

# اثر حفاظتی الاجیک اسید بر سمیت القا شده به وسیله سیکلو فسفامید بر تخمدان جنین موش صحرایی

محبوبه موسوی<sup>۱</sup>، مهرزاد جعفری برمک<sup>۱</sup>، محسن نیک سرشت<sup>۱</sup>، حسین صادقی<sup>۲</sup>، عظیم هدایت پور<sup>۲</sup>، حسن عییدی<sup>۱</sup>، رضا محمودی<sup>۱\*</sup>

<sup>۱</sup>مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران، <sup>۲</sup>مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران، <sup>۳</sup>گروه علوم تشریحی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱/۲۰

تاریخ وصول: ۱۳۹۳/۸/۱۴

## چکیده

**زمینه و هدف:** سیکلو فسفامید به عنوان داروی آلکیله کننده در درمان سرطان‌های مختلف کاربرد دارد، که دارای عوارض جانبی متعددی بر روی بافت‌های مختلف بدن از جمله گنادها می‌باشد. هدف از مطالعه حاضر بررسی اثرات الاجیک اسید به عنوان یک آنتی‌اکسیدان، بر سمیت القاء شده به وسیله داروی سیکلو فسفامید بر بافت تخمدان جنین موش صحرایی می‌باشد.

**روش بررسی:** در این مطالعه تجربی ۴۲ سر موش ماده باردار از نژاد ویستار با وزن ۲۵۰-۲۰۰ گرم به صورت تصادفی به هفت گروه تقسیم شدند: گروه اول تا ششم داروی سیکلو فسفامید ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم در روزهای ۱، ۱۳ و ۱۸ از دوران بارداری به صورت داخل صفاقی دریافت کردند. گروه چهارم، پنجم و ششم یک ساعت پس از تزریق سیکلو فسفامید، الاجیک اسید ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تا انتهای دوره بارداری به صورت خوراکی دریافت کردند. گروه هفتم (سالم) در دوران بارداری به طور روزانه نیم سی‌سی سرم فیزیولوژی دریافت نمودند. پس از زایمان طبیعی، نوزادان بیهوش و تخمدان‌ها جدا و به محلول فرمالین ۱۰ درصد منتقل شدند. پس از پردازش بافتی، مقاطع بافتی از بلوک پارافینی تهیه و با هماتوکسیلین - ائوزین رنگ شدند و با استفاده از میکروسکوپ نوری ارزیابی شدند. اطلاعات به دست آمد با آزمون‌های آماری آنالیز واریانس تجزیه و تحلیل شدند.

**یافته‌ها:** در گروه‌هایی که در معرض سیکلو فسفامید قرار داشتند میانگین قطر تخمدان، فولیکول بدوی و تعداد فولیکول بدوی در گروه‌های کنترل در مقایسه با گروه‌های درمان با الاجیک اسید کاهش معنی‌داری نشان داد ( $p < 0.05$ ).

**نتیجه‌گیری:** نتایج به دست آمده نشان داد که الاجیک اسید با توجه به خواص آنتی‌اکسیدانی خود توانسته اثرات تخریبی ناشی از سیکلو فسفامید را بر تخمدان جنینی کاهش دهد.

**واژه‌های کلیدی:** سیکلو فسفامید، الاجیک اسید، نوزاد، موش صحرایی، تخمدان

\*نویسنده مسئول: رضا محمودی، یاسوج، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی

Email: rmahmoudi40@yahoo.com

## مقدمه

توقف در چرخه تقسیم سلولی والقا آپوپتوز می‌شود(۹).

امروزه استفاده از ترکیب‌های که بتوانند موجب ترمیم یا کاهش اثرات مخرب و سمی ترکیب‌های استرس اکسیداتیو گردد، جز مسایل مهم و تحقیق‌های قابل توجه دانشمندان می‌باشد. طبیعت منبع اصلی ترکیب‌های آنتی‌اکسیدانی می‌باشد که به عنوان عوامل شفابخش و پیشگیری کننده از بیماری‌ها عمل می‌کنند. داروهای مشتق شده از این منابع طبیعی می‌توانند به تنهایی یا در ترکیب با داروهای شیمی درمانی جهت درمان استفاده شوند. یکی از این آنتی‌اکسیدان‌های گیاهی بالقوه الاجیک اسید می‌باشد(۱۰ و ۱۱).

