مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
دوره ۲۳، شماره ۱، فروردین ۱۳۹۴
صفحه: ۱۷۹۵-۱۷۸۳

Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences
Vol. 23, No.1, Mar-Apr 2015
Pages: 1783-1795

مقایسه اثرات حفاظتی و درمانی هگزا متیلن تترآمین و N – استیل سیستئین بر استرس اکسیداتیو ناشی از خردل گوگردي در سرم موش صحرايي

مهوش جعفری[۱]، سیدهمایون صدرایی*[۲]، غلامرضا کاکا[۳]، زهرا عبدی[۴]، رضا رضایی[۵]، مریم صالحی[۶]

چکیده

مقدمه: خردل گوگردی از عوامل آلکیله کننده است که تشکیل رادیکال‌های آزاد را افزایش می‌دهد. هدف از این مطالعه بررسی نقش حفاظتی و درمانی داروهای هگزامتیلن تترآمین (HMT) و N– استیل سیستئین (NAC) در کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از خردل گوگردی در سرم موش صحرایی است.

روش بررسی: در مطالعه تجربی حاضر، موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار به طور تصادفی به ۸ گروه تقسیم شدند. گروه کنترل، گروه خردل گوگردی (۰/۵mg/kg٪ به صورت داخل تراشه‌ای تنها یک بار)، گروه HMT (۷/۵mg/kg)، گروه NAC (۰/۵mg/kg)، گروه HMT– خردل، گروه NAC– خردل، گروه خردل- HMT و گروه خردل- NAC. داروهای HMT و NAC یک ساعت قبل و بعد از دریافت خردل به مدت ۱۴ روز به صورت داخل صفاقی تزریق شد. بعد از ۱۴ روز، موش‌ها توسط اتر بیهوش و خون از قلب حیوانات گرفته و سرم تهیه گردید. سپس فعالیت آنزیم های سوپراکسیددیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT)، گلوتاتیون S- ترانسفراز (GST)، غلظت‌های گلوتاتیون (GSH) و مالون دی آلدئید (MDA) توسط روش‌های بیوشیمیایی تعیین شدند.

نتایج: خردل باعث کاهش فعالیت آنزیم‌های SOD ($p<۰/۰۰۱$) و CAT ($p<۰/۰۵$) و غلظت GSH ($p<۰/۰۱$) سرم شده، در حالی که باعث افزایش فعالیت GST ($p<۰/۰۱$) و غلظت MDA ($p<۰/۰۱$) گردید. تجویز پیش درمانی و درمانی HMT وNAC باعث بهبود این پارامترهای بیوشیمیایی شد.

نتیجه‌گیری: خردل گوگردی باعث القا استرس اکسیداتیو در سرم موش صحرایی می‌شود. داروهای HMT و NAC قادرند استرس اکسیداتیو را کاهش دهند. نقش حفاظتی HMT در کاهش سمیت خردل گوگردی بیشتر از NAC است.

واژه‌های کلیدی: خردل گوگردی، استرس اکسیداتیو، هگزا متیلن تترآمین، N– استیل سیستئین سرم، موش صحرایی

۱- استاد گروه بیوشیمی، مرکز تحقیقات آسیب‌های شیمیایی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بقیه‌ا...(عج)، تهران، ایران
۲،۳- دانشیار گروه علوم تشریح، مرکز تحقیقات علوم اعصاب کاربردی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بقیه‌ا...(عج) تهران، ایران
۴- کارشناس ارشد علوم تشریح، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بقیه‌ا...(عج)، تهران، ایران
۵- کارشناس ارشد گروه بیوشیمی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بقیه‌ا...(عج)، تهران، ایران
۶- دانشجوی دکتری علوم اعصاب، مرکز تحقیقات علوم اعصاب کاربردی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بقیه‌ا...(عج) تهران، ایران
* (نویسنده مسئول)؛ تلفن: ۰۹۱۲۷۲۴۱۱۷۰، پست الکترونیکی: h.sadraei5@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۳/۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۹/۲۷

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

مقدمه

خردل گوگردی یا گاز خردل (دی کلرو اتیل سولفید) یک عامل آلکیله کننده بسیار قوی و غیراختصاصی است که به عنوان سلاح شیمیایی تاول زا استفاده می گردد. این عامل در جنگ تحمیلی عراق علیه ایران به طور وسیع توسط نیروهای عراقی بر علیه نظامیان و غیرنظامیان ایرانی و عراقی مورد استفاده قرار گرفت که اثرات زیانباری را بر جای گذاشت(۱). خردل گوگردی در بدن به یک ترکیب حلقوی به نام اتیلن سولفونیوم با یک بار مثبت تبدیل می‌شود که قادر است با مراکز نوکلئوفیل اسیدهای نوکلئیک و پروتئین‌ها واکنش داده و عمل طبیعی این ماکرومولکول‌ها را تحت تأثیر قرار دهد و در طی چند دقیقه از محیط بیولوژیکی ناپدید شود(۲). بنابراین، ناپدید شدن خردل گوگردی از بدن بسیار سریع است اما ترشح آن در ادرار انسان با تاخیر صورت می‌گیرد. دفع خردل گوگردی بیشتر از طریق ادرار است که ۵۰ درصد آن در ۶ ساعت اول و ۹۰ درصد آن در اولین روز صورت می گیرد و در انسان ۵۰ درصد آن طی ۲ روز دفع می شود. این عامل قادر است با گلوتاتیون (GSH) واکنش دهد و به صورت غیرمتابولیزه برای مدت طولانی در چربی بدن ذخیره شود(۳).

با وجود مطالعات بسیار، مکانیسم دقیق ایجاد ضایعات ناشی از خردل گوگردی شناخته نشده است، به همین دلیل امکان مقابله سریع و مؤثر بر علیه این عامل وجود ندارد و در اغلب موارد ضایعات ناشی از خردل گوگردی به صورت علامتی درمان می‌شود(۴). خردل گوگردی باعث افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS: Reactive Oxygen Species) و اختلال در سیستم آنتی‌اکسیدان بدن می‌شود(۵). Pohanka و همکاران نشان دادند که تجویز داخل جلدی خردل گوگردی (۴۰mg/kg و ۲۰) باعث کاهش غلظت گلوتاتیون و فعالیت گلوتاتیون ردوکتاز و افزایش لیپیدپراکسیداسیون و القاء استرس اکسیداتیو در پلاسما می‌شود(۶،۷). Sharma و همکاران نیز نشان دادند که تجویز خردل گوگردی (۸/۱mg/kg) به صورت زیرجلدی باعث کاهش غلظت گلوتاتیون، افزایش لیپیدپراکسیداسیون و آنزیم‌های کبدی می‌شود(۸). یکی از راه‌هایی که سلول‌ها جهت کاهش اثرات استرس اکسیداتیو انجام می‌دهند، کاهش مستقیم وقوع آسیب اکسیداتیو با پاکسازی ROS توسط آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی نظیر سوپراکسیددیسموتاز (SOD: Superoxide Dismutas)، کاتالاز (CAT) و گلوتاتیون S-ترانسفراز (GST: Glutathione S-Transferase) و غیرآنزیمی مانند α– توکوفرول، اسید اسکوربیک، رتینول، سرولوپلاسمین و GSH است. بنابراین درمان با آنتی‌اکسیدان‌ها و پاکسازکننده‌های ROS می‌تواند استرس اکسیداتیو و افزایش لیپیدپراکسیداسیون ناشی از سمیت خردل را کاهش دهد(۹،۱۰).

