Archive of SID

فصلنامه (علمی – پژوهشی)
زیست شناسی تکوینی
سال یازدهم، شماره ۴، پاییز ۱۳۹۸ ص. ۳۴-۲۵

مقاله پژوهشی

بررسی اثر داروی دکاربازین بر تکوین فولیکول‌های تخمدان و هورمون‌های محرک جنسی و استرادیول در موش ماده نژاد NMRI

زینب غفاری فر[۱]، نسیم حیاتی رودباری[۱*]، سیمین محمدی گرجی[۲]، کاظم پریور[۱]

[۱] گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، تهران، ایران
[۲] گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ساری، گروه زیست شناسی، مازندران، ایران

[*] Email: nasimhayati@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۸/۰۱/۳۱ تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۵/۰۶

چکیده

پس از درمان سرطان، مشکلات باروری و اختلالات زایمانی بسیاری مانند سقط جنین، زایمان زودرس و وزن کم نوزاد هنگام تولد رخ می‌دهد بنابراین حفظ باروری باید بخش جدایی ناپذیر بهبود کیفیت زندگی در نجات یافتگان از سرطان باشد. داکاربازین یک داروی شیمی درمانی ضدسرطان است و این مطالعه به تاثیر داکاربازین بر اووژنز و هورمون‌های جنسی و استرادیول در موش ماده بالغ نژاد NMRI می‌پردازد.۳۰ سر موش ماده بالغ نژاد NMRI به ۵ گروه ۶ تایی شامل کنترل، شاهد، تجربی ۱ و ۲ و ۳ دریافت کننده ۱۰ روزه حلال دارو و دوزهای ۲۰، ۳۰ و ۴۰ mg/kg داکاربازین به روش تزریق درون صفاقی تقسیم شدند. برای سنجش هورمون‌های جنسی و استرادیول خون‌گیری از قلب انجام گرفت و جهت بررسی اووژنز بافت تخمدان از بدن خارج گردید. نتایج تحقیق حاضر نشان می‌دهد داکاربازین تعداد فولیکول گراآف و رگ خونی را در مقایسه با گروه کنترل کاهش داده است و تعداد فولیکول آترزی در گروه‌های تجربی ۱، ۲ و۳ افزایش معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل دارد. همچنین مقادیر هورمون‌های FSH، LH و استرادیول با افزایش دوز دارو کاهش معنی‌دار را نشان می‌دهد.

کلیدواژه‌ها: ناباروری، اووژنز ، داکاربازین، گنادوتروپین، موش سوری.

مقدمه

پس از درمان سرطان، مشکلات باروری و اختلالات زایمانی بسیاری مانند سقط جنین، زایمان زودرس، وزن کم نوزاد هنگام تولد رخ می‌دهد. بنابراین حفظ باروری باید بخش جدایی ناپذیر بهبود کیفیت زندگی در نجات یافتگان از سرطان باشد[۸]. بسیاری از بیماران که در سن باروری هستند از خطر ژنتیکی درمان با داروهای شیمی درمانی ابراز نگرانی

www.SID.ir

Archive of SID

کرده‌اند[۱]. اما در طول دو دهه گذشته فناوری‌های نوین به منظور ارائه امید حفظ پتانسیل باروری توسعه یافته است[۹].

داکاربازین (DTIC) [5-(3,3-dimethyl-1-triazenyl) imidazole-4-carboxamide]، یک داروی شیمی درمانی ضد سرطان است [۱٦]. این دارو توسط سازمان مدیریت غذا و دارو در سال ۱۹۷۵ برای درمان ملانوم بدخیم متاستاتیک تایید شد اما نرخ درمان توسط این دارو ۲۰٪ برآورد شد [۱۹]. داکاربازین اغلب در ترکیب با سایر داروهای شیمی درمانی برای درمان هوچکین پیشرفته مورد استفاده قرار می‌گیرد[٦،۷]. داکاربازین عضوی از طبقه عوامل آلکیله کننده است که سلول‌های سرطانی را با اضافه کردن یک گروه آلکیل (C_nH_{2n+1}) به DNA آن‌ها، نابود می‌کند[۲۳]. اگر چه مکانیزم دقیق داکاربازین تا به حال به طور کامل شناخته نشده است،اما سه فرضیه ارائه شده است: (a) مهار سنتز DNA با عمل به عنوان یک آنالوگ پورین، (b) عمل به عنوان عامل آلکیله کننده، (c) برهمکنش با گروه‌های [۲۲SH]. نقش داکاربازین آلکیله کردن DNA است. رشته‌های متیله ی DNA به هم می‌چسبند به طوری که تقسیم سلولی غیر ممکن می‌شود[۱۰]. سلول‌های سرطانی نسبت به سلول‌های طبیعی، DNA حساس‌تری دارند، زیرا نسبت به سلول‌های سالم، تکثیرشان سریع‌تر و تصحیح خطای آن‌ها کمتر است، اما عامل آلکیله کننده ضدسرطان، برای سلول‌های طبیعی نیز سمی هستند و منجر به آسیب، به ویژه در سلول هایی که سرعت تقسیم بالایی دارند مثل سلول‌های دستگاه گوارش، مغز استخوان، بیضه و تخمدان می‌شود[۲۳]. داکاربازین برای درمان انواع سرطان از جمله ملانوم بدخیم متاستاتیک، بیماری هوچکین، سارکوماهای بافت نرم، نوروبلاستوما، فیبروسارکوما، رابدومیوسارکوم، کارسینومای سلول‌های جزیره‌ای، و کارسینومای مدولاری تیروئید مورد استفاده قرار می‌گیرد[۲۳]. همانند بسیاری از داروهای شیمی درمانی، داکاربازین عوارض جانبی دارد، چرا که در رشد سلول‌های طبیعی و همچنین رشد سلول‌های سرطانی مداخله می‌کند. در میان جدی ترین عوارض جانبی احتمالی، نقایص مادرزادی در کودکان است. همچنین عوارض دیگری مانند عقیمی بصورت احتمالاً دائمی؛ سرکوب سیستم ایمنی دیده می‌شود [۲]. از زمان تولد، تخمدان‌ها، حاوی تعدادی از فولیکول‌های نابالغ بدوی هستند که هر کدام از این فولیکول‌ها حاوی یک اووسیت اولیه نابالغ هستند. در سن بلوغ تعدادی از فولیکول‌ها، شروع به فولیکولوژنز می‌کنند و وارد یک الگوی رشد می‌شوند که به تخمک‌گذاری و یا به مرگ سلولی (آپوپتوز) ختم می‌شود[٤]. موفقیت تولید مثل در همه پستانداران به عملکرد هیپوتالاموس، غده هیپوفیز و گنادها وابسته است[۱۳]. FSH و LH از سلول‌های گنادوتروپیک در هیپوفیز قدامی ساخته و ترشح می‌شوند. FSH رشد، تکامل، بلوغ جنسی و فرآیندهای تولید مثلی را تنظیم می‌کند [۱۵]. در جنس ماده افزایش سطح هورمون LH باعث تخمک‌گذاری و شکل گیری جسم زرد می‌شود[۱۰]. فولیکول‌های تخمدان هورمون استروژن (E2) را ترشح می‌کنند[۱۳] این هورمون در تکامل و تنظیم دستگاه تولید مثلی ماده و نیز صفات جنسی ثانویه نقش مهمی را ایفا می‌کند[۳]. هدف از این مطالعه ارزیابی اثر داروی داکاربازین بر تکوین فولیکول‌های تخمدان و هورمون‌های جنسی و استرادیول می‌باشد.

