

Investigating the effects of dihydroxyacetone on oxidative stress factors and histology of heart and liver tissue in acute aluminum phosphide poisoning

Jafar Ahmadi ¹, Elham Jafari ², Mahmoud Reza Heidari ³, Mahsa Eskandari ⁴, Fatemeh Yousefi ⁵, Somayyeh Karami-Mohajeri ⁶

1. Pharmaceutics Research Center, Faculty of Pharmacy, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran. ORCID ID:0000-0002-2709-9392

2. Associate Professor, Department of Pathology, Pathology and Stem Cells Research Center, Kerman University of Medical Science, Kerman, Iran. ORCID ID:0000-0001-9240-9177

3. Professor, Department of Toxicology and Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran. ORCID ID:0000-0002-3655-7068

4. Department of Toxicology and Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran. ORCID ID:0000-0002-5831-2205

5. Department of Toxicology and Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran. ORCID ID:0000-0002-9468-8082

6. Assistant Professor, Pharmaceutics Research Center, Institute of Neuropharmacology, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran. (Corresponding Author), Tel: +98-034-31325239, Address: Department of Toxicology and Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran. Email: s_karami@kmu.ac.ir , somayyehkarami@gmail.com. ORCID ID:0000-0001-6256-6550

ABSTRACT

Background and Aim: Aluminum phosphide poisoning has a high mortality rate because of the production of phosphine gas and refractory hypotension. Based on the effect of dihydroxyacetone on the treatment of hypotension and reduction of cytochrome C oxidase, the effects of dihydroxyacetone on the level of oxidative stress factors and histology of heart and liver tissue in aluminum phosphide-poisoned male rats were investigated.

Materials and Methods: In this study, 24 rats were randomly divided into 4 groups including control (corn oil), aluminum phosphide (15 mg/kg), dihydroxyacetone (50 mg/kg) and also poisoned and treated group (aluminum phosphide (15 mg/kg) + dihydroxyacetone (50 mg/kg)). After 24 hours, the animals were sacrificed and the blood, plasma, heart, and liver samples were collected then oxidative stress factors and histology of the heart and liver were investigated.

Results: Aluminum phosphide poisoning increased lipid peroxidation in red blood cells ($p=0.001$) and liver tissue ($p=0.023$) and also increased protein carbonylation in plasma ($p=0.005$) and red blood cells ($p=0.001$). After administration of dihydroxyacetone, lipid peroxidation in red blood cells ($p=0.001$) and liver ($p=0.001$) and carbonylation of proteins in red blood cells ($p=0.003$) and plasma ($p=0.019$) decreased. No significant change was observed in total plasma antioxidant capacity, carbonylation levels of the liver and heart, and lipid peroxidation in heart tissue. In addition, treatment with dihydroxyacetone significantly improved the histological changes in liver and heart tissue.

Conclusion: Dihydroxyacetone not only prevents phosphine-induced deaths but also improves oxidative stress and histology of liver and heart tissue.

Keywords: Rice table, Phosphine, Fumigant, cytochrome c oxidase, Dihydroxyacetone,

Received: June 23, 2021

Accepted: Nov 14, 2021

How to cite the article: Jafar Ahmadi, Elham Jafari, Mahmoud Reza Heidari, Mahsa Eskandari, Fatemeh Yousefi, Somayyeh Karami-Mohajeri. Investigating the effects of dihydroxyacetone on oxidative stress factors and histology of heart and liver tissue in acute aluminum phosphide poisoning. SJKU 2019;24(4):40-54.

Copyright © 2018 the Author (s). Published by Kurdistan University of Medical Sciences. This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-Non Commercial License 4.0 (CCBYNC), where it is permissible to download, share, remix, transform, and buildup the work provided it is properly cited. The work cannot be used commercially without permission from the journal

اثر دی‌هیدروکسی استون بر فاکتورهای استرس اکسیداتیو و بافت‌شناسی بافت قلب و

کبد در مسمومیت حاد با آلومینیوم فسفید

جعفر احمدی^۱، الهام جعفری^۲، محمودرضا حیدری^۳، مهسا اسکندری^۴، فاطمه یوسفی^۵، سمیه کرمی مهاجری^۶

۱. گروه فارماکولوژی و سم‌شناسی، مرکز تحقیقات فارماسیوتیکس، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران. کد ارکید: ۹۳۹۲-۲۷۰۹-۰۰۰۲-

۰۰۰۰

۲. دانشیار، گروه پاتولوژی، مرکز تحقیقات پاتولوژی و سلول‌های بنیادی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران. کد ارکید: ۹۱۷۷-۹۲۴۰-۰۰۰۱-

۰۰۰۰

۳. استاد، گروه فارماکولوژی و سم‌شناسی، مرکز تحقیقات فارماسیوتیکس، انجمن نوروفارماکولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران.

کد ارکید: ۷۰۶۸-۳۶۵۵-۰۰۰۲-۰۰۰۰

۴. گروه فارماکولوژی و سم‌شناسی، مرکز تحقیقات فارماسیوتیکس، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران. کد ارکید: ۵۸۳۱-۲۲۰۵-۰۰۰۲-

۰۰۰۰

۵. گروه فارماکولوژی و سم‌شناسی، مرکز تحقیقات فارماسیوتیکس، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران. کد ارکید: ۸۰۸۲-۹۴۶۸-۰۰۰۲-

۰۰۰۰

۶. استادیار، گروه فارماکولوژی و سم‌شناسی، مرکز تحقیقات فارماسیوتیکس، انجمن نوروفارماکولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان،

ایران. (نویسنده مسئول)، پست الکترونیک: somayyehkarami@gmail.com، s_karami@kmu.ac.ir، تلفن ۰۳۴-۳۱۳۲۵۲۳۹-۹۸+، کد ارکید: ۶۵۵۰-

۶۲۵۶-۰۰۰۱-۰۰۰۰

چکیده

سابقه و اهداف: مسمومیت با آلومینیوم فسفید بواسطه تولید گاز فسفین و ایجاد افت فشارخون مقاوم به درمان، مرگ‌ومیر بالایی دارد. با توجه به اثر دی‌هیدروکسی استون بر درمان افت فشار خون و احیای سیتوکروم C اکسیداز، اثر آن در این مطالعه بر سطح شاخص‌های استرس اکسیداتیو و بافت‌شناسی قلب و کبد موش صحرایی نر مسموم شده با آلومینیوم فسفید بررسی شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه ۲۴ عدد موش صحرایی به صورت تصادفی به ۴ گروه کنترل (روغن ذرت)، گروه آلومینیوم فسفید (۱۵ میلی گرم بر کیلوگرم)، گروه دی‌هیدروکسی استون (۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم) و گروه مسموم تیمار شده (آلومینیوم فسفید (۱۵ میلی گرم بر کیلوگرم) + دی‌هیدروکسی استون (۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم)) تقسیم شدند. ۲۴ ساعت بعد از تیمار حیوانات جهت جمع‌آوری نمونه‌های خون، پلاسما، قلب و کبد و ارزیابی شاخص‌های استرس اکسیداتیو و مطالعات بافت‌شناسی قلب و کبد کشته شدند.

یافته‌ها: مسمومیت با آلومینیوم فسفید، سبب افزایش پراکسیداسیون چربی در گلبول‌های قرمز ($p=0/001$) و بافت کبد ($p=0/023$) و افزایش کربونیل‌اسیون پروتئین در پلاسما ($p=0/005$) و گلبول‌های قرمز ($p=0/001$) گردید که پس از تجویز دی‌هیدروکسی استون، پراکسیداسیون چربی در گلبول‌های قرمز ($p=0/001$) و کبد ($p=0/001$) و کربونیل‌اسیون پروتئین‌ها در گلبول‌های قرمز ($p=0/003$) و پلاسما ($p=0/019$) کاهش یافت. تغییر قابل ملاحظه‌ای در ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی پلاسما و سطوح کربونیل‌اسیون کبد و قلب و پراکسیداسیون چربی در بافت قلب مشاهده نگردید. همچنین تیمار با دی‌هیدروکسی استون سبب بهبود قابل توجه تغییرات بافت‌شناسی کبد و قلب شد.