N– استیل سیستئین (NAC: N-Acetyl Cysteine) به عنوان یک آنتی‌اکسیدان قادر است که GSH را سنتز نماید و به طور طبیعی اثرات آسیب‌های داخل سلولی رادیکال‌های آزاد را به وسیله ترمیم آسیب‌های اکسیداتیو یا به طور مستقیم با جمع‌آوری رادیکال‌های فعال اکسیژن خنثی کند(۱۰،۱۱). هگزا متیلن تترآمین (HMT) دارویی با خاصیت ضدالتهابی و ضدباکتریایی است که در ساختار خود دارای ۴ اتم نیتروژن نوکلئوفیل است که می‌تواند با خردل گوگردی واکنش داده و اثرات سوء آن را بر سلول‌های بدن کاهش دهد. این ماده توسط دستگاه معده‌ای– روده‌ای بدن جذب شده و در سراسر بدن توزیع می‌گردد و سریعاً از طریق ادرار از بدن دفع می‌گردد(۱۲،۱۳). چندین مطالعه نشان می‌دهد که HMT دارای اثرات حفاظتی و درمانی بر بافت ریه(۱۲،۱۳) و حفاظتی بر سلول‌های نوموسیت II(۱۴) در مقابله با خردل گوگردی است. اثرات درمانی داروی NAC در برونشیولیت جانبازان شیمیایی سردشت(۱۵) و همچنین اثرات مثبت این دارو در برقراری تعادل اکسیدان و آنتی‌اکسیدان به نفع غلبه آنتی‌اکسیدان‌هایی نظیر SOD و CAT به اثبات رسیده است(۱۶). مطالعه Saberi و همکاران بر روی اثرات محافظتی HMT و NAC بر عوارض پاتولوژیک خردل گوگردی بر سلول‌های فیبروبلاست پوست انسانی رده HF2FF با استفاده از میکروسکوپ الکترونی نشان می‌دهد که هر دو دارو از مرگ و

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

نیز تغییرات ارگانل‌های سلولی جلوگیری می‌نماید(۱۷).

استفاده وسیع از خردل گوگردی به عنوان سلاح شیمیایی در گذشته و احتمالاً در آینده نه تنها سلامتی انسان‌ها را به خطر می‌اندازد بلکه باعث تخریب محیط زیست بشری می‌شود. به منظور مقابله با خردل گوگردی، شناخت اثرات و عملکرد آن برای تولید داروهای جدید و بکارگیری روش‌های درمانی مناسب و در نهایت به حداقل رساندن صدمات و تلفات، لازم و ضروری است. مطالعات مختلفی که روی اثرات خردل گوگردی و مشتقات آن انجام شده است از نظر دوز، مسیر تزریق، مدت زمان تماس و نوع روش بررسی متفاوت است. بنابراین بررسی اثرات خردل با توجه به شرایط و روش‌های مختلف مطالعه، موجب شناخت بهتر مکانیسم عمل خردل گوگردی و یافتن روش‌های درمانی مناسب برای جلوگیری از ایجاد ضایعات می‌شود. با وجود مطالعات زیاد، هنوز مطالعات تکمیلی دیگر در زمینه‌های مختلف ضروری است، به طوری که هنوز مطالعات در این زمینه ادامه دارد(۱۰،۱۴). بیشتر مطالعات اثرات حفاظتی دو داروی HMT و NAC را در محیط کشت (In vitro) نشان داده‌اند(۱۴،۱۷،۱۸). مطالعه بر روی اثرات حفاظتی و درمانی این داروها به خصوص HMT در مقابله با سمیت خردل گوگردی بر روی سیستم اکسیدان- آنتی اکسیدان در موجود زنده (In vivo) اندک است(۱۹،۲۰) و مقایسه اثرات این دو دارو نیز به صورت In vivo اصلاً موجود نیست. این مطالعه جهت مقایسه اثرات حفاظتی و درمانی دو داروی HMT و NAC بر کاهش اثرات خردل گوگردی بر فعالیت آنزیم‌های مختلف سیستم آنتی‌اکسیدان و غلظت گلوتاتیون و لیپیدپراکسیداسیون در سرم موش صحرایی انجام گرفته است.

روش بررسی

نوع مطالعه تجربی (آزمایشگاهی) است. مواد شیمیایی مورد استفاده در این مطالعه شامل: ۱-کلرو ۲، ۴ دی نیترو بنزن (CDNB: Chloro Dinitro Benzene)، دی تیو – بیس- نیتروبنزوئیک اسید (DTNB: Dithiobis Nitrobenzoic Acid)، تری‌کلرواستیک اسید (TCA) بود و سایر مواد شیمیایی مورد نیاز با درجه خلوص بالا از شرکت مرک و سیگما آلمان خریداری شد. خردل گوگردی با خلوص ۹۹ درصد با غلظت ۰/۵درصد (۰/۵ میکرولیتر خردل با ۹۹/۵ میکرولیتر نرمال سالین) هر بار تازه تهیه گردید. NAC از شرکت سیگما خریداری و محلول ذخیره با غلظت ۰/۵ مولار (۸/۱۵ میلی‌گرم در ۱۰۰ میکرولیتر آب مقطر) به صورت تازه تهیه گردید. HMT از شرکت دارویی سینا پخش خریداری و محلول ذخیره با غلظت ده درصد (۱۰ میلی‌گرم در ۱۰۰ میکرولیتر آب مقطر) به صورت تازه تهیه شد(۱۲،۲۱).

این مطالعه بر روی موش‌های صحرایی نر نژاد آلبینو ویستار در محدوده وزنی ۲۲۰-۲۰۰ گرم خریداری شده از موسسه پاستور ایران انجام شد. موش‌ها در شرایط ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی در دمای ۲±۲۲ درجه سانتی‌گراد در محل نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا... (عج) قرار گرفتند. دسترسی حیوانات به آب و غذا آزاد بود. موازین اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی که مورد تایید کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا... (عج) بود، هنگام کار با موش‌های آزمایشگاهی رعایت شد.

حیوانات به طور تصادفی به ۸ گروه (در هر گروه ۷ سر) تقسیم شدند:

گروه کنترل: نرمال سالین به صورت داخل تراشه ای تحت بیهوشی با استفاده از کانتری به ضخامت ۱/۵ mm و طول ۵ سانتی‌متر یک بار تزریق شد.

گروه SM: خردل گوگردی ۰/۵٪/kg (۰/۶mg/kg) به صورت داخل تراشه‌ای تنها یک بار تزریق شد(۱۲،۲۱).

گروه HMT: به میزان ۷/۵ mg/kg داروی HMT روزانه یک بار به مدت ۱۴روز به صورت داخل صفاقی تزریق شد.

گروه NAC: به میزان ۰/۵ mg/kg داروی NAC روزانه یک بار به مدت ۱۴روز به صورت داخل صفاقی تزریق شد.

گروه HMT-SM (پیش درمانی): یک ساعت قبل از دریافت خردل گوگردی، داروی HMT به صورت داخل صفاقی تزریق شد(۱۲،۲۱).

گروه SM-HMT (درمان): یک ساعت پس از دریافت خردل گوگردی، داروی HMT به صورت داخل صفاقی تزریق شد.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

گروه NAC-SM (پیش درمانی): یک ساعت قبل از دریافت خردل گوگردی، داروی NAC به صورت داخل صفاقی تزریق شد.

گروه SM-NAC (درمان): یک ساعت پس از دریافت خردل گوگردی، داروی NAC به صورت داخل صفاقی تزریق شد.

