ORIGINAL ARTICLE

The Protective Effects of Quercetin on Paraquat-Induced Ovarian Toxicity in Female Wistar Rats

Parisa Saberi-Hasanabadi[1]
Alireza Naeeji[2]
Hamidreza Mohammadi[3]

[1] PhD in Toxicology and Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Student Research Committee, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[2] Doctor of Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Student Research Committee, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[3] Professor, Pharmaceutical Sciences Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received February 17, 2024; Accepted June 23, 2024)

Abstract

Background and purpose: Paraquat is one of the chemical herbicides with high toxicity. In case of incorrect consumption, this chemical causes fatal poisoning in people, especially those active in the field of agriculture. Nowadays, using compounds of natural origin to improve or reduce the harmful effects of agricultural pesticides is one of the important issues that has attracted the attention of researchers in this field. Quercetin as a natural flavonoid is found in large quantities in fruits and vegetables. As a kind of natural antioxidant, this compound has great power in removing free radicals. The purpose of this research was to evaluate the protective effects of quercetin on ovarian toxicity caused by paraquat in rats.

Materials and methods: To conduct this experimental research, 30 adult Wistar rats with an average age of 6 to 8 months and a weight range of 160 to 180 gr were randomly divided into 5 experimental groups including 6 rats in each group. Paraquat (1.25 mg/kg, intraperitoneally) was injected into mice. Then quercetin was injected intraperitoneally in concentrations of 50, 100, and 200 mg/kg. The negative control group received only normal saline. After 24 hours, the animals were sacrificed and their ovaries were evaluated for changes in oxidative stress indices.

Results: The results showed that paraquat significantly increased the reactive oxygen species (ROS), protein carbonyl, and lipid peroxidation, and significantly decreased glutathione content and survival of ovarian tissue cells when compared with the control group ($P<0.001$). The results showed that different concentrations of quercetin could inhibit the lipid peroxidation reaction caused by paraquat toxicity, and the positive control group had a statistically significant difference compared to the negative control group ($P<0.001$). By administering quercetin in different concentrations, we saw a decrease in the production of lipid peroxidation. From a statistical point of view, quercetin at the concentration (mg/kg) of 50 had a significant difference with the positive control group ($P<0.01$) and this significant difference was also evident at the concentrations of (mg/kg) 100 and 200 ($P<0.0001$). Increasing the concentration of quercetin was associated with improved performance in inhibiting paraquat toxicity.

Conclusion: Results showed that quercetin can be useful as an effective antioxidant combination in improving oxidative stress indicators and ovarian tissue of mice. Quercetin can reduce paraquat-induced oxidative damage in rat ovarian tissues in a dose-dependent manner. Quercetin can potentially be used to control ovarian toxicity, modulate or inhibit oxidative factors, strengthen the immune system, and strengthen the antioxidant system in animal models. Probably, it can be used as a kind of safe supplement in combination with other drugs affecting the immune system. However, this hypothesis along with the effect of other drug interactions should be confirmed using appropriate *in vivo* studies. Understanding the process of cell death caused by paraquat and the inhibitory effect of natural antioxidants on it provides a new road map for future studies to develop new therapeutic strategies.

Keywords: Paraquat, Quercetin, toxicity, ovary, Oxidative stress indexes

J Mazandaran Univ Med Sci 2024; 34 (234): 22-33 (Persian).

Corresponding Author: Hamidreza Mohammadi - Pharmaceutical Sciences Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran. (E-mail: hmohammadi@farabi.tums.ac.ir)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-06-25]

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره سی و چهارم شماره ۲۳۴ تیر سال ۱۴۰۳ (۳۳-۲۲)

بررسی اثرات محافظتی کوئرستین بر سمیّت تخمدان ناشی از پاراکوآت در موش‌های صحرایی نژاد ویستار

پریسا صابری حسن آبادی[۱]
علیرضا نائیجی[۲]
حمیدرضا محمدی[۳]

چکیده

سابقه و هدف: پاراکوات ازجمله علف‌کش‌های شیمیایی بوده‌که سمیّت بالایی داشته و درصورت مصرف نادرست یا عدم آگاهی در نحوهٔ استفاده باعث مسمومیت‌کشنده در افراد در معرض این سم، به ویژه فعالان در حوزهٔ کشاورزی می‌شود. امروزه استفاده از ترکیباتی با منشأ طبیعی به منظور بهبود و یا کاهش اثرات مخرب سموم کشاورزی ازمسائل مهمی به‌شمار می‌رود که توجهٔ محققان را در این حوزه به خود جلب نموده است. کوئرستین به‌عنوان فلاونوئیدی طبیعی به مقدار زیاد در میوه‌ها و سبزیجات یافت می‌شود. این ترکیب به‌عنوان نوعی آنتی اکسیدان طبیعی از قدرت زیادی در حذف رادیکال‌های آزاد برخوردار است. مطالعه حاضر، با هدف ارزیابی اثرات محافظتی کوئرستین بر سمیّت تخمدان ناشی از پاراکوآت در موش‌های صحرایی، انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها: جهت انجام این پژوهش تجربی، ۳۰ موش بالغ صحرایی نژاد ویستار با میانگین سنی ۶ تا ۸ ماه و با محدودهٔ وزنی ۱۶۰ تا ۱۸۰ گرم به طور تصادفی به ۵ گروه آزمایشی شامل ۶ عدد موش در هر گروه تقسیم شدند. گروه کنترل مثبت فقط سم پاراکوآت (به میزان ۱/۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و گروه کنترل منفی نرمال سالین دریافت کردند. کوئرستین در دوزهای مختلف (۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) به صورت داخل صفاقی به حیوانات دچار سمیّت حاد تزریق شد. بعد از ۲۴ ساعت، حیوانات قربانی شده و تخمدان آن‌ها بیرون آورده شد. پس از شستشو، مراحل تعیین شاخص‌های استرس اکسیداتیو در گروه‌ها صورت گرفت.

یافته‌ها: موش‌های تحت تیمار با تمامی غلظت های کوئرستین شامل ۵۰ (P<۰/۰۱)، ۱۰۰ (P<۰/۰۰۱) و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (P<۰/۰۰۰۱) اختلاف معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل مثبت داشتند. با افزایش غلظت کوئرستین، بهبود عملکرد مهار سمیّت پاراکوات در این دسته از حیوانات مشاهده گردید. نتایج نشان داد که غلظت‌های مختلف کوئرستین توانایی مهار واکنش پراکسیداسیون لیپیدی ناشی از سمیّت پاراکوات را داشته و گروه کنترل مثبت از لحاظ آماری در مقایسه با گروه کنترل منفی دارای اختلاف معنی‌دار بود (P<۰/۰۰۱). با تجویز کوئرستین در غلظت‌های مختلف، کاهش تولید لیپید پراکسیداسیون مشاهده شد. از لحاظ آماری، کوئرستین در غلظت (mg/kg) ۵۰ دارای اختلاف معنی‌داری با گروه کنترل مثبت بود (P<۰/۰۱) و در غلظت‌های (mg/kg) ۱۰۰ و ۲۰۰ نیز این اختلاف معنی‌داری مشهود بود (P<۰/۰۰۰۱). در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از کوئرستین، بیش‌ترین اثرگذاری در کاهش تولید لیپید پراکسیداسیون مشاهده گردید.