نتیجه‌گیری: دی‌هیدروکسی استون علاوه بر جلوگیری از مرگ‌ومیر ناشی از فسفین، سبب بهبود استرس اکسیداتیو و کاهش شدت تغییرات بافت‌شناسی کبد و قلب می‌گردد.

کلمات کلیدی: قرص برنج، فسفین، فومیگانت، سیتوکروم C اکسیداز، دی‌هیدروکسی استون

وصول مقاله: ۱۴۰۰/۴/۲ اصلاحیه نهایی: ۱۴۰۰/۸/۴ پذیرش: ۱۴۰۰/۸/۲۳

مقدمه

آلومینیوم فسفید فومیگانت و آفت کشی موثر در پیشگیری از آفت زدگی غلات در فضای انبار می باشد و مسمومیت با آن علی رغم ممنوعیت تولید، واردات و عرضه در بازار میزان مرگ و میر زیادی در کشورهای جهان سوم از جمله هند (۱) ایران، سریلانکا و عمان دارد (۲)، این سم در مجاورت با رطوبت هوا یا اسید معده گاز فسفین آزاد می کند که به شدت برای ارگانیسم های دارای تنفس هوایی سمی است (۳). علائم مسمومیت با آلومینیوم فسفید شامل علائم گوارشی (تهوع، استفراغ و دردهای اپی گاستر)، استشمام بوی سیر از بازدم، علائم تنفسی (تنگی نفس، تاکی پنه، دیس پنه، دیسترس حاد تنفسی و ادم ریوی)، اسیدوز متابولیک، هیپاتیت، پانکراتیت، نکروز حاد توپولار، سمیت قلبی و افت فشار خون مقاوم به درمان می باشد (۴). با اینکه مکانیسم دقیق سمیت فسفین مشخص نیست، اما مهار سیتوکروم C اکسیداز، اختلال در عملکرد میتوکندری، و ایجاد استرس اکسیداتیو از مکانیسم های مطرح شده در مسمومیت با آلومینیوم فسفید هستند (۳). آنتی دوت اختصاصی جهت درمان مسمومیت با فسفین وجود ندارد و مدیریت درمان فرد مسموم بر اساس درمان های حمایتی می باشد (۲). از آنجایی که سیستم قلبی - عروقی اصلی ترین ارگان مورد هدف آلومینیوم فسفید است مانیتورینگ قلبی و الکتروکاردیوگرام، احیای اولیه بوسیله مایعات و داروهای اینوتروپیک (۴)، استفاده از داروهای افزایش دهنده فشارخون (۵)، داروهای تقویت کننده قدرت انقباضی قلب (۶)، افزایش حجم مایعات درون عروقی (۷) و روش های دستگاهی جهت حمایت موقت از سیستم قلبی و تنفسی در تحقیقات گذشته مطرح و توصیه شده است (۴). دی هیدروکسی استون ترکیبی غیرسمی با نام شیمیایی 1,3-Dihydroxy-2-propanone می باشد (۸) که به عنوان ماده برنزه کننده در محصولات آرایشی مورد استفاده قرار می گیرد (۹). این ترکیب اولین بار در سال ۱۹۲۰ به عنوان جایگزینی برای گلوکز، و در درمان بیماران دیابتی

مورد استفاده قرار گرفت. سپس در سال ۱۹۵۰، به عنوان روش تشخیص بیماری ذخیره گلیکوژن و با دوز بالا به صورت خوراکی به بیماران تجویز شد (۱۰). دی هیدروکسی استون در کاهش ادم مغزی نقش دارد و منجر به محافظت رت در برابر ادم مغزی ناشی از لاکتات می گردد، همچنین به عنوان ترکیبی فارماکولوژیک و قابل تزریق برای درمان شوک گردش خونی جانوران خون گرم شامل انسان می باشد. این ترکیب به شکل درون عروقی تجویز می گردد تا شوک گردش خونی را خنثی نماید و فشارخون بیمار را به سطح نرمال بازگرداند (۱۱). نیک نهاد و همکاران در مطالعه ای بیان کردند که پیش درمانی با دی هیدروکسی استون سبب رفع مهار فعالیت سیتوکروم C اکسیداز در مسمومیت با سیانید می شود و درمان با دی هیدروکسی استون پس از مسمومیت با سیانید نیز سبب افزایش و بهبود فعالیت سیتوکروم C اکسیداز در هموژنیزات مغز و قلب می شود و سرانجام آن را به عنوان آنتی دوتی موثر و ایمن برای مسمومیت با سیانید مطرح کردند (۱۲). سال ۲۰۱۸ احمدی و همکاران در مطالعه ای نشان دادند که درمان با دی هیدروکسی استون سبب بهبود افت فشار خون، بهبود ضربان قلب، بهبود تغییرات الکتروکاردیوگرام و برطرف شدن کامل مرگ و میر ناشی از مسمومیت با آلومینیوم فسفید در موش صحرایی می گردد (۱۳). عقابیان و همکاران نشان دادند که درمان خوراکی با دی هیدروکسی استون سبب رفع علائم مسمومیت با آلومینیوم فسفید در انسان می گردد که این مطالعه اولین گزارش از درمان ایمن و موفقیت آمیز از دو مورد مسمومیت با آلومینیوم فسفید در انسان بود (۱۴). همچنین دی هیدروکسی استون یک عامل تأمین کننده آدنوزین تری فسفات (ATP) است که عملکرد میتوکندری را به میزان قابل توجهی بهبود می بخشد. نیک نهاد و همکاران در مطالعه ای نشان دادند که مسمومیت استنشاقی با فسفین فعالیت سیتوکروم C اکسیداز را در اندام های مغز، قلب و کبد حیوانات مهار می کند و درمان با

دی‌هیدروکسی‌استون قبل و بعد از مسمومیت استنشاقی با فسفین سبب بازیابی فعالیت میتوکندری سیتوکروم C اکسیداز می‌گردد این یافته‌ها نشان می‌دهد که دی‌هیدروکسی‌استون می‌تواند پادزهر موثری برای مسمومیت با فسفین باشد (۱۵).

با توجه به موارد ذکر شده، این مطالعه به منظور بررسی اثر دی‌هیدروکسی‌استون بر استرس اکسیداتیو و تغییرات بافت‌شناسی کبد و قلب، پس از مسمومیت با آلومینیوم فسفید طراحی گردید.

مواد و روش‌ها

مواد شیمیایی:

آلومینیوم فسفید از شرکت تولید سموم دفع آفات سمیران (ایران) خریداری شد. سایر مواد شیمیایی نیز از شرکت سیگما آلدردیج (ایالات متحده آمریکا) خریداری گردید.

حیوانات:

موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۵۰-۲۰۰ گرم از دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کرمان خریداری شدند و به مدت یک هفته برای سازگاری با محیط در آزمایشگاه حیوانات دانشکده داروسازی تحت شرایط دمایی ۲۵ درجه سانتیگراد، چرخه تاریکی و روشنایی ۱۲ ساعته و دسترسی آزادانه به آب و غذا نگهداری شدند.

طراحی مطالعه:

۲۴ عدد موش صحرایی به طور تصادفی در چهار گروه تقسیم شدند (شش موش در هر گروه). موش‌های گروه کنترل، ۱ میلی‌لیتر روغن ذرت را به صورت خوراکی دریافت کردند (گروه کنترل). جهت القای مسمومیت با آلومینیوم فسفید، آلومینیوم فسفید به صورت خوراکی و با دوز ۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم تجویز گردید (گروه آلومینیوم فسفید) (۱۳). گروه دی‌هیدروکسی‌استون، فقط ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم را به صورت خوراکی دریافت کردند (گروه دی‌هیدروکسی‌استون). گروه مسموم تیمار

شده نیم ساعت بعد از مسمومیت با آلومینیوم فسفید (۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، دی‌هیدروکسی‌استون را به صورت خوراکی و با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دریافت کردند (گروه مسموم تیمار شده) (۱۳).

