

## اثرات محافظتی رسوراترول در برابر اختلال عملکرد میتوکندریایی ناشی از پاراکوات

محمد شکرزاده<sup>۱،۲</sup>  
فائزه علیدوست<sup>۲</sup>  
یزدان نوریان<sup>۲</sup>  
نرگس واعظی<sup>۲</sup>  
ابراهیم محمدی<sup>۳</sup>  
فاطمه شکی<sup>۱،۲</sup>

### چکیده

**سابقه و هدف:** رسوراترول ترکیبی پلی فنولیک است و به مقدار زیاد در هسته انگور و سایر گیاهان دارویی یافت می شود. رسوراترول دارای اثرات آنتی اکسیدانی است و اثرات خوبی را در جلوگیری از آسیب اکسیداتیو نشان داده است. پاراکوات می تواند از طریق استرس اکسیداتیو و اختلال در عملکرد میتوکندری سبب بروز آسیب بافتی شود. در این مطالعه، اثرات محافظتی رسوراترول بر سمیت میتوکندریایی پاراکوات روی میتوکندری های ایزوله از ریه و مغز رت مورد بررسی قرار گرفت.

**مواد و روش ها:** بافت ریه و مغز از رت ویستار جدا شده و میتوکندری آن ها با روش سانتیفریوژ متعدد جداسازی شد. هر یک از میتوکندری های جدا شده از بافت های ریه و مغز، به سه گروه کنترل، گروه تحت پاراکوات و گروه تحت رسوراترول تقسیم شدند. میزان عملکرد میتوکندری به وسیله تست MTT (۳-۴،۵-دی میتیل تیازول-۲-یل) [۲،۵-دی فیل تترازولیم بروماید] مورد ارزیابی قرار گرفت.

**یافته ها:** پاراکوات سبب اختلال در عملکرد میتوکندری های ایزوله از ریه و مغز رت به صورت وابسته به غلظت شد که سمیت بیش تری را در میتوکندری های ایزوله شده از مغز رت نشان داد. رسوراترول باعث محافظت در برابر اختلال در عملکرد میتوکندری ناشی از پاراکوات در میتوکندری های ایزوله شده از ریه و مغز رت شد.

**استنتاج:** با توجه به اثر محافظتی رسوراترول روی آسیب میتوکندریایی ناشی از پاراکوات، می توان از رسوراترول در شرایط پاتولوژیک ناشی از استرس اکسیداتیو و آسیب میتوکندری استفاده کرد.

**واژه های کلیدی:** پاراکوات، رسوراترول، عملکرد میتوکندری

### مقدمه

ترکیب پلی فنولی بوده و دارای اثرات آنتی اکسیدانی و برداشت کننده رادیکال های آزاد ناشی از فرایندهای اکسیداتیو است (۴-۲). مطالعه مروری انجام شده روی

رسوراترول مولکولی است که به فراوانی در انگور قرمز (پوسته و هسته آن) و بسیاری از ترکیبات گیاهی دیگر یافت می شود (۱). این مولکول به صورت یک

**مؤلف مسئول:** فاطمه شکی - گروه فارماکولوژی و سم شناسی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، کیلومتر ۱۸ جاده خزرآباد، ساری، ایران  
E-mail: fshaki.tox@gmail.com

۱. مرکز تحقیقات علوم دارویی مازندران، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۲. گروه فارماکولوژی و سم شناسی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۳. مرکز تحقیقات بهداشت محیط، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات درمانی کردستان، سنندج، ایران

تاریخ تصویب: ۱۳۹۳/۲/۲۹

تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۳/۲/۲۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۵/۲۲

آسیب اکسیداتیو ناشی از عوامل سمی محافظت کرد (۱۴). بنابراین با توجه به این که میتوکندری مهم ترین هدف پاراکوات بوده و نقش مهمی را در مکانیسم سمیت این ماده دارد و نیز از آن جا که تاکنون هیچ آنتی دوت مناسبی برای جلوگیری از سمیت میتوکندریایی پاراکوات شناسایی نشده در این مطالعه اثرات محافظتی رسوراترول روی سمیت میتوکندریایی ناشی از پاراکوات در میتوکندری های ایزوله از ریه و مغز مورد بررسی قرار گرفت.

## مواد و روش ها

رسوراترول، پاراکوات دی کلراید و رنگ MTT (۳- [۴،۵- دی میتیل تیزول-۲-ایل]-۲،۵- دی فنیل تترازولیوم بروماید) از شرکت (St. Louis, MO) Sigma-Aldrich خریداری شد. بقیه مواد مورد استفاده از شرکت مرک (Darmstadt, Germany) تهیه شد.

