Journal of Ardabil University of Medical Sciences

Vol. 20, No. 4, Winter 2021, Pages 474-484

Protective Effect of Resveratrol on Vincristine-induced Oxidative Stress in Mouse Ovary and UterineTissue

Nasirzadeh MR*[1], Hejazi S[2], Bakhshi M[3], Taginasab S[3], Tayefesattari H[4], Navidifar P[3]

1. Department of Physiology, School of Veterinary Medicine, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran
2. Department of Anatomy, School of Veterinary Medicine, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran
3. Student of Veterinary Medicine, School of Veterinary Medicine, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran
4.Graduate of Veterinary Medicine, School of Veterinary Medicine, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.

**** Corresponding author.*** Tel: +989141015108, Fax: +98416373935,
E-mail: mr.nasirzadeh@iaut.ac.ir & mr.nasirzadeh@yahoo.com

Received: Jan 19, 2021 Accepted: Jun 20, 2021

ABSTRACT

Background & objectives: Vincristine (VIN) is a broad-spectrum anticancer drug has been used to treat various cancers. Resveratrol (Res) is a natural polyphenol found in many plant sources. Many studies have reported anti-inflammatory and antioxidative effects of resveratrol. We have explored the protective effect of resveratrol on vincristine-induced oxidative stress in mouse ovarian tissue.

Methods: In this study, 32 female mice weighing 25-30 grams were randomly divided into four groups (each group n=8): 1- control group, 2- Vin- group, 3- Vin-Res group and 4- Res group. The mice received a single IP injection of vincristine (3 mg/kg) weekly for 4 weeks. Res treatment was done 28 days by gastric gavage (daily 30 mg/kg).At the end of the study, Malondialdehyde (MDA) and total antioxidant capacity (TAC) and the antioxidant activity of superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GPx) enzymes were measured in ovarian tissue and uterus of the studied animals. Also, ovarian follicles were counted.

Results: The results indicated that the MDA level was elevated and TAC, GPx as well as SOD activities were decreased in Vin- group significantly. Resveratrol reduced MDA level and increased GPx and SOD activities in Vin-Res group significantly. Also histological findings showed that Res increased primordial and primary follicles and reduced atretic follicles in Vin-Res group significantly.

Conclusions: These results indicate the protective effect of resveratrol on ovarian and uterine tissue against oxidative damage of vincristine in mice.

Keywords*:* Resveratrol; Ovary; Oxidative Stress; Vincristine; Mice

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-01-09]

[DOI: 10.52547/jarums.20.4.474]

اثر محافظتی رزوراترول بر آسیب اکسیداتیو ناشی از وینکریستین در بافت تخمدان و رحم موش سوری

محمدرضا نصیرزاده[1*]، سید سجاد حجازی[2]، محمد بخشی[3]، سعید تقی نسب[3]، حیدر طایفه ستاری[4]، پویا نویدی فر[3]

۱. گروه فیزیولوژی، دانشکده دامپزشکی، واحد تبریز، دانشگاه آزاداسلامی، تبریز، ایران
۲. گروه آناتومی، دانشکده دامپزشکی، واحد تبریز، دانشگاه آزاداسلامی، تبریز، ایران
۳. دانشجوی دکتری عمومی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، واحد تبریز، دانشگاه آزاداسلامی، تبریز، ایران
٤. دکتری عمومی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران
* نویسنده مسئول. تلفن: ۰۹۱٤۱۰۱۵۱۰۸ فاکس: ۰٤۱۳٦۳۷۳۹۳۵
پست الکترونیک: mr.nasirzadeh@iaut.ac.ir & mr.nasirzadeh@yahoo.com

چکیده

زمینه و هدف: وینکریستین یک داروی ضدسرطان با کاربرد گسترده است که در درمان سرطان‌های مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرد. رزوراترول یک پلی فنول طبیعی است که در منابع گیاهی بسیاری وجود دارد. مطالعات بسیاری اثرات ضد التهابی و آنتی اکسیدانی آن را گزارش کرده‌اند. در این مطالعه اثرات محافظتی رزوراترول بر آسیب اکسیداتیو ناشی از وینکریستین بر بافت تخمدان موش سوری بررسی گردید.

روش کار: در این مطالعه تعداد ۳۲ سر موش سوری بالغ با وزن ۲۰ تا ۲۵ گرم به طور تصادفی به ٤ گروه ۸ تایی تقسیم شد. ۱- گروه کنترل، ۲- گروه وینکریستین، ۳- گروه وینکریستین- رزوراترول، و ٤) گروه رزوراترول. موش‌ها داروی وینکریستین را با دز ۳ mg/Kg ۳ هفته‌ای یکبار بمدت ٤ هفته و رزوراترول را با دز ۳۰ mg/Kg روزانه بمدت ۲۸ روز از طریق گاواژ معدی دریافت کردند. در پایان مطالعه شاخص پراکسیداسیون چربی (MDA) و ظرفیت تام آنتی اکسیدانی (TAC) و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سوپراکسید دسموتاز (SOD) وگلوتاتیون پراکسیداز (GPX) بافت تخمدان و رحم حیوانات مورد مطالعه اندازه‌گیری شد. همچنین انواع فولیکول‌های تخمدانی شمارش گردید.