استنتاج: نتایج به‌دست آمده از پژوهش حاضر نشان داد که کوئرستین می‌تواند به‌عنوان ترکیبی مؤثر و آنتی‌اکسیدانی مفید در بهبود شاخص‌های استرس اکسیداتیو و بافت تخمدان موش مفید واقع شود. کوئرستین به‌صورت وابسته به دوز می‌تواند آسیب اکسیداتیو ناشی از پاراکوآت را در بافت‌های تخمدان موش کاهش دهد. کوئرستین به‌طور بالقوه می‌تواند جهت کنترل سمیّت تخمدان، تعدیل و یا مهار عوامل اکسیداتیو، تقویت سیستم ایمنی و تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی در مدل‌های حیوانی استفاده شود. احتمالاً می‌توان از آن به‌عنوان نوعی مکمل بی‌خطر در ترکیب با سایر داروهای تأثیرگذار بر سیستم ایمنی استفاده کرد. با این حال، این فرضیه همراه با اثر سایر تداخلات دارویی باید با استفاده از مطالعات *in vivo* مناسبی تأیید شود. درک فرآیند مرگ سلولی ناشی از پاراکوآت و اثر مهارکنندگی آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی بر آن، نقشهٔ راه جدیدی را برای مطالعات آتی به منظور توسعهٔ استراتژی‌های درمانی جدید ارائه می‌کند.

واژه‌های کلیدی: پاراکوآت، کوئرستین، سمیّت، تخمدان، شاخص‌های استرس اکسیداتیو

مولف مسئول: حمیدرضا محمدی- ساری: کیلومتر ۱۷ جاده فرح آباد، مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم، دانشکده داروسازی E-mail: hmohammadi@farabi.tums.ac.ir
۱. دکتری تخصصی سم شناسی، دانشکدهٔ داروسازی، کمیتهٔ تحقیقات و فناوری، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۲. دکتر داروساز، دانشکدهٔ داروسازی، کمیتهٔ تحقیقات و فناوری، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۳. استاد، مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
تاریخ دریافت : ۱۴۰۲/۱۱/۲۸ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۱۴۰۳/۱/۱۸ تاریخ تصویب : ۱۴۰۳/۴/۳

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-06-25]

مقدمه

مسمومیت با علف‌کش‌ها و دیگر ترکیبات شیمیایی مورد استفاده در حوزهٔ کشاورزی به‌عنوان یکی از مشکلات بزرگ سیستم سلامت در سطح جهان مطرح است. سالیانه در حدود ۲ میلیون مسمومیت منجر به بستری و ۲۰۰۰۰ مرگ در اثر استفادهٔ ناآگاهانه از سموم کشاورزی گزارش می‌شود(۱). دسته‌ای از علف‌کش‌ها مثل پاراکوآت (با نام تجاری گراماکسون) و فرمول شیمیایی ۱، ۱-دی متیل-۴-۴-بای پیریدیلیوم دی کلرید با مکانیسم تأخیری مبتنی بر چرخهٔ ردوکس و ایجاد استرس اکسیداتیو درون سلولی موجب بروز سمیّت مرگبار در انسان و حیوانات می‌شوند. مسیر اصلی ورود این سم به بدن از طریق دهان و دستگاه گوارش به صورت عمدی و یا تصادفی است. هر چند که آلودگی به این سم از طریق پوست و مجاری تنفسی هم به دفعات گزارش شده است. جذب پاراکوآت از طریق دستگاه گوارش ظرف ۲ ساعت پس از هضم اتفاق می‌افتد(۲). مکانیسم کامل سمیّت سلولی پاراکوات مبهم است. این احتمال مطرح است که پاراکوآت نوعی محرک قوی در شکل‌گیری آنیون‌های سوپراکسید باشد. این رادیکال‌ها به‌شدت سمّی بوده و به سهولت با درشت مولکول‌های زیستی بدن جانداران ترکیب شده و منجر به آسیب شدید به ارگان‌های مختلف می‌شود. عملکرد سیستم ایمنی می‌تواند توسط مواد شیمیایی مختلفی چون آفت‌کش‌ها مختل شود(۳). مطالعات تجربی بسیاری به ارزیابی اثرت سمّی پاراکوات و نارسایی در عملکرد ارگان‌هایی چون کبد، کلیه، ریه و سیستم اعصاب مرکزی پرداخته‌اند. مطالعات قبلی هم‌چنین نشان داده که میتوکندری مهم ترین بافت هدف سمیّت پاراکوآت در سلول بوده و این سم از طریق آسیب به میتوکندری باعث تشدید استرس اکسیداتیو و شروع مسیر مرگ سلولی شود(۶-۴). در یک مطالعه، Sun و همکاران (۲۰۲۱) اظهار داشتند که پاراکوآت باعث کاهش قدرت باروری موش ماده بواسطهٔ اختلال در بلوغ تخمک در طی ۲۱ روز پس از مواجهه با این سم شد. مواجهه با سم پاراکوآت سبب اختلال در عملکرد میتوکندری و افزایش سطح گونه‌های اکسیژن فعال و آپوپتوز اولیه شد. در نتیجه، این محققین کاهش رشد اولیهٔ جنین را در موش‌های مورد مطالعه گزارش کردند(۷). امروزه استفاده از ترکیباتی با منشأ طبیعی به منظور بهبود و یا کاهش اثرات مخرب سموم کشاورزی از مسائل مهمی بشمار می‌رود که توجهٔ محققان را در این حوزه به خود جلب نموده است. کوئرستین به‌عنوان فلاونوئیدی طبیعی به مقدار زیاد در میوه‌ها و سبزیجات یافت می‌شود. این ترکیب به‌عنوان نوعی آنتی‌اکسیدان طبیعی از قدرت زیادی در حذف رادیکال‌های آزاد برخوردار است(۸). در یک مطالعه، Saberi-Hasanabadi و همکاران(۲۰۲۴)، به ارزیابی اثرمحافظتی کوئرستین در برابر اختلال میتوکندری مغز ناشی از مواجهه با سم پاراکوآت در موش پرداختند. نتایج آن‌ها نشان داد که کوئرستین به روشی وابسته به دوز دارای اثرات محافظت کنندهٔ عصبی است. سازوکار احتمالی اثر پاراکوآت در این مطالعه به وجود شکل گیری و تقویت اثر تخریبی رادیکال‌های آزاد در مقابل مکانیسم‌های آنتی‌اکسیدانی موجود در میتوکندری مغز مرتبط دانسته شد. به نظر می‌رسد که کوئرستین می‌تواند اکسیداسیون پروتئین و چربی را تعدیل کند و آسیب اکسیداتیو ناشی از پاراکوات را در مراحل اولیه بهبود ببخشد(۹). در یک مطالعه، Sun و همکاران (۲۰۲۱) اظهار داشتند که پاراکوات با اختلال در بلوغ تخمک موجب کاهش باروری در موش‌های ماده می‌شود. در این مطالعه، قرارگیری در معرض پاراکوآت توزیع میتوکندری را مختل کرده و سطح گونه‌های اکسیژن فعال و آپوپتوز اولیه را افزایش داد که در نتیجه منجر به اختلال در رشد اولیه جنین شد. هم‌چنین، تجویز پاراکوآت توانست تغییراتی در روند اپی‌ژنتیکی مانند سطح H3K9me2 و H3K27me3 ایجاد کند. بنابراین، تجویز پاراکوآت با آسیب رساندن به بلوغ هسته‌ای و سیتوپلاسمی تخمک‌ها در موش، باروری جنس ماده را کاهش می‌دهد(۷). در

