مقاله پژوهشی *مجله سلول و بافت (علمی - پژوهشی)*
جلد ۱۰، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۸

اثرات حفاظتی کوئرستین علیه استرس اکسیداتیو و آسیب میوکارد القا شده با مالاتیون در موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار

رقیه یوسفی .M.Sc[۱]، حمیرا حاتمی نعمتی .Ph.D[۱]، فاطمه شهبازی .Ph.D[۲]، علیرضا علی همتی .Ph.D[۳]، حاتم احمدی .Ph.D[۴*]

۱- دانشگاه تبریز، دانشکده علوم طبیعی، گروه زیست شناسی جانوری، تبریز ، ایران
۲- دانشگاه پیام نور، دانشکده علوم پایه، گروه زیست شناسی، ایران
۳- دانشگاه علوم پزشکی تبریز، دانشکده پزشکی، گروه بافت شناسی و جنین شناسی، تبریز ، ایران
۴- دانشگاه فرهنگیان، دانشکده علوم پایه، گروه زیست شناسی، تهران، ایران

* پست الکترونیک نویسنده مسئول: hahmadi@cfu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۲/۱۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۷/۹

چکیده

هدف: هدف از این مطالعه بررسی اثرات حفاظتی کوئرستین بر آسیب بافت میوکاردی موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار طی مسمومیت با مالاتیون است.

مواد و روش‌ها: این مطالعه بر روی ۷ گروه ۶ تایی از رت‌های نر اجرا شد. ۲۴ ساعت پس از تزریق درون صفاقی با داروهای کوئرستین، مالاتیون و یا ترکیب این داروها با هم، قلب حیوانات جدا شد، سپس برش بافتی تهیه شد. بعد از هموژنیزاسیون بافتی، پارامترهای استرس اکسیداتیو در این ناحیه سنجش شد.

نتایج: تزریق درون صفاقی دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مالاتیون به‌طور معنی‌داری موجب موجب القا پراکسیداسیون لیپیدی ($p<۰/۰۱$) و استرس اکسیداتیو ($p<۰/۰۰۱$) و نیز آسیب بافت میوکاردی به‌شکل نکروز و التهاب شد، درصورتی‌که تزریق درون صفاقی دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کوئرستین موجب کاهش سمیت ناشی از مالاتیون بر میزان پراکسیداسیون لیپیدی ($p<۰/۰۰۱$)، استرس اکسیداتیو ($p<۰/۰۵$) و نیز التهاب و آسیب بافت میوکاردی شد.

نتیجه گیری: نتایج پیشنهاد می‌کند که کوئرستین قادر به بهبودی آسیب بافت میوکاری و بازگرداندن میزان پارامترهای استرس اکسیداتیو گروه‌های تحت تیمار با مالاتیون به سطح طبیعی می‌باشد.

واژگان کلیدی: مالاتیون، میوکاردیوم، استرس اکسیداتیو،کوئرستین

مقدمه

بیماری‌های قلبی-عروقی یکی ازمهم‌ترین علل مرگ و میر در انسان، به‌خصوص در کشورهای صنعتی می‌باشند. علی‌رغم پیشرفت در تحقیقات و یافته‌های جدید، وجود محیط‌های آلوده امروزی، مراقبت‌های پیشگیرانه و درمان بیماری‌های قلب و عروق را با چالش رو برو کرده است.

امروزه استفاده از ارگانوفسفره‌های حشره‌کش به‌منظور افزایش محصولات کشاورزی رو به افزایش است و باقیمانده این حشره‌کش‌ها به‌طور ناخواسته از طریق خاک، آب و محصولات کشاورزی به بدن انسان وارد می‌شود. با وجود این‌که مهار فعالیت استیل کولین استراز پلاسما به‌عنوان مکانیسم اصلی سمیت ارگانوفسفره‌ها بر بدن پیشنهاد شده است، با این حال محققین نشان داده‌اند که این مکانیسم بیان‌گر تمام اثرات سمی ارگانوفسفره‌ها نمی‌باشد (۱و۲). در طول چند سال گذشته، مطالعات روی موجودات زنده و محیط غیرزنده نشان می‌دهد که بعضی ارگانوفسفره‌ها با تولید رادیکال‌های آزاد باعث استرس اکسیداتیو می‌شوند (۱، ۳). مالاتیون جزء رایج‌ترین آفت‌کش‌های ارگانوفسفره بوده که به‌طور عمده در کشاورزی، دامپزشکی و حتی به‌منظور خودکشی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۴). اثرات مضر مالاتیون بر روی برخی اندام‌های بدن و ازجمله کبد، شش، ماهیچه‌ها، مغز و دستگاه قلبی- عروقی گزارش شده است (۲، ۴، ۵). تجویز خوراکی مالاتیون به موش صحرایی، موجب تغییر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و افزایش پراکسیداسیون لیپیدها در اریتروسیت، بزاق و پلاسما می‌شود (۶).