الاجیک اسید یک ترکیب پلی فنلیک موجود در چای سبز، انار، توت فرنگی، شاتوت، تمشک سیاه، گردو، انبه و پوست اکالیپتوس می‌باشد(۱۲ و ۱۳) که به صورت متابولیکی به وسیله باکتری‌های روده به یورولیتین‌ها که نوعی آنتی‌اکسیدان است، تبدیل شده(۱۴) و به آسانی از طریق سیستم معدی - روده‌ای جذب می‌شود(۱۵). الاجیک اسید یا مستقیماً از طریق مقابله با اثرات تخریبی استرس اکسیداتیو و یا از طریق فعال کردن یا القا سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی سلول مانند؛ دسموتاز، کاتالاز، گلوکوتاتیون پراکسیداز اثرات خود را اعمال می‌نماید(۱۶).

بر اساس تحقیق‌های انجام شده می‌توان پیش بینی کرد که آنتی‌اکسیدان‌هایی چون الاجیک اسید باعث کاهش اثرات مخرب داروهای کمو تراپی و

داروهای شیمی درمانی که در درمان سلول‌های سرطانی استفاده می‌شوند باعث آسیب‌های مختلف به سلول‌های طبیعی خصوصاً سلول‌های جنسی شده و باعث اختلال در سیستم تولید مثل، باروری، رشد و تکامل جنین می‌شوند. یکی از مؤثرترین این داروها سیکلوفسفامید می‌باشد که امروزه به طور گسترده‌ای در بیماران سرطانی استفاده می‌شود (۲ و ۱). این دارو یک نوع داروی ضد سرطان بوده که به عنوان مهار کننده سیستم ایمنی در پیوند اعضاء عمل می‌نماید(۳). یکی از مهم‌ترین عوارض جانبی آن، اثرات سمی بر ارگان‌های جنسی و تغییر عملکرد سیستم تناسلی در هر دو جنس می‌باشد که ممکن است منجر به ناباروری گردد(۴ و ۵).

این دارو از دستگاه گوارش جذب و به طور وسیعی در بافت‌ها و مایعات بدن پخش می‌شود، از سدخونی مغزی نیز عبور می‌کند و در کبد به متابولیت‌های فعال تبدیل و در نهایت از کلیه‌ها دفع می‌شود(۶). متابولیت‌های حاصله از آن باعث تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌گردد(۷). مطالعه‌ها نشان دادند که این دارو به عنوان یک عامل الکلیله کننده به باز گوانین متصل و سبب تغییرات مولکولی در رشته DNA شده و در نتیجه رونویسی و نسخه‌برداری طبیعی صورت نمی‌گیرد و سبب مهار سنتز پروتئین می‌شود(۸). همچنین این دارو در تمام مراحل چرخه سلولی فعال بوده و با قطعه قطعه کردن DNA سبب

گروه دوم، در روز اول بارداری داروی سیکلوفسفامید به میزان ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم به ازای وزن بدن به صورت تزریق داخل صفاقی و یک ساعت بعد الاجیک اسید به میزان ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به ازای وزن بدن روزانه به صورت خوراکی تا زمان زایمان طبیعی دریافت کردند (۱۷). گروه سوم، در روز ۱۳ بارداری داروی سیکلوفسفامید به میزان ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم به ازای وزن بدن به صورت تزریق داخل صفاقی و نیم‌سی‌سی سرم فیزیولوژیک به صورت خوراکی تا انتهای دوران بارداری دریافت کردند. گروه چهارم، در روز ۱۳ بارداری داروی سیکلوفسفامید به میزان ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم به ازای وزن بدن به صورت تزریق داخل صفاقی و یک ساعت بعد الاجیک اسید به میزان ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به ازای وزن بدن روزانه به صورت خوراکی تا زمان زایمان طبیعی دریافت کردند. گروه پنجم، در روز ۱۸ بارداری داروی سیکلوفسفامید به میزان ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم به ازای وزن بدن به صورت تزریق داخل صفاقی و نیم‌سی‌سی سرم فیزیولوژیک به صورت خوراکی تا انتهای دوران بارداری دریافت کردند. گروه ششم، در روز ۱۸ بارداری داروی سیکلوفسفامید به میزان ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم به ازای وزن بدن به صورت تزریق داخل صفاقی و یک ساعت بعد الاجیک اسید به میزان ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به ازای وزن بدن روزانه به صورت خوراکی تا زمان زایمان طبیعی دریافت کردند و گروه هفتم، (کنترل) که روزانه نیم