www.SID.ir

Archive of SID

مواد و روش‌ها:

پژوهش حاضر یک مطالعه تجربی است که در مجتمع آزمایشگاهی رازی واقع در دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران انجام شد. در این مطالعه، ۳۰ سر موش ماده بالغ نژاد NMRI با وزن تقریبی ۲۵–۳۰ گرم از انستیتو پاستور کرج خریداری شده و به اتاق حیوانات منتقل شدند. در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی در دمای ۲±۲۲ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۷۰–۵۰ درصد نگهداری شدند و محدودیتی از نظر دسترسی به آب و غذا نداشتند. به منظور سازش حیوانات با محیط، تمامی آزمایش‌ها پس از گذشت حداقل یک هفته از استقرار حیوانات انجام شد. حیوانات به صورت تصادفی به ۵ گروه ٦ تایی شامل گروه کنترل، شاهد، تجربی ۱، تجربی ۲، تجربی ۳ تقسیم شدند. گروه کنترل هیچ گونه حلال یا دارویی دریافت نکرد. گروه شاهد به مدت ۱۰ روز ۰,۵ سی سی آب مقطر (حلال دارو) به صورت تزریق صفاقی دریافت کرد و به گروههای تجربی۱، ۲ و ۳ به ترتیب دوزهای ۲۰، ۳۰ و ٤۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم داکاربازین به مدت ۱۰ روز به طریق درون صفاقی تزریق شد.

شرکت سازنده و صاحب امتیاز داروی داکاربازین مورد استفاده در این تحقیق، شرکت MEDAC آلمان است و شرکت وارد کننده آن شرکت دارویی آرام می‌باشد (شماره ثبت ویال ۱۰۰ میلی‌گرمی ۱۲۲۸۰٦۹٦۵۹). ویال ۱۰۰ میلی‌گرمی داروی داکاربازین با استفاده از ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر بصورت محلول درآمده و متناسب با وزن حیوانات و دوز هر گروه تجربی مورد استفاده قرار گرفت.

پس از ۱۰ روز، وزن موش‌ها با استفاده از ترازو اندازه گیری و سپس توسط دی اتیل اتر بیهوش شده و جهت تعیین سطح سرمی هورمون‌های LH, FSH و استرادیول از قلب حیوان خون‌گیری صورت گرفت. نمونه‌های خون به مدت ۳۰ دقیقه در محیط آزمایشگاه قرار گرفته و پس از لخته شدن خون، نمونه‌ها با سرعت ۳٦۰۰ دور در دقیقه (RPM) به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شده و سرم تهیه شد.کیت مورد استفاده برای اندازه گیری غلظت هورمون‌های FSH، LH و استرادیول به ترتیب Mouse follicle-stimulating hormone, FSH Elisa Kit با شماره سریال CSB-E06871m و LH Elisa kit/Mouse با شماره سریال CSB-E12654r و Mouse Estradiol E2 Elisa Kit با شماره سریال CSB-E05109m می‌باشد (ساخت شرکت DLdevelop در چین است و شرکت وارد کننده ایرانی دانش پژوه کار می‌باشد). سنجش سطح هورمون‌های LH, FSH و استرادیول بر اساس روش اندازه گیری الایزا (ELISA) طبق پروتکل کیت انجام شد.

