

اثر ویتامین E بر سطح سرمی هورمون‌های جنسی و تعداد فولیکول‌های تخمدان

موش‌های صحرایی در معرض سدیم متابی سولفیت

زهرة منشاء^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.

چکیده

زمینه و هدف: از سدیم متابی سولفیت 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 متابی سولفیت 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، شام، تجربی اول (دریافت کننده سدیم متابی سولفیت ۵۲۰ mg/kg/bw)؛ تجربی دوم (دریافت کننده ویتامین E ۲۰۰ mg/kg/bw)؛ تجربی سوم و چهارم و پنجم (دریافت کننده سدیم متابی سولفیت ۵