



ORIGINAL ARTICLE

Received:2018/08/12

Accepted:2018/12/05

Effects of Parathion Toxin on Glutamate Dehydrogenase Enzyme Activity and Diabetes

Induction

Hamid Reza Jamshidi (Ph.D.)¹, Elham Ebrahimi (Pharm.D.s)²

1. Corresponding Author: Assistant professor, Department of toxicology, School of pharmacy, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran. Email: hrz.jamshidi@gmail.com Tel: 09126014975

2. Pharmacy Student, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran.

Abstract

Introduction: The main propose of this study was to determine the effect of parathion on activity of glutamate dehydrogenase (GDH) as a key enzyme in second phase secretion of insulin and to determine serum glucose levels in rats.

Methods: To conduct the study, 35 rats were randomly divided into five groups (n=7). The serum glucose level of each group was measured and the total average was calculated with a glucometer. The experimental groups (groups 1,2,3,4) received 0.5, 1, 1.5, and 2 mg/kg of parathion pesticide via IP injection; whereas, the control group received no treatment. All rats were kept in similar condition. Serum glucose levels of rats were measured 24h after the final injection. Glutamate dehydrogenase (GDH) activity in rat's pancreas was measured by GDH activity assay kit and using a spectrophotometer at 570nm.

Results: The levels of glucose in treatment groups significantly increased compared with the control group (P<0.01). The levels of GDH activity in rats increased after receiving 1.5 and 2 mg/kg of parathion pesticides compared with the control group (P<0.01, p<0.05).

Conclusion: Regarding the results, parathion affects the GDH enzyme in the pancreatic islets and leads to insufficient secretion of insulin. Although insulin was increased and increased the intermediates of Krebs cycle, the rate of insulin secretion was not so high to overcome the increase of glucose caused by parathion organophosphate

Keywords: Parathion, Glutamate dehydrogenase, Pancreas, Rat

Conflict of interest: The authors declared no Conflict of interest



This Paper Should be Cited as:

Author : Hamid Reza Jamshidi, Elham Ebrahimi. Effects of Parathion Toxin on Glutamate Dehydrogenase Enzyme Activity and Diabetes.....Tolooebehdasht Journal.2019;18(1):83-93.[Persian]



اثرات سم پاراتیون بر فعالیت آنزیم گلوتامات دهیدروژناز و ایجاد دیابت

نویسندگان: حمیدرضا جمشیدی^۱، الهام ابراهیمی^۲

۱. استادیار گروه سم شناسی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد، ایران.

Email: hrz.jamshidi@gmail.com

تلفن تماس: ۰۹۱۲۶۰۱۴۹۷۵

۲. دانشجوی رشته داروسازی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد، ایران.

طلوع بهداشت

چکیده

مقدمه: پاراتیون از سموم ارگانوفسفره می باشد که از اثرات آن ایجاد تغییرات در ترشح انسولین است. هدف اصلی پژوهش حاضر بررسی اثر پاراتیون بر فعالیت گلوتامات دهیدروژناز (GDH) به عنوان آنزیم کلیدی در مرحله دوم ترشح انسولین و تعیین سطح سرمی گلوکز در موش صحرایی است.

روش بررسی: ۳۵ موش به طور تصادفی به ۵ گروه ۷ تایی تقسیم شدند و سطح گلوکز سرم هر گروه و میانگین کل با گلوکومتر اندازه گیری شد. گروه های مورد آزمایش شامل گروه ۵ به عنوان گروه شاهد و گروه های ۱، ۲، ۳، ۴ و ۵ به عنوان گروه های مورد آزمایش با تزریق داخل صفاقی ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ میلی گرم بر کیلوگرم آفت کش پاراتیون دریافت کردند. موش ها در شرایط استاندارد نگهداری شدند. ۲۴ ساعت بعد از آخرین تزریق سطح گلوکز سرم اندازه گیری شد. فعالیت GDH در پانکراس موش ها با استفاده از کیت سنجش فعالیت GDH و با اسپکتروفتومتر با طول موج ۵۷۰ نانومتر اندازه گیری شد.

یافته ها: نتایج نشان داد که میزان گلوکز در گروه مورد آزمایش نسبت به گروه کنترل افزایش نشان داد ($p < 0/01$) سطح فعالیت گلوتامات دهیدروژناز در موش هایی که در معرض ۱/۵ و ۲ میلی گرم بر کیلوگرم از پاراتیون قرار گرفتند در مقایسه با گروه کنترل افزایش نشان داد ($p < 0/05$ ، $p < 0/01$).