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-06-25]

مطالعهٔ دیگر، Feng و همکاران در سال (۲۰۲۳) اظهار داشتند که سولفورافان آسیب اکسیداتیو ناشی از پاراکوات را در تخمک‌های بالغ گاو از طریق مسیر انتقال Nrf2 سرکوب می‌کند. مکانیسم‌های اساسی نقش سولفورافان در برابر آسیب ناشی از پاراکوات شامل مهار پروتئین TXNIP و بازیابی سطح جهانی O-GlcNAc بود. در مجموع، این یافته‌ها شواهد جدیدی را برای نقش محافظتی سولفورافان در کاهش آسیب ناشی از پاراکوات ارائه می‌کنند و نشان می‌دهند که کاربرد سولفورافان ممکن است یک استراتژی مداخله موثر در برابر سمیت سلولی پاراکوات باشد(۱۰). باتوجه به خواص متنوع دارویی و آنتی اکسیدانی کوئرستین، این مطالعه با هدف ارزیابی اثرات محافظتی کوئرستین بر سمّیت تخمدان ناشی از مواجهه با پاراکوآت در موش‌های صحرایی انجام شد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعهٔ تجربی، از کوئرستین (تهیه شده از پایا شیمی)، پاراکوآت (تهیه شده از شیمی کشاورز)، نرمال سالین، سوکسینات سدیم، اتیلن دی آمین تتراستیک اسید، دی سدیم هیدروژن فسفات، مانیتول و معرف (MTT) استفاده شد. سایر معرف‌ها و ترکیبات شیمیایی مورد استفاده هم دارای درجهٔ آزمایشگاهی و از شرکت مرک (آلمان) تهیه شدند.

حیوانات آزمایشگاهی

جهت ارزیابی اثر محافظتی کوئرستین بر تخمدان موش‌های دچار سمّیت حاد ناشی از مواجهه با علف‌کش پاراکوآت، ابتدا حیوانات با سم پاراکوآت (۱/۲۵ mg/kg, ip) دچار مسمومیت حاد گردیده و سپس کوئرستین در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تجویز گردید. مقادیر تجویزشده از سم پاراکوآت و کوئرستین برگرفته از مطالعات قبلی بود(۸،۹،۱۱). بعد از ۲۴ ساعت حیوانات قربانی شده، تخمدان آن‌ها بیرون آورده شد و پس از شستشو مراحل تعیین میزان استرس اکسیداتیو در گروه‌ها تعیین گردید. حیوانات موردآزمایش به ۵ گروه و هر گروه شامل ۶ موش تقسیم شد.گروه‌ها شامل،گروه کنترل (نرمال سالین)، گروه پاراکوات (۱/۲۵ mg/kg, ip)، گروه پاراکوات+ کوئرستین (۵۰ mg/kg, ip)، گروه پاراکوات+ کوئرستین (۱۰۰ mg/kg, ip) و گروه پاراکوات به کوئرستین (۲۰۰ mg/kg, ip)، بوده است.

سنجش شاخص‌های استرس اکسیداتیو

جداسازی میتوکندری از بافت تخمدان

تخمدان جدا شده را در بافر خنک مانیتول شسته و به‌وسیلهٔ قیچی به تکه‌های ریزی تقسیم گردید. سپس، تکه‌های بافت تخمدان را به یک بشر حاوی ۲۰ میلی‌لیتر بافر خنک شدهٔ تریس منتقل کرده و لوله‌های حاوی تخمدان هموژنه را در دور ۷۰۰ و دمای ۴ درجهٔ سانتی گراد به‌مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. محلول‌رویی را دور ریخته و ۵ میلی لیتر از بافر تریس به رسوبات اضافه کرده و با سمپلر منتقل شد. مخلوط به دست آمده حاوی میتوکندری‌های ایزولهٔ تخمدان است که جهت آزمون‌های مورد نظر آماده شد (هر بار ۲۰۰ میکرولیتر از مخلوط میتوکندری جهت سنجش شاخص‌های استرس اکسیداتیو برداشته شد) (۱۲).

تست سمّیت سلولی (میزان زنده مانی سلول (MTT)

یک میلی‌لیتر از مخلوط میتوکندری‌های ایزوله شده را در دمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد با افزودن محلول MTT زرد رنگ (۰/۲ میلی‌گرم/میلی‌لیتر) به محیط به مدت ۱ ساعت انکوبه گردید. پس از اتمام سانتریفیوژ، محلول رویی را دور ریخته و بافرتریس به لوله‌ها اضافه شد و دوباره با شرایط قبل سانتریفوژ گردید و در پایان به بلورهای بنفش رنگ فورمازان، دی متیل سولفوکسید اضافه و نمونه را تکان داده تا خوب حل شود. ۱۰۰ میکرولیتر از محلول بنفش رنگ را به چاهک‌های پلیت

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-06-25]

۹۶ خانه منتقل گردید و جذب محلول با استفاده از پلیت ریدر در ۵۸۷ نانومتر سنجش شد(۱۲).

سنجش پراکسیداسیون لیپیدی

این شاخص بر پایهٔ روش تیوبابیتوریک اسید اندازه‌گیری شد. به‌طور خلاصه، به ۰/۲ میلی‌لیتر از سوسپانسیون بافتی، ۰/۱ میلی‌لیتر از معرف تیوباربیتوریک اسید حاوی اسید کلریدریک ۰/۵ نرمال، تری کلرواستیک اسید ۱۵ درصد و تیوباربیتوریک اسید ۰/۳ درصد اضافه شد و به خوبی مخلوط و در حمام آب گرم به مدت ۳۰ دقیقه انکوبه گردید. بعد از سرد شدن، به این محلول ۰/۲ میلی‌لیتر از n- بوتانل اضافه کرده و خوب تکان داده شد. سپس، محلول را در دور ۳۵۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ کرده تا لایهٔ n- بوتانل جهت سنجش در طول موج ۵۳۲ نانومتر جدا شده و مقدار ترکیبات واکنش دهنده با تیوباربیتوریک اسید از روی منحنی استاندارد محاسبه گردید(۱۳).

