Archive of SID

تحقیقی

اثر ویتامین E بر سطح سرمی هورمون‌های جنسی و تعداد فولیکول‌های تخمدان موش‌های صحرایی در معرض سدیم متابی‌سولفیت

زهره منشاد[۱]، دکتر سیدابراهیم حسینی*[۲]

۱- کارشناس ارشد فیزیولوژی جانوری ، گروه آموزشی زیست شناسی، دانشکده علوم، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران.

۲- دانشیار، گروه آموزشی زیست شناسی، دانشکده علوم، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران.

Downloaded from goums.ac.ir at 15:03 +0330 on Monday January 8th 2018

چکیده

زمینه و هدف : *از سدیم متابی‌سولفیت به عنوان عامل نگهدارنده در صنایع غذایی و دارویی استفاده می‌شود. این مطالعه به منظور تعیین اثر ویتامین E در بهبود عوارض ناشی از سدیم متابی‌سولفیت بر بافت تخمدان و هورمون‌های جنسی موش‌های صحرایی انجام شد.*

روش بررسی : *در این مطالعه تجربی ۷۰ سر موش صحرایی ماده بالغ نژاد ویستار به‌طور تصادفی در ۷ گروه کنترل، شم، تجربی اول (دریافت کننده سدیم متابی‌سولفیت ۵۲۰ mg/kg/bw)؛ تجربی دوم (دریافت کننده ویتامین E ۲۰۰ mg/kg/bw)؛ تجربی سوم و چهارم و پنجم (دریافت کننده سدیم متابی‌سولفیت ۵۲۰ mg/kg/bw توام با ویتامین E به ترتیب با دوزهای ۵۰ mg/kg/bw ، ۱۰۰ و ۲۰۰) تقسیم شدند. تجویزها به‌صورت گاواژ طی ۳۰ روز انجام شد. پس از خونگیری از حیوانات برای اندازه‌گیری هورمون‌های LH ، FSH ، استروژن و پروژسترون، تخمدان‌های آنها خارج و پس از تهیه مقاطع بافتی فولیکول‌ها شمارش شدند.*

یافته‌ها : *غلظت هورمون‌های استروژن، پروژسترون و تعداد فولیکول‌های پره آنترال، آنترال، گراف و جسم زرد در گروه دریافت کننده سدیم متابی‌سولفیت و ویتامین E به تنهایی نسبت به گروه کنترل کاهش آماری معنی‌دار یافت (P<۰/۰۵)؛ اما در حیوانات تحت تیمار با سدیم متابی‌سولفیت و ویتامین E با دوزهای ۱۰۰ mg/kg/bw و ۲۰۰ نسبت به گروه کنترل اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده نگردید.*

نتیجه‌گیری : *مصرف همزمان سدیم متابی‌سولفیت با دوزهای ۵۰ ، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن از ویتامین E می‌تواند اثرات سدیم متابی‌سولفیت بر فولیکول‌های تخمدانی و هورمون‌های جنسی را کاهش دهد.*

کلید واژه‌ها : *سدیم متابی‌سولفیت ، ویتامین E ، فولیکول تخمدانی ، استروژن ، پروژسترون ، LH ، FSH ، موش صحرایی*

* نویسنده مسؤول : دکتر سیدابراهیم حسینی ، پست الکترونیکی ebrahim.hossini@yahoo.com

نشانی : شیراز، کیلومتر ۵ جاده شهرک صدرا پردیس دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز، تلفن ٤٣١١١٤٨-٠٧١، نمابر ٤٣١١١٧٢

وصول مقاله : ۱۳۹۵/۷/۲۵ ، اصلاح نهایی : ۱۳۹۵/۱۱/۳۰ ، پذیرش مقاله : ۱۳۹۵/۱۲/۱

مقدمه

امروزه به‌منظور پیشگیری از فساد مواد غذایی، نوشیدنی‌ها و داروها استفاده از مواد نگهدارنده در صنایع وابسته افزایش یافته است. سدیم متابی‌سولفیت یکی از این مواد نگهدارنده است که در مواد غذایی مانند بیسکویت، شکلات، مربا، سوسیس، نوشیدنی‌های الکلی نظیر آبجو، شراب و همچنین برخی از داروها به منظور جلوگیری از رشد کپک‌ها و مخمرها استفاده می‌شود و در بدن نیز به مقدار قابل توجهی از متابولیسم سولفور متصل به آمینواسیدهای سیستئین و متیونین تولید می‌گردد (۱). ترکیبات سولفیت‌داری که به‌دنبال استفاده از مواد غذایی و دارویی وارد بدن می‌شود؛ باعث بالا رفتن مقدار این ماده در بدن شده و در نتیجه آنزیم سولفیت اکسیداز، توانایی خنثی کردن مقدار اضافی سولفیت وارد شده به بدن را نخواهد داشت که موجبات آسیب بافتی را فراهم می‌نماید (۲). سدیم متابی‌سولفیت با داشتن اثر اکسیداتیو باعث افزایش میزان غلظت مالون‌دی‌آلدهید و همچنین کاهش غلظت آنزیم کاتالاز می‌گردد (۳). سولفیت یک عامل احیا کننده بوده و می‌تواند با یک و یا دو الکترون اکسیداتیو به شکل رادیکال‌های سولفات و سولفیت در آید (۴). به‌علاوه برخی مطالعات حیوانی نشان داده‌اند که سدیم متابی‌سولفیت به‌صورت وابسته به دوز با افزایش آنزیم لیپید پراکسیداز باعث تخریب بافتی می‌شود (۵). سدیم متابی‌سولفیت با داشتن خواص اکسیدانتی و ایجاد استرس اکسیداتیو باعث آسیب به بافت کلیه در موش‌های صحرایی شده است (۶). نتایج حاصل از یک مطالعه بیانگر آن است که سدیم متابی سولفیت با القاء استرس اکسیداتیو باعث افزایش آپوپتوز در بافت معده موش‌های صحرایی شده و گرلین با داشتن خواص آنتی‌اکسیدانی باعث کاهش این اثر می‌گردد (۷). استرس‌های اکسیداتیو از طریق افزایش آپاپتوز