نتیجه گیری: با توجه به نتایج می توان نتیجه گرفت که پاراتیون با تحت تاثیر قرار دادن آنزیم GDH در جزایر پانکراس منجر به ترشح نامناسب انسولین می گردد که در اینجا باعث افزایش آن گردیده است که در نتیجه افزایش واسطه های چرخه کربس می باشد ولی میزان ترشح این انسولین به حدی نبوده تا بر افزایش گلوکز خون ناشی از ارگانوفسفره پاراتیون غلبه کند.

واژه های کلیدی: پاراتیون، گلوتامات دهیدروژناز، پانکراس، موش صحرایی، دیابت

دو ماهنامه علمی پژوهشی

دانشکده بهداشت یزد

سال هیجدهم

شماره اول

فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۸

شماره مسلسل: ۷۳

تاریخ وصول: ۱۳۹۷/۰۵/۲۱

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۹/۱۴

**مقدمه**

برای سالیان متمادی سموم ارگانوفسفره به منظور حفاظت از محصولات کشاورزی و بهداشت عمومی مورد استفاده قرار گرفته اند. مشاهده شده است این سموم در پستانداران از طریق مهار آنزیم استیل کولین استراز ایجاد مسمومیت می کنند که منجر به تجمع استیل کولین و به دنبال آن فعالیت گیرنده های کولینرژیک موسکاربینی و نیکوتینی می شود. مواجهه های شغلی، زیست محیطی و رژیم غذایی جمعیت عمومی یک منبع خطر بالقوه برای انسان ها محسوب می شود (۱).

اثرات طولانی مدت ارگانوفسفره ها روی سلامتی بعد از تماس مزمن یا حاد با آنها به طور گسترده مورد مطالعه قرار گرفته است (۱).

علاوه بر آن تغییرات متابولیکی و بیوشیمیایی متعددی ایجاد می کنند که بعضی از آنها ممکن است مسئول اثرات جانبی بیولوژیکی گزارش شده از جمله دیابت نوع ۲ در انسان ها و حیوانات باشد (۲) همان گونه که گزارش شده است هایپرگلیسمی یکی از عوارض مسمومیت با ارگانوفسفره ها در حیوانات و انسان ها است (۳-۸).

هایپرگلیسمی با افزایش انسولین همراه است، ممکن است سیستم کنترل متابولیسم را از بین ببرد و منجر به از دست دادن پاسخ فیزیولوژیکی به انسولین شود و در نهایت منجر به القای دیابت نوع ۲ شود.

نشان داده شده است که آنزیم های کلیدی ترشح انسولین در پانکراس از جمله گلوکوکیناز و گلو تامات دهیدروژناز به دنبال در معرض قرار گرفتن حاد و تحت مزمن با مالاتیون تحریک می شوند اما برای غلبه بر هایپرگلیسمی کافی نیست (۹).

افزایش قابل توجه فعالیت گلو تامات دهیدروژناز با تماس حاد و مزمن با حشره کش های ارگانوفسفره مشاهده شده است (۱۰). دوره تحت حاد استفاده از مالاتیون در موش صحرائی منجر به افزایش قابل توجه سطوح انسولین پلاسما و گلوکز شد (۱۱-۱۲) نشان داده شده که بعد از مصرف دوزهای کشنده و تحت کشنده کربوفتوئین، که یک آفت کش ارگانوفسفره پرمصرف است، در بلدرچین های ژاپنی سطح آنزیم گلو تامات دهیدروژناز ۲ ساعت و ۲۴ ساعت بعد از تماس افزایش یافت (۱۳).

در مطالعه ای که کرم های ابریشم در معرض دوزهای کشنده و تحت کشنده ارگانوفسفره ها قرار گرفتند، فعالیت گلو تامات دهیدروژناز در بافت های مورد مطالعه افزایش یافت (۱۴).

در این مطالعه ما بر آن شدیم تا تاثیر پاراتیون، که یک ارگانوفسفات سمی تر از مالاتیون است، را بر فعالیت گلو تامات دهیدروژناز بررسی کنیم.