یافته ها: نتایج نشان داد که درگروه وینکریستین سطح MDA افزایش و سطح TAC و میزان فعالیت SOD و GPX بافت تخمدان و رحم کاهش معنی‌داری داشته است ($p<۰/۰۵$). در حالی که تیمار موش‌ها با رزوراترول بطور معنی‌داری سطح MDA را کاهش و میزان فعالیت SOD و GPX بافت تخمدان و رحم را افزایش داد ($p<۰/۰۵$) همچنین مشخص گردید رزوراترول تعداد فولیکول‌های اولیه و مقدماتی را افزایش و فولیکول‌های آترتیک را کاهش می‌دهد ($p<۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشانگر اثرمحافظتی رزوراترول بر آسیب اکسیداتیو القا شده توسط وینکریستین در بافت تخمدان و رحم موش سوری می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: رزوراترول، تخمدان، استرس اکسیداتیو، وینکریستین، موش

دریافت: ۱۳۹۹/۱۰/۳۰ **پذیرش:** ۱٤۰۰/۳/۳۰

مقدمه

سرطان یکی از مهمترین مشکلات بهداشت جوامع در سراسر جهان است. هزاران زن جوان مبتلا به سرطان سالیانه تشخیص داده می‌شوند و تحت سمیت شیمی درمانی و یا پرتودرمانی قرار می‌گیرند. این درمان‌ها ممکن است در اثر آسیب ژنومی و مرگ آپوپتوزی

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-01-09]

[DOI: 10.52547/jarums.20.4.474]

اووسیت‌ها باعث ناباروری و پیری تخمدانی شوند [۱]. بنابراین حفظ فعالیت تخمدانی و باروری مهمترین ایده برای حفظ کیفیت زندگی در مبتلایان به سرطان می‌باشد. بر این اساس، هر دارو یا ماده‌ای که بتواند فعالیت تخمدانی را طی شیمی درمانی حفظ نماید حائز اهمیت خواهد بود. تعادل بین تولید و حذف رادیکال‌های آزاد در پستانداران یک فاکتور کلیدی ضروری برای هرگونه فعالیت متابولیکی است. حفظ این تعادل یک فرایند مهمی بوده و تاثیر ویژه ای بر تکثیر و تمایز، آپوپتوز و مرگ سلولی دارد [۲].

وینکریستین یک داروی ضد سرطان با کاربرد گسترده است که در درمان سرطان‌های مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرد [۳]. بخوبی ثابت شده است که تولید بیش از حد گونه‌های واکنشی اکسیژن (ROS[1])، مالون دی آلدهید (MDA[2]) را افزایش و آنزیم‌های سیستم آنتی اکسیدان از جمله سوپراکسید دسموتاز (SOD[3])، گلوتاتیون پراکسیداز (GPX[4]) و ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی (TAC[5]) را کاهش می‌دهد [٤]. وضعیت آنتی اکسیدانی سلول تعیین‌کننده حساسیت سلول به آسیب اکسیداتیو است که معمولاً در پاسخ به استرس اکسیداتیو تغییر می‌کند [۵]. بنابراین به ماده‌ای نیاز است که بتواند سمیت سلولی ناشی از وینکریستین[6] را کاهش دهد تا قدرت اثر شیمی درمانی وینکریستن بهبود یابد. گونه‌های واکنشی اکسیژن و آنتی‌اکسیدان‌ها در سیستم تولید مثلی ماده بعنوان فاکتورهای کلیدی درگیر در فیزیولوژی متابولیسم تخمدان شناخته شده‌اند [۱]. مطالعات قبلی نشان داده‌اند که تعادل بین گونه‌های واکنشی اکسیژن و آنتی‌اکسیدان‌ها تاثیر بسزایی در فعالیت‌های تولید مثلی پستانداران ماده از جمله تغییرات آندومتری در فازهای مختلف لوتئال، فولیکولوژنز، تخمک‌گذاری، رشد جفت، امبریوژنز، لانه‌گزینی و باروری دارند [۶]. بنابراین، آنتی‌اکسیدان‌ها برای حفظ تعادل اکسیداسیون- احیا جهت برقراری فعالیت طبیعی تخمدانی حیاتی هستند. داروهای سیکلوفسفامید[7]، سیس پلاتین[8] و دوکسوروبیسین[9] موجب نارسایی زود رس تخمدان بدلیل مرگ و یا تسریع فعالسازی فولیکول‌های مقدماتی و افزایش آترزی فولیکول‌های در حال رشد می‌شوند. این داروها همچنین به بخش استروما و عروق تخمدان آسیب زده و التهاب را افزایش می‌دهند [۷].

رزوراترول[10] (۳،۵،٤´- تری هیدروکسی- ترانس- استیلبن[11]) یک پلی فنول طبیعی است که در منابع گیاهی بسیاری از جمله انگور، تمشک، توت، آجیل و دیگر غذاهای مصرفی انسان وجود دارد. پلی‌فنول‌های غذا با استفاده از مکانیسم‌های مولکولی متعدد با اثر در مسیرهای سیگنالینگ آپوپتوز در سلول‌های سرطانی، اثر شیمیایی پیشگیری‌کننده خود را اعمال می‌کنند [۹،۸]. مطالعات بسیاری نشان‌دهنده اثرات ضدالتهابی، آنتی‌اکسیدانی، ضدپیری و ضدسرطانی رزوراترول می‌باشد [۱۱-۹]. اگرچه مکانیسم سمیت ناشی از شیمی درمانی بر تخمدان به‌وضوح مشخص نشده است، اما چنین فرض می‌شود که افزایش تولید رادیکال‌های آزاد و کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدانی بدلیل استرس اکسیداتیو ناشی از شیمی‌درمانی است [۱۲]. از طرفی،گرچه نقش گونه‌های واکنشی اکسیژن در برخی شرایط پاتولوژیک از قبیل سرطان‌زایی و پیری بخوبی شناخته شده است اما اثرات محافظتی بالقوه آنتی‌اکسیدان‌ها در برابرآسیب بافتی ناشی از استرس اکسیداتیو نا شناخته است [۱۳،۱٤]. بنابراین، با توجه به اینکه تاکنون اثرات محافظتی رزوراترول

[1] Reactive Oxygen Species
[2] Malondialdehyde
[3] Superoxide Dismutase
[4] Glutathione Peroxidase
[5] Total Antioxidant Capacity
[6] Vincristine
[7] Cyclophosphamide
[8] Cisplatin
[9] Doxorubicin
[10] Resveratrol
[11] 3,5,4′-Trihydroxy-Trans-Stilbene

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-01-09]
[DOI: 10.52547/jarums.20.4.474]

متعاقب تجویز وینکریستین بررسی نشده است لذا مطالعه حاضر اثرات محافظتی رزوراترول بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان بافت تخمدان و رحم متعاقب استرس اکسیداتیو ایجاد شده توسط وینکریستین در موش سوری را بررسی نموده است.