جمع‌آوری نمونه خون و بافت:

تمام حیوانات ۲۴ ساعت پس از تیمار، بوسیله کتامین/زایلازین با دوز ۶/۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بیهوش شدند. سپس نمونه خون در لوله‌های هپارینه جمع‌آوری شد و بخشی از بافت‌های کبد و قلب در فرمالین ۱۰ درصد فیکس گردید و برای مطالعات بافتی به آزمایشگاه آسیب شناسی ارسال شد و بخش دیگر در دمای منفی ۸۰ درجه سانتیگراد برای اندازه‌گیری فاکتورهای زیستی استرس اکسیداتیو نگهداری گردید.

بررسی بافت قلب و کبد:

بعد از تهیه بلوک پارافینی با استفاده از میکروتوم، برش‌هایی به ضخامت ۵ میکرومتر از نمونه‌ها تهیه شد و رنگ آمیزی با هماتوکسیلین اتوزین انجام گرفت و تغییرات مورفولوژیک بوسیله میکروسکوپ نوری (Olympus, CX 33, Japan) مورد بررسی قرار گرفت (۶ نمونه در هر گروه). تغییراتی چون ادم، پرخونی عروق، دژنراسیون میگزوئید، میزان ارتشاح سلول‌های التهابی و نوع سلول‌های ارتشاح یافته، نکروز کانونی میوکاردا، و از هم گسیختگی میوسیت‌ها در بافت قلب مورد توجه قرار گرفت (۱۶). در بافت کبد نیز تغییرات ریخت‌شناسی استئاتوز، التهاب فضای پورت و لوبولار، فیروز و سایر تغییرات بافت‌شناسی طبق مطالعه‌ی Kleiner و همکاران درجه‌بندی شد (۱۷).

نحوه‌ی آماده‌سازی نمونه‌ها:

مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم از نمونه‌های کبد و قلب، به دقت توزین و در لوله شیشه‌ای تمیز قرار داده شد، سپس مقدار یک میلی‌لیتر از بافر فسفات سالین (۲۳۸ میلی‌گرم دی‌سدیم هیدروژن فسفات $(\text{Na}_2\text{HPO}_4)$ ، ۱۹ میلی‌گرم پتاسیم دی‌هیدروژن فسفات (KH_2PO_4) و ۸۰۰ میلی‌گرم نمک سدیم کلراید (NaCl) در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل شد

و pH آن برابر با ۷/۴ تنظیم گردید) به لوله آزمایش اضافه گردید و به خوبی با دستگاه هموژنایزر هموژن شد (در حین توزین و هموژن کردن، نمونه‌ها بر روی یخ نگهداری شدند). لوله‌های آزمایش به مدت ۱۰ دقیقه و با سرعت ۴۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند و مایع رویی در میکروتیوب‌های ۱ میلی‌لیتری جهت انجام تست‌های مختلف جمع‌آوری شدند (۱۸).

اندازه‌گیری ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی:

در اندازه‌گیری ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی از تست احیای یون فریک که قادر به اندازه‌گیری توانایی احیاکنندگی یون فریک است، استفاده شد. برای تهیه ۶۰ میلی‌لیتر محلول فراب، ۵ میلی‌لیتر فریک‌تری پیریدیل تریازین ۱۰ میلی‌مولار، ۵ میلی‌لیتر محلول فریک کلرید ۲۰ میلی‌مولار و ۵۰ میلی‌لیتر بافر سدیم استات ۴۰ میلی‌مولار با هم مخلوط شدند. سپس، ۲۵۰ میکرولیتر محلول فراب با ۵ میکرولیتر نمونه مخلوط و جذب در طول موج ۵۹۳ نانومتر قرائت گردید. در نهایت، ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی در مقایسه با منحنی استاندارد آهن سولفات با واحد میکرومول بر میلی‌گرم پروتئین بیان گردید (۱۹).

اندازه‌گیری پراکسیداسیون لیپیدی:

پراکسیداسیون لیپیدی یک واکنش زنجیره‌ای خود انتشار است که تحت تاثیر گونه‌های فعال اکسیژن و با حمله به اسیدهای چرب اشباع نشده صورت می‌گیرد و سطح مالون‌دی‌آلدهید، به عنوان محصول نهایی پراکسیداسیون لیپیدی با استفاده از تیوباربیتریک اسید اندازه‌گیری می‌گردد (۲۰). در این روش ۱ میلی‌لیتر محلول تری کلرو استیک اسید ۲۰ درصد به ۰/۲ میلی‌لیتر نمونه اضافه و به مدت ۱۳ دقیقه در دور ۴۱۰۰ سانتریفیوژ شد. سپس ۱ میلی‌لیتر سولفوریک اسید ۰/۰۵ مولار و ۰/۸ میلی‌لیتر محلول تیوباربیتریک اسید به آن اضافه گردید و به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب جوش قرار گرفت. بعد به نمونه‌ها

۰/۸ میلی‌لیتر آن بوتانول اضافه و ورتکس شدند. نمونه‌ها مجدداً به مدت ۱۳ دقیقه در دور ۴۱۰۰ سانتریفیوژ شدند و در نهایت مقدار ۰/۳ میلی‌لیتر از فاز رنگی آن بوتانول در میکروپلیت ریخته شد و جذب آن در طول موج ۵۳۲ نانومتر قرائت گردید. میزان پراکسیداسیون لیپیدی در مقایسه با منحنی استاندارد مالون‌دی‌آلدهید و با واحد نانومول بر میلی‌گرم پروتئین بیان گردید.

اندازه‌گیری گروه‌های کربونیل:

کربونیل‌اسیون پروتئین تغییر غیرقابل برگشت و غیرآنزیمی است که در اثر واکنش گروه‌های کربونیل شکل گرفته از مسیرهای مختلف اکسیداتیو با پروتئین صورت می‌گیرد و منجر به تشکیل مشتقات پروتئینی کربونیل (آلدئیدها و کتون‌ها) می‌شود، به منظور اندازه‌گیری گروه‌های کربونیل با معرف ۴،۲-دی‌نیتروفنیل‌هیدرازین از روش Levine و همکاران استفاده گردید (۲۱) که در اثر واکنش معرف ۴،۲-دی‌نیتروفنیل‌هیدرازین با گروه‌های کربونیل موجود در پروتئین باز شیف و کمپلکس زرد رنگ ایجاد می‌گردد. در این روش به ۲۰۰ میکرولیتر از نمونه، ۸۰۰ میکرولیتر آب مقطر و ۵۰۰ میکرولیتر محلول تری کلرو استیک اسید ۲۰ درصد اضافه و ده دقیقه در دور ۳۵۰۰ سانتریفیوژ شد. سپس به رسوب باقی‌مانده یک میلی‌لیتر محلول ۱۰ میلی‌مولار ۴،۲-دی‌نیتروفنیل‌هیدرازین اضافه و به مدت ۵۰ دقیقه در بن‌ماری ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. مجدداً یک میلی‌لیتر محلول تری کلرو استیک اسیدی به لوله آزمایش اضافه و دوباره سانتریفیوژ انجام شد. سپس جهت شستشوی ۴،۲-دی‌نیتروفنیل‌هیدرازین اضافی، به رسوبات باقی‌مانده یک میلی‌لیتر محلول اتانول و اتیل استات (با نسبت حجمی ۵۰ درصد) افزوده و مجدداً سانتریفیوژ گردید. در مرحله آخر به رسوبات باقی‌مانده یک میلی‌لیتر محلول ۶ مولار گوانیدین هیدروکلراید اضافه و نمونه‌ها ورتکس، انکوباسیون (۱۰ دقیقه در ۳۷ درجه) و سانتریفیوژ شدند. و در نهایت جذب مایع رویی نمونه‌ها در طول موج ۳۸۰

نانومتر اندازه گیری و میزان گروه های کربونیل به صورت اندازه گیری غلظت پروتئین به روش برادفورد:

اساس این روش تشکیل یک مجموعه بین رنگ آبی کوماسی G-250 و پروتئین های نمونه است. به طور خلاصه، ۱۰۰ میلی گرم رنگ آبی کوماسی در ۵۰ میلی لیتر اتانول حل شد. سپس ۱۰۰ میلی لیتر فسفریک اسید ۸۵٪ به آن اضافه و با آب مقطر تا حجم ۱۰۰۰ میلی لیتر رقیق شد. سپس حجم ۰/۲ میلی لیتر نمونه با ۰/۸ میلی لیتر محلول برادفورد مخلوط شد و در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ دقیقه انکوبه گردید. در نهایت میزان جذب در طول موج ۵۹۵ نانومتر قرائت گردید و غلظت پروتئین با توجه به منحنی استاندارد آلومین سرم گاو محاسبه شد (۲۲).