روش بررسی

مواد شیمیایی: GDH Assay Buffer، محلول Glutamate، مخلوط سوبسترا، GDH standard، NAD، ساخت کارخانه Scien Cell بافر هنکس (Hanks buffer) و دی متیل سولفوکسید (DMSO) که از شرکت سیگما تهیه گردیده است.

کیت ها: کیت اندازه گیری فعالیت آنزیم گلو تامات دهیدروژناز ساخت کارخانه Scien Cell، برای اندازه گیری فعالیت آنزیم در طول موج پانصد و هفتاد نانومتر

حیوانات: موش های صحرائی نر Wistar با وزن بین ۲۰۰-۲۵۰ گرم از خانه ی حیوانات دانشکده داروسازی پردیس بین الملل



فاصله های ۲۴ ساعت در شرایط یکسان و زمان مشخص انجام گرفت.

اندازه گیری گلوکز بعد از تماس با پاراتیون: بیست و چهار ساعت پس از آخرین تزریق داخل صفاقی سم پاراتیون به همان روش که قند خون پایه موش ها اندازه گیری شد، قند خون موش های مسموم را اندازه گیری کردیم. بدین صورت که با استفاده از لانست مخصوص دستگاه Acuu-check کالیبره شده از انتهای دم موش های صحرائی خونگیری و قند خون را اندازه گرفتیم.

میانگین کل نتایج و میانگین گلوکز سرمی گروه شاهد ثبت شده و سپس تغییرات میزان گلوکز خون در موش های صحرائی مسموم و موش های صحرائی شاهد قبل و بعد از در معرض قرار گیری با پاراتیون اندازه گیری شد.

جداسازی پانکراس: بر اساس ملاحظات اخلاقی، ابتدا رت ها با استفاده از ماده بیهوش کننده دی اتیل اتر بی هوش شدند. حفره های سینه و شکمی به وسیله تیغ مخصوص جراحی استریل باز شد تا پانکراس چسبیده به طحال نمایان گردد. بعد از یافتن دئودنوم به مجرای پانکراس دسترسی یافته و پانکراس آن ها را جدا کرده و در بافر هنکس (Hank's) قرار دادیم. در مرحله بعد پانکراس را در دمای چهار درجه سانتی گراد در هموژنایزر به مدت یک دقیقه قرار داده تا هضم شود، فعالیت آنزیم گلوتامات دهیدروژناز در پانکراس هموژن اندازه گیری شد.

سنجش گلوتامات دهیدروژناز: این روش یک روش رنگ سنجی بر اساس اکسیداسیون گلوتامات است، که در آن NADH تشکیل شده یک نمک تترازولیوم را کاهش می دهد.

یزد تهیه شد. موش های صحرائی در مرکز استاندارد مراقبت از حیوانات نگهداری شدند. حیوانات به آب و غذا دسترسی آزاد داشتند. آن ها در شرایط یکسان دمای ۲۶-۲۴ درجه سانتی گراد و رطوبت ۴۰ درصد، ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی در روز نگهداری شدند.

در معرض قرار گیری با پاراتیون: بعد از ثبت نتایج اندازه گیری قند خون، به حیوانات به ترتیب گروه ۱، ۲، ۳ و ۴ پاراتیون را با دوزهای مختلف ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ میلی گرم بر کیلوگرم (۱۹) (مقدار کشنده ۷ میلی گرم بر کیلوگرم) حل شده در دی متیل سولفوکسید (DMSO) به صورت داخل صفاقی تزریق کردیم. گروه کنترل نرمال سالین هم حجم با گروه های دیگر دریافت کردند. تمامی آزمایشات ۴ روز قبل از دریافت سم پاراتیون انجام گردید.

تهیه دوز های پاراتیون: با توجه به اینکه وزن موش های صحرائی بین ۲۵۰-۲۰۰ گرم بود برای تهیه دوز ۲ میلیگرم بر کیلوگرم ما مقدار ۲/۵ میلی گرم از سم پاراتیون را به دقت وزن کرده و سپس در ۱ میلی لیتر از DMSO حل نمودیم. بدین صورت ما در هر ۲۰۰ میکرولیتر از محلول ۰/۵ میلی گرم از پاراتیون داشتیم. در هر بار تزریق ۲۰۰ میکرولیتر از محلول موردنظر به موش های صحرائی تزریق شد. سایر دوزها به همین ترتیب تهیه و مورد استفاده قرار گرفت.