متابولیت‌های فعال آن می‌گردد. بنابراین هدف از این تحقیق بررسی اثرات محافظتی الاجیک اسید بر روی بافت تخمدان نوزادان حاصل از مادرانی که تحت درمان با سیکلوفسفامید در طی دوران جنینی قرار گرفته اند، بود.

### روش بررسی

در این مطالعه تجربی تعداد ۴۲ سر موش صحرایی ماده نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۵۰-۲۰۰ گرم تهیه و به مدت یک هفته جهت تطابق با محیط در شرایط دمایی مناسب  $23 \pm 2$  درجه سلسیوس و ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند. در طول دوره تیمار حیوانات دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند و شرایط برای تمام حیوانات یکسان بود.

جهت بارداری موش‌ها در هر قفس ۲ سر موش ماده در مجاورت موش نر به مدت یک شبانه روز قرار گرفت تا عمل جفت‌گیری انجام شود. صبح روز بعد موش‌های ماده از نظر پلاک واژینال مورد ارزیابی قرار گرفتند و آن دسته از موش‌هایی که پلاک واژینال مثبت داشتند روز صفر بارداری برای حیوان محسوب گردید، سپس موش‌ها به صورت تصادفی به ۷ گروه ۶ تایی تقسیم شدند؛ گروه اول، در روز اول بارداری داروی سیکلوفسفامید به میزان ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم به ازای وزن بدن به صورت تزریق داخل صفاقی و نیم‌سی‌سی سرم فیزیولوژیک به صورت خوراکی تا انتهای دوران بارداری دریافت کردند (۱۵).

## یافته‌ها

بر اساس جدول ۱ قطر تخمدان و قطر فولیکول آغازی در گروه‌های دریافت کننده سیکلوفسفامید در روز اول، سیزدهم و هجدهم دوران بارداری در مقایسه با گروه‌های درمان شده با الاجیک اسید به طور معنی‌داری کاهش یافته است ( $p < 0.05$ ). تعداد فولیکول آغازی بر حسب میلی‌متر مربع در گروه‌های دریافت کننده سیکلوفسفامید در روز سیزدهم و هجدهم دوران بارداری در مقایسه با گروه‌های درمان شده با الاجیک اسید به طور معنی‌داری کاهش یافته است که اختلاف معنی‌دار نشان می‌دهد ( $p < 0.05$ ).

بررسی‌های بافتی نشان داد که سیکلوفسفامید باعث کاهش سلول‌های فولیکول آغازی و افزایش دم در بافت بینابینی شده است و در گروه‌های درمان شده با الاجیک اسید، افزایش تعداد سلول‌های فولیکول آغازی و کاهش دم در بافت بینابینی دیده شد (تصویر ۱).

سی‌سی سرم فیزیولوژیک به صورت خوراکی دریافت کردند.