پس از خون‌گیری از قلب، حیوانات تشریح، بافت تخمدان راست و چپ از بدن هر موش خارج شد و پس از شست و شوی بافت‌های مذکور با سرم فیزیولوژی و توزین با ترازوی دیجیتال، بافت‌های تخمدان جهت فیکساسیون در محلول بوئن به مدت ۳ ساعت قرار داده شدند. سپس مراحل آب گیری تدریجی با اتانول و شفاف‌سازی با زایلین و قالب گیری با پارافین انجام گرفت. در ادامه از قالب‌های آماده شده برش‌های سریالی ٦ میکرونی توسط دستگاه میکروتوم تهیه شد و با روش هماتوکسیلین–ائوزین رنگ‌آمیزی صورت گرفت. پس از رنگ‌آمیزی H&E، لام‌های میکروسکوپی تهیه و با استفاده از

www.SID.ir

Archive of SID

میکروسکوپ نوری Olympus تعداد فولیکول‌های بدوی، اولیه، ثانویه، گراف، آترزی، جسم زرد و رگ خونی شمارش شده و با استفاده از گراتیکول خطی قطر تخمدان، فولیکول‌ها، جسم زرد و رگ خونی اندازه‌گیری شد. سپس با دوربین از برش‌های انتخاب شده زیر میکروسکوپ نوری Olympus عکس گرفته شد.

آنالیز آماری:

در این آزمایش برای بررسی وجود تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های تجربی و کنترل از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه One Way ANOVA و نرم افزار SPSS 23 استفاده شد. به دنبال آن از آزمون Tukey برای تعیین تفاوت بین گروه‌های مختلف استفاده شد. نمودارهای مربوطه توسط نرم افزار Microsoft 2017 Excel ترسیم شدند.

داده‌ها به صورت میانگین + – انحراف معیار برای هر گروه در نظر گرفته شد. در تمامی مراحل $p<0.05$ به عنوان سطح معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج:

وزن موش‌ها و تخمدان راست و چپ

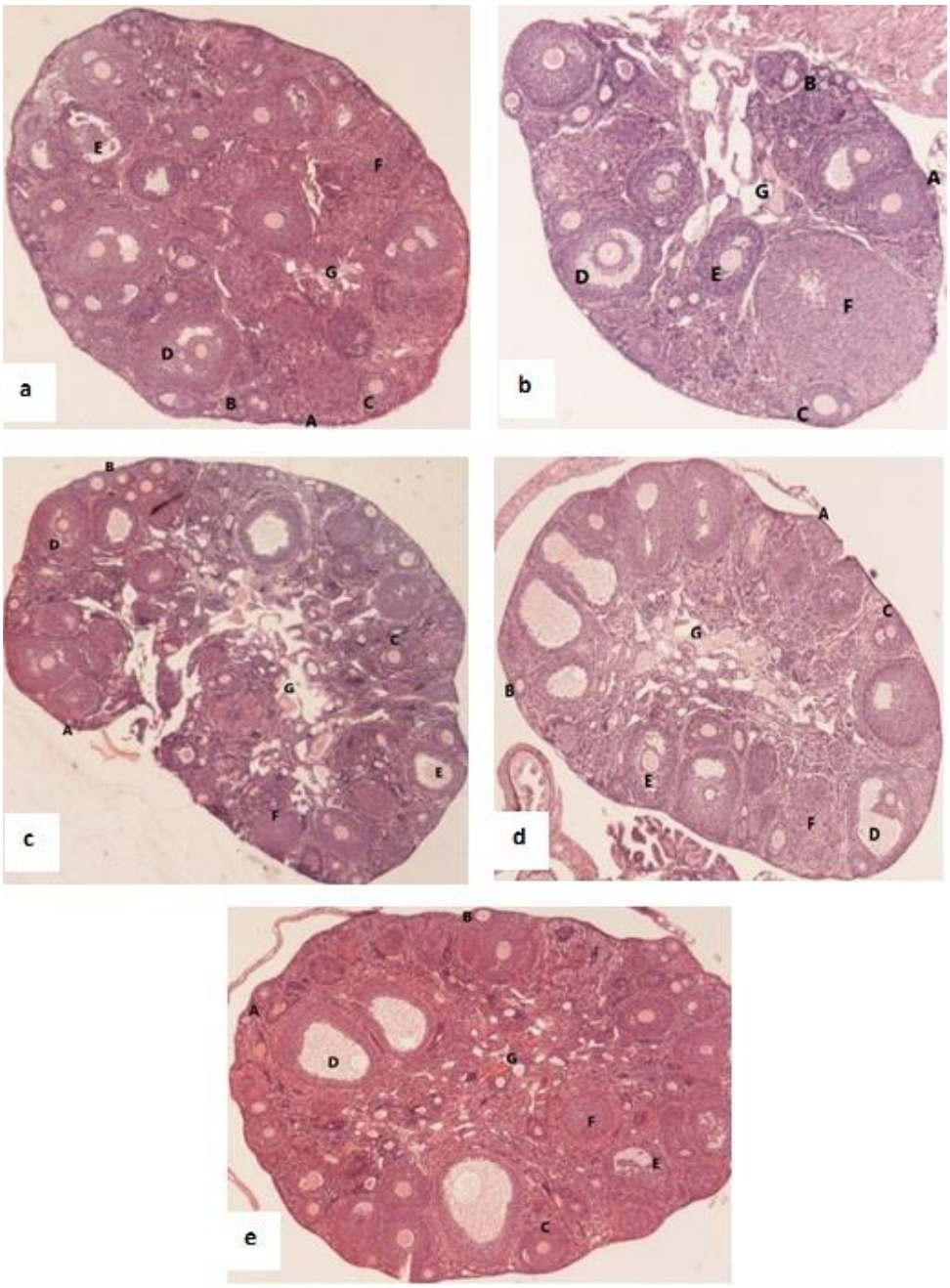
وزن حیوانات در گروه‌های تجربی ۱ تا ۳ با غلظت‌های ۲۰ mg/kg، ۳۰ mg/kg و ٤٠ mg/kg داکاربازین ،کنترل و شم هرکدام با شش عضو قبل از تزریق داروی داکاربازین و قبل از تشریح اندازه‌گیری شد. براساس آزمون ANOVA و Tukey بین وزن موش‌های کنترل، شم، تجربی۱، ۲ و ۳ اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد. تفاوت وزن موش‌ها قبل از تزریق دارو و قبل از تشریح به دلیل مصرف مواد غذایی در طی دوره تحقیق می‌باشد زیرا وزن موش‌های گروه کنترل نیز تغییر داشته است. همچنین تحلیل آماری اختلاف معنی‌دار بین میانگین وزن تخمدان راست و چپ گروه‌های تجربی۱ تا ۳ با غلظت‌های ۲۰ mg/kg، ۳۰ mg/kg و ٤٠ mg/kg داکاربازین و شم نسبت به گروه کنترل نشان نداد.