تزریق داخل صفاقی در قسمت چپ و پایین شکم موش های صحرائی انجام می شود. تزریق به وسیله سرنگ های مخصوص تزریق انسولین استریلیزه انجام شد. به گروه کنترل فقط حلال DMSO داده شد. تمام این تزریقات در چهار روز متوالی به



۶- یک پلیت ۹۶ تایی تهیه کرده، آزمایش را در دو نسخه (A) و (B) آماده میکنیم. ۱۰ میکرولیتر از هر استاندارد GDH را به هر چاهک از پلیت اضافه می‌کنیم.

آماده سازی نمونه ها:

۱- بافت را در بافر هنکس هموژنیزه کردیم. برای حذف مواد نامحلول نمونه ها در ۱۳۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی گراد سانتریفیوژ شدند. بخش محلول به طور مستقیم مورد سنجش قرار گرفت.

۲- ۱۰ میکرولیتر از نمونه را به چاهک های پلیت ۹۶ تایی تخت اضافه کردیم.

آماده سازی معرف و اندازه گیری:

۱- برای تهیه معرف کار، هر چاهک از واکنش باید حاوی مخلوطی از ۶۰ میکرولیتر بافر، ۱۰ میکرولیتر محلول گلو تامات، ۴ میکرولیتر NAD و ۱۶ میکرولیتر Substrate Mix باشد.

۲- ۹۰ میکرولیتر از مخلوط معرف را به هر چاهک از پلیت ۹۶ تایی حاوی استاندارد GDH، نمونه، و بلانک اضافه کردیم. پلیت به مدت ۲۰ دقیقه در دمای اتاق در تاریکی انکوبه شد.

۳- پلیت را در دستگاه قرار داده و جذب را در طول موج ۵۷۰ نانومتر خواندیم.

محاسبات: آنزیم در طول موج پانصد و هفتاد نانومتر بر اساس میزان کاهش جذب سنجیده شد.

میانگین طول موج ۵۷۰ نانومتر برای چاهک های استاندارد GDH، نمونه و بلانک اندازه گیری شد. و بر اساس تغییرات طول موج ۵۷۰ نانومتر کالیبره شده با استاندارد GDH، یک منحنی استاندارد به عنوان تابعی از غلظت استاندارد GDH رسم کردیم. معادله خط و مقدار R2 تعیین شد.

پودر MTT یک نمک تترازولیوم محلول در آب است. شدت رنگ محصول، که حداکثر جذب در طول موج ۵۷۰ نانومتر را نشان می‌دهد، متناسب با فعالیت گلو تامات دهیدروژناز در نمونه است. داده ها از سنجش استاندارد گلو تامات دهیدروژناز با غلظت های مختلف ۸- ۰/۲۵ واحد بر میلی لیتر یک رابطه خطی در طول موج ۵۷۰ نانومتر و فعالیت گلو تامات دهیدروژناز نشان می‌دهد.

آماده سازی استاندارد گلو تامات دهیدروژناز: براساس دستور العمل کیت اندازه گیری فعالیت آنزیم گلو تامات دهیدروژناز مراحل زیر را به ترتیب انجام دادیم:

۱- ۱ میکرولیتر از استاندارد GDH را به ۷۴ میکرولیتر از بافر برای تهیه ۷۵ میکرولیتر از محلول ۱۶ واحد بر میلی لیتر استاندارد GDH اضافه می‌کنیم.

۲- جهت رقیق سازی ۲۵ میکرولیتر بافر را به ۷ لوله آزمایش اضافه کرده و آنها از ۱ تا ۷ شماره گذاری می‌کنیم.

۳- ۲۵ میکرولیتر از گلو تامات دهیدروژناز ۱۶ واحد بر میلی لیتر را به لوله ۱ اضافه کرده و خوب مخلوط می‌کنیم. محلول به دست آمده استاندارد GDH با غلظت ۸ واحد بر میلی لیتر است.

۴- ۲۵ میکرولیتر از استاندارد GDH ۸ واحد بر میلی لیتر را از لوله ۱ به لوله ۲ انتقال داده و خوب مخلوط می‌کنیم. محلول به دست آمده استاندارد GDH با غلظت ۴ واحد بر میلی لیتر است.