استرس اکسیداتیو با عدم تعادل بین رادیکال‌های آزاد (اکسیدانت‌ها) و سیستم‌های آنتی‌اکسیدانتی ایجاد می‌شود. نقش استرس اکسیداتیو در بیماری‌های قلبی عروقی، آلزایمر، پارکینسون ، دیابت ، سرطان ، اختلالات روانی و همچنین پیر شدن مغز ثابت شده است (۷). اثرات استرس اکسیداتیو از طریق سنجش میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در بدن قابل سنجش است (۷).

پروسه اثرات نامناسب ارگانوفسفره‌ها بر بروز استرس اکسیداتیو، می‌تواند توسط آنتی اکسیدانت‌های مختلف متوقف شود (۸).

مطالعات تاریخی و اپیدمیولوژیک نشان می‌دهد که برنامه رژیم غذایی حاوی فلاونوئیدها و از جمله میوه‌های درختی با داشتن کورستین دارای مزایای سلامتی مثبت، به‌ویژه در قلب است (۹). کوئرستین ترکیبی پلی‌فنولیک بوده که در بسیاری از میوه‌ها و سبزیجات یافت می‌شود و به‌عنوان یکی از مکمل‌های غذایی محافظت کننده بالقوه در برابر بیماری عروق کرونر قلب است. از دیگر مزایای کوئرستین می‌توان به بهبود عملکرد قلب از طریق افزایش جریان کرونر، افزایش انقباض میوکارد و بهبود ارتفاع قطعه ST اشاره کرد (۱۰).کوئرستین دارای مزایای مهم روی قلب و دستگاه عروقی به‌عنوان مهار اکسیداسیون LDL (Low-Density Lipoproteins) اثرات وازودیلاتور مستقل اندوتلیوم، کاهش مولکول‌های چسبندگی و دیگر نشانگرهای التهابی، اثر محافظتی بر روی اکسید نیتریک و عملکرد اندوتلیال در شرایط استرس اکسیداتیو، جلوگیری از آسیب‌های اکسیداتیو و التهابی نورون و اثرات ضد تجمعی روی پلاکت‌ها می‌باشد (۹و۱۱). تیمار با کوئرستین موجب کاهش مقدار کورتیکوسترون خون در رت‌های تحت استرس مزمن می‌شود (۱۲). این آنتی‌اکسیدانت همچنین با مهار تولید (Nitric Oxide) NO در قلب و به‌دنبال آن کاهش رادیکال‌های آزاد، از آسیب ناشی از استرس اکسیداتیو جلوگیری می‌کند (۱۳). همچنین گزارش شده که کوئرستین در کاهش فشار خون و به دنبال آن کاهش خطر بیماری‌های قلبی و سکته موثر است (۱۴).

استفاده گسترده از سموم کشاورزی به‌منظور رشد سریع انواع محصولات کشاورزی در تامین نیازهای جمعیت آدمی در قرن اخیر، ضرورت می‌طلبد بخشی از تحقیقات به‌منظور خنثی سازی این سموم صورت گیرد. با توجه به گزارشات متعدد مبنی بر نقش سم مالاتیون در القا بحران کولینرژیک و استرس اکسیداتیو و نیز اهمیت بررسی اثر

مواد خنثی کننده آثار سمی مالاتیون و در عین حال بنا به فواید و اهمیت کوئرستین در کاهش اثرات استرس اکسیداتیو و نیز پیشنهاد محققین قبلی مبنی بر استفاده آتی از کورستین برای درمان بیماری‌های قلبی (۹و۱۵)، همچنین با توجه به نبود پیشینه مطالعاتی در مورد برهم کنش اثرات این دو ماده بر پاتولوژی قلب تاکنون، در این پژوهش اثر سمیت تزریق داخل صفاقی مالاتیون بر تغییرات بیوشیمیایی و مورفولوژی بافت میوکارد قلب رت‌ها و نیز اثرات حفاظتی احتمال تزریق داخل صفاقی کوئرستین بر این تغییرات در قلب رت‌های مسموم شده با مالاتیون مطالعه شد.

مواد و روش‌ها

مقاله حاضر حاصل طرح پایان نامه دوره کارشناسی ارشد می‌باشد که زمان اجرای طرح و پیگیری آن به‌مدت ۱۴ ماه و از تیر ماه ۹۵ تا شهریور ۹۶ صورت گرفته است. در این مطالعه بنیادی از موش‌های رت نر نژاد ویستار، تهیه شده از انستیتو پاستور تهران در محدوده وزنی ۲۰۰ تا۲۵۰ گرم استفاده شد. به‌منظور کاهش استرس و عادت به‌شرایط آزمایشگاه فیزیولوژی جانوری در دانشکده علوم طبیعی دانشگاه تبریز، جانوران به‌مدت دو هفته در گروه‌های ۸ تایی در شرایط دمای ثابت محیطی (۲±۲۳ درجه سانتی‌گراد) و تنظیم نور با دوره‌ی تاریکی_روشنایی ۱۲ساعته (روشنایی از ساعت ۷صبح) نگه‌داری می‌شدند. هنگام کار با رت‌ها موازین اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت شد (۶ و۱۵). مبنای انتخاب موش‌های نر ، ساده‌تر بودن سیستم هورمونی و نیز تداخل کمتر هورمون‌های جنسی با داروها بود.