قطر تخمدان، جسم زرد، رگ خونی و فولیکول‌های بدوی، اولیه، ثانویه، گراف، آترزی

تحلیل آماری اختلاف معنی دار بین میانگین قطر فولیکول‌های بدوی، اولیه، ثانویه، گراف و آترزی در گروه‌های تجربی ۱ تا ۳ با غلظت‌های ۲۰ mg/kg، ۳۰ mg/kg و ٤٠ mg/kg داکاربازین و شم نسبت به گروه کنترل نشان نداد (شکل ۱). همچنین بین میانگین قطر جسم زرد در گروه‌های تجربی۱ تا ۳ با غلظت‌های ۲۰ mg/kg، ۳۰ mg/kg و ٤٠ mg/kg داکاربازین، کنترل و شم اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد (شکل ۱). تحلیل آماری اختلاف معنی‌دار بین میانگین قطر رگ خونی در گروه‌های تجربی۱ تا ۳ با غلظت‌های ۲۰ mg/kg، ۳۰ mg/kg و ٤٠ mg/kg داکاربازین و شم نسبت به گروه کنترل مشاهده نشد (شکل ۱).

www.SID.ir

Archive of SID



شکل۱. بافت تخمدان و فولیکوهای بدوی، اولیه، ثانویه، گرآف، آترزی،جسم زرد و رگ خونی از :aگروه کنترل :b گروه شم :e,d,cگروه‌های تجربی ۱ تا ۳ با غلظت‌های 20 mg/kg، 30 mg/kgو 40 mg/kg تحت تیمار با داکاربازین پس از رنگ آمیزی هماتوکسیلین–ائوزین و بزرگنمایی ۱۰۰ :) X فولیکول بدوی :B فولیکول اولیه :C فولیکول ثانویه :D فولیکول گرآف :E فولیکول آترزی :F جسم زرد :G رگ خونی)

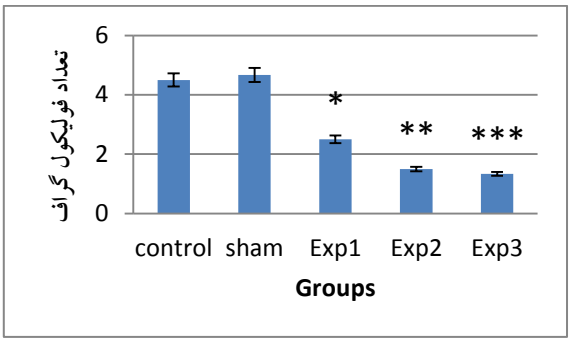
تعداد جسم زرد، رگ خونی و فولیکول‌های بدوی، اولیه، ثانویه، گراف، آترزی

تحلیل آماری اختلاف معنی‌دار بین میانگین تعداد جسم زرد در گروه‌های تجربی۱ تا ۳ با غلظت‌های ۲۰ mg/kg، ۳۰ mg/kg و ٤٠ mg/kg داکاربازین و شم نسبت به گروه کنترل نشان نداد. تحلیل آماری

