکیبات سولفوردار که در سیر تازه وجود دارد؛ گاما گلو تاملیل سیستین است که پس از هیدرولیز شدن و اکسید شدن به آلین تبدیل می شود (۸). اثرات مفید SAC در ایسکمی مغزی، نقش مکانیسم حفاظتی آن با مهار رادیکال های آزاد به واسطه پراکسیداسیون لیپیدی است (۹). S-آلیل سیستین و عصاره سیر سبب کاهش MDA، فعالیت آنزیم گلو تاتیون پراکسیداز و کلسترول در سرم و سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز در بافت کبدی می شود (۱۰). برخی از اجزای سیر فعالیت ضدسرطانی دارند. پس از واکنش با آنتی اکسیدان های اندوژن از جمله سیستین و گلو تاتیون، اکثریت سولفیدهای آلیل سیر به S-آلیل مر کاپتو گلو تاتیون کوئز وگه تبدیل می شود (۱۱).

سپس در بالن یک لیتری به ازای هر ۵۰ گرم از سیر خورد (له) شده، ۴۰۰ میلی لیتر الکل ۹۶ درصد اضافه و به مدت ۴۸ ساعت خیسانده شد. سپس توسط کاغذ صافی و قیف بوخنر صاف گردید. بر روی مواد باقیمانده، الکل ۷۰ درصد ریخته و بعد از ۲۴ ساعت به مدت ۵ دقیقه در دور ۳۰۰۰ سانتریفیوژ شده و مایع رویی نید فیلتر و به مایع اول اضافه گردید. سپس با دستگاه تقطیر در خلاء (روتاری) حلال‌پراکنی صورت گرفت. عصاره در دمای منفی درجه سانتی‌گراد ذخیره و در مواقع نیاز با محلول سرم فیزیولوژی غلظت‌های نهایی آماده شد (۱۳). به طوری که به ازای وزن موش مقدار عصاره وزن شده و به هر موش ۰/۵ میلی‌لیتر عصاره هیدروالکلی سیر با دوز ۴۰ mg/kg/bw به صورت درون صفاقی تزریق شد. با توجه به وزن موش که حدود ۲۵۰ گرم بود ۱۰ میلی‌گرم از عصاره هیدروالکلی سیر وزن شد و با محلول سرم فیزیولوژی حل شد و ۰/۵ میلی‌لیتر به هر موش تزریق شد.

حیوانات به ۷ گروه ۶ تایی به شرح زیر تقسیم شدند. الف) گروه کنترل (C): هیچ مداخله‌ای صورت نگرفت و فقط آب و غذای کافی مصرف نمود.

ب) گروه شم (SH): دریافت‌کننده داخل صفاقی ۰/۵ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی ۰/۹ درصد (به‌عنوان حلال روزانه).

ج) گروه تجربی اول (NAC): دریافت‌کننده داخل صفاقی N-استیل سیستین (۸۰ mg/kg/bw).

د) گروه تجربی دوم (F): دریافت‌کننده داخل صفاقی فن‌والریت (۱۰ mg/kg/bw).

ه) گروه تجربی سوم (F+GE): دریافت‌کننده داخل صفاقی عصاره هیدروالکلی سیر (۴۰ mg/kg/bw) به‌علاوه فن‌والریت (۱۰ mg/kg/bw).

و) گروه تجربی چهارم (F+NAC): دریافت‌کننده داخل صفاقی N-استیل سیستین (۸۰ mg/kg/bw) به‌علاوه فن‌والریت (۱۰ mg/kg/bw).

ز) گروه تجربی پنجم (F+GE+NAC): دریافت‌کننده داخل صفاقی N-استیل سیستین (۸۰ mg/kg/bw) به‌علاوه عصاره هیدروالکلی سیر (۴۰ mg/kg/bw) به‌علاوه فن‌والریت (۱۰ mg/kg/bw).

لازم به ذکر است روزانه محلول فن‌والریت با دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن توسط سرم فیزیولوژی تهیه گردید. با توجه به LD50 گزارش شده در مطالعات قبلی در این مطالعه از یک‌چهارم LD50 برای آزمایش استفاده شد (۱۴). سپس به مدت ۷ روز در شرایط استریل با حجم ۰/۵ میلی‌لیتر به صورت داخل صفاقی به گروه‌های تجربی گروه‌های تجربی دوم تا پنجم توسط سرنگ انسولین تزریق شد. پس از ۲۴ ساعت از آخرین تزریق فن‌والریت،

عصاره هیدروالکلی سیر با دوز ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به گروه‌های تجربی سوم و پنجم و N-استیل سیستین با دوز ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به گروه‌های تجربی اول، چهارم و پنجم به حجم ۰/۵ میلی‌لیتر با سرنگ انسولین به صورت داخل صفاقی به مدت ۱۰ روز تزریق گردید. برای استفاده از عصاره هیدروالکلی سیر از مطالعه Rafieian-Kopaei و همکاران استفاده شد (۱۳). دوز مورد استفاده N-استیل سیستین براساس مطالعه Maeda و همکاران تعیین شد (۱۵). مدت زمان تزریق آنتی‌اکسیدان‌ها به صورت داخل صفاقی براساس مطالعه Wispriyono انجام شد (۱۶).

۲۴ ساعت پس از آخرین تزریق با رعایت شرایط ناشتا، خونگیری از قلب تحت بیهوشی عمیق صورت گرفت. ابتدا حیوانات را فیکس و سپس عمل جمع‌آوری خون از قلب به‌وسیله سرنگ ۵ میلی‌لیتری انجام گردید. نمونه خون به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۳۰۰۰ سانتریفیوژ شد تا سرم از خون جدا شود. نمونه‌های سرم جمع‌آوری شده تا زمان انجام سنجش تست‌های آنتی‌اکسیدانی در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

بعد از بیهوش نمودن حیوانات بافت بیضه خارج گردید و بعد از شستشو با سرم فیزیولوژی و خارج شدن خون و جدا کردن قسمت‌های زاید به منظور به‌دست آوردن وزن مطلق و وزن نسبی، توزین شدند و سپس به نیتروژن مایع در دمای منفی ۷۰ درجه سانتی‌گراد تا زمان انجام آزمایش منتقل و نگهداری شد. در روز آزمایش بافت‌های بیضه به دقت توزین و با نسبت ۱ به ۵ در بافر فسفات‌سالیین هموزنه و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با دور ۱۰۰۰۰ سانتریفیوژ شدند. از مایع رویی به منظور سنجش شاخص‌های آنتی‌اکسیدان استفاده گردید.

محاسبه تغییرات وزن مطلق و نسبی بافت بیضه: وزن حیوانات در ابتدا و انتهای آزمایش به‌طور دقیق اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری وزن مطلق بیضه، بعد از جداسازی و شستشو با سرم فیزیولوژی قسمت‌های زاید جدا گردید و بیضه‌ها وزن شدند. میانگین وزن مطلق بیضه برای هر گروه اندازه‌گیری شد. برای محاسبه وزن نسبی، وزن بافت بیضه برای هر موش بر وزن کل موش در آخرین روز تقسیم و در عدد ۱۰۰ ضرب گردید.