داروهای مورد بررسی در این پژوهش عبارت بودند از: مالاتیون (خریداری شده از مجتمع صنعتی رجا شیمی)، مالاتیون مایع امولسیون شونده مورد استفاده از ***فرمولاسیون شرکت اکسیر کشاورزی:*** EC ۵۷ درصد تهیه شده است (۱۶). پودر کوئرستین (از شرکت-Sigma *Aldrich*)، عصاره کوئرستینی مورد استفاده در آزمایش‌ها با حل‌کردن پودر آن در اتانول ۱ درصد و تخلیص آن صورت گرفت (۱۶).

۴۲ سر رت نر بالغ در گروه‌های آزمایشی۶ تایی انتخاب شدند: دوزهای دارویی مورد استفاده در این تحقیق، یا مشابه با دوزهای دارویی استفاده شده توسط محققین قبلی بود و یا بر اساس پاسخ دوزی داروها بوده است (۲ و ۱۷). تمام تزریق‌های دارویی به‌صورت درون صفاقی و به‌مدت یک هفته صورت می‌گرفت. گروه کنترل که هیچ تزریق دارویی صورت نگرفت، دو گروه آزمایشی که دریافت کننده دوزهای مختلف عصاره‌ی کوئرستین (۱۰۰و۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بودند. دو گروه آزمایشی دیگر که دوزهای مختلف مالاتیون (۲۰۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) دریافت کردند و دو گروه آزمایشی دیگرکه دوز بی‌اثر ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کوئرستین را سه روز پس از تزریق دوزهای ۲۰۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مالاتیون به‌مدت یک هفته دریافت کردند.

۲۴ ساعت بعد از آخرین تزریق، موش‌ها با پنبه‌ی آغشته به کلروفرم معدوم می‌شدند. سپس قلب جدا شده و بلافاصله در نیتروژن مایع۸۰- درجه سانتی‌گراد به‌صورت فریزر نگه‌داری می‌شد. به‌منظور تهیه هموژن بافتی از قلب، روی هر یک از نمونه‌ها محلول سرد KCl ۰/۰۱۵ با نسبت (۱:۱۰) اضافه شد. هموژن بافتی با استفاده از هموژنایزر مکانیکی تهیه شد. بعد از سانتریفیوژ کردن در دور RPM ۳۰۰۰ به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای۴ درجه سانتی‌گراد، محلول شفاف رویی از رسوب زیرین جدا شد تا برای آنالیزهای بیوشیمیایی مورد استفاده قرار گیرد (۱۸).

نحوه آماده‌سازی بافتی و مراحل بافت‌شناسی: پس از فیکس شدن بافت‌ها در فرمالدئید ۱۰ درصد، نمونه‌ها به تفکیک شماره‌گذاری و داخل کاست بافتی گذاشته شده و سپس هر کدام به‌ترتیب در اتانول ۶۰، ۷۰، ۹۰، ۹۶ و ۱۰۰ درصد به‌مدت ۹۰ دقیقه قرار گرفتند. نمونه‌ها

به‌مدت ۹۰ دقیقه در محلول گزیلل قرار گرفتند و بلوک‌های آلومینیومی به پارافین مذاب منتقل شدند. در ادامه نمونه‌ها به تفکیک گروه و نوع بافت شماره‌گذاری شدند. سپس از بلوک‌های بافتی مقاطع بافتی به‌وسیله میکروتوم به‌دست آمد و با تکنیک هماتوکسیلن-ائوزین رنگ‌آمیزی شده و با میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۴۰ مورد بررسی و ارزیابی قرار گرفتند.

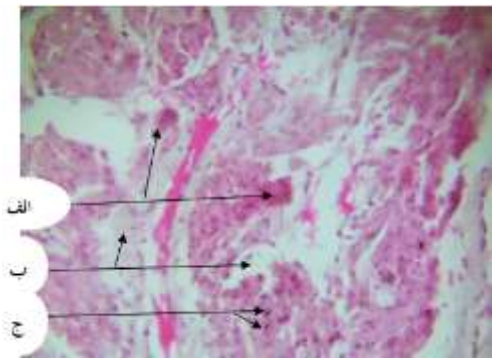
مطالعات بیوشیمیایی:

سنجش پراکسیداسیون لیپیدی: پراکسیداسیون لیپیدی با سنجش میزان مالون‌دی‌آلدئید MDA (Malondialdehyde) در بافت هموژنیزه قلب مورد بررسی قرار می‌گیرد. به‌طور خلاصه بافت هموژن قلب با محلول ۲۰ درصد تری‌کلرواستیک اسید و محلول ۸ درصد تیوباربیتوریک اسید مخلوط و برای مدت ۶۰ دقیقه در آب داغ می‌جوشد. پراکسیداسیون لیپیدی بر پایه میزان واکنش MDA با تیوباربیتوریک اسید و ایجاد TBARS (Thiobarbituric acid reactive substance) در بافت هموژن شده اندازه‌گیری شد. میزان واکنش با TBARS در محلول رویی توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج nm ۵۳۲ تعیین شد. نتایج به‌صورت نانومول در میلی‌گرم پروتئین بیان شد (۱۹). سنجش آنزیم گلوتاتیون پروکسیدازGPx (Glutathione Peroxidase): فعالیت آنزیم GPx با استفاده از روش Paglia و Valentine اندازه‌گیری شد. اساس این روش بر پایه اکسیداسیون NADPH در حضور H_2O_2 است. فعالیت این آنزیم بر روی محلول رویی تهیه شده از بافت هموژن، در طول موج ۳۴۰ نانومتر و در درجه حرارت ۳۷ درجه سانتی‌گراد، توسط دستگاه اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری شد. مقادیر به‌دست آمده به‌صورت واحد در میلی‌گرم پروتئین بیان شدند (۱۹). سنجش مقدار MDA و میزان فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانتی GPx در بین گروه‌های مختلف به‌کمک آزمون ANOVA یک‌طرفه استفاده می‌شد. بعد از معنی‌دار بودن تفاوت‌ها، برای مقایسه تفاوت گروه‌های آزمایشی از آزمون post hoc Tukey استفاده می‌شد. برای معنی‌دار بودن تفاوت گروه‌ها مقدار معنی‌دار $p<۰/۰۵$ ملاک قرار می‌گرفت. نمودارهای مربوطه از طریق نرم افزار Excel ۲۰۱۶ رسم شد.

نتایج

نتایج آسیب بافتی مربوط به تاثیر کوئرستین در قلب رت‌های مسموم شده با مالاتیون

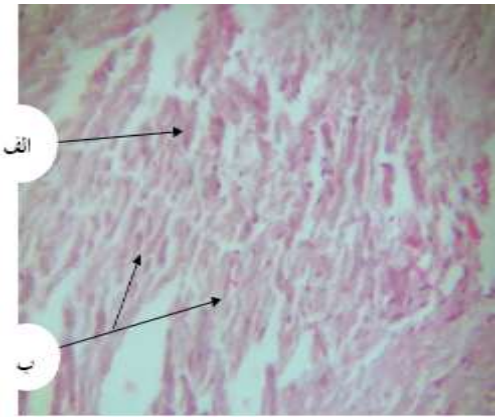
در بررسی مقاطع بافت قلبی در گروه کنترل، میوفیبریل‌های عضلانی مشخص و در بین فیبرها مقدار جزئی بافت پیوندی مشاهده شد. نمای هسته‌های میوسیت‌های عضله قلبی بیضی شکل بوده و به‌صورت مرکزی در میان میوسیت‌ها قرار داشتند (شکل۱). درگروه تیمار شده با دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مالاتیون در مقایسه با گروه کنترل، نشانه‌های آسیب میوسیتی به‌صورت نکروز و التهاب بافتی به‌طور چشم‌گیر مشاهده شد. به‌طوری‌که آرایش میوفیبریل‌های عضله قلبی به‌شدت نظام گسیخته و به‌هم خورده بودند. همچنین بافت میوکاردی با افزایش وسعت بین فیبری همراه بود، و فضای اطراف سلول‌های میوکاردیال به‌صورت اسکارهای فیبروتیک منتشر و تجمع مقدار زیادی از عناصر بافت همبندی مشهود بود. در بخش‌هایی از نواحی بین فیبری عضله قلبی، خونریزی به‌صورت موضعی و منتشر به‌همراه احتقان عروق خونی مشاهده شد.



شکل۱: تصویر میکروسکوپی بافت میوکاردی گروه دریافت کننده دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مالاتیون (الف- افزایش خونریزی، التهاب و احتقان

بافتی؛ ب-افزایش فضای بین میوفیبرها و افزایش بافت پیوندی ؛ ج- بی‌نظمی آرایش میوفیبرها و افزایش تراکم هسته سلول‌ها) (بزرگنمایی ×۴۰)

شکل ۲ در نمای میکروسکوپی مقاطع بافتی عضله قلبی از قلب رت‌های تحت تیمار با کوئرستین و مالاتیون را نشان داد که تزریق دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کوئرستین موجب کاهش اثر نامناسب دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مالاتیون بر بافت مورد نظر می‌شود. به‌طوری‌که میزان التهاب بافتی کاهش یافت. همچنین آسیب سلول‌های میوکاردی در مقایسه با گروه‌های مالاتیون کاهش یافته بود و آرایش میوفیبریل‌ها بی‌نظمی نسبی داشت.