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from goums.ac.ir at 15:03 +0330 on Monday January 8th 2018

فولیکول‌های آنترال و اووسیت‌های تخمدانی باعث کاهش قدرت باروری و تولید سلول‌های جنسی در حیوانات ماده می گردد (۸). ویتامین E (توکوفرول) یکی از آنتی‌اکسیدانت‌های غیرآنزیمی قوی محلول در چربی است که با پاکسازی و مهار رادیکال‌هایی مانند هیدروکسیل، پروهیدروکسیل، سوپراکسید، موجب محافظت غشای پلاسمایی و غشای اندامک‌ها از پراکسیداسیون توسط متابولیت‌های فعال اکسیژن می‌شود (۸). ویتامین E با داشتن خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌تواند اثر منفی ایجاد شده در اثر مصرف سدیم ارسنیت بر بافت تحمدان را از بین ببرد (۹). ویتامین E می تواند از عوارض ناشی از p-nonylphenol بر بافت تخمدان جلوگیری نماید (۱۰). تجویز ویتامین E بیضه موش‌های آزمایشگاهی را در مقابل استرس اکسیداتیو القا شده توسط دیابت نوع ۲ محافظت کرده و نیز با داشتن خواص آنتی‌اکسیدانی مانع اثر مخرب رادیکال های آزاد در بیضه و اسپرم در دستگاه تناسلی حیوانات نر می‌شود (۱۱). دیازینون با القاء استرس اکسیداتیو دارای اثر سمی بر بافت تخمدان بوده و ویتامین E قادر است باعث بهبود بافت تخمدان گردد (۱۲). ویتامین E با ممانعت از تبدیل کلسترول به رسوبات چربی و یا پلاک‌های آترواسکلروزی در دیواره رگ‌های خونی مانع بروز بیماری‌های قلبی عروقی می‌گردد (۱۳). با توجه به استفاده روزافزون از مواد نگهدارنده‌ای نظیر ترکیبات متابی سولفیت در مواد غذایی گوناگون و اثر سوء این مواد بر بافت‌های مختلف بدن از یک‌سو و شیوع ناباروری در جوامع مختلف از سوی دیگر بررسی اثر این قبیل از ترکیبات بر اندام‌های مختلف بدن امری لازم و ضروری است. این مطالعه به منظور تعیین اثر ویتامین E در بهبود عوارض ناشی از سدیم متابی‌سولفیت بر بافت تخمدان و هورمون‌های جنسی موش‌های صحرایی انجام شد.

روش بررسی

این مطالعه تجربی روی ۷۰ سر موش صحرایی ماده بالغ و باکره نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۱۰-۲۰۰ گرم و سن ۱۰۰ روزه که از مرکز پرورش و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی شیراز تهیه شده بودند؛ در دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز (کد اخلاق IR.Iaushiraz 139512439) طی سال ۱۳۹۵ انجام شد.

در طول دوره آزمایش همه حیوانات از آب و غذای فشرده ساخت شرکت خوراک دام پارس تهران و بدون محدودیت برخوردار بودند و در یک اتاق مخصوص در دمای ۲±۲۰ درجه سانتی گراد و در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی - تاریکی نگهداری شدند. پروتکل این تحقیق بر اساس قوانین بین‌المللی در مورد حمایت از حیوانات آزمایشگاهی تنظیم و در کمیته اخلاق دانشگاه به تصویب رسید. پس از هم سیکل نمودن موش‌ها (۱۴)، حیوانات به ۷ گروه ۱۰ تایی به شرح زیر تقسیم شدند:

گروه کنترل: فاقد تیمار.

گروه شم: تحت تیمار با سرم فیزیولوژیک به عنوان حلال سدیم متابی‌سولفیت و روغن زیتون به عنوان حلال ویتامین E.

گروه تجربی اول: دریافت کننده سدیم متابی‌سولفیت با دوز ۵۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن (۳).

گروه تجربی دوم: دریافت کننده ویتامین E با دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن (۱۵).