سنجش میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدان تام (TAC) به روش FRAP: این روش بر اساس قدرت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها در جهت احیاء یون Fe^{3+} (فریک) به یون Fe^{2+} (فرو) و در حضور ماده‌ای تحت عنوان ۲، ۴، ۶-تریس (۲-پیریدیل) S-تریازین (TPTZ) انجام می‌شود. محلول FRAP شامل بافر استات سدیم ۰/۳ مولار (pH=۳/۶)، محلول TPTZ ۱۰ میلی‌مولار در HCl ۴۰ میلی‌مولار و محلول $FeCl_3 \cdot 6 H_2O$ ۲۰ میلی‌مولار است. برای انجام آزمایش،

گردید.

سنجش فعالیت آنزیم GST: برای سنجش فعالیت آنزیم گلو تاتیون S-ترانسفراز در نمونه سرم، به ۵۰ میکرو لیتر از نمونه سرم ۲۸۵۰ میکرو لیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی مولار و ۵۰ میکرو لیتر گلو تاتیون افزوده شد و به عنوان بلانک با آن دستگاه صفر گردید. سپس با افزودن ۵۰ میکرو لیتر CDNB افزایش جذب در طی ۵ دقیقه در طول موج ۳۴۰ نانومتر قرائت شد. برای اندازه گیری GST در نمونه بافت هموزنه بیضه، به ۲۰ میکرو لیتر از نمونه بافت هموزنه ۲۸۸۰ میکرو لیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی مولار (pH=۶/۵) و ۵۰ میکرو لیتر گلو تاتیون یک میلی مولار افزوده شد و به عنوان بلانک با آن دستگاه صفر گردید. سپس با افزودن ۵۰ میکرو لیتر CDNB یک میلی مولار افزایش جذب در طی ۵ دقیقه در طول موج ۳۴۰ نانومتر قرائت گردید و بر حسب U/ml در سرم و U/g tissue در بافت بیضه بیان شد.

تحلیل آماری: داده‌ها با استفاده از نرم افزار آماري SPSS-22 تجزیه و تحلیل شدند. برای بررسی وجود اختلاف بین گروه‌ها از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و به دنبال آن از آزمون توکی استفاده شد. داده‌ها به صورت میانگین و انحراف معیار (Mean±SD) گزارش و اختلاف بین گروه‌ها در سطح کمتر از ۰/۰۵ معنی دار تلقی گردید.

یافته‌ها

نتایج حاصل از اثر سم فن والریت به تنهایی و در ترکیب با N-استیل سیستین و عصاره هیدروالکلی سیر بر وزن اولیه و نهایی بدن و وزن مطلق و نسبی بافت بیضه در بین گروه‌های مورد مطالعه در جدول یک نشان داده شده است. وزن بافت مطلق بیضه (راست و چپ) در گروه تجربی دوم نسبت به کنترل به طور غیر معنی داری کاهش یافت. افزایش وزن مطلق بافت بیضه راست در گروه تجربی سوم (۱/۵۷۱±۰/۰۴۶ گرم) نسبت به کنترل (۱/۳۶۲±۰/۰۴۱ گرم) (P<۰/۰۰۷) و همچنین نسبت به گروه تجربی دوم (۱/۳۲۲±۰/۰۴۳)

۵۰ میکرو لیتر از نمونه را به ۱/۵ میلی لیتر معرف FRAP افزوده و به مدت ۱۰ دقیقه در بن ماری با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار گرفت. برای محاسبه میزان آنتی اکسیدان تام موجود در نمونه‌های مورد مطالعه از نمودار استاندارد FeCL3. 6H2O استفاده شد. در سرم بر حسب μM و در بافت بیضه بر حسب μM/g tissue گزارش گردید.

سنجش فعالیت آنزیم CAT: فعالیت آنزیم کاتالاز با روش Aebi سنجش شد. حجم مخلوط واکنش در کوت ۱/۵ میلی لیتری انجام شد. حجم مخلوط واکنش شامل ۴۹۰ میکرو لیتر محلول ۳۰ میلی مولار آب اکسیژنه و ۱۰ میکرو لیتر نمونه و یک میلی لیتر بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی مولار (pH=۷) بود. واکنش با افزودن سوپسترا شروع و تغییرات جذب به مدت ۳۰ ثانیه در طول موج ۲۴۰ نانومتر و حرارت ۲۵ درجه اندازه گیری شد. فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از ضریب خاموشی H2O2 که مساوی با ۰/۰۴۳۶ mM-1 cm-1 است؛ بر اساس قانون بیرلامبرت (A= dc) محاسبه و به صورت (U/ml) برای سرم و (U/g tissue) برای بیضه گزارش گردید.

تعیین غلظت MDA: برای تعیین محصول نهایی پراکسیداسیون لیپیدها (MDA) در نمونه سرم و بیضه ابتدا ۵۰ میکرو لیتر از نمونه در ۱۹۵۰ میکرو لیتر معرف [MDA شامل تیوباریتوریک اسید (TBA)، تری کلرواستیک (TCA)، هیدروکلریک اسید (HCL) در آب مقطر] اضافه شد و به مدت ۱۵ دقیقه در آب ۱۰۰ درجه قرار گرفت. بعد از خنک شدن محلول، به مدت ۸ دقیقه با دور ۲۵۰۰ سانتریفیوژ شده برداشته و جذب در طول موج ۵۳۵ نانومتر خوانده شد. همچنین محلول بلانک حاوی ۵۰ میکرو لیتر آب مقطر و ۱۹۵۰ میکرو لیتر از معرف MDA است. غلظت MDA با استفاده از ضریب خاموشی ۱۵۶ mM-1 cm-1 بر اساس قانون بیرلامبرت (A= dc) محاسبه و به صورت μmol در سرم و nmol/g tissue در بافت بیضه گزارش

جدول ۱: میانگین و انحراف معیار وزن مطلق و نسبی بیضه موش‌های صحرائی نر در گروه‌های مورد مطالعه

گروه‌ها	میانگین و انحراف معیار وزن مطلق (گرم)		میانگین و انحراف معیار وزن نسبی (گرم)	
	بیضه راست	بیضه چپ	بیضه راست	بیضه چپ
کنترل	۱/۳۶۲±۰/۰۴۱	۱/۳۹۶±۰/۰۳۶	۰/۷۰۰±۰/۰۱۱	۰/۶۸۳±۰/۰۱۶
شم	۱/۴۹۵±۰/۰۳۸	۱/۴۶۴±۰/۰۳۸	۰/۷۴۸±۰/۰۴۲	۰/۷۴۹±۰/۰۴۳
تجربی اول	۱/۴۵۶±۰/۰۱۵	۱/۳۹۶±۰/۰۱۳	۰/۷۰۰±۰/۰۲۴	۰/۷۴۳±۰/۰۲۸
تجربی دوم	۱/۳۲۲±۰/۰۴۳	۱/۳۲۲±۰/۰۳۳	۰/۷۲۹±۰/۰۱۴	۰/۷۲۷±۰/۰۱۷
تجربی سوم	۱/۵۷۱±۰/۰۴۶*	۱/۴۲۸±۰/۰۲۸	۰/۶۸۳±۰/۰۰۶	۰/۷۵۸±۰/۰۳۰
تجربی چهارم	۱/۴۶۷±۰/۰۳۳	۱/۵۳۱±۰/۰۶۲**	۰/۷۳۸±۰/۰۴۱	۰/۷۱۰±۰/۰۳۳
تجربی پنجم	۱/۴۵۱±۰/۰۳۷	۱/۴۳۷±۰/۰۴۸	۰/۶۴۹±۰/۰۳۲	۰/۷۰۰±۰/۰۲۴