در این مطالعه تجربی- آزمایشگاهی، از رت نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم که در شرایط استاندارد از نظر دسترسی به آب و غذا و سیکل ۱۲ ساعته روشنایی و تاریکی نگه داری شدند، استفاده شد. حیوانات ۲۴ ساعت قبل از انجام آزمایشات ناشتا نگه داشته می شدند. کلیه آزمایش های انجام شده، با توجه به دستورالعمل های ثبت شده در کمیته آزمایشات حیوانی دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران صورت گرفت. رت ها را با اتر بیهوش کرده و بلافاصله با گیوتین سر بریده و ریه و مغز را خارج کرده و در بافر مانتول سرد (مانیتول ۰/۲۵۵ M، ساکاروز ۷۴ mM، EDTA ۰/۲ mM) شست و شو داده شدند و سپس بافت هموزن تهیه شد. بافت هموزن شده را ابتدا با سرعت  $2000 \times g$  به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد و سپس محلول رویی را با سرعت  $10000 \times g$  به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ کرده و محلول رویی را دور ریخته و رسوب ته لوله را که حاوی میتوکندری است را در بافر تریس (ساکارز ۰/۲۵ M mmkcl ۲۰ میلی مولار ۲ MgCl

رسوراترول نشان داده که رسوراترول از طریق اثرات آنتی اکسیداتی خود می تواند منجر به کاهش میزان اکسیداسیون Low Density Lipoprotein (LDL) و به دنبال آن کاهش میزان آسیب های وارده به میوکارد قلب شود (۵). هم چنین اثرات ضد التهابی، مهار تجمع پلاکتی، فعالیت های مهارشده، تنظیم کننده سیستم ایمنی و مهار کموتاکسی آن نیز به اثبات رسیده است (۶).

پاراکوات یکی از شایع ترین علف کش های مورد استفاده در کشاورزی است که می تواند باعث ایجاد مسمومیت های بسیار شدیدی در انسان و حیوانات شود (۷). مهم ترین بافت هدف پاراکوات ریه است ولی مطالعات مختلف بروز سمیت عصبی افراد در تماس با پاراکوات را گزارش کرده اند (۸) به طوری که پاراکوات به عنوان یکی از عوامل محیطی دخیل در بروز بیماری پارکینسون مطرح شده است (۹). مکانیسم ایجاد سمیت پاراکوات، تولید آنیون های سوپراکسید است که خود می تواند منجر به تولید گونه های اکسیژن فعال و آسیب سلولی شود (۱۰). در مطالعات قبلی، نشان داده شد که پاراکوات از طریق ایجاد فرآیند احیای تک الکترونی وابسته به NADPH منجر به تولید رادیکال های آزاد می شود و این رادیکال های آزاد در برخورد با مولکول های اکسیژن تولید آنیون های سوپراکسید می کنند. این گونه های رادیکال های اکسیژن می توانند در ادامه منجر به تولید انواع مختلف دیگری از رادیکال های آزاد شوند (۱۱). مطالعات قبلی نشان داده اند که میتوکندری مهم ترین بافت هدف سمیت پاراکوات در سلول بوده و پاراکوات از طریق آسیب به میتوکندری باعث تشدید استرس اکسیداتیو و شروع مسیر مرگ سلولی می شود (۱۰، ۱۲).

میتوکندری یکی از مهم ترین اندامک های داخل سلولی است که نقش مهمی را در تولید گونه های فعال اکسیژن، تولید انرژی سلول و هم چنین شروع مرگ سلولی از نوع آپوپتوز ایفا می کند (۱۳) می توان با جلوگیری از اختلال در عملکرد میتوکندری در برابر

میلی مولار،  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  ۱ میلی مولار و  $\text{Tris-HCl}$  ۰/۵ میلی مولار) سرد پراکنده شد (۱۵).

#### تعیین غلظت پروتئین

غلظت پروتئین با معرف کوماسی بلو با استفاده از آلبومین سرم گاوی به عنوان استاندارد اندازه گیری شد. در تمامی آزمایشات از سوسپانسیون میتوکنندری با غلظت پروتئینی یک میلی گرم در میلی لیتر استفاده شد (۱۶). برای هر آزمایش، میتوکنندری ها به صورت تازه تهیه شد و حداکثر چهار ساعت بعد از جداسازی مورد استفاده قرار گرفت. تمامی فرآیندهای گفته شده روی یخ انجام شده تا جداسازی میتوکنندری با کیفیت بالا انجام گیرد. تمامی آزمایشات سه بار تکرار شد.