آنالیز آماری:

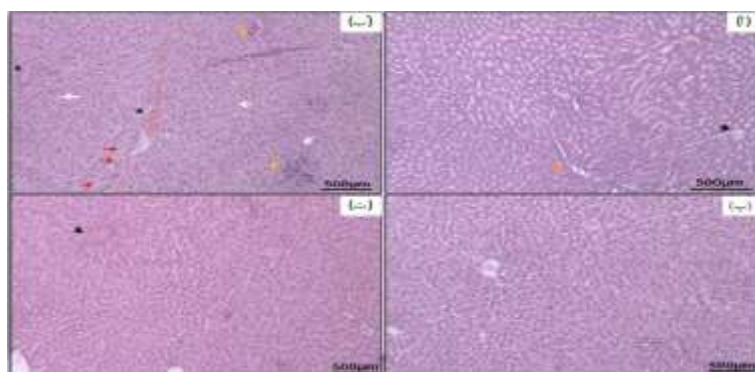
جهت تجزیه و تحلیل آماری داده های کمی از نرم افزار Graphpad prism 8 و آزمون های ANOVA یک طرفه و تست توکی به عنوان آزمون تعقیبی استفاده شد و نتایج به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار بیان گردید. برای تجزیه و تحلیل آماری داده های ناپارامتری کیفی از آزمون مجذور کای و مقایسه چندگانه با تست Z استفاده شد. مقادیر با p value کمتر از ۰/۰۵ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

بررسی بافت کبد و قلب: القای مسمومیت با آلومینیوم فسفید با مشاهده دژنراسیون آبکی، نکروز لوپولار، تکثیر

نانومول بر میلی گرم پروتئین بیان گردید.

سلول های کوپفر، افزایش تعدادی هپاتوسیت های دو هسته ای، احتقان ورید پورت و مرکزی، خون ریزی در سینوزوئید، واستاتوز در بافت کبد همراه بود که این تغییرات در مقایسه با گروه کنترل معنی دار بود ($P < ۰/۰۵$). که پس از تیمار با دی هیدروکسی استون، ساختار بافت کبد حفظ شد و شدت تغییرات ذکر شده کاهش یافت اما احتقان سینوزوئیدی و دژنراسیون آبکی هپاتوسیت ها همچنان قابل مشاهده بود. در رت های سالمی هم که دی هیدروکسی استون دریافت کرده بودند، احتقان سینوزوئید، آپوپتوز هپاتوسیت ها، دژنراسیون آبکی و تکثیر سلول های کوپفر مشاهده گردید (شکل ۱ و جدول ۱). در بافت قلب نیز ادم، احتقان، ارتشاح سلول های تک هسته ای، افزایش حضور کاردیومیوسیت های هایپرانوزینوفیلیک همراه با هسته های پیکنوتیک، نکروز کانونی میوکاردا، پریکاردیت، واکوئل شدن میوسیت ها پس از مسمومیت با آلومینیوم فسفید به صورت معنی دار ($P < ۰/۰۵$) در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد. بعد از تجویز دی هیدروکسی استون شدت تغییرات بصورت قابل توجهی کاهش یافت اما احتقان عروقی و خون ریزی همچنان قابل مشاهده بود. بافت قلب در رت های سالمی که دی هیدروکسی استون را دریافت کردند طبیعی و همراه با احتقان عروقی مشاهده گردید (شکل ۲ و جدول ۲).

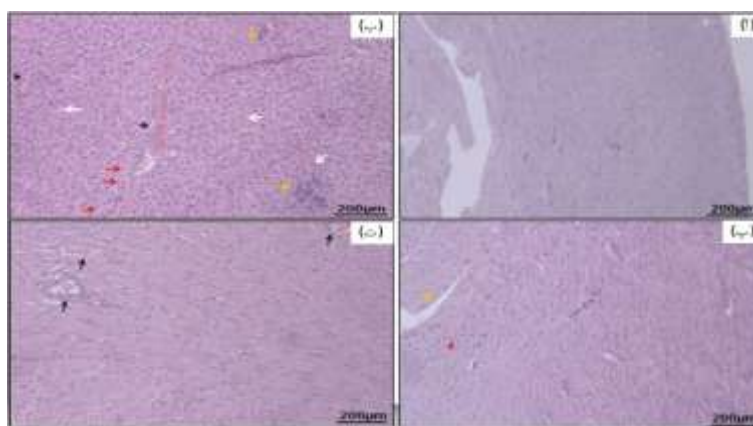


شکل ۱. تغییرات بافت کبد رنگ آمیزی شده با هماتوکسیلین-اؤزین (در شتمایی $\times 40$): (آ: موش های سالم تیمار شده با روغن ذرت (کنترل) - ورید مرکزی (فلش سیاه) و فضای پورت (فلش نارنجی))، (ب: موش های مسموم شده با دوز ۱۵ میلی گرم بر کیلوگرم آلومینیوم فسفید (آلومینیوم فسفید) - از بین رفتن ساختار طبیعی بافت کبد، احتقان ورید پورتال، خون ریزی در فضاهای سینوزوئیدی، دژنراسیون آبکی و استئاتوز ماکرو و میکرو و زیگولار (فلش قرمز) و نواحی نکروزه (فلش سفید))، (پ: موش های مسموم تیمار شده با دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم دی هیدروکسی استون (آلومینیوم فسفید + دی هیدروکسی استون) - ساختار حفظ شده ی بافت و احتقان در فضاهای سینوزوئیدی)، (ت: موش های سالم دریافت کننده دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم دی هیدروکسی استون - ساختار نرمال بافت و احتقان ورید مرکزی (فلش سیاه)). در هر گروه ۶ نمونه مورد آزمایش قرار گرفت.

جدول ۱. اسکوربندی تغییرات هیستوپاتولوژیک بافت کبد (با رنگ آمیزی هماتوکسیلین-اؤزین)

پارامترها	کنترل	آلومینیوم فسفید	آلومینیوم فسفید + دی هیدروکسی استون	دی هیدروکسی استون
التهاب فضای پورت	۰	۲	۱	۰
احتقان ورید مرکزی	۱	۲	۱	۱
احتقان ورید پورت	۱	۲	۱	۱
احتقان سینوزوئیدها	۰	۲	۲	۲
آپوپتوز هپاتوسیت ها	۰	۰	۲	۲
هپاتوسیت های دو هسته ای	۰	۳	۲	۲
نکروز لوبولار	۰	۳	۲	۰
استئاتوز میکرو و ماکرو و زیگولار	۰	۲	۰	۰
دژنراسیون آبکی هپاتوسیت ها	۰	۳	۳	۲
تکثیر سلول های کوپفر	۰	۳	۲	۲

مقادیر پورنگ شده در جدول بیانگر تفاوت معنی دار ($P < 0.05$) در مقایسه با گروه کنترل بر اساس تست آماری مجذور کای و مقایسه چندگانه با تست Z می باشد. ۳ (تغییر نادر در تمام حیوانات یک گروه)، ۲ (ایجاد تغییر در چند حیوان در یک گروه)، ۱ (تغییر بسیار ضعیف)، ۰ (فاقد تغییر مورد نظر). در هر گروه ۶ نمونه مورد آزمایش قرار گرفت.