گروه کنترل: بدون مداخله؛ گروه شم: دریافت کننده داخل صفاقی ۰/۵ میلی لیتر سرم فیزیولوژی ۰/۹ درصد؛ گروه تجربی اول: دریافت کننده داخل صفاقی N-استیل سیستین (۸۰ mg/kg/bw)؛ گروه تجربی دوم: دریافت کننده داخل صفاقی فن والریت (۱۰ mg/kg/bw)؛ گروه تجربی سوم: دریافت کننده داخل صفاقی عصاره سیر (۴۰ mg/kg/bw) به علاوه فن والریت (۱۰ mg/kg/bw)؛ گروه تجربی چهارم: دریافت کننده داخل صفاقی N-استیل سیستین (۸۰ mg/kg/bw) به علاوه فن والریت (۱۰ mg/kg/bw)؛ گروه تجربی پنجم: دریافت کننده داخل صفاقی N-استیل سیستین (۸۰ mg/kg/bw) به علاوه عصاره سیر (۴۰ mg/kg/bw) به علاوه فن والریت (۱۰ mg/kg/bw)

* P<۰/۰۰۱ نسبت به گروه کنترل؛ ** P<۰/۰۱ و # P<۰/۰۰۱ نسبت به گروه تجربی دوم

جدول ۲: میانگین و انحراف معیار میزان آنزیم‌های کاتالاز و گلوکوتایون S-ترانسفراز در سرم و بافت بیضه موش‌های صحرایی مورد مطالعه

گروه‌ها	آنزیم کاتالاز		آنزیم گلوکوتایون S-ترانسفراز	
	سرم (U/ml)	بیضه (U/g tissue)	سرم (U/ml)	بیضه (U/g tissue)
کنترل	۲/۸۱±۱۹/۶۵	۰/۵۴±۳۵۳/۰۸	۴/۸۶±۷۴/۳۱	۴۱/۹۱±۳۱۵/۶۳
شم	۵/۰۳±۲۱/۱۵	۳۳/۳۵±۳۵۹/۸۵	۴/۳۴±۸۹/۵۸	۹/۵۰±۳۰۸/۰۸
تجربی اول	۳/۴۷±۱۹/۷۳	۲۲/۰۹±۲۲۸/۳۶	۱۲/۴۵±۶۷/۲۸##	۱۶/۰۹±۲۷۵/۳۶
تجربی دوم	۴/۷۳±۲۵/۲۲	۴۷/۵۱±۳۶۷/۹۷	۶/۸۴±۱۳۴/۰۳*	۲۵/۳۷±۳۳۷/۵۰
تجربی سوم	۴/۱۷±۱۶/۶۷	۴۰/۷۰±۳۴۲/۴۹	۱۵/۰۷±۹۱/۶۷#	۲۵/۳۷±۳۴۲/۱۹
تجربی چهارم	۳/۲۲±۱۷/۶۸	۶۵/۸۱±۳۱۹/۲۶	۱۰/۰۲±۹۰/۲۸#	۴۶/۶۹±۲۹۱/۳۹
تجربی پنجم	۳/۹±۱۶/۱۰	۳۳/۰۵±۱۸۳/۰۸**	۳/۸۷±۷۹/۸۶##	۴۲/۰۵±۲۸۱/۳۳

گروه کنترل: بدون مداخله؛ گروه شم: دریافت کننده داخل صفاقی ۰/۵ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی ۰/۹ درصد؛ گروه تجربی اول: دریافت کننده داخل صفاقی N-استیل سیستین (۸۰ mg/kg/bw)؛ گروه تجربی دوم: دریافت کننده داخل صفاقی فن والریت (۱۰ mg/kg/bw)؛ گروه تجربی سوم: دریافت کننده داخل صفاقی عصاره سیر (۴۰ mg/kg/bw) به علاوه فن والریت (۱۰ mg/kg/bw)؛ گروه تجربی چهارم: دریافت کننده داخل صفاقی N-استیل سیستین (۸۰ mg/kg/bw) به علاوه فن والریت (۱۰ mg/kg/bw)؛ گروه تجربی پنجم: دریافت کننده داخل صفاقی N-استیل سیستین (۸۰ mg/kg/bw) به علاوه عصاره سیر (۴۰ mg/kg/bw) به علاوه فن والریت (۱۰ mg/kg/bw)

* P<۰/۰۰۱ نسبت به گروه کنترل؛ ** P<۰/۰۰۵، # P<۰/۰۱، ## P<۰/۰۰۱ نسبت به گروه تجربی دوم

آنتی‌اکسیدان گروه تجربی دوم در مقایسه با گروه کنترل به طور غیرمعنی داری کاهش یافت. همچنین در بقیه گروه‌ها نیز در مقایسه با کنترل تغییر آماری معنی‌داری نداشتند. همان‌طور که در نمودار یک مشاهده می‌شود؛ سطح توتال آنتی‌اکسیدان گروه‌های تجربی اول، سوم، چهارم و پنجم نسبت به گروه تجربی دوم افزایش آماری غیرمعنی‌داری یافتند.

اثر فن والریت به تنهایی و در ترکیب با N-استیل سیستین و عصاره هیدروالکلی سیر بر روی سطح MDA سرم در گروه‌های مورد مطالعه تغییرات آماری معنی‌داری را نشان دادند (P<۰/۰۰۱). گروه تجربی دوم در مقایسه با گروه کنترل افزایش آماری معنی‌داری (P<۰/۰۰۱) نشان داد. همچنین در بقیه گروه‌ها نیز افزایش نسبت به کنترل مشاهده شد؛ اما این تغییرات از نظر آماری معنی‌دار نبود.

همان‌طوری که در نمودار ۲-الف مشاهده می‌شود؛ سطح MDA در گروه‌های تجربی اول، سوم و پنجم در مقایسه با گروه تجربی دوم کاهش آماری معنی‌داری نشان داد (P<۰/۰۱).

