

## КУМУЛЯТИВНОЕ ВЛИЯНИЕ ПАРАОКСОНА И ЛЕПТИНА НА ПРОЦЕСС ОКИСЛИТЕЛЬНОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ В ТКАНЯХ КРЫС: ПРОФИЛАКТИЧЕСКАЯ И ТЕРАПЕВТИЧЕСКАЯ РОЛЬ N-АЦЕТИЛЦИСТЕИНА

© 2023 S. Khazaie<sup>1</sup>, M. Jafari<sup>2\*</sup>, M. Golamloo<sup>1</sup>, A. Asgari<sup>3</sup>,  
J. Heydari<sup>1</sup>, M. Salehi<sup>4</sup>, F. Salem<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

<sup>2</sup> Chemical Injuries Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran; E-mail: m.jafari145@gmail.com

<sup>3</sup> Exercise Physiology Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

<sup>4</sup> Neurosciences Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Поступила в редакцию 11.11.2022

После доработки 11.01.2023

Принята к публикации 11.01.2023

Воздействие на живой организм параоксона (ПОХ) и лептина (LP) может привести к возникновению дисбаланса между оксидантами и антиоксидантами. Это можно предотвратить за счет введения экзогенных антиоксидантов, таких как N-ацетилцистеин (НАС). Целью настоящего исследования являлась оценка синергического или аддитивного влияния на антиоксидантный статус введения экзогенного LP и ПОХ, а также профилактической и терапевтической роли НАС в различных тканях крыс. Пятьдесят четыре крысы-самца линии Wistar были разделены на девять групп, подлежащих обработке различными химическими соединениями: 1) контроль (без обработки); 2) ПОХ (0,7 мг/кг); 3) НАС (160 мг/кг); 4) LP (1 мг/кг); 5) ПОХ + LP; 6) НАС-ПОХ; 7) ПОХ-НАС; 8) НАС-ПОХ + LP; 9) ПОХ + LP-НАС. В последних пяти группах различался только порядок введения соединений. Через 24 ч после воздействия у крыс брали и исследовали плазму крови и ткани. Результаты показали, что введение ПОХ + LP достоверно повышало биохимические показатели плазмы и активность антиоксидантных ферментов, снижало содержание восстановленного глутатиона (GSH) в печени, эритроцитах, головном мозге, почках и сердце. Кроме того, в этой группе в печени, эритроцитах и головном мозге была снижена активность холинэстеразы и параоксоназы 1, в то время как уровень малонового диальдегида – повышен. Однако введение НАС исправляло индуцированные изменения, хотя и не полностью. Полученные нами результаты позволяют предположить, что введение ПОХ или LP использует систему окислительного стресса как таковую; однако их комбинация не приводила к значительно большему эффекту. Более того, как профилактическое, так и терапевтическое воздействие НАС на крыс поддерживало антиоксидантную защиту от окислительного повреждения в тканях, скорее всего, благодаря способности удалять свободные радикалы и сохранять внутриклеточный уровень GSH. Таким образом, можно предположить, что НАС оказывает именно защитное действие против токсичности ПОХ и/или LP.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** параоксон, лептин, N-ацетилцистеин, окислительный стресс, биохимические параметры, ткани крысы.

**DOI:** 10.31857/S0320972523020094, **EDN:** QHABRU

Принятые сокращения: АФК – активные формы кислорода; ФОС – фосфорорганические соединения; ALP – щелочная фосфатаза; ALT – аланинаминотрансфераза; AST – аспаратаминотрансфераза; CAT – каталаза; GSH – восстановленный глутатион; GST – глутатион S-трансфераза; HDL и HDL-C – липопротеины высокой плотности и высокой плотности-холестерин соответственно; LDL, VLDL и LDL-C – липопротеины низкой плотности, очень низкой плотности и низкой плотности-холестерин соответственно; LP – лептин; MDA – малоновый диальдегид; НАС – N-ацетил-L-цистеин; PON1 – параоксоназа 1; ПОХ – параоксон; SOD – супероксиддисмутаза; TG – триглицерид; TC – общий холестерин.

\* Адресат для корреспонденции.

## ВВЕДЕНИЕ

Фосфорорганические соединения (ФОС) широко используются во всем мире в различных областях сельского хозяйства, в ветеринарии и промышленности. Более широкое использование ФОС с их способностью взаимодействовать с биологическими системами и проблемой утилизации их остатков в окружающей среде предполагает высокие риски возникновения серьезных проблем со здоровьем населения. Профессиональное и случайное отравление этими токсичными соединениями ежегодно приводит к тысячам смертей во всем мире и является третьей по частоте причиной смерти от отравления в Иране [1, 2].

Параоксон (РОХ) представляет собой окисленный активный метаболит ФОС, паратиона. Нейротоксические эффекты РОХ обычно связывают с ингибированием холинэстеразы, избыточным накоплением ацетилхолина и холинергическим кризом [3, 4]. Кроме того, РОХ, как липофильная молекула, легко проходит через клеточную мембрану в цитоплазму, увеличивая продукцию в ней активных форм кислорода (АФК) и вызывая нарушения бислоидной фосфолипидной структуры клеточной мембраны и истощение запасов восстановленного глутатиона (GSH), что приводит к индукции вредных окислительных изменений в различных органах [5, 6]. По этой причине добавки, содержащие экзогенный источник антиоксидантов, таких как N-ацетил-L-цистеин (NAC), играют важную роль в поддержании баланса оксидантов и антиоксидантов в организме. NAC, как терапевтическое средство, является предшественником синтеза GSH и химиопротектором против токсического действия многих соединений. Кроме того, он действует как поглотитель свободных радикалов благодаря прямому взаимодействию с АФК. NAC является очень безопасным и эффективным препаратом для лечения многих заболеваний, связанных с окислительным стрессом и/или дефицитом GSH [7, 8]. Все перечисленные выше полезные свойства NAC позволили нам рассматривать это соединение в качестве сильного кандидата на восстановление нарушенного прооксидантно-антиоксидантного баланса при отравлении ФОС [9]. Ряд исследователей сообщили о профилактической и/или терапевтической роли NAC в отношении острой/хронической токсичности различных ФОС, таких как диазинон [10] и фентион [9].

Параоксоназа 1 (PON1) – кальций-зависимая эстераза, обнаруженная у различных видов млекопитающих. Этот фермент синтезируется

преимущественно в печени и секретируется в кровь, где связывается с липопротеинами высокой плотности (HDL). PON1 обладает антиоксидантными и липофильными свойствами и защищает клетки от вредного воздействия ФОС. Побочными продуктами гидролиза РОХ являются диэтилфосфорная кислота и п-нитрофенол, но ни один из них не способен ингибировать холинэстеразу [5, 11]. PON1 также защищает липопротеины низкой плотности (LDL) от окислительных модификаций и уменьшает накопление продуктов перекисного окисления, тем самым предотвращая возникновение и прогрессирование атеросклероза [11]. Этот фермент необходим для снижения уровня окислительного стресса за счет удаления активных форм кислорода [5].

Лептин (LP) представляет собой секретируемый адипоцитами пептидный гормон, высвобождение которого происходит пропорционально размеру жировых депо. Он играет регулируемую роль в потреблении пищи, расходе энергии, метаболизме углеводов и липидов, провоспалительных иммунных реакциях и ангиогенезе. Уровни LP в плазме крови выше у пациентов с ожирением и диабетом, которые считаются резистентными к LP [12–14]. LP стимулирует воспалительные клетки, увеличивает образование АФК, вызывает окислительный стресс и снижает активность PON1 в плазме крови [12, 15].

Ожирение – это состояние, характеризующееся гиперлептинемией, оно связано с дисфункцией тканей из-за повышенной продукции АФК [13]. Активность системы оксидантно-антиоксидантной защиты от химикатов и лекарств неодинакова в разных тканях [16]. Насколько нам известно, комбинированное влияние РОХ и высокого уровня LP на индукцию окислительного стресса при таких состояниях, как ожирение, не исследовалось. Целями настоящего исследования были: 1) определить степень синергического или аддитивного воздействия экзогенных LP и РОХ на антиоксидантный статус, если таковые имеются; 2) изучить любую корреляцию между окислительными биомаркерами и активностью PON1 и 3) оценить профилактическую и терапевтическую роль NAC в отношении этих эффектов на эритроциты, печень, почки, головной мозг и сердце у самцов крыс линии Wistar. Наша экспериментальная модель позволила нам исследовать влияние гиперлептинемии без других метаболических нарушений, сопровождающих ожирение.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

**Реактивы.** В работе использовали нитросиний тетразолий (NBT), восстановленный глутатион (GSH), 1-хлоро-2,4-динитробензол (CDNB), 5,5'-дителибис-2-нитробензойная кислота (DTNB), параоксон (чистота 90%), лептин, N-ацетилцистеин («Sigma Chemical Company», Германия). Все остальные использованные реагенты имели квалификацию «ос.ч.» и были получены от фирм «Sigma» и «Merck», (Германия). Непосредственно перед использованием РОХ растворяли в кукурузном масле до получения концентрированного раствора (4 мг/мл). Концентрированные растворы LP (1 мг/мл) и НАС (160 мг/мл) получали с использованием 10 мМ натрий-фосфатного буфера (рН 7,4).

**Животные.** Крысы-самцы линии Wistar весом 170–230 г были получены из вивария Бакияталлахского медицинского университета (Тегеран, Иран). В одну клетку помещали по 3 крысы и давали им возможность акклиматизироваться в течение по меньшей мере одной недели до использования в экспериментах. Лабораторных животных содержали при контролируемой температуре (20–22 °С) и 12-часовом цикле свет/темнота, они получали без ограничений стандартный корм для крыс и воду.

