

Research Paper

The Effects of Quercetin on the Tissue Quality and Function of Mouse Autotransplanted Ovary

*Malek Soleimani Mehranjani¹ , Naimeh Delbari¹ , Sepideh Ahmadi¹ 

1. Department of Biology, Faculty of Science, Arak University, Arak, Iran.

**Citation** Soleimani Mehranjani M, Delbari N, Ahmadi S. The Effects of Quercetin on the Tissue Quality and Function of Mouse Autotransplanted Ovary. Qom Univ Med Sci J. 2021; 15(1):38-47. <https://doi.org/10.52547/qums.15.1.38> <https://doi.org/10.52547/qums.15.1.38>

Received: 18 Dec 2020

Accepted: 18 Mar 2021

Keywords:

Ovary- transplantation, Quercetin, Stereology, Mouse

ABSTRACT

Background and Objectives: Ischemia-Reperfusion injury, followed by the production of oxygen free radicals and oxidative stress are the main limitations of ovarian tissue transplantation. We aimed to investigate the effects of quercetin as an antioxidant on the quality of autotransplanted mouse ovaries.

Methods In total, 36 female NMRI mice were divided into 3 groups of control, autografted, and autografted + quercetin (50 mg/kg/day). Treatment was performed one day before till 7 days after transplantation and 28 days after transplantation; ovaries were removed for stereological assessments. Serum samples were collected on days 7 and 28 post-transplantation to measure the level of malondialdehyde, total antioxidant capacity, estradiol, and progesterone. The obtained data were analyzed using one-way Analysis of Variance (ANOVA) and Tukey's test at the significance level of $P < 0.05$.

Results The mean total volume of the ovary, the volume of the cortex, and the volume of the medulla, the mean number of different types of follicles ($P < 0.001$), the level of estradiol ($P < 0.05$), progesterone ($P < 0.001$), and total antioxidant capacity ($P < 0.01$), and the recovery rate of the estrous cycle ($P < 0.001$) significantly decreased in the autografted group, compared to the controls; however, the mentioned parameters significantly increased in the autografted + quercetin group, compared to the autografted group ($P < 0.01$). A significant increase was observed in the level of malondialdehyde on days 7 ($P < 0.001$) and 28 ($P < 0.01$) post-transplantation in the autografted group, compared to the control group; however, this parameter was compensated to the control level in the autografted + quercetin group.

Conclusion The present study findings revealed indicated that quercetin could improve tissue quality and the function of autotransplanted mouse ovaries.

*** Corresponding Author:**

Malek Soleimani Mehranjani

Address: Department of Biology, Faculty of Science, Arak University, Arak, Iran.

Tel: +98 (86) 34173400

E-Mail: m-soleimani@araku.ac.ir

مقاله پژوهشی

اثر کوثرستین بر کیفیت بافت و عملکرد تخمدان اتوگرفت موش

*ملک سلیمانی مهرنجانی^۱، نعیمه دلبری^۱، سپیده احمدی^۱

۱. گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه اراک، اراک، ایران.

چکیده

تاریخ دریافت: ۲۸ آذر ۱۳۹۹

تاریخ پذیرش: ۲۸ اسفند ۱۳۹۹

زمینه و هدف: آسیب ایسکمی ریپرفیوژن و به دنبال آن تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و استرس اکسیداتیو از محدودیت‌های اصلی پیوند بافت تخمدان به شمار می‌روند. هدف بررسی اثر کوثرستین به عنوان یک آنتی‌اکسیدان بر کیفیت تخمدان‌های اتوگرفت موش بود.

روش بررسی: ۳۶ موش ماده نژاد NMRI به سه گروه کنترل، اتوگرفت و اتوگرفت + کوثرستین (۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم در روز) تقسیم شدند. تیمار یک روز قبل تا هفت روز پس از پیوند انجام شد و ۲۸ روز بعد، تخمدان‌ها برای ارزیابی‌های استریولوژیک خارج شدند. نمونه‌های سرمی در روزهای هفتم و بیست‌وهشتم بعد از پیوند برای اندازه‌گیری سطح مالون دی‌آلدئید، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل، استرادیول و پروژسترون جمع‌آوری شدند. داده‌ها با استفاده از روش آنالیز واریانس یک‌طرفه و تست توکی و در سطح معنی‌داری $P < 0.05$ تجزیه و تحلیل شد.

یافته‌ها: میانگین حجم کل تخمدان، حجم کورتکس و حجم مدولا، میانگین تعداد انواع مختلف فولیکول‌ها ($P < 0.001$)، سطح استرادیول ($P < 0.05$)، پروژسترون ($P < 0.001$) و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل ($P < 0.001$) و میزان بازگشت سیکل استروس ($P < 0.001$) در گروه اتوگرفت نسبت به گروه کنترل کاهش معناداری یافت؛ در حالی که پارامترهای ذکرشده در گروه اتوگرفت + کوثرستین نسبت به گروه اتوگرفت افزایش معنی‌داری یافتند ($P < 0.001$). افزایش معنی‌داری در سطح مالون دی‌آلدئید در روزهای هفتم ($P < 0.001$) و بیست‌وهشتم ($P < 0.001$) پس از پیوند در گروه اتوگرفت نسبت به گروه کنترل مشاهده شد. این پارامتر در گروه اتوگرفت + کوثرستین، در حد گروه کنترل جبران شد.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که کوثرستین می‌تواند کیفیت بافت و عملکرد تخمدان‌های اتوگرفت موش را بهبود بخشد.

کلیدواژه‌ها:

پیوند تخمدان،
کوثرستین، استریولوژی،
موش

مقدمه

ضروری به نظر می‌رسد [۲، ۱]. اتوگرفت بافت تخمدان یکی از رایج‌ترین راهکارهای حفظ باروری در این بیماران است [۳]. اما آسیب ایسکمی ریپرفیوژن از محدودیت‌های اصلی پیوند بافت تخمدان به شمار می‌رود [۴]. تولید بیش از حد رادیکال‌های آزاد اکسیژن و پراکسیداسیون لیپیدی در طی ایسکمی ریپرفیوژن پس از پیوند، مکانیسم‌های متعدد مخری چون مهار عملکرد میتوکندری، افزایش سطح کلسیم، التهاب و مرگ سلولی را موجب می‌شود [۵، ۶] که در نهایت باعث از بین رفتن تعداد زیادی از فولیکول‌ها در تخمدان پیوندی می‌شود [۷]؛ به طوری که گروهی از محققین بیان کرده‌اند که آسیب ایسکمی در طی فرایند اتوگرفت بافت تخمدان، منجر به تهی شدن ۶۰-۹۵ درصد از ذخائر فولیکولی می‌شود [۸]؛ بنابراین حذف رادیکال‌های آزاد به عنوان هدف دارویی مهمی برای بهبود عوارض ایسکمی