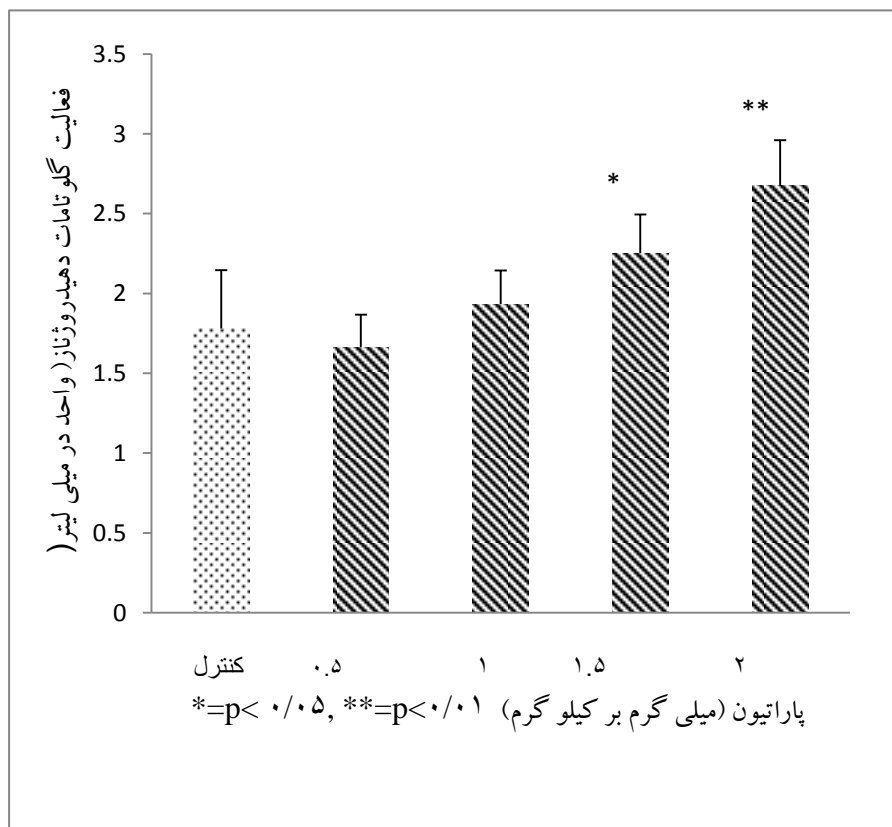
۵- مراحل را به همین ترتیب ادامه داده و استاندارد GDH را به همین شکل رقیق می‌کنیم. به لوله شماره ۷ چیزی اضافه نمی‌کنیم و به عنوان بلانک در نظر می‌گیریم.