#### ارزیابی عملکرد میتوکنندی

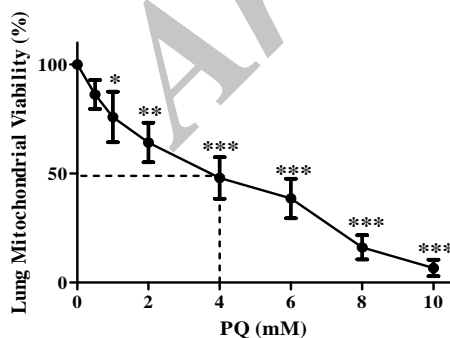
ارزیابی سمیت میتوکنندریایی بر اساس اندازه گیری میزان احیای MTT توسط آنزیم سوکسینات دهیدروژناز انجام شد. آنزیم سوکسینات دهیدروژناز، یک آنزیم میتوکنندریایی است که در هنگام اختلال در عملکرد میتوکنندری از کار افتاده و تبدیل MTT به ترکیب بنفش رنگ MTT فورمازون صورت نمی گیرد. میتوکنندری های ایزوله از ریه و مغز رت با غلظت های مختلف پاراکوات یا پاراکوات به علاوه رسوراترول تماس داده شده و سپس  $100 \mu\text{L}$  از سوسپانسیون میتوکنندری در هر چاهک پلیت ۹۶ خانه ای ریخته و محلول MTT (۴ درصد) به همراه سوکسینات (۱۰ mM) را به هر چاهک اضافه کرده و به دور از نور، در دمای  $37^\circ\text{C}$  درجه به مدت نیم ساعت انکوبه شد. کریستال های فورمازون تشکیل شده را با اضافه کردن  $100 \mu\text{L}$  میکرولیتر از DMSO حل کرده و سپس جذب نمونه ها را در  $570 \text{ nm}$  با استفاده از الایزا ریدر خوانده شد. درصد تغییر در فعالیت آنزیم با سنجیدن جذب گروه ها در برابر جذب گروه کنترل محاسبه شد (۱۵).

#### آنالیز آماری

نتایج برحسب میانگین و انحراف معیار گزارش شده است. همه آنالیزهای آماری با استفاده از نرم افزار آماری SPSS مدل ۱۷ انجام شد. آزمایشات سه بار تکرار شد و میانگین برای مقایسه آماری استفاده شد. تست آماری آلفای یک طرفه Tukey جهت تجزیه و تحلیل داده ها استفاده شد. حد معنی داری کم تر از ۰/۰۵ تعریف شده بود.

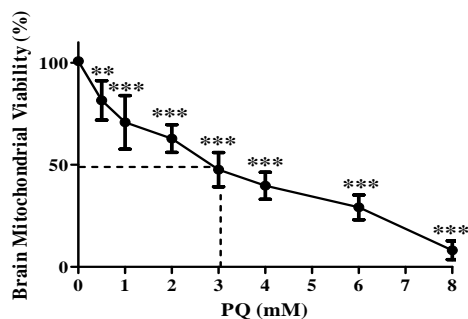
### یافته ها

همان طور که در تصویر شماره ۱ نشان داده شده است، درصدهای مختلف عملکرد میتوکنندری راپس از تماس با غلظت های مختلف پاراکوات (۰/۵ تا ۱۰ mm) را اندازه گیری شد. پاراکوات به صورت معنی داری ( $p < 0.05$ ) باعث کاهش عملکرد میتوکنندری به میزان ۷۵، ۶۴، ۴۸، ۳۸، ۱۶ و ۶ درصد به ترتیب در غلظت های ۱، ۲، ۴، ۶، ۸ و ۱۰ میلی مولار در میتوکنندری های ایزوله از ریه رت نسبت به گروه کنترل شد. با توجه به این داده ها غلظت ۴ میلی مولار به عنوان  $\text{LC}_{50}$  پاراکوات، (غلظتی که منجر به از کار افتادن حدود ۵۰ درصد میتوکنندری های ایزوله از بافت ریه می شود)، تعیین شد که برای آزمایشات دیگر مورد استفاده قرار گرفت (تصویر شماره ۱).