با توسعه برنامه‌های پیش‌گیری از سرطان، تشخیص زود هنگام و روش‌های مدرن درمان سیتوتوکسیک در دوران کودکی، نوجوانی و بلوغ، جمعیت افراد درمان‌شده در سنین مختلف تا حد زیادی افزایش یافته است. با وجود پیشرفت‌های روزافزون در روش‌های درمان سرطان، مانند شیمی‌درمانی، رادیوتراپی و پیوند مغز استخوان، این روش‌های درمانی فعالیت تولید مثلی و اندوکرینی این افراد را تحت تأثیر قرار داده و تعداد بسیار زیادی از زنان و دختران جوان مبتلا به سرطان تحت این روش‌های درمانی دچار ناباروری یا ناتوانی زودرس تخمدانی می‌شوند. این در حالی است که این افراد خواهان حفظ باروری پس از بهبودی هستند و حفظ باروری این بیماران قبل از شروع درمان

* نویسنده مسئول:

ملک سلیمانی مهرنجانی

نشانی: اراک، دانشگاه اراک، دانشکده علوم پایه، گروه زیست‌شناسی.

تلفن: ۳۴۱۷۳۴۰۰ (۸۶) ۹۸+

رایانامه: m-soleimani@araku.ac.ir

ریپرفیوژن شناخته شده‌اند [۹]. بررسی مطالعات صورت گرفته در این زمینه به‌خوبی روشن می‌کند که همگام با پیوند بافت، اقداماتی نیز باید جهت کاهش آسیب‌های ایسکمی ریپرفیوژن صورت پذیرد. در مطالعه‌ای که نوگنت در سال ۱۹۹۸ انجام داد به این نتیجه رسید که افزودن آنتی اکسیدان از طریق کاهش آسیب‌های ایسکمی ریپرفیوژن، موجب بهبود بقای فولیکولی در طی پیوند بافت تخمدان می‌شود [۱۰]. کوثرستین با فرمول مولکولی $C_{15}H_{10}O_7$ به عنوان یکی از مهم‌ترین و فراوان‌ترین ترکیبات خانواده فلاونوئیدها به شمار می‌رود که در میوه‌ها (عمدتاً مرکبات)، سبزیجات، بسیاری از دانه‌ها، روغن زیتون، سیب، پیاز، چای سبز، شراب قرمز و توت یافت می‌شود و دارای بیشترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی در میان فلاونوئیدهاست [۱۱-۱۳].

کوثرستین دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی است؛ به طوری که باعث حفظ سطح سرمی گلوکاتایون، کاهش سطح سرمی مالون دی‌آلدئید، کاهش متابولیسم نیتریک اکسید، کاهش تشکیل سوپراکسید، کاهش آزادسازی واسطه‌های اکسیدانی و التهابی می‌شود [۱۴، ۱۵]. خواص آنتی‌اکسیدانی فلاونوئیدها به دلیل ویژگی مهارکننده هیدروژن و رادیکال‌های آزاد است. بنابراین از سلول در برابر مرگ آپوپتوز ناشی از اکسیدان محافظت می‌کنند [۱۵]. ژنسر و همکارانش، مطالعه‌ای پیرامون اثر حفاظتی کوثرستین بر سطوح آلبومین تغییر یافته ایسکمی^۱ (به عنوان یک مارکر برای شرایط مربوط به ایسکمی و التهاب) و آپوپتوز در آسیب آزمایشی ایسکمی ریپرفیوژن تخمدان در رت انجام دادند. در این تحقیق کوثرستین با دز ۱۵ میلی‌گرم / کیلوگرم / وزن بدن به صورت داخل صفاقی ۳۰ دقیقه قبل از ایجاد ایسکمی ریپرفیوژن تزریق شد. آن‌ها نشان دادند که تیمار با کوثرستین باعث کاهش پراکسیداسیون لیپیدی ناشی از ایسکمی ریپرفیوژن می‌شود، از آسیب ایسکمی ریپرفیوژن تخمدان جلوگیری و به حفظ مرفولوژی طبیعی تخمدان کمک می‌کند [۱۵]؛ بنابراین با توجه به نقش آنتی‌اکسیدانی، آنتی‌آپوپتوزی و ضد التهابی کوثرستین، در مطالعه حاضر اثر آن بر کاهش آسیب‌های ایسکمی-ریپرفیوژن، کیفیت بافت و عملکرد تخمدان اتوگرفت موش مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی

در این مطالعه از ۳۶ سر موش ماده ۴ تا ۵ هفته‌ای نژاد NMRI^۲ استفاده شد. این حیوانات از مؤسسه پاستور در تهران تهیه و در خانه حیوانات دانشگاه اراک، در شرایط متعادل (دمای 21 ± 2 درجه سانتی‌گراد و نور محیطی با شرایط ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنائی) به مدت یک هفته قبل از انجام آزمایش جهت تطبیق با محیط نگهداری شدند و آب و غذای کافی در اختیار آن‌ها

قرار گرفت. موش‌ها به سه گروه شامل گروه کنترل، گروه اتوگرفت (تزریق نرمال سالیین به صورت درون صفاقی یک روز قبل تا هفت روز بعد از پیوند) و گروه اتوگرفت + کوثرستین (دریافت‌کننده کوثرستین با دز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در روز [۱۶، ۱۷] به صورت درون صفاقی یک روز قبل تا هفت روز بعد از پیوند) تقسیم شدند و هر گروه به دو زیرگروه ($n=6$) تقسیم شد: زیرگروه هفت روز بعد از پیوند (برای اندازه‌گیری غلظت مالون دی‌آلدئید و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل سرم) و زیرگروه ۲۸ روز بعد از پیوند (برای بررسی‌های بافت‌شناسی، سیکل استروس و سنجش غلظت هورمون‌ها و مالون دی‌آلدئید سرم). به منظور انجام پیوند تخمدان، ابتدا موش‌ها با ترکیب دو ماده بیهوشی کتامین (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بیهوش شدند. به این صورت که به ازای هر ۱۰ گرم وزن موش ۱۰۰ لانداز آن به صورت درون صفاقی تزریق شد. پس از بیهوش کردن، موهای پشت بدن جانور در هر دو سمت به وسیله تیغ تراشیده شد. سپس در دو طرف ستون فقرات، برش‌های کوچکی (حدوداً نیم سانتی‌متر) در پوست و صفاق ایجاد شد و تخمدان‌ها از اویداکت و چربی جدا و بلافاصله به عضله سینه‌ای سطحی پیوند زده شد. ۲۸ روز پس از پیوند ابتدا موش‌ها با ترکیب ماده بیهوشی کتامین زایلازین بیهوش شدند. پوست ناحیه موردنظر برای خروج تخمدان از محل پیوند (عضله پشتی) برداشته شد، بعد از آن ماهیچه در ناحیه پیوند باز شده و تخمدان با دقت از ماهیچه جدا و به محلول فیکساتیو بوئن به مدت ۲۴ ساعت انتقال داده شد و از قلب موش‌ها خون‌گیری انجام گرفت، سپس نمونه‌های خون به مدت ۱۰ دقیقه با ۱۳ هزار دور در دقیقه سانتریفیوژ شد و نمونه‌های سرم جهت اندازه‌گیری سطح هورمون‌های استرادیول و پروژسترون و میزان مالون دی‌آلدئید مورد استفاده قرار گرفت. بعد از انجام مراحل پاساژ بافتی و قالب‌گیری، به کمک دستگاه میکروتوم از بلوک‌های پارافینی تهیه‌شده به روش IUR^۳، برش‌های ۵ و ۲۰ میکرونی به طور متناوب و به صورت سریال تهیه و با رنگ آمیزی هماتوکسیلین اتوزین رنگ آمیزی شد. سپس با استفاده از روش‌های استریولوژی، پارامترهای کمی از جمله حجم کل تخمدان، حجم کورتکس، حجم مدولا و تعداد انواع مختلف فولیکول‌ها اندازه‌گیری شد.