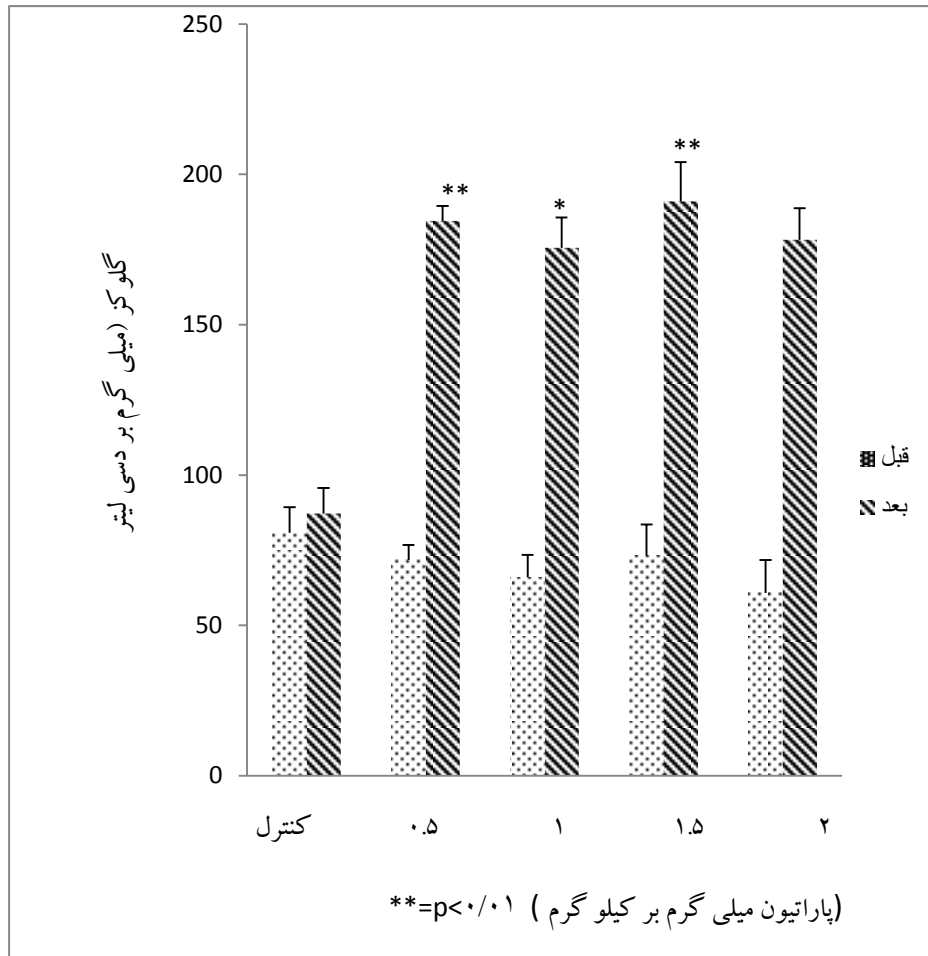
یافته ها

در این مطالعه تعداد ۳۵ موش به طور تصادفی به ۵ گروه ۷ تایی تقسیم شدند و سطح گلوکز سرم و فعالیت گلوتامات دهیدروژناز در آنها مورد بررسی قرار گرفت. اندازه گیری تغییرات در میزان گلوکز خون در معرض قرار گرفتن حیوانات با پاراتیون بمدت ۴ روز منجر به افزایش مقدار گلوکز خون در مقایسه با گروه شاهد گردید. با توجه به نتایج آنالیز آماری t زوجی اختلاف معنی داری برای گروه های مداخله قبل و بعد از تزریق سم پاراتیون دیده می شود ($p < 0/01$).

یک واحد آنزیم، مقدار آنزیمی است که برای اکسید شدن یک میکرومول از NADH در طی یک دقیقه در دمای بیست و پنج درجه سانتی گراد در $PH = 8/6$ لازم است. آنالیز آماری پس از تعیین میانگین و انحراف معیار داده ها، با نرم افزار اس پی اس اس نسخه ۲۲ آنالیز آماری واریانس یک طرفه و بدنبال آن دانت انجام گردید. مقادیر کمتر از ۰/۰۵ بعنوان سطح معنی دار بودن در نظر گرفته شد. تمامی آزمایشات و پروتوکل های انجام شده بر روی حیوانات، توسط جلسه کمیته اخلاق پزشکی دانشگاه علوم پزشکی یزد که در تاریخ ۱۳۹۷/۴/۳۱ به شماره ۱۷/۱/۹۲۴۶۶ پ تایید شد.



نمودار ۱: مقایسه میانگین قند خون موش های صحرائی قبل از در معرض قرارگیری با پاراتیون و بعد از آن بر حسب میلی گرم بر دسی لیتر



نمودار ۲: اثر پاراتیون (میلی گرم بر کیلوگرم) بر فعالیت گلو تامات دهیدروژناز در موش صحرایی

بحث و نتیجه گیری

شده است. درک کلی از این داده ها این است که پاراتیون اثرات منفی روی ترشح انسولین از جزایر لانگرهانس دارد که از یافته های قبلی درمورد توانایی آن در ایجاد هایپرگلاسمی حمایت می کند (۹). البته تحریک فعالیت GDH با توجه به یافته های اخیر درمورد مالاتیون قابل انتظار بود (۱۰). افزایش فعالیت GDH واکنشی به فعالیت های خارج از پانکراس پاراتیون به نظر میرسد. به خصوص فعالیت هایی که در کبد و عضلات در واکنش به انتشار گلوکز به جریان خون القا شده اند (۱۶-۱۵). گلو تامات دهیدروژناز آنزیمی است که قادر به تولید