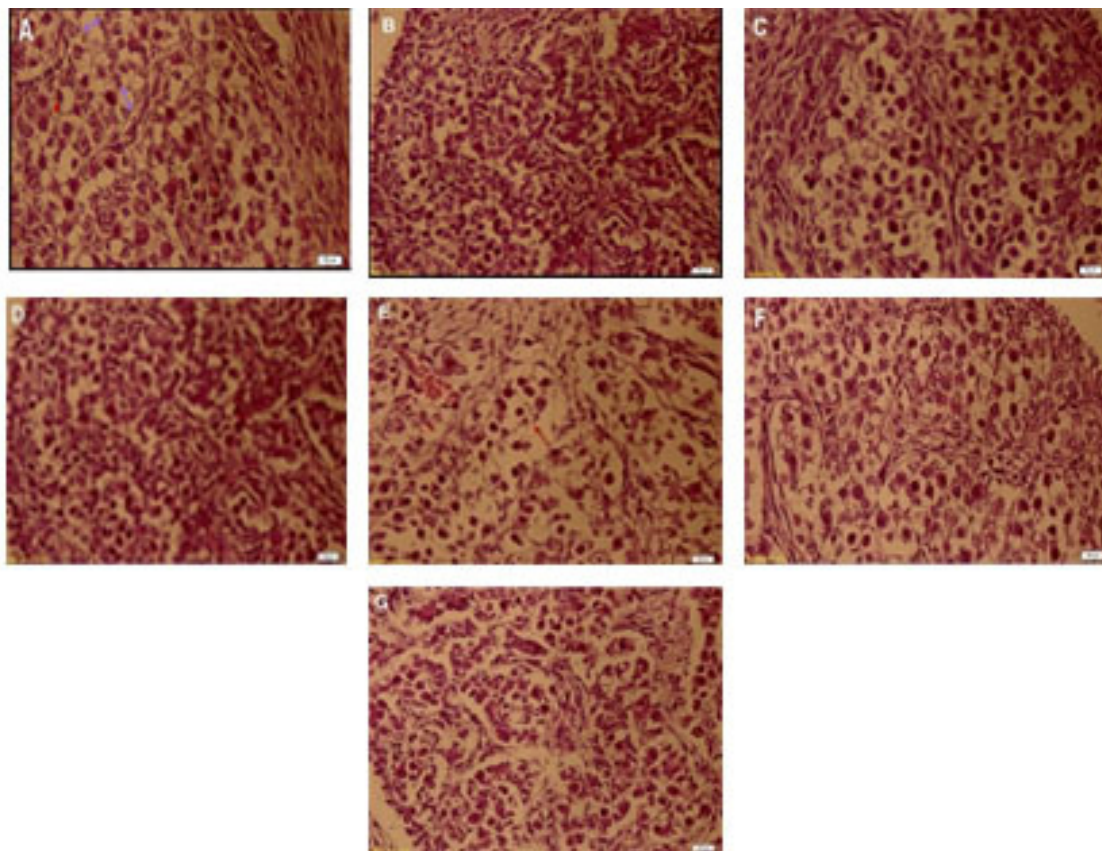
پس از مدت ۲۱ روز موش‌ها به صورت طبیعی زایمان کردند و نوزادان ماده پس از توزین با اتر بیهوش و شکم آنها تشریح گردید، تخمدان‌های آنها خارج و به محلول فرمالین ۱۰ درصد جهت ثبوت منتقل شدند و پس از مراحل آماده‌سازی نمونه‌های بافتی، به وسیله میکروتوم مقاطعی به ضخامت ۵ میکرون تهیه و بارنگ هماتوکسیلین ائوزین رنگ‌آمیزی شدند و اسلایدهای بافتی تهیه گردید و به وسیله میکروسکوپ Olympus BX51 و برنامه نرم‌افزاری Olysia مورد بررسی و قطر تخمدان و فولیکول آغازی و تعداد سلول‌های آغازی در واحد سطح مورد مطالعه قرار گرفتند.

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون آماری آنالیز واریانس تجزیه و تحلیل شدند.

جدول ۱: مقایسه میانگین متغیرهای بررسی شده بافت تخمدان جنین‌های موش صحرایی در گروه‌های مورد مطالعه (تعداد=۵)