محاسبه حجم کل تخمدان، حجم کورتکس و حجم مدولا با استفاده از روش کوالیری انجام گرفت. ابتدا با استفاده از میکروسکوپ نوری (BX41TF, Olympus, Japan) و نرم افزار Olysia، تصویر برش‌های ۵ میکرونی با بزرگنمایی ۴۰ برابر روی مانیتور انداخته شد. سپس پروب نقطه‌ای به طور تصادفی و بدون هیچ‌گونه سوگیری روی تصویر انداخته و نقاط برخورد کرده با کل تصویر تخمدان، کورتکس و مدولا (به طور جداگانه) شمارش شدند. حجم کل تخمدان با استفاده از فرمول شماره ۱ و با وارد

1. Ischemia modified albumin (IMA)
2. Naval Medical Research Institute

3. Isotropic Uniform Random

کردن مجموع نقاط شمارش شده در هر برش (ΣP)، ضخامت مقاطع (t) و سطح پروپ نقطه‌ای $a(p)$ به دست آمد.

۱.

$$V_{total\ ovary} = \sum_{i=1}^n p \times a(p) \times t$$

برای محاسبه حجم کورتکس و مدولا، ابتدا دانسیته حجمی کورتکس و مدولا محاسبه شد. سپس حجم کورتکس و مدولا به طور غیر مستقیم به وسیله ضرب کردن دانسیته حجمی در حجم کل تخمدان طبق فرمول شماره ۲ تخمین زده شد [۱۸].

۲.

$$V_{cortex/medulla} = \frac{\sum_{i=1}^n P_{cortex/medulla}}{\sum_{i=1}^n P_{total\ ovary}}$$

$$V_{cortex/medulla} = V_{total\ ovary} \times V_{cortex/medulla}$$

برای محاسبه تعداد فولیکول‌ها از روش اپتیکال دایسکتور و از فریم مخصوص شمارش^۴ و دستگاه میکروکتور (Heidenhain ND221B, Germany) استفاده شد. در این روش با استفاده از میکروسکوپ نوری متصل به کامپیوتر تصویر برش‌های ۲۰ میکرونی با بزرگنمایی ۱۰۰۰ برابر روی مانیتور قرار داده شد و میدان دیدهای تصادفی انتخاب شدند، سپس از دو ناحیه به نام حفاظت شده^۵ به ضخامت ۵ میکرون از بالا و پایین برش برای شمارش صرف نظر شد (به دلیل وجود آرتیفکت‌های احتمالی در سطح بافت) و تمام انواع فولیکول‌هایی که در فریم شمارش نصب شده روی صفحه‌ی مانیتور کامپیوتر انتخاب شدند، شمارش شدند. در ادامه ابتدا بر اساس فرمول شماره ۳، دانسیته عددی انواع فولیکول‌ها محاسبه شد.

۳.

$$N_v = \frac{\sum_{i=1}^n Q}{a.f.h.\sum_{i=1}^n p}$$

که در آن ΣQ مجموع تعداد فولیکول‌های شمارش شده، Σp مجموع نقاط وسط فریم که با میدان‌های دید انتخابی برخورد کرده، h ارتفاعی که شمارش در آن انجام گرفت و a/f مساحت فریم در مقیاس واقعی بافت است.

سپس تعداد مطلق فولیکول‌ها با ضرب دانسیته عددی در حجم کل تخمدان به دست آمد (فرمول شماره ۴) [۱۸].

۴.

$$N_{total} = V_{total\ ovary} \times N_v$$

سنجش میزان غلظت هورمون‌های استرادیول و پروژسترون سرم خون با کیت ELISA (شرکت DRG آلمان) و طبق پروتکل شرکت انجام گرفت. در نهایت میزان جذب با دستگاه الیزا ریدر

4. Unbiased Counting Frame
5. Guard zone

در طول موج ۴۵۰ نانومتر اندازه‌گیری و بر حسب نانوگرم بر میلی‌لیتر گزارش شد.