روش کار

این مطالعه از نوع مداخله‌ای تجربی بود. تعداد ۳۲ سر موش کوچک سفید آزمایشگاهی بالغ با وزن ۲۰ تا ۲۵ گرم به طور تصادفی به ٤ گروه ۸ تایی تقسیم شد. موش‌های هر ٤ گروه از مرکز پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی تبریز تهیه و در مرکز پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد تبریز بصورت ۵ حیوان در هر قفس و در شرایط یکسان با دسترسی آزاد به آب و غذا و در سطحی با دمای ۲±۲۲ درجه سانتیگراد و چرخه نوری ۱۲/۱۲ روشنایی- تاریکی نگهداری شدند. حیوانات قبل از شروع آزمایش به مدت ۲ هفته به محل عادت داده شدند. این مطالعه توسط کمیته اخلاق دانشکده پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی تبریز تأیید شد (IR.IAU.TABRIZ.REC.1398.017).

گروه‌های آزمایش

۱- گروه کنترل: گروه دریافت کننده سرم فیزیولوژی به صورت گاواژ.

۲- گروه وینکریستین: دریافت کننده داروی وینکریستین با دوز mg/kg ۳ یکبار در هفته بمدت ٤ هفته [۱۵].

۳- گروه رزوراترول: دریافت کننده رزوراترول با دوز mg/kg ۳۰ روزانه بمدت ۲۸ روز [۱۶].

٤- گروه وینکریستین- رزواترول: دریافت کننده داروی وینکریستین با دوز mg/kg ۳ هفته ای یکبار بمدت ٤ هفته و سپس رزوراترول با دوز mg/kg ۳۰ روزانه بمدت ۲۸ روز .

داروی وینکریستین سولفات (ساخت شرکت Sigma) در محلول PBS استریل (mg/kg ۰/۵) حل و بصورت داخل صفاقی به موش‌ها تزریق گردید. رزوراترول تهیه شده (ساخت شرکت Nutrabio) بصورت محلول آبی و با استفاده از گاواژ معدی روزانه ساعت ۱۰ صبح به موش‌ها خورانده شد.

نمونه برداری

در پایان دوره مطالعه حیوانات با استفاده از داروی کتامین و زایلازین بصورت داخل صفاقی تحت بیهوشی جراحی قرار گرفته، سپس محوطه شکمی باز و تخمدان‌ها و رحم حیوان بلافاصله پس از برداشت با سرم نرمال سالین شسته شدند. تخمدان راست در نیتروژن مایع منجمد و تا زمان اندازه‌گیری آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در ۸۰- نگهداری شد. تخمدان چپ گروه‌های مختلف نیز در فرمالین ۱۰ درصد ثابت و پس از گذراندن مراحل آماده‌سازی بافتی، از تخمدان‌ها مقاطع سریالی به ضخامت ۵ میکرون تهیه گردید. سپس، مقاطع بافتی با هماتوکسیلین- ائوزین رنگ‌آمیزی و با میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفتند. در این مطالعه در هر گروه، تخمدان ۵ نمونه مورد استفاده قرار گرفت و برای هر نمونه بطور تصادفی ۳ لام زیر میکروسکوپ بررسی گردید. در مطالعه هیستومتریک تخمدان‌ها، انواع فولیکول‌ها و اجسام زرد آنها پس از عکسبرداری توسط فتومیکروسکوپ بصورت مارپیچی از قشر به مرکز و در جهت عقربه‌های ساعت شمارش گردیدند [۱۶].

آماده‌کردن نمونه بافتی: پس از شستشوی نمونه بافتی با استفاده از بافر فسفات (pH=۷/٤) بافت تخمدان راست در ۵ میلی‌لیتر بافر سرد (Tris-Hcl[1] 50 mM, pH=7.5, EDTA[2] 5mM, DTT[3] 1mM) هموژنیزه شد. سپس، محلول حاصل با سرعت ۱۰،۰۰۰ دور بمدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ و مایع رویی حاصل برای ارزیابی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان

[1] Tris Hydrochloride
[2] Ethylenediaminetetraacetic Acid
[3] Dithiothreitol

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-01-09]
[DOI: 10.52547/jarums.20.4.474]

SOD,GPX,TAC و شاخص پراکسیداسیون چربی MDA مورد استفاده قرار گرفت.

اندازه‌گیری سوپراکسید دسموتاز

در این روش از گزانتین و گزانتین اکسیداز جهت تولید رادیکال‌های سوپراکسید استفاده می‌شود. این رادیکال‌ها با I.N.T[1] واکنش می‌دهند و رنگ قرمز فورمازون تولید می‌کنند که در طول موج ۵۰۵ nm اندازه‌گیری می‌شود [۱۷].