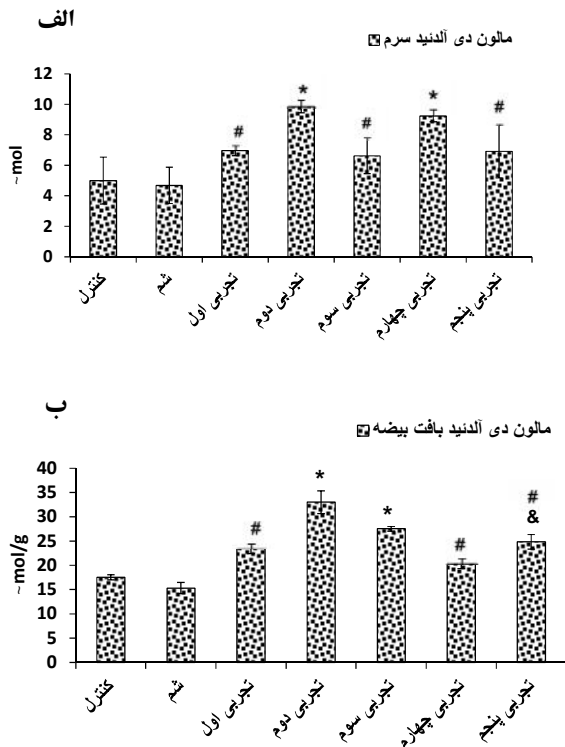
نتایج حاصل از اثر فن والریت به تنهایی و در ترکیب با N-استیل سیستین و عصاره هیدروالکلی سیر بر بافت بیضه در بین گروه‌های مورد مطالعه تغییرات آماری معنی‌داری را نشان داد (P<۰/۰۰۱). همان‌طوری که در نمودار ۲-ب مشاهده می‌شود؛ سطح MDA در گروه تجربی دوم در مقایسه با کنترل به طور معنی‌داری افزایش یافت (P<۰/۰۰۱)؛ اما با تزریق عصاره هیدروالکلی سیر و N-استیل سیستین در گروه‌های تجربی اول، سوم و پنجم تا حدی باعث بهبود و کاهش اثر سم شد. سطح MDA گروه‌های تجربی اول، چهارم و پنجم نسبت به گروه تجربی دوم به طور معنی‌داری کاهش نشان دادند (P<۰/۰۱).

نتایج حاصل از اثر فن والریت به تنهایی و در ترکیب با N-استیل

گرم (P<۰/۰۰۱) از نظر آماری معنی‌دار بود (جدول یک). افزایش معنی‌داری در وزن مطلق بافت بیضه چپ در گروه تجربی چهارم (۱/۵۳۱±۰/۰۶۲ گرم) نسبت به گروه تجربی دوم (۱/۳۲۳±۰/۰۳۳ گرم) (P<۰/۰۱۱) مشاهده شد. افزایش آماری غیرمعنی‌داری در وزن نسبی بافت بیضه راست گروه‌های تجربی دوم، سوم و چهارم نسبت به کنترل مشاهده شد. کاهش وزن نسبی بیضه راست در گروه‌های تجربی چهارم و پنجم نسبت به گروه تجربی دوم از نظر آماری معنی‌دار نبود. وزن نسبی بافت بیضه چپ گروه‌های تجربی دوم و چهارم نسبت به کنترل افزایش غیرمعنی‌داری یافت. وزن نسبی بافت بیضه چپ گروه‌های تجربی اول و سوم نسبت به کنترل هیچ تغییری نشان نداد. کاهش وزن نسبی بافت بیضه چپ گروه‌های تجربی اول، سوم و پنجم نسبت به گروه تجربی دوم از نظر آماری معنی‌دار نبود (جدول یک).

نتایج اثر فن والریت و گروه‌های عصاره هیدروالکلی سیر و N-استیل سیستین به تنهایی و در ترکیب با هم در سنجش توتال آنتی‌اکسیدان (TAC) سرم موش‌های صحرایی مورد مطالعه در نمودار یک-الف آمده است. سطح توتال آنتی‌اکسیدان گروه تجربی دوم در مقایسه با کنترل، کاهش آماری معنی‌داری نشان داد (P<۰/۰۱). گروه‌های تجربی اول (P<۰/۰۱)، تجربی پنجم (P<۰/۰۱) و تجربی سوم (P<۰/۰۰۱) نسبت به کنترل افزایش آماری معنی‌داری نشان داد. همان‌طور که در نمودار یک مشاهده می‌شود؛ سطح توتال آنتی‌اکسیدان گروه‌های تجربی اول، سوم و پنجم افزایش آماری معنی‌داری در مقایسه با گروه تجربی دوم در سطح P<۰/۰۰۱ نشان دادند.

مقایسه اثر فن والریت و گروه‌های عصاره هیدروالکلی سیر و N-استیل سیستین در سنجش توتال آنتی‌اکسیدان (TAC) بیضه موش‌های صحرایی در نمودار یک-ب آمده است. سطح توتال



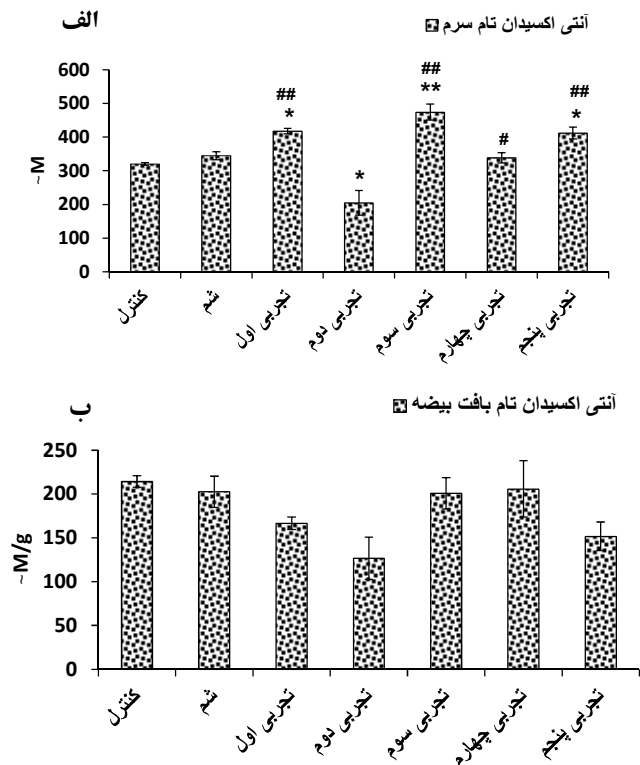
نمودار ۲: الف) میزان مالون دی آلدئید سرم، ب) میزان مالون دی آلدئید بافت بیضه در موش‌های صحرائی مورد مطالعه گروه کنترل: بدون مداخله؛ گروه شام: دریافت کننده داخل صفاقی ۰/۵ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی ۰/۹ درصد؛ گروه تجربی اول: دریافت کننده داخل صفاقی N-استیل سیستینین (۸۰ mg/kg/bw)؛ گروه تجربی دوم: دریافت کننده داخل صفاقی فن‌والریت (۱۰ mg/kg/bw)؛ گروه تجربی سوم: دریافت کننده داخل صفاقی عصاره هیدروالکلی سیر (۴۰ mg/kg/bw) به علاوه فن‌والریت (۱۰ mg/kg/bw)؛ گروه تجربی چهارم: دریافت کننده داخل صفاقی N-استیل سیستینین (۸۰ mg/kg/bw) به علاوه فن‌والریت (۱۰ mg/kg/bw)؛ گروه تجربی پنجم: دریافت کننده داخل صفاقی N-استیل سیستینین (۸۰ mg/kg/bw) به علاوه عصاره هیدروالکلی سیر (۴۰ mg/kg/bw) به علاوه فن‌والریت (۱۰ mg/kg/bw)
 $P < 0.01$ * $P < 0.001$ نسبت به گروه کنترل # $P < 0.01$ نسبت به گروه تجربی دوم