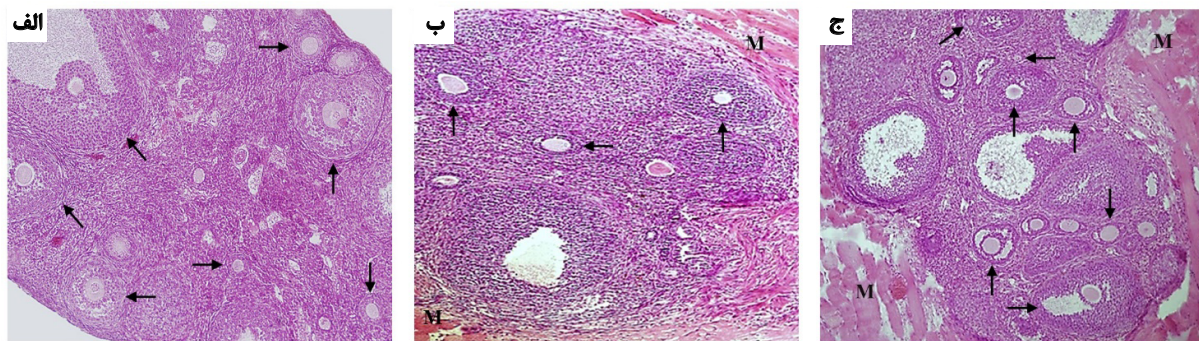
هفت روز بعد از پیوند، نمونه‌های خون از قلب موش‌ها جمع‌آوری و به مدت ۱۰ دقیقه با ۱۳ هزار دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند و بعد از جداسازی سرم، نمونه‌های سرم در دمای منفی ۸۰ درجه سانتی‌گراد تا زمان آنالیز بیوشیمیایی سرم (اندازه‌گیری میزان مالون دی‌آلدئید و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل) نگهداری شدند. اندازه‌گیری مالون دی‌آلدئید طبق روش Buege و Aust انجام گرفت. ابتدا محلول واکنش شامل تری کلرواستیک اسید ۱۵ درصد گرم بر میلی‌لیتر، تیوباریونیک اسید ۳۷۵ درصد گرم بر میلی‌لیتر و اسید کلریدریک ۰/۲۵ نرمال تهیه شد. سپس ۵۰ میکرولیتر از نمونه سرم با ۱۰۰ میکرولیتر از محلول تهیه‌شده مخلوط شد و نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در بن‌ماری جوش قرار داده شد. سپس نمونه‌ها به سرعت توسط آب سرد، خنک و به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. مایع رویی جدا شد و جذب آن در ۵۳۲ نانومتر در برابر بلاتک که حاوی تمام ترکیبات به جز نمونه بود، قرائت شد. در نهایت غلظت مالون دی‌آلدئید با استفاده از ضریب خاموشی آن که عبارت است از $1.65 \times 10^5 M^{-1} CM^{-1}$ ، محاسبه شد و بر حسب نانومول بر میلی‌لیتر گزارش شد [۱۹].

برای اندازه‌گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل سرم از تست FRAP^۶ استفاده شد. روش انجام تست FRAP بدین گونه بود که به ازای هر ۵۰ میکرولیتر از نمونه سرم، ۱/۵ میلی‌لیتر از معرف ساخته‌شده اضافه شد و به مدت ۵ دقیقه در بن‌ماری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و جذب آن در طول موج ۵۹۳ نانومتر خوانده شد. سپس با استفاده از فرمول رگرسیون حاصل در منحنی استاندارد، میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام نمونه‌ها بر حسب میکرومول بر میلی‌لیتر به دست آمد [۲۰].

برای بررسی سیتولوژی واژن به عنوان شاخص از سرگیری فعالیت‌های سیکلی تخمدان، از روز هفتم بعد از پیوند و به صورت روزانه تا ظهور اولین پروفایل سیکل استروس، اسمیر واژنی از گروه‌های مختلف ۲۸ روزه تهیه شد. با یک سوآپ مرطوب‌شده با آب مقطر دیواره واژن به آرامی خراشیده شد و با چرخاندن سوآپ داخل مجرای واژن موش، سلول‌های مجرای واژن کنده شده و به اسلاید شیشه‌ای منتقل شد. اسمیر واژنی هر موش بلافاصله بعد از تهیه، با آئوزین رنگ‌آمیزی و زیر میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۴۰ برابر مشاهده و بررسی شد. مرحله سیکل استروس از نوع سلول‌ها (سلول‌های اپی‌تلیال شاخی) تعیین شد.

داده‌های حاصل توسط نرم‌افزار SPSS و روش آنالیز واریانس یک‌طرفه و تست آماری توکی مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت و تفاوت میانگین‌ها در سطح $P < 0.05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

6. Ferric Reducing Ability of Plasma



مجله
دانشگاه علوم پزشکی قم

تصویر ۱. تصاویر بافت‌شناسی از مقاطع تخمدان در گروه‌های مختلف موش، ۲۸ روز پس از پیوند هتروتوپیک در عضله سרینی سطحی (الف) گروه کنترل: تعداد قابل توجه فولیکول‌ها در مراحل مختلف رشد دیده می‌شود؛ (ب) گروه اتوگرفت: دارای تعداد کمتری فولیکول نسبت به گروه کنترل است؛ (ج) گروه اتوگرفت + کوئرستین: نشان‌دهنده افزایش تعداد فولیکول‌ها نسبت به گروه اتوگرفت است. انواع فولیکول‌ها با فلش و عضله با حرف M نشان داده شده است. (برش‌های ۵ میکرونی، رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین اتوزین؛ بزرگ‌نمایی ۱۰۰ برابر).

یافته‌ها

کنترل، کاهش معنی‌داری را نشان داد ($P < 0/001$). در حالی که افزایش معنی‌داری در میانگین تعداد فولیکول‌های بدوی ($0/1$)، اولیه ($P < 0/001$)، پره‌آنترال ($P < 0/001$) و آنترال ($0/01$) و تعداد کل فولیکول‌ها ($P < 0/001$) در گروه اتوگرفت + کوئرستین نسبت به گروه اتوگرفت مشاهده شد ($P < 0/001$) و در میانگین، تعداد فولیکول‌های اولیه و تعداد کل فولیکول‌ها به سطح گروه کنترل رسید ($P > 0/05$) (جدول شماره ۲).

کاهش معنی‌داری در میانگین سطح هورمون‌های استرادیول ($P < 0/005$) و پروژسترون ($P < 0/001$) در گروه اتوگرفت نسبت به گروه کنترل مشاهده شد. در حالی که میزان هورمون‌های استرادیول ($P < 0/01$) و پروژسترون ($P < 0/001$) در گروه اتوگرفت + کوئرستین نسبت به گروه اتوگرفت دارای افزایش معنی‌دار بود ($P < 0/001$) و در حد گروه کنترل جبران شد ($0/05$) ($P > 0/05$) (جدول شماره ۳).

شروع سیکل استروس در گروه اتوگرفت نسبت به گروه کنترل به طور معنی‌داری دیرتر رخ داد ($P < 0/001$). در گروه اتوگرفت + کوئرستین، شروع سیکل استروس به طور معنی‌داری زودتر

با بررسی میکروسکوپی مقاطع بافتی و مقایسه آن‌ها در گروه‌های مختلف مشاهده شد که تخمدان‌های گروه کنترل دارای تعداد زیادی از انواع فولیکول‌ها بودند. در حالی که فولیکول‌های مختلف در گروه اتوگرفت کاهش قابل توجهی پیدا کردند. در گروه اتوگرفت + کوئرستین فولیکول‌ها نسبت به گروه اتوگرفت تراکم بیشتری را نشان دادند (تصویر شماره ۱).