اندازه‌گیری گلوتاتیون پراکسیداز

آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز واکنش اکسیداسیون گلوتاتیون (GSH[2]) توسط کومن هیدروپراکسید را کاتالیز می‌نماید. در حضور آنزیم گلوتاتیون ردوکتاز و NADPH[3]، گلوتاتیون اکسیدشده (GSSG[4]) مجدداً به گلوتاتیون احیاء تبدیل می‌شود که این احیاء با اکسیداسیون هم‌زمان NADPH به $NADP^+$ همراه است. در این واکنش کاهش جذب نوری در طول موج ۳۴۰ نانومتر اندازه‌گیری می‌شود [۱۷].

اندازه‌گیری مالون دی آلدئید

این روش بر پایه واکنش با تیو باربیتوریک اسید (TBARS[5])، اندازه‌گیری جذب با روش اسپکتروفتومتری و مقایسه با منحنی استاندارد می‌باشد [۱۷].

اندازه‌گیری ظرفیت تام آنتی اکسیدانی

ABTS[6] با یک پراکسیداز و آب اکسیژنه مجاور می‌شود تا رادیکال‌های $ABTS^+$ تولید نماید. این ماده، رنگ آبی- سبز دارد که در طول موج ۶۰۰ نانومتر اندازه‌گیری می‌شود. آنتی‌اکسیدان‌های موجود در نمونه تولید این رنگ را تضعیف می‌کنند. این فاکتورها با استفاده از کیت تجاری Randox ساخت کشور انگلستان اندازه‌گیری شدند [۱۸]. کلیه این فاکتورها مطابق دستورالعمل شرکت سازنده اندازه‌گیری شدند.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

برای تحلیل داده‌های حاصله از نرم‌افزار SPSS-22 استفاده شد. نرمال بودن داده‌ها توسط آزمون کولموگروف- اسمیرنف تایید گردید. داده‌های به‌دست‌آمده کمی، به‌صورت میانگین± انحراف استاندارد Mean±SD ارائه و اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها توسط آزمون آماری تحلیل واریانس یک‌طرفه[7] و آزمون تعقیبی توکی[8] مورد بررسی قرار گرفت. سطح معنی‌داری در این مطالعه $p<۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

نتایج آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان بافت تخمدان

بررسی میانگین داده‌های مربوط به شاخص پراکسیداسیون چربی نشان داد که میزان این فاکتور در گروه وینکریستین در مقایسه با سایر گروه‌ها بطور معنی‌داری افزایش یافته است ($p<۰/۰۰۱$) (df=۳/۲۸، F=۱۹/۰۹۳). همچنین مشخص شد بین گروه کنترل با گروه‌های وینکریستین- رزوراترول و رزوراترول تفاوت معنی‌داری دیده نمی‌شود (جدول ۱).

میانگین داده‌های مربوط به فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدان سوپراکسید دسموتاز نشان داد که بین گروه وینکریستین با سایر گروه‌ها تفاوت معنی‌داری دیده می‌شود ($p<۰/۰۰۱$) (F= ٤/۰٤۲، df =۳/۲۸). همچنین مشخص شد بین گروه کنترل با گروه‌های وینکریستین- رزوراترول و رزوراترول تفاوت معنی‌داری دیده نمی‌شود (جدول ۱).

بررسی داده‌های مربوط به فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز مشخص نمود که بین گروه وینکریستین با گروه‌های کنترل و رزوراترول تفاوت معنی‌داری وجود دارد ($p<۰/۰۰۱$) (df=۳/۲۸ ، F=۷/۹٤٤). همچنین

[1] 2-Iodophenyl-3-4-Nitrophenol-5-Phenyltetrazolium Chloride
[2] Glutathione
[3] Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate
[4] Glutathione Disulfide
[5] Thiobarbituric Acid Reactive Substances
[6] 2, 2-Azino-di-3-Ethylbenzthiazoline Sulphonate
[7] ANOVA
[8] Tukey

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-01-09]
[DOI: 10.52547/jarums.20.4.474]

مشخص شد بین گروه کنترل با گروه رزوراترول تفاوت معنی‌داری وجود ندارد. علاوه بر این مشخص شد تیمار با رزوراترول باعث افزایش معنی‌داری در فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز نسبت به گروه وینکریستین نشده است (جدول ۱).

میانگین داده‌های مربوط به ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی نشان داد که بین گروه وینکریستین با سایر گروه‌ها تفاوت معنی‌داری دیده می‌شود ($p<۰/۰۰۱$، df=۳/۲۸، F=۳۰/۴۹۶). همچنین مشخص شد بین گروه کنترل با گروه رزوراترول تفاوت معنی‌داری دیده نمی‌شود (جدول ۱).

نتایج آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بافت رحم

بررسی میانگین داده‌های مربوط به شاخص پراکسیداسیون چربی نشان داد که میزان این فاکتور در گروه وینکریستین در مقایسه با سایر گروه‌ها بطور معنی‌داری افزایش یافته است. علاوه بر این مشخص گردید بین گروه وینکریستین با گروه وینکریستین- رزوراترول اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($p<۰/۰۰۱$، df=۳/۲۸، F=۱۳/۲۵۴). همچنین مشخص گردید میزان شاخص پراکسیداسیون چربی در گروه رزوراترول در مقایسه با گروه کنترل تفاوت معنی‌داری ندارد (جدول ۲). این نتایج با نتایج مربوط به بافت تخمدان مشابه است.

میانگین داده‌های مربوط به فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دسموتاز (df =۳/۲۸، F=۲/۲۲۷) و گلوتاتیون پر اکسیداز (df =۳/۲۸، F=۵/۷۵۹) و ظرفیت تام آنتی اکسیدانی (df =۳/۲۸، F=۱۲/۰۰۵) نشان داد که بین گروه وینکریستین با گروه‌های کنترل و رزوراترول تفاوت معنی‌داری دیده می‌شود. علاوه بر این، مشخص گردید از نظر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سوپراکسید دسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز بین گروه وینکریستین با گروه‌های وینکریستین- رزوراترول نیز تفاوت معنی‌داری وجود دارد ($p<۰/۰۰۱$) (جدول ۲).