شکل ۲. تغییرات بافت‌شناسی قلب رنگ آمیزی شده با هماتوکسیلین-ئوزین (درشتنمایی $\times 100$): (آ: موش‌های سالم تیمار شده با روغن ذرت (کنترل) - بافت نرمال قلب)، (ب: موش‌های مسموم شده با دوز ۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم آلومینیوم فسفید (آلومینیوم فسفید) - ادم (فلش نارنجی)، ارتشاح سلول‌های تک هسته‌ای (فلش سفید)، آسیب‌های میوکاردی مانند افزایش حضور کاردیومیوسیت‌های هایپر انوزینوفیلیک با هسته‌های پیکنوتیک (فلش قرمز) و واکوئل شدن میوسیت‌ها (فلش آبی))، (پ: موش‌های مسموم تیمار شده با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دی‌هیدروکسی‌استون (آلومینیوم فسفید + دی‌هیدروکسی‌استون) - ادم خفیف (فلش نارنجی) و آسیب پراکنده میوسیت‌ها از جمله وجود کاردیومیوسیت‌های هایپر انوزینوفیلیک (فلش قرمز))، (ت: موش‌های سالم دریافت کننده دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دی‌هیدروکسی‌استون (دی‌هیدروکسی‌استون) - ساختار حفظ شده بافت همراه با احتقان عروقی اندک (فلش سیاه)). در هر گروه ۶ نمونه مورد آزمایش قرار گرفت

جدول ۲. اسکوربندی تغییرات هیستوپاتولوژیک بافت قلب (با رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین)

پارامترها	کنترل	آلومینیوم فسفید	آلومینیوم فسفید + دی‌هیدروکسی‌استون	دی‌هیدروکسی‌استون
احتقان عروقی	۱	۲	۲	۲
واکوئل شدن میوسیت‌های قلبی	۰	۲	۱	۱
نکروز کانونی میوکارد	۰	۲	۱	۱
ارتشاح سلول‌های تک هسته‌ای	۰	۲	۱	۱
پریکاردیت	۰	۲	۰	۰
ارتشاح ماست سل‌ها	۰	۲	۱	۰
خونریزی	۰	۲	۲	۱
ادم	۰	۲	۱	۱
کاردیومیوسیت‌های هایپر انوزینوفیلیک	۰	۲	۱	۰

مقادیر پررنگ شده در جدول بیانگر تفاوت معنی‌دار ($P < 0.05$) در مقایسه با گروه کنترل بر اساس تست آماری مجذور کای و مقایسه چندگانه با تست Z می‌باشد. ۲) ایجاد تغییر در چند حیوان در یک گروه، ۱) تغییر بسیار ضعیف، ۰) فاقد تغییر مورد نظر) در هر گروه ۶ نمونه مورد آزمایش قرار گرفت.

شاخص‌های استرس اکسیداتیو: $145/756$ میکرومول بر میلی‌گرم پروتئین، ($p=0.081$)

ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی گردید اما تغییرات ذکر شده معنی‌دار نبودند (شکل ۳).

سطح مالون‌دی‌آلدهید پس از مسمومیت با آلومینیوم فسفید در مقایسه با گروه کنترل در گلبول‌های قرمز $0.125 \pm$ $1/455$ نانو مول بر میلی‌گرم پروتئین، ($p=0.001$) و بافت

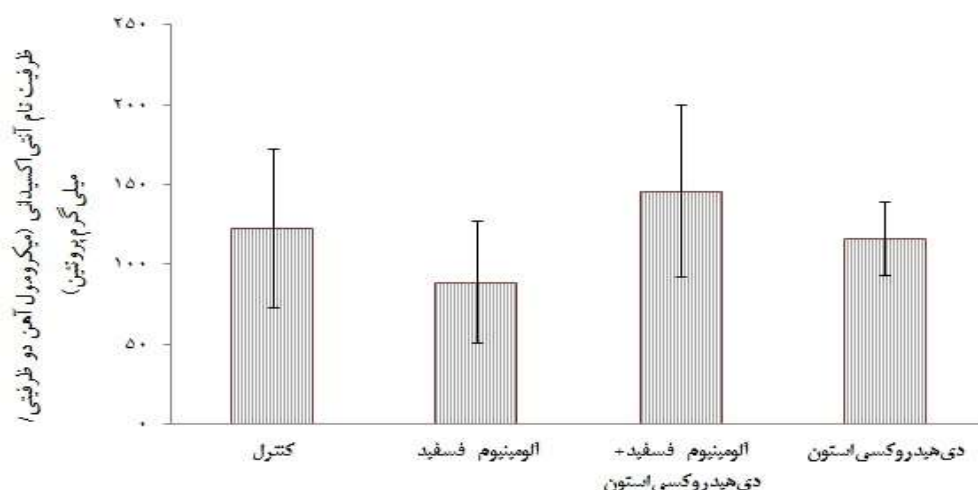
مسمومیت با آلومینیوم فسفید سبب کاهش

$90/738 \pm 12/734$ میکرومول بر میلی‌گرم پروتئین،

($p=0.551$) ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی پلاسما در مقایسه با گروه کنترل گردید و تجویز دی‌هیدروکسی‌استون پس از القای مسمومیت سبب برگشت این تغییر و افزایش $19/15 \pm$

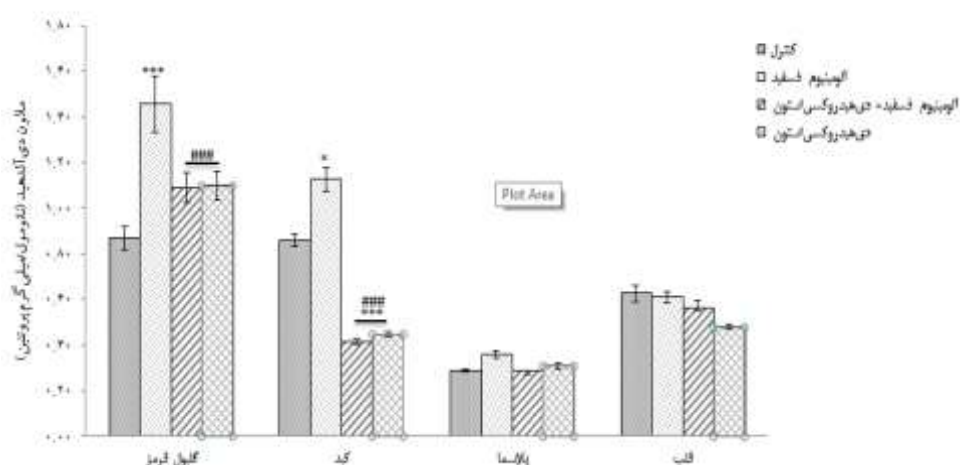
گروه کنترل به صورت معنی داری ($0/447 \pm 0/11$) نانو مول بر میلی گرم پروتئین، ($p=0/001$) کاهش یافته بود (شکل ۴). مسمومیت با آلومینیوم فسفید سبب افزایش معنی دار سطح کربونیلایسون پروتئین های گلوبول قرمز ($11/725 \pm 0/252$) نانو مول بر میلی گرم پروتئین، ($p=0/001$) و پلاسما ($10/717 \pm 0/328$) نانو مول بر میلی گرم پروتئین، ($p=0/005$) در مقایسه با گروه کنترل شد. تجویز دی هیدروکسی استون منجر به کاهش معنی دار این تغییرات در پروتئین های گلوبول های قرمز ($9/123 \pm 0/539$) نانو مول بر میلی گرم پروتئین، ($p=0/003$) و پلاسما ($8/914 \pm 0/125$) نانو مول بر میلی گرم پروتئین، ($p=0/019$) گردید. سطح کربونیلایسون پروتئین در بافت کبد ($5/556 \pm 0/023$) نانو مول بر میلی گرم پروتئین، ($p=0/999$) و قلب ($5/568 \pm 0/058$) نانو مول بر میلی گرم پروتئین، ($p=0/999$) نیز تغییر قابل ملاحظه ای نداشت (شکل ۵).

