جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مجله پزشکی کوثر
دوره ۱۴، شماره ۱، بهار ۱۳۸۸
صفحات: ۲۹-۲۵

اثر استرس اکسیداتیو ناشی از دیازینون بر میزان گلوتاتیون در سلول‌های نوروگلیای رده $U_{373}MG$ و میان‌کنش آن با پیریدوکسین

مهدی صابری* *PhD*، کفایت زریچی بغلانی[۱] *MSc*، فریده بهرامی[۲] *MSc*، علی زارعی محمودآبادی[۳] *PhD*

چکیده

اهداف. در این تحقیق، استرس اکسیداتیو ناشی از دیازینون و اثرات محافظتی ویتامین **B6** (پیریدوکسین) در مقابل آن در سلول‌های آستروسیت رده $U_{373}MG$ مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها. سلول‌ها در معرض دوزهای مختلف دیازینون در فواصل زمانی مختلف قرار گرفتند. سپس اثر دوز ۳۰۰ میکرومولار دیازینون به‌عنوان دوز مناسب در زمان ۷۲ ساعت به‌تنهایی و در حضور ویتامین B6، ۳۰ دقیقه قبل و بعد از دیازینون بر میزان زنده ماندن سلول‌ها و میزان گلوتاتیون سنجیده شد.

یافته‌ها. دیازینون در دوز ۳۰۰ میکرومولار در زمان ۷۲ ساعت میزان گلوتاتیون را به‌طور بسیار معنی‌داری کاهش داد. پیش‌درمانی با ویتامین B6، میزان گلوتاتیون سلولی را به حد کنترل افزایش داد. دیازینون تعداد سلول‌های زنده را نسبت به گروه کنترل به‌طور معنی‌داری (۲۰٪) کاهش داد. پیش‌درمانی یا پس‌درمانی با ویتامین B6، مرگ سلولی ناشی از دیازینون را مهار نمود.

نتیجه‌گیری. دیازینون احتمالا با ایجاد استرس اکسیداتیو و کاهش میزان گلوتاتیون، برای سلول‌های رده $U_{373}MG$ سمی است و تجویز ویتامین B6 به‌صورت پیش‌درمانی یا پس‌درمانی، می‌تواند اثر محافظتی ایجاد نموده و از کاهش گلوتاتیون و نیز مرگ سلولی ناشی از دیازینون جلوگیری نماید.

کلیدواژه‌ها: دیازینون، استرس اکسیداتیو، گلوتاتیون، پیریدوکسین، سلول نوروگلیا

دریافت مقاله: ۱۳۸۷/۱۰/۲، پذیرش مقاله: ۱۳۸۸/۴/۳۱

* نویسنده مسئول: "گروه فارماکولوژی و سم‌شناسی" و "مرکز تحقیقات علوم اعصاب کاربردی"، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌ا...(عج)، تهران، ایران
m_s_saber@yahoo.com
۱ گروه فارماکولوژی و سم‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌ا...(عج)، تهران، ایران
۲ گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌ا...(عج)، تهران، ایران
۳ گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌ا...(عج)، تهران، ایران