سنجش گلوتاتیون

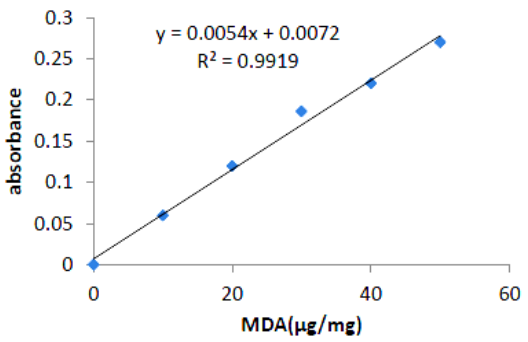
یک میلی‌لیتر از بافت همگنی از تخمدان را برداشته و به آن ۰/۲۵ میلی‌لیتر تری کلرواستیک اسید ۲۰ درصد افزوده و بعد از ورتکس به مدت ۲۰ دقیقه در دور ۱۰۰۰ سانتریفوژ شد. یک میلی‌لیتر از محلول شفاف رویی را برداشته و به آن ۲ میلی‌لیتر دی سدیم هیدروژن فسفات ۰/۳ مولار و ۰/۳ میلی‌لیتر از معرف المان اضافه و ورتکس کرده و ۱۵ دقیقه انکوبه شد تا واکنش کامل شود. سپس، میزان جذب در طول موج ۴۱۲ نانومتر خوانده شد. غلظت گلوتاتیون از روی منحنی استاندارد گلوتاتیون برحسب نانومول بر میلی لیتر به دست آمد(۱۴).

سنجش میزان رادیکال‌های آزاد اکسیژن (ROS)

میزان ROS با استفاده از دی کلروفلورسین دی استات (DCFH-DA) اندازه‌گیری شد. بعد از تعیین پروتئین بافت، ۲۰ میکرولیتر از معرف DCFH-DA به ۲۰۰۰ میکرولیتر از نمونه اضافه شده و در ۴ درجهٔ سانتی‌گراد به‌مدت ۱۵ دقیقه نگهداری شد. سپس، شدت فلوروسانس با استفاده از روش فلورومتری و در دو طول موج تحریک ۴۸۵ و نشر ۵۲۵ نانومتر اندازه‌گیری شد(۱۵).

سنجش مالون دی آلدهید

از محلول ترامتوکسی پروپان، ۱۶۴ میکرولیتر برداشته و با اتانول ۴۰ درصد به حجم ۱۰۰ سی‌سی رسانده شد (محلول ذخیرهٔ)(۱). سپس، ۱ میلی‌لیتر از محلول ذخیرهٔ(۱) برداشته و با اتانول ۴۰ درصد به حجم ۱۰۰میلی‌لیتر رسانده شد (محلول ذخیرهٔ)(۲). غلظت این محلول برابر است با ۱۰۰ میکرومول بر لیتر که می‌توان غلظت‌های مختلف استاندارد را با استفاده از اتانول ۴۰ درصد از روی آن تهیه کرد. به ۰/۲ میلی‌لیتر از محلول استاندارد، ۰/۱ میلی‌لیتر از معرف تیوباربیتوریک اسید شامل اسید هیدروکلریک ۰/۵ نرمال، تری کلرواستیک اسید ۱۵ درصد و تیوباربیتوریک اسید ۰/۳ درصد اضافه شد و به خوبی مخلوط و در حمام آب گرم در دمای ۱۰۰ درجهٔ سانتی‌گراد به‌مدت ۳۰ دقیقه انکوبه گردید و بعد از سرد شدن به آن ۰/۲ میلی‌لیتر n-بوتانل اضافه وخوب تکان داده شد و سپس در دور ۳۵۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. لایهٔ n-بوتانل جهت سنجش در طول موج ۵۳۵ نانومتر جدا شده و میزان جذب آن در منحنی استاندارد رسم شد (نمودار شمار ۱)(۱۷،۱۶).



نمودار شماره ۱: منحنی استاندارد مالون دی آلدهید

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-06-25]

سنجش پروتئین کربونیل

میزان پروتئین کربونیل با استفاده از معرف (DNPH (۲،۴-دینیتروفنیل هیدرازین) اندازه‌گیری شد. بعد از تعیین پروتئین بافت، ۵۰۰ میکرولیتر از تری کلرواستیک اسید به ۲۵۰ میکروگرم از نمونه اضافه کرده و در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه نگهداری گردید. سپس، پروتئین‌های رسوب داده شده با دور ۶۵۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد و محلول رویی دور ریخته شد. رسوب زیرین کاملاً در ۵۰۰ میکرولیتر از هیدروکسید سدیم ۰/۱ مولار پراکنده شد و ۵۰۰ میکرولیتر از معرف DNPH (۱۰ میلی‌مولار) حل شده در اسید کلریدریک ۲ مولار به نمونه‌ها اضافه گردید. رسوب پروتئین نهایی در ۲۰۰ میکرولیتر از محلول گوانین هیدروکلراید ۶ مولار پراکنده شد. میزان پروتئین کربونیل در ۳۶۵ نانومتر و با استفاده از ضریب جذب مشخص ارزیابی شد(۱۸).

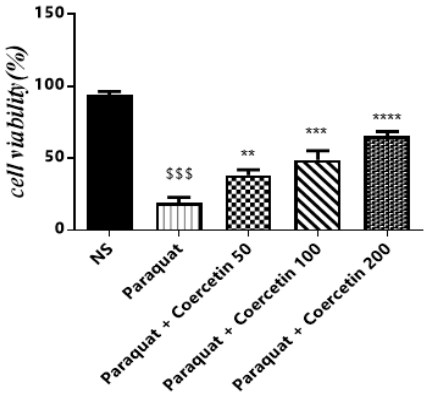
ارزیابی آماری

نتایج بر حسب میانگین ± انحراف معیار حاصل از سه تکرار گزارش شد. ارزیابی آماری با استفاده از نرم‌افزار Graphpad prism نسخهٔ (۶)، روش آنالیز واریانس یک طرفه و اختلاف معنادار آن با تست توکی در حد معنی‌داری (P<۰/۰۵) تعریف شد.

یافته‌ها

تست زنده مانی و سمّیت سلولی (MTT)

اساس تست MTT مبتنی بر ارزیابی فعالیت و سلامت میتوکندری و تعیین زنده مانی سلول است(۱۶). همان طورکه در نمودار شماره ۲ مشخص است، پاراکوآت در دوز آسیب زا باعث کاهش زنده مانی سلول‌های بافت تخمدان شد و این کاهش از لحاظ آماری در مقایسه با گروه کنترل مثبت (نرمال سالین) اختلاف معنی‌داری داشت (P<۰/۰۰۱). در بررسی اثر محافظتی کوئرستین مشاهده گردید که با افزایش غلظت کوئرستین، مهار سمّیت پاراکوات در بافت تخمدان بهبود یافت (غلظت‌های ۵۰ (P<۰/۰۱)، ۱۰۰ (P<۰/۰۰۱) و ۲۰۰ (P<۰/۰۰۰۱) میلی‌گرم برکیلوگرم از کوئرستین دارای اختلاف معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل مثبت بودند.