گروه متغیر	روز اول		روز سیزدهم		روز هجدهم		سالن
	سیکلو فسفامید	سیکلو فسفامید+الاجیک اسید	سیکلو فسفامید	سیکلو فسفامید+الاجیک اسید	سیکلو فسفامید	سیکلو فسفامید+الاجیک اسید	
قطر تخمدان (میکرومتر)	۷۱۴/۶۸±۱۲/۲۳b	۱۰۱۰/۲۶±۱۰/۲۲ a	۹۴۸/۸۴±۱۴/۸۲b	۱۰۲۶/۷۴±۱۰/۹۰a	۸۶۷/۱۲±۱۲/۵۷b	۱۰۹۲/۲۶±۱۰/۷۳a	۱۱۰۴/۸۰±۴/۳۵a
قطر فولیکول‌های بدوی (میکرومتر)	۹/۸۴±۰/۳۶b	۱۲/۰۴±۰/۳۳a	۱۰/۰۱±۰/۲۰b	۱۲/۹۷±۰/۲۸a	۱۱/۵۰±۰/۲۵b	۱۲/۲۷±۰/۲۸a	۱۳/۴۳±۰/۳۹a
تعداد فولیکول‌های آغازی (میلی متر مربع)	۹۴/۷۱±۱۰/۷۴	۱۰۰/۱۴±۹/۹۴	۷۱/۴۲±۱۰/۷۱ b	۱۱۵/۷۱±۸/۰۶a	۷۳±۶/۲۳ b	۱۰۷/۸۵±۹/۱۹a	۱۲۷/۱۴±۱۱/۷۰a

حروف انگلیسی غیرمشابه در هر زوج از گروه‌ها در هر ردیف اختلاف آماری معنی‌دار را نشان می‌دهد



تصویر ۱: مقاطع بافت تخمدان جنین موش صحرائی در گروه های مطالعه: A: گروه سیکلوفسفامید (روز اول) ، B: گروه سیکلوفسفامید همراه با الاجیک اسید (روز اول) ، C: گروه سیکلوفسفامید (روز سیزده) ، D: گروه سیکلوفسفامید همراه با الاجیک اسید (روز سیزده) ، E: گروه سیکلوفسفامید (روز هجده) ، F: گروه سیکلوفسفامید همراه با الاجیک اسید (روز هجده) ، G: گروه سالم. کاهش سلولهای فولیکول آغازی و افزایش ادم در بافت بینابینی گروه های کنترل مشاهده می شود (بزرگنمایی X۴۰، رنگ هماتوکسیلین - اتوزین)

## بحث

سلولهای آپوپتوزی در تخمدان گردد. این دارو به باز گوانین DNA متصل شده و آن را آلکیله نموده و ساختار طبیعی رشته DNA را تغییر داده و در نتیجه رونویسی و نسخه برداری DNA دچار اختلال شده و سنتز پروتئین مهار می گردد. پس از آن هسته سلول تخریب گشته و سلول آپوپتوز می دهد. به دنبال این چرخه معیوب، بافت همبند افزایش یافته و جای

مطالعه حاضر نشان داد تزریق سیکلوفسفامید به موش های ماده باردار، باعث کاهش تعداد فولیکول های آغازی، کاهش در قطر تخمدان و فولیکول های آغازی در جنین موش صحرائی گردید. این یافته ها با نتایجی که در حیوانات بالغ انجام شده همخوانی دارد. سیکلوفسفامید می تواند سبب افزایش

سلول‌های آپوپتوز شده را پر می‌نماید، هرچه استفاده از این دارو بیشتر باشد تخریب و در نهایت نکروز بافتی افزایش می‌یابد، در این مطالعه نیز اثرات اکسیدانی این دارو در گروه‌های کنترل مشاهده گردید که با نتایج دیگر محققین همخوانی دارد. این دارو همچنین پس از متابولیسم در کبد به متابولیت‌های فعال فسفورامید و آکرولین تبدیل شده و به عواملی مضر اضافه و روند آپوپتوز را تسریع می‌نمایند (۱۸-۱۹).

علت دیگر آسیب‌های وارده متعاقب مصرف سیکلوفسفامید را به اختلال در عملکرد سیستم اکسیداتیو نسبت داده‌اند. آکرولین از طریق تداخل با سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی بافت‌ها باعث تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن شده و مسئول پیدایش مواد اکسیداتیو بوده که سیستم گلوپروتئین پراکسیداز را مهار می‌نمایند و تخریب هسته سلول را در تخمدان به دنبال دارند (۲۰-۲۱).