گروه تجربی سوم: دریافت کننده سدیم متابی‌سولفیت با دوز ۵۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن توام با ویتامین E با دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن.

گروه تجربی چهارم: دریافت کننده سدیم متابی‌سولفیت با دوز ۵۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن توام با ویتامین E با دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن.

گروه تجربی پنجم: دریافت کننده سدیم متابی‌سولفیت با دوز ۵۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن توام با ویتامین E با دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن.

سدیم متابی‌سولفیت و ویتامین E مورد استفاده از شرکت سیگما تهیه شد. کلیه تجویزها برای مدت ۲۸ روز به‌صورت گاواژ انجام گردید (۳و۱۱و۱۶). برای سنجش میزان سرمی هورمون‌ها FSH ، LH، استروژن و پروژسترون پس از بیهوش نمودن موش‌ها به وسیله کتامین و زایلازین، با استفاده از سرنگ انسولینی از قلب آنها خونگیری به‌عمل آمد. خون حیوانات در لوله های آزمایش به‌طور آهسته ریخته شد و تا هنگام تشکیل لخته در دمای آزمایشگاه نگهداری شد. سپس به وسیله سواب لخته خون از جدار لوله آزمایش جدا گردید و به وسیله دستگاه سانتریفیوژ با دور ۳۵۰۰ در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه سرم آنها جداسازی شد. سرم‌های خونی تهیه شده در یخچال با برودت ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان اندازه‌گیری‌های هورمونی نگهداری گردید. میزان هورمون‌های LH و FSH به روش الایزا (ELISA) و استروژن و پروژسترون به روش رادیوایمونواسی (RIA) با استفاده از دستگاه الایزا ریدر مدل (Hiperion NP4 plus) اندازه‌گیری گردید. کیت‌های مورد استفاده برای اندازه‌گیری هورمون‌های LH و FSH مارک Cusabio ساخت آمریکا و برای هورمون‌های استروژن و پروژسترون مارک IBL,GmbH ساخت آلمان بود.

به‌منظور بررسی تعداد فولیکول‌های تخمدانی در ابتدا تخمدان‌ها با برشی مناسب خارج شدند. سپس به منظور بررسی میانگین تعداد فولیکول‌های تخمدانی و برای تهیه مقاطع بافتی به ترتیب مراحل آبگیری توسط اتانول، شفاف‌سازی با الکل گزیلول و قالب‌گیری انجام گردید. سپس با کمک دستگاه میکروتوم دوار (LEIYZ استرالیا مدل ۱۵۱۲) مقاطع بافتی با ضخامت ۵ میکرومتر تهیه و سپس مقاطع تهیه شده بر روی لام آغشته به چسب Egg albumen منتقل شد و برای خشک شدن آنها بر روی پلیت

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from goums.ac.ir at 15:03 +0330 on Monday January 8th 2018

داغ با دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. برای رنگ‌آمیزی مقاطع تهیه شده از روش رنگ آمیزی هماتوکسیلین - ائوزین استفاده شد. پس از تهیه مقاطع بافتی و رنگ‌آمیزی آنها در مرکز استریولوژی دانشکده علوم پزشکی شیراز، با مشاهده مقاطع بافتی تهیه شده از تخمدان و به وسیله میکروسکوپ نیکون ساخت کشور ژاپن و از طریق پروب یا شبکه صلیبی تعداد فولیکول‌های تخمدانی شمارش گردید. در هر نمونه ۱۲ لام و در مجموع فریمی با ۲۳۴۲ میکرومتر مربع بررسی شد.

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS-20 و آزمون‌های ANOVA و دانکن جداگانه آنالیز و با یکدیگر مقایسه شدند. سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

بین میزان سرمی هورمون‌های جنسی و تعداد فولیکول‌های تخمدانی حیوانات گروه‌های کنترل و شم اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده نگردید.

سدیم متابی سولفیت باعث کاهش آماری معنی‌دار در میزان سرمی هورمون‌های استروژن، پروژسترون، LH و FSH نسبت به گروه کنترل گردید (P<۰/۰۱). در حالی که در گروه‌های تجربی دوم و سوم کاهش آماری معنی‌داری در میزان سرمی هورمون‌های استروژن و پروژسترون نسبت به گروه کنترل مشاهده شد (P<۰/۰۱).

در گروه‌های تجربی چهارم و پنجم افزایش آماری معنی‌داری در میزان سرمی هورمون‌های استروژن، پروژسترون و FSH (P<۰/۰۱) و هورمون LH (P<۰/۰۵) نسبت به گروه تجربی اول مشاهده شد. در حالی که در میزان سرمی این هورمون‌ها نسبت به گروه کنترل اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده نگردید. در میزان سرمی هورمون‌های پروژسترون و FSH گروه تجربی سوم (P<۰/۰۵) نسبت به گروه تجربی اول (P<۰/۰۱) افزایش آماری معنی‌داری مشاهده شد (جدول یک).