نتایج شمارش انواع فولیکول‌ها

نتایج حاصل از شمارش انواع فولیکول‌های تخمدانی نشان داد که تعداد فولیکول‌های مقدماتی (df=۳/۲۸، F=۳۲/۲۸۷)، اولیه (F=۳۱/۸۷۰) و بالغ (df=۳/۲۸، F=۲۷/۶۶۷) در گروه وینکریستین نسبت به گروه کنترل بطور معنی‌داری کاهش و تعداد فولیکول‌های آترتیک (df=۳/۲۸ ، F=۱۳/۳۸۹) افزایش یافته است ($p<۰/۰۰۱$) (جدول ۳). در حالی که در وینکریستین- رزوراترول تعداد فولیکول‌های مقدماتی و اولیه نسبت به گروه وینکریستین بطور معنی‌داری افزایش و تعداد فولیکول‌های آترتیک کاهش یافته است ($p<۰/۰۰۱$) (جدول ۳).

جدول ۱. میانگین میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان بافت تخمدان موش‌های صحرایی در گروه‌های مختلف مورد مطالعه (Mean±SD)

پارامتر / گروه	مالون دی الدئید (نانومول/میلی‌گرم پروتئین)	سوپراکسید دسموتاز (واحد/میلی‌گرم پروتئین)	گلوتاتیون پراکسیداز (واحد/میلی‌گرم پروتئین)	ظرفیت‌تام آنتی‌اکسیدانی (میلی مول/میلی‌گرم)
کنترل	۱/۲۵±۰/۱۳۲	٤/۳۱ ±۰/٤۱٤	۱/۱٤±۰/۰٤۹¶	۰/۶۳۸ ±۰/۰۳۹
وینکریستین	*۲/۲۵±۰/۱۳۳	۳/۰۲ ±۰/۱۱۷*	۰/۸٤ ±۰/۰۵۳*	۰/۱۹۲ ±۰/۰۰۶*
وینکریستین- رزوراترول	۱/۱۳±۰/۰۹۵	٤/۱۷±۰/۱۵۶	۰/۹۷۹± ۰/۰۱٤#*	۰/۳۰۶±۰/۰۰۳ #
رزوراترول	۱/۱۶±۰/۱۲۷	٤/۰۷±۰/۰۶۱	۱/۱۱ ±۰/۰۲۵¶#	۰/۶۳۲ ±۰/۰۳۶
F(3,28)	۱۹/۰۹۳	٤/۰٤۲	۷/۹٤٤	۳۰/٤۹۶
مقدار *p*	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱

*#¶: نشان دهنده اختلاف معنی دار با سایر گروه‌ها ($p<۰/۰۰۱$). سطح معنی‌دار $p<۰/۰۵$ در نظر گرفته شده است. داده‌ها بصورت ستونی با هم مقایسه شدند.

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-01-09]

[DOI: 10.52547/jarums.20.4.474]

جدول ۲. میانگین میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان رحم موش‌های صحرایی در گروه‌های مختلف مورد مطالعه (Mean±SD)

پارامتر / گروه	مالون دی الدئید (نانومول/میلی‌گرم پروتئین)	سوپراکسید دسموتاز (واحد/میلی‌گرم پروتئین)	گلوتاتیون پراکسیداز (واحد/میلی‌گرم پروتئین)	ظرفیت‌تام آنتی‌اکسیدانی (میلی مول/میلی-گرم)
کنترل	۱/۱ ±۰/۰۵۵ c	٤/٤٩±۰/٦٢٤ a	۱/۶۷±۰/۲۱۳a	۱/۲۷ ±۰/۲۳۲a
وینکریستین	۲/۱٤۰±۰/۰۹۱*	۱/۸۵±۰/۵۵۵*	۰/۹۳۰±۰/۱۲۲*	۰/٤۹۶±۰/۱۱۳*
وینکریستین-رزوراترول	۱/۶± ۰/۱۸۱#	۲/۸۳±۰/۵۷۰#	۱/۲٤±۰/۱۲۷#	۰/۷۷۸±۰/۰۹۹#
رزوراترول	۱/۰۲±۰/۰۷۶ c	٤/۲۰ ±۰/۵۰۸a	۱/۶۳± ۰/٤۱۰a	۱/۲۶±۰/۱۶۲a
F(3,28)	۱۳/۲۵۳	۲/۲۲۷	۵/۷۵۹	۱۲/۰۰۵
مقدار p	<۰/۰۰۱	۰/۱۲۵	۰/۰۰۷	<۰/۰۰۱

#* نشان دهنده اختلاف معنی دار با سایر گروه‌ها (p <۰/۰۰۱) سطح معنی‌دار p<۰/۰۵ در نظر گرفته شده است. داده‌ها بصورت ستونی با هم مقایسه شدند.