فعالیت GST بافت بیضه در گروه فن‌والریت نسبت به کنترل کاهش یافت و با تجویز عصاره هیدروالکلی سیر و N-استیل سیستینین تا حدی باعث افزایش غیرمعنی‌دار و بهبود گروه‌های تجربی اول، چهارم و پنجم شد. همان‌طوری که در نمودار ۲ مشاهده می‌شود؛ فعالیت GST در گروه‌های تجربی سوم، چهارم و پنجم نسبت به گروه تجربی دوم افزایش آماری غیرمعنی‌داری یافت.

بحث

با توجه به نتایج این مطالعه، تزریق فن‌والریت با دوز کم موجب افزایش سطح MDA و کاهش آنتی‌اکسیدان تام در سرم و بیضه و افزایش فعالیت گلوکوتاتیون S-ترانسفراز در سرم موش‌های صحرائی گردید. فن‌والریت سبب کاهش وزن بیضه گردید و تزریق N-استیل سیستینین و عصاره هیدروالکلی سیر تا حدی سبب بهبود وزن بیضه

سیستینین و عصاره هیدروالکلی سیر بر فعالیت گلوکوتاتیون S-ترانسفراز و کاتالاز در سرم و بافت بیضه در بین گروه‌های مورد مطالعه در جدول ۲ نشان داده شده است. فعالیت CAT در گروه تجربی دوم نسبت به کنترل در سرم و بافت بیضه به‌طور غیرمعنی‌داری افزایش یافت. تجویز عصاره هیدروالکلی سیر و N-استیل سیستینین در گروه‌های تجربی سوم، چهارم و پنجم در سرم و بافت بیضه باعث کاهش نسبت به کنترل شد؛ اما از نظر آماری معنی‌دار نبود. همان‌طوری که در جدول ۲ مشاهده می‌شود؛ فعالیت GST سرم در گروه تجربی دوم نسبت به کنترل به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($P < 0.006$). تجویز عصاره هیدروالکلی سیر و N-استیل سیستینین در گروه تجربی سوم ($P < 0.043$)، گروه تجربی چهارم ($P < 0.048$)، گروه تجربی پنجم ($P < 0.012$) و گروه تجربی اول ($P < 0.002$) باعث کاهش معنی‌داری نسبت به فن‌والریت در سرم گردید (جدول ۲).



نمودار ۳: الف) میزان آنتی‌اکسیدان تام سرم، ب) میزان آنتی‌اکسیدان تام بافت بیضه در موش‌های صحرائی مورد مطالعه گروه کنترل: بدون مداخله؛ گروه شام: دریافت کننده داخل صفاقی ۰/۵ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی ۰/۹ درصد؛ گروه تجربی اول: دریافت کننده داخل صفاقی N-استیل سیستینین (۸۰ mg/kg/bw)؛ گروه تجربی دوم: دریافت کننده داخل صفاقی فن‌والریت (۱۰ mg/kg/bw)؛ گروه تجربی سوم: دریافت کننده داخل صفاقی عصاره هیدروالکلی سیر (۴۰ mg/kg/bw) به علاوه فن‌والریت (۱۰ mg/kg/bw)؛ گروه تجربی چهارم: دریافت کننده داخل صفاقی N-استیل سیستینین (۸۰ mg/kg/bw) به علاوه فن‌والریت (۱۰ mg/kg/bw)؛ گروه تجربی پنجم: دریافت کننده داخل صفاقی N-استیل سیستینین (۸۰ mg/kg/bw) به علاوه عصاره هیدروالکلی سیر (۴۰ mg/kg/bw) به علاوه فن‌والریت (۱۰ mg/kg/bw)
 $P < 0.01$ * $P < 0.001$ نسبت به گروه کنترل؛ # $P < 0.01$ و ## $P < 0.001$ نسبت به گروه تجربی دوم

گردید.

فن‌والریت یک ترکیب بسیار چربی دوست است. در نتیجه در بافت چربی، بیضه‌ها و مایع فولیکولی تخمدان تجمع می‌کند. تزریق فن‌والریت ممکن است باعث اختلالات مربوط به تولید مثل و سمیت بیضه‌ها در حیوانات آزمایشی شود (۱۷). در مطالعه Ismail و Mohamed سم‌های گروه پیرتروئید سبب تغییرات مورفولوژیکی و هیستوشیمیایی و کاهش وزن بیضه شدند که با مطالعه ما هم‌خوانی داشت (۱۸). بنابراین کاهش وزن ایجاد شده می‌تواند ناشی از استرس اکسیداتیو باشد. سیر دارای ترکیبات مختلف از جمله پروستاگلاندین، پکتین و ویتامین‌های A، B1، B2، B6، C، E و اسیدهای آمینه است. ویتامین A یکی از عوامل رشد حیوانات به حساب می‌آید و فقدان این ویتامین در موش موجب توقف رشد حیوان و کاهش وزن می‌گردد. ویتامین A می‌تواند با تبدیل به رتینوئید موجب ذخیره چربی به صورت تری‌گلیسرید در بدن شده و موجب افزایش وزن بدن گردد (۱۹). بنابراین می‌توان نتیجه گرفت ویتامین A موجود در سیر تا حدی کاهش وزن را نسبت به گروه فن‌والریت جبران کند.