تصویر شماره ۱: منحنی دوز- پاسخ اثرات پاراکوات روی عملکرد میتوکنندری های ایزوله از ریه رت  
عملکرد میتوکنندری های ایزوله شده از ریه رت ۱ میلی گرم پروفین در ۱ میلی لیتر پس از یک ساعت تماس با غلظت های مختلف پاراکوات (PQ) با استفاده از رنگ MTT سنجیده شد. نتایج

کاهش عملکرد معنی‌دار بود ( $p < 0.05$ ). غلظت سه میلی مولار به عنوان LC50 پاراکوات در میتوکندری‌های بافت مغز تعیین شد که کم تر از مقدار مشابه در میتوکندری‌های بافت ریه بود (تصویر شماره ۳). از طرفی پیش تیمار میتوکندری‌های مغز با غلظت‌های مختلف رسوراترول ( $25-200 \mu M$ ) باعث کاهش معنی‌دار ( $p < 0.05$ ) در از کارافتادن میتوکندری‌های ایزوله از بافت مغز در تماس با پاراکوات ( $3mM$ ) در غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار از رسوراترول شد (تصویر شماره ۴).



تصویر شماره ۳: منحنی دوز- پاسخ اثرات پاراکوات روی عملکرد میتوکندری‌های ایزوله از مغز رت

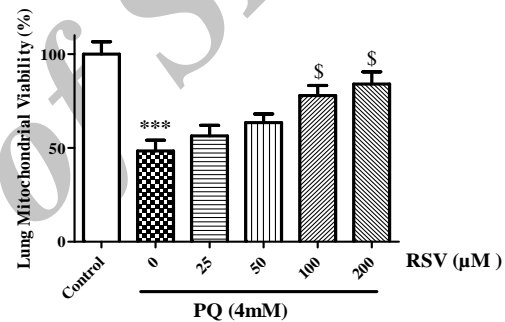
عملکرد میتوکندری‌های ایزوله شده از مغز رت (1mg عملکرد/ml protein) پس از یک ساعت تماس با غلظت‌های مختلف پاراکوات (PQ) با استفاده از رنگ MTT سنجیده شد. نتایج به صورت mean±SD حاصل از سه بار تکرار آزمایش گزارش شده است:  $P < 0.05$ : \*,  $P < 0.01$ : \*\*,  $P < 0.001$ : \*\*\*.

## بحث

نتایج این مطالعه نشان داد که پاراکوات باعث اختلال در عملکرد میتوکندری‌های ایزوله از ریه و مغز رت می‌شود. هم‌چنین نتایج مطالعه بیانگر آن است که رسوراترول از اثرات سمی پاراکوات بر میتوکندری‌های ایزوله از ریه و مغز رت جلوگیری می‌کند. پاراکوات یک علف کش با سمیت بالا است که به طور وسیعی در کشاورزی مورد استفاده قرار می‌گیرد به همین دلیل مسمومیت حاد با پاراکوات به عنوان یک علت شایع مرگ ناشی از مسمومیت در بخش‌های اورژانس

به صورت mean±SD حاصل از سه بار تکرار آزمایش گزارش شده است. \*:  $P < 0.05$ , \*\*:  $P < 0.01$ , \*\*\*:  $P < 0.001$ .

در ادامه اثرات محافظتی رسوراترول روی سمیت میتوکندریایی ناشی از پاراکوات در میتوکندری‌های ایزوله از ریه رت بررسی شد که همان طور که در تصویر شماره ۲ نشان داده شده پیش تیمار میتوکندری‌ها با رسوراترول در غلظت‌های ( $25$  تا  $200 \mu M$ ) به صورت وابسته به غلظت سبب کاهش سمیت پاراکوات ( $3mM$ ) در میتوکندری ریه شد که این اثر در غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار از رسوراترول از نظر آماری معنی‌دار بود ( $p < 0.05$ ).



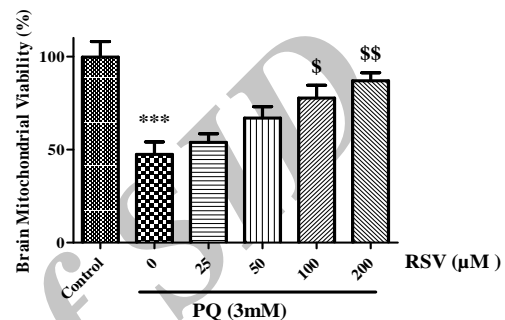
تصویر شماره ۲: اثرات محافظتی رسوراترول روی سمیت میتوکندریایی پاراکوات در میتوکندری‌های ایزوله از ریه رت میتوکندری‌های ایزوله شده از ریه رت (1mg protein/ml) ۵ دقیقه قبل از تماس با پاراکوات (PQ) با غلظت‌های مختلف رسوراترول (RSV) ( $25-200 \mu M$ ) تماس داده شدند و سپس عملکرد میتوکندری با استفاده از رنگ MTT سنجیده شد. نتایج به صورت mean±SD حاصل از سه بار تکرار آزمایش گزارش شده است.\*\*\*: نشان دهنده اختلاف معنادار با گروه کنترل است ( $P < 0.001$ ).<sup>§</sup>: نشان دهنده اختلاف معنی‌دار با گروه پاراکوات است ( $P < 0.001$ ).