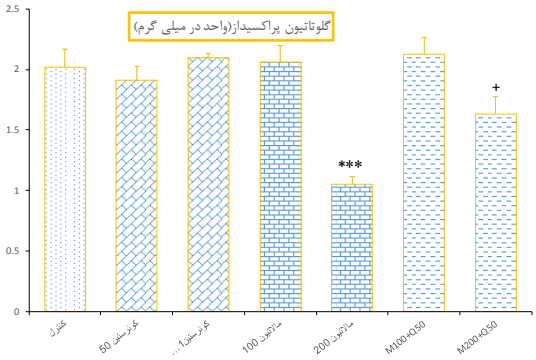


شکل ۲: تصویر میکروسکوپی بافت میوکاردی گروه دریافت کننده دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مالاتیون + دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلو گرم کوئرستین (الف-کاهش التهاب، خونریزی و احتقان بافتی؛ ب-کاهش بی‌نظمی آرایش میوفیبرها) (بزرگنمایی (بزرگنمایی ×۴۰)

سنجش پارامترهای استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپیدی

نتایج تحلیل واریانس یک‌طرفه نشان می‌دهد که تزریق درون صفاقی دوزهای ۵۰ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کوئرستین تغییری معنی‌دار در میزان پراکسیداسیون لیپیدی (نمودار ۱) و فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانتی گلوتاتیون پراکسیداز (نمودار ۲) در بافت قلبی ایجاد نمی‌کند. نتایج بیانگر عدم تاثیر دوزهای به‌کار رفته کوئرستین به‌صورت درون صفاقی بر استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپیدی در بافت میوکاردیوم قلبی در موش صحرایی نر است. تحلیل واریانس یک‌طرفه و تست post hoc Tukey نشان داد که تزریق درون صفاقی دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مالاتیون موجب افزایش MDA (نمودار ۱، $p<۰/۰۱$) و کاهش گلوتاتیون پراکسیداز (نمودار ۲، $p<۰/۰۰۱$) نسبت به گروه کنترل شد. نتایج نشان داد که دوز بالای مالاتیون در این تحقیق به‌صورت درون صفاقی موجب استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپیدی در بافت میوکاردیوم قلبی می‌شود. نتایج ترکیب تزریق داروها نشان داد که تزریق درون صفاقی دوز بی‌اثر ۵۰ میلی‌گرم بر کیلو گرم کوئرستین موجب توقف پاسخ دوز درون صفاقی ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مالاتیون بر مقدار MDA (نمودار ۱، $p<۰/۰۰۱$) و گلوتاتیون پراکسیداز (نمودار ۲، $p<۰/۰۵$) می‌شود، اما به‌کارگیری دوز بی‌اثر ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کوئرستین اثری معنی‌دار بر پاسخ ناشی از دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مالاتیون روی پراکسیداسیون لیپیدی (نمودار ۱) و فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز (نمودار ۲) ندارد. نتایج بیانگر اثر آنتاگونیستی تزریق دوز بی‌اثر کوئرستین بر پاسخ ناشی از مالاتیون روی پراکسیداسیون لیپیدی و استرس اکسیداتیو است که این اثر با کاهش مقدار MDA و افزایش فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز دربافت میوکاردیوم قلبی نشان داده شده است.

نمودار ۱: اثر تزریق درون صفاقی دوزهای ۱۰۰mg/kg و ۵۰ کوئرستین و دوزهای ۲۰۰ و۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مالاتیون نسبت به گروه کنترل و نیز برهم کنش اثر دوز بی‌اثر ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کوئرستین بر دوز مؤثر مالاتیون (۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلو گرم) روی میزان پراکسیداسیون لیپیدی (MDA) بافت قلبی در موش بزرگ آزمایشگاهی ($p<۰/۰۱$ ** در مقایسه با گروه کنترل و $p<۰/۰۰۱$ +++ در مقایسه با گروه دریافت کننده دوز مالاتیون ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم).



نمودار۲: اثر تزریق درون صفاقی دوز های ۱۰۰mg/kgو ۵۰ کوئرستین و دوزهای mg/kg ۲۰۰ و۱۰۰ مالاتیون نسبت به گروه کنترل و نیز برهم کنش اثر دوز بی اثر ۵۰mg/kg کوئرستین بر دوز مؤثر مالاتیون (۲۰۰ mg/kg) روی فعالیت آنزیم آنتی اکسیدانی گلوتاتیون پراکسیداز در موش بزرگ آزمایشگاهی ($p<۰/۰۰۱$ *** در مقایسه با گروه کنترل و $p<۰/۰۵$ + در مقایسه با گروه دریافت کننده دوز مالاتیون ۲۰۰ mg/kg)

بحث

شواهد زیادی دال بر تقویت و افزایش کارایی قلب توسط فلاونوئیدها موجود می‌باشد (۹). کوئرستین یکی از فلانوئیدها می‌باشد که با مهار تشکیل هیدروپراکسید، حذف رادیکال‌های آزاد و حفاظت از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت از ایجاد آسیب‌های مربوط به استرس اکسیداتیو در اندام‌های بدن عمل می‌کند (۱۹). عدم هم‌خوانی اثر دوزهای به‌کار رفته کوئرستین در این پژوهش با نتایج تحقیقات قبلی ممکن است مرتبط با عوامل مختلفی مانند نوع تیمار دارو، دوز بکار رفته، نوع تست، حیوان آزمایشگاهی و... باشد (۱۸). با این حال، اثرات کوئرستین بر برقراری مجدد جریان خون در شرایط ایسکمی میوکارد ناشناخته مانده است (۱۰). به‌کارگیری دوزهای درون صفاقی کوئرستین در این تحقیق اثری بر سیستم آنتی اکسیدانتی و وضعیت بافت میوکاردی قلبی ندارد. نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان می‌دهد که تزریق درون صفاقی دوز بالای مالاتیون در موش‌های صحرایی موجب بروز استرس اکسیداتیو بافت قلبی می‌شود که با افزایش مقدار مالون‌دی‌آلدئید و کاهش فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز نشان داده شده است. این نتایج با یافته‌های محققین قبلی که اثرات ارگانوفسفره‌ها بر بافت قلبی را بررسی کرده‌اند هم‌خوانی دارد. اثرات سمی ارگانوفسفره‌ها روی قلب حیوانات در هر دو حالت حاد و مزمن (۱۴ روز تا ۱۲ ماه) گزارش شده است (۱). به‌کارگیری تحت مزمن ارگانوفسفره‌ها موجب آسیب میوکاردی می‌شود (۲). استرس اکسیداتیو در