نمودار شماره ۲: سنجش میزان زنده مانی سلولی تحت تیمار با کوئرستین بر مهار سمّیت ناشی از پاراکوات،
$$$: دارای تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل منفی(نرمال سالین)(P<۰/۰۰۱)،
*: دارای تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل مثبت(P<۰/۰۵)،
**: دارای تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل مثبت(P<۰/۰۱)،
***: دارای تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل مثبت(P<۰/۰۰۱)،
****: دارای تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل مثبت (P<۰/۰۰۰۱)

سنجش گلوتاتیون

گلوتاتیون یکی از مهم‌ترین آنتی‌اکسیدان‌های دفاع غیر آنزیمی در میتوکندری است که نقش مهمی را در خنثی‌سازی گونه‌های فعال اکسیژن تولید شده در میتوکندری‌ها را بر عهده دارد(۱۷). با سمّیت ناشی از مواجهه با سم پاراکوآت در بافت تخمدان، ذخایر گلوتاتیون مصرف و این امر باعث کاهش میزان گلوتاتیون بافتی شد. این کاهش از لحاظ آماری در مقایسه با گروه کنترل دارای اختلاف معنی‌داری است. در گروه‌های تحت تیمار با کوئرستین، با افزایش غلظت کوئرستین، احیای گلوتاتیون، مشاهده گردید و این بدان معناست که کوئرستین از توان مناسبی در مهار سمّیت پاراکوات برخوردار است (نمودار شماره ۳). از لحاظ آماری، کوئرستین در غلظت (mg/kg) ۵۰ دارای اختلاف معنی‌داری با گروه کنترل مثبت است(P<۰/۰۱)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-06-25]

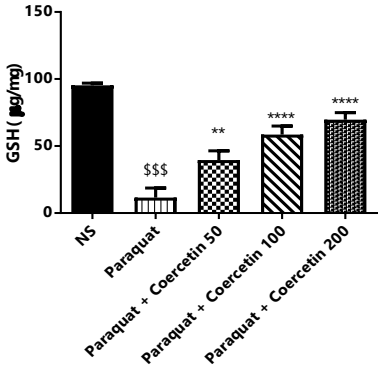
و در غلظت‌های (mg/kg) ۱۰۰ و ۲۰۰ نیز این اختلاف معنی‌داری مشهود بود (P<۰/۰۰۰۱).

سنجش رادیکال های آزاد اکسیژن

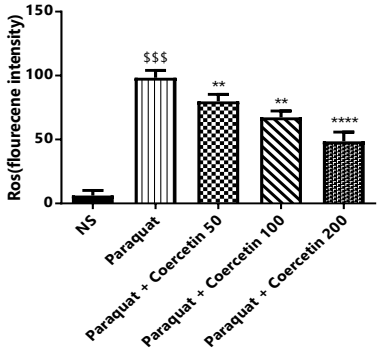
شدت تولید گونه‌های فعال اکسیژن در بافت تخمدان موش در مواجهه با پاراکوآت به شکل معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل منفی افزایش یافت (P<۰/۰۰۱). تجویز کوئرستین در غلظت‌های متفاوت از شدت تولید ROS کاست. افزودن کوئرستین در غلظت‌های ۵۰ (P<۰/۰۱)، ۱۰۰ (P<۰/۰۱) و ۲۰۰ (P<۰/۰۰۰۱) از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری با گروه کنترل مثبت داشت (نمودار شماره ۴).

سنجش مالون دی آلدهید

یکی از مهم‌ترین اثرات تخریبی رادیکال‌های آزاد، شروع پراکسیداسیون لیپیدها است که به تخریب غشاهای سلولی منجر می‌گردد. در این فرآیند، رادیکال‌های آزاد الکترون‌ها را از زنجیرهٔ هیدروکربنی غیر اشباع لیپیدها بیرون کشیده شد و باعث تخریب لیپید و تولید ترکیبات فعال گردید. این ترکیبات فعال (رادیکال‌های ایجاد شده) پس از تخریب باندهای کربنی، سبب تولید طیف وسیعی از ترکیباتی چون کتون‌ها، اترها و آلدئیدها می‌شوند. عمدهٔ آلدهید تولید شده در جریان این واکنش‌ها، مالون دی آلدهید است. مالون دی آلدهید، شاخص پراکسیداسیون لیپیدها محسوب می‌شود(۱۷،۱۶). نتایج نشان داد که غلظت‌های مختلف کوئرستین توانایی مهار واکنش پراکسیداسیون لیپیدی ناشی از سمّیت پاراکوات را داشته و گروه کنترل مثبت از لحاظ آماری در مقایسه با گروه کنترل منفی دارای اختلاف معنی‌دار بود (P<۰/۰۰۱). با تجویز کوئرستین در غلظت‌های مختلف، کاهش تولید لیپید پراکسیداسیون مشاهده گردید. در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم از کوئرستین، بیش‌ترین اثرگذاری در کاهش تولید لیپید پراکسیداسیون مشاهده شد (نمودار شماره ۵).



نمودار شماره۳: سنجش میزان گلوتایتون و اثرکوئرستین در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم بر مهار سمّیت ناشی از پاراکوات،
$$$: دارای تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل منفی(نرمال سالین)(P<۰/۰۰۱)،
*: دارای تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل مثبت(P<۰/۰۵)،
**: دارای تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل مثبت(P<۰/۰۱)،
***: دارای تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل مثبت(P<۰/۰۰۱)،
****: دارای تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل مثبت (P<۰/۰۰۰۱)



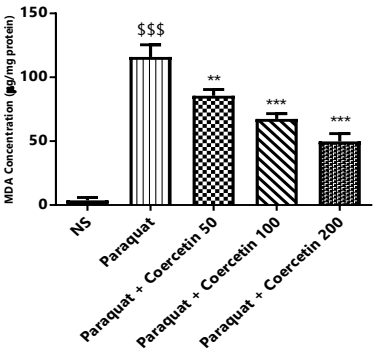
نمودار شماره۴: سنجیش میزان تولید ROS و اثرکوئرستین درغلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم بر مهار سمیت پارکوات،
$$$: دارای تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل منفی(نرمال سالین)(P<۰/۰۰۱)،
*: دارای تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل مثبت(P<۰/۰۵)،
**: دارای تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل مثبت(P<۰/۰۱)،
***: دارای تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل مثبت(P<۰/۰۰۱)،
****: دارای تفاوت معنی دار با گروه کنترل مثبت (P<۰/۰۰۰۱)

سنجش پروتئین کربونیل

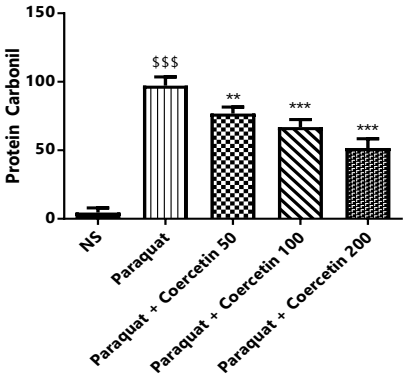
پروتئین کربونیل یکی ازمهم‌ترین زیست نشانگرهای اکسیداسیون پروتئین‌ها بوده و از نظر شیمیایی پایدار است. گروه‌های پروتئین کربونیل از طریق اکسیداسیون مستقیم اسیدهای آمینه یا در اثر واکنش ثانویه با محصولات اکسیداسیون اولیهٔ قندها و لیپیدها ایجاد

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-06-25]

می‌شوند(۱۸). با توجه به تصویر شماره ۶، با تجویز کوئرستین در غلظت‌های متفاوت، کاهش میزان آسیب وارده به پروتئین‌ها مشاهده گردید و با افزایش غلظت کوئرستین، شدت آسیب وارده کم‌تر شد. تجویز غلظت‌های ۵۰ (P<۰/۰۱)، ۱۰۰ و ۲۰۰ (P<۰/۰۰۱) از کوئرستین به موش‌ها منجر به اختلاف آماری معنی‌داری با گروه کنترل مثبت شد (نمودار شماره ۶).