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد فن‌والریت سبب استرس اکسیداتیو می‌شود. در مطالعه Singh گزارش گردید فن‌والریت سبب ایجاد استرس اکسیداتیو در انسان می‌شود. آسیب اکسیداتیو در یک سلول یا بافت زمانی اتفاق می‌افتد که غلظت گونه‌های اکسیژن واکنشی بیش از توان آنتی‌اکسیدانی سلول باشد. N-استیل سیستین به‌طور مستقیم از بین برنده رادیکال‌های آزاد است (۵). اثر حفاظتی N-استیل سیستین در کاهش استرس اکسیداتیو در بافت‌های مختلف نشان داده شده است (۲۰). خواص دارویی سیر احتمالاً به دلیل وجود ترکیبات فعال مانند آلین، S-آلیل مرکاپتو سیستین و S-آلیل سیستین است که از بین برنده رادیکال‌های آزاد هستند (۲۱). مجموعه آنزیمی سوپر اکسید دسموتاز و کاتالاز اولین خط دفاعی سلول در برابر سمیت ناشی از رادیکال‌های آزاد هستند. کاتالاز آنزیم آنتی‌اکسیدانی است که در تمام بافت‌های حیوانی وجود دارد و دارای بیشترین فعالیت در کبد و گلبول‌های قرمز است. کاتالاز با تجزیه پراکسید هیدروژن به اکسیژن باعث محافظت بافت‌ها از رادیکال‌های بسیار فعال هیدروکسیل می‌شود (۲۲). در مطالعه حاضر سطح فعالیت CAT سرم و بیضه در گروه تجربی دوم نسبت به کنترل افزایش پیدا کرد و استفاده از N-استیل سیستین و عصاره هیدروالکلی سیر در گروه‌های تیمار به تنهایی و با هم سبب تعدیل در افزایش سم شد. مطالعه ما نشان داد اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره هیدروالکلی سیر و N-استیل سیستین بر آنزیم کاتالاز به صورت سینرژیسم بوده است. افزایش فعالیت این آنزیم مربوط به سازوکارهای دفاعی در برابر استرس اکسیداتیو است. افزایش CAT احتمالاً ناشی از افزایش تولید ROS توسط فن‌والریت است و کاهش فعالیت آنزیم CAT بعد از استفاده از N-استیل سیستین و

عصاره هیدروالکلی سیر، احتمالاً مربوط به توانایی N-استیل سیستین و ترکیبات موجود در سیر در حذف ROSها است. مصرف پاراکسون، دیازینون و کلروپیریفوس در موش صحرایی موجب افزایش فعالیت آنزیم CAT در بافت‌های مغز، قلب و اریتروسیت‌ها شده است (۲۳) که هم راستا با نتایج مطالعه ما است. از طرف دیگر در بعضی از مطالعات به دنبال تجویز ترکیبات آنت‌کش، کاهش فعالیت آنزیم CAT در موش صحرایی گزارش شده که با نتایج ما هم‌خوانی ندارد (۲۴). این اختلاف نتایج می‌تواند ناشی از روش تزریق، غلظت، دوره تزریق، نوع سم و بافت باشد. ایزدی و همکاران گزارش نمودند که تزریق سم دیازینون به موش صحرایی سبب افزایش فعالیت SOD و CAT در کبد و کلیه شده و تجویز همزمان NAC باعث کاهش فعالیت SOD و CAT در کبد و کلیه می‌شود (۲۰) که این یافته با مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد.

سنجش TAC به روش FRAP از طریق توانایی احیاء شدن آهن فریک Fe^{3+} به آهن فروس Fe^{2+} توسط آنتی‌اکسیدان در نمونه اندازه‌گیری می‌شود. با توجه به مطالعه حاضر سطح توتال آنتی‌اکسیدان سرم در گروه تجربی دوم نسبت به گروه کنترل به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. عبدالملکی و همکاران گزارش نمودند که سم مالاتیون باعث کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدان نسبت به گروه کنترل می‌شود (۲۵) که با مطالعه ما در یک راستا است. همچنین در مطالعه حاضر پس از تجویز N-استیل سیستین و عصاره هیدروالکلی سیر در گروه‌های تجربی سوم، چهارم و پنجم سطح توتال آنتی‌اکسیدان به‌طور معنی‌داری افزایش یافت و این تغییرات در بررسی توتال آنتی‌اکسیدان بیضه معنی‌دار نبود. Okada و همکاران گزارش نمودند که آلین موجود در سیر به عنوان یک ترکیب آنتی‌اکسیدان عمل نموده و خاصیت ضدکسایش آلین به احتمال زیاد ناشی از مهار زنجیره حمل رادیکال‌های پراکسیلی است (۲۶). مصرف سیر سطح سرمی آنتی‌اکسیدان تام را افزایش داده و سبب محافظت سلول‌های زاینده در موش‌های صحرایی نر بالغ می‌گردد که می‌تواند بازتاب نقش آنتی‌اکسیدانی آن باشد (۲۷).

اسیدهای چرب غیراشباع در غشاء سلولی جزء حساس‌ترین مولکول‌های بیولوژیکی هستند که در معرض حمله ROSها قرار می‌گیرند و این مسأله موجب افزایش میزان پراکسیداسیون لیپیدها می‌شود. MDA به عنوان شاخص استرس اکسیداتیو، آخرین محصول تجزیه لیپیدها است و افزایش سطح آن نشان‌دهنده افزایش آسیب غشا سلولی است. در مطالعه حاضر تزریق فن‌والریت سطح MDA در سرم و بیضه را نسبت به کنترل به‌طور معنی‌داری افزایش داد. احتمالاً به دلیل خصوصیات هیدروفوبی بالا فن‌والریت، می‌تواند سبب آسیب به غشاء شود. پراکسیداسیون لیپید یکی از ویژگی‌های مشخص شده افزایش استرس اکسیداتیو همراه با سمیت دلتامترین از گروه سموم پیرتروئید است (۲۸). دلتامترین با ایجاد رادیکال آزاد پراکسید و تغییر نفوذپذیری غشاء، دژنره‌شدن چربی باعث

را با اتصال به گلو تاتیون تبدیل به مواد با سمیت کمتر می کند. بنابراین نقش مهمی در محافظت بافت‌ها علیه آسیب و استرس اکسیداتیو دارد (۳۴). در مطالعه حاضر فن والریت به طور معنی داری سبب افزایش فعالیت GST سرم نسبت به کنترل شد. افزایش GST پس از تزریق فن والریت نشان دهنده افزایش دفاع بدن در مقابل این سم و دفع سریع تر آن است. در مطالعه Caglayan و همکاران تجویز فن والریت سبب افزایش GST گردید (۱۴) که با نتایج ما هم خوانی داشت. در مطالعه حاضر فن والریت سبب کاهش آنزیم GST در بیضه موش صحرائی نر شد که می تواند دلیل بر غیرفعال شدن آنزیم در برابر سمیت فن والریت باشد. در مطالعه Khan و همکاران اثر مالاتیون و سایرترین بر روی کبد موش صحرائی باعث کاهش فعالیت GST شد (۲۴). دیازینون سبب افزایش GST کبد و کلیه و تجویز NAC باعث کاهش فعالیت GST کبد می شود (۲۰). در مطالعه حاضر با تزریق تجویز N-استیل سیستین و عصاره هیدروالکلی سیر (هم به تنهایی و هم در ترکیب با هم) در سطح معنی داری سبب کاهش فعالیت GST سرم در مقایسه با گروه فن والریت گردید. مطالعه ما نشان داد اثر آنتی اکسیدانی عصاره هیدروالکلی سیر و N-استیل سیستین بر آنزیم GST به صورت سینرژیسم بوده است. قابلیت آنتی اکسیدانی به حضور ترکیبات آلی سولفور که سطح گلو تاتیون و فعالیت GST را تنظیم می کنند؛ وابسته است (۳۵).