سمیت پاراکوات روی میتوکندری‌های ایزوله از مغز رت هم بررسی شد که پاراکوات به صورت وابسته به غلظت سبب افزایش از کارافتادن میتوکندری‌های ایزوله از مغز رت شد (تصویر شماره ۳). پاراکوات در غلظت‌های ۰/۵، ۱، ۲، ۳، ۴، ۶ و ۸ میلی مولار به ترتیب باعث کاهش عملکرد میتوکندری به میزان ۶۲، ۷۰، ۸۱، ۴۷، ۳۹، ۲۹ و ۸ درصد شد که در تمام غلظت‌ها این

تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن سبب آسیب به میتوکنندری، از کارافتادن میتوکنندری و خروج فاکتورهای پروآپتوتیک از میتوکنندری می‌شود که منجر به مرگ سلولی و در نهایت آسیب بافتی می‌شود. امروزه مشخص شده است که اختلال در عملکرد میتوکنندری در پاتوژنز بسیاری از بیماری‌ها نقش دارد (۲۴-۲۲). به همین دلیل، مطالعه عملکرد میتوکنندری اهمیت زیادی در طیف وسیعی از تحقیقات بالینی و پایه دارد و میتوکنندری ایزوله به عنوان یک ابزار ارزشمند در بررسی عملکرد میتوکنندری و اختلالات مرتبط با آن استفاده می‌شود (۲۵).

مطالعات قبلی نقش استرس اکسیداتیو را در آسیب میتوکندریابی ناشی از پاراکوات در میتوکنندری کبد نشان دادند (۱۲) و داده‌های حاصل از مطالعه‌ی ما بروز آسیب میتوکنندری‌های بافت ریه که مهم‌ترین بافت هدف پاراکوات در مسمومیت حاد است را در تماس با پاراکوات نشان داد. از طرفی سمیت عصبی هم در افراد در تماس با پاراکوات گزارش شده است، داده‌های حاصل از این مطالعه بروز آسیب ناشی پاراکوات در میتوکنندری‌های ایزوله از بافت مغز را به صورت وابسته به غلظت نشان داد و نکته قابل توجه این بود که حداقل غلظت مورد نیاز برای از کار انداختن ۵۰ درصد میتوکنندری‌های بافت مغز کم‌تر از بافت ریه بود که نشانه حساس‌تر بودن بافت مغز نسبت به بافت ریه در شرایط خارج سلولی است. بافت مغز به علت دارا بودن مقادیر کم‌تری دفاع آنتی‌اکسیدانی، مقدار بالاتر لیپیدهای غیراشباع و هم‌چنین بیش‌ترین میزان مصرف اکسیژن در بدن به استرس اکسیداتیو بسیار حساس است (۱۳) و احتمالاً آسیب بیش‌تر میتوکنندری‌های بافت مغز نسبت به بافت ریه در تماس با پاراکوات به همین علت است. از طرفی در شرایط داخل سلولی پاراکوات توانایی کمی در عبور از سد خونی-مغزی دارد (۸) که این تفاوت فارماکوکینتیکی می‌تواند علت سمیت ریوی بیش‌تر پاراکوات در مسمومیت با این ماده باشد. بنابراین

است (۱۷) متأسفانه درمان و کنترل مسمومیت با پاراکوات به علت عدم وجود یک درمان مؤثر، مشکل است (۱۸). مهم‌ترین مکانیسم مطرح شده برای سمیت پاراکوات بروز استرس اکسیداتیو است. پاراکوات در بدن به رادیکال کاتیونی تبدیل می‌شود که قابلیت احیای مولکول‌های اکسیژن به رادیکال‌های سوپراکساید را دارا است (۱۹).