جدول ۳. تعداد انواع فولیکول‌های شمارش شده در بافت تخمدان موش‌های صحرایی گروه‌های مختلف مورد مطالعه (Mean±SD)

پارامتر / گروه	فولیکول مقدماتی	اولیه	ثانویه	بالغ	آترتیک
کنترل	۳۰/۶±۳/۷۱	۱۵±۳/۵۳	۵±۲/۱۲	۱±۰/۰۰	۰/۶±۰/۸۹
وینکریستین	۱۱/٤±۵/٤۱*	۵±۱/٤۱*	۳/۶±۲/۰۷	۰±۰/۰۰*	۳/۸±۰/۸۳*
وینکریستین- رزوراترول	۱۷/۸±۱/۶٤#	۱۰±۰/۷۰#	٤/٤±۱/۱٤	۰±۰/۰۰*	۲/٤±۱/۱٤#
رزوراترول	۲۸/۶±۲/۳۰	۱۸±۲/۳٤	۵±۱/۵۸	۰/۸±۰/٤٤۷	۰/۶±۰/۸۹
F(3,28)	۳۲/۲۸۷	۳۱/۸۷۰	۰/۶۹۸	۲۷/۶۶۷	۱۳/۳۸۹
مقدار p	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱	۰/۵۶۷	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱

#* نشان دهنده اختلاف معنی دار با سایر گروه‌ها (p <۰/۰۰۱). سطح معنی‌دار p<۰/۰۵ در نظر گرفته شده است. داده‌ها بصورت ستونی با هم مقایسه شدند.

بحث

در این مطالعه اثرات محافظتی رزوراترول بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان بافت تخمدان و رحم متعاقب استرس اکسیداتیو ایجاد شده توسط وینکریستین در موش سوری بررسی شد. یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که تجویز وینکریستین موجب افزایش معنی‌دار سطح MDA و کاهش معنی‌دار میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان SOD و GPX و نیز مقادیر TAC تخمدان و رحم حیوانات گروه وینکریستین در مقایسه با سایر گروه‌ها گردید. همچنین مشخص شد وینکریستین بطور معنی‌داری باعث کاهش تعداد فولیکول‌های اولیه و مقدماتی و افزایش تعداد فولیکول‌های آترتیک بر روی تخمدان موش‌های گروه وینکریستین می‌شود. این یافته‌ها موافق با سایر مطالعات نشان داد که وینکریستین موجب آسیب بافتی می‌شود.

در حالی که تجویز رزوراترول موجب کاهش معنی‌دار MDA در گروه‌های دریافت‌کننده وینکریستین گردید. این نتایج نشانگر اثر محافظتی رزوراترول در برابر آسیب اکسیداتیو ناشی از وینکریستین است. MDA یک شاخص معتبر برای آسیب سلولی است [۱۹]. پراکسیداسیون لیپیدی غشاهای بیولوژیکی منجر به از بین رفتن سیالیت غشاء، تغییر در پتانسیل غشاء، افزایش نفوذپذیری و تغییر در اعمال گیرنده می‌شود [۲۰]. با این حال مطابق یافته‌های گوتولورون[1] و همکاران، مطالعه حاضر نشان داد که رزوراترول اثرات آنتی‌اکسیدانی دارد و قادر است سیستم آنتی‌اکسیدانی آندوژن را تقویت و گونه‌های اکسیژن واکنشی را پاک نماید [۲۱]. مخرب‌ترین گونه‌های واکنشی اکسیژن، سوپر اکسید (O_2^{-2})[2] است که توسط آنزیم SOD برداشته می‌شود. محصولات این واکنش، آب اکسیژنه

[1] Gbotolorun
[2] Superoxide

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-01-09]
[DOI: 10.52547/jarums.20.4.474]

هستند که توسط آنزیم GPX به آب تبدیل می‌شوند [۲]. یافته‌های تحقیق حاضر نشان داد که وینکریستین موجب کاهش معنی‌دار فعالیت SOD و GPX در بافت تخمدان موش‌های گروه وینکریستین می‌شود. نتایج مطالعه صورت گرفته توسط گوتولورون و همکاران نیزمشخص نمودکه تیمار گروه سیس پلاتین با سطوح متوسط و بالای رزوراترول در مقایسه با گروه سیس پلاتین، موجب افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسیددسموتاز و کاتالاز گردید [۲۱]. این نتایج با مطالعه حاضر که حیوانات در گروه وینکریستین- رزوراترول روزانه بمدت ۲۸ روز رزوراترول با دز ۳۰ mg/kg دریافت می‌کردند، هم‌خوانی دارد. تیمار موش‌های دریافت کننده وینکریستین با رزوراترول بمدت ٤ هفته موجب افزایش فعالیت SOD شده است. چنانچه بین گروه کنترل با گروه وینکریستین- رزوراترول تفاوت معنی‌داری وجود ندارد. در حالی که فعالیت GPX نسبت به گروه وینکریستین افزایش معنی‌داری نداشته است. هلال[1] و همکاران نشان داده‌اند که مدل سمیت گنادی ناشی از شیمی‌درمانی با افزایش معنی‌دار MDA و کاهش معنی‌دار SOD و کاتالاز در گروه‌های شیمی‌درمانی شده همراه بوده است [۲۲]. مطالعه منگ[2] و همکاران نشان داد که رزوراترول قادر است پیری تخمدانی و آپوپتوزیس ناشی از شیمی‌درمانی را کاهش دهد [۱]. نتایج مطالعه حاضر نیز یافته‌های هلال و همکاران و منگ و همکاران را تایید نمود. چنانچه تیمار موش‌های دریافت‌کننده وینکریستین با رزوراترول موجب کاهش سطوح MDA و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شد.