میانگین حجم کل تخمدان، حجم کورتکس و حجم مدولا در گروه اتوگرفت نسبت به گروه کنترل به طور معنی‌داری کاهش یافت ($P < 0/001$). از طرفی افزایش معنی‌داری در میانگین حجم کل تخمدان ($P < 0/001$)، حجم کورتکس ($P < 0/01$) و حجم مدولا ($P < 0/01$) در گروه اتوگرفت + کوئرستین نسبت به گروه اتوگرفت مشاهده شد و میانگین حجم مدولا به سطح گروه کنترل رسید ($P > 0/05$) (جدول شماره ۱).

مقایسه میانگین تعداد فولیکول‌های بدوی، اولیه، پره‌آنترال و آنترال و تعداد کل فولیکول‌ها در گروه اتوگرفت نسبت به گروه

جدول ۱. مقایسه میانگین حجم کل تخمدان، حجم کورتکس و حجم مدولا (میلی‌متر مکعب) در گروه‌های مختلف موش، ۲۸ روز پس از پیوند هتروتوپیک در عضله سרینی سطحی

گروه‌ها	حجم مدولا	حجم کورتکس	میانگین $\pm$ انحراف معیار
حجم کل تخمدان			
کنترل	$0/50 \pm 0/18^a$	$1/58 \pm 0/23^a$	$2/08 \pm 0/21^a$
اتوگرفت	$0/08 \pm 0/01^b$	$0/53 \pm 0/08^b$	$0/61 \pm 0/08^b$
اتوگرفت + کوئرستین	$0/35 \pm 0/13^a$	$0/87 \pm 0/08^a$	$1/22 \pm 0/21^a$

مجله
دانشگاه علوم پزشکی قم

میانگین‌های با کد حرف‌های متفاوت در یک ستون نسبت به یکدیگر دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشند (آزمون واریانس یک‌طرفه، تست توکی، ($P < 0/05$)).

جدول ۲. مقایسه میانگین تعداد انواع فولیکول‌های تخمدان در گروه‌های مختلف موش، ۲۸ روز پس از پیوند هتروتوپیک در عضله سרینی سطحی

گروه ها	تعداد کل فولیکول‌ها	تعداد فولیکول‌های آنترال	تعداد فولیکول‌های پره‌آنترال	تعداد فولیکول‌های اولیه	تعداد فولیکول‌های بدوی
کنترل	۳۰۱۰/۴۹±۳۴۹/۸۳ ^a	۱۱۶/۰۸±۱۰/۸۰ ^a	۲۸۴/۶۲±۲۴۶/۹۳ ^a	۵۸۰/۴۷±۳۷/۷۶ ^a	۲۰۲۹/۴۳±۳۴۹/۲۸ ^a
اتوگرفت	۱۶۷۱/۳۴±۶۲/۰۰ ^b	۵۵/۶۴±۴/۸۳ ^b	۱۲۸/۵۴±۱۵/۹۹ ^b	۳۵۲/۸۵±۷۸/۶۳ ^b	۱۱۳۴/۳۱±۶۹/۸۱ ^b
اتوگرفت + کوثرستین	۲۶۴۵/۳۴±۳۸۵/۶۷ ^c	۹۹/۲۵±۴/۴۶ ^c	۲۲۰/۷۵±۱۶/۲۲ ^c	۵۵۶/۸۷±۴۸/۰۵ ^c	۱۶۳۴/۳۰±۱۹۸/۴۹ ^c

مجله
دانشگاه علوم پزشکی قم

میانگین‌های با کد حرف‌های متفاوت در یک ستون نسبت به یکدیگر دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشد (آزمون واریانس یک‌طرفه، تست توکی، $P < 0.05$).

پیشین است که طبق گزارشات آن‌ها، این پارامترها در گروه اتوگرفت به طور معناداری کاهش یافته است [۲۱، ۲۲]. همچنین در مطالعه حاضر با مقایسه حجم کل تخمدان، حجم کورتکس، حجم مدولا و تعداد انواع مختلف فولیکول‌ها در گروه اتوگرفت + کوثرستین نسبت به گروه اتوگرفت، افزایش معنی‌داری مشاهده شد. مطالعات نشان داده‌اند که تولید رادیکال‌های آزاد و وقوع التهاب و آپوپتوز در بافتی که دچار شرایط ایسکمی شده است [۲۲]، موجب آتزی فولیکولی و کاهش تشکیل جسم زرد در تخمدان‌های اتوگرفت می‌شود [۲۱] و این می‌تواند دلیلی برای کاهش حجم تخمدان و کورتکس در گروه اتوگرفت باشد. از طرفی مرکز بافت پیوندی، بیشتر از نواحی کناری بافت در معرض خطر هیپوکسی و به دنبال آن ایسکمی قرار دارد که خود می‌تواند منجر به کاهش حجم مدولا شود [۲۳]. آسیب ایسکمی ریپرفیوژن سبب تولید واسطه‌های استرس اکسیداتیو مثل رادیکال‌های آزاد اکسیژن از سلول‌های ملتهب در اطراف ناحیه دچار ایسکمی ریپرفیوژن می‌شود [۲۴] و این رها شدن رادیکال‌های آزاد باعث بیان ژن‌های پیش‌برنده التهاب می‌شود. در نتیجه میزان سایتوکین‌ها افزایش یافته و بیان مولکول‌های اتصال مثل مولکول اتصال داخل سلولی ICAM-1، P-selectin و E-selectin در سطح سلول‌های اندوتلیال القا شده که سبب اتصال لکوسیت‌ها به سلول‌های اندوتلیالی در بافت آسیب‌دیده

از گروه اتوگرفت مشاهده شد ($P < 0.001$). به طوری که در مقایسه با گروه کنترل اختلاف معنی‌داری را نشان نداد ($P > 0.05$) (جدول شماره ۳).

افزایش معنی‌داری در میانگین سطح مالون دی‌آلدئید هفت‌روزه ($P < 0.001$) و ۲۸ روزه ($P < 0.001$) در گروه اتوگرفت نسبت به گروه کنترل مشاهده شد. این پارامتر در گروه اتوگرفت + کوثرستین نسبت به گروه اتوگرفت به طور معنی‌داری کاهش یافت ($P < 0.001$) و نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی‌داری را نشان نداد ($P > 0.05$) (جدول شماره ۴). مقایسه میانگین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل در گروه اتوگرفت نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری را نشان داد ($P < 0.001$). از طرفی افزایش معنی‌داری در میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل در گروه اتوگرفت + کوثرستین نسبت به گروه اتوگرفت مشاهده شد ($P < 0.001$) و این افزایش در سطح گروه کنترل بود ($P > 0.05$) (جدول شماره ۴).