**План экспериментов.** Животные были случайным образом разбиты на 9 групп (по 6 крыс в группе); каждой группе однократно внутрибрюшинно вводили РОХ, LP и НАС в разных комбинациях: 1) контрольной группе вводили кукурузное масло (растворитель РОХ); 2) группе НАС вводили НАС в концентрации 160 мг/кг [10]; 3) группе РОХ вводили РОХ в концентрации 0,7 мг/кг [6]; 4) группе LP вводили LP в концентрации 1 мг/кг [15, 17]; 5) группе РОХ + LP вводили смесь РОХ (0,7 мг/кг) и LP (1 мг/кг); 6) группе НАС-РОХ предварительно вводили НАС в концентрации 160 мг/кг, а затем через 3 ч вводили РОХ (0,7 мг/кг); 7) группе РОХ-НАС предварительно вводили РОХ в концентрации 0,7 мг/кг с последующей дозой НАС (160 мг/кг) через 3 часа; 8) группе НАС-РОХ + LP предварительно вводили НАС в концентрации 160 мг/кг, а затем через 3 ч одновременно вводили смесь РОХ (0,7 мг/кг) и LP (1 мг/кг); 9) группе РОХ + LP-НАС предварительно вводили смесь РОХ (0,7 мг/кг) и LP (1 мг/кг), а затем через 3 ч вводили НАС (160 мг/кг). Всех крыс взвешивали в начале и в конце исследования.

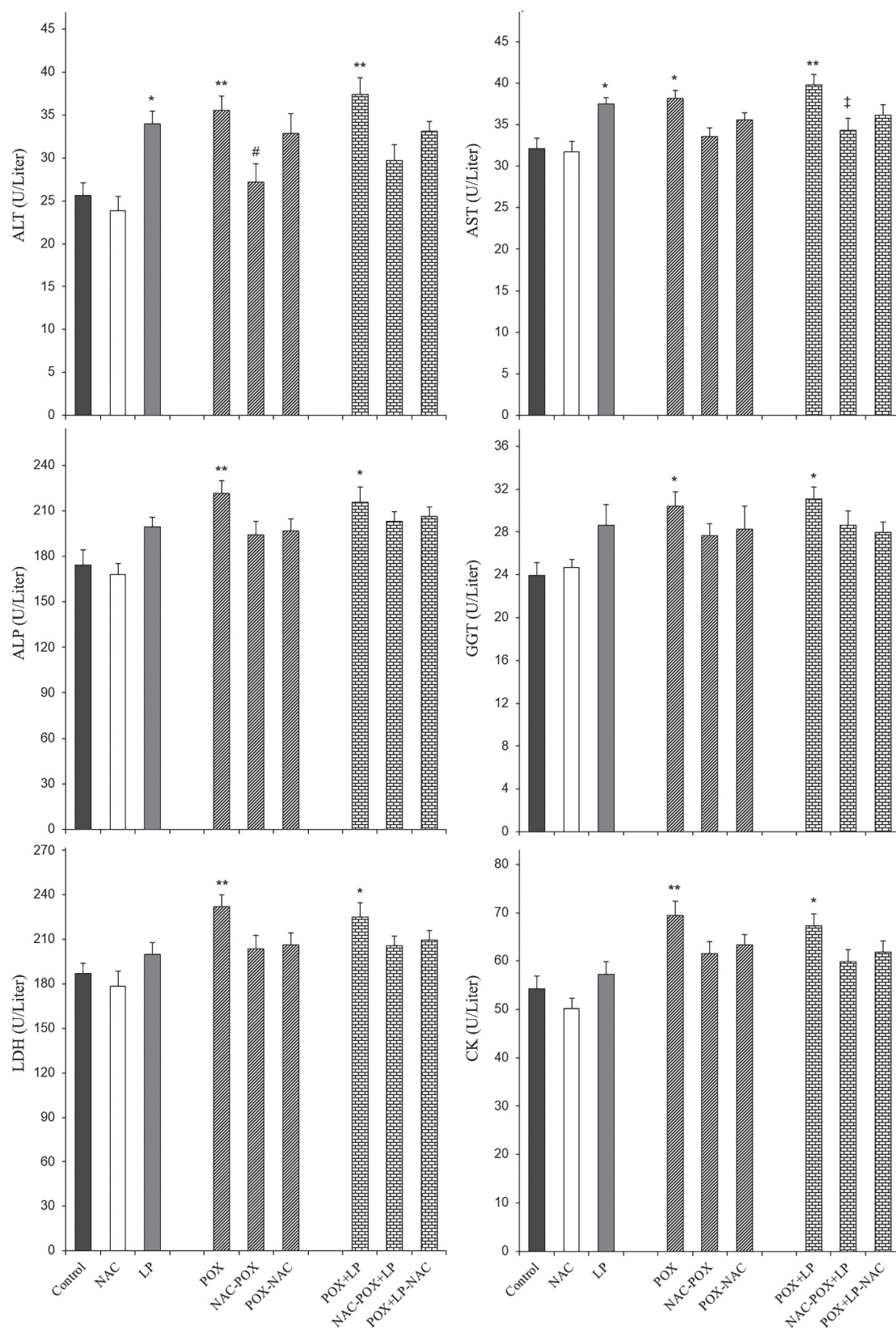
**Получение препаратов плазмы крови и тканей.** Крыс забивали через 24 ч после послед-

него введения экспериментальных препаратов [6], после голодания в течение последней ночи. Образцы крови собирали путем пункции сердца в пробирки с гепарином и сразу же центрифугировали при 3000 g в течение 15 мин при 4 °С. Плазму крови удаляли, а эритроциты промывали 3 раза пятью объемами фосфатно-солевого буфера (PBS); снова центрифугировали при 3000 g в течение 15 мин при 4 °С, после чего удаляли надосадочную жидкость и белый лейкоцитарный слой; осадок делили на равные порции и хранили в замороженном состоянии при –70 °С до использования. Печень, почки, головной мозг, сердце и селезенку быстро извлекали, промывали в ледяном PBS, сразу же погружали в жидкий азот, после чего хранили при –70 °С до проведения биохимического анализа.

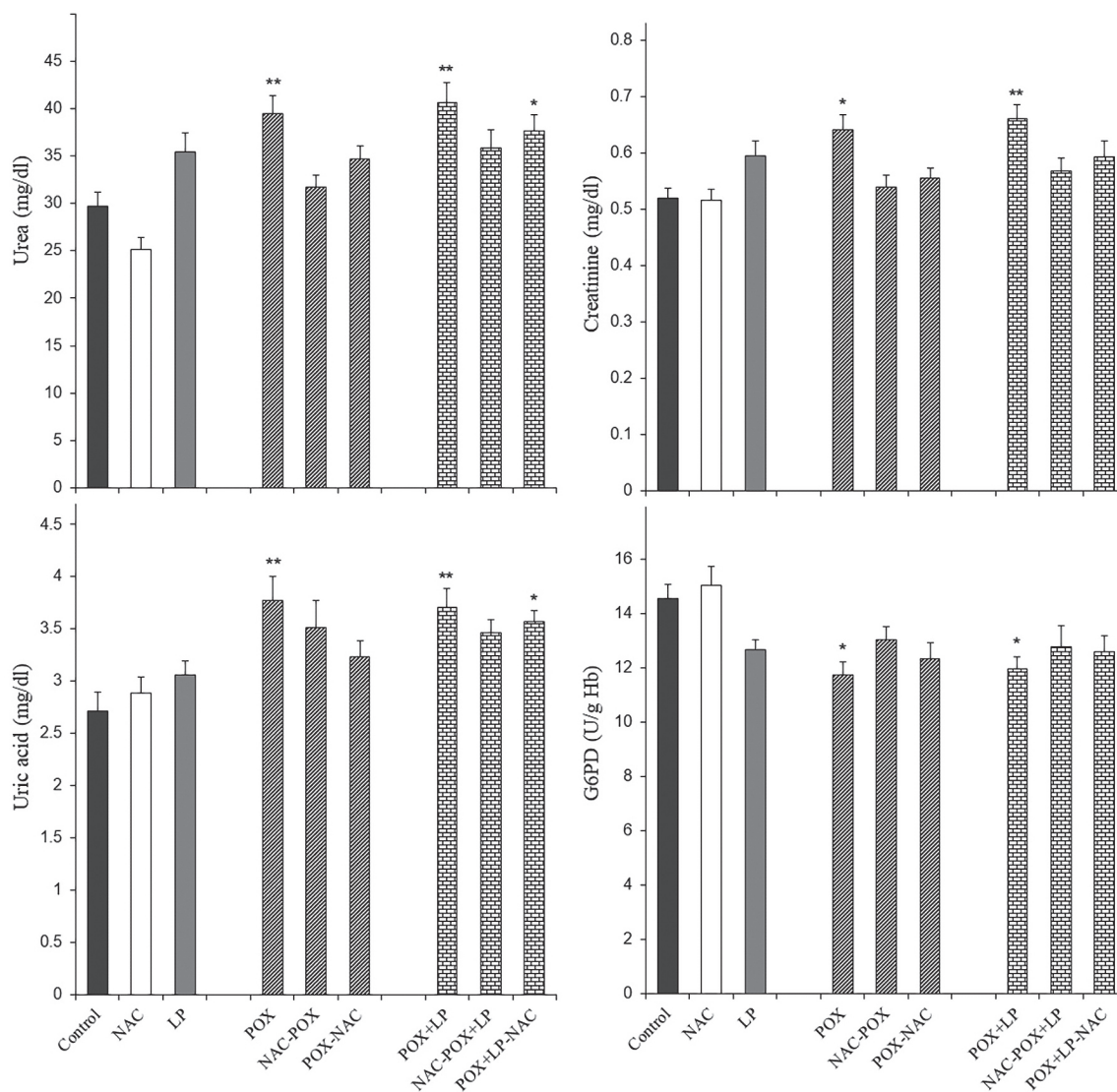
В день проведения эксперимента эритроциты подвергали гемолизу в 10 объемах ледяной дистиллированной воды. После центрифугирования супернатант использовали для биохимического анализа. Кроме того, замороженные образцы тканей быстро взвешивали и гомогенизировали в ледяном PBS в соотношении 1/10 в гомогенизаторе («Heidolph», Германия). Затем гомогенаты центрифугировали при 16 000 g в течение 15 мин при 4 °С. Супернатанты отделяли и использовали для анализа активности ферментов и определения уровней GSH, MDA (малоновый диальдегид) и белка.