در حالی که اوزکان[3] و همکاران تفاوت معنی‌داری در سطوح MDA و SOD تخمدانی، در حیواناتی که سیس پلاتین تنها و سیس پلاتین به همراه رزوراترول دریافت کرده بودند، مشاهده نکردند [۱۳]. تفاوت در نتایج مطالعه حاضر با یافته‌های اوزکان می‌تواند بدلیل تفاوت در طول مدت مطالعه و دوز رزوراترول باشد که در مطالعه حاضر هم طول دوره تحقیق و هم دوز مصرفی رزوراترول بالاتر است. نتایج مربوط به پارامتر TAC مشخص نمود که وینکریستین باعث کاهش معنی‌دار این پارامتر می‌شود اما تجویز رزوراترول توانسته است سطح TAC را در مقایسه با گروه وینکریستین بطور معنی‌داری در بافت تخمدان افزایش دهد. این یافته‌ها نشانگر قدرت آنتی‌اکسیدانی رزوراترول در برابر استرس اکسیداتیو ناشی از وینکریستین می‌باشد. رزک[4] و همکاران گزارش کرده‌اند که در سلول‌های سرطانی تخمدان و رحم در محیط کشت سمیت سلولی ناشی از تیمار با سیس‌پلاتین و دوکسوروبیسین در حضور رزوراترول افزایش می‌یابد. بر این اساس پیشنهاد می‌شود که ترکیب رزوراترول با داروهای شیمی‌درمانی می‌تواند در بهبود فعالیت ضدتوموری دارو مفید باشد [۲۳].

در دهه گذشته تعدادی از روش‌های بالقوه برای محافظت از تخمدان در برابر آسیب ناشی از شیمی‌درمانی پیشرفت‌هایی داشته‌اند. چنین محافظت‌هایی نه تنها برای حفظ باروری ضروری هستند بلکه موجب حفظ فعالیت اندوکرینی تخمدان و سلامت فرد می‌شوند. بیشتر این تحقیقات بر روی مدل‌های جوندگان و بطور عمده بر روی موش سوری صورت گرفته است [۷].

اندازه‌گیری آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بافت رحم نشان داد که سطح MDA رحمی در گروه وینکریستین در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی‌داری داشت. همچنین مشخص گردید تیمار موش‌های دریافت‌کننده وینکریستسن موجب کاهش معنی‌دار MDA رحمی شده است. در حالی که بین گروه کنترل با رزوراترول اختلاف معنی‌داری دیده نشد. علاوه بر این، یافته‌های این تحقیق نشان داد که همانند

[1] Helal
[2] Meng
[3] Ozcan
[4] Rezk

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-01-09]
[DOI: 10.52547/jarums.20.4.474]

بافت تخمدان، وینکریستین موجب کاهش معنی‌دار فعالیت SOD، GPX و سطح TAC بافت رحم موش‌های گروه وینکریستین می‌شود. اما تجویز رزوراترول در موش‌های دریافت‌کننده وینکریستین نتوانسته است فعالیت این آنزیم‌ها و سطح TAC را بطور معنی‌داری افزایش دهد. اوزکان و همکاران طی مطالعه‌ای نشان داده‌اند که تجویز رزوراترول در موش‌های صحرایی تیمارشده با سیس پلاتین موجب افزایش سطح سرمی هورمون آنتی‌مولرین و فولیکول‌های آنتی‌مولرین مثبت و نیز کاهش فولیکول‌های آترتیک می‌شود. این یافته‌ها نشان می‌دهند که رزوراترول می‌تواند از کاهش باروری تخمدان در برابر آسیب ناشی از استرس اکسیداتیو محافظت نماید. مطالعات اخیر نشان داده‌اند که داروهای شیمی‌درمانی قادرند با تحت تاثیر قراردادن اجزاء سلولی تخمدان موجب تخلیه ذخیره فولیکولی تخمدان گردند [۱۳]. در پژوهش حاضر انواع فولیکول‌ها بر روی بافت تخمدان حیوانات گروه‌های مختلف شمارش گردید. نتایج نشان داد که تعداد فولیکول‌های مقدماتی، اولیه و بالغ در گروه وینکریستین نسبت به گروه کنترل بطور معنی‌داری کاهش یافته است. در حالی‌که تغییر معنی‌داری در تعداد فولیکول‌های ثانویه و آترتیک رخ نداده است. همچنین مشخص گردید تعداد فولیکول‌های مقدماتی و اولیه در گروه وینکریستین- رزوراترول در مقایسه با گروه وینکرستین بطور معنی‌داری افزایش و تعداد فولیکول‌های آترتیک در این گروه کاهش داشته است. این نتایج نشانگر اثر مثبت و محافظتی رزوراترول بر بافت تخمدان در برابر آسیب اکسیداتیو است.

نتیجه گیری

مطالعه حاضر نشان داد که رزوراترول، در برابر آسیب اکسیداتیو القا شده با وینکریستین در بافت تخمدان و رحم اثر محافظتی دارد. مطابق با نتایج این مطالعه می‌توان پیشنهاد داد که رزوراترول احتمالاً می‌تواند با جلوگیری از استرس اکسیداتیو ناشی از شیمی‌درمانی در بیماران سرطانی سیستم تولیدمثلی را محافظت نماید. هرچند، مطالعات بیشتری موردنیاز است تا مکانیسم‌های مولکولی دخیل در اثرات محافظتی رزوراترول را مشخص سازد.

تشکر و قدردانی

این تحقیق با هزینه شخصی نویسندگان بعنوان یک تحقیق مستقل و با مجوز معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز به انجام رسیده است. بدینوسیله نویسندگان مقاله از زحمات بی دریغ کارشناس محترم آزمایشگاه بافت شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز آقای علیرضا رسولی‌کوچه صمیمانه سپاسگزاری می‌نمایند.

تعارض منافع

نویسندگان مقاله اعلام می‌دارند که تعارض در منافع ندارند.

References

1- Meng W, Lingwei M, Liru X, Wenlei Y, Zhiyong L, Xiang L, et al. Resveratrol alleviates chemotherapy-induced oogonial stem cell apoptosis and ovarian aging in mice. Aging. 2019 Feb; 11(3): 1030–44.

2- Shan W, Guolin H, Meng C, Tao Z, Wenming X, Xinghui L. The role of antioxidant enzymes in the ovaries. Oxid. 2017 Sep; 1-14.