تصویر شماره ۴: اثرات محافظتی رسوراترول روی سمیت میتوکندریابی پاراکوات در میتوکنندری‌های ایزوله از مغز رت میتوکنندری‌های ایزوله شده از مغز رت (1mg protein/ml) ۵ دقیقه قبل از تماس با پاراکوات (PQ) با غلظت‌های مختلف رسوراترول (RSV) (200-25 μM) تماس داده شدند و سپس عملکرد میتوکنندری با استفاده از رنگ MTT سنجیده شد. نتایج به صورت mean±SD حاصل از سه بار تکرار آزمایش گزارش شده است. \*\*\*: نشان دهنده اختلاف معنادار با گروه کنترل است ( $P < 0.001$ ).<sup>§</sup>: نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه پاراکوات است ( $^{§§}P < 0.05$ ).<sup>§§§</sup>: نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه پاراکوات است ( $^{§§§}P < 0.01$ )

میتوکنندری یکی از مهم‌ترین اندامک‌های داخل سلولی است که نقش مهمی را در تولید گونه‌های فعال اکسیژن و تولید ATP و فراهم آوردن انرژی مورد نیاز سلول دارد (۲۰). علاوه بر این آسیب به میتوکنندری سبب خروج فاکتورهای پروآپتوتیک از میتوکنندری می‌شود که شروع کننده مرگ برنامه ریزی شده سلول است (۲۱). از طرفی میتوکنندری نه تنها اصلی‌ترین منبع تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن است بلکه خود به عنوان هدف اصلی بسیاری از سموم اکسیدانت هم می‌باشد (۱۵). در واقع سمومی مثل پاراکوات با افزایش

از بافت ریه و مغز شد که این اثرات احتمالاً به دلیل جلوگیری از استرس اکسیداتیو ناشی پاراکوات است. بنابراین با توجه به اثرات سودمند رسوراترول در کاهش آسیب میتوکندریایی ناشی از پاراکوات در شرایط خارج سلولی، می‌توان از این ترکیب برای کاهش عوارض و مشکلات پاراکوات در مطالعات داخل سلولی استفاده کرد که در صورت اثربخشی می‌توان در فاز مطالعات بالینی نیز از آن استفاده کرد این امر نیازمند مطالعات بیش‌تر در این زمینه است.

### سپاسگزاری

این مطالعه حاصل بخشی از پایان‌نامه دکترای داروسازی خانم فائزه علیدوست مصوب دانشکده داروسازی ساری است. هم‌چنین نویسندگان این مقاله از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مازندران به دلیل حمایت و تأمین هزینه این طرح کمال تشکر را دارند.

با توجه به مکانیسم سمیت پاراکوات، استفاده از یک ماده آنتی‌اکسیدانت در کاهش عوارض این ماده منطقی به نظر می‌رسد. امروزه تمایل زیادی برای استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی در جلوگیری و کنترل شرایط پاتولوژیک ناشی از استرس اکسیداتیو وجود دارد (۲۶). رسوراترول یک ترکیب پلی فنول طبیعی است که در منابع غذایی مثل انگور قرمز و بادام زمینی وجود دارد. رسوراترول اثرات آنتی‌اکسیدانی خوبی را نشان داده است (۶، ۲۷). مطالعات مختلف اثرات مفید رسوراترول را در جلوگیری و یا کند کردن بیماری‌های مختلف مثل سرطان (۲۸)، بیماری‌های قلبی عروقی (۲۹) و هم‌چنین بیماری‌های نورولوژیک (۳۰-۳۲) و جلوگیری از سمیت عصبی ناشی از آمیلوئید بتا (۳۳) و استرس اکسیداتیو (۲، ۳۴) را نشان داده‌اند. در این مطالعه هم رسوراترول اثرات قابل توجهی در جلوگیری از آسیب میتوکندری ناشی از پاراکوات نشان داد. رسوراترول به صورت وابسته به غلظت باعث کاهش از کارافتادن میتوکندری‌های ایزوله

### References

- Xu Y, Nie L, Yin YG, Tang JL, Zhou JY, Li DD, et al. Resveratrol protects against hyperglycemia-induced oxidative damage to mitochondria by activating SIRT1 in rat mesangial cells. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2012; 259(3): 395-401. PMID:22015446.
- Fukui M, Choi HJ, Zhu BT. Mechanism for the protective effect of resveratrol against oxidative stress-induced neuronal death. *Free Radic Biol Med*. 2010; 49(5): 800-813. PMID: 20542495.
- Raederstorff D, Kunz I, Schwager J. Resveratrol, from experimental data to nutritional evidence: the emergence of a new food ingredient. *Ann N Y Acad Sci*. 2013; 1290: 136-141. PMID: 23855476.
- Delmas D, Aires V, Colin DJ, Limagne E, Scagliarini A, Cotte AK, et al. Importance of lipid microdomains, rafts, in absorption, delivery, and biological effects of resveratrol. *Ann N Y Acad Sci*. 2013 1290:90-97. PMID: 23855470.
- Wu JM, Wang ZR, Hsieh TC, Bruder JL, Zou JG, Huang YZ. Mechanism of cardioprotection by resveratrol, a phenolic antioxidant present in red wine. *Int J Mol Med*. 2001 8(1):3-17. PMID: 11408943.
- de la Lastra CA, Villegas I. Resveratrol as an antioxidant and pro-oxidant agent: mechanisms and clinical implications. *Biochem Soc Trans*. 2007; 35: 1156-1160. PMID: 17956300.