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقدمه

سالانه حدود سه میلیون نفر با ارگانوفسفره‌ها مسموم می‌شوند و بیش از ۲۰۰ هزار نفر از آنها جان خود را از دست می‌دهند [۱]. علاوه بر این، در جنگ‌های شیمیایی نیز تاکنون این ترکیبات به‌طور گسترده مورد استفاده قرار گرفته‌اند [۲]. به‌طور کلی، مکانیزم کلاسیک عملکرد ترکیبات ارگانوفسفره، مهار کربوکسیلیک‌استرازها است. نوعی آنزیم کربوکسیل‌استراز با نام "استراز هدف نوروپاتی"، توسط برخی ارگانوفسفات‌ها قابل مهار است و به‌نظر می‌رسد در ایجاد پُلی‌نوروپاتی تاخیری ناشی از این سموم (OPIDP) نقش داشته باشد [۳]. اخیرا اثرات غیرکولینرژیک این سموم بیشتر مورد توجه قرار گرفته است. اثرات سمی برخی از ارگانوفسفره‌ها (دیازینون و کلرپریفوس) محدود به مهار آنزیم کولین‌استراز نیست، بلکه به دنبال بحران کولینرژیک، تغییراتی مانند آسیب به غشاهای سلولی، تولید رادیکال‌های آزاد و اختلال در سیستم آنتی‌اکسیدانی بدن نیز مشاهده می‌شود [۴]. در شرایط طبیعی، بین تولید و حذف رادیکال‌های آزاد تعادل وجود دارد. عدم تعادل در این فرآیند موجب استرس اکسیداتیو می‌شود. افزایش استرس اکسیداتیو، گلوتاتیون بافتی را تخلیه کرده و به‌دلیل این‌که گلوتاتیون فاکتور اصلی خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد است، تخلیه آن منجر به افزایش رادیکال‌های آزاد می‌شود [۵].

رادیکال‌های آزاد (عوامل اصلی استرس اکسیداتیو)، ترکیبات ناپایدار حاصل از متابولیزم بدن هستند که به‌دلیل تمایل به جذب الکترون می‌توانند به مولکول‌های بیوشیمیایی بدن از جمله پروتئین‌ها، چربی‌ها و DNA سلول آسیب برسانند [۴]. رادیکال‌های آزاد به‌طور طبیعی توسط آنتی‌اکسیدان‌های موجود در بدن از بین می‌روند. آنتی‌اکسیدان‌های خارجی از جمله ویتامین‌های B، C، E و کاروتنوئیدها و آنتی‌اکسیدان‌های سلولی مانند سوپراکسیددیسموتاز، کاتالاز و گلوتاتیون نقش اساسی در از بین بردن رادیکال‌های آزاد دارند [۴]. مشتقات ویتامین B6 با سه مکانیزم می‌توانند رادیکال‌های آزاد را از بین ببرند: ۱) مستقیما با گونه‌های فعال اکسیژن ترکیب شوند؛ ۲) سنتز گلوتاتیون را تحریک کنند؛ و ۳) از ترکیب رادیکال‌های آزاد با گلوتاتیون جلوگیری کنند [۵].

از آنجا که عوارض عصبی پس از استفاده از ارگانوفسفات‌ها بسیار شایع است و بروز این علایم با استرس اکسیداتیو بی‌ارتباط نیست، در این مطالعه اثرات استرس اکسیداتیو ارگانوفسفات‌ها با اثر دیازینون بر سلول‌های آستروسیت رده $U_{373}MG$ بررسی شد. در ضمن، اثر محافظتی پیریدوکسین (ویتامین B6) بر تغییرات ناشی از دیازینون مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

سلول‌های $U_{373}MG$ (انستیتو پاستور، ایران) در محیط RPMI حاوی ۱۰٪ FCS، پنی‌سیلین G (۱۰۰ U/ml)، استرپتومایسین (۱۰۰ mg/ml) و بی‌کربنات سدیم (۲ g/l)، در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و ۵٪ CO_2 در هوای مرطوب و در فلاسک‌های ۵۰ میلی‌لیتر کشت داده شدند. پس از رسیدن سلول‌ها به ۸۰٪ رشد، سلول‌ها به پلیت‌های ۶ چاهک منتقل شده (برای انکوباسیون با دیازینون به‌مدت ۲۴ ساعت ۴×۱۰^{۵} سلول و برای ۴۸ ساعت ۳×۱۰^{۵} سلول و برای ۷۲ ساعت ۲×۱۰^{۵} سلول در هر چاهک) و بعد از ۲۴ ساعت سلول‌ها در معرض دوزهای ۱، ۱۰، ۳۰، ۱۰۰ و ۳۰۰ میکرومولار دیازینون قرار گرفتند. پس از زمان‌های مشخص‌شده (۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت)، سلول‌ها به‌وسیله تریپسین و EDTA جدا و سانتریفوژ شدند. سپس، محلول رویی برداشته و ۶۰۰ میکرولیتر بافر فسفات به هر ویال اپندورف اضافه گردید. مقدار ۴۰۰ میکرولیتر از سلول‌ها برای سنجش گلوتاتیون و ۲۰۰ میکرولیتر برای اندازه‌گیری پروتئین به‌کار رفت.