نتایج مطالعه اخیر نشان می دهد پاراتیون فعالیت گلو تامات دهیدروژناز را تحریک می کند. بر اساس مطالعات قبلی تجزیه پروانسولین در سلول های بتا منجر به تولید انسولین و پپتید C می شود. انسولین و پپتید C در اندازه های برابر به خون ترشح می شوند. با توجه به داده های مطالعه ما، این بدان معنا است که پروانسولین به پپتید C و انسولین غیر عملکردی تجزیه شده است. بنابراین تحریک GDH ناشی از پاراتیون، قادر به آزادسازی و تجزیه پروانسولین بود اما انسولین غیر عملکردی و ناپایدار تولید



گلوتامات دهیدروژناز بر ترشح انسولین در موش های ترانس ژنیک را مورد بررسی قرار دادند و بیان کردند که افزایش آزادسازی انسولین بوسیله موتاسیون گلوتامات دهیدروژناز یا لوسین موجب افزایش دآمیناسیون اکسیداتیو نیز می شود. در پانکراس این موش ها در معرض قرار گرفتن سلول های این ناحیه با گلوتامین موجب افزایش ترشح انسولین می شود. افزایش فعالیت گلوتامات دهیدروژناز موجب افزایش اکسیداسیون گلوتامات میشود که متعاقبا باعث افزایش آزادسازی انسولین از طریق بستن کانالهای پتاسیمی وابسته به ATP می شود (۲۲).

پیشنهادات: پیشنهاد می شود اثرات پاراتیون بر بیان ژنی انسولین و یا c-peptide در موش صحرایی مورد بررسی قرار گیرد. در ارتباط با محدودیت پژوهش، جز طولانی شدن زمان انتظار رسیدن مواد مورد آزمایش محدودیتی وجود نداشت.

تضاد منافع

هیچ گونه تضاد منافی بین نویسندگان این مقاله وجود ندارد.

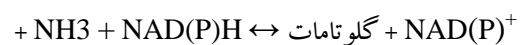
تشکر و قدردانی

بدینوسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد به پاس حمایت مالی از این طرح تشکر و قدر دانی می شود.

References

- 1-Grandjean P, Landrigan PJ. Neurobehavioural effects of developmental toxicity. *Lancet Neurol*.2014;13(3):330-8.
- 2-Rezg R, Mornagui B, El-Fazaa S, Gharbi N. Organophosphorus pesticides as food chain contaminants and type 2 diabetes: a review. *Trends in Food Science & Technology*.2010;21(7):345-57.
- 3-Panda S, Nanda R, Mangaraj M, Rathod PK, Mishra PK. Glycemic Status in Organophosphorus Poisoning. *J Nepal Health Res Counc*.2015;13(31):214-9.

گلوتامات از آلفاکتوگلو تارات، یک ماده حد واسط چرخه کربس است. فعال شدن مسیرهای میتوکندریایی موجب فعال و آزاد شدن گلوتامات می شود که احتمالا از طریق نفوذپذیری کلسیم سیتوزولی انجام می شود. در میتوکندری آنزیم گلوتامات دهیدروژناز که به صورت آلوستریك توسط لوسین، پیریدین، آدنین و گوانین تنظیم می شود واکنش زیر را کاتالیز می کند (۱۷-۱۸):



آلفاکتوگلو تارات

در سلول های بتا اهمیت آنزیم GDH به عنوان آنزیم کلیدی در کنترل ترشح انسولین مدت ها قبل شناخته شده است (۱۹). همچنین نتیجه مهار فعالیت این آنزیم در کاهش ترشح انسولین مشاهده شده است (۲۰). افزایش بیان گلوتامات دهیدروژناز به همراه گلوکز موجب افزایش ترشح انسولین می شود. به علاوه سطوح بالای گلوکز و گلوتامات دهیدروژناز نیز موجب افزایش ترشح انسولین از پانکراس موش می شود که این خود نشان دهنده اهمیت آنزیم گلوتامات دهیدروژناز است. اثرات بیان بیش از حد گلوتامات دهیدروژناز موجب بروز فاز دوم ترشح انسولین می شود (۲۱). در تحقیقی اثرات جهش در آنزیم