کبد ($1/127 \pm 0/053$) نانو مول بر میلی گرم پروتئین، ($p=0/023$) افزایش معنی دار داشت که تجویز دی هیدروکسی استون منجر به کاهش معنی دار آن در گلوبول های قرمز ($1/087 \pm 0/067$) نانو مول بر میلی گرم پروتئین، ($p=0/001$) و بافت کبد ($0/414 \pm 0/014$) نانو مول بر میلی گرم پروتئین، ($p=0/001$) گردید. همچنین رت هایی که فقط دی هیدروکسی استون دریافت کرده بودند سطح مالون دی آلدئید به صورت معنی دار در گلوبول های قرمز ($1/098 \pm 0/064$) نانو مول بر میلی گرم پروتئین، ($p=0/002$) و بافت کبد ($0/447 \pm 0/011$) نانو مول بر میلی گرم پروتئین، ($p=0/001$) در مقایسه با گروه آلومینیوم فسفید کاهش پیدا کرد. اما در بافت قلب ($0/562 \pm 0/035$) نانو مول بر میلی گرم پروتئین، ($p=0/999$) و پلاسما ($0/286 \pm 0/004$) نانو مول بر میلی گرم پروتئین، ($p=0/999$) تغییر قابل ملاحظه ای مشاهده نشد. سطح مالون دی آلدئید در بافت کبد حیواناتی که فقط دی هیدروکسی استون دریافت کرده بودند در مقایسه با

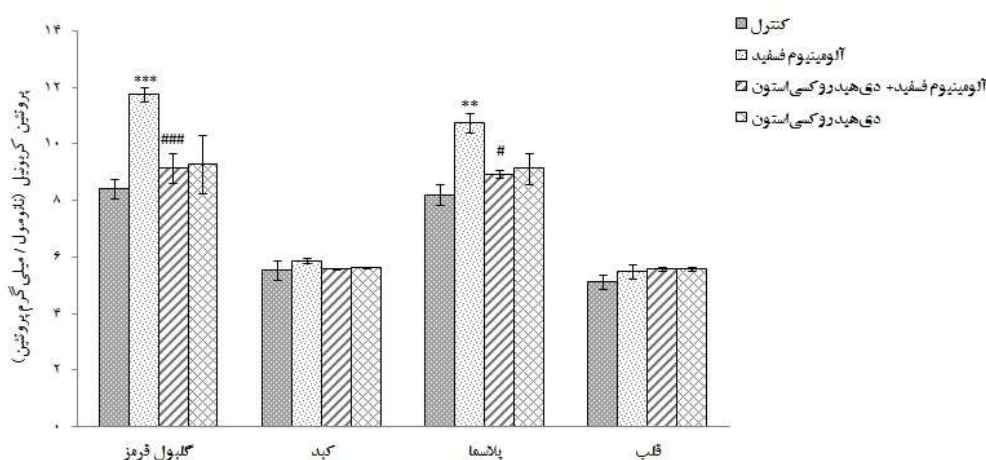


شکل ۳. اثر دی هیدروکسی استون بر ظرفیت تام آنتی اکسیدانی^۱ در بافت پلاسما: (آ: موش های سالم تیمار شده با روغن ذرت (کنترل))، (ب: موش های مسموم شده با دوز ۱۵ میلی گرم بر کیلوگرم آلومینیوم فسفید (آلومینیوم فسفید))، (پ: موش های مسموم تیمار شده با دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم دی هیدروکسی استون (آلومینیوم فسفید + دی هیدروکسی استون))، (ت: موش های سالم دریافت کننده دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم دی هیدروکسی استون (دی هیدروکسی استون)). در هر گروه ۶ موش مورد آزمایش قرار گرفت و نتایج بصورت میانگین $\pm$ انحراف معیار نشان داده شد.

۱. ظرفیت تام آنتی اکسیدانی بر اساس توانایی احیای یون فریک محاسبه گردیده است.



شکل ۴. اثر دی‌هیدروکسی‌استون بر سطح مالون‌دی‌آلدهید در بافت‌های گلبول قرمز، کبد، پلاسما و قلب: (آ: موش‌های سالم تیمار شده با روغن ذرت (کنترل))، (ب: موش‌های مسموم شده با دوز ۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم آلومینیوم فسفید (آلومینیوم فسفید))، (پ: موش‌های مسموم تیمار شده با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دی‌هیدروکسی‌استون (آلومینیوم فسفید + دی‌هیدروکسی‌استون))، (ت: موش‌های سالم دریافت‌کننده دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دی‌هیدروکسی‌استون (دی‌هیدروکسی‌استون)). در هر گروه ۶ موش مورد آزمایش قرار گرفت و نتایج بصورت میانگین $\pm$ انحراف معیار نشان داده شد. تفاوت بین گروه‌های مختلف به صورت $p < 0.001$ (***) در مقایسه با گروه کنترل و $p < 0.001$ (###) در مقایسه با گروه آلومینیوم فسفید معنی‌دار بود.



شکل ۵. اثر دی‌هیدروکسی‌استون بر پروتئین کربونیل در بافت‌های گلبول قرمز، کبد، پلاسما و قلب: (آ: موش‌های سالم تیمار شده با روغن ذرت (کنترل))، (ب: موش‌های مسموم شده با دوز ۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم آلومینیوم فسفید (آلومینیوم فسفید))، (پ: موش‌های مسموم تیمار شده با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دی‌هیدروکسی‌استون (آلومینیوم فسفید + دی‌هیدروکسی‌استون))، (ت: موش‌های سالم دریافت‌کننده دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دی‌هیدروکسی‌استون (دی‌هیدروکسی‌استون)). در هر گروه ۶ موش مورد آزمایش قرار گرفت و نتایج بصورت میانگین $\pm$ انحراف معیار نشان داده شد. تفاوت بین گروه‌های مختلف به صورت $p < 0.001$ (***) در مقایسه با گروه کنترل و $p < 0.001$ (###) در مقایسه با گروه آلومینیوم فسفید معنی‌دار بود.

بحث

در این مطالعه تیمار با دی هیدروکسی استون پس از القای مسمومیت با آلومینیوم فسفید در رت‌ها سبب کاهش تغییرات بافت‌شناسی در کبد و قلب گردید و همچنین باعث کاهش سطح پراکسیداسیون لیپید در بافت کبد و گلبول‌های قرمز و کاهش کربونیل‌اسیون در پروتئین‌های گلبول‌های قرمز و پلاسما گردید، اما بر ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی پلاسما تاثیری نداشت. جالب آنکه سطح پراکسیداسیون لیپید در بافت کبد حیواناتی که فقط دی هیدروکسی استون دریافت کرده بودند به صورت معنی‌داری کاهش یافته بود.

مطالعات قبلی نشان داده است که فسفین از طریق ورید پورتال وارد کبد، و منجر به التهاب فضا‌های پورت، قطعه قطعه شدن هسته هپاتوسیت‌ها، استئاتوز میکروویکولار (۲۳)، احتقان و نکروز هموراژیک در نواحی مرکزی بافت کبد می‌شود (۲۴). همچنین منجر به ازهم گسیختگی الیاف عضله قلب در اثر ادم (۲۵)، احتقان، نکروز کانونی میوکاردا (۱۶)، واکوئله شدن میوسیت‌ها، ارتشاح نوتروفیل و ائوزینوفیل‌ها در بافت قلب می‌گردد (۲۶) که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد. همچنین سطح پراکسیداسیون لیپید و کربونیل‌اسیون پروتئین افزایش، و قوای آنتی‌اکسیدانی درون سلول تضعیف می‌گردد که به صورت سینرژیست می‌تواند سبب آسیب به بافت‌ها، از جمله قلب گردد (۲۷) که در برابر آسیب‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد بنابر افزایش فعالیت ذاتی اکسیداتیو و مقاومت شکننده آنتی‌اکسیدان‌ها بسیار حساس‌تر از سایر قسمت‌های بدن است (۲۸).