**Биомаркеры окислительных повреждений.** Активность супероксиддисмутазы (SOD) определяли на основании способности SOD ингибировать восстановление NBT супероксидом. Активность каталазы (CAT) измеряли по скорости деградации H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (субстрат этого фермента), регистрируя на спектрофотометре оптическое поглощение образцов при 240 нм. Активность глутатион-S-трансферазы (GST) оценивали, наблюдая за образованием тиоэфирного продукта реакции между GSH и CDNB при 340 нм. Уровень GSH определяли путем регистрации поглощения DTNB при 412 нм. Уровень MDA, индикатора перекисного окисления липидов, определяли с использованием тиобарбитуровой кислоты по поглощению при 532 нм [10]. Активность PON1 определяли путем измерения начальной скорости гидролиза субстрата с образованием п-нитрофенола, поглощение которого контролировали при 412 нм [18]. Активность ферментов в различных тканях выражали в единицах (U) на мг белка.

**Уровни общего белка и гемоглобина.** Концентрацию общего белка в тканях измеряли по методу Брэдфорда, используя в качестве



**Рис. 1.** Эффекты параоксона (POX) и лептина (LP) в присутствии N-ацетилцистеина (NAC) и без него на функциональные показатели плазмы крови, печени и сердца самцов крыс линии Wistar, определяемые через 24 ч после воздействия. Результаты представлены в виде среднего значения  $\pm$  стандартная ошибка среднего ( $n = 6$ ). \*  $p < 0,05$  и \*\*  $p < 0,01$  – достоверные различия по сравнению с контролем; #  $p < 0,05$  – достоверные различия по сравнению с группой POX; ‡  $p < 0,05$  – достоверные различия по сравнению с группой POX + LP. Обозначения: AST – аспартаттрансаминаза; ALT – аланинтрансаминаза; LDH – лактатдегидрогеназа; GGT –  $\gamma$ -глутамилтрансфераза; ALP – щелочная фосфатаза; СК – креатинфосфаткиназа



**Рис. 2.** Эффекты параоксона (POX) и лептина (LP) в присутствии N-ацетилцистеина (NAC) и без него на функциональные показатели плазмы крови и почек у самцов крыс линии Wistar, определяемые через 24 ч после воздействия. Результаты представлены в виде среднего значения ± стандартная ошибка среднего ( $n = 6$ ). \*  $p < 0,05$  и \*\*  $p < 0,01$  – достоверные различия по сравнению с контролем. G6PD – глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа

стандарта бычий сывороточный альбумин [19]. Концентрацию гемоглобина (Hb) в крови измеряли цианметгемоглобиновым методом с раствором Дабкина [20].

**Определение биохимических показателей плазмы крови.** Активности аспартаттрансаминазы (AST), аланинтрансаминазы (ALT), щелочной фосфатазы (ALP), лактатдегидрогеназы (LDH), креатинфосфаткиназы (СК),  $\gamma$ -глутамилтрансферазы (GGT) и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (G6PD), а также уровни мочевины, креатинина, мочевой кислоты, общего холестерина (ТС), триглицеридов (TG) и липопротеинов высокой плотности-холестерин (HDL-C) определяли в плазме крови с использованием наборов Parsazmun Company kits («Parsazmun», Иран). Уровни липопротеинов

очень низкой плотности (VLDL) и липопротеинов низкой плотности-холестерин (LDL-C) рассчитывали с помощью уравнения Friedewald et al. [21].

**Статистический анализ.** Статистическую обработку данных проводили с использованием статистического программного обеспечения SPSS версии 22 («IBM Corporation», США). Значимость различий определяли с помощью дисперсионного анализа ANOVA с последующим *post-hoc*-анализом с использованием тестов множественного сравнения Тьюки, примененных к различным группам (1–9) крыс для каждой ткани. Результаты выражали в виде среднего ± стандартная ошибка среднего. Уровень значимости основан на  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

**Влияние различных комбинаций воздействия на биохимические показатели плазмы крови.** Активности AST, ALT, ALP, GGT, СК и LDH, а также уровни мочевины, мочевой кислоты, креатинина, TG, TC, VLDL-C, LDL-C и соотношение LDL/HDL в группах POX и POX + LP были значительно повышены, в то время как активность G6PD и уровень HDL-C снижались по сравнению с этими показателями в контрольной группе. Активность ALT и AST в группе LP была повышена по сравнению с активностью этих двух ферментов в контрольной группе. Активность ALT, уровни TG, VLDL-C, LDL-C и LDL/HDL в группе NAC-POX, а также уровни LDL/HDL в группе POX-NAC были понижены по сравнению с группой POX (рис. 1–3).

**Влияние различных комбинаций воздействия на активность антиоксидантных ферментов.** Активности SOD, CAT и GST в группах POX и POX + LP были значительно повышены во всех протестированных тканях по сравнению с контрольной группой. Активности SOD и CAT в группе LP были значительно повышены во всех тканях, за исключением почек. Активность SOD в головном мозге в группе NAC-POX была значительно снижена по сравнению с группой POX (18,4%;  $p = 0,046$ ). Активность SOD в головном мозге в группе NAC-POX + LP также была снижена по сравнению с группой POX + LP (16%;  $p = 0,047$ ). Введение крысам NAC до и после воздействия POX + LP (21,9%;  $p = 0,004$  и 17,2%;  $p = 0,046$  соответственно) вызывало значительное снижение активности CAT в эритроцитах по сравнению с группой POX + LP. Введение крысам NAC до и после воздействия POX способно восстановить активность GST в головном мозге (таблица).

**Влияние воздействия на уровни GSH и MDA.** Уровень GSH в группах POX и POX + LP был снижен во всех протестированных тканях по сравнению со значениями в контрольной группе. LP снижал уровень GSH в печени, головном мозге и эритроцитах по сравнению с контролем. Уровень GSH был значительно повышен в печени (19,9%;  $p = 0,02$ ), эритроцитах (16%;  $p = 0,047$ ) и головном мозге (40,4%;  $p = 0,006$ ) в группе NAC-POX, в печени – в группе POX-NAC (18%;  $p = 0,048$ ) и в головном мозге – в группе NAC-POX + LP (32,3%;  $p = 0,047$ ) по сравнению с группой POX. Кроме того, аналогичные значимые изменения уровня GSH наблюдались в головном мозге (33,8%;  $p = 0,0003$ ) и эритроцитах (17%;  $p = 0,01$ ) в груп-

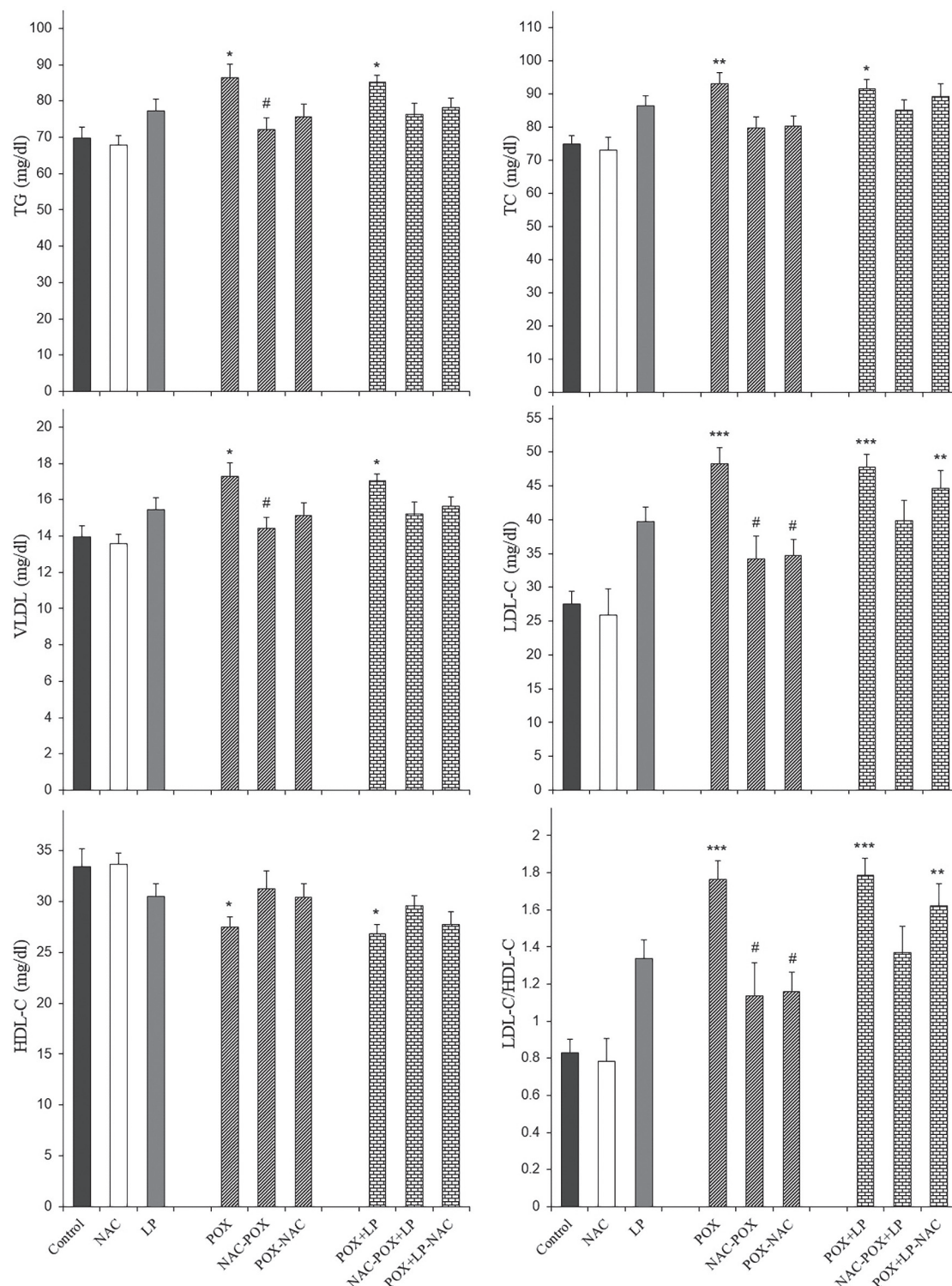
пе NAC-POX + LP по сравнению с группой POX + LP (рис. 4).