بحث

با توجه به نتایج مطالعه حاضر، میانگین حجم کل تخمدان، حجم کورتکس و حجم مدولا و همچنین تعداد انواع مختلف فولیکول‌ها در گروه اتوگرفت نسبت به گروه کنترل، به طور معنی‌داری کاهش یافت. این نتایج مطابق با تعدادی از مطالعات

جدول ۳. مقایسه میانگین سطح هورمون‌های استرادیول و پروژسترون و روز شروع سیکل استروس در گروه‌های مختلف موش، ۲۸ روز پس از پیوند هتروتوپیک در عضله سרینی سطحی

گروه ها	روز شروع سیکل استروس	میانگین هورمون پروژسترون	میانگین هورمون استرادیول
کنترل	۸/۵±۱/۰۴ ^a	۱/۴۰±۰/۳۴ ^a	۴۲/۶۵±۵/۵۹ ^a
اتوگرفت	۱۱/۰۰±۰/۸۹ ^b	۰/۳۲±۰/۰۹ ^b	۲۵/۷۰±۵/۶۷ ^b
اتوگرفت + کوثرستین	۸/۱۶±۰/۷۵ ^a	۱/۷۴±۰/۴۷ ^a	۴۹/۳۹±۱۵/۵۷ ^a

مجله
دانشگاه علوم پزشکی قم

مقادیر به صورت میانگین و انحراف معیار هستند. میانگین‌های با کد حرف‌های متفاوت در یک ستون نسبت به یکدیگر دارای تفاوت معنی‌دار هستند (آزمون واریانس یک‌طرفه، تست توکی، $P < 0.05$).

جدول ۴. مقایسه میانگین سطح مالون دی آلدئید هفت و ۲۸ روز بعد از پیوند و میانگین ظرفیت آنتی اکسیدانی کل هفت روز پس از پیوند هتروتوپیک در عضله سرینی سطحی در گروه‌های مختلف موش

گروه ها	میانگین ظرفیت آنتی اکسیدانی کل	میانگین مالون دی آلدئید ۲۸ روزه	میانگین مالون دی آلدئید هفت روزه
کنترل	0.76 ± 0.04^a	2.08 ± 0.60^a	2.55 ± 0.23^a
اتوگرفت	0.57 ± 0.05^b	4.27 ± 0.91^b	7.60 ± 0.57^b
اتوگرفت + کوثرستین	0.74 ± 0.11^a	2.45 ± 0.14^a	3.49 ± 0.24^a

مجله
دانشگاه علوم پزشکی قم

مقادیر به صورت میانگین و انحراف معیار هستند. میانگین‌های با کد حرف‌های متفاوت در یک ستون نسبت به یکدیگر دارای تفاوت معنی‌دار هستند (آزمون واریانس یک طرفه، تست توکی، $P < 0.05$).

با توجه به نتایج تحقیق حاضر، افزایش معنی‌داری در میانگین میزان مالون دی آلدئید سرم خون (هفت و ۲۸ روزه) در گروه اتوگرفت نسبت به گروه کنترل مشاهده شد و مقایسه میزان ظرفیت آنتی اکسیدانی کل در گروه اتوگرفت نسبت به گروه کنترل، کاهش معنی‌داری را نشان داد. این نتایج در راستای یافته‌های تحقیق گروهی از محققین در سال‌های پیشین است [۲۲، ۲۱] و این می‌تواند به دلیل وقوع استرس اکسیداتیو در طول ایسکمی ریپرفیوژن [۳۱] در تخمدان اتوگرفت باشد. درواقع آسیب رادیکال‌های آزاد، مکانیسمی است که در فازهای اولیه ایسکمی شروع می‌شود و یکی از وقایع اصلی در این زمان، وقوع پراکسیداسیون لیپیدی است [۳۲]. واکنش رادیکال‌های آزاد با لیپیدها، تحت واکنش پراکسیداسیون لیپیدی موجب تشکیل پراکسیدهای لیپیدی می‌شود. رادیکال‌های آزاد با لیپیدها واکنش‌های زنجیره‌ای مخربی را شروع می‌کنند. اکسیداسیون لیپید باعث تولید رادیکال بسیار فعال آلکیل می‌شود که به سرعت با اکسیژن واکنش داده و رادیکال پراکسید تولید می‌کند. رادیکال‌های پراکسید نیز می‌توانند باعث اکسید شدن لیپیدها شوند و لیپید هیدرو پراکسیدهایی تولید کنند که به ترکیبات متعددی نظیر الکل‌ها، آلدئیدها، فورما آلکیل‌ها، کتون‌ها و هیدروکربن‌ها و رادیکال‌هایی نظیر آلوکوسیل تجزیه می‌شوند. یکی از ترکیبات حاصل از پراکسیداسیون لیپیدی، مالون دی آلدئید است [۳۳].

مالون دی آلدئید و آلدئیدهای مشابه حاصل از پراکسیداسیون لیپید می‌توانند با پروتئین‌ها و DNA مکان‌های فعال نوکلئوفیل در فسفولیپیدها واکنش داده و ضایعات متنوعی ایجاد کنند [۳۴]. از طرفی در مطالعه حاضر در گروه اتوگرفت + کوثرستین، کاهش معنی‌داری در میانگین سطح مالون دی آلدئید و افزایش معنی‌داری در میزان ظرفیت آنتی اکسیدانی کل نسبت به گروه اتوگرفت مشاهده شد. در همین راستا برخی مطالعات نیز گزارش کرده اند که کوثرستین باعث حفظ سطح سرمی آنتی اکسیدان گلووتاتیون و کاهش سطح سرمی مالون دی آلدئید می‌شود [۱۳، ۱۴]. این یافته‌ها نشان می‌دهد که کوثرستین به عنوان یک آنتی اکسیدان توانسته موجب کاهش استرس اکسیداتیو و

می‌شود؛ به طوری که لکوسیت‌ها به دیواره رگ‌ها چسبیده و به بافت آسیب‌دیده مهاجرت و شروع به ترشح واسطه‌های پیش‌برنده التهابی و آسیب ثانویه بافتی می‌کنند [۲۵]. مشخص شده است که اثر آنتی اکسیدانی کوثرستین در شرایطی که سطح التهاب و استرس اکسیداتیو بالاتر باشد بیشتر است [۲۶]. اثر آنتی اکسیدانی کوثرستین توسط چندین مکانیسم از جمله مهار رادیکال آزاد، حفاظت سلول، شلاته کردن یون‌های فلزی^۲ و نمایش اثرات ضدالتهابی به واسطه پابندی کاهش لکوسیت رخ می‌دهد [۱۵]. همچنین کوثرستین توانایی کاهش سایتوکین‌های التهابی مانند IL-۱۸ و افزایش انواع سایتوکاین‌های ضدالتهابی مانند IL-۱۰ را داراست [۲۷].