مکانیسم مولکولی دقیق سمیت فسفین به خوبی شناخته نشده است. با این حال، مطالعات *In-vivo* و *In-vitro* نشان داده است که فسفین سمیت خود را با مهار کردن سیتوکروم C اکسیداز اعمال می‌کند که منجر به تشکیل گونه‌های فعال اکسیژن، و در نهایت سبب آسیب سلولی می‌شود (۲۳). سیتوکروم C اکسیداز از مکان‌های اصلی تعامل بین فسفین و زنجیره حمل و نقل الکترونی هستند و فسفین با مهار این آنزیم در محل کمپلکس IV پتانسیل غشای میتوکندری را

مهار می‌کند. علاوه بر این، فسفین فعالیت کمپلکس‌های I و II را کاهش می‌دهد، که باعث کاهش فعالیت کمپلکس‌های میتوکندری و مهار تنفس هوازی می‌شود که سبب تولید بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژن، اختلال در سنتز ATP و نارسایی انرژی می‌گردد (۲۹). فسفین با کاهش فعالیت کاتالاز و پراکسیداز، منجر به تجمع هیدروژن پراکسید و تشکیل رادیکال‌های هیدروکسیل می‌شود (۳۰). علاوه بر آن عملکرد فسفین با افزایش پراکسیداسیون لیپید به دنبال کاهش غلظت گلوکاتایون همراه است. کاهش غلظت گلوکاتایون در بافت‌های مختلف در مسمومیت با فسفین می‌تواند آسیب سلولی را توضیح دهد زیرا گلوکاتایون، هیدروژن پراکسید را به اکسیژن و آب کاتالیز می‌کند، که راهی برای محافظت در برابر اکسیداسیون است (۳۱).

با توجه به همبستگی میان اختلال در میتوکندری و تولید گونه‌های فعال اکسیژن در مسمومیت با فسفین (۲۹) به نظر می‌رسد که مولکول‌های تامین کنند ATP مانند دی هیدروکسی استون با افزایش محتوای ATP از مسیر گلیکولیز می‌توانند از سمیت فسفین جلوگیری کنند و سبب احیای تنفس میتوکندری گردند (۳۲). به همین شیوه ملاتونین نیز با افزایش سطح ATP داخل سلول سبب بهبود آسیب‌های اکسیداتیو بافت قلب پس از مسمومیت با آلومینیوم فسفید گردید (۳۳). از طرفی نشان داده شده است که بکارگیری ترکیبات مختلفی چون ان‌استیل‌سیستین، گلوکاتایون، ویتامین E، ویتامین C (۴)، رزوراترول (۳۱)، نانوذرات کورکومین (۳۴)، و عصاره گیاه *Moringa oleifera* (۲۵) بواسطه قوای آنتی‌اکسیدانی در مسمومیت با آلومینیوم فسفید، علیرغم اثرگذاری آن بر روی شاخص‌های استرس اکسیداتیو، نمی‌تواند آن چنان در درمان این نوع مسمومیت موثر واقع گردد.

شوگ گردش خون دیگر مکانیسم سمیت و از دلایل مهم مرگ‌ومیر ناشی از مسمومیت با آلومینیوم فسفید می‌باشد (۳۵) که با از دست دادن سریع حجم قابل توجه خون داخل

نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که دی هیدروکسی استون قادر به مهار ایجاد تغییرات بافت شناسی و القای استرس اکسیداتیو ناشی از مسمومیت با آلومینیوم فسفید در بافت خون و کبد و قلب می باشد. براساس مطالعات فراوانی که در بررسی ارتباط استرس اکسیداتیو و سمیت آلومینیوم فسفید صورت گرفته، به نظر می رسد که مهار سیتوکروم C اکسیداز می تواند نقش مهمتری در سمیت آلومینیوم فسفید داشته باشد. استفاده از دی هیدروکسی استون به عنوان ترکیبی غیرسمی که قادر به افزایش سطح ATP سلولی می باشد می تواند روش درمانی موثری در مقایسه با آنتی اکسیدان ها باشد. لذا برای مطالعات آینده انتظار می رود استفاده از ترکیبات احیاکننده به تنهایی و یا در کنار ترکیبات آنتی اکسیدان جهت بررسی این نوع مسمومیت بیشتر مورد توجه قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

از معاونت تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی کرمان به سبب حمایت مالی از این پروژه صمیمانه تشکر می کنیم. همچنین این پژوهش با رعایت اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی و پس از دریافت کد اخلاق IR.KMU.REC.1398.214 از دانشگاه علوم پزشکی کرمان صورت گرفت.

عروقی ایجاد می شود و ممکن است به ناپایداری همودینامیک، کاهش میزان اکسیژن، کاهش پرفیوژن بافت، هیپوکسی سلولی، آسیب اندام و مرگ منجر شود (۳۶) که نشان داده شده است دی هیدروکسی استون می تواند از وقوع افت فشار خون مقاوم به درمان و شوک گردش خونی در رت های مسموم شده با آلومینیوم فسفید جلوگیری کند (۱۳). چون پس از ورود به سلول، در طی فرآیندی بیوشیمیایی ابتدا به دی هیدروکسی استون فسفات، سپس تحت تاثیر آنزیم تریوز فسفات ایزومراز به گلیسرول آلدهید ۳ فسفات (GA3P)، و در نهایت به اسید پیرویک تبدیل می شود که منجر به تولید انرژی (ATP) از طریق چرخه کربس می گردد (۱۱).

اعتقاد بر این است که اثر کشنده ی آلومینیوم فسفید عمدتاً به دلیل مهار مرکز تنفسی در مغز، و به دنبال آن فروپاشی دستگاه تنفسی و قلب و عروق است، و دی هیدروکسی استون ممکن است فسفین را به دام بیاورد و از تاثیر و مهار آن بر سیتوکروم C اکسیداز جلوگیری کند از طرفی دی هیدروکسی استون دارای گروه عاملی کربونیل است که می تواند واکنشی برگشت پذیر با نوکلئوفیل هایی مانند سیانید انجام دهد، بنابراین امکان دارد که فسفین به عنوان یک نوکلئوفیل با گروه کربونیل دی هیدروکسی استون واکنش صورت دهد و با مهار فسفین تا حدی فعالیت سیتوکروم اکسیداز میتوکندری را بازیابی کند (۱۵) و سبب افزایش سطح ATP سلول، کاهش گونه های فعال اکسیژن و کاهش آسیب بافتی گردد (۳۳).

منابع

- 1.Mendonca M, Tamas C, Kiraly L, Talo H, Rajah J. Successful use of ECLS in cardiopulmonary failure due to aluminum phosphide poisoning. Egypt. J. Crit. Care Med. 2016;4(1):33-35. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ejccm.2016.02.004>. doi: 10.1016/j.ejccm.2016.02.004.
- 2.Shadnia S, Sasanian G, Allami P, Hosseini A, Ranjbar A, Amini-Shirazi N, et al. A retrospective 7-years study of aluminum phosphide poisoning in Tehran: opportunities for prevention. Hum. Exp. Toxicol. 2009;28(4):209-213. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19734272>. doi: 10.1177/0960327108097194.