Уровень MDA в группах POX, LP и POX + LP был повышен по сравнению с контролем в печени, мозге и эритроцитах. На рис. 5 показано повышение уровня MDA в протестированных тканях всех групп животных, за исключением группы NAC-POX, в которой уровень малонового диальдегида был достоверно снижен в головном мозге по сравнению с группой POX.

**Влияние воздействия на активность PON1.** В группах POX, LP и POX + LP активность PON1 была значительно понижена в печени, эритроцитах, головном мозге и плазме крови подвергнутых воздействиям крыс по сравнению с аналогичными показателями в контрольной группе крыс. Активность PON1 в головном мозге в группе NAC-POX значительно превышала активность этого фермента в группе POX (21,8%;  $p = 0,048$ ) (рис. 6).

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Ожирение – одна из самых серьезных проблем со здоровьем, которая диагностируется по комплексу критериев, включающих инсулинорезистентность, дислипидемию и артериальную гипертензию [12]. Клинические и экспериментальные данные свидетельствуют о том, что ожирение напрямую связано с гиперлептинемией и окислительным стрессом. LP, один из наиболее известных гормональных маркеров ожирения, оказывает плеiotропное действие на многие системы органов [14]. К побочным эффектам лептина относится инициация окислительного стресса, опосредованного активацией NADPH-оксидазы, как основного фермента, ответственного за образование АФК [12]. В организме есть мощные эндогенные антиоксидантные механизмы с участием SOD, CAT, GST и GSH, которые противодействуют вредному воздействию АФК, превращая их в менее реакционноспособные соединения. SOD является ферментом, ответственным за превращение супероксидного радикала в  $H_2O_2$ , а CAT превращает  $H_2O_2$  в воду и кислород. GSH является наиболее распространенным внутриклеточным химическим соединением со свободной тиольной группой, играющим важную роль в организме [16]. GSH, как мощный антиоксидант, напрямую реагирует со свободными радикалами и пероксидами, защищая клетку от окислительных повреждений. Он также действует как субстрат для антиоксидантных ферментов,



**Рис. 3.** Действие параоксона (POX) и лептина (LP) в присутствии N-ацетилцистеина (NAC) и без него на состав липидов, определяемый в плазме крови через 24 ч после воздействия. Результаты представлены в виде среднего значения  $\pm$  стандартная ошибка среднего ( $n = 6$ ). \*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$  и \*\*\*  $p < 0,001$  – достоверные различия по сравнению с контрольной группой; #  $p < 0,05$  – достоверные различия по сравнению с группой POX. Обозначения: TG – триглицерид; TC – общий холестерин; LDL-C – липопротеин высокой плотности; VLDL – липопротеин очень низкой плотности; HDL-C – липопротеин высокой плотности

включая глутатионпероксидазу, глутатион-редуктазу и GST, тем самым предотвращая увеличение АФК. GST действует как детоксикант многочисленных токсичных соединений

путем их конъюгации с GSH [22]. Результаты этого исследования указывают на то, что LP индуцирует окислительный стресс, о чем свидетельствует повышение активности SOD,

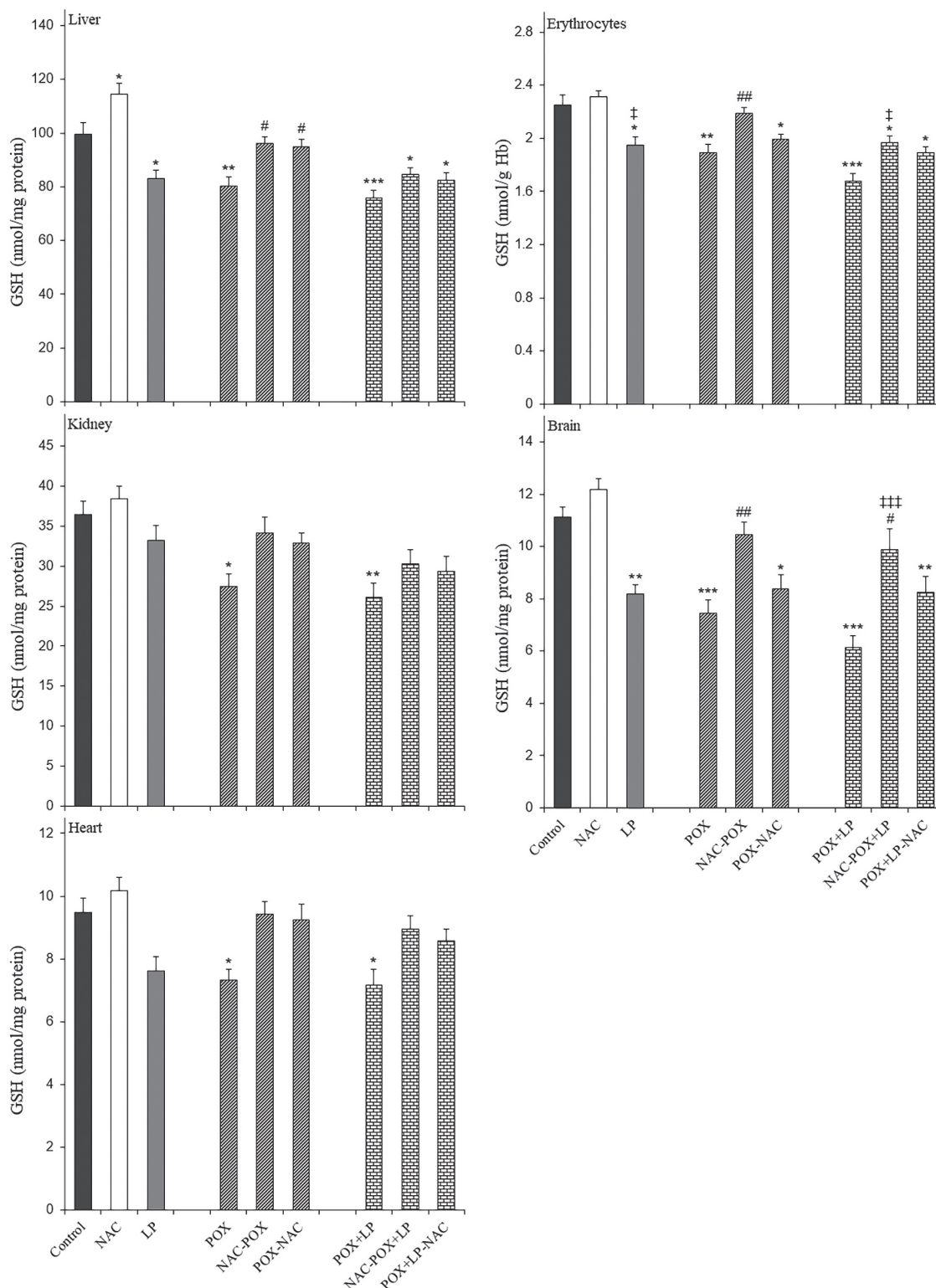
Влияние параоксона и лептина в присутствии или при отсутствии N-ацетилцистеина на активность супероксиддисмутазы, каталазы и глутатион-S трансферазы в различных тканях крыс линии Wistar через 24 ч после воздействия