- 4-Rezg R, Mornagui B, Kamoun A, El-Fazaa S, Gharbi N. Effect of subchronic exposure to malathion on metabolic parameters in the rat. *C R Biol.* 2007;330(2):143-7.
- 5-Hagar HH, Azza H, Fahmy A. Biochemical, histochemical, and ultrastructural evaluation of the effect of dimethoate intoxication on rat pancreas. *Toxicol Lett.* 2002;133(2-3):161-70.
- 6-Seifert J. Toxicologic significance of the hyperglycemia caused by organophosphorous insecticides. *Bull Environ Contam Toxicol.* 2001;67(4):463-9.
- 7-Shobha TR, Prakash O. Glycosuria in organophosphate and carbamate poisoning. *J Assoc Physicians India.* 2000;48(12):1197-9.
- 8-Rahimi R, Abdollahi M. A review on the mechanisms involved in hyperglycemia induced by organophosphorus pesticides. *Pesticide Biochemistry and Physiology.* 2007;88(2):115-21.
- 9-Panahi P, Vosough-Ghanbari S, Pournourmohammadi S, Ostad SN, Nikfar S, Minaie B, et al. Stimulatory effects of malathion on the key enzymes activities of insulin secretion in langerhans islets, glutamate dehydrogenase and glucokinase. *Toxicol Mech Methods.* 2006;16(4):161-7.
- 10-Jabbar A, Khawaja SA, Iqbal A, Malik SA. Effect of malathion and methyl-parathion on rat liver enzymes. *J Pak Med Assoc.* 1990;40(4):85-9.
- 11-Pournourmohammadi S, Ostad SN, Azizi E, Ghahremani MH, Farzami B, Minaie B, et al. Induction of insulin resistance by malathion: Evidence for disrupted islets cells metabolism and mitochondrial dysfunction. *Pesticide Biochemistry and Physiology.* 2007;88(3):346-52.
- 12-Pournourmohammadi S, Farzami B, Ostad SN, Azizi E, Abdollahi M. Effects of malathion subchronic exposure on rat skeletal muscle glucose metabolism. *Environ Toxicol Pharmacol.* 2005;19(1):191-6.
- 13-Shaikh J, Karanth S, Chakraborty D, Pruet S, Pope CN. Effects of daily stress or repeated paraoxon exposures on subacute pyridostigmine toxicity in rats. *Arch Toxicol.* 2003;77(10):576-83.
- 14-Nath BS, Suresh A, Varma BM, Kumar RP. Changes in protein metabolism in hemolymph and fat body of the silkworm, *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae) in response to organophosphorus insecticides toxicity. *Ecotoxicol Environ Saf.* 1997;36(2):169-73.
- 15-Amirkabirian N, Teimouri F, Esmaily H, Mohammadirad A, Aliahmadi A, Abdollahi M. Protection by pentoxifylline of diazinon-induced toxic stress in rat liver and muscle. *Toxicol Mech Methods.* 2007;17(4):215-21.
- 16-Teimouri F, Amirkabirian N, Esmaily H, Mohammadirad A, Aliahmadi A, Abdollahi M. Alteration of hepatic cells glucose metabolism as a non-cholinergic detoxication mechanism in counteracting diazinon-induced oxidative stress. *Hum Exp Toxicol.* 2006;25(12):697-703.



- 17-Anderson CM, Swanson RA. Astrocyte glutamate transport: review of properties, regulation, and physiological functions. 2000;32(1):1-14.
- 18-Nissim I. Newer aspects of glutamine/glutamate metabolism: the role of acute pH changes. *Am J Physiol* .1999;277(2,4): 493-7
- 19-Sener A, Conget I, Rasschaert J, Leclercq-Meyer VL, Villanueva-Peñacarrillo M, Valverde I, et al. Insulinotropic action of glutamic acid dimethyl ester *Endocrinology and Metabolism*.1994 267(4) 573-84.
- 20-Bryla J, Michalik M, Nelson J, Erecińska M. Regulation of the glutamate dehydrogenase activity in rat islets of Langerhans and its consequence on insulin release. *Metabolism*.1994;43(9):1187-95.
- 21-Carobbio S, Ishihara H, Fernandez-Pascual S, Bartley C, Martin-Del-Rio R, Maechler P. Insulin secretion profiles are modified by overexpression of glutamate dehydrogenase in pancreatic islets. *Diabetologia*. 2004;47(2):266-76.
- 22-Li C, Matter A, Kelly A, Petty TJ, Najafi H, MacMullen C, et al. Effects of a GTP-insensitive Mutation of Glutamate Dehydrogenase on Insulin Secretion in Transgenic Mice. *Journal of Biological Chemistry* .2006;281(22):15064-72.