بر اساس نتایج به دست آمده از پژوهش فرخی و همکاران تعداد فولیکول‌های تخمدانی در گروه دریافت کننده سیکلوفسفامید کاهش و تعداد فولیکول‌های آترتیک افزایش یافته است (۱۹). آناهیتا و همکاران کاهش انواع مختلف فولیکول‌های تخمدانی و افزایش فولیکول‌های آترتیک را در گروه‌های مصرف کننده سیکلوفسفامید گزارش نمودند. کاهش میزان فولیکول متعاقب دریافت سیکلوفسفامید ممکن است در اثر کاهش میزان گنادوتروفین‌ها باشد که روند فولیکول‌سازی را تنظیم می‌کنند که این امر نیز

می‌تواند توجیه کننده اثرات سمی دارو بر تخمدان باشد (۲۰).

همچنین برخی مطالعه‌های کاهش فولیکول‌سازی و افزایش فولیکول‌های آترتیک را به علت افزایش میزان تخریب سلول‌های گرانولوزا در اثر آپوپتوز مرتبط دانسته‌اند (۲۱).

محقق‌ها نشان دادند که تعداد سلول‌های ژرمینال، سلول‌های فولیکولی و سلول‌های سوماتیک در نوزادانی که مادران آنها در طی دوران بارداری سیکلوفسفامید دریافت کرده بود کاهش یافته بود و چنین بیان کردند که سیکلوفسفامید با مهاجرت و تزیاد سلول‌های زاینده در روند تکامل در طی دوران ارگانوژنز گنادها تداخل کرده و سبب توقف در روند مهاجرت اکثر سلول‌های ژرمینال به سمت سستیم گنادی شده و روند فولیکول‌سازی را مختل می‌نماید (۲۰).

بر اساس نتایج مطالعه لوییز و همکاران میزان فعالیت کاتالاز و سوپراکسید دسموتاز در اثر مصرف سیکلوفسفامید کاهش و سطح مالون دی آلدئید افزایش یافت که بیانگر تولید رادیکال‌های آزاد، استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپیدی می‌باشد. مشاهده‌ها و مطالعه‌ها پاتولوژیک در این تحقیق نشان داد که مصرف توأم الاجیک اسید با سیکلوفسفامید منجر به کاهش اثرات تخریبی ایجاد شده به وسیله سیکلوفسفامید شده است. الاجیک اسید اثرات سمی ناشی از این دارو را در تخمدان کاهش داده و باعث افزایش تعداد فولیکول‌های آغازی در گروه‌های درمان

الاجیک اسید مانع از اتصال عوامل کارسینوژن به DNA شده، در نتیجه فرآیند آپوپتوز و تخریب سلولی را مهار می‌نماید.

#### تقدیر و تشکر

این مطالعه حاصل پایان‌نامه کارشناسی ارشد علوم تشریحی می‌باشد که با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه صورت پذیرفت.

شده با الاجیک اسید و کاهش تعداد فولیکول‌های آرتیک گردید که نشان دهنده اثرات مثبت الاجیک اسید در بهبود عملکرد تخمدان است (۲۰ و ۱۶). الاجیک اسید یک آنتی‌اکسیدان قوی است که با مهار آسیب‌های اکسیداتیوسیکلوفسفامید از تخریب سلول‌های گرانولوزا و فولیکول‌های تخمدانی جلوگیری کرده، الاجیک اسید به علت خاصیت شلاته‌کنندگی تولید یونهای  $O_2$  و  $OH$  را مهار می‌کند و سلول را در برابر فرایند پراکسیداسیون و کاهش مالون دی‌آلدئید محافظت می‌نماید، هم‌چنین باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی چون کاتالاز، گلوکاتیون پراکسیداز، سوپراکسیداز و دسموتاز می‌شود (۲۱ و ۱۷). نتایج این مطالعه نشان داد که مصرف الاجیک اسید در طول بارداری احتمالاً می‌تواند تأثیرات مخرب سیکلوفسفامید را کاهش دهد که با مطالعه‌های محققین دیگر هم‌خوانی دارد. بنابراین به نظر می‌رسد که الاجیک اسید موجب حذف رادیکال‌های آزاد و متابولیت‌های فعال سیکلوفسفامید شده و می‌تواند اثرات مخرب این دارو را کاهش داده و مانع از تخریب رشته DNA شود. از طرف دیگر