7. Pourahmad J, Hosseini MJ, Bakan S, Ghazi-Khansari M. Hepatoprotective activity of angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitors, captopril and enalapril, against paraquat toxicity. *Pestic Biochem Phys*. 2011; 99(1): 105–110.
8. Bove J, Prou D, Perier C, Przedborski S. Toxin-Induced Models of Parkinson's Disease. *Neuro Rx*. 2005 2(3):484–494.
9. Liou HH, Tsai MC, Chen CJ, Jeng JS, Chang YC, Chen SY, et al. Environmental risk factors and Parkinson's disease: a case-control study in Taiwan. *Neurology*. 1997; 48(6): 1583-1588. PMID: 9191770.
10. Ghazi-khansari M, Mohammadi-Bardbori A, Hosseini MJ. Using Janus Green B to Study Paraquat Toxicity in Rat Liver Mitochondria Role of ACE Inhibitors (Thiol and Nonthiol ACEi). *Ann N Y Acad Sci*. 2006; 1090:98-107. PMID: 17384251.
11. Smith LL. Mechanism of paraquat toxicity in lung and its relevance to treatment. *Hum Toxicol*. 1987 6(1):9-31. PMID:3546084.
12. Ghazi-Khansari M, Mohammadi-Bardbori A. Captopril ameliorates toxicity induced by paraquat in mitochondria isolated from the rat liver. *Toxicol In Vitro*. 2007; 21(3): 403-407. PMID: 17107770.
13. Shaki F, Hosseini M, Ghazi-Khansari M, Pourahmad J. Depleted uranium induces disruption of energy homeostasis and oxidative stress in isolated rat brain mitochondria. *Metallomics*. 2013 5(6): 736-7344. PMID: 23629690.
14. Shaki F, Pourahmad J. Mitochondrial Toxicity of Depleted Uranium: Protection by Beta- Glucan. *Iran J Pharm Res*. 2013; 12(1): 131-140. PMID:24250581.
15. Shaki F, Hosseini MJ, Ghazi-khansari M, Pourahmad J. Toxicity of depleted uranium on isolated rat kidney mitochondria. *Biochim Biophys Acta*. 2012;1820(12): 1940-1950.
16. 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;7(72): 248-254. PMID: 942051.
17. Izadi-Mood N, Gheshlaghi F, Sharafi SE. Fatal poisoning cases admitted to the Emergency Department of Poisoning, Noor Hospital, Isfahan. *Scientific Journal of Forensic Medicine* 2003; 9(31): 122-126. (Persian).
18. Lee HL, Lin HJ, Yeh ST, Chi CH, Guo HR. Presentations of patients of poisoning and predictors of poisoning-related fatality: findings from a hospital-based prospective study. *BMC Public Health*. 2008; 8(7).
19. Castello PR, Drechsel DA, Patel M. Mitochondria Are a Major Source of Paraquat-induced Reactive Oxygen Species Production in the Brain. *J Biol Chem*.2007; 282(19): 14186–14193. PMID:17389593.
20. Hosseini MJ, Shaki F, Ghazi-Khansari M, Pourahmad J. Toxicity of Arsenic (III) on Isolated Liver Mitochondria: A New Mechanistic Approach. *Iran J Pharm Res*. 2013; 12(sup): 121-138. PMID: 24250680.
21. Hosseini MJ, Shaki F, Ghazi-Khansari M, Pourahmad J. Toxicity of vanadium on isolated rat liver mitochondria: a new mechanistic approach. *Metallomics*. 2013; 5(2): 152-166. PMID: 23306434.
22. Wallace DC. Mitochondrial diseases in man and mouse. *Science*.1999; 283(5482):1482-1488. PMID:10066162
23. Detmer SA, Chan DC. Functions and dysfunctions of mitochondrial dynamics. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2007; 8(11): 870-879. PMID: 17928812.