نتیجه گیری

این مطالعه نشان داد که N-استیل سیستین و عصاره هیدروالکلی سیر حتی در دوز پایین، به خصوص در ترکیب با هم (اثر سینرژیسم) آسیب ناشی از فن والریت را کاهش داده و باعث کاهش استرس اکسیداتیو و ROS می شوند. بنابراین افزایش میزان مالون دی آلدئید، افزایش فعالیت گلو تاتیون S-ترانسفراز و کاهش سطح آنتی اکسیدان تام نشان دهنده تولید رادیکال‌های آزاد و استرس اکسیداتیو است.

تشکر و قدردانی

این مقاله نتیجه پایان نامه (شماره ۹۴۱۵۴۳۲۱۱۰۳) خانم پریسا راجی برای اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته بیوشیمی از دانشکده علوم پایه دانشگاه مازندران بود و با حمایت مالی آن دانشگاه به انجام رسید. بدین وسیله از تمامی مسؤولین به خاطر حمایت مالی، صمیمانه سپاسگزاری می گردد.

References

- Hossain MM, Richardson JR. Mechanism of pyrethroid pesticide-induced apoptosis: role of calpain and the ER stress pathway. *Toxicol Sci.* 2011 Aug;122(2):512-25. doi: 10.1093/toxsci/kfr111
- Rehman H, Aziz A T, Saggi S, Abbas Z K, Mohan A, Ansari A. Systematic review on pyrethroid toxicity with special reference to deltamethrin. *J of Entomology and Zoology Studies.* 2014; 2(6), 60-70.
- Chargui I, Grissa I, Bensassi F, Hrira MY, Haoues S, Haouas Z, Bencheikh H. Oxidative stress, biochemical and

پراکسیداسیون لیپیدی می شود. به طوری که این رادیکال‌ها با حمله به اسیدهای چرب غیراشباع و آلکیل‌ها کردن گروه‌های پروتئینی و دیگر ماکرومولکول‌های سلولی منجر به تغییر فعالیت آنزیمی و در نهایت ایجاد آسیب می شوند. گرچه نمی توان در رابطه با مکانسیم این سم در بروز نتایج فوق به طور واضح نظر داد؛ اما به دلیل خاصیت هیدروفوبی احتمالاً با ایجاد گروه‌های فعال واکسید کردن لیپیدهای غشا، باعث تغییر نفوذپذیری غشای سلول‌ها و تخریب آنها می شود (۲۹).

در گروه‌های تجربی سوم، چهارم و پنجم مطالعه حاضر، سطح MDA سرم و بیضه در مقایسه با فن والریت به طور معنی داری کاهش یافت. در بررسی گروه آنتی اکسیدان NAC سطح MDA سرم و بیضه کاهش معنی داری نسبت به فن والریت مشاهده شد. نتایج گروه تجربی اول و گروه تجربی چهارم در بیضه نشان می دهد که N-استیل سیستین فعالیت دفاع بدن را در مقابل ROS افزایش می دهد. مطالعات نشان داده عصاره سیر از غشای میکروزوم کبدی موش صحرائی در برابر پراکسیداسیون لیپید محافظت می کند (۳۰). کاهش سطح MDA می تواند مربوط به قابلیت NAC در سنتز گلو تاتیون و مهار پراکسیداسیون لیپیدها توسط رادیکال‌های آزاد باشد. مطابق با پژوهش حاضر، اثر حفاظتی NAC و آلفا-توکوفرول به همراه دیازینون باعث کاهش استرس اکسیداتیو القاء شده توسط دیازینون می شود (۳۱) که با نتایج ما هم خوانی دارد. احتمالاً اثر آنتی اکسیدانی سیر به واسطه آمینواسیدهای حاوی سولفور، مانند S-آلیل سیستین، S-آلیل مرکاپتوسیستین و آلین است (۹). N-استیل سیستین آسیب اکسیداتیو ناشی از دیازینون در بیضه موش صحرائی را بهبود می بخشد (۳۲). غشاء پلاسمایی اسپرم که غنی از اسیدهای چرب اشباع نشده است؛ بسیار حساس به حمله ROS است. اسدپور و همکاران گزارش نمودند که سرب باعث کاهش SOD و کاتالاز و افزایش MDA در بیضه می شود (۳۳). کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان نشان دهنده شکست سیستم آنتی اکسیدانی اولیه در برابر رادیکال‌های آزاد است. استفاده همزمان از عصاره آبی سیر، N-استیل سیستین و ویتامین E سبب کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از سرب توسط کاهش پراکسیداسیون لیپید و فعال شدن آنزیم‌های آنتی اکسیدان در بیضه‌های موش‌های صحرائی می شود (۳۳).

یکی دیگر از آنزیم‌های آنتی اکسیدان GST است که مواد سمی

histopathological alterations in the liver and kidney of female rats exposed to low doses of deltamethrin (DM): a molecular assessment. *Biomed Environ Sci.* 2012 Dec; 25(6): 672-83. doi: 10.3967/0895-3988.2012.06.009

4. Ahmadi-Naji R, Heidarian E, Ghatreh-Samani K. Evaluation of the effects of the hydroalcoholic extract of Terminalia chebula fruits on diazinon-induced liver toxicity and oxidative stress in rats. *Avicenna J Phytomed.* 2017; 7(5): 454-66.

5. Singh VK. Toxic effect of fenvalerate on serum enzyme in Wistar rats. Conference: 2nd International Conference on Advances