حجم کل تزریق ۱۰۰ میکرولیتر است. کلیه احتیاطات لازم در هنگام تزریق خردل برای جلوگیری از احتمال آلودگی انجام گرفت. بعد از ۱۴ روز بعد از توزین، تمام حیوانات توسط اتر بیهوش و ۵-۳ میلی لیتر خون از آئورت قلب موش‌ها گرفته شد. بعد از سانتریفوژ سرم جدا شد و تا انجام سنجش پارامترهای بیوشیمیایی در ۷۰°C- نگهداری شد.

برای سنجش فعالیت آنزیم SOD از روش Paoletti استفاده شد(۲۲). ۰/۸ میلی‌لیتر بافر TDH pH=۷/۴، ۴۰ میکرولیتر NADH ۷/۵ میلی‌مولار، ۲۵ میکرولیتر محلول $EDTA/MnCl_2$ (۱۰۰mM/۵۰mM) و ۲۰ میکرولیتر سرم (یا بافر برای کنترل) به یک کووت اضافه و بعد از مخلوط کردن، مدتی به حال خود گذاشته تا جذب آن در ۳۴۰ نانومتر ثابت شود. سپس ۲۰۰ میکرولیتر محلول بتا- مرکاپتواتانول ۱۰ میلی‌مولار اضافه شد. کاهش جذب در مدت ۵ دقیقه قرائت شد. یک واحد فعالیت SOD مقدار آنزیمی که نیاز است تا ۵۰ درصد از سرعت اکسیداسیون NADH مهار شود. فعالیت ویژه برحسب واحد بر میلی گرم پروتئین بیان می‌شود.

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز از روش Abei استفاده شد(۲۳). واکنش با اضافه کردن H_2O_2 ۳۰ میلی‌مولار به حجم مناسبی از سرم در بافر فسفات سدیم ۵۰ میلی‌مولار pH=۷ شروع شد. سپس جذب را در طی ۳ دقیقه در طول موج ۲۴۰ نانومتر قرائت شد. فعالیت ویژه بر حسب واحد بر میلی‌گرم پروتئین محاسبه شد.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم GST به روش Habig انجام شد(۲۴). یک میلی‌لیتر محلول واکنش حاوی بافرفسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار با pH=۷/۴ شامل EDTA یک میلی‌مولار، GSH ۲۰ میلی‌مولار و CDNB ۲۰ میلی‌مولار است. واکنش با اضافه کردن حجم معینی از سرم شروع شد. تغییرات جذب درطول موج ۳۴۰ نانومتر در طی ۵ دقیقه قرائت گردید.

فعالیت ویژه بر حسب واحد بر میلی‌گرم پروتئین بیان شد.

برای تعیین محصول نهایی پراکسیداسیون لیپیدها از روش Satho استفاده شد(۲۵). به ۵۰۰ میکرولیتر سرم ۱/۵ میلی‌لیتر TCA ۱۰ درصد اضافه شد. به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ گردید. سپس ۱/۵ میلی‌لیتر از مایع رویی را برداشته و ۲ میلی‌لیتر اسید تیوباربیتوریک ۰/۶۷ درصد اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه در بن‌ماری جوش قرار داده شد. سپس ۲ میلی‌لیتر n- بوتانل به محلول اضافه و بعد از ورتکس شدید، به مدت ۱۵ دقیقه در ۴۰۰۰g سانتریفوژ شد. سپس جذب محلول رویی صورتی رنگ در طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد. غلظت مالون دی‌آلدئید با استفاده از ۱ و ۱ و ۳ و ۳ تترااتوکسی پروپان به عنوان استاندارد تعیین شده و غلظت مالون دی‌آلدئید بر حسب نانومول بر میلی‌گرم پروتئین محاسبه شد. محلول استاندارد MDA در غلظت‌های ۲۰-۰/۲ میکرومولار در اسیدسولفوریک ۱۰ درصد تهیه شد.

برای سنجش میزان گلوتاتیون بافت از روش Tietz استفاده شد(۲۶). غلظت مناسبی از سرم با ۱۰ میکرولیتر اسیدسولفوسالسیلیک ۵ درصد مخلوط و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با دور ۲۰۰۰g سانتریفوژ شد. ۱۰۰ میکرولیتر از محلول رویی برداشته به ۸۱۰ میکرولیتر دی‌سدیم فسفات ۰/۳ مولار اضافه شد. سپس با اضافه کردن ۹۰ میکرولیتر ۰/۴DTNB درصد محلول در سیترات سدیم ۱ درصد واکنش شروع گردید. تغییرات جذب در طول موج ۴۱۲ نانومتر در طی ۵ دقیقه قرائت شد. با استفاده از محلول گلوتاتیون ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر منحنی استاندارد گلوتاتیون رسم گردید و غلظت گلوتاتیون بر حسب نانومول بر میلی‌گرم پروتئین محاسبه گردید. محلول استاندارد گلوتاتیون در غلظت‌های ۲۰۰ – ۲۵ میکرومولار تهیه شد.

برای تعیین غلظت پروتئین از روش برادفورد استفاده شد(۲۷). حجم مناسبی از سرم را به حجم ۱ میلی‌لیتر رسانده و ۳ میلی‌لیتر از محلول برادفورد به آن اضافه و به مدت ۱۰ دقیقه انکوبه گردید. سپس در طول موج ۵۹۵ نانومتر جذب قرائت شد. غلظت پروتئین را با رسم استاندارد

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

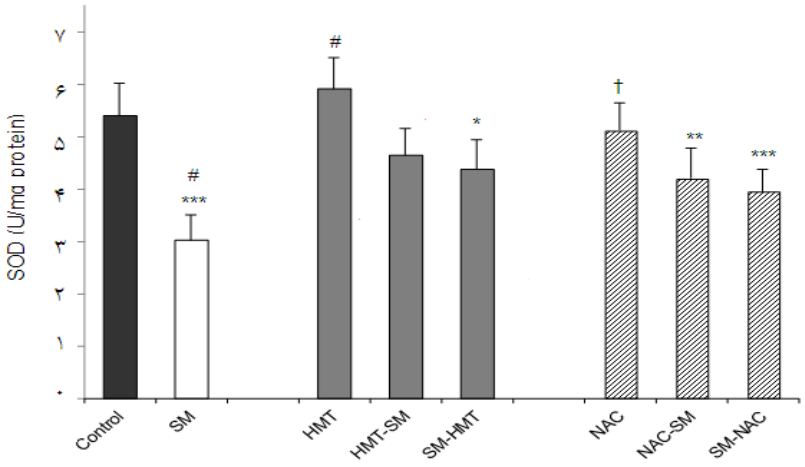
بـا اسـتفاده از محلـول ۱mg/ml آلبـومین سـرم گـاوی (BSA: Bovine Serum Albumin) محاسبه گردید.