مسمومیت با مالاتیون در شرایط حاد و مزمن رخ می‌دهد (۲۰ و۲۱). تجویز خوراکی دی‌متوآت و مالاتیون به موش صحرایی موجب تغییر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و افزایش پراکسیداسیون لیپیدی در اریتروسیت‌ها می‌شود (۲۲). در به‌کارگیری دیازونین (جزء ارگانوفسفره‌ها) بر قلب موش‌های صحرایی نر، سطح مالون دی آلدئید به‌طور معنی‌داری افزایش یافت، درحالی‌که محتوای گلوتاتیون پراکسیداز به‌طور قابل توجهی کاهش یافته است همچنین تخریب بافت قلبی با افزایش دوز به‌کار رفته به‌صورت التهاب و نکروز بافتی گزارش شده است (۲). تزریق درون صفاتی مالاتیون به رت‌های نر بالغ به‌صورت دوبار در روز به‌مدت ۵ روز پیاپی منجر به کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی و افزایش پراکسیداسیون لیپیدی و فعالیت هگزوکیناز در قلب می‌شود (۲۳).

در ارتباط با اثر آنتی‌اکسیدانت‌ها بر سمیت ناشی از ارگانوفسفره‌ها در بدن، در تحقیقات قبلی گزارش شده که آنتی‌اکسیدانت‌های فعال مختلف، ازجمله ویتامین E و آلفا توکوفرول قادر به برگشت اثرات نامناسب استرس اکسیداتیو ارگانوفسفره‌ها روی بافت‌های بدن هستند. این ترکیبات سلول‌ها و بافت‌ها را در برابر پراکسیداسیون لیپیدی و آپوپتوزیس ناشی از مواد سمی محافظت می‌کنند (۸،۲۴). سلنیوم یا مکمل ویتامین E قادر به ترمیم فعالیت استیل‌کولین‌استراز و نیز فعالیت پمپ سدیم-پتاسیم ATPase در قلب پس از قرار گرفتن در معرض به ارگانوفسفره‌ها می‌باشد (۲۵). پیشنهاد شده که مکانیسم اثر محافظتی برخی از این آنتی اکسیدانت‌ها در سیستم قلبی عروقی به‌علت تنظیم و فعال‌سازی آنتی‌اکسیدانت‌های درون زاد و نیز مهار فاکتورهای نکروز بافت قلبی می‌باشد (۲۶ و ۲۷).

با وجود گزارشات متعدد مبنی بر اثرات داروهای مالاتیون و نیز کوئرستین، تاکنون گزارشی مبنی بر تداخل اثر مالاتیون و کوئرستین بر استرس اکسیداتیو ارائه نشده است. مطالعات مشابهی در زمینه اثرات برگشت دهنده فعالیت کوئرستین بر استرس اکسیداتیو صورت گرفته است. کوئرستین قادر به بهبود وضعیت سمیّت ایجاد شده در مغز رت‌ها توسط اندوسولفان می‌باشد (۱۳). سطح پلاسمایی کورتیکوسترون و استرس اکسیداتیو در هیپوکامپ رت‌ها ناشی از استرس حاد غوطه‌وری در آب با تجویز کوئرستین کاهش می‌یابد (۲۸). کوئرستین با افزایش فعالیت دیسموتاز سوپراکسیداز و در عوض کاهش سطح مالون دی آلدئید، قادر به برگشت اختلال اکسیدانی ناشی از D –گالاکتوز می‌شود (۱۸). کوئرستین دارای اثر محافظتی در شرایط استرس اکسیداتیو روی دستگاه قلبی عروقی است و حتی قادر به کاهش میزان التهاب و جلوگیری از آسیب های اکسیداتیو می‌باشد (۹). نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که تزریق داخل صفاقی عصاره الکلی کوئرستین به‌طور معنی‌داری، آسیب بافت قلبی در مدل‌های مسموم شده با مالاتیون را بهبود می‌بخشد. نتایج این مطالعه در زمینه سمیت زدایی کوئرستین در بافت قلبی با نتایج دیگر مطالعات قبلی همخوانی دارد. گزارش شده که کوئرستین سمیت ناشی از دوکسوروبیسن (doxorubicin) در کاردیومیوسیت‌ها را کاهش می‌دهد. کوئرستین موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی سوپراکسید دیسموتاز (Superoxide Dismutase) SOD، کاتالاز و GPx و نیز کاهش سطح MDA شده و در نتیجه با کاهش آپوپتوز سلولی باعث افزایش زنده ماندن سلول‌ها شد. در نتیجه کوئرستین با سرکوب استرس اکسیداتیو و بهبود عملکرد میتوکندری سلول‌های میوکارد قلب در برابر آسیب دوکسوروبیسن محافظت می‌کند (۲۹).

نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق موید مطالعات پیشین در مورد نقش مفید کوئرستین در کاهش میزان التهاب و آسیب‌های استرس اکسیداتیو است. لذا در تحقیقات آتی پیشنهاد می‌شود تداخل اثر تیمار این داروها بر بافت قلبی به‌صورت

خوراکی، تزریق مغزی و ... و همچنین در مدل‌های رفتاری دیگر و با فرضیه نقش سیستم کورتیکوسترونی نیز مورد بررسی قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

مقاله حاضر از پایان نامه کارشناسی ارشد استخراج شده است. از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه تبریز بابت تامین اعتبار لازم قدردانی می‌شود.

منابع

1. Georgiadis N, Tsarouhas K, Tsitsimpikou C, Vardavas A, et al. Pesticides and cardiotoxicity. Where do we stand? Toxicol Appl Pharmacol. 2018; 353:1-14.

2. Razavi BM, Hosseinzadeh H, Movassaghi AR, Imenshahidi M, et al. Protective effect of crocin on diazinon induced cardiotoxicity in rats in subchronic exposure. Chem Biol Interact. 2013; 203(3): 547–555.

3. Saulsbury MD, Heyliger SO, Wang K. Chlorpyrifos induces oxidative stress in oligodendrocyte progenitor cells. Toxicol. 2009; 259 (1-2): 1-9.

4. Dos Santos AA, Naime AA, De Oliveira J, Colle D, et al. Long-term and low-dose malathion exposure causes cognitive impairment in adult mice: evidence of hippocampal mitochondrial dysfunction, astrogliosis and apoptotic events. Arch Toxicol. 2016; 90(3): 647-60.

5. Guardia-Escote L, Basaure P, Blanco J, Cabré M, et al. Postnatal exposure to chlorpyrifos produces long-term effects on spatial memory and the cholinergic system in mice in a sex- and APOE genotype-dependent manner. Food Chem Toxicol. 2018; 122: 1-10.

6. John S, Kale M, Rathore N, Bhatnagar D. Protective effect of vitamine E in dimethoate and malathion induced oxidative stress in rat erythrocytes. J Nutr Biochem. 2001; 12(9): 500-4.

7. Huang WJ, Zhang X, Chen WW. Role of oxidative stress in Alzheimer's disease. Biomed Rep. 2016; 4(5): 519-522.

8. Kumar D, Jugdutt BI. Apoptosis and oxidants in the heart. J Lab Clin Med. 2003; 142(5): 288–297.

9. Patel RV, Mistry BM, Shinde SK, Syed R, et al. Therapeutic potential of quercetin as a cardiovascular agent. Eur J Med Chem. 2018; 15(155): 889-904.

10. Al-Shabib NA, Khan JM, Malik A, Sen P, et.al. A quercetin-based flavanoid (rutin) reverses amyloid fibrillation in β-lactoglobulin at pH 2.0 and 358 K. Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc. 2019; 5(214): 40-48.

11. Suganthya N, Devib KP, Nabavic SF, Braidyd N, et al. Bioactive effects of quercetin in the central nervous system: Focusing on the mechanisms of actions. Biomed Pharmacother. 2016; 84: 892–908.

12. Mohammadia HS, Goudarzia I, Lashkarboloukia T, Abraria K, et al. Chronic administration of quercetin prevent spatial learning and memory deficits provoked by chronic stress in rats. Behav Brain Res. 2014; 270: 196–205.

13. Lakroun Z, Kebieche M, Lahouel A, Zama D, et al. Oxidative stress and Brain mitochondria swelling induced by endusulfan and protective role of quercetin in rat. Environ Sci Pollut Res Int. 2015; 22(10): 7776-81.

14. Lakhanpal P, Rai DK. Role of quercetin in cardiovascular diseases. Int J Med Sci. 2008; 3(1): 31-49.

15. Ashrafpour M, Parsaei S, Sepehri H. Quercetin improved spatial memory dysfunctions in rat model of intra-cerebroventricular streptozotocin-induced sporadic Alzheimer'sdisease. N J Physiol. 2015; 5 (5): 411-415.

16. Omran O, Omer O. The effects of alpha-lipoic acid on breast of female albino rats exposed to malathion: Histopathologi and immunohistochemical. Pathol- Res Pract. 2015; 211(6): 462-469.