| Группы         | Печень      | Эритроциты   | Почки     | Мозг         | Сердце   |
|----------------|-------------|--------------|-----------|--------------|----------|
| Активность SOD |             |              |           |              |          |
| Контроль       | 53 ± 3      | 920 ± 40     | 46 ± 2    | 30 ± 1       | 34 ± 2   |
| POX            | 68 ± 3*     | 1160 ± 30**  | 57 ± 3*   | 39 ± 1**     | 42 ± 1*  |
| NAC            | 51 ± 2      | 840 ± 40     | 48 ± 2    | 30 ± 1       | 30 ± 2   |
| LP             | 66 ± 3*, ‡  | 1180 ± 40*** | 54 ± 2    | 40 ± 2***    | 40 ± 1*  |
| POX+LP         | 70 ± 3**    | 1200 ± 30*** | 61 ± 3**  | 45 ± 2***    | 43 ± 1** |
| NAC-POX        | 63 ± 3      | 1000 ± 40    | 55 ± 2    | 32 ± 2#      | 37 ± 2   |
| POX-NAC        | 64 ± 3      | 1100 ± 40*   | 59 ± 2*   | 34 ± 2       | 38 ± 2   |
| NAC-POX+LP     | 67 ± 3*     | 1120 ± 40*   | 57 ± 2*   | 38 ± 1*, ‡‡‡ | 36 ± 2   |
| POX+LP-NAC     | 68 ± 3*     | 1140 ± 40**  | 60 ± 2**  | 39 ± 2**     | 38 ± 1   |
| Активность CAT |             |              |           |              |          |
| Контроль       | 35 ± 2      | 30 ± 1       | 49 ± 3    | 20 ± 1       | 27 ± 1   |
| POX            | 49 ± 3**    | 40 ± 2**     | 63 ± 3**  | 29 ± 2**     | 36 ± 2*  |
| NAC            | 34 ± 2      | 30 ± 2       | 50 ± 2    | 17 ± 2       | 28 ± 1   |
| LP             | 46 ± 2*     | 38 ± 2**     | 56 ± 2    | 28 ± 1*      | 36 ± 2*  |
| POX+LP         | 52 ± 3***   | 50 ± 2***, # | 64 ± 3*** | 30 ± 2**     | 38 ± 2** |
| NAC-POX        | 45 ± 3      | 34 ± 2       | 57 ± 2    | 24 ± 2       | 36 ± 2*  |
| POX-NAC        | 48 ± 3*     | 37 ± 2*      | 60 ± 2*   | 28 ± 2*      | 36 ± 2*  |
| NAC-POX+LP     | 48 ± 2*     | 36 ± 2*, ‡‡  | 59 ± 1*   | 26 ± 2       | 36 ± 2*  |
| POX+LP-NAC     | 49 ± 2**    | 38 ± 2**, ‡  | 63 ± 2*** | 28 ± 1*      | 36 ± 2*  |
| Активность GST |             |              |           |              |          |
| Контроль       | 280 ± 20    | 20 ± 1       | 27 ± 1    | 74 ± 3       | 37 ± 2   |
| POX            | 380 ± 20**  | 30 ± 1**     | 34 ± 1*   | 93 ± 4**     | 46 ± 2*  |
| NAC            | 290 ± 20    | 20 ± 1       | 28 ± 1    | 73 ± 3       | 39 ± 2   |
| LP             | 370 ± 10*   | 25 ± 1*      | 29 ± 1    | 89 ± 3*      | 45 ± 1*  |
| POX+LP         | 400 ± 20*** | 26 ± 1**     | 35 ± 1**  | 94 ± 3**     | 47 ± 2** |
| NAC-POX        | 330 ± 20    | 23 ± 1       | 30 ± 1    | 77 ± 3#      | 44 ± 1   |
| POX-NAC        | 380 ± 20*   | 24 ± 1       | 33 ± 1*   | 78 ± 4       | 45 ± 1*  |
| NAC-POX+LP     | 380 ± 20*   | 25 ± 1*      | 33 ± 1*   | 79 ± 4‡      | 45 ± 2*  |
| POX+LP-NAC     | 380 ± 20*   | 30 ± 1**     | 34 ± 1*   | 83 ± 3       | 45 ± 2*  |

Примечание. POX – параоксон; LP – лептин; NAC – N-ацетилцистеин; SOD – супероксиддисмутазы; CAT – каталаза; GST – глутатион-S трансфераза. Результаты представлены в виде среднего значения ± стандартная ошибка среднего (n = 6).

\* p < 0,05; \*\* p < 0,01; \*\*\* p < 0,001 – достоверные различия по сравнению с контрольной группой; # p < 0,05 – достоверные различия по сравнению с группой POX; ‡ p < 0,05; ‡‡ p < 0,01; ‡‡‡ p < 0,01 – достоверные различия по сравнению с группой POX + LP. Активности SOD с CAT представлены в виде U/г Нб в эритроцитах и U/мг белка – в других тканях.

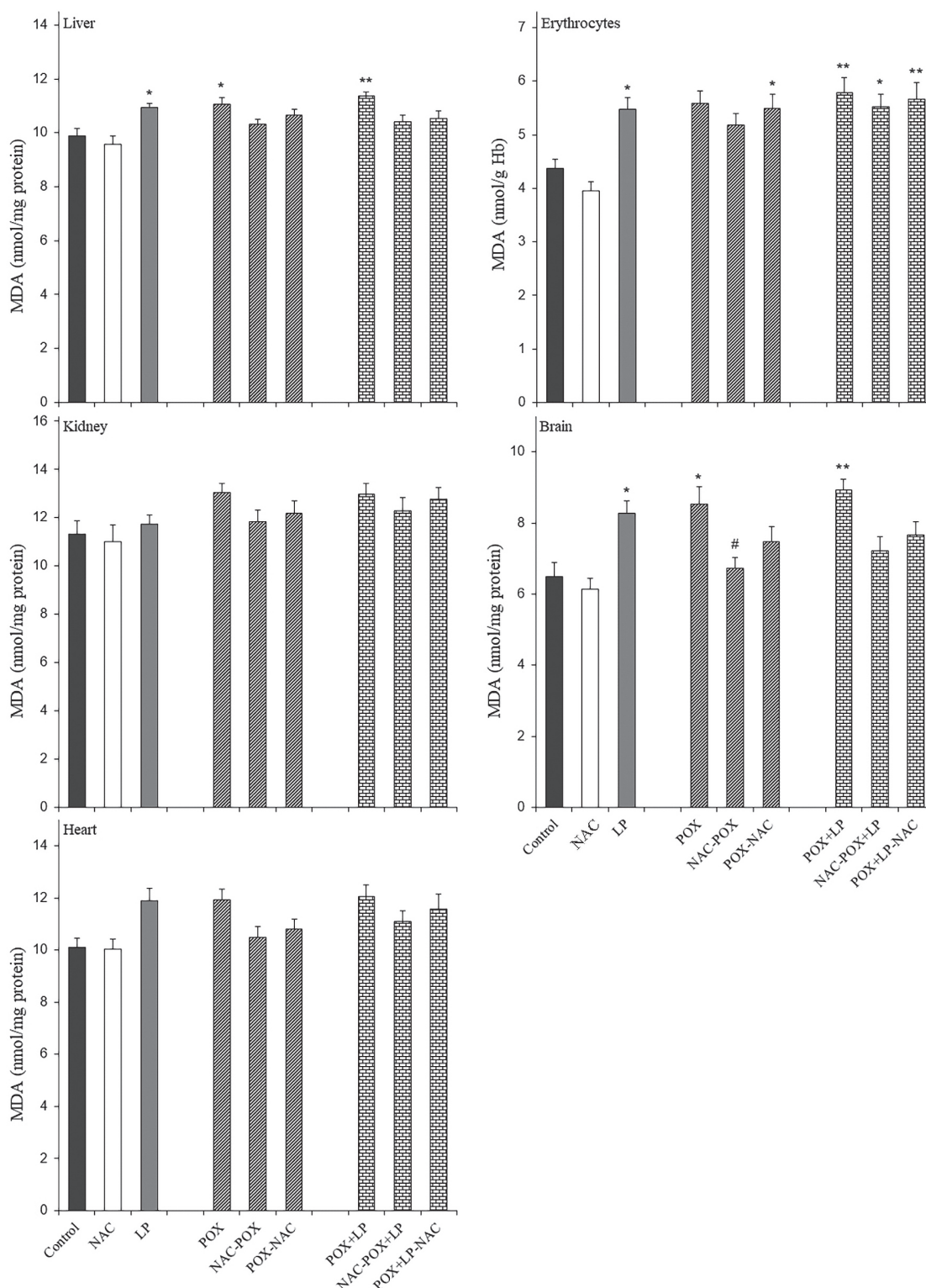




**Рис. 4.** Эффекты параоксона (POX) и лептина (LP) в присутствии или при отсутствии N-ацетилцистеина (NAC) на уровень глутатиона (GSH) в различных тканях крыс линии Wistar, определяемых через 24 ч после воздействия. Результаты представлены в виде среднего значения  $\pm$  стандартная ошибка среднего ( $n = 6$ ). \*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$  и \*\*\*  $p < 0,001$  – достоверные различия по сравнению с контрольной группой; #  $p < 0,05$  и ##  $p < 0,01$  – достоверные различия по сравнению с группой POX; ‡  $p < 0,05$  и ‡‡‡  $p < 0,001$  – достоверные различия по сравнению с группой POX + LP

CAT, GST и уровня MDA, а также снижение уровня GSH в различных тканях. Повышенная активность антиоксидантных ферментов,