www.SID.ir

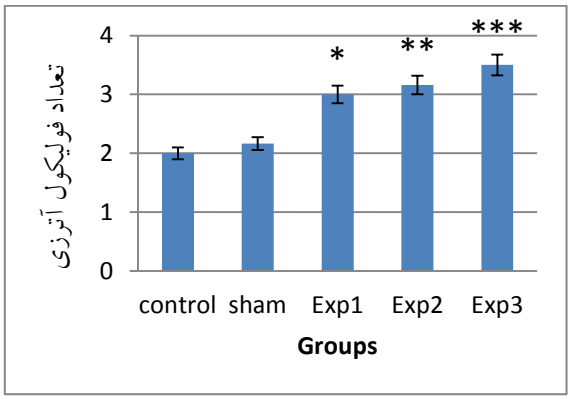
Archive of SID

اختلاف معنی‌دار بین میانگین تعداد رگ خونی در گروه‌های تجربی۱ تا ۳ با غلظت‌های ۲۰ mg/kg، ۳۰ mg/kg و ٤٠ mg/kg داکاربازین نسبت به گروه کنترل در سطح $p<0.001$ نشان داد که با افزایش دوز داکاربازین شاهد کاهش تعداد رگ خونی در گروه‌های تجربی بودیم اما بین میانگین تعداد رگ خونی گروه شم نسبت به گروه کنترل اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد (نمودار ۳). همچنین بین میانگین تعداد فولیکول های بدوی، اولیه و ثانویه در گروهای تجربی ۱ تا ۳ با غلظت‌های ۲۰ mg/kg، ۳۰ mg/kg و ٤٠ mg/kg داکاربازین و شم نسبت به گروه کنترل اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد. تحلیل آماری اختلاف معنی‌دار بین میانگین تعداد فولیکول گراف در گروه‌های تجربی۱ تا ۳ با غلظت‌های ۲۰ mg/kg، ۳۰ mg/kg و ٤٠ mg/kg داکاربازین نسبت به گروه کنترل نشان داد که شاهد کاهش تعداد فولیکول گراف با افزایش دوز داکاربازین بودیم و سطوح معنی‌دار آماری در گروهای تجربی ۱ تا ۳ به ترتیب $p<0.05$، $p<0.01$ و $p<0.001$ بدست آمد اما بین میانگین تعداد فولیکول گراف گروه شم نسبت به گروه کنترل اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد (نمودار ۱). همچنین بین میانگین تعداد فولیکول آترزی در گروهای تجربی۱ تا ۳ با غلظت‌های ۲۰ mg/kg، ۳۰ mg/kg و ٤٠ mg/kg داکاربازین نسبت به گروه کنترل اختلاف معنی‌دار مشاهده شد که با افزایش دوز داکاربازین شاهد افزایش تعداد فولیکول آترزی در گروه‌های تجربی بودیم و سطوح معنی‌دار آماری در گروهای تجربی ۱ تا ۳ به ترتیب $p<0.05$، $p<0.01$ و $p<0.001$ بدست آمد اما بین میانگین تعداد فولیکول آترزی گروه شم نسبت به گروه کنترل اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد (نمودار ۲).



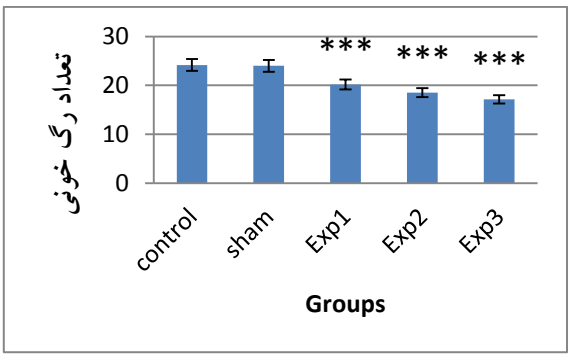
نمودار ۱. نتایج تحلیل مقایسه تعداد فولیکول گرآف موش‌ها در گروه‌های شم، تجربی۱، ۲ و ۳ نسبت به گروه کنترل.

(X±SE) (*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001)



نمودار ۲. نتایج تحلیل مقایسه تعداد فولیکول آترزی موش‌ها در گروه‌های شم، تجربی۱، ۲ و ۳ نسبت به گروه کنترل.

(X±SE) (*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001)



نمودار ۳. نتایج تحلیل مقایسه تعداد رگ خونی تخمدان موش‌ها در گروه‌های شم، تجربی۱، ۲ و ۳ نسبت به گروه کنترل.

(X±SE) (*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001)

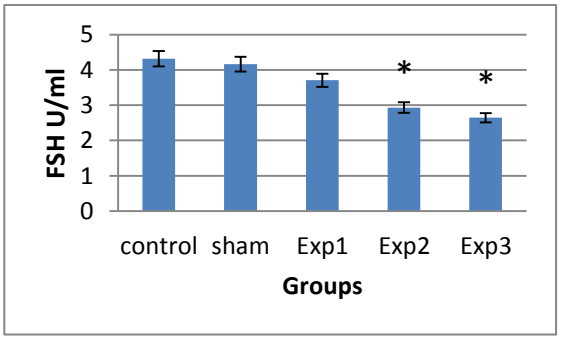
سنجش سطح هورمونی

بررسی‌های هورمونی نشان داد سطح هورمون

www.SID.ir

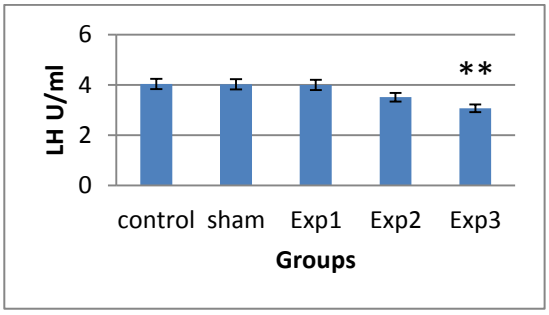
Archive of SID

FSH در گروه‌های تجربی ۲ و۳ با غلظت‌های ۳۰ mg/kg و ٤٠ mg/kg داکاربازین نسبت به گروه کنترل به‌طور معنی‌دار در سطح $p<0.05$ کاهش داشته است اما بین میانگین سطح هورمون FSH در گروه تجربی۱ با غلظت ۲۰ mg/kg داکاربازین و گروه شم نسبت به گروه کنترل اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد (نمودار ٤). سطح هورمون‌های LH و استرادیول در گروه تجربی ۳ با غلظت ٤٠ mg/kg داکاربازین نسبت به گروه کنترل به طور معنی‌داری در سطح $P<0.01$ کاهش یافته است اما بین میانگین سطح هورمون‌های LH و استرادیول در گروه‌های تجربی ۱و۲ با غلظت‌های ۲۰ mg/kg و ۳۰ mg/kg داکاربازین و گروه شم نسبت به گروه کنترل اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد (نمودار ۵ و ٦).