3- Carter LG, D'Orazio JA, Pearson KJ. Resveratrol and cancer: focus on in vivo evidence. Endocr Relat cancer. 2014 Jun; 21(3):209-25.

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-01-09]

[DOI: 10.52547/jarums.20.4.474]

4- de Mattos DMM, Dire GF, Lima RC, Almeida ACC, Bellucio D, Azevedo CSS, et al. The consequences of the effects of the chemotherapeutic drug (vincristine) in organs and the influence on the bioavailability of two radio-biocomplexes used for bone evaluations in balb/c female mice. Afr J Biotechnol. 2009 Dec; 8 (23):6724-30.
5-Shati A A. Sub-chronic administration of vincristine sulfate induces renal damage and apoptosis in rats via induction of oxidative stress and activation of raf1-mek1/2-erk1/2 signal transduction. Int J Morphol. 2019 Jan; 37(1):273-83.
6- Al-Gubory KH, Fowler PA, Garrel C. The roles of cellular reactive oxygen species, oxidative stress and antioxidants in pregnancy outcomes. Int J Biochem Cell Biol. 2010 Jun; 42:1634–50.
7- Spears N, Lopes F, Stefansdottir A, Rossi V, Felici MD, Anderson R A, et al. Ovarian damage from chemotherapy and current approaches to its protection. Hum Reprod Update. 2019 Nov; 25(6): 673–93.
8- Karabag-Coban F, Hazman O, Bozkurt MF, Ince S. Antioxidant status and anti-inflammatory effects of oleuropein in streptozotocin-induced diabetic nephropathy in rats. European J Med Plants. 2017 Jan; 18(2): 1-10.
9- Szliszka E, Krol W. The role of dietary polyphenols in tumor necrosis factor-related apoptosis inducing ligand (TRAIL)-induced apoptosis for cancer chemoprevention. Eur J Cancer Prev. 2011 Jan; 20(1):63-9.
10- Patra S, Pradhan B, Nayak R, Behera C, Rout L, Jena M,et al. Chemotherapeutic efficacy of curcumin and resveratrol against cancer: Chemoprevention, chemoprotection, drug synergism and clinical pharmacokinetics. Semin Cancer Biol. 2021 Aug; 73:310-320.
11- Zhu W, Qin W, Zhang K, Rottinghaus GE, Chen YC, Kliethermes B, et al. Transresveratrol alters mammary promoter hypermethylation in women at increased risk for breast Cancer. Nutr Cancer. 2012 Apr; 64(3):393-400.
12- Devine PJ, Perreault SD, Luderer U. Roles of reactive oxygen species and antioxidants in ovarian toxicity. Biol Reprod. 2012 Feb; 86(2):1–10.
13- Özcan P, Fıçıcıoğlu C, Yıldırım ÖK, Özkan F, Akkaya H, Aslan I. Protective effect of resveratrol against oxidative damage to ovarian reserve in female sprague-dawley rats. Reprod Biomed Online.2015 Sep; 31: 40410.
14- Bairy K L , Sanath S, Jagetia G C, Somayaji S N, Vidyasagar M S, Baliga M S. Evaluation of intraperitoneal vincristine in malignant peritoneal effusion. Indian J Physiol Pharmacol. 2003 Jul; 47(3):270-78.
15- Geisler S, Doan RA, Strickland A, Huang X, Milbrandt J, DiAntonio A. Prevention of vincristine-induced peripheral neuropathy by genetic deletion of SARM1in mice. Brain. 2016 Dec;139:3092–3108.
16- Myers M, Britt KL, Wreford GM., Ebling FJP, Kerr JB. Methods for quantifying follicular numbers within the mouse ovary. Reproduction. 2004 May; 127 (5):569-80.
17- Somi MH, Hajipour B, Asl NA, Estakhri R, Azar AN, Zade MN, et al. Pioglitazone attenuates ischemia/reperfusion-induced liver injury in rats. Transplant Proc. 2009 Dec; 41(10): 4105-9.
18- Kurcer Z, Oguz E, Ozbilge H, Baba F, Aksoy N,Celik H, et al. Melatonin protects from Ischemia/reperfusion-induced renal injury in rats: this effect is not mediated by proinflammatory cytokines. J Pineal Res. 2007 Jun; 43(2): 172-78.
19- Atessahin A, Yilmaz S, Karahan I, Ceribasi AO, Karaoglu A .Effects of lycopene against cisplatin-induced nephrotoxicity and oxidative stress in rats. Toxicology. 2005 Sep; 212:116–23.
20- Priyamvada S, Priyadarshini M, Arivarasu N, FarooqN, Khan S, Khan SA, et al. Studies on the protective effect of dietary fish oil on gentamicin-induced nephrotoxicity and Oxidative damage in rat kidney. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids. 2008 Jun; 78:369-81.
21- Gbotolorun SC, Okafor IA, Ndoeche CA. Resveratrol supplementation rescues pool of growing follicles and ovarian stroma from Cisplatin-induced toxicity on the ovary in Sprague-Dawley rats: An experimental study. Int J Reprod BioMed .2018 Jan; 16 (10):19-30.
22- Helal M. Chemotherapeutic agent-Induced ovarian gonadotoxicity. J Exper Biol Agric Sci. 2014 Dec; 2: 583-91.

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-01-09]

[DOI: 10.52547/jarums.20.4.474]

23- Rezk YA, Balulad SS, Keller RS, Bennett JA .Use of resveratrol to improve the effectiveness of cisplatin and doxorubicin: study in human gynecologic cancer cell lines and in rodent heart. Am j Obstet Gynecol .2006 May; 194: 23–6.

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-01-09]

[DOI: 10.52547/jarums.20.4.474]