17. Ghadrdoost B, Vafaei A, Rashidy-pour A, Hajisoltani R, et al. Protective effects of saffron extract and its active constituent crocin against oxidative stress and spatial learning and memory deficits induced by chronic stress in rats. Eur J Pharmacol. 2011; 667(1): 222-229.
18. LU J, Zheng Y, Luo L, Wu D. Quercetin reverses D-galactose induced neurotoxicity in mouse brain. Behav Brain Res. 2006; 171(2): 226-251.
19. Shokoohinia Y, Rashidi M, Hosseinzadeh L, Jelodarian Z. Quercetin-3-O-b-d-glucopyranoside, a dietary flavonoid, protects PC12 cells from H2O2-induced cytotoxicity through inhibition of reactive oxygen species. Food Chem. 2015; 167: 162–167.
20. Zamorano JL, Lancellotti P, Rodriguez Muñoz D, Aboyans V, et al. 2016 ESC position paper on cancer treatments and cardiovascular toxicity developed under the auspices of the ESC Committee for practice guidelines: The Task Force for cancer treatments and cardiovascular toxicity of the European Society of Cardiology (ESC). Eur Heart J. 2016; 37(36): 2768–2801.
21. Sirenko O, Grimm FA, Ryan KR, Iwata Y, et al. In vitro cardiotoxicity assessment of environmental chemicals using an organotypic human induced pluripotent stem cell-derived model. Toxicol Appl Pharmacol. 2017; 322: 60–74.
22. John S, Kale M, Rathore N, Bhatnagar D. Protective effect of vitamin E in dimethoate and malathion induced oxidative stress in rat erythrocytes. J Nutr Biochem. 2001; 12(9):500-504.
23. Rezg R, Mornagui B, El-Arbi M, Kamoun A, et al. Effect of subchronic exposure to malathion on glycogen phosphorylase and hexokinase activities in rat liver using native PAGE. Toxicol. 2006; 223(1-2): 9-14.
24. Oral B, Guney M, Demirin H, Ozguner M, et al. Endometrial damage and apoptosis in rats induced by dichlorvos and ameliorating effect of antioxidant vitamins E and C. Reprod Toxicol. 2006; 22(4): 783–790.
25. Amara IB, Soudani N, Hakim A, Troudi A, et al. Protective effects of vitamin E and selenium against dimethoate-induced cardiotoxicity in vivo: biochemical and histological studies. Environ Toxicol. 2013; 28(11): 630–643.
26. Hariri A, Moallem S, Mahmoudi M, Memar B, et al. Sub-acute effects of diazinon on biochemical indices and specific biomarkers in rats: protective effects of crocin and safranal. Food Chem Toxicol. 2010; 48(10): 2803–2808.
27. Soeda S, Ochiai T, Paopong L, Tanaka H, et al. Crocin suppresses tumor necrosis factor-alpha-induced cell death of neuronally differentiated PC-12 cells. Life Sci. 2001; 69(24): 2887–2898.
28. Kawabata K, Kawai Y, Terao J. Suppressive effect of quercetin on acute stress-induced hypothalamic–pituitary–adrenal axis response in Wistar rats. J Nut Biochem. 2010; 21(5): 374–80.
29. Wang D, Lou X, Jiang XM, Yang C, et al. Quercetin protects against inflammation, MMP-2 activation and apoptosis induction in rat model of cardiopulmonary resuscitation through modulating Bmi-1 expression. Mol Med Rep. 2018; 18(1): 610-616.

Journal of Cell & Tissue (JCT) *Original Article*
Summer 2019; 10(2)

The protective effects of quercetin against malathion- induced oxidative stress and myocardial damage in in Wistar male rats

Yousefi R, M.Sc.[1], Hatami Nemati H, Ph.D.[1], Shahbazi F, Ph.D.[2], Ali hemati AR, Ph.D.[3], Ahmadi H, Ph.D.[4*]

1. Department of Animal Biology, Faculty of Natural Sciences, Tabriz University, Tabriz, Iran
2. Department of Biology, Payamnoor University, Iran
3. Department of Histology & Embryology, Faculty of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran
4. Basic Sciences Department, Farhangian University, Tehran, Iran

* Email corresponding author: hahmadi@cfu.ac.ir

Received: 6 Mar.2019 Accepted: 1 Oct.2019

Abstract

Aim: In this study the protective effects of quercetin were investigated on myocardial tissue damage in male Wistar rats during malathion poisoning.

Material and Methods: The study was performed on seven groups; each group contained six male rats. After 24 h of intraperitoneal injection of quercetin, malathion or a combination of them, the heart of the animals was separated, and its tissue slice was prepared. After tissue homogenization, the parameters of oxidative stress were measured.

Results: Intraperitoneal injection of 200 mg/kg of malathion significantly induced the lipid peroxidation ($p<0.01$) and oxidative stress ($p<0.001$), necrosis and inflammation in myocardial tissue. However, intraperitoneal injection of 50mg/kg quercetin reduced malathion-induced toxicity on lipid peroxidation ($p<0.001$), oxidative stress ($p<0.05$), inflammation and myocardial tissue damage.

Conclusion: The results suggested that quercetin is able to improve myocardial tissue damage and restore the rate of oxidative stress in malathion-treated groups in the normal level.

Keywords: Malathion, Myocardium, Oxidative stress, Quercetin