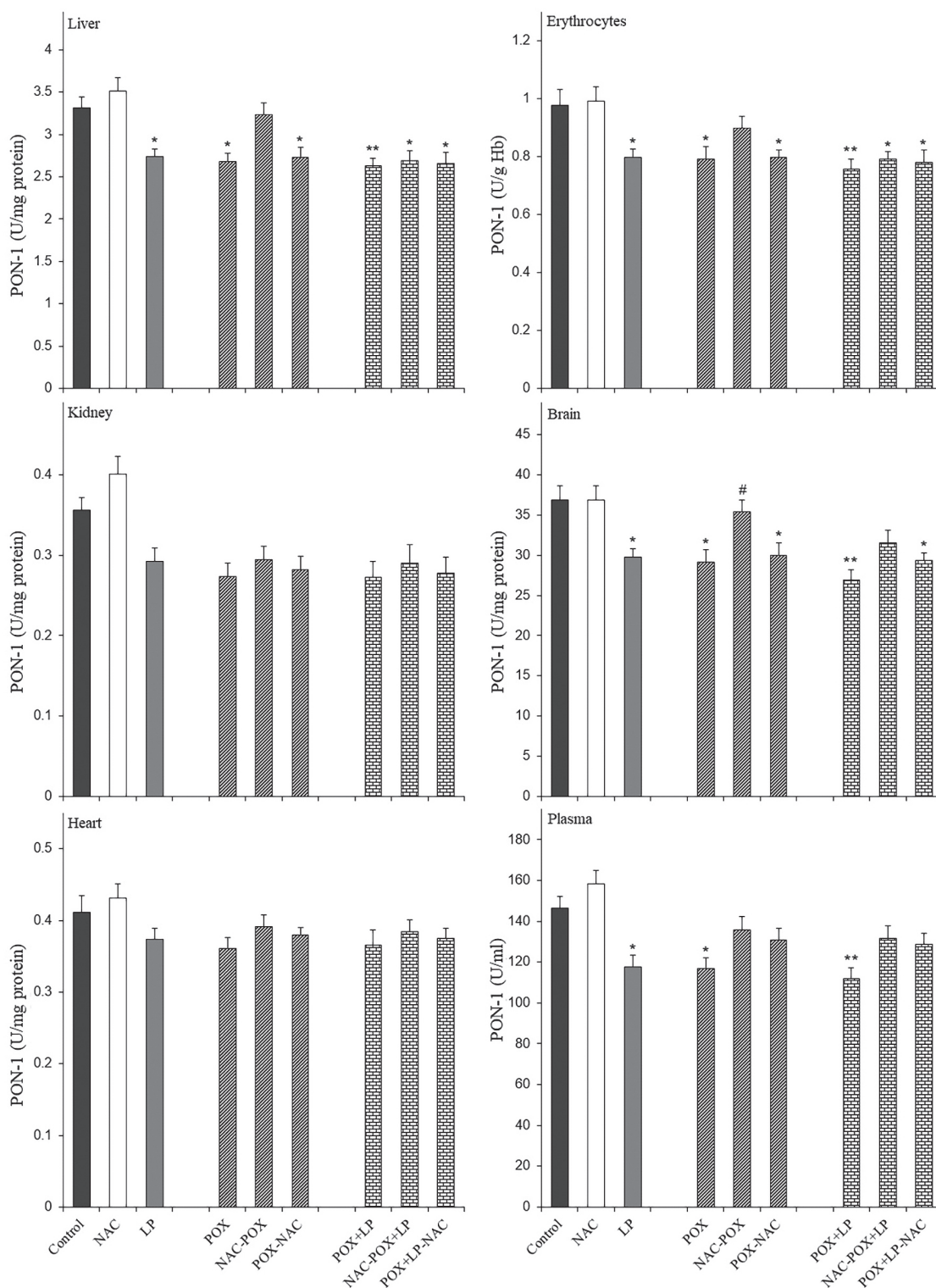
вероятно, связана с адаптивным ответом на увеличение продукции АФК, что свидетельствует о несостоятельности общего механизма



**Рис. 5.** Эффекты параоксона (POX) и лептина (LP) в присутствии или при отсутствии N-ацетилцистеина (NAC) на уровень малонового диальдегида (MDA) в различных тканях крыс линии Wistar, определяемых через 24 ч после введения препарата. Результаты представлены в виде среднего значения  $\pm$  стандартная ошибка среднего ( $n = 6$ ). \*  $p < 0,05$  и \*\*  $p < 0,01$  – достоверные различия по сравнению с контрольной группой; #  $p < 0,05$  – достоверные различия по сравнению с группой POX

антиоксидантной защиты для защиты тканей от повреждений, вызванных LP, о чем свидетельствует истощение GSH [6]. У животных окислительные события, опосредованные лепти-

ном, плохо изучены. Он стимулирует продукцию АФК в культивируемых эндотелиальных клетках, возможно, посредством стимуляции митохондриального окисления жирных кислот [23].



**Рис. 6.** Эффекты параоксона (POX) и лептина (LP) в присутствии или при отсутствии N-ацетилцистеина (NAC) на активность параоксоназы 1 (PON-1) в различных тканях крыс линии Wistar, определяемые через 24 ч после воздействия. Результаты представлены в виде среднего значения ± стандартная ошибка среднего ( $n = 6$ ). \*  $p < 0,05$  и \*\*  $p < 0,01$  – достоверные различия по сравнению с контрольной группой; #  $p < 0,05$  – достоверные различия по сравнению с группой POX

Кроме того, LP увеличивает образование АФК путем стимуляции провоспалительных цитокинов, таких как фактор некроза опухолей альфа (TNF- $\alpha$ ), интерлейкин-1 (IL-1) и ин-

терлейкин-6 (IL-6), которые хорошо известны как стимуляторы фагоцитарной NADPH-оксидазы [12, 18]. Исследования по изучению влияния LP на системный и внутрипочечный

окислительный стресс *in vivo* сейчас ограничены [15, 18]. Было показано, что в печени и почках мышей после воздействия лептина (0,23 мг/кг) в течение 2 недель не было изменений картины продуктов перекисного окисления липидов и антиоксидантных ферментов [24].

PON1 обладает защитным действием против свободных радикалов, считающихся мощными антиоксидантами [5]. Настоящее исследование показало, что LP снижал активность PON1 в плазме, эритроцитах, печени и мозге крыс, но не влиял на активность этого фермента в почках и сердце. Хотя механизм подавления активности PON1 лептином все еще неизвестен, он может быть связан с окислением и изменением состава частиц HDL и стимуляцией провоспалительных цитокинов. Секрция воспалительных цитокинов, таких как TNF- $\alpha$ , IL-6 и IL-12, стимулирует респираторный взрыв фагоцитов и образование АФК, а также индуцирует продукцию в печени белков острой фазы [15, 18]. Результаты этого исследования были подтверждены предыдущими исследованиями. Веѳowski et al. [15, 18] показали, что введение экзогенного LP на протяжении 7 дней снижает активность PON1 в плазме крови и тканях крыс.

Полученные нами данные о повышенной активности SOD, CAT и GST и повышенном уровне MDA в группах POX и POX + LP в сочетании со снижением содержания GSH и активности PON1 свидетельствуют о недостаточности антиоксидантной защиты и индукции окислительного стресса. Окислительная деградация липидов известна как перекисное окисление липидов, а MDA известен как конечный продукт этого процесса [22]. SOD и CAT первыми реагируют на чрезвычайные ситуации окислительного стресса. Повышенная активность антиоксидантных ферментов рассматривается как нейтрализующие действия в ответ на повышенное образование в тканях активных форм кислорода [16]. Гиперпродукция АФК в тканях животных, подвергшихся воздействию POX и LP, вызывает активацию ядерного фактора каппа-В (NF- $\kappa$ B), который, в свою очередь, усиливает экспрессию генов цитокинов, таких как TNF- $\alpha$  и IL-6, что в конечном итоге вызывает воспаление [6], а также истощение GSH и повышение уровня MDA [25]. Повышение уровня супероксид-аниона приводит к дальнейшим последствиям. Он реагирует с NO с образованием пероксинитритного радикала и образует гидроксильный радикал вместе с H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> в реакции Хабера–Вайса и Фентона, что усугубляет

перекисное окисление липидов, повреждение ДНК и гибель клеток [26].

Снижение уровня GSH может быть связано со множеством факторов, включая наличие свободных радикалов, продуцируемых POX и LP, избыточное перекисное окисление липидов и повышенную активность фермента GST (таблица) [6]. Снижение запасов GSH в печени может нарушить гомеостаз GSH во всем организме за счет снижения уровня GSH в других тканях. Также снижение активности G6PD (рис. 2) оказывает влияние на скорость образования NADPH, который является коферментом глутатионредуктазы, превращающим окисленный глутатион (GSSG) в GSH, приводя к снижению уровня соотношения GSH/GSSG в тканях, подвергшихся воздействию POX и LP, что является еще одним признаком возникновения окислительного стресса [6, 10]. Результаты, представленные в данной работе, согласуются с данными ряда исследований [6, 27] и противоречат некоторым другим результатам, в которых сообщалось о снижении активности антиоксидантных ферментов после воздействия ФОС [6, 28]. И все же несколько исследований не обнаружили существенных различий в этой активности в различных тканях после воздействия ФОС [29, 30]. Противоречивые результаты, наблюдаемые в соответствующей литературе, могут быть объяснены различиями в типе, дозе, времени воздействия и способе введения токсина, типе, породе и виде животных, а также типах тканей, взятых в качестве образцов [31].

Окислительный стресс, индуцированный ФОС в различных тканях, можно предотвратить с помощью экзогенных антиоксидантов. NAC проявляет как прямые, так и опосредованные антиоксидантные свойства. Он часто используется в качестве источника сульфгидрильных групп в клетках (в качестве ацетилированного предшественника GSH). Он также может действовать как прямой поглотитель АФК [7, 8]. Настоящее исследование показало, что введение крысам NAC до и после отравления POX имело способность восстанавливать антиоксидантную способность, в основном за счет удаления АФК [10]. Ряд исследователей показали способность NAC снижать повреждение клеток, вызванное такими ФОС, как диазинон [10], параоксон [32] и фентион [9] у животных. Нашими предыдущими исследованиями было показано, что одновременное введение крысам NAC и POX частично восстанавливало активность антиоксидантных ферментов и уровни GSH и MDA в различных тканях [33, 34]. В настоящем исследовании

введение НАС до и после введения комбинации РОХ и LP было до некоторой степени эффективно в восстановлении этих показателей в различных тканях. Было показано, что воздействие НАС на мышей, получавших диету с высоким содержанием жиров, приводило к повышению антиоксидантной способности, а также к снижению уровня LP [7, 13]. Kim et al. [35] обнаружили, что внутрибрюшинное введение НАС не только повышало уровень GSH, но также снижало уровень циркулирующего в крови лептина и массу тела крыс и мышей за счет уменьшения количества висцерального жира. Это можно рассматривать как многообещающий результат для использования НАС в качестве лекарства от ожирения или даже пищевой добавки.