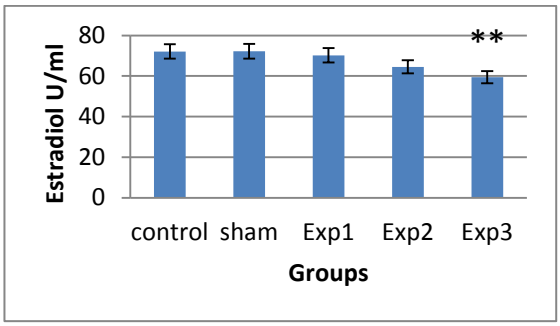
نمودار ٤. نتایج تحلیل مقایسه‌ای غلظت هورمون FSH در گروه‌های کنترل، شم، تجربی۱، ۲ و ۳.

(X±SE) (*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001)



نمودار۵. نتایج تحلیل مقایسه‌ای غلظت هورمون LH در گروه‌های کنترل، شم، تجربی۱، ۲ و ۳.

(X±SE) (*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001)



نمودار ٦. نتایج تحلیل مقایسه‌ای غلظت هورمون استرادیول در گروه‌های کنترل، شم، تجربی۱، ۲ و ۳.

(X±SE) (*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001)

بحث

در تحقیقی که Ritzel و همکارانش در سال ۱۹۹۵ انجام داده‌اند عنوان شده است که داروی داکاربازین باعث تغییر معنی داری در وزن بدن نمی‌شود[۱۷]. در این تحقیق نیز ما مشاهده کردیم که داکاربازین تغییر معنی داری را در وزن بدن موجب نمی‌شود و افزایش یا کاهش وزن بدن در موش ها معنی دار نیست و تغییرات جزئی در وزن بدن ممکن است به عوامل دیگری غیر از داروی داکاربازین مربوط باشد.

داروی داکاربازین میزان هورمون FSH را با سطح معنی‌دار $P<0.05$ و هورمون‌های LH و استرادیول را با سطح معنی دار $p<0.01$ در غلظت‌های بالا کاهش داده است (نمودار 4,5,6) که ممکن است در کاهش باروری ناشی از مصرف دارو در ارتباط باشد و این مسئله با تحقیقات انجام شده توسط Wallace و همکارانش در سال ۲۰۰۵ ارتباط دارد که در این تحقیق عنوان شده است که مصرف داروهای شیمی درمانی مانند دکسوروبایسین، وینبلاستین، بلئومایسین و داکاربازین ممکن است باعث کاهش باروری در افرادی شود که این داروها را مصرف کرده‌اند[۲۲]. داکاربازین عضوی از رژیم شیمی درمانی ABVD

www.SID.ir

Archive of SID

است و به‌صورت شایع برای بیماران سرطانی جوان استفاده می‌شود. در مطالعات اخیر کاهش تعداد فولیکول‌های بدوی به دنبال شیمی درمانی با ABVD مشاهده شده است[۱٤] اما در این تحقیق کاهش تعداد فولیکول های بدوی در گروه‌های تجربی ۱ تا ۳ با غلظت‌های ۲۰mg/kg ، mg/kg ۳۰و mg/kg ٤۰ تحت تیمار با داکاربازین مشاهده نشد. با توجه به اینکه در شرایط بالینی بیماران مبتلا به سرطان چندین دوز یا چرخه شیمی درمانی را دریافت می کنند (مثلا بین ۲ تا ۸ دوره ABVD داده می‌شود) و در نتیجه تاثیر داکاربازین بر ذخیره تخمدانی فولیکول‌های بدوی ممکن است در زنان ، نسبت به آنچه در اینجا گزارش شده است، بیشتر تحت تاثیر قرار بگیرد.

در تحقیقی که توسط Sonigo و همکارانش در سال ۲۰۱٦ با هدف تجزیه و تحلیل نتایج بلوغ در شرایط آزمایشگاهی (IVM) از تخمک‌های مورد استفاده برای حفظ باروری (FP) در بیماران مبتلا به سندرم لنفوم هوچکین انجام شد، عنوان شده است که تعداد کل اووسیت‌ها در بیمارانی که به مدت ۲ سال ABVD را دریافت کرده‌اند کمتر شده است و درواقع کمپلکس دارویی ABVD موجب شده است که ذخیره تخمدانی در بیمارانی که شیمی درمانی انجام داده‌اند کمتر شود[۲۱] نتایج تحقیق حاضر نیز نشان داد که تعداد فولیکول های تخمدانی در پاسخ به داروی داکاربازین کمتر شده و بنابراین ذخیره تخمدانی کاهش یافته است. در واقع داروی داکاربازین همانند کمپلکس دارویی ABVD باعث کاهش قدرت باروری در افرادی می‌شود که تحت شیمی درمانی با این داروها قرار می‌گیرند. در تحقیق دیگری که توسط Lekovich و همکارانش در سال ۲۰۱٦ انجام شد به بررسی کاهش ذخایر تحمدانی زنان مبتلا به سرطان لنفوم هوچکین پیش از شروع درمان بیماری پرداخته شده است که زنان مبتلا به لنفوم تازه تشخیص داده شده و زنان سالم و همچنین زنانی که مبتلا به نوع دیگری از سرطان بدخیم بوده‌اند که توسط انجماد تخمک خود تلاشی برای حفظ باروری داشته‌اند، مورد بررسی قرار گرفته‌اند. بررسی سنجش هورمون AMH و AFC صورت گرفت و نشان داد در زنان مبتلا به لنفوم سطح هورمون AMH کاهش یافته است و تعداد فولیکول‌های آنترال کمتری را نسبت به زنان سالم و همچنین زنان مبتلا به نوع دیگری از سرطان بدخیم داشته اند. زنان مبتلا به سرطان لنفوم پیش از شروع درمان با کاهش ذخایر تخمدانی مواجه هستند [۱۲]. در تحقیق حاضر بررسی عوارض داروی داکاربازین که عضوی از رژیم درمانی ABVD و یکی از داروهای درمان سرطان لنفوم می‌باشد بر روی تخمدان مورد پژوهش قرار گرفت که در نتایج شاهد کاهش تعداد فولیکول گراآف و افزایش فولیکول آترزی بوده ایم.