در این مطالعه، میانگین غلظت هورمون‌های استرادیول و پروژسترون سرم خون در گروه اتوگرفت به طور معنی‌داری از گروه کنترل پایین‌تر بود و شروع سیکل استروس نیز در گروه اتوگرفت نسبت به گروه کنترل به طور معنی‌داری دیرتر رخ داد. این نتایج با گزارش گروهی از محققین مطابقت دارد [۲۱، ۲۲]. همچنین نتایج مطالعه ما، افزایش معنی‌داری در میانگین میزان این پارامترها در گروه اتوگرفت + کوثرستین نسبت به گروه کنترل نشان داد. با توجه به مطالعات صورت گرفته پیشین، اندوکرینولوژی در حیوانات با تخمدان پیوندشده می‌تواند در بررسی نتایج مربوط به بهبود تکوین اووسیت و فولیکول و همچنین در بازگشت عملکرد طبیعی تخمدان کمک کند [۲۸]. از آنجایی که فولیکول‌های آنترال مسئول ترشح بخش مهمی از استرادیول و جسم زرد نیز مسئول ترشح هورمون پروژسترون هستند [۲۹]، کاهش تعداد فولیکول‌های آنترال و جسم زرد پس از پیوند می‌تواند عاملی برای کاهش استرادیول و پروژسترون در گروه اتوگرفت باشد. اثرات مفید کوثرستین در روند فولیکولوژن و لوتئینیزاسیون از طریق کاهش قابل توجه فولیکول‌های آترتیک و کیستیک، افزایش فولیکول‌های نرمال در مراحل مختلف رشد و عروق‌زایی در لایه تکا گزارش شده است [۳۰].

7. Chelation of metal ions

افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی کل شود.

نتیجه گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که کوثرستین می تواند از طریق ممانعت از استرس اکسیداتیو به طور موثری آسیب ایسکمی ریپرفیوژن را مهار کرده و موجب بهبود کیفیت بافت تخمدان اتوگرفت موش، بقا و تکوین فولیکولی و نیز بازگشت سریع تر عملکرد تخمدان شود.

ملاحظات اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق پژوهش

در این مطالعه اصول اخلاق کار با حیوانات رعایت شده است.

حامی مالی

این مقاله برگرفته از پایان نامه کارشناسی ارشد نویسنده دوم در گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه اراک است، و معاون پژوهشی و فناوری دانشگاه اراک از آن حمایت مالی کرده است.

مشارکت نویسندگان

تحقیق و بررسی: ملک سلیمانی مهرنجانی و نعیمه دلبری؛ منابع: سپیده احمدی و نعیمه دلبری؛ نگارش پیش نویس: سپیده احمدی؛ ویراستاری و نهایی سازی نوشته: ملک سلیمانی مهرنجانی؛ نظارت: ملک سلیمانی مهرنجانی؛ مدیریت پروژه: ملک سلیمانی مهرنجانی.

تعارض منافع

بنابر اظهار نویسندگان این مقاله تعارض منافع ندارد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از همکاری های آقای فراهانی، کارشناس آزمایشگاه تحقیقاتی گروه زیست شناسی دانشگاه اراک، تشکر می کنیم.