اندازه‌گیری پروتئین: برای اندازه‌گیری پروتئین از روش برادفورد استفاده شد [۷]. در این روش با استفاده از آلبومین سرم گاوی، جذب در nm۵۹۵ تعیین و طبق فرمول ذیل محاسبه گردید:

جذب استاندارد/غلظت استاندارد×جذب نمونه=غلظت نمونه

اندازه‌گیری میزان گلوتاتیون: میزان گلوتاتیون بر اساس روش *تیتز* تعیین شد [۶]. به‌طور اختصار به هر ویال اپندورف حاوی ۱×۱۰^{۶} سلول، ۱۲۰ میکرولیتر از محلول ۲/۵٪ اسیدسولفوسالیسیلیک سرد افزوده و پس از مخلوط کردن، محلول حاصل به‌مدت ۱۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰g و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ و از محلول رویی برای اندازه‌گیری گلوتاتیون استفاده شد. برای تعیین گلوتاتیون، ۷۳۰ میکرولیتر از محلول Na2HPO4 (۰/۳ مول بر لیتر) و ۹۰ میکرولیتر DTNB (۴۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) در محلول سیترات سدیم (۱ گرم بر دسی‌لیتر) به‌عنوان سوبسترا و ۱۸۰ میکرولیتر از سطح فوقانی محلول سلولی استفاده شد. تغییرات جذب محلول فوق در nm۴۱۲ و به‌مدت ۴ دقیقه قرائت گردید و با استفاده از منحنی کالیبراسیون میزان گلوتاتیون سلولی بر حسب µmol/mg محاسبه و میزان فعالیت بر حسب میزان جذب تعیین گردید. سپس میزان کل فعالیت از تقسیم میزان فعالیت بر میزان پروتئین بدست آمد.

سنجش زنده بودن: غلظت سمی دیازینون (۳۰۰ میکرومولار) که به‌طور تجربی به‌دست آمد، در محیط کشت تهیه و به سلول‌های عادی و القاشده در حضور کنترل و ویتامین B6 (۳۰ دقیقه قبل و بعد یا به‌تنهایی) افزوده شد. پس از ۷۲ ساعت، محیط کشت تخلیه و به هر چاهک ۲۰۰ میکرولیتر رنگ قرمز خنثی اضافه شد و برای

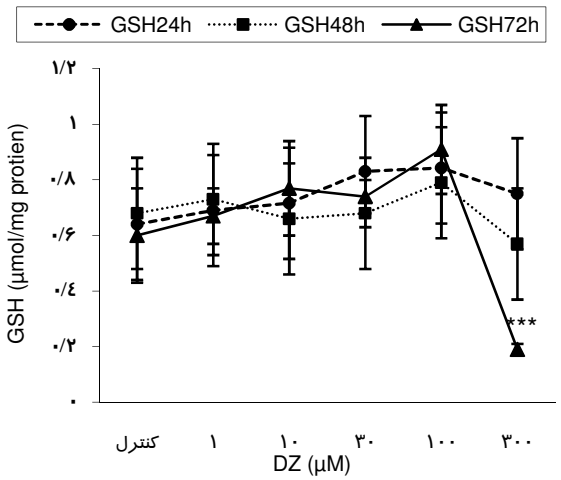
جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