تجزیه و تحلیل داده‌ها بـا اسـتفاده از نـرم‌افـزار INSTAT و آزمون‌های آماری پارامتریک به صـورت آزمـون آنـالیز واریـانس یک طرفه به همراه تست توکی انجـام شـد. سـطح معنـی‌داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

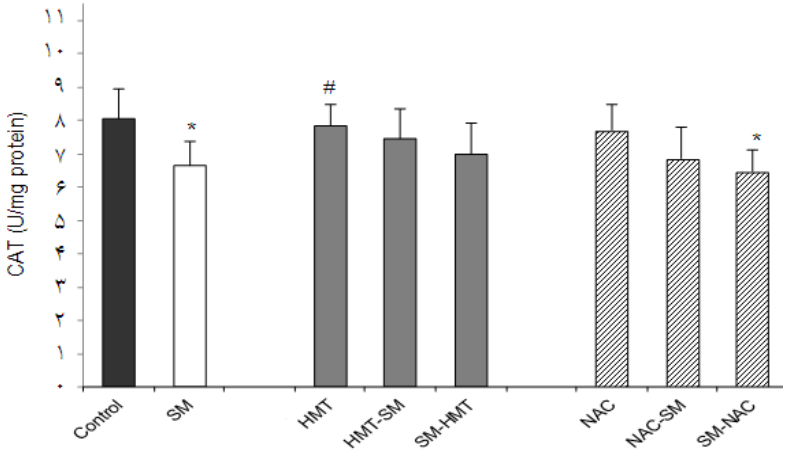
نتایج

نتایج حاصل از اثر خردل گوگردی (SM) و داروهای HMT و NAC به تنهایی و در ترکیب با هم بر فعالیت آنزیم SOD سرم در نمودار ۱ نشان می‌دهد که کاهش فعالیت آنزیم SOD در گروه‌های SM، HMT-SM، SM-HMT، NAC-SM و SM-NAC در مقایسه با گروه کنترل معنی‌دار است. افزایش فعالیت آنزیم SOD سرم در گروه‌های HMT، NAC، HMT-SM، SM-HMT در مقایسه با گروه SM معنی‌دار بود (p<۰/۰۰۱). افزایش فعالیت آنزیم SOD سرم در گروه HMT در مقایسه با گروه‌های HMT-SM، SM-HMT، NAC-SM و SM-NAC نیز معنی‌دار بود (p<۰/۰۰۱). افزایش فعالیت آنزیم SOD سرم در گروه NAC در مقایسه با گروه‌های NAC-SM (p<۰/۰۵) و SM-NAC (p<۰/۰۱) معنی‌دار شد.

نتایج حاصل از اثر خردل گوگردی و داروهای HMT و NAC به تنهایی و در ترکیب با هم بر فعالیت آنزیم CAT سرم در نمودار ۲ نشان می‌دهد که کاهش فعالیت آنزیم CAT در در گروه SM و گروه SM-NAC در مقایسه با گروه کنترل معنی‌دار بود (p<۰/۰۵). افزایش فعالیت آنزیم CAT سرم در گروه HMT در مقایسه با گروه SM-NAC معنی‌دار شد (p<۰/۰۵).



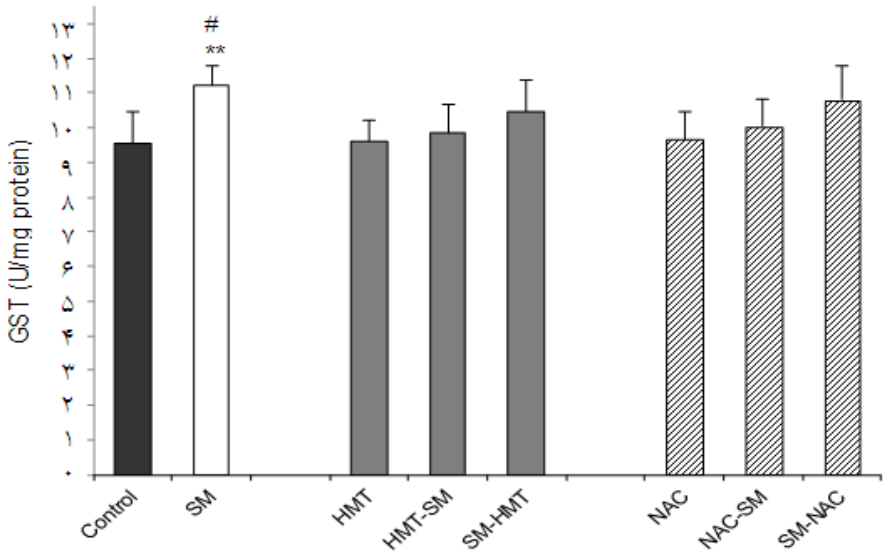
نمودار ۱: اثر خردل گوگردی و داروهای HMT و NAC به تنهایی و در ترکیب با هم بر فعالیت آنزیم SOD سرم بعد از ۱۴ روز
$^{*}p<۰/۰۵$، $^{**}p<۰/۰۱$ و $^{***}p<۰/۰۰۱$ نسبت به گروه کنترل معنی‌دار است، $^{\#}p<۰/۰۰۱$ در مقابل سایر گروه‌ها معنی‌دار است و $^{\dagger}p<۰/۰۵$ در مقابل در مقایسه با گروه‌های NAC-SM و SM-NAC معنی‌دار است.



نمودار ۲: اثر خردل گوگردی و داروهای HMT و NAC به تنهایی و در ترکیب با هم بر فعالیت آنزیم CAT سرم بعد از ۱۴ روز
$^{*}p<۰/۰۵$ نسبت به گروه کنترل معنی‌دار است، $^{\#}p<۰/۰۵$ در مقایسه با گروه SM-NAC معنی‌دار است.

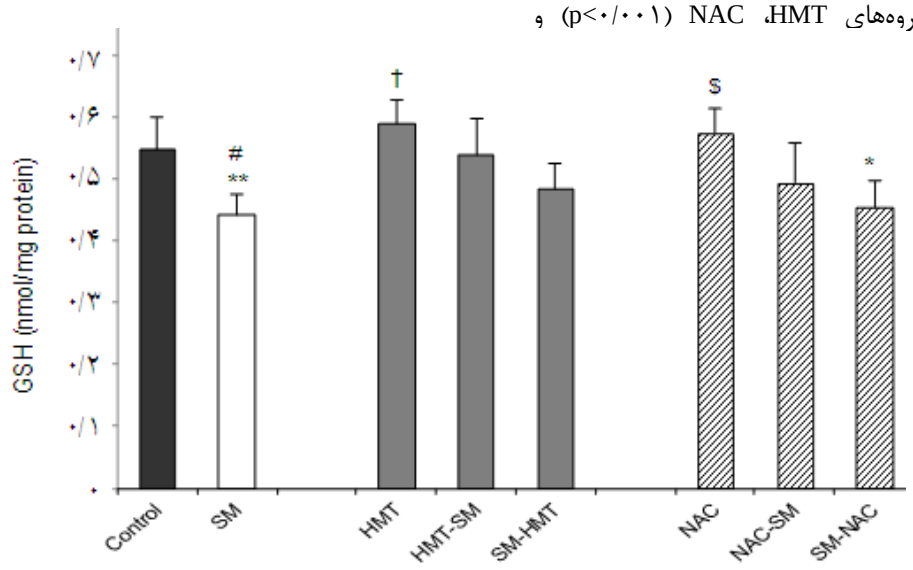
[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

نتایج حاصل از اثر خردل گوگردی و داروهای HMT و NAC به تنهایی و در ترکیب با هم بر فعالیت آنزیم GST سرم در نمودار ۳ نشان می‌دهد که افزایش فعالیت آنزیم GST در گروه SM ($p<۰/۰۱$) در مقایسه با گروه کنترل معنی‌دار است. افزایش فعالیت آنزیم GST سرم در گروه خردل در مقایسه با گروه‌های HMT ($p<۰/۰۱$) و NAC ($p<۰/۰۵$) معنی‌دار است.