Было показано, что ингибирование активности PON1 происходит из-за снижения продукции PON1 в печени под действием АФК и продуктов перекисного окисления липидов. Однако представленные нами данные показывают, что введение РОХ и LP вызвало снижение активности PON1 только в эритроцитах, печени и головном мозге, в которых они стимулировали перекисное окисление липидов (рис. 5) [18]. НАС был до некоторой степени эффективен в смягчении окислительного стресса, вызванного РОХ/LP, и восстановлении активности PON1. Влияние антиоксидантов на уровень PON1 в плазме крови является спорным. Исследования *in vitro* предполагают, что антиоксиданты защищают изолированный PON1 от инактивации, вызванной свободными радикалами [36]. Jarvik et al. [37] сообщили о положительной корреляции между потреблением витаминов С и Е с пищей и активностью PON1 в плазме крови. Однако в других работах отмечено отсутствие каких-либо изменений [38] или даже предполагается негативное влияние [39] пищевых антиоксидантов на активность PON1 в плазме крови [18].

Повышение активности ферментов ALT, AST, GGT, LDH, ALP и СК, а также повышение уровня мочевины, мочевой кислоты и креатинина свидетельствует о дисфункции и повреждении тканей [10, 26]. В настоящей работе было показано, что уровни всех измеренных показателей плазмы крови были значительно повышены из-за воздействия РОХ и РОХ + LP. Повышенная активность ферментов у крыс может быть связана с их утечкой из пораженных тканей, возникающей после индуцированного РОХ повреждения мембран, опосредованного перекисным окислением липидов [6]. Кроме того, значительное повышение уровня мочевины, креатинина и мочевой

кислоты в плазме крови может указывать на то, что возникшая дисфункция почек может ограничивать их активную экскрецию, приводя к их накоплению в плазме [10, 16]. Однако снижение уровня этих соединений в группах, получавших НАС, косвенно указывает на то, что антиоксидант НАС защищал ткани от перекисного окисления липидов [9]. Точно так же другие исследователи подчеркивали преимущества НАС как достаточные для уменьшения степени повреждения печени и почек, вызванного диазином [10] и малатином [8].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты настоящего исследования позволяют предположить наличие связи между окислительным стрессом и действием РОХ в отдельности или в сочетании с LP в различных тканях, на что указывает повышенная активность антиоксидантных ферментов, истощение GSH и усиленное перекисное окисление липидов в тканях крыс. Эффекты РОХ и LP могут быть аддитивными, особенно в головном мозге и эритроцитах, хотя их комбинация не дает значительно больших эффектов, чем каждый из них по отдельности. Более того, как профилактическое, так и терапевтическое введение крысам НАС может предотвратить вызванный РОХ и LP окислительный стресс в тканях благодаря способности НАС удалять свободные радикалы и поддерживать внутриклеточные уровни GSH. Профилактическое применение (введение НАС) оказывало более сильное защитное действие по сравнению с введением НАС крысам после воздействия РОХ и LP.

**Вклад авторов.** S. Khazaie, M. Golamloo, J. Heydari, M. Salehi и F. Salem – ресурсы, визуализация, исследование, формальный анализ, программное обеспечение; M. Jafari – администрирование проекта, формальный анализ, концептуализация, методология, написание, рецензирование и редактирование; A. Asgari – руководство, концептуализация, рецензирование и редактирование.

**Финансирование.** Эта работа была финансирована Исследовательским центром химических травм Бакияталлахского медицинского университета (Тегеран, Иран) (грант № 1393-225).

**Благодарности.** Авторы выражают благодарность Н. Mahdavi и J. Rasouli за оказанную техническую помощь.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов в финансовой или любой другой сфере.

**Соответствие этическим стандартам.** Все применимые международные, национальные и/или институциональные рекомендации по уходу и использованию животных были соблюдены.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Jalili, C., Farzaei, M. H., Roshankhah, S., and Salahshoor, M. R. (2019) Resveratrol attenuates malathion-induced liver damage by reducing oxidative stress, *J. Lab. Physicians*, **11**, 212-219, doi: 10.4103/JLP.JLP\_43\_19.
- Imam, A., Sulaiman, N. A., Oyewole, A. L., Chenge-tanai, S., Williams, V., Ajibola, M. I., Folarin, R. O., Muhammad, A. U. S., Shittu, S.-T. T., and Ajao, M. S. (2018) Chlorpyrifos-and dichlorvos-induced oxidative and neurogenic damage elicits neuro-cognitive deficits and increases anxiety-like behavior in wild-type rats, *Toxics*, **6**, 71, doi: 10.3390/toxics6040071.
- Zare, Z., Tehrani, M., Zarbakhsh, S., Farzadmanesh, H., Shafia, S., Abedinzade, M., Ghanaat, A., and Mohammadi, M. (2020) Effects of paraoxon exposure on expression of apoptosis-related genes, neuronal survival, and astrocyte activation in rat prefrontal cortex, *Neurotox. Res.*, **37**, 356-365, doi: 10.1007/s12640-019-00106-x.
- Faro, L., Costas-Ferreira, C., Pantoja, A., and Durán, R. (2022) Protective effects of antioxidants on striatal dopamine release induced by organophosphorus pesticides, *Pest. Biochem. Physiol.*, **182**, 105035, doi: 10.1016/j.pestbp.2022.105035.
- Alimohammadi, M., Soodi, M., and Gholami Fesharaki, M. (2019) Organophosphate pesticide exposure reduced serum paraoxonase 1 (PON1) activity which correlated with oxidative stress in pesticide factory workers, *Arch. Hyg. Sci.*, **8**, 88-97, doi: 10.29252/ArchHygSci.8.2.88.
- Jafari, M., Salehi, M., Asgari, A., Ahmadi, S., Abbasnezhad, M., Hajihosani, R., and Hajigholamali, M. (2012) Effects of paraoxon on serum biochemical parameters and oxidative stress induction in various tissues of Wistar and Norway rats, *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, **34**, 876-887, doi: 10.1016/j.etap.2012.08.011.
- Charron, M. J., Williams, L., Seki, Y., Du, X. Q., Chaurasia, B., Saghatelian, A., Summers, S. A., Katz, E. B., Vuguin, P. M., and Reznik, S. E. (2020) Antioxidant effects of N-acetylcysteine prevent programmed metabolic disease in mice, *Diabetes*, **69**, 1650-1661, doi: 10.2337/db19-1129.
- Lasram, M. M., Bini Douib, I., Bouzid, K., Annabi, A., Naziha, E. E., Dhoubi, H., El Faza, S., Abdelmoula, J., and Gharbi, N. (2014) Effects of N-acetyl-L-cysteine, *in vivo*, against pathological changes induced by malathion, *Toxicol. Mech. Methods*, **24**, 294-306, doi: 10.3109/15376516.2014.886003.
- Yurumez, Y., Cemek, M., Yavuz, Y., Birdane, Y. O., and Buyukokuroglu, M. E. (2007) Beneficial effect of N-acetylcysteine against organophosphate toxicity in mice, *Biol. Pharm. Bull.*, **30**, 490-494, doi: 10.1248/bpb.30.490.
- Tahmasebi, K., Jafari, M., Izadi, F., Asgari, A., Bahadoran, H., Heydari, J., and Khazaie, S. (2020) Evaluation of prophylactic and therapeutic roles of N-acetylcysteine on biochemical and oxidative changes induced by acute poisoning of diazinon in various rat tissues, *Curr. Chem. Biol.*, **14**, 100-116, doi: 10.2174/2212796814999200818094328.
- Shunmoogam, N., Naidoo, P., and Chilton, R. (2018) Paraoxonase (PON)-1: a brief overview on genetics, structure, polymorphisms and clinical relevance, *Vasc. Health Risk Manag.*, **14**, 137-143, doi: 10.2147/VHRM.S165173.
- Blanca, A. J., Ruiz-Armenta, M. V., Zambrano, S., Salsoso, R., Miguel-Carrasco, J. L., Fortuño, A., Revilla, E., Mate, A., and Vázquez, C. M. (2016) Leptin induces oxidative stress through activation of nadph oxidase in renal tubular cells: antioxidant effect of L-Carnitine, *J. Cell Biochem.*, **117**, 2281-2288, doi: 10.1002/jcb.25526.
- Berry, A., Bellisario, V., Panetta, P., Raggi, C., Magnifico, M. C., Arese, M., and Cirulli, F. (2018) Administration of the antioxidant N-acetyl-cysteine in pregnant mice has long-term positive effects on metabolic and behavioral endpoints of male and female offspring prenatally exposed to a high-fat diet, *Front. Behav. Neurosci.*, **12**, 48, doi: 10.3389/fnbeh.2018.00048.
- Obradovic, M., Sudar-Milovanovic, E., Soskic, S., Essack, M., Arya, S., Stewart, A. J., Gojobori, T., and Isenovic, E. R. (2021) Leptin and obesity: role and clinical implication, *Front. Endocrinol.*, **12**, 585887, doi: 10.3389/fendo.2021.585887.
- Bełtowski, J., Wojcicka, G., and Jamroz, A. (2003) Leptin decreases plasma paraoxonase 1 (PON1) activity and induces oxidative stress: the possible novel mechanism for proatherogenic effect of chronic hyperleptinemia, *Atherosclerosis*, **170**, 21-29, doi: 10.1016/S0021-9150(03)00236-3.
- Khazaie, S., Jafari, M., Heydari, J., Asgari, A., Tahmasebi, K., Salehi, M., and Abedini, M. S. (2019) Modulatory effects of vitamin C on biochemical and oxidative changes induced by acute exposure to diazinon in rat various tissues: prophylactic and therapeutic roles, *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.*, **103**, 1619-1628, doi: 10.1111/jpn.13144.
- Fruhbeck, G., and Gómez-Ambrosi, J. (2001) Modulation of the leptin-induced white adipose tissue lipolysis by nitric oxide, *Cell Signal.*, **13**, 827-833, doi: 10.1016/S0898-6568(01)00211-X.