24. Camara AK, Lesnefsky EJ, Stowe DF. Potential therapeutic benefits of strategies directed to mitochondria. *Antioxid Redox Signal*. 2010; 13(3): 279–347. PMID: 20001744.
25. Pourahmad J, Hosseini MJ. Application of Isolated Mitochondria in Toxicological and Clinical Studies. *Iran J Pharm Res*. 2012; 11(3): 703-704.
26. Pourahmad J, Shaki F, Tanbakosazan F, Ghalandari R, Ettehad HA, Dahaghin E. Protective effects of fungal  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 3)-D-glucan against oxidative stress cytotoxicity induced by depleted uranium in isolated rat hepatocytes. *Hum Exp Toxicol* 2011; 30(3): 173-181. PMID: 20522489.
27. Bastianetto S, Quirion R. Heme oxygenase 1: another possible target to explain the neuroprotective action of resveratrol, a multifaceted nutrient-based molecule. *Exp Neurol*. 2010; 225(2): 237–239. PMID: 20603117.
28. Jang M, Cai L, Udeani GO, Slowing KV, Thomas CF, Beecher CW, et al. Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes. *Science*. 1997; 275(5297): 218-220. PMID: 8985016.
29. Ungvari Z, Labinskyy N, Mukhopadhyay P, Pinto JT, Bagi Z, Ballabh P, et al. Resveratrol attenuates mitochondrial oxidative stress in coronary arterial endothelial cells. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2009; 297(5): 1876- 1881. PMID: 19749157.
30. Virgili M, Contestabile A. Partial neuroprotection of in vivo excitotoxic brain damage by chronic administration of the red wine antioxidant agent, trans-resveratrol in rats. *Neurosci Lett*. 2000; 281(2-3): 123–126. PMID: 10704758.
31. Quincozes-Santos A, Gottfried C. Resveratrol modulates astroglial functions: neuroprotective hypothesis. *Ann N Y Acad Sci*. 2011; 1215: 72–78. PMID: 21261643.
32. Sinha K, Chaudhary G, Gupta YK. Protective effect of resveratrol against oxidative stress in middle cerebral artery occlusion model of stroke in rats. *Life Sci*. 2002; 71(6): 655–665. PMID: 12072154.
33. Richard T, Pawlus AD, Iglésias ML, Pedrot E, Waffo-Teguo P, Mérillon JM, et al. Neuroprotective properties of resveratrol and derivatives. *Ann N Y Acad Sci*. 2011 1215: 103-108. PMID: 21261647.
34. Tiwari V, Chopra K. Resveratrol prevents alcohol-induced cognitive deficits and brain damage by blocking inflammatory signaling and cell death cascade in neonatal rat brain. *J Neurochem*. 2011; 117(4): 678–690. PMID: 21375533.



## ***Protective Effects of Resveratrol against Paraquat-Induced Mitochondrial Dysfunction in Brain and Lung Isolated Mitochondria***

Mohammad Shokrzadeh<sup>1,2</sup>,  
Faezeh Alidoust<sup>2</sup>,  
Yazdan Nourian<sup>2</sup>,  
Narges Vaezi<sup>2</sup>,  
Ebrahim Mohammadi<sup>3</sup>,  
Fatemeh Shaki<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Pharmaceutical Sciences Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

<sup>2</sup> Department of Toxicology and Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

<sup>3</sup> Kurdistan Environmental Health Research Center, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran

(Received August 13, 2013 ; Accepted May 19, 2014)

### ***Abstract***

**Background and purpose:** Resveratrol (RSV) is a naturally existing polyphenolic compound abundantly found in grapes and several plants. It has potent free radical scavenger and antioxidative properties with significant effects in reducing oxidative damage. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction contribute to PQ induced tissue damage. In this study, the protective effect of RSV was investigated against PQ induced mitochondrial toxicity in lung and brain isolated mitochondria.

**Material and Methods:** Mitochondria were isolated from fresh rat's lung and brain tissues using differential centrifugation technique. Isolated mitochondria were divided into control group, PQ group, and PQ plus RSV-pretreated group. Mitochondrial viability was assessed using the MTT colorimetric assay.

**Results:** Paraquat induced mitochondrial dysfunction was found in lung and brain isolated mitochondria in a concentration-dependent manner and higher toxicity was observed in brain isolated mitochondria. RSV prevented PQ-induced mitochondrial dysfunction in rat's lung and brain isolated mitochondria.

**Conclusion:** Considering the protective effects of RSV against mitochondrial toxicity of PQ, this compound can be used as possible agent for prevention and treatment of pathological condition due to oxidative stress and mitochondrial dysfunction.

**Keywords:** Paraquat, resveratrol, mitochondrial dysfunction, brain, lung, MTT assay

J Mazandaran Univ Med Sci 2014; 24(114): 93-101 (Persian).