نمودار ۳: اثر خردل گوگردی و داروهای HMT و NAC به تنهایی و در ترکیب با هم بر فعالیت آنزیم GST سرم بعد از ۱۴ روز
$p<۰/۰۵$ * نسبت به گروه کنترل معنی‌دار است، $p<۰/۰۵$ # در مقایسه با گروه های HMT و NAC معنی‌دار است

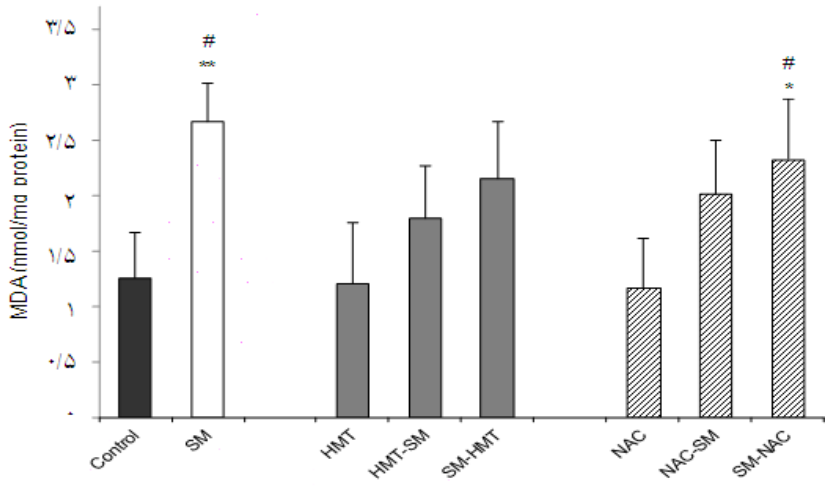
نتایج حاصل از اثر خردل گوگردی و داروهای HMT و NAC به تنهایی و در ترکیب با هم بر غلظت GSH سرم در نمودار ۴ آورده شده است کاهش معنی‌داری در غلظت GSH در گروه SM ($p<۰/۰۱$) و گروه SM-NAC ($p<۰/۰۵$) در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شده است. کاهش غلظت GSH سرم در گروه SM در مقایسه با گروه‌های HMT، NAC ($p<۰/۰۰۱$) و HMT-SM ($p<۰/۰۱$) معنی‌دار است. افزایش غلظت GSH سرم در گروه HMT در مقایسه با گروه‌های SM-HMT ($p<۰/۰۱$)، NAC-SM ($p<۰/۰۵$) و SM-NAC ($p<۰/۰۰۱$) معنی‌دار بود. افزایش غلظت GSH سرم در گروه NAC در مقایسه با گروه‌های NAC-SM و SM-NAC معنی‌دار بود($p<۰/۰۰۱$).



نمودار ۴: اثر خردل گوگردی و داروهای HMT و NAC به تنهایی و در ترکیب با هم بر غلظت GSH سرم بعد از ۱۴ روز
$p<۰/۰۵$ * و $p<۰/۰۱$ ** نسبت به گروه کنترل معنی‌دار است، $p<۰/۰۵$ # در مقایسه با گروه های HMT، NAC و HMT-SM معنی‌دار است. $p<۰/۰۵$ † در مقابل در مقایسه با گروه هایSM-HMT، NAC-SM و SM-NAC معنی‌دار است. $p<۰/۰۰۱$ $ در مقایسه با گروه های NAC-SM و SM-NAC معنی‌دار است.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

نتایج حاصل از اثر خردل گوگردی و داروهای HMT و NAC به تنهایی و در ترکیب با هم بر غلظت MDA سرم در نمودار ۵ نشان می‌دهد که افزایش غلظت MDA در گروه SM ($p<۰/۰۱$) و گروه SM-NAC ($p<۰/۰۵$) در مقایسه با گروه کنترل معنی‌دار است. همچنین افزایش غلظت MDA سرم در گروه SM در مقایسه با گروه‌های HMT و NAC معنی‌دار بود ($p<۰/۰۰۱$). افزایش معنی‌دار در غلظت MDA سرم در گروه SM-HMT در مقایسه با گروه‌های HMT و NAC مشاهده شد ($p<۰/۰۵$).



نمودار ۵: اثر خردل گوگردی و داروهای HMT و NAC به تنهایی و در ترکیب با هم بر غلظت MDA سرم بعد از ۱۴ روز.
$p<۰/۰۵^{*}$ و $p<۰/۰۱^{**}$ نسبت به گروه کنترل معنی‌دار است، $p<۰/۰۵^{\#}$ در مقایسه با گروه‌های HMT و NAC معنی‌دار است.

بحث

در چندین مطالعه نشان داده شده است که خردل گوگردی باعث افزایش ROS می‌شود(۵،۲۸). مکانیسم بیوشیمیایی خردل گوگردی در تولید ROS احتمالاً از طریق کاهش GSH، القاء شکست DNA(۳) و مهار آنزیم NADPH - سیتوکروم P_{450} ردوکتاز میتوکندری(۲۹) است. شکست DNA و به دنبال آن افزایش متابولیسم پورین ها باعث افزایش تولید اسید اوریک و H_2O_2 می‌شود(۳). همچنین تماس ریه با خردل گوگردی باعث فیلتراسیون ماکروفاژها و نوتروفیل‌ها شده که منجر به آزاد شدن سیتوکین‌ها، افزایش فعالیت میلوپراکسیداز و آزادشدن آنیون سوپر اکسید به دنبال انفجار تنفسی می‌گردد(۵،۳۰).

برای مقابله با افزایش ROS، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان وارد عمل می‌شوند. آنزیم SOD اولین سد دفاعی در مقابل رادیکال‌های آنیون سوپراکسید است که آن را به H_2O_2 تبدیل می‌کند که آن هم متعاقباً توسط آنزیم CAT به H_2O و O_2 تبدیل می‌شود(۹). پلاسما دارای فعالیت آنزیم‌های CAT و SOD پائین است و خواص آنتی‌اکسیدانی آن وابسته به مولکول‌های کوچک مثل اسیداسکوربیک، بیلی روبین، اسیداوریک، فریتین و ترانسفرین است(۳۱). نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که تجویز خردل گوگردی موجب کاهش فعالیت آنزیم های آنتی‌اکسیدان می‌شود. کاهش فعالیت SOD احتمالاً نشان‌دهنده عدم قدرت سلول‌ها جهت پاکسازی سوپراکسید اضافی است که باعث استرس اکسیداتیو می‌شود. از طرف دیگر افزایش سوپراکسید باعث غیرفعال شدن فعالیت کاتالاز می‌شود(۳۲). بنابراین افزایش ROS می‌تواند باعث لیپیدپراکسیداسیون و آسیب سلولی شود و محصولات رادیکالی حد واسط می‌توانند ماکرومولکول‌های دیگر را مبتلا سازند. اگرچه تجویز هر دو داروی HMT و NAC به صورت پیش‌درمانی و درمانی با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان قادرند سمیت خردل را کاهش دهند، اما اثر داروی HMT نسبت به NAC و اثرات پیش‌درمانی داروها بیش از درمانی است. مطالعات مختلف بر روی اثرات خردل گوگردی روی

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نتایج متفاوتی را نشان می‌دهند. Husain و همکاران نشان داده‌اند که تجویز داخل پوستی خردل گوگردی در موش‌های صحرایی باعث کاهش فعالیت SOD در WBC، پلاکت‌ها، طحال و مغز می‌شود و موجب مهار فعالیت CAT در اریتروسیت‌ها، WBC و طحال می‌شود(۳۳). یک مطالعه نشان داد که فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان بدون تغییر در سطح GSH و MDA در غلظت‌های کمتر از ۱۰mg/kg خردل گوگردی در بافت‌های کبد و مغز موش صحرایی بعد از ۲ و ۷ روز افزایش می‌یابد، در حالی که کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و سطح GSH و افزایش سطح MDA و پراکسیداسیون لیپیدها در غلظت‌های بالاتر از ۱۰mg/kg خردل گوگردی مشاهده می‌شود(۴). مطالعه Pohanka و همکاران نشان داد که خردل گوگردی در غلظت‌های mg/kg ۵، ۲۰ و۸۰ داخل پوستی بعد از ۲۴ ساعت باعث کاهش آنتی‌اکسیدان‌های پلاسما می‌شود(۶). اختلاف در نتایج احتمالاً ناشی از اختلاف در دوز بکار رفته، مسیر تزریق، مدت زمان تماس و نوع روش بررسی می‌باشد.