18. Bełtowski, J., Jamroz-Wisniewska, A., Borkowska, E., and Wojcicka, G. (2005) Differential effect of anti-oxidant treatment on plasma and tissue paraoxonase activity in hyperleptinemic rats, *Pharmacol. Res.*, **51**, 523-532, doi: 10.1016/j.phrs.2005.01.007.
19. Bradford, M. M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding, *Anal. Biochem.*, **72**, 248-254, doi: 10.1016/0003-2697(76)90527-3.
20. Van Kampen, E., and Zijlstra, W. G. (1966) Determination of Hemoglobin and Its Derivatives, In *Adv. Clin. Chem.*, pp. 141-187, Elsevier, doi: 10.1016/S0065-2423(08)60414-X.
21. Friedewald, W. T., Levy, R. I., and Fredrickson, D. S. (1972) Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge, *Clin. Chem.*, **18**, 499-502, doi: 10.1093/clinchem/18.6.499.
22. Gudarzi, S., Jafari, M., Pirezad Jahromi, G., Eshрати, R., Asadollahi, M., and Nikdokht, P. (2020) Evaluation of modulatory effects of saffron (*Crocus sativus* L.) aqueous extract on oxidative stress in ischemic stroke patients: a randomized clinical trial, *Nutr. Neurosci.*, **25**, 1137-1146, doi: 10.1080/1028415X.2020.1840118.
23. Yamagishi, S.-I., Edelstein, D., Du, X.-L., Kaneda, Y., Guzmán, M., and Brownlee, M. (2001) Leptin induces mitochondrial superoxide production and monocyte chemoattractant protein-1 expression in aortic endothelial cells by increasing fatty acid oxidation via protein kinase A, *J. Biol. Chem.*, **276**, 25096-25100, doi: 10.1074/jbc.M007383200.
24. Balasubramaniyan, V., Sailaja, J. K., and Nalini, N. (2003) Role of leptin on alcohol-induced oxidative stress in Swiss mice, *Pharmacol. Res.*, **47**, 211-216, doi: 10.1016/S1043-6618(02)00317-1.
25. Mousavi, S. R., Jafari, M., Rezaei, S., Agha-Alinejad, H., and Sobhani, V. (2020) Evaluation of the effects of different intensities of forced running wheel exercise on oxidative stress biomarkers in muscle, liver and serum of untrained rats, *Lab. Animal.*, **49**, 119-125, doi: 10.1038/s41684-020-0503-7.
26. Eshрати, R., Jafari, M., Gudarzi, S., Nazari, A., Samizadeh, E., and Ghafourian Hesami, M. (2021) Comparison of ameliorative effects of *Taraxacum syriacum* and N-acetylcysteine against acetaminophen-induced oxidative stress in rat liver and kidney, *J. Biochem.*, **169**, 337-350, doi: 10.1093/jb/mvaa107.
27. Isik, I., and Celik, I. (2008) Acute effects of methyl parathion and diazinon as inducers for oxidative stress on certain biomarkers in various tissues of rainbowtrout (*Oncorhynchus mykiss*), *Pestic. Biochem. Physiol.*, **92**, 38-42, doi: 10.1016/j.pestbp.2008.06.001.
28. Abdou, H., and El Mazoudy, R. (2010) Oxidative damage, hyperlipidemia and histological alterations of cardiac and skeletal muscles induced by different doses of diazinon in female rats, *J. Hazard Mater.*, **182**, 273-278, doi: 10.1016/j.jhazmat.2010.06.026.
29. Astiz, M., de Alaniz, M. J., and Marra, C. A. (2009) Antioxidant defense system in rats simultaneously intoxicated with agrochemicals, *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, **28**, 465-473, doi: 10.1016/j.etap.2009.07.009.
30. Varo, I., Navarro, J., Nunes, B., and Guilhermino, L. (2007) Effects of dichlorvos aquaculture treatments on selected biomarkers of gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) fingerlings, *Aquaculture*, **266**, 87-96, doi: 10.1016/j.aquaculture.2007.02.045.
31. Jafari, M., Salehi, M., Ahmadi, S., Asgari, A., Abasnezhad, M., and Hajigholamali, M. (2012) The role of oxidative stress in diazinon-induced tissues toxicity in Wistar and Norway rats, *Toxicol. Mech. Methods*, **22**, 638-647, doi: 10.3109/15376516.2012.716090.
32. Nurulain, S. M., Ojha, S., Tekes, K., Shafiullah, M., Kalasz, H., and Adem, A. (2015) Efficacy of N-acetylcysteine, glutathione, and ascorbic acid in acute toxicity of paraoxon to Wistar rats: survival study, *Oxid. Med. Cell Longev.*, **2015**, 329306, doi: 10.1155/2015/329306.
33. Gholamloo, M., and Jafari, M. (2017) Study of effect of N-acetyl cysteine on reduction of paraoxon-induced oxidative stress in brain and heart tissues [in Persian], *Health Res.*, **2**, 77-85.
34. Salehi, M., Jafari, M., Asgari, A., and Rasouli, J. (2016) The impact of N-acetyl cysteine on paraoxon-induced oxidative stress in rat liver and kidney [in Persian], *J. Fasa Univ. Med. Sci.*, **6**, 35-43.
35. Kim, J.-R., Ryu, H.-H., Chung, H. J., Lee, J. H., Kim, S. W., Kwun, W. H., Baek, S.-H., and Kim, J. H. (2006) Association of anti-obesity activity of N-acetylcysteine with metallothionein-II down-regulation, *Exp. Mol. Med.*, **38**, 162-172, doi: 10.1038/emmm.2006.20.
36. Aviram, M., Rosenblat, M., Billecke, S., Erogul, J., Sorenson, R., Bisgaier, C. L., Newton, R. S., and La Du, B. (1999) Human serum paraoxonase (PON 1) is inactivated by oxidized low density lipoprotein and preserved by antioxidants, *Free Radic Biol. Med.*, **26**, 892-904, doi: 10.1016/S0891-5849(98)00272-X.
37. Jarvik, G. P., Tsai, N. T., McKinstry, L. A., Wani, R., Brophy, V. H., Richter, R. J., Schellenberg, G. D., Heagerty, P. J., Hatsukami, T. S., and Furlong, C. E. (2002) Vitamin C and E intake is associated with increased paraoxonase activity, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, **22**, 1329-1333, doi: 10.1161/01.ATV.00000027101.40323.3A.
38. Sarandol, E., Serdar, Z., Dirican, M., and Safak, O. (2003) Effects of red wine consumption on serum paraoxonase/arylesterase activities and on lipoprotein oxidizability in healthy-men, *J. Nutr. Biochem.*, **14**, 507-512, doi: 10.1016/S0955-2863(03)00099-8.
39. Kleemola, P., Freese, R., Jauhiainen, M., Pahlman, R., Alfthan, G., and Mutanen, M. (2002) Dietary determinants of serum paraoxonase activity in healthy humans, *Atherosclerosis*, **160**, 425-432, doi: 10.1016/S0021-9150(01)00594-9.

## CUMULATIVE EFFECTS OF PARAOXON AND LEPTIN ON OXIDATIVE DAMAGES IN RAT TISSUES: PROPHYLACTIC AND THERAPEUTIC ROLES OF N-ACETYLCYSTEINE

S. Khazaie<sup>1</sup>, M. Jafari<sup>2\*</sup>, M. Golamloo<sup>1</sup>, A. Asgari<sup>3</sup>,  
J. Heydari<sup>1</sup>, M. Salehi<sup>4</sup>, and F. Salem<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

<sup>2</sup> Chemical Injuries Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran; E-mail: m.jafari145@gmail.com

<sup>3</sup> Exercise Physiology Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

<sup>4</sup> Neurosciences Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Exposure to paraoxon (POX) and leptin (LP) could cause an imbalance between oxidants and antioxidants in an organism, which can be prevented by introduction of exogenous antioxidants such as N-acetylcysteine (NAC). The aim of this study was to evaluate synergic or additive effects of administration of exogenous LP plus POX on the antioxidant status, as well as the prophylactic and therapeutic roles of NAC in various rat tissues. Fifty-four male Wistar rats were divided into nine groups treated with different compounds: Control (no treatment), POX (0.7 mg/kg), NAC (160 mg/kg), LP (1 mg/kg), POX + LP, NAC-POX, POX-NAC, NAC-POX + LP, and POX + LP-NAC. In the last five groups, only the order of administered compounds differed. After 24 h, plasma and tissues were sampled and examined. The results showed that administration of POX plus LP significantly increased biochemical indices in plasma and antioxidant enzymes activities and decreased glutathione content in the liver, erythrocytes, brain, kidney, and heart. In addition, cholinesterase and paraoxonase 1 activities in the POX + LP-treated group were decreased and malondialdehyde level was increased in the liver, erythrocytes, and brain. However, administration of NAC rectified induced changes although not to the same extent. Our study suggests that POX or LP administration engage the oxidative stress system *per se*; however, their combination did not produce significantly greater effects. Moreover, both prophylactic and therapeutic treatments of rats with NAC supported the antioxidant defense against oxidative damage in tissues, most probably through both its free radical scavenging ability and maintaining intracellular GSH levels. It can therefore be suggested that NAC has particularly protective effects against POX or/and LP toxicity.

**Keywords:** paraoxon, leptin, N-acetylcysteine, oxidative stress, biochemical parameters, rat tissues