**REFERENCES:**

1. Dollery C, Cyclophosphamide. In: Therapeutic drugs. Edinburgh: Churchill Livingstone; 1999; 349–54.
2. Anderson D, Bishop JP, Garner RC, Ostrosky-Wegman P, Selby PB. Cyclophosphamide: review of its mutagenicity for an assessment of potential germ cell risks. *Mutat Res* 1995; 330:115–81.
3. Ceribaşı AO, Türk G, Sönmez M, Sakin F, Ateşşahin A. Toxic effect of cyclophosphamide on sperm morphology, testicular histology and blood oxidant-antioxidant balance, and protective roles of lycopene and ellagic acid. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2010; 107(3):730-6.
4. Mythili Y, Sudharsan PT, Selvakumar E, Varalakshmi P. Protective effect of DL-alpha-lipoic acid on cyclophosphamide induced oxidative cardiac injury. *Chem Biol Interact* 2004; 151(1): 13-9.
5. Kern JC, Kehrer JP. Acrolein-induced cell death: a caspase-influenced decision between apoptosis and oncosis/necrosis. *ChemBiol Interact* 2002; 139-43.
6. De Lucia MBI, Azoubel R. Cyclophosphamide Effect on the Epithelial Covering of Rats Fetuses' Tongue. A Morphometric Study, *Int. J Morphol* 2005; 23(2): 105-9.
7. Atta Ur R, Ngounou FN, Choudhary MI, Malik S, Makhmoor T, et al. New antioxidant and antimicrobial ellagic acid derivatives from *Pteleopsisilydendron*. *Planta Med* 2001; 67: 335-9.
8. Festa F1, Aglitti T, Duranti G, Ricordy R, Peticone P, Cozzi R. Strong antioxidant activity of ellagic acid in mammalian cells in vitro revealed by the comet assay. *Anticancer Res* 2001; 21(6A):3903-8.
9. Seeram NP1, Adams LS, Henning SM, Niu Y, Zhang Y, Nair MG, Heber D. In vitro antiproliferative, apoptotic and antioxidant activities of punicalagin, ellagic acid and a total pomegranate tannin extract are enhanced in combination with other polyphenols as found in pomegranate juice. *J Nutr Biochem*. 2005; 16(6):360-7.
10. Narayanan BA, Geoffroy O, Willingham MC, Re GG, Nixon DW. P53/p21 (WAF1/CIP1) expression and its possible role in G1 arrest and apoptosis in ellagic acid treated cancer cells. *Cancer Lett* 1999; 136: 215-21.
11. Leonardo S, Alberto A, Raul RH, Antonio AC, Cristobal NA. Ellagic acid: Biological properties and biotechnological development for production processes. *Afr J Biotechnology* 2011; 10: 4518-23.
12. Doyle B, Griffiths LA. The metabolism of ellagic acid in the rat. *Xenobiotica* 1980; 10: 247-56.
13. Teel RW, Babcock MS, Dixit R, Stoner GD. Ellagic acid toxicity and interaction with benzo [a] pyrene and benzo[a] pyrene 7,8-dihydrodiol in human bronchial epithelial cells. *Cell Biol Toxicol* 1986; 2: 53-62.
14. Türk GC, Eribas AO, Sakin F, Sönmez M, Ates S, Ahin A. Antiperoxidative and anti- apoptotic effects of lycopene and ellagic acid on cyclophosphamide-induced testicular lipid peroxidation and apoptosis. *Reprod Fertil Dev* 2010; 22: 587–96.