اینکه CO_2 رد و بدل نشود، پلیت ۹۶چاهکه با کاغذ پارافین پوشانده شد و به‌مدت یک ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس محیط حاوی قرمز خنثی تخلیه و با فرمالدئید ۴٪ دو بار شست‌وشو داده شد (۲۰۰ میکرولیتر به هر چاهک). سپس فرمالدئید تخلیه شد و به هر چاهک ۱۰۰ میکرولیتر اتانول ۵۰٪ و ۱۰۰ میکرولیتر اسیداستیک ۱٪ اضافه و ۲۰ دقیقه در هوای آزاد قرار گرفت. جذب نوری به‌وسیله دستگاه الایزا در طول موج nm۵۴۰ خوانده شد. پس از رسیدن به دوز موثر (۱۰۰ میکرومولار) در زمان ۷۲ ساعت، دوز ۳۰۰ میکرومولار دیازینون در زمان‌های ۳۰ دقیقه و ۷۲ ساعت در حضور ویتامین B6 (۳۰ دقیقه قبل و بعد یا به‌تنهایی) مورد استفاده قرار گرفت. میزان زنده بودن سلول‌ها در زمان ۷۲ ساعت با دوز ۳۰۰ میکرومولار دیازینون در حضور ویتامین B6 (۳۰ دقیقه قبل و بعد یا به‌تنهایی) نیز سنجیده شد.

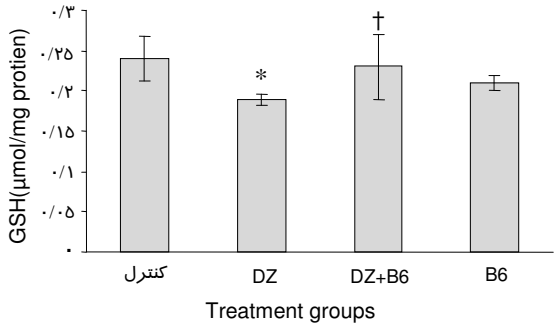
آنالیز آماری: در این مطالعه، داده‌ها بر حسب میانگین±انحراف‌استاندارد در هر گروه بیان شد و مقایسه آماری با استفاده از روش آنالیز واریانس آنوای یک‌طرفه و به‌دنبال آن آزمون توکی انجام شد. $p<۰/۰۵$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج

دوزهای مختلف دیازینون (۱، ۱۰، ۳۰، ۱۰۰ و ۳۰۰ میکرومولار) در زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت به‌منظور بررسی اثرات دیازینون بر میزان گلوتاتیون انتخاب شد. دوز ۱۰۰ میکرومولار دیازینون در زمان ۷۲ ساعت انکوباسیون باعث افزایش میزان گلوتاتیون شد. هر چند این افزایش معنی‌دار نبود، ولی دوز ۳۰۰ میکرومولار دیازینون در زمان ۷۲ ساعت در مقایسه با گروه کنترل باعث کاهش معنی‌دار میزان گلوتاتیون شد (نمودار ۱).

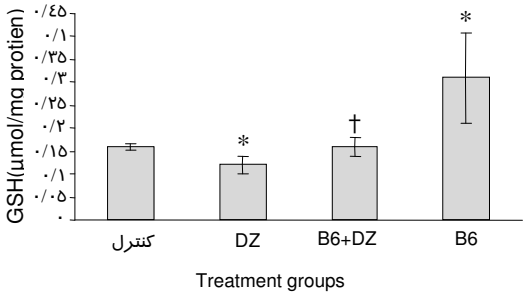


نمودار ۱) اثر دوزهای مختلف دیازینون (۱، ۱۰، ۳۰، ۱۰۰ و ۳۰۰میکرومولار) بر میزان گلوتاتیون در سلول‌های $U_{373}MG$ در محیط کشت در زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت انکوباسیون.
*** ($p<۰/۰۰۱$)



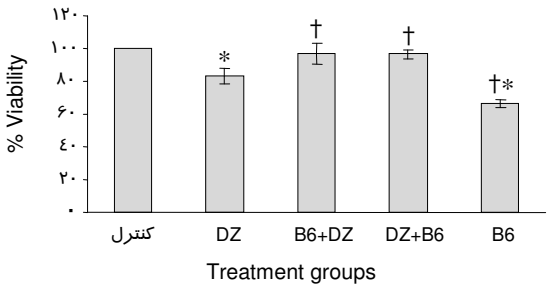
نمودار ۲) اثر ویتامین B6 بر میزان گلوتاتیون، به‌تنهایی و در حضور دیازینون بر سلول‌های $U_{373}MG$. ویتامین B6 (۵ میلی‌مولار) ۳۰ دقیقه بعد از به‌کارگیری دیازینون به محیط کشت اضافه و به‌مدت ۷۲ ساعت انکوبه شد.
* به‌طور معنی‌داری با گروه کنترل و † با گروه دیازینون به‌تنهایی تفاوت دارد ($p<۰/۰۵$)