3. Nath NS, Bhattacharya I, Tuck AG, Schlipalius DI, Ebert PR. Mechanisms of phosphine toxicity. *J. Toxicol.* 2011;2011:1-9. Available from: <https://doi.org/10.1155/2011/494168>. doi:10.1155/2011/494168.
4. Hashemi-Domeneh B, Zamani N, Hassanian-Moghaddam H, Rahimi M, Shadnia S, Erfantalab P, et al. A review of aluminium phosphide poisoning and a flowchart to treat it. *Arh Hig Rada Toksikol.* 2016;67(3):183-193. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27749266/>. doi: 10.1515/aiht-2016-67-2784.
5. Gurjar M, Baronia AK, Azim A, Sharma K. Managing aluminum phosphide poisonings. *J Emerg Trauma Shock.* 2011;4(3):378-384. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3162709>. doi: 10.4103/0974-2700.83868.
6. Sanaei-Zadeh H, Farajidana H. Is there a role for digoxin in the management of acute aluminum phosphide poisoning? *Med Hypotheses.* 2011;76(5):765-766. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21388748>. doi: 10.1016/j.mehy.2011.02.023.
7. Zamani N, Mehrpour O. Protective role of G6PD deficiency in poisoning by aluminum phosphide; are there possible new treatments? *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2013;17(7):994-995. PMID: 23640450. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23640450>.
8. Scientific Committee on Consumer Safety S. Opinion on dihydroxyacetone 2010. SCCS/1347/10. Available from: https://ec.europa.eu/health/scientific_committees/consumer_safety/docs/sccs_o_048. doi: 10.2772/29632.
9. Faurschou A, Janjua NR, Wulf HC. Sun protection effect of dihydroxyacetone. *Arch. Dermatol.* 2004;140(7):886-887. Available from: <https://jamanetwork.com/journals/jamadermatology/article-abstract/480650>. doi:10.1001/archderm.140.7.886.
10. Barel AO, Paye M, Maibach HI. Handbook of cosmetic science and technology. 4 nd ed. New York: CRC Press, 2014: 419.
11. Laborit H. Treatment of hemorrhagic shock. Google Patents; 1977. Available from: <https://patents.google.com/patent/US4049795A/en>.
12. Niknahad H, O'Brien PJ. Antidotal Effect of Dihydroxyacetone against Cyanide Toxicity in Vivo. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1996;138(1):186-191. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0041008X9690112X>. doi: 10.1006/taap.1996.0112.
13. Ahmadi J, Joukar S, Anani H, Karami-Mohajeri S. Dihydroxyacetone as a definitive treatment for aluminium phosphide poisoning in rats. *Arh Hig Rada Toksikol.* 2018;69(2):169-177. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29990298>. doi: 10.2478/aiht-2018-69-3106.
14. Oghabian Z, Ahmadi J, Pakravan S, Dabaghzadeh F, Heidari MR, Tajaddini S, et al. Successful treatment of aluminium phosphide poisoning by dihydroxyacetone: A two-case report study. *J Clin Pharm Ther.* 2020;45(5):1194-1198. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32526065>. DOI: 10.1111/jcpt.13194.
15. Niknahad H, Heidari R, Hashemi A, Jamshidzadeh A, Rashedinia M. Antidotal effect of dihydroxyacetone against phosphine poisoning in mice. *J Biochem Mol Toxicol.* 2021;35(10):1-6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34448514>. doi: 10.1002/jbt.22897.
16. Jain AK, Nigam M, Garg S, Dubey B, Arora A. Aluminium phosphide poisoning autopsy findings. *Indian J Community Med.* 2005;27(1):35-39. Available from: <http://forensicindia.net/journals/jiafm/t05/i1/jalt05i1p35.pdf>.
17. Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, Behling C, Contos MJ, Cummings OW, et al. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology.* 2005;41(6):1313-1321. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15915461>. doi: 10.1002/hep.20701.
18. Commission BP, Commission GBM, Council GM. British Pharmacopoeia 2000: Bernal Press (PA), 2000. Available from: <https://www.pharmacopoeia.com/the-bp-Commission>.

19. Moloudi MR, Hassanzadeh K, Abdi M, Zandi F, Rahimi K, Izadpanah E. Hepatoprotective effect of the hydroalcoholic extract of *Cichorium intybus* in a rat model of obstructive cholestasis. *AJG*. 2021;22(1):34-39. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32928706>. doi: 10.1016/j.ajg.2020.08.006.
20. Hassanzadeh A, Shahvaisy K, Hassanzadeh K, Izadpanah E, Amini A, Moloudi MR. Effects of rebamipide and encapsulating rebamipide with chitosan capsule on inflammatory mediators in rat experimental colitis. *SJKUMS*. 2015;20(3):94-104. Available from: <http://sjku.muk.ac.ir/article-1-1853-en.html>. doi: 10.22102/20.3.94.
21. Pirinccioglu AG, Gökalp D, Pirinccioglu M, Kizil G, Kizil M. Malondialdehyde (MDA) and protein carbonyl (PCO) levels as biomarkers of oxidative stress in subjects with familial hypercholesterolemia. *Clin Biochem*. 2010;43(15):1220-1224. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20691171>. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2010.07.022.
22. Fotoohi A, Moloudi MR, Hosseini S, Hassanzadeh K, Feligioni M, Izadpanah E. A Novel Pharmacological Protective Role for Safranal in an Animal Model of Huntington's Disease. *Neurochem Res*. 2021;46(6):1372-1379. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11064-021-03271-8>. doi: 10.1007/s11064-021-03271-8.
23. Saleki S, Ardalan FA, Javidan-Nejad A. Liver histopathology of fatal phosphine poisoning. *Forensic Sci Int*. 2007;166(2-3):190-193. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0379073806003318>. doi: 10.1016/j.forsciint.2006.05.033.
24. Anand R, Kumari P, Kaushal A, Bal A, Wani WY, Sunkaria A, et al. Effect of acute aluminum phosphide exposure on rats—A biochemical and histological correlation. *Toxicol Lett*. 2012;215(1):62-69. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378427412013252>. doi: 10.1016/j.toxlet.2012.09.020.
25. Gouda AS, El-Nabarawy NA, Ibrahim SF. Moringa oleifera extract (Lam) attenuates Aluminium phosphide-induced acute cardiac toxicity in rats. *Toxicol Rep*. 2018;5:209-212. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2214750018300155>. doi: 10.1016/j.toxrep.2018.01.001.
26. Mehrpour O, Jafarzadeh M, Abdollahi M. A Systematic Review of Aluminium Phosphide Poisoning. *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology*. 2012;63(1):61. Available from: <https://hrcak.srce.hr/78648>. doi: 10.2478/10004-1254-63-2012-2182.
27. Anand R, Sharma D, Verma D, Bhalla A, Gill K, Singh S. Mitochondrial electron transport chain complexes, catalase and markers of oxidative stress in platelets of patients with severe aluminum phosphide poisoning. *Hum Exp Toxicol*. 2013;32(8):807-816. Available from: <https://journals.sagepub.com/doi/full/10.1177/0960327112468909>. doi: 10.1177/0960327112468909.
28. Akhtar S, Rehman A, Bano S, Haque A. Accidental phosphine gas poisoning with fatal myocardial dysfunction in two families. 2015;25(5):378-379. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26008669>.
29. Valmas N, Zuryn S, Ebert PR. Mitochondrial uncouplers act synergistically with the fumigant phosphine to disrupt mitochondrial membrane potential and cause cell death. *Toxicology*. 2008;252(1):33-9. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0300483X08003569>. doi: 10.1016/j.tox.2008.07.060.
30. Proudfoot AT. Aluminium and zinc phosphide poisoning. *Clin Toxicol*. 2009;47(2):89-100. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/15563650802520675>. doi: 10.1080/15563650802520675.
31. Haghi Aminjan H, Abtahi SR, Hazrati E, Chamanara M, Jalili M, Paknejad B. Targeting of oxidative stress and inflammation through ROS/NF-kappaB pathway in phosphine-induced hepatotoxicity mitigation. *Life Sci*. 2019;232:116607. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/15563650802520675>. doi: 10.1080/15563650802520675.

32. Rashedinia M, Jamshidzadeh A, Mehrabadi AR, Niknahad H. Prevention of phosphine-induced cytotoxicity by nutrients in HepG2 cells. *IJMR*. 2016;144(4):560. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5345302>. doi: 10.4103/0971-5916.200896.
33. Asghari MH, Moloudizargari M, Baeeri M, Baghaei A, Rahimifard M, Solgi R, et al. On the mechanisms of melatonin in protection of aluminum phosphide cardiotoxicity. *Arch Toxicol*. 2017;1-12. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28551710/>. doi: 10.1007/s00204-017-1998-6.
34. Ranjbar A, Gholami L, Ghasemi H, Kheiripour N. Effects of nano-curcumin and curcumin on the oxidant and antioxidant system of the liver mitochondria in aluminum phosphide-induced experimental toxicity. *NMJ*. 2019;7(1):58-64. Available from: https://nmj.mums.ac.ir/article_13628.html. doi: 10.22038/NMJ.2020.07.07.
35. Anand R, Binukumar B, Gill KD. Aluminum phosphide poisoning: an unsolved riddle. *J Appl Toxicol*. 2011;31(6):499-505. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21607993>. doi: 10.1002/jat.1692.
36. Gutierrez G, Reines H, Wulf-Gutierrez ME. Clinical review: hemorrhagic shock. *Critical care*. 2004;8(5):1-9. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1065003>. doi: 10.1186/cc2851