تصویر شماره ۵: سنجش میزان پراکسیداسیون لیپیدی و اثر کوئرستین در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم در مهار سمیّت پاراکوات
$$$: دارای تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل منفی(نرمال سالین)(P<۰/۰۰۱)،
*: دارای تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل مثبت(P<۰/۰۵)،
**: دارای تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل مثبت(P<۰/۰۱)،
***: دارای تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل مثبت(P<۰/۰۰۱)،
****: دارای تفاوت معنی دار با گروه کنترل مثبت (P<۰/۰۰۰۱)



تصویر شماره ۶: میزان پروتئین کربونیل و اثر کوئرستین در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم در مهار سمیّت پاراکوات،
$$$: دارای تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل منفی(نرمال سالین)(P<۰/۰۰۱)،
*: دارای تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل مثبت(P<۰/۰۵)،
**: دارای تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل مثبت(P<۰/۰۱)،
***: دارای تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل مثبت(P<۰/۰۰۱)،
****: دارای تفاوت معنی دار با گروه کنترل مثبت (P<۰/۰۰۰۱)

بحث

سمومی مثل پاراکوات با افزایش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن سبب آسیب به میتوکندری، اختلال در عملکرد و خروج فاکتورهای پروآپوپتوتیک از آن می‌شود که منتهی به مرگ سلولی و در نهایت آسیب بافتی خواهد شد.

سیستم ایمنی نقش مهمی در حفظ سلامت انسان بر عهده دارد و تحت تأثیر اثرات سمی ترکیبات شیمیایی گسترده‌ای قرار می‌گیرد. فتوسیستم‌های گیاهی به مواد شیمیایی از جمله پاراکوآت حساس هستند. پاراکوآت به عنوان نوعی علف‌کش رایج در چین به‌عنوان «آبِ مرگ» شناخته می‌شود و آمار مسمومیت حاد در مواجهه با این ترکیب سمی به مرز هشدار رسیده است. از پاراکوآت هنوز هم در بسیاری از کشورها استفاده می‌شود که خطر قرارگیری و مواجهۀ تصادفی یا عمدی انسان با این سم را در بسیاری از گروه‌های هدف افزایش می‌دهد(۱۹،۱۱). با وجود فراوانی مطالعات مختلف *in vitro* و *in vivo*، مکانیسم دقیق عمل پاراکوآت کاملاً مشخص نیست(۲۱،۲۰). سمیّت حاد ایجاد شده در اثر مواجهه با پاراکوآت همراه با عوارضی چون اِدِم ریوی، آسیب کبدی، نارسایی اندام‌های متعدد در عرض چند ساعت تا چند روز ممکن است با مصرف حاد بیش از ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از این سم مرتبط باشد. بر این اساس، مراحل پایانی سمیّت سلولی مانند مرگ سلولی، استرس اکسیداتیو و پیامدهای آن، آسیب میتوکندری، لیزوزومی و بیان ژن مرتبط با آپوپتوز در لنفوسیت‌های محیطی پس از تیمار با پاراکوآت مورد ارزیابی قرار گرفت(۲۳،۲۲).

در مطالعۀ حاضر، موش‌های تحت تیمار با تمامی غلظت‌های کوئرستین شامل ۵۰ (P<۰/۰۱)، ۱۰۰ (P<۰/۰۰۱) و ۲۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم (P<۰/۰۰۰۱) اختلاف معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل مثبت داشتند. با افزایش غلظت کوئرستین، بهبود عملکرد مهار سمیّت پاراکوات در این دسته از حیوانات مشاهده گردید. نتایج به‌دست آمده از پژوهش حاضر نشان داد که کوئرستین

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-06-25]

می تواند به عنوان ترکیبی مؤثر و آنتی‌اکسیدانی مفید در بهبود شاخص‌های استرس اکسیداتیو و بافت تخمدان موش مفید واقع شود. در همین راستا و در یک مطالعه، Sabbagh و همکاران در سال (۲۰۱۶) به ارزیابی تغییرات هیستوپاتولوژیک جسم سیاه پس از مسمومیت با پاراکوآت در موش‌های صحرایی پرداختند. افزایش معنی‌دار تعداد نورون‌های تیره در جسم سیاه موش‌های صحرایی دچار مسمومیت با ۱۵ و ۲۵ میلی‌گرم/کیلوگرم از سم پاراکوآت مشاهده شد. یافته‌های آن‌ها حاکی از اثرات مضر پاراکوآت بر نورون‌های جسم سیاه بود. این پژوهشگران پیشنهاد کردند که سمیّت پاراکوآت به‌عنوان یک عامل خطر برای اختلالات عصبی مانند بیماری پارکینسون مطرح شود(۲۱). در مطالعهٔ دیگر، zohrabi و همکاران (۲۰۱۷)، اثر کوئرستین بر بافت تخمدان موش‌های صحرایی ماده از نژاد ویستار تحت تیمار با سیلوفسفامید را ارزیابی نمودند. هر دو دوز کوئرستین باعث افزایش تعداد فولیکول‌های ثانویه، افزایش قطر فولیول‌های اولیه، کاهش تعداد فولیکول‌های گراف آترتی، افزایش عروق خونی، افزایش توان زاد و ولد و شاخص‌های رشد آن‌ها به‌صورت معنی‌دار شد. کوئرستین در دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سبب افزایش معنادار قطر فولیکول‌های ثانویه در مقایسه با گروه دریافت‌کنندهٔ سیکلوفسفامید شد. آن‌ها نتیجه گرفتند که کوئرستین می‌تواند باعث کاهش عوارض داروی سیکلوفسفامید بر بافت تخمدان و بهبود شاخص‌های باروری شود(۲۴). هیچ مطالعه فراگیری به ارزیابی نقش محافظتی کوئرستین و مکانیسم آن در سمیّت تخمدان موش با پاراکوآت نپرداخته است. در مطالعهٔ حاضر، با افزایش غلظت کوئرستین، مهار سمیّت پاراکوات در بافت تخمدان بهبود یافت و از لحاظ آماری تمامی غلظت‌های کوئرستین، شامل غلظت‌های ۵۰ ($P<۰/۰۱$)، ۱۰۰ ($P<۰/۰۰۱$) و ۲۰۰mg/kg ($P<۰/۰۰۰۱$) دارای اختلاف معناداری در مقایسه با گروه کنترل مثبت بودند. تشدید این سمیّت همزمان با افزایش تشکیل ROS و پراکسیداسیون لیپیدی همراه بود. وقوع استرس اکسیداتیو ممکن است در تسهیل انتشار سمیّت و القای پراکسیداسیون لیپیدی و آسیب اندامک درون سلولی مؤثر باشد. مطالعات در مدل‌های حیوانی دچار مسمومیت با پاراکوآت، محققان را قادر ساخت تا برخی از مکانیسم‌های دخیل در آسیب بافتی را تعیین کنند. یکی از مهم‌ترین مکانیسم‌های مطرح شده برای سمّیت پاراکوآت، استرس اکسیداتیو است. پاراکوآت در بدن به رادیکال کاتیونی تبدیل می‌شود که از طریق ایجاد فرآیند احیای تک-الکترونی وابسته به NADPH منجر به تولید رادیکال‌های آزاد شده و این رادیکال‌های آزاد در برخورد با مولکول‌های اکسیژن، تولید آنیون‌های سوپراکسید می‌کنند. رادیکال‌های آزاد اکسیژن از یک‌سو سبب پراکسیداسیون لیپیدهای غیراشباع و از سویی دیگر موجب آسیب به میتوکندری و خروج فاکتورهای پروآپوتیک از آن می‌شوند که منجر به مرگ سلولی از طریق آپپتوز و درنهایت آسیب بافتی خواهد شد(۲۵،۲۲،۱۱).

آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی دارای خواص زیستی متعددی از جمله اثرات ضد سرطانی، محافظت از کبد، ضد التهابی و تعدیل‌کنندهٔ ایمنی هستند که این نتایج در کشت سلولی و حیوانی مشاهده شده است(۲۰،۱۹،۱۱). نتایج به‌دست‌آمده از مطالعهٔ حاضر نشان داد که کوئرستین می‌تواند آسیب اکسیداتیو ناشی از پاراکوات را در بافت تخمدان کاهش دهد. پاراکوات سطح ROS را افزایش داد و منجر به افزایش پراکسیداسیون لیپیدی و سطح پروتئین کربونیل در میتوکندری سلول‌های تخمدان شد. این در حالی است که کوئرستین از تشکیل ROS و پراکسیداسیون لیپیدی ناشی از پاراکوات جلوگیری کرده و متعاقباً سطوح MDA را کاهش داد. به علاوه، افزایش گلوتاتیون در بافت تخمدان ممکن است به منظور از بین بردن رادیکال‌های آزاد توسط کوئرستین پس از مسمومیت با پاراکوآت مفید واقع شود. چنین اثراتی می‌تواند ناشی از کاهش تشکیل رادیکال‌های آزاد با تجویز کوئرستین باشد. درمان مناسب مسمومیت با آنتی‌اکسیدان باید شامل محافظت درون و برون

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-06-25]

سلولی در برابر تجزیهٔ پراکسید هیدروژن، آنیون سوپراکسید، تولید رادیکال هیدروکسیل و پراکسیداسیون لیپیدی غشایی باشد(۱۱). در یک مطالعه، اثرات کوئرستین بر آسیب سلولی ناشی از پاراکوات با استفاده از ردهٔ سلولی سرطان دهانهٔ رحم انسانی (HeLa) در شرایط آزمایشگاهی بررسی شد. نتایج ارزیابی در برابر رادیکال‌های ضد DPPH نشان داد که کوئرستین قادر است تولید رادیکال‌های DPPH را در شرایط آزمایشگاهی مهار کند. فعالیت آنتی‌اکسیدانی و رادیکال آزاد در شرایط آزمایشگاهی نسبت به اسیداسکوربیک و N-استیل سیستئین برتری داشت. بر پایهٔ نتایج حاصل از روش MTT، انکوباسیون سلول‌های HeLa تحت تیمار با کوئرستین از این رده‌های سلولی در برابر سمیّت ناشی از پاراکوات محافظت کرد. نتایج این مطالعه ثابت کرد که کوئرستین در غلظت کم‌تر از ۱۰۰ میکرومولار اثر مهارکنندگی بر مرگ سلولی ناشی از پاراکوات نشان می‌دهد. اما، در غلظت‌های بیش از ۱۰۰ میکرومولار، اثرات محافظتی در برابر آسیب سلولی ناشی از پاراکوات به‌دلیل آپوپتوز کاهش یافت(۲۲). این نتایج مثبت درمانی در سایر مطالعات حاصل از افزودن ترکیبات طبیعی با منشأ گیاهی حتی در ابعاد نانو در پیشگیری از سمیّت سلولی سموم مورد ارزیابی قرار گرفت(۲۶). نتایج حاصل از مطالعهٔ حاضر نشان داد که تجویز کوئرستین به موش‌ها به‌طور مؤثری از ایجاد آسیب تخمدان ناشی از پاراکوات به احتمال زیاد از طریق فعالیت آنتی‌اکسیدانی جلوگیری کرد. پاسخ تخمدان به چالش سمیّت پاراکوآت شامل توسعهٔ سریع استرس اکسیداتیو بود که با افزایش سطح MDA در ترکیب با کاهش ظرفیت آنتی اکسیدانی و احتمالاً القای بیان HO^{-1} در بافت‌های تخمدان نشان داده شده است. این تغییرات با عملکرد مناسب کوئرستین مسدود شد. بنابراین، با توجه به مکانیسم سمیّت پاراکوآت، رژیم غذایی سرشار از آنتی‌اکسیدان ممکن است عوارض جانبی مواجهه با ترکیبات سمی محیطی را کاهش دهد. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده مشخص شد که کوئرستین به‌صورت وابسته به دوز می‌تواند آسیب اکسیداتیو ناشی از پاراکوآت را در بافت‌های تخمدان موش کاهش دهد. کوئرستین به‌طور بالقوه می تواند جهت کنترل سمیّت تخمدان، تعدیل و یا مهار عوامل اکسیداتیو، تقویت سیستم ایمنی و تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی در مدل‌های حیوانی استفاده شود. احتمالاً می‌توان از آن به عنوان نوعی مکمل بی‌خطر در ترکیب با سایر داروهای تأثیرگذار بر سیستم ایمنی استفاده کرد. با این حال، این فرضیه همراه با اثر سایر تداخلات دارویی باید با استفاده از مطالعات *in vivo* مناسبی تأیید شود. درک فرآیند مرگ سلولی ناشی از پاراکوآت و اثر مهارکنندگی آنتی‌اکسیدان های طبیعی بر آن، نقشهٔ راه جدیدی را برای مطالعات آتی به منظور توسعهٔ استراتژی‌های درمانی جدید ارائه می‌کند. نتایج مطالعهٔ حاضر تأیید کرد که علاوه بر نقش محافظتی کوئرستین، فعالیت مهار رادیکال در بافت تخمدان موش هم تحت تیمار با کوئرستین به عنوان نوعی ترکیب درمانی مکمل ایمن با منشأ گیاهی افزایش یافت.