Kumar و همکارانش در سال ۲۰۰٦ اثر داکاربازین را بر روی سلول‌های زایا در موش مورد بررسی قرار دادند و دریافتند که این ترکیب نه تنها باعث کاهش هورمون تستوسترون و افزایش لاکتات دهیدروژناز می شود، بلکه باعث تغییر شکل و کاهش بقا و تعداد کل اسپرم می‌گردد [۱۱]. در تحقیق حاضر مشاهده کردیم داکاربازین باعث کاهش هورمون های جنسی و همچنین کاهش تعداد و بقا فولیکول های تخمدانی می‌شود. در تحقیقی که توسط Carter و Friedman در سال ۱۹۷۲ انجام شده تاکید داشتند داکاربازین در سلول‌هایی که دارای ماهیت تقسیمی هستند، عمل می‌کند و دلیل اصلی این امر مکانیسم

www.SID.ir

Archive of SID

عمل DTIC است که به صورت همتای بازهای پورین وارد هسته می‌شود و باعث تغییر در بازهای پورین DNA می شود. این امر، روند تکثیر DNA را مختل کرده و باعث قطعه قطعه شدن DNA می گردد و این امر در نهایت منجر به مرگ سلول می‌شود[۲۳]. با اینکه ما تنها از نظر بافت‌شناسی تخمدان تیمار شده با داکاربازین را مورد بررسی قرار دادیم و تأثیر داکاربازین بر روی سلول‌های تخمدان و DNA را بررسی نکردیم اما با توجه به مکانیسم عمل داکاربازین بر روی تقسیم سلولی که منجر به آپوپتوز می‌شود می‌توان نتیجه گرفت علل افزایش تعداد فولیکول آترزی با افزایش دوز دارو به خاطر تغییرات هسته‌ای سلول‌ها می‌باشد. اما تأکید می‌کنیم که این یک حدس و گمان بر اساس مطالعات پیشین است و ما از نظر سلولی ماهیت فولیکول‌های تخمدان‌های تیمار شده با داکاربازین را بررسی نکرده‌ایم.

سپاسگزاری

نویسندگان از گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم پایه و مسؤلین آزمایشگاه رازی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران برای حمایت و پشتیبانی از این مطالعه قدردانی می نمایند.

منابع

[1] Adler, I.D., Kliesch, U., Jentsch, I., Speicher M.R. 2002. Induction of chromosomal aberrations by dacarbazine in somatic and germinal cells of mice. Mutagenesis;17(5): 383-389.

[2] Aoki, S., Iihara, H., Nishigaki, M., Imanishi, Y., Yamauchi, K., Ishihara, M., Kitaichi, K., Itoh, Y .2013. Difference in the emetic control among highly emetogenic chemotherapy regimens: Implementation for appropriate use of aprepitant. Mol clin oncol; 1(1): 41–46.

[3] Burger, H.G., 2002. "Androgen production in women". Fertil Steril; 77 Suppl 4: S3–5.

[4] Byskov, A. G., & Hoyer, P. E. (1988). Embryology of mammalian gonads and ducts. In the physiology of reproduction (E. Knobil, & J. Neill, Eds.), pp. 265–302. Raven Press, New York.

[5] Carter, S.K. and Friedman, M.A. 1972. 5-(3.3-dimethyl-1-triazeno)-imidazole-4-carboxamide (DTIC, DIC, NSC-4538) a new anti-tumour agent with activity against melanomas. Eur. J. Cancer, 8(1): 85-92

[6] Chim, C.S., Kwong, Y.L., Lie, A.K., Lee, C.K., Ho, F.C. and Liang, R. 1999. Advanced stage and unfavorable Hodgkin's disease in the Chinese—a 20-year experience. Am. J. Hematol; 61(3): 159-163.

[7] Engert, A., Wolf, J., Diehl, V. 1999. Treatment of advanced Hodgkin's lymphoma: standard and experimental approaches. Semin. Hematol; 36(3): 282–289.

[8] Green, D.M., Whitton, J.A., Stovall, M., Mertens, A.C., Donaldson, S.S., Ruymann, F.B., Pendergrass, T.W., Robison, L.L. 2002. Pregnancy outcome of female survivors of childhood cancer: a report from the Childhood Cancer Survivor Study. Am J Obstet Gynecol.; 187(4): 1070-80.

[9] Grynberg, M. 2016. The challenge of fertility preservation in cancer patients: a special focus issue from Future Oncology. Future Oncol; 12(14): 1667-9.

[10] Jiang, X., Dias, J.A., He, X. 2014. "Structural biology of glycoprotein hormones and their receptors: insights to signaling". Mol Cell Endocrinol. 382 (1): 424–451.