دیازینون در حضور ویتامین B6 به‌صورت پس‌درمان در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌داری در میزان گلوتاتیون ایجاد نکرد. ویتامین B6 در مقایسه با گروه کنترل به‌تنهایی اثری بر میزان گلوتاتیون نداشت (نمودار ۲). پیش‌درمانی با ویتامین B6 نیز توانست از کاهش GSH ناشی از دیازینون جلوگیری نماید (نمودار ۳)، ولی ویتامین B6 به‌تنهایی میزان گلوتاتیون را در مقایسه با گروه کنترل و دیازینون به‌طور معنی‌داری افزایش داد. پیش‌درمانی با ویتامین B6 نیز تغییری در میزان گلوتاتیون نسبت به گروه کنترل ایجاد نکرد (نمودار ۳).



نمودار ۳) اثر ویتامین B6 بر میزان گلوتاتیون به‌تنهایی و در حضور دیازینون (۳۰۰ میکرومولار) در سلول‌های $U_{373}MG$. ویتامین B6 (۵ میلی‌مولار) ۳۰ دقیقه قبل از به‌کارگیری دیازینون به محیط کشت اضافه و ۷۲ ساعت انکوبه شد.
* به‌طور معنی‌داری با گروه کنترل و † با گروه دیازینون به‌تنهایی تفاوت دارد ($p<۰/۰۵$)

میزان زنده بودن سلول‌ها نیز در مقایسه با گروه کنترل توسط دیازینون کاهش معنی‌داری یافت. به‌کارگیری ویتامین B6 به‌صورت پیش‌درمانی یا پس‌درمانی (۳۰ دقیقه قبل یا بعد از افزودن دیازینون) سبب مهار مرگ سلولی ناشی از دیازینون شد. در ضمن، دیازینون به‌تنهایی سبب کاهش معنی‌دار سلول‌های زنده شد (نمودار ۴).



نمودار ۴) اثر ویتامین B6 (۵ mM) در پیشگیری از مرگ سلولی ناشی از دیازینون (۳۰۰ μM) در زمان ۷۲ ساعت انکوباسیون در سلول‌های رده $U_{373}MG$. ویتامین B6، ۳۰ دقیقه قبل و ۳۰ دقیقه بعد از دیازینون یا به‌تنهایی به‌کاررفته و به‌مدت ۷۲ ساعت انکوبه شد.

* به‌طور معنی‌داری با گروه کنترل و † با گروه دیازینون به‌تنهایی تفاوت دارد ($p<۰/۰۵$)

بحث

نتایج فوق نشان می‌دهد که دیازینون در دوز ۱۰۰ میکرومولار باعث تحریک اولیه در سیستم آنتی‌اکسیدانی شده و میزان گلوتاتیون افزایش می‌یابد؛ ولی به‌نظر می‌رسد که با افزایش دوز دیازینون (۳۰۰ میکرومولار) در زمان ۷۲ ساعت انکوباسیون، میزان گلوتاتیون برای مقابله با استرس اکسیداتیو ایجاد شده کافی نیست و نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری در میزان گلوتاتیون ایجاد می‌گردد. در همین راستا، *شارما* و همکاران نشان دادند که تجویز ارگانوفسفره دی‌مِتوئات به‌صورت خوراکی و به‌مدت یک ماه به موش صحرایی موجب کاهش میزان گلوتاتیون کبد و مغز می‌گردد [۸]. از سوی دیگر مطالعات فوق به‌صورت درون‌تن و به‌مدت طولانی انجام شده است.