- in Biological and Pharmaceutical Sciences (ICABPS'2013) Sept 17-18, 2013 Hong Kong. doi: 10.13140/2.1.1723.2642
6. Somade OT, Odekunle AE, Oluwasanu O, Umanah NM. Extra-pulmonary oxidative stress investigations of an over-the-counter pyrethroid insecticide product in rats. *Afr J Biotechnol.* 2015; 14(12): 1081-87. doi: 10.5897/AJB2015.14462
7. Olaiya OG, Ailenosi SS, Adelaja A, Eniola K. Effects of aqueous extract of garlic and vitamin C on the kidney of albino rats. *Asian J Exp Biol Sci.* 2011; 2(3): 455-61.
8. Ho SC, Su MS. Evaluating the anti-neuroinflammatory capacity of raw and steamed garlic as well as five organosulfur compounds. *Molecules.* 2014 Oct; 19(11): 17697-714. doi: 10.3390/molecules191117697
9. Numagami Y, Ohnishi ST. S-allylcysteine inhibits free radical production, lipid peroxidation and neuronal damage in rat brain ischemia. *J Nutr.* 2001 Mar; 131 (3s): 1100S-5S. doi: 10.1093/jn/131.3.1100S
10. Asdaq SM. Antioxidant and hypolipidemic potential of aged garlic extract and its constituent, s-allyl cysteine, in rats. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2015; 2015: 328545. doi: 10.1155/2015/328545
11. Zhang Y, Li HY, Zhang ZH, Bian HL, Lin G. Garlic-derived compound S-allylmercaptocysteine inhibits cell growth and induces apoptosis via the JNK and p38 pathways in human colorectal carcinoma cells. *Oncol Lett.* 2014 Dec; 8(6): 2591-96. doi: 10.3892/ol.2014.2579
12. Nissar AU, Farukh MR, Kaiser PJ, Rafiq RA, Afnan Q, Bhushan S, et al. Effect of N-acetyl cysteine (NAC), an organosulfur compound from Allium plants, on experimentally induced hepatic preneoplastic events in Wistar rat. *Phytotherapy.* 2013 Jul; 20(10): 828-33. doi: 10.1016/j.phymed.2013.03.009
13. Rafeian-Kopaei M, Baradaran A, Merrikhi A, Nematbakhsh M, Madihi Y, Nasri H. Efficacy of Co-administration of Garlic Extract and Metformin for Prevention of Gentamicin-Renal Toxicity in Wistar Rats: A Biochemical Study. *Int J Prev Med.* 2013 Mar; 4(3): 258-64.
14. Caglayan A, Kocer-Gumusel B, Erkekoglu P, Hincal F. The effects of fenvalerate on hepatic and cerebral xenobiotic metabolizing enzymes in selenium and/or iodine deficient rats. *Iran J Basic Med Sci.* 2016 Oct; 19(10): 1040-48.
15. Maeda T, Miyazono Y, Ito K, Hamada K, Sekine S, Horie T. Oxidative stress and enhanced paracellular permeability in the small intestine of methotrexate-treated rats. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2010 May; 65(6): 1117-23. doi: 10.1007/s00280-009-1119-1
16. Wispriyono B, Iryo Y, Yoshida T, Matsuoka M, Igisu H. N-acetylcysteine fails to protect rats from acrylamide neurotoxicity. *J Occup Health.* 1999; 41(3): 181-82. <https://doi.org/10.1539/joh.41.181>
17. Mani U, Islam F, Prasad AK, Kumar P, Suresh Kumar V, Maji BK, et al. Steroidogenic alterations in testes and sera of rats exposed to formulated Fenvalerate by inhalation. *Hum Exp Toxicol.* 2002 Nov; 21(11): 593-97. doi: 10.1191/0960327102ht298oa
18. Ismail MF, Mohamed HM. Deltamethrin-induced genotoxicity and testicular injury in rats: comparison with biopesticide. *Food Chem Toxicol.* 2012 Oct; 50(10): 3421-25. doi: 10.1016/j.fct.2012.07.060
19. Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. Biological effects of essential oils--a review. *Food Chem Toxicol.* 2008 Feb; 46(2): 446-75. doi: 10.1016/j.fct.2007.09.106
20. Izadi F, Jafari M, Bahdoran H, Asgari A, Divsalar A, Salehi M. [The role of N-Acetyl Cysteine on reduction of Diazinon-induced oxidative stress in rat liver and kidney]. *J Rafsanjan Univ Med Sci.* 2014; 12(11): 895-906. [Article in Persian]
21. Yun HM, Ban JO, Park KR, Lee CK, Jeong HS, Han SB, et al. Potential therapeutic effects of functionally active compounds isolated from garlic. *Pharmacol Ther.* 2014 May; 142(2): 183-95. doi: 10.1016/j.pharmthera.2013.12.005
22. Bhattacharjee R, Sil PC. The protein fraction of Phyllanthus niruri plays a protective role against acetaminophen induced hepatic disorder via its antioxidant properties. *Phytother Res.* 2006 Jul; 20(7): 595-601. doi: 10.1002/ptr.1933
23. Ghani E, Mohammad M, Jafari M, Khoshbaten A, Asgari A. [Evaluation of oxidative stress index in brain tissue of rats after expose to paraoxon]. *Kowsar Medical Journal.* 2008; 13(1): 1-7. [Article in Persian]
24. 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 Aug; 358 (1-2): 131-38. doi: 10.1016/j.cccn.2005.02.015
25. Abdolmaleki M, Ghasemi H, Heidarishayesteh T, Hosseinzaijood M, Ranjbar A. [Assessing the protective effects of zinc on oxidative injury biomarkers in acute malathion anduction in male rats]. *J Ilam Univ Med Sci.* 2014; 22: 147-52. [Article in Persian].
26. Okada Y, Tanaka K, Sato E, Okajima H. Kinetic and mechanistic studies of allicin as an antioxidant. *Org Biomol Chem.* 2006 Nov; 4(22): 4113-17.
27. Pedraza-Chaverri J, Maldonado PD, Medina-Campos ON, Olivares-Corichi IM, Granados-Silvestre MA, Hernández-Pando R, et al. Garlic ameliorates gentamicin nephrotoxicity: relation to antioxidant enzymes. *Free Radic Biol Med.* 2000 Oct; 29(7): 602-11.
28. Sharma P, Singh R. Protective role of curcumin in deltamethrin induced system toxicity in Wistar rats. *Planta Med.* 2013; 79(13): PB43. doi: 10.1055/s-0033-1351988
29. Aydin B. Effects of thiacloprid, deltamethrin and their combination on oxidative stress in lymphoid organs, polymorphonuclear leukocytes and plasma of rats. *Pesticide Biochemistry and Physiology.* 2011 Jun; 100(2): 165-71. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2011.03.006>
30. Horie T, Murayama T, Mishima T, Itoh F, Minamide Y, Fuwa T, et al. Protection of liver microsomal membranes from lipid peroxidation by garlic extract. *Planta Med.* 1989 Dec; 55(6): 506-8. doi: 10.1055/s-2006-962081
31. Shadnia S, Dasgar M, Taghikhani S, Mohammadirad A, Khorasani R, Abdollahi M. Protective effects of alpha-Tocopherol and N-Acetyl-Cysteine on Diazinon-induced oxidative stress and acetylcholinesterase inhibition in rats. *Toxicol Mech Methods.* 2007; 17(2): 109-15. doi: 10.1080/15376510600860318
32. Oksay T, Nazıro lu M, Ergün O, Do an S, Özatik O, Arma an A, et al. N-acetyl cysteine attenuates diazinon exposure-induced oxidative stress in rat testis. *Andrologia.* 2013 Jun; 45(3): 171-77. doi: 10.1111/j.1439-0272.2012.01329.x
33. Asadpour R, Azari M, Hejazi M, Tayefi, H, Zaboli N. Protective effects of garlic aqueous extract (Allium sativum), vitamin E, and N-acetylcysteine on reproductive quality of male rats exposed to lead. *Vet Res Forum;* 2013, 4(4): 251-57.
34. Limón-Pacheco J, Gonsebatt ME. The role of antioxidants and antioxidant-related enzymes in protective responses to environmentally induced oxidative stress. *Mutat Res.* 2009 Mar; 674 (1-2): 137-47. doi: 10.1016/j.mrgentox.2008.09.015
35. Masjedi F, Gol A, Dabiri S, Javadi A. [Preventive effect of Garlic on histopathology of liver and markers of hepatic injury in Streptozotocin-induced diabetic rats]. *Int J Endocrinol Metab.* 2009; 11(4): 433-41. [Article in Persian]