[11] Kumar, S.G., Narayana, K., Bairy, K.L., D'Souza, U.J., Samuel, V.P., Gopalakrishna, K. 2006. Dacarbazine induces genotoxic and cytotoxic germ cell damage with concomitant decrease in testosterone and increase in lactate dehydrogenase concentration in the testis, Mutat Res; 607(2): 240-252.

www.SID.ir

Archive of SID

[12] Lekovich, J., Lobel, A.L.S., Stewart, J.D., Pereira, N., Kligman, I., Rosenwaks, Z., 2016. Female patients with lymphoma demonstrate diminished ovarian reserve even before initiation of chemotherapy when compared with healthy controls and patients with other malignancies. J Assist Reprod Genet; 33(5): 657–662.

[13] Lombardi, G., Zarrilli, S., Colao, A., Paesano, L., Di Somma, C., Rossi, F., De Rosa, M. 2001. "Estrogens and health in males". Mol Cell Endocrinol; 10; 178(1-2): 51-5.

[14] McLaughlin, M., Kelsey, T.W., Wallace, W.H., Anderson, R.A. & Telfer, E.E. 2017. Non-growing follicle density is increased following Adriamycin, bleomycin, vinblastine and dacarbazine (ABVD) chemotherapy in the adult human ovary. Hum Reprod; 32(1): 165-174.

[15] Pierce, J.G., Parsons, T.F. 1981. "Glycoprotein Hormones: Structure and Function". Annu Rev Biochem. 1981; 50: 465-95.

[16] Reid, J.M., Kuffel, M.J., Miller, J.K., Rios, R., Ames, M.M. 1999. Metabolic activation of dacarbazine by human cytochromes P450: the role of CYP1A1, CYP1A2, and CYP2E1. Clin Cancer Res; 5(8): 2192-2197.

[17] Ritzel, U.; Leonhardt, U.; Stökmann, F.; Ramadori, G. 1995. Treatment of Metastasized Midgut Carcinoids with Dacarbazine. Am J Gastroenterol; 90(4): 627-31.

[18] Saunders, P.P., Schultz, G.A. 1970. Studies of the mechanism of action of the antitumor agent 5(4) -(3,3-dimethyl-1-triazeno) imidazole-4(5)-carboxamide in Bacillus subtilis. Biochem Pharmacol; 19(3): 911–919

[19] Serrone, L., Zeuli, M., Sega, F.M., Cognetti, F. 2000. Dacarbazine-based chemotherapy for metastatic melanoma: thirty-year experience overview, J Exp Clin Cancer Res.; 19(1): 21-34.

[20] Skibba, J.L., Beal, D.D., Ramirez, G., Bryan, G.T. 1970. N-demethylation the antineoplastic agent 4(5) -(3,3-dimethyl-1-triazeno) imidazole-5(4)-carboxamide by rats and man. Cancer Res, 30 (1):147–150

[21] Sonigo, C., Seroka, A., Cédrin-Durnerin I., Sermondade, N., Sifer, C., Grynberg, M., 2016. History of ABVD alters the number of oocytes vitrified after in vitro maturation in fertility preservation candidates. Future Oncol; 12(14): 1713-9.

[22] Wallace, W.H., Anderson, R.A., Irvine, D.S., 2005. Fertility preservation for young patients with cancer: who is at risk and what can be offered? Lancet Oncol; 6(12): 922.

[23] Wiedemann, G.J., Robins, H.I, Gutsche, S., Mentzel, M., Deeken, M., Katschinski, D.M., Eleftheriadis, S., Crahe, R., Weiss, C., Storer, B., Wagner, T. 1996. Ifosfamide, carboplatin and etoposide (ICE) combined with 41.8 C whole body hyperthermia in patients with refractory sarcoma, Eur J Cancer; 32A (5): 888-92.

www.SID.ir

Archive of SID

Journal of Developmental Biology
Vol. 11, No. 4, Autumn 2019

The effect of Dacarbazine on the development of ovarian follicles and sex hormones and Estradiol in NMRI mice

Ghaffarifar Z.[1], Hayati Roudbari N.[1*], Mohammadi Gorgi S.[2], Parivar K.[1]

[1] Department of Biology, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran
[2] Department of Biology, Islamic Azad University, Sari Branch, Department of Biology, Mazandaran, Iran

[*] Email: nasimhayati@yahoo.com

Received: 20 April 2019 Accepted: 28 July 2019

Abstract

After cancer treatment occurs fertility problems and many birth defects, such as abortion, early delivery, low birth weight. Therefore, preserving fertility should be an integral part of improving the quality of life in survivors of cancer. Dacarbazine is an anti-cancer chemotherapy drug and this study focuses on the effects of dacarbazine on oogenesis and sex hormones and estradiol in NMRI mice. 30 adult female mice NMRI were divided into 5 groups: control, sham, 1, 2 and 3 experimental groups received 10-day solvent and doses of 20, 30 and 40 mg / kg by intraperitoneal injection dacarbazine. For analysis sex hormones and estradiol was drawn blood from heart and ovarian tissue was removed from the body to investigate Oogenesis. The results of this research work show that Dacarbazine reduces the number of Graafian follicle and blood vessel in comparison with the control group and the number of atretic follicle in the experimental groups 1, 2 and 3 has a significant increase compared to the control group. Also, the levels of FSH, LH and estradiol hormones show a significant decrease with dose increase.

Keywords: Infertility, Oogenesis, Dacarbazine, Gonadotropin, NMR.

www.SID.ir