آنزیم GST در بیشتر بافت‌های انسان یافت می‌شود و کونژوگه کردن طیف وسیعی از سموم و ترکیبات الکتروفیلی و کارسینوژن‌ها را با GSH کاتالیز می‌کند و با افزایش حلالیت به دفع آنها از سلول کمک می‌کند. بنابراین نقش حیاتی در محافظت بافت‌ها بر علیه آسیب و استرس اکسیداتیو دارد(۲۴،۳۴). نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که تجویز خردل گوگردی سبب افزایش فعالیت GST سرم موش صحرایی می‌شود. افزایش آنزیم GST ممکن است نشان‌دهنده افزایش دفاع بدن در مقابل این سم و دفع سریع‌تر آن باشد(۳۵). تجویز هر دو داروی HMT و NAC سبب کاهش فعالیت این آنزیم در مقایسه با گروه خردل گوگردی شده و آن را به سطح کنترل نزدیک می‌کند. چند مطالعه افزایش فعالیت GST را بعد از تجویز مشتقات خردل گوگردی نشان می‌دهند(۳۵،۳۶).

GSH یک تری پپتید حاوی تیول از مهمترین آنتی‌اکسیدان‌های سلولی است که در سیتوپلاسم کبد سنتز و از طریق خون به سایر بافت‌ها برده می‌شود. GSH نقش مهمی در پاکسازی ROS و غیرسمی کردن داروها و مواد شیمیایی دارد. GSH برای تبدیل دهیدروآسکوربیک به آسکوربات ضروری است که به عنوان آنتی‌اکسیدان جهت خنثی کردن سوپراکسید عمل می‌کند(۴،۳۷). در مطالعه حاضر غلظت GSH سرم بعد از تجویز خردل گوگردی کاهش می‌یابد. کاهش غلظت GSH احتمالاً ناشی از متابولیسم و دفع خردل گوگردی و افزایش فعالیت آنزیم GST است که به GSH نیاز دارد و کاهش GSH باعث کاهش متابولیسم و افزایش سمیت خردل گوگردی می‌شود. تجویز هر دو داروی HMT و NAC سبب افزایش غلظت GSH در مقایسه با گروه خردل گوگردی شده و به سطح کنترل نزدیک می‌کند. نتایج این تحقیق توسط نتایج مطالعات دیگر تأیید شده است. مطالعه Pohanka و همکاران نشان داد که خردل گوگردی در غلظت های mg/kg ۵، ۲۰ و ۸۰ داخل پوستی بعد از ۲۴ ساعت باعث کاهش سطح GSH پلاسما می‌شود(۷،۱۸).

لیپیدها به ویژه اسیدهای چرب غیراشباع در غشاء سلولی جزء حساس ترین مولکول‌های بیولوژیکی هستند که در معرض حمله ROS قرار می‌گیرند و این مسئله موجب افزایش میزان پراکسیداسیون لیپیدها می‌شود(۳۸). MDA شاخص اصلی اکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع است و به عنوان شاخص استرس اکسیداتیو در پاتوژنز بسیاری از بیماری‌ها به شمار می‌رود(۳۹). در مطالعه حاضر افزایش سطح MDA سرم بعد از تجویز خردل گوگردی مشاهده می‌شود که این افزایش ناشی از تولید ROS توسط خردل گوگردی و افزایش پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء می‌باشد. تجویز هر دو داروی HMT و NAC سبب کاهش غلظت MDA در مقایسه با گروه خردل گوگردی می‌شود. نتایج این تحقیق با نتایج مطالعات دیگر همخوانی دارد. چندین مطالعه نشان داده شده است که خردل داخل پوستی بعد از ۲۴ ساعت باعث افزایش سطح لیپیدپراکسیداسیون پلاسما می‌شود(۶،۷،۱۸).

در این مطالعه، اثرات NAC بر روی کاهش استرس اکسیداتیو کمتر از HMT بود و پیش درمانی با HMT و NAC نسبت به درمان آنها، کارآیی بیشتری را نشان داد. Saberi و

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

همکاران نشان دادند که NAC حدود ۵٪ کمتر از HMT باعث پیشگیری از مرگ سلولی می‌شود. همچنین HMT در مقایسه با NAC در مقابله با خردل گوگردی کارآیی بیشتری دارد(۱۷). چند مطالعه اثر حفاظتی HMT و نه اثر درمانی آن را در مقابل سمیت خردل گوگردی بر روی سلول‌های اپی‌تلیوم ریه نشان داده‌اند(۱۹،۴۰). اثرات حفاظتی HMT بر روی بافت ریه و سلول‌های نوموسیت II در برابر خردل گوگردی نشان داده شده است(۱۴-۱۲). همچنین سلول‌های عمقی ریه شامل رده سلولی A549تحت اثرات محافظتی HMT، در مقابل اثرات مخرب خردل گوگردی مقاومت کرده و تعداد سلول‌های زنده پس از ۴۸ ساعت بیش از ۹۰٪ افزایش داشتند(۴۰). Saberi و همکاران نشان دادند که کاربرد HMT قبل یا همزمان با خردل گوگردی، میزان سلول‌های فیبروبلاست زنده را در محیط کشت افزایش می‌دهد(۱۷). احتمالاً HMT موجود در هنگام آلودگی با خردل گوگردی، به عنوان نوکلئوفیل قوی عمل کرده و با یون سولفونیوم ایجادشده توسط خردل گوگردی سریعاً و قبل از واکنش با عناصر سلولی واکنش داده و آن را بی‌اثر می‌نماید. شاید به همین دلیل برای اثربخشی مناسب، HMT باید قبل از خردل گوگردی در محیط وجود داشته باشد(۱۴). همچنین HMT با توجه به خواص آنتی باکتریال از فیلتراسیون سلولی و در نتیجه از التهاب اپی تلیوم ریه جلوگیری می‌کند و از اثرات سمی خردل گوگردی بر روی ریه محافظت می‌کند(۱۴،۴۰). به هر حال مطالعه Sadraie و همکاران نشان داد که HMT هم نقش حفاظتی و هم درمانی بر روی سلول‌هلی ریه بعد از تماس با خردل گوگردی دارد(۱۲).