مطالعات متعدد نشان می‌دهند که این ترکیبات، گلوتاتیون کل را تغییر نداده و فرم اکسید گلوتاتیون را افزایش می‌دهند. در این راستا *ژیوردینو* و همکاران نشان دادند که تجویز یک میکرومولار دیازینون در سلول‌های گرانوله مخچه در مدت ۲۴ ساعت انکوباسیون، گلوتاتیون کل داخل سلول را تغییر نمی‌دهد، ولی فرم اکسید گلوتاتیون (GSSG) را افزایش می‌دهد. آنها همچنین گونه‌های فعال اکسیژن تولیدشده از دیازینون را به‌وسیله روش فلوریمتری اندازه گرفته و نشان دادند رادیکال‌های آزاد به‌دنبال تجویز دیازینون افزایش می‌یابند [۳]. *براکاردو* و همکاران نشان دادند که تجویز ۲۵۰ mg/kg مالاتیون به موش‌های صحرایی ماده باعث افزایش گلوتاتیون اس- ترانسفراز و ردوکتاز می‌شود ولی گلوتاتیون کل کاهش می‌یابد [۹]. *شینگ* و همکاران نشان دادند که تجویز ارگانوفسفره به اریتروسیت‌ها باعث افزایش گلوتاتیون اس- ترانسفراز و کاهش گلوتاتیون کل داخل سلول می‌شود [۱۰].

نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان داد که دوز ۳۰۰ میکرومولار دیازینون در زمان ۷۲ ساعت باعث کاهش معنی‌دار شاخص‌های استرس اکسیداتیو می‌شود که نشان‌دهنده آثار استرس اکسیداتیو دیازینون بوده و با نتایج فوق هم‌خوانی دارد.

در تحقیق حاضر، هر چند پیش‌درمانی و پس‌درمانی با ویتامین B6 در حالت حاد اثری بر میزان گلوتاتیون نداشت ولی عدم تفاوت بین گروه‌های درمانی و نیز عدم تاثیر دیازینون نیز در این دو گروه مشهود بود. در بخش بعدی مطالعه، اثر مزمن (۷۲ساعت)، پیش‌درمانی یا پس‌درمانی با ویتامین B6 سبب مهار اثر دیازینون بر کاهش میزان گلوتاتیون شد، لذا ویتامین B6 احتمالاً با افزایش میزان گلوتاتیون سبب مهار آثار اکسیداتیو استرس دیازینون می‌گردد. در تایید این نتایج، *چومنانتانا* و همکاران نشان دادند که افزودن ۱ میکرومولار هر یک از ترکیبات ویتامین B6 به محیط کشت سلول‌های مخمر، پس از مجاورت با منادیون‌سدیم‌بی‌سولفیت (عامل استرس اکسیداتیو) میزان گلوتاتیون را افزایش می‌دهد [۵]، لذا می‌توان انتظار داشت که پس‌درمانی با پیریدوکسین (با افزایش میزان گلوتاتیون داخل سلولی) احتمالاً با اکسیداتیو استرس ارگانوفسفات مقابله نماید.

از سوی دیگر *آناند* نشان داد که تجویز پیریدوکسین (ویتامین B6) قبل از به‌کار بردن کرومیم (عامل ایجاد استرس اکسیداتیو)، باعث افزایش عوامل آنتی‌اکسیدان و جلوگیری از لیپیدپراکسیداسیون می‌شود [۱۱]. همچنین *مولینا* و همکاران نشان دادند که غلظت ۵ میلی‌مولار (B6) باعث کاهش رشد سلول‌های سرطانی می‌شود [۱۲]. هم‌خوان با این گزارش، *کوماتسو* و همکاران ضمن بررسی مکانیزم اثر ویتامین B6 خواص ضدتوموری آن را گزارش کردند [۱۳]. *بیلسکی* و همکاران نیز نشان دادند که ویتامین B6 در مهار رادیکال‌های آزاد موثر هستند [۱۴]. نتایج میزان زنده بودن نیز حاکی از کاهش تعداد سلول‌های تیمار شده با دیازینون در مقایسه با گروه کنترل است و استفاده از ویتامین B6 به‌صورت پیش‌درمان و پس‌درمان باعث افزایش میزان زنده بودن سلول‌ها می‌شود. در همین راستا، *چومنانتانا* و همکاران نشان دادند که در نوعی مخمر استفاده از مشتقات ویتامین B6 در حضور دیازینون، گلوتاتیون سلول‌ها را افزایش می‌دهد [۵].