سپاسگزاری

این مقاله، حاصل پایان نامهٔ آقای علیرضا نائیجی با کد اخلاقی مصوب به شمارهٔ IR.MAZUMS.REC.1399.6786 از دانشگاه علوم پزشکی مازندران است. بنابراین، نویسندگان مراتب تشکر و سپاسگزاری خود را از کارکنان واحدهای دخیل در انجام این پروژه اعلام می‌دارند.

References

1. Stevens AJ, Campbell Jr JL, Travis KZ, Clewell HJ 3rd, Hinderliter PM, Botham PA, et al. Paraquat pharmacokinetics in primates and extrapolation to humans.Toxicol Appl

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-06-25]

Pharmacol 2021; 417: 115463.

2. Badibostan H, Eizadi-Mood N, Hayes AW, Karimi G. Protective effects of natural compounds against paraquat-induced pulmonary toxicity: The role of the Nrf2/ARE signaling pathway. Int J Environ Health Res 2024; 34(1): 611-624.
3. Yang L, Chen Y, Liu Y, Xing Y, Miao C, Zhao Y, et al. The Role of Oxidative Stress and Natural Antioxidants in Ovarian Aging. Front Pharmacol 2021; 11: 617843.
4. Yadav RK, Gurung S, Karki S, Lama S, Tamang S,Poudel M. Acute paraquat poisoning complicated by acute kidney injury and lung fibrosis: a case report from Nepal. Ann Med Surg 2023; 85(10): 5117-5119.
5. Shabrina LS, Ahmad A, Fadrian F. Diagnosis and Management of Paraquat Intoxication. Bioscientia Medicina: J Biomed Transl Res 2023; 7(8): 3478-3499.
6. Rafiee S, Nouri A, Heidarian E. Role of NF-κB/IL-1β Pathway and Caspase 3 in Mediating the Hepatoprotective Effect of Rutin against Paraquat-Induced Liver Toxicity in Male Rats. Chem Biodivers 2023; 20(4): 202200248.
7. Sun YL, Wang XL, Yang LL, Ge ZJ, Zhao Y, Luo SM, et al. Paraquat reduces the female fertility by impairing the Oocyte maturation in Mice. Front Cell Dev Biol 2021; 8: 631104.
8. Tarko A, Štochmalova A, Hrabovszka S, Vachanova A, Harrath AH, Alwasel S, et al. Can xylene and quercetin directly affect basic ovarian cell functions? Res Vet Sci 2018; 119: 308-312.
9. Saberi-Hasanabadi P, Sedaghatnejad R, Mohammadi H. Protective Effect of Quercetin against Paraquat-induced Brain Mitochondrial Disruption in Mice. Current Drug Safety 2024; 19(1): 44-50.
10. Feng Z, Wang T, Sun Y, Chen S, Hao H, Du W, et al. 2023. Sulforaphane suppresses paraquat-induced oxidative damage in bovine in vitro-matured oocytes through Nrf2 transduction pathway. Ecotoxicology and Environmental Safety 2023; 254: 114747.
11. Ahmadian E, Eftekhari A, Kavetskyy T, Khosroushahi AY, Turksoy VA, Khalilov R. Effects of quercetin loaded nanostructured lipid carriers on the paraquat-induced toxicity in human lymphocytes. Pestic Biochem Physiol 2020; 167: 104586.
12. Mohammadi-Bardbori A, Najibi A, Amirzadegan N, Gharibi R, Dashti A, Omidi M, et al, Ghafarian-Bahreman A, Niknahad H. Coenzyme Q10 remarkably improves the bio-energetic function of rat liver mitochondria treated with statins. Eur J Pharmacol 2015; 762: 270-274.
13. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal Biochem 1976; 72(1-2): 248-254.
14. Roušar T, Kučera O, Lotková H, Červinková Z. Assessment of reduced glutathione: comparison of an optimized fluorometric assay with enzymatic recycling method. Analytical Biochemistry 423; 423(2): 236-240.
15. Hayashi I, Morishita Y, Imai K, Nakamura M, Nakachi K, Hayashi T. High-throughput spectrophotometric assay of reactive oxygen species in serum. Mutat Res 2007; 631(1): 55-61.
16. Park HK, Kim SJ, Kwon DY, Park JH, Kim YC. Protective effect of quercetin against paraquat-induced lung injury in rats. Life Sci 2010; 87(5-6): 181-186.
17. Altomare A, Baron G, Gianazza E, Banfi C, Carini M, Aldini G. Lipid peroxidation

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-06-25]

derived reactive carbonyl species in free and conjugated forms as an index of lipid peroxidation: limits and perspectives. Redox Biol 2021; 42: 101899.

18. Nakamura A, Goto S. Analysis of protein carbonyls with 2, 4-dinitrophenyl hydrazine and its antibodies by immunoblot in two-dimensional gel electrophoresis. J Biochem 1996; 119(4): 768-774.
19. Blanco-Ayala T, Andérica-Romero AC, Pedraza-Chaverri J. New insights into antioxidant strategies against paraquat toxicity. Free Radic Res 2014; 48(6): 623-640.
20. Nouri A, Heibati F, Heidarian E. Gallic acid exerts anti-inflammatory, anti-oxidative stress, and nephroprotective effects against paraquat-induced renal injury in male rats. Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol 2021; 394(1): 1-9.
21. Sabbagh A, Tavasoly A, Salar Amoli J, Mardjanmehr H. Histopathologic Changes in the Substantia Nigra Resulted by Paraquat Intoxication in Rat. Shefaye Khatam 2016; 4(4): 41-49.
22. Kim H, Lee SW. The effects of quercetin on paraquatinduced cell damage. J Korean Soc Emerg Med 2007 18(1): 41-48.
23. Ohno Y, Nakanishi T, Umigai N, Tsuruma K, Shimazawa M, Hara H. Oral administration of crocetin prevents inner retinal damage induced by N-methyl-D-aspartate in mice. Eur J Pharmacol 2012; 690(1-3): 84-89.
24. Zohrabi D, Parivar K, Sanati MH, Hayati Roodbari N. The effect of Quercetin on ovarian tissue of Female Wistar Rats treated with cyclophosphamide and growth indexes of their offspring. Cell Tissue Res 2017; 8(3): 285-293.
25. Yeh ST, Guo HR, Su YS, Lin HJ, Hou CC, Chen HM, et al. Protective effects of N-acetylcysteine treatment post acute paraquat intoxication in rats and in human lung epithelial cells. Toxicol 2006; 223(3): 181-190.
26. Ebrahimnejad P, Ghazvini H, Hasanjani P, Saberi-Hasanabadi P, Akhtari J, Mohammadi H. The Synergistic Effect of Curcumin and Piperine Nanoparticles on Methamphetamine-induced Neurotoxicity, Oxidative Stress, and Memory Impairments in Mice Brain Lett Drug Des Discov 2023; 21(15): 3149-3160.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-06-25]