از طرفی دیگر چند مطالعه اثر حفاظتی و نه درمانی NAC را گزارش داده‌اند(۴۱،۴۲). مطالعه با سلول‌های لنفوسیت خون انسانی نشان داده که سیستئین اثر محافظتی کمتری در برابر خردل گوگردی ایجاد می‌کند(۴۳). استرهای سیستئین سبب افزایش این ماده در داخل سلول و کاهش میزان خردل گوگردی موجود در سلول شده و اثرات مخرب و صدمات سلولی را در برش‌های سلول‌های ریه موش صحرایی کاهش می‌دهد. ولی در مواجهه بعدی سلول‌های ریه با خردل گوگردی، استرهای سیستئین توانایی محافظت سلول‌ها را نداشتند(۴۴،۴۵). اثرات درمانی داروی NAC در برونشیولیت جانبازان شیمیایی سردشت و همچنین اثرات مثبت این دارو در برقراری تعادل اکسیدان و آنتی‌اکسیدان به نفع غلبه آنتی‌اکسیدان‌هایی نظیر SODو CAT، به اثبات رسیده است (۱۵،۱۶). NAC نه تنها به عنوان برداشت کننده بلکه به عنوان پیش ساز گلوتاتیون و همچنین به عنوان احیا کننده گلوتاتیون اکسید شده (GSSG) نیز عمل می‌کند(۴۶).

نتیجه‌گیری

خردل گوگردی با کاهش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان و غلظت گلوتاتیون و افزایش پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء باعث القاء استرس اکسیداتیو در سرم موش صحرایی می‌شود. اگرچه تجویز پیش درمانی و درمانی داروهای HMT و NAC قادرند استرس اکسیداتیو را کاهش دهند، ولیکن اثرات HMT نسبت به NAC و پیش درمانی دو دارو مؤثرترین راه مقابله است. نقش حفاظتی HMT در کاهش سمیت خردل گوگردی بیشتر از NAC است.

سپاسگزاری

این طرح تحقیقاتی با حمایت مالی مرکز تحقیقات شیمیایی دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا... انجام شده است که بدین وسیله از کلیه مسئولین مرکز مربوطه تشکر و قدردانی می‌شود.

References:

1- Razavi SM, Salamati P, Harandi AA, Ghanei M. ***Prevention and treatment of respiratory consequences induced by sulfur mustard in Iranian casualties: a review.*** Int J Prev Med 2013; 4(4): 383-9.

2- Behravan E, Moallem SA, Khateri S, Maraghi E, Jowsey P, Blain PG, et al. ***Deoxyribonucleic acid damage***

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

in Iranian veterans 25 years after wartime exposure to sulfur mustard. J Res Med Sci 2013; 18(3): 239-44.

3- Papirmeister B, Feister AJ, Robinson SI, Ford RD. ***Medical defense against mustard gas: Toxic Mechanisms and Pharmacological Implications.*** Florida CRC Press; 1991.

4- Jafari M. ***Dose- and time-dependent effects of sulfur mustard on antioxidant system in liver and brain of rat.*** Toxicology 2007; 231(1): 30-39.

5- Laskin JD, Black AT, Jan YH, Sinko PJ, Heindel ND, Sunil V, et al. ***Oxidants and antioxidants in sulfur mustard-induced injury.*** Ann N Y Acad Sci 2010; 1203: 92-100.

6- Pohanka M, Sobotka J, Svobodova H, Stetina R. ***Sulfur mustard induced oxidative stress and its alteration using asoxime (HI-6).*** Interdiscip Toxicol 2013; 6(4): 198-202.

7- Pohanka M, Sobotka J, Stetina R. ***Sulfur mustard induced oxidative stress and its alteration by epigallocatechin gallate.*** Toxicol Lett 2011; 201(2): 105-9.

8- Sharma S, Jain N, Pathak U, Pant SC, Vijayaraghavan R***. Synthesis and cytoprotective efficacy evaluation of new DRDE-07 analogues against sulphur mustard toxicity.*** IJPSR 2010; 1: 158-68

9-Birben E, Sahiner UM, Sackesen C, Erzurum S, Kalayci O. ***Oxidative stress and antioxidant defense.*** World Allergy Organ J 2012; 5(1): 9-19.

10- Jugg B, Fairhall S, Smith A, Rutter S, Mann T, Perrott R, et al. ***N-acetyl-L-cysteine protects against inhaled sulfur mustard poisoning in the large swine.*** ClinToxicol (Phila) 2013; 51(4): 216-24.

11- Santus P, Corsico A, Solidoro P, Braido F, Di Marco F, Scichilone N. ***Oxidative stress and respiratory system: Pharmacological and clinical reappraisal of N-Acetylcysteine.*** COPD 2014; 11(6): 705-17

12- Sadraie SH, Abdi Z, Aboali F. ***Effects of hexamethylene tetramine on lung tissue macrophages in rats exposed to two different doses of sulfur mustard.*** Iran J Mil Med 2010; 12(1): 27-31.

13- Kaka GR, Sadraei SH, Mirshafiey GH, Saberi M, Jafari M. ***Study of the effects of hexamethylentetramine on decrease of defects of the lung tissue in the rat exposed to sulfur mustard.*** J Iran Anatom Sci 2010; 8(31): 85-94. [Persian]

14- Andrew DJ, Lindsay CD. ***Protection of human upper respiratory tract cell lines against sulphur mustard toxicity by hexamethylentetramine (HMT).*** Hum Exp Toxicol 1998; 17(7): 373-9.

15- Shohrti M, Aslani J, Eshraghi M, Alaedini F, Ghanei M. ***Therapeutic effects of N-acetyl cysteine on mustard gas exposed patients: Evaluation of clinical aspects in patients with impaired pulmonary function test.*** Respir Med 2008; 102(3): 443-8.

16- Ghanei M, Shohrti M, Jafari M, Ghaderi S, Alaeddini F, Aslani J. ***N-acetylcysteine improves the clinical conditions of mustard gas exposed patients with normal pulmonary function test.*** Basic Clin Pharmacol Toxicol 2008; 103(5): 428-32.

17- Saberi M, Zareei Mahmuodabadi A, Pirzad Jahromi J. ***Comparison of protective effects of N-acetyl-cysteine***

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

and Hexamethylenetetramine on sulfur mustard induced pathological effects in human skin fibroblast cell line HF2FF using electron microscope. Kowsar Med J 2010; 15(1): 1-9. [Persian]

18- Saberi M, Zarei A, Pirzad G, Golmanesh L, Imani H, Pourheidarizadeh G, et al. ***Assessment of the protective effect of hexamethylene tetramin on HF2FF cell line exposed to sulfur mustard.*** Mil Med 2006; 7(4): 271-7. [Persian]

19- Pohanka M, Sobotka J, Jilkova M, Stetina R. ***Oxidative stress after sulfur mustard intoxication and its reduction by melatonin: efficacy of antioxidant therapy during serious intoxication.*** Drug ChemToxicol 2011; 34(1): 85-91.

20- Anderson DR, Byers SL, Vesely KR. ***Treatment of sulfur mustard (HD)-induced lung injury.*** J Appl Toxicol 2000; (20 Suppl 1): S129-32.

21- Ucar M, Korkmaz A, Reiter RJ, Yaren H, Oter S, Kurt B, et al. ***Melatonin alleviates lung damage induced by the chemical warfare agent nitrogen mustard.*** Toxicol Lett 2007; 173(2): 124-31.

22- Paoletti F, Mocali A. ***Determination of superoxide dismutase activity by purely chemical system based on NAD (P)H oxidation.*** Methods Enzymol 1990; 186: 209-220.

23- Aebi H. ***Catalase in vitro.*** Methodes Enzymol 1984; 105: 121-26.

24- Habig WH, Jakoby WB. ***Glutathione S-transferases (rat and human).*** Methods Enzymol 1981; 77: 218-31.

25- Satoh K. ***Serum lipid peroxidation in cerebrovascular disorders determined by a new colorimetric method.*** Clin Chim Acta 1978; 90(1): 37-43.