در گروه‌های کنترل و شم تغییرات آماری معنی‌داری در تعداد فولیکول‌های تخمدانی مشاهده نگردید. تجویز سدیم متابی سولفیت و ویتامینE هر کدام به تنهایی و یا با یکدیگر اثر آماری معنی‌داری بر تعداد فولیکول‌های بدوی نداشت؛ اما تجویز سدیم متابی‌سولفیت و ویتامینE هر کدام به تنهایی باعث کاهش آماری معنی‌دار تعداد فولیکول‌های پره‌آنترال، آنترال و گرآف، اجسام زرد و افزایش

جدول ۱ : مقایسه میانگین و انحراف معیار سطح سرمی هورمون‌های LH ، FSH ، استروژن و پروژسترون در گروه‌های مورد مطالعه

گروه‌ها	میانگین و انحراف معیار هورمون‌ها			
	FSH (IU/L)	LH (IU/L)	استروژن (pg/ml)	پروژسترون (ng/ml)
کنترل	٤/١٢± ۰/۳۷	۳/۰۷± ۰/۱۵	۱۹۹/۳٤± ۱۲/۲۳	۷/۹۲± ۰/۹۳
شم	٤/۰۰± ۰/۳۷	۲/۷۷± ۰/۲۱	۱۹۵/۳۸± ۵/۵۱	۷/۲۳± ۰/۶۹
تجربی اول	۱/۵۱± ۰/۲۰ *	۱/۷۱± ۰/۲۱ *	۱۱۹/۹۵± ۱۰/۲۵ *	۱/۲۸± ۰/۱۳ *
تجربی دوم	٤/۱۰± ۰/۳۳ †	۲/۷۰± ۰/۳۱	۱٤٤/٦٦± ۱۲/۷۲ *	۱/٦٦± ۰/٦٦ *
تجربی سوم	۲/۹۵± ۰/۱۷ #	۲/۱۵± ۰/۳۰	۱۳۲/٤۸± ۷/۰۲ *	۳/۲۱± ۰/۸ #*
تجربی چهارم	٤/۱۰± ۱/٤۰ †	۲/٦٤± ۰/۳۵ #	۱۸۹/۷۲± ۱۵/۵۰ †	۷/۱۲± ۱/۱۲ †
تجربی پنجم	٤/۰۵± ۰/۳۳ †	۲/۷۸± ۰/۲۸ #	۱۸۸/۹۰± ۱۱/۲٤ †	۷/۱۰± ۰/۹۲ †

گروه کنترل: فاقد تیمار؛ گروه شم: تحت تیمار با سرم فیزیولوژیک و روغن زیتون؛ گروه تجربی اول: دریافت کننده سدیم متابی‌سولفیت با دوز ۵۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن؛ گروه تجربی دوم: دریافت کننده ویتامینE با دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن؛ گروه‌های تجربی سوم و چهارم و پنجم دریافت کننده سدیم متابی‌سولفیت با دوز ۵۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن توام با ویتامینE به ترتیب با دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن

** اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل در سطح P<۰/۰۱؛ # و † اختلاف معنی‌دار با گروه تجربی اول به ترتیب در سطح P<۰/۰۵ و P<۰/۰۱*

جدول ۲ : مقایسه میانگین و انحراف معیار تعداد فولیکول‌های تخمدانی در گروه‌های مورد مطالعه

گروه‌ها	میانگین و انحراف معیار فولیکول‌ها					
	بدوی	پره آنترال	آنترال	گراف	جسم زرد	آترتیک
کنترل	٤/٤۲± ۰/٦۱	۹/۱٤± ۲/۱۷	۸/۵۷± ۰/۸۱	۱/۷۱± ۰/۳۵	۱۰/۷۱± ۰/۹۱	۳/۱٤± ۰/۸۵
شم	۵/۷۱± ۰/۲۸	۹/۸۵± ۲/۲۱	۸/۰۰± ۰/۵۷	۱/۷۱± ۰/۰٤	۹/۵۷± ۱/٤۱	٤/۷۱± ۱/۲۰
تجربی اول	٤/٦٦± ۰/۵۵	۳/۰۰± ۰/۷۳ *	۳/۸۳± ۰/۷۰ *	۰/۱٦± ۰/۰٦ *	۵/۳۳± ۰/٤۲ *	۸/٦٦± ۱/۱۷ *
تجربی دوم	۵/۳۳± ۱/۱٤	۳/۳۳± ۰/٦٦ *	٤/۱٦± ۰/٦۰ *	۰/۱٦± ۰/۰٦ *	٦/۱٦± ۰/۱٤ *	۸/۵۰± ۰/۸٤ *
تجربی سوم	۵/۱٦± ۰/۷۹	٦/۰۰± ۰/۷۳ †	٦/٦٦± ۱/٦۸ #	۰/۸۳± ۰/٤۷ #	۱۰/۳۳± ۱/۱۱ †	۵/۱٦± ۰/۸۷ #
تجربی چهارم	٤/۲۰± ۰/۹٦	۸/٦۰± ۱/٤۰ †	۷/۸۰± ۱/۵٦ †	۱/٦۰± ۰/۰٦ †	۹/٤۰± ۰/٦۷ †	٤/۸۰± ۰/۸۰ †
تجربی پنجم	٤/۰۰± ۰/٦۳	۸/۸۳± ۰/۹٤ †	۸/۵۰± ۰/۷۱ †	۱/۸۳± ۰/۰٦ †	۱۰/۱٦± ۰/۹٤ †	۵/۰۰± ۰/۷۵ †