15. Ceribasi AO, Türk G, Sönmez M, Sakin F, Ates S, ahin A. Toxic effect of cyclophosphamide on sperm morphology, testicular histology and blood oxidant–antioxidant balance, and protective roles of lycopene and ellagic acid. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2010; 107: 730–6.
16. Türk G1, Ceribaşı AO, Sahna E, Ateşşahin A. Lycopene and ellagic acid prevent testicular apoptosis induced by cisplatin. *Phytomedicine*. 2011 Mar 15; 18(5):356-61.
17. Ateşşahin A1, Türk G, Yılmaz S, Sönmez M, Sakin F, Ceribasi AO. Modulatory effects of lycopene and ellagic acid on reproductive dysfunction induced by polychlorinated biphenyl (aroclor 1254) in male rats. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology* 2008; 106; 479–89.
18. Türk G1, Sönmez M, Ceribaşı AO, Yüce A, Ateşşahin A. Attenuation of cyclosporine A-induced testicular and spermatozoal damages associated with oxidative stress by ellagic acid. *International Immunopharmacology* 2010; 10(2):177-82.
19. Farokhi F, Sadrkhanlou R, Hasanzadeh SH, Sultanalinejad F. Morphological and morphometrical study of cyclophosphamide-induced changes in the ovary and uterus in the Syrian mice. *Iran J Vet Res* 2007; 8 (4): 337-342.
20. Rezaie A, Roozbeh M, GooraniNejad S. Effects of tribulus terrestris extract and Vitamin C on changes induced by cyclophosphamide in the rat ovary. 2013; 17(2): 194-203.
21. Lopez SG, Luderer U. Effects of cyclophosphamide and buthionine sulfoximine on ovarian glutathione and apoptosis. *Free Radical Biol Med* 2004; 1: 36 (11): 1366-77.

# The Protective effect of Ellagic acid on rats' ovarian fetus toxicity induced by cyclophosphamide

Mousavi M<sup>1</sup>, Jafari Barmak M<sup>1</sup>, Nikseresht M<sup>1</sup>, Sadeghi H<sup>2</sup>, Hedayatpou rA<sup>3</sup>, Abidi H<sup>1</sup>, Mahmoudi R<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Cellular and Molecular Research Center, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran, <sup>2</sup>Medicinal Plants Research Center, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran, <sup>3</sup>Department of Anatomical Science, School of medicine, Tehran University of medical Sciences, Tehran, Iran

Received: 5 Nov 2014 Accepted: 9 Apr 2015

## Abstract:

**Background & aim:** Cyclophosphamide, an alkylating agent used in the treatment of cancer that has many side effects on different organs, including the gonads. The purpose of this study was to investigate the effects of an antioxidant Ellagic acid on cyclophosphamide -induced toxicity in rat fetal ovarian tissue.

**Methods:** Forty two pregnant female Wistar rats weighing 250-200 gr were randomly divided into seven groups. The first, second, third, fourth, fifth and sixth 5 mg/ kg cyclophosphamide on days 1, 13 and 18 were given intraperitoneal remote pregnancy. The fourth, fifth and sixth groups hour after receiving cyclophosphamide, Ellagic acid (10 mg/kg) has received in the course of pregnancy. Control groups and seven group (normal) during pregnancy daily orally received 0.5 mL of saline. After postpartum, Neonatal rats were anesthetized with ether. Animals were dissected, then Ovaries were removed and transferred to 10% formalin solution. After tissue processing, tissue sections were prepared and H&E stained. Data were analyzed by SPSS software and One-way ANOVA test.

**Results:** The groups that were exposed to cyclophosphamide ovarian mean of diameter, primordial follicle diameter and number of follicular cell of primordial in control group compared to ellagic acid treatments showed a significant decrease.

**Conclusion:** The results showed that Ellagic acid due to its antioxidant properties could reduce the harmful effects caused by cyclophosphamide in the fetal ovary.

**Keywords:** Cyclophosphamide, Ellagic acid, fetus, Rat, ovary

**\*Correspond:** Mahmoudi R, Cellular and Molecular Research Center, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran

**Email:** rmahmoudi40@yahoo.com

**Please cite this article as follows:**

Mousavi M, Jafari Barmak M, Nikseresht M, Sadeghi H, Hedayatpour A, Abidi H, et al. The Protective effect of Ellagic acid on rats' ovarian fetus toxicity induced by cyclophosphamide. Armaghane-danesh 2015; 20 (7): 601-610.