26- Tietze F. ***Enzymic method for quantitative determination of nanogram amounts of total and oxidized glutathione: Applications to mammalian blood and other tissues.*** Anal Biochem 1969, 27(3): 502-22.

27- Bradford MM. ***A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding.*** Anal Biochem 1976; 72(1-2): 248-254.

28- Brimfield AA, Soni SD, Trimmer KA, Zottola MA, Sweeney RE, Graham JS. ***Metabolic activation of sulfur mustard leads to oxygen free radical formation.*** Free Radic Biol Med 2012; 52(4): 811-17.

29- Gray JP, Mishin V, Heck DE, Laskin DL, Laskin JD. ***Inhibition of NADPH-cytochrome P450 reductase by 2-chloroethyl ethyl sulfide, a model sulfur mustard vesicant, is associated with increased production of reactive oxygen species.*** Toxicol Appl Pharmacol 2010; 247(2): 76-82.

30- Pal A, Tewari-Singh N, Gu M, Agarwal C, Huang J, Day BJ, et al. ***Sulfur mustard analog induces oxidative stress and activates signaling cascades in the skin of SKH-1 hairless mice.*** Free Radic Biol Med 2009; 47(11): 1640-51.

31- Naghii MR. ***Sulfur mustard intoxication, oxidative stress, and antioxidants.*** Mil Med 2002; 167(7): 573-75.

32- Kono Y, Fridorich I. ***Superoxide radical inhibits catalase.*** J Biol Chem 1982; 257(10): 5751-54.

33- Husain K, Dube SN, Sugendran K, Sing R, Das Gupta S, Somani SM. ***Effects of topically applied sulphur***

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

mustard on antioxidant enzymes in blood cells and body tissues of rats. J Appl Toxicol 1996; 16(3): 245-48.

34- Nourani MR, Azimzadeh S, Ghanei M, Imani Fooladi AA. ***Expression of glutathione S-transferase variants in human airway wall after long-term response to sulfur mustard.*** J Recept Signal Transduct Res 2014; 34(2): 125-30.

35- Elsayed NM, Omaye ST. ***Biochemical changes in mouse lung after subcutaneoues injection of the sulfur mustard 2-chloroethyl 4-chlorobutyl sulfide.*** Toxicology 2004; 199(2-3): 195-206.

36- Omaye ST, Elsayed NM, Klain GJ, Korte Jr DW. ***Metabolic changes in mouse kidney after subcutaneous injection of butyl 2-chloroethyl sulfide.*** J Toxicol Environ Health 1991; 33(1): 19-27.

37- Meister A. ***Glutathione metabolism***, Methods Enzymol 1995, 251: 3-7.

38- Valavanidis A, Vlahogianni T, Dassenakis M, Scoullos M. ***Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants.*** Ecotox Environ Safety 2006; 64(2): 178-89.

39- Jafari M, Ghanei M. ***Evaluation of plasma, erythrocytes, and brochoalveolar lavage fluid antioxidant defense system in sulfur mustard-injured patients.*** Clin Toxicol (Phila) 2010; 48(3): 184-92.

40- Lindasy CD, Hambrook JL. ***Protection of A549 cells against the toxic effects of sulfur by Hexamethylentetramine.*** Hum Exp Toxicol 1997; 16(2): 106-14.

41- Balali-Mood M, Hefazi M. ***Comparison of early and late toxic effects of sulfur mustard in Iranian veterans.*** Basic Clin Pharmacol Toxicol 2006; 99(4): 273-82.

42- Vijayaraghavan R, Kulkarni A, Pant SC, Kumar P, Rao PV, Gupta N, et al. ***Differential toxicity of sulfur mustard administered through percutaneous, subcutaneous and oral routes.*** Toxicol Appl Pharmacol 2005; 202(2): 180-8.

43- Aruoma OI, Halliwell B, Hoey BM, Butler J. ***The antioxidant action of N-acetylcysteine: its reaction with hydrogen peroxide, hydroxyl radical, superoxide and hypochlorous acid.*** Free Radic Biol Med 1989; 6(6): 593-7.

45- Smith CN, Lindsay CD, Rice P. ***The use of full thickness explanted human skin to model sulfur mustard induced skin injury.*** Human Exp Toxicol 1996; 15: 164-9.

46- Izadi F, Jafari M, Bahadoran H, Asgari AR, 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. [Persian]

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

The Protective and Therapeutic Roles of Hexamethylenetetramine and N-Acetyl-Cysteine on Sulfur Mustard-Induced Oxidative Stress in Rat Serum

Jafari M(PhD)[1], Sadraie SH(PhD)[*2], Kaka GR(PhD)[3], Abdi Z (MSc)[4], Rezaie R (MSc)[5], Salehi M(PhD Student)[6]

[1]Department of Biochemistry, Chemical Injuries Research Center, Baqiyatallah (a.s) University of Medical Sciences, Tehran, Iran

[2,3]Department of Anatomy, Neuroscience Research Center, Baqiyatallah (a.s) University of Medical Sciences, Tehran, Iran

[4]Department of Biochemistry, Baqiyatallah (a.s) University of Medical Sciences, Tehran, Iran

[5]Department of Neuroscience, Neuroscience Research Center, Baqiyatallah (a.s) University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Received: 28 Mar 2014 ***Accepted:*** 18 Dec 2014

Abstract

Introduction: Sulfur mustard(SM) is a strong alkylating agent that increases the formation of free radicals. Therefore, this study aimed to evaluate the protective and therapeutic roles of hexamethylenetetramine (HMT) and N-acetyl-cysteine(NAC) in reduction of SM-induced oxidative stress in rat serum.

Methods: In the present experimental study, male Wistar rats were randomly divided into eight groups including: control group, SM group (an endotracheal injection of SM 0.5%/kg only once), HMT group (7.5mg/kg), NAC group (0.5mg/kg), HMT-SM group, NAC-SM group, SM-HMT group and SM-NAC group. HMT and NAC were received daily an hour before and after receiving SM by intraperitoneal injection for 14 days. After 14 days, the rats were anesthetized by ether, their blood was collected by cardiac puncture and the serum was obtained. Then, superoxide dismutase(SOD), catalase(CAT) and glutathione S-transferase(GST) activities, as well as glutathione(GSH) and malondialdehyde(MDA) levels were determined by biochemical methods.

Results: SM decreased serum SOD ($p<0.001$) and CAT ($p<0.05$) activities as well as GSH level ($p<0.01$), whereas it increased GST activity ($p<0.01$) and MDA level ($p<0.01$). HMT and NAC pre- and post-treated animals showed a difference in these biochemical parameters as compared to SM-treated rats.

Conclusion: The study findings revealed that SM induces oxidative stress in rat serum. HMT and NAC can ameliorate SM-induced oxidative stress by altering antioxidant defense system in serum. The protective effect of HMT against the toxicity of SM is higher than NAC.

Keywords: Hexamethylenetetramine; N-acetyl cysteine; Oxidative stress Rat; Serum; Sulfur Mustard

This paper should be cited as:

Jafari M, Sadraie SH, Kaka GR, Abdi Z, Rezaie R, Salehi M. ***The protective and therapeutic roles of hexamethylenetetramine and N-acetyl-cysteine on sulfur mustard-induced oxidative stress in rat serum***. J Shahid Sadoughi Univ Med Sci 2015; 23(1): 1776-95.

Corresponding author: Tel: +98 9127241170, Email: h.sadraei5@gmail.com

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]