نتیجه‌گیری

در مجموع، مطالعه حاضر نشان می‌دهد که دیازینون احتمالا با ایجاد استرس اکسیداتیو و در نتیجه کاهش میزان گلوتاتیون، اثر سمی بر سلول‌های نوروگلیال رده $U_{373}MG$ ایجاد نموده و تجویز ویتامین B6 به‌صورت پیش‌درمانی یا پس‌درمانی می‌تواند اثر محافظتی ایجاد نماید و از کاهش گلوتاتیون و نیز مرگ سلولی

ناشی از دیازینون جلوگیری کند. هر چند، شاید ویتامین B6 با افزایش میزان گلوتاتیون با عوامل استرس اکسیداتیو مقابله نموده و سبب محافظت سلول‌های نوروگلیا گردد، اما مقابله احتمالی مستقیم با عوامل استرس اکسیداتیو را نیز نبایست از نظر دور داشت.

منابع

1- Slotkin TA, Seidler FJ. Comparative developmental neurotoxicity of organophosphate in vivo: Transcriptional response of pathways for brain cell development, cell signaling, citotoxicity and neurotransmitter systems. Brain Res Bul. 2007;72:232-74.
2- Ta CK. Organophosphate pesticides: Biochemistry and clinical toxicology. Therap Drug Monit. 2002;24:144-9.
3- Giordano G, Afsharinejad Z. Organophosphorus insecticides cholorpyrifos and diazinon and oxidative stress in neuronal cells in a genetic model of glutathione deficiency. Toxicol Appl Pharmacol. 2006;10:1-2.
4- Peter H, Edward R. Free radicals and disease in man. Physiol Chem Physics Medical NMR. 1984;16:175-95.
5- Chumnantana R, Yokochi N, Yagi T. Vitamin B6 compounds prevent the death of yeast cells due to menadoine, a reactive oxygen generator. J Cell Physiol. 2005;2:84-91.
6- Tietze F. Enzymic method for quantitative determination of total and oxidized glutathione: Applications to mammalian blood and other tissues. Anal Biochem. 1969;27:502-22.
7- Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantization of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dry binding. Anal Biochem. 1976;72:248-54.
8- Sharma Y, Bashir S, Irshad M, Nag TC, Dogra TD. Dimethoate-induced effects on antioxidant status of brain of rats following sub chronic exposure. Toxicol. 2005;215(3):173-81.
9- Brocardo PS, Pandolfa P. Antioxidant defenses and lipid peroxidation in the cerebral cortex and hippocampus following acute exposure to malathion and/or zinc chloride. Toxicol. 2005;207:283-91.
10- Singh M, Sandhir R, Kiran R. Erythrocyte antioxidant enzymes in toxicological evaluation of commonly used organophosphate pesticides. India J Exp Biol. 2006;44(7):580-3.
11- Anand S. Protective effect of vitamin B6 in chromium-induced oxidative stress in liver. J Appl Toxicol. 2005;25(5):440-3.
12- Molina A, Oka T, Munos SM, Chikamori AM, Kuwahata M, Natori Y. Vitamin B6 suppresses growth and expression of albumin gene in a human hepatoma cell line HePG2. Nutr Cancer. 1997;28:206-11.
13- Komatsu S, Yanaka N, Matsubara K, Kato N. Antitumor effect of vitamin B6 and its mechanisms. Biochim Biophys Acta. 2003;1647(1-2):127-30.
14- Bilski P, Li MY, Ehrenshaft M, Daub ME, Chignell CF. Vitamin B6 (pyridoxine) and its derivatives are efficient singlet oxygen quenchers and potential fungal antioxidants. Photochem Photobiol. 2000;71:129-34.