References

- [1] Dath C, Van Eyck AS, Dolmans MM, Romeu L, Delle Vigne L, Donnez J, et al. Xenotransplantation of human ovarian tissue to nude mice: Comparison between four grafting sites. *Hum Reprod.* 2010; 25(7):1734-43. Link [DOI:10.1093/humrep/deq131] [PMID]
- [2] Kawamura K, Cheng Y, Sun YP, Zhai J, Diaz-Garcia C, Simon C, et al. Ovary transplantation: To activate or not to activate. *Hum Reprod.* 2015; 30(11):2457-60. [DOI:10.1093/humrep/dev211] [PMID]
- [3] Diaz-Garcia C, Domingo J, Garcia-Velasco JA, Herraiz S, Mirabet V, Iniesta I, et al. Oocyte vitrification versus ovarian cortex transplantation in fertility preservation for adult women undergoing gonadotoxic treatments: A prospective cohort study. *Fertil Steril.* 2018; 109(3):478-85. [DOI:10.1016/j.fertnstert.2017.11.018] [PMID]
- [4] Shiroma ME, Botelho NM, Damous LL, Baracat EC, Soares JM Jr. Melatonin influence in ovary transplantation: Systematic review. *J Ovarian Res.* 2016; 9(1):33. [DOI:10.1186/s13048-016-0245-8] [PMID] [PMCID]
- [5] Juranek I, Bezek S. Controversy of free radical hypothesis: Reactive oxygen species-cause or consequence of tissue injury? *Gen Physiol Biophys* 2005; 24(3):263-78. [PMID]
- [6] Slegtenhorst BR, Dor FJ, Rodriguez H, Voskuil FJ, Tullius SG. Ischemia/reperfusion injury and its consequences on immunity and inflammation. *Curr Transplant Rep.* 2014; 1(3):147-54. [DOI:10.1007/s40472-014-0017-6] [PMID] [PMCID]
- [7] Mahajan N. Fertility preservation in female cancer patients: An overview. *J Hum Reprod Sci.* 2015; 8(1):3-13. [DOI:10.4103/0974-1208.153119] [PMID] [PMCID]
- [8] Aubard Y, Piver P, Cognie Y, Fermeaux V, Poulin N, Driancourt MA. Orthotopic and heterotopic autografts of frozen-thawed ovarian cortex in sheep. *Hum Reprod.* 1999; 14(8):2149-54. [DOI:10.1093/humrep/14.8.2149] [PMID]
- [9] Ozkan OV, Yuzbasioglu MF, Ciralik H, Kurutas EB, Yonden Z, Aydin M, et al. Resveratrol, a natural antioxidant, attenuates intestinal ischemia/reperfusion injury in rats. *Tohoku J Exp Med.* 2009; 218(3):251-8. [DOI:10.1620/tjem.218.251] [PMID]
- [10] Nugent D, Newton H, Gallivan L, Gosden RG. Protective effect of vitamin E on ischaemia-reperfusion injury in ovarian grafts. *J Reprod Fertil.* 1998; 114(2):341-6. [DOI:10.1530/jrf.0.1140341] [PMID]
- [11] Atala E, Fuentes J, Wehrhahn MJ, Speisky H. Quercetin and related flavonoids conserve their antioxidant properties despite undergoing chemical or enzymatic oxidation. *Food Chem.* 2017; 234:479-85. [DOI:10.1016/j.foodchem.2017.05.023] [PMID]
- [12] Ziskova P, Stefek M, Rackova L, Prnova M, Horakova L. Novel quercetin derivatives: From redox properties to promising treatment of oxidative stress related diseases. *Chem Biol Interact.* 2017; 265:36-46. [DOI:10.1016/j.cbi.2017.01.019] [PMID]
- [13] Anand David AV, Arulmoli R, Parasuraman S. Overviews of biological importance of quercetin: A bioactive flavonoid. *Pharmacogn Rev.* 2016; 10(20):84-9. [DOI:10.4103/0973-7847.194044] [PMID] [PMCID]
- [14] Xu D, Hu MJ, Wang YQ, Cui YL. Antioxidant activities of quercetin and its complexes for medicinal application. *Molecules.* 2019; 24(6):1123. [DOI:10.3390/molecules24061123] [PMID] [PMCID]
- [15] Gencer M, Karaca T, Güngör AN, Hacivelioglu SÖ, Demirtaş S, Turkon H, et al. The protective effect of quercetin on IMA levels and apoptosis in experimental ovarian ischemia-reperfusion injury. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2014; 177:135-40. [DOI:10.1016/j.ejogrb.2014.03.036] [PMID]
- [16] Wang J, Qian X, Gao Q, Lv C, Xu J, Jin H, et al. Quercetin increases the antioxidant capacity of the ovary in menopausal rats and in ovarian granulosa cell culture in vitro. *J Ovarian Res.* 2018; 11(1):51. [DOI:10.1186/s13048-018-0421-0] [PMID] [PMCID]
- [17] 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 (Persian)]. *J Cell Tissue.* 2017; 8(3):285-93. http://jct.araku.ac.ir/article_30363.html?lang=en
- [18] Shojafar E, Soleimani Mehranjani M, Shariatzadeh SMA. Adipose derived mesenchymal stem cells improve the structure and function of autografted mice ovaries through reducing oxidative stress and inflammation: A stereological and biochemical analysis. *Tissue Cell.* 2019; 56:23-30. [DOI:10.1016/j.tice.2018.11.005] [PMID]
- [19] Buege JA, Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol.* 1978; 52:302-10. [DOI:10.1016/S0076-6879(78)52032-6]
- [20] Benzie IF, Strain JJ. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: The FRAP assay. *Anal Biochem.* 1996; 239(1):70-6. [DOI:10.1006/abio.1996.0292] [PMID]
- [21] Mahmoodi M, Soleimani Mehranjani M, Shariatzadeh SM, Eimani H, Shahverdi A. N-acetylcysteine improves function and follicular survival in mice ovarian grafts through inhibition of oxidative stress. *Reprod Biomed Online.* 2015; 30(1):101-10. [DOI:10.1016/j.rbmo.2014.09.013] [PMID]
- [22] Shojafar E, Soleimani Mehranjani M, Shariatzadeh SMA. Adipose-derived mesenchymal stromal cell transplantation at the graft site improves the structure and function of autografted mice ovaries: A stereological and biochemical analysis. *Cytotherapy.* 2018; 20(11):1324-36. [DOI:10.1016/j.jcyt.2018.09.006] [PMID]
- [23] Amable PR, Teixeira MV, Carias RB, Granjeiro JM, Borojevic R. Mesenchymal stromal cell proliferation, gene expression and protein production in human platelet-rich plasma-supplemented media. *PloS One.* 2014; 9(8):e104662. [DOI:10.1371/journal.pone.0104662] [PMID] [PMCID]
- [24] Wong CH, Crack PJ. Modulation of neuro-inflammation and vascular response by oxidative stress following cerebral ischemia-reperfusion injury. *Curr Med Chem.* 2008; 15(1):1-4. [DOI:10.2174/092986708783330665] [PMID]
- [25] Yilmaz G, Granger DN. Cell adhesion molecules and ischemic stroke. *Neurol Res.* 2008; 30(8):783-93. [DOI:10.1179/174313208X341085] [PMID] [PMCID]

- [26] Gnoni GV, Paglialonga G, Siculella L. Quercetin inhibits fatty acid and triacylglycerol synthesis in rat-liver cells. *Eur J Clin Invest*. 2009; 39(9):761-8. [DOI:10.1111/j.1365-2362.2009.02167.x] [PMID]
- [27] Zhou DS, Liang ZQ, Qin Q, Zhang MH, Li SL. [Therapeutic efficacy and mechanisms of quercetin in a rat model of non-alcoholic fatty liver disease (Chinese)]. *Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi*. 2013; 21(2):134-7. [PMID] [DOI:10.1111/j.1365-2362.2009.02167.x]
- [28] Li F, Tao Y, Zhang Y, Li Y, Fang F, Liu Y, et al. Follicle growth and oocyte development after ovary transplantation into back muscle of immune-intact adult castrated male mice. *Reproduction*. 2010; 140(3):465-76. [DOI:10.1530/REP-10-0076] [PMID]
- [29] Greenfeld CR, Babus JK, Furth PA, Marion S, Hoyer PB, Flaws JA. BAX is involved in regulating follicular growth, but is dispensable for follicle atresia in adult mouse ovaries. *Reproduction*. 2007; 133(1):107-16. [DOI:10.1530/REP-06-0144] [PMID]
- [30] Pourteymour Fard Tabrizi F, Hajizadeh-Sharafabad F, Vaezi M, Jafari-Vayghan H, Alizadeh M, Maleki V. Quercetin and polycystic ovary syndrome, current evidence and future directions: A systematic review. *J Ovarian Res*. 2020; 13(1):11. [DOI:10.1186/s13048-020-0616-z] [PMID] [PMCID]
- [31] Slegtenhorst BR, Dor FJ, Rodriguez H, Voskuil FJ, Tullius SG. Ischemia/reperfusion injury and its consequences on immunity and inflammation. *Curr Transplant Rep*. 2014; 1(3):147-54. [DOI:10.1007/s40472-014-0017-6] [PMID] [PMCID]
- [32] Rumley AG, Paterson JR. Analytical aspects of antioxidants and free radical activity in clinical biochemistry. *Ann Clin Biochem*. 1998; 35(Pt 2):181-200. [DOI:10.1177/000456329803500202] [PMID]
- [33] Esterbauer H, Schaur RJ, Zollner H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free Radic Biol Med*. 1991; 11(1):81-128. [DOI:10.1016/0891-5849(91)90192-6]
- [34] Bryszewska M, Zavodnik IB, Niekurzak A, Szosland K. Oxidative processes in red blood cells from normal and diabetic individuals. *Biochem Mol Biol Int*. 1995; 37(2):345-54. [PMID]