** P<۰/۰۱ اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل؛ # P<۰/۰۱ اختلاف معنی‌دار با گروه تجربی اول*

گروه کنترل: فاقد تیمار؛ گروه شم: تحت تیمار با سرم فیزیولوژیک و روغن زیتون؛ گروه تجربی اول: دریافت کننده سدیم متابی‌سولفیت با دوز ۵۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن؛ گروه تجربی دوم: دریافت کننده ویتامینE با دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن؛ گروه‌های تجربی سوم و چهارم و پنجم دریافت کننده سدیم متابی‌سولفیت با دوز ۵۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن توام با ویتامینE به ترتیب با دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from goums.ac.ir at 15:03 +0330 on Monday January 8th 2018

آماری معنی‌دار تعداد فولیکول‌های آترزی شده نسبت به گروه کنترل گردید (P<۰/۰۱). افزایش آماری معنی‌داری در تعداد فولیکول‌های پره‌آنترال، آنترال، گرآف و اجسام زرد و کاهش آماری معنی‌داری در تعداد فولیکول‌های آترزی شده گروه‌های تجربی سوم و چهارم و پنجم نسبت به گروه‌های تجربی اول و دوم مشاهده شد (P<۰/۰۱). در حالی که نسبت به گروه کنترل تفاوت آماری معنی‌داری یافت نشد (جدول۲).

بحث

با توجه به نتایج مطالعه حاضر سدیم متابی‌سولفیت باعث کاهش معنی‌دار میزان سرمی هورمون‌های LH و FSH گردید. همچنین سدیم‌متابی سولفیت و ویتامین E هرکدام به تنهایی باعث کاهش معنی‌دار در میزان سرمی هورمون‌های استروژن و پروژسترون و در تعداد فولیکول‌های پره‌آنترال، آنترال (ثانویه)، گراف و جسم زرد و افزایش معنی‌دار در تعداد فولیکول‌های آترزی شده گردید؛ اما مصرف هم‌زمان سدیم متابی‌سولفیت و ویتامین E با یکدیگر باعث افزایش معنی‌دار در میزان سرمی هورمون‌های استروژن و پروژسترون و در تعداد فولیکول‌های پره‌آنترال، آنترال (ثانویه)، گراف و جسم زرد و کاهش معنی‌دار در تعداد گروه فولیکول‌های آترزی شده نسبت به هر یک از این دو ترکیب به‌تنهایی گردید. همچنین مصرف هم‌زمان سدیم متابی‌سولفیت و ویتامین E باعث افزایش معنی‌دار در میزان سرمی LH و FSH نسبت به سدیم‌متابی‌سولفیت به تنهایی گردید.

همسو با نتایج مطالعه حاضر بررسی دیگر ما نیز نشان داد که استفاده از ترکیبات سولفوره نظیر سدیم متابی‌سولفیت باعث کاهش معنی‌دار حجم تخمدان، تعداد فولیکول‌های بدوی، اولیه، ثانویه، گرآف و اجسام زرد و نیز با از بین بردن سلول‌های لایه گرانولوزای فولیکول‌های تخمدانی باعث افزایش تعداد فولیکول‌های آترزی شده و تغییر در میزان هورمون‌های جنسی می‌شوند (۱۶). سدیم متابی‌سولفیت، موجب القای استرس اکسیداتیو و تولید گونه‌های فعال اکسیژن در بافت‌های مختلف بدن از جمله بیضه‌ها و تخمدان‌ها می‌شود که می‌تواند به روند فولیکوژنز آسیب برساند (۳و۱۶).

در مطالعه حاضر حیوانات دریافت کننده ویتامین E به تنهایی با دوز ۲۰۰ mg/kg/bw، کاهش معنی‌داری در غلظت هورمون‌های پروژسترون و استروژن، تعداد فولیکول‌های پره‌آنترال، آنترال، گراف و افزایش معنی‌داری در تعداد فولیکول‌های آترتیک داشتند. در توجیه نتایج این بررسی می‌توان بیان داشت رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن که به عنوان واسطه‌گرهای عملکردی در سیستم‌های بیولوژیک شناخته می‌شوند؛ به‌طور انبوه از سلول‌های التهابی مانند ماکروفاژها و نوتروفیل‌ها و بعد از افزایش هورمون LH در زمان تخمک‌گذاری در تخمدان تولید می‌شوند (۱۷). در غلظت‌های متوسط نقش مهمی در فرایندهای انتقال سیگنال‌های دخیل در رشد و مهار آپاپتوز ایفا می‌نمایند (۱۸). از طرف دیگر تحقیقات جدید عوارض جانبی و غیرمنتظره آنتی‌اکسیدان‌ها را نشان داده‌اند. به‌طوری که اکسیدان‌های فعال موجود در فولیکول‌های تخمدانی، پیش از اوولاسیون برای پاسخ تخمک‌گذاری ضروری بوده و کاهش گونه‌های فعال اکسیژن درتخمدان، از تخمک‌گذاری و مجموعه کاملی از پاسخ‌های ضروری پیش از تخمک‌گذاری ممانعت می‌کنند (۱۷). به‌طور انبوه از سلول‌های التهابی مانند ماکروفاژها و نوتروفیل‌ها و بعد از افزایش هورمون LH در زمان تخمک‌گذاری در تخمدان تولید می‌شوند (۱۹). لذا احتمالاً ویتامین E به عنوان یک عامل با ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی قوی و از طریق کاهش شدید رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن در تخمدان باعث افزایش فولیکول‌های آترزی شده و کاهش سایر فولیکول‌ها و هورمون‌های جنسی شده است. به‌علاوه نشان داده شده است برای تحریک رگزایی فولیکولی، محدودیت اکسیژن لازم است که در رشد و توسعه فولیکول تخمدانی نقش مهمی دارد. لذا اختلال در رگزایی فولیکول‌های تخمدان به آترزی فولیکولی منجر می‌شود (۱۲). لذا گونه‌های فعال اکسیژن می‌توانند به‌عنوان انتقال‌دهنده سیگنال‌های مربوط به رگزایی پاسخ‌های رگ‌زایی ایجاد نمایند (۲۰و۲۱). از بین رفتن شدید گونه‌های فعال اکسیژن توسط خاصیت آنتی‌اکسیدانی ویتامین E (۱۳) می تواند با کاهش خونرسانی به فولیکول‌های تخمدان دلیلی برای از بین رفتن فولیکول‌های پره‌آنترال، آنترال، گراف و کاهش معنی‌دار تعداد آنها و افزایش تعداد فولیکول‌های اترزی شده باشد. همسو با نتایج این مطالعه براساس داده‌های یک مطالعه دیگر ویتامین E و پنتوکسی فیلین که هر دو دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی هستند؛ بر بلوغ فولیکول‌های تخمدانی اثر منفی می‌گذارند (۲۲).

در مطالعه حاضر نشان داده شد که مصرف هم‌زمان سدیم متابی سولفیت و ویتامین E از کاهش فولیکول‌های تخمدانی ناشی از مصرف هرکدام از این دو ترکیب به تنهایی جلوگیری به‌عمل می آورد که احتمالاً به‌دلیل نقش تعدیل‌کنندگی ویتامین E در میزان رادیکال‌های آزادی است که به‌علت مصرف سدیم متابی‌سولفیت به مقدار زیاد افزایش یافته است. زیرا ورود مقادیر زیاد سولفیت به بدن باعث می‌شود که آنزیم سولفیت اکسیداز، توانایی خنثی کردن این مقدار سولفیت را نداشته باشد و با تجمع سولفیت در بدن موجب افزایش رادیکال‌های سولفیت می‌شود که می‌توانند با لیپیدهای غشاء واکنش داده و منجر به پراکسیداسیون لیپیدها شوند و موجبات آسیب‌های بافتی را فراهم آورند. ویتامین E می‌تواند میزان رادیکال‌های آزاد را به حد طبیعی در بدن کاهش داده و از آسیب به سلول‌ها و فولیکول‌های تخمدانی و در نهایت کاهش هورمون‌های جنسی جلوگیری نماید (۲۱). همچنین در بررسی اثر پنتوکسی فیلین و ویتامین E بر تخمدان‌ها، پس از ایسکمی تجربی آنها در موش‌های

www.SID.ir

Archive of SID

صحرایی؛ نشان داده شد اثر مصرف همزمان ویتامینE و پنتوکسی فیلین در کاهش صدمات ایسکمی ری پرفیوژن موثرتر از زمانی است که هر یک از آنها به تنهایی مصرف شوند (۲۳). بنابراین وجود ترکیبات آنتی‌اکسیدان، مانع از تشکیل بیش از حدگونه‌های فعال اکسیژن و پراکسیداسیون لیپیدها و به دنبال آن محافظت از سلول‌های جنسی می گردد. به عبارتی دیگر می‌توان عنوان کرد که استفاده از ترکیبات جلوگیری کننده از افزایش بی‌رویه رادیکال‌های آزاد، می‌توانند موجب تقویت عملکرد سلول‌های دودمانی جنسی گردند (۸). از محدودیت‌های این مطالعه می‌توان به عدم وجود امکانات اندازه‌گیری ترکیبات اکسیدانت و آنتی‌اکسیدانت متعاقب تیمار حیوانات اشاره نمود.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که سدیم متابی‌سولفیت و ویتامینE احتمالاً از طریق افزایش بیش از حد رادیکال‌های آزاد و ویتامینE نیز از طریق کاهش شدید رادیکال‌های آزاد که تا حدودی برای رشد فولیکول‌های تخمدانی ضروری است؛ باعث افزایش تعداد فولیکول‌های آترزی شده و نیز کاهش تعداد فولیکول‌های پره‌آنترال، آنترال، گرآف و اجسام زرد و میزان سرمی هورمون‌های استروژن، پروژسترون، LH و FSH می شود. مصرف همزمان سدیم متابی‌سولفیت با ویتامینE احتمالاً به دلیل فعالیت آنتی‌اکسیدانی ویتامینE و نقش آن در تعدیل رادیکال‌های آزاد، مانع اثرات سوء سدیم متابی‌سولفیت میزان سرمی هورمون‌های جنسی و تعداد فولیکول‌های تخمدانی می گردد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه (شماره ۴۸۱۳۰۵۱۹۹۳۲۰۱۱) خانم زهره منشاد برای اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته زیست‌شناسی جانوری از دانشکده علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز بود. بدین‌وسیله از حوزه معاونت محترم پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز که امکانات انجام این مطالعه را فراهم نمودند؛ تقدیر و تشکر به‌عمل می‌آید.

References

1. Cavka A, Martín C, Alriksson B, Mörtsell M, Jönsson LJ. Techno-economic evaluation of conditioning with sodium sulfite for bioethanol production from softwood. Bioresource Technology. 2015 Nov; 196: 129-35. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.07.051

2. Akdogan I, Kocamaz E, Kucukatay V, Yonguc NG, Ozdemir MB, Murk W. Hippocampal neuron number loss in rats exposed to ingested sulfite. Toxicol Ind Health. 2011 Oct; 27(9): 771-8. doi: 10.1177/0748233710397418

3. Adebayo OL, Adenuga GA. Oxidative damage on the testes of adult rats by sodium metabisulfite (MBS). International Journal of Biological and Chemical Sciences (IJBCS). 2012; 6(2): 738-44. http://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v6i2.17

4. Mottley C, Mason RP. Sulfate anion free radical formation by the peroxidation of (Bi)sulfite and its reaction with hydroxyl radical scavengers. Arch Biochem Biophys. 1988 Dec; 267(2): 681-9.

5. Ozturk N, Yargicoglu P, Derin N, Akpinar D, Agar A, Aslan M. Dose-dependent effect of nutritional sulfite intake on visual evoked potentials and lipid peroxidation. Neurotoxicol Teratol. 2011 Mar-Apr; 33(2): 244-54. doi: 10.1016/j.ntt.2010.09.002

6. Peyravi A, Firouzi Z, Meshkibaf MH. [The protective effects of vitamins C and E on the oxidative stress induced by sodium metabisulfite on the kidney tissue in adult rats]. J Fasa Univ Med Sci. 2016; 6(2): 146-54. [Article in Persian]

7. Ercan S, Basaranlar G, Gungor NE, Kencebay C, Sahin P, Celik-Ozenci C, et al. Ghrelin inhibits sodium metabisulfite induced oxidative stress and apoptosis in rat gastric mucosa. Food Chem Toxicol. 2013 Feb; 56(1): 154-61. doi: 10.1016/j.fct.2013.02.019

8. Aprioku JS. Pharmacology of free radicals and the impact of reactive oxygen species on the testis. J Reprod Infertil. 2013 Oct-Dec; 14(4): 158-72.

9. Shariatzadeh SMA, Soleimanimehranjani M, Hamta A, Ghandizadehdezfuli M. [The stereological study of the effect of vitamin E on the structure of ovary and its number of follicles during ovary development in rats treated with sodium arsenite]. J Arak Univ Med Sci. 2012; 15(2): 54-64. [Article in Persian]

10. Soleimani Mehranjani M, Noorafshan A, Hamta A, Momeni HR, Abnosi MH, Mahmoodi M, et al. Effects of vitamin E on ovarian tissue of rats following treatment with p-nonylphenol: A stereological study. Iran J Reprod Med. 2010; 8(1): 1-9.

11. Chandra AK, Chatterjee A, Ghosh R, Sarkar M. Vitamin E-supplementation protect chromium (VI)-induced spermatogenic and steroidogenic disorders in testicular tissues of rats. Food Chem Toxicol. 2010 Mar; 48(3): 972-79. doi: 10.1016/j.fct.2010.01.008

12. Bruno JB, Matos MHT, Chaves RN, Celestino JJH, Saraiva MVA, Lima-Verde IB, et al. Angiogenic factors and ovarian follicle development. Anim Reprod. 2009; 6(2): 371-79.

13. Brigelius-Flohé R. Vitamin E: the shrew waiting to be tamed. Free Radic Biol Med. 2009 Mar; 46(5): 543-54. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2008.12.007

14. Hosseini S E, Dalaeli Z. [The effect of lithium carbonate on the hypothalamic-pituitary-gonadal axis in adult female Wistar rats]. Feyz. 2016; 19 (6) :450-56. [Article in Persian]

15. Sargazi Z, Nikravesh M, Jalali M, Sadeghnia H, Rahimi Anbarkeh F. [The protective effect of vitamin E on serum and erythrocytes cholinesterase levels in poisoning of Diazinon, in adult female rats]. J North Khorasan Univ Med Sci. 2016; 7(4): 801-12. [Article in Persian]

16. Rezaee N, Nematollahi Z, Shekarforous S, Hoseini E. Effect of sodium metabisulfite on rat ovary and lipid peroxidation. Iran J Toxicol. 2016; 10(2): 23-28.

17. Papaiahgari S, Zhang Q, Kleeberger SR, Cho HY, Reddy SP. Hyperoxia stimulates an Nrf2-ARE transcriptional response via ROS-EGFR-PI3K-Akt/ERK MAP kinase signaling in pulmonary epithelial cells. Antioxid Redox Signal. 2006 Jan-Feb; 8(1-2): 43-52.

18. Tropea A, Miceli F, Minici F, Tiberi F, Orlando M, Gangale MF, et al. Regulation of vascular endothelial growth factor synthesis and release by human luteal cells in vitro. J Clin Endocrinol Metab. 2006 Jun; 91(6): 2303-9. doi: 10.1210/jc.2005-2457

19. Shkolnik K, Tadmor A, Ben-Dor S, Nevo N, Galiani D, Dekel N. Reactive oxygen species are indispensable in ovulation. Proc Natl Acad Sci U S A. 2011 Jan; 108(4): 1462-7.

www.SID.ir

Downloaded from goums.ac.ir at 15:03 +0330 on Monday January 8th 2018

Archive of SID

doi: 10.1073/pnas.1017213108

20. Basini G, Grasselli F, Bianco F, Tirelli M, Tamanini C. Effect of reduced oxygen tension on reactive oxygen species production and activity of antioxidant enzymes in swine granulosa cells. Biofactors. 2004; 20(2): 61-9.

21. Lakamp JE, Dobesh PP. Propofol and too much sulfite? Chest. 2000 Jul; 118(1): 277.

22. Khorami S, Farrokhi F, Tukmechi A, Nowrozi R. Effect of pentoxifylline and vitamin E on ovarian follicles in Rats. J Shahrekord Univ Med Sci. 2013; 15(3): 64-73. [Article in Persian]

23. Uguralp S, Bay Karabulut A, Mizrak B. Effects of pentoxifylline and vitamin E on the bilateral ovary after experimental ovarian ischemia. Eur J Pediatr Surg. 2005 Apr; 15(2): 107-13. doi: 10.1055/s-2004-821256

Downloaded from goums.ac.ir at 15:03 +0330 on Monday January 8th 2018

www.SID.ir

Archive of SID

Original Article

Effect of vitamin E on serum level of sexual hormones and number of ovarian follicles exposed to sodium meta- bisulphite

Zohreh Manshad (M.Sc)[1], Seyyed Ebrahim Hosseini (Ph.D)*[2]

[1]M.Sc in Animal Physiology, Department of Biology, Faculty of Sciences, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran. [2]Associate Professor, Department of Biology, Faculty of Sciences, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran.

Downloaded from goums.ac.ir at 15:03 +0330 on Monday January 8th 2018

Abstract

Background and Objective: Sodium meta-bisulphite is used as a preservative in food and pharmaceutical industries. The aim of this study was to determine the effect of vitamin E on the improvement of sodium-meta bisulphite-induced complications on ovarian tissue and sex hormones in rats.

Methods: In this experimental study, 70 adult Wistar rats were randomly allocated into 7 groups including control, sham and interventional groups were received vitamin E (200 mg/kg/bw), sodium metabisulfite (520 mg/kg/bw), and sodium meta-bisulphite (520 mg/kg/bw) was combined with vitamin E in 50, 100 and 200 mg/kg/bw doses. Prescriptions were taken as gavage for 30 days. Blood samples were taken from animals to measure LH, FSH, estrogen and progesterone hormones. Ovaries were removed and follicles were counted after tissue sections.

Results: The concentration of estrogen hormones, progesterone, LH, FSH and number of ovarian follicles in the groups receiving sodium meta-bisulphite and vitamin E alone was significantly lower than control group ($P<0.05$). In animals treated with sodium meta-bisulphite and vitamin E at 100 and 200 mg/kg/bw, no significant difference was observed. However, in animals which were simultaneously treated with meta-bi-sulfite sodium and vitamin E at dose 100 and 200 mg/kg, in compared with the control group, significant improvement was not observed.

Conclusion: Sodium meta-bisulphite consumption with 50, 100 and 200 mg/kg body weight of vitamin E can reduce the effect of sodium meta-bisulphite on ovarian follicles and sex hormones.

Keywords: Sodium Metabisulfite, Vitamin E, Ovarian follicle, Estrogen, Progesterone, LH, FSH, Rat

*** Corresponding Author: Hosseini SE (Ph.D), E-mail: ebrahim.hossini@yahoo.com**

Received 16 Oct 2016 **Revised** 18 Feb 2017 **Accepted** 19 Feb 2017

Cite this article as: Manshad Z, Hosseini SE. [Effect of vitamin E on serum level of sexual hormones and number of ovarian follicles exposed to sodium meta- bisulphite]. J Gorgan Univ Med Sci. 2018 Winter; 19(4): 8-14. [Article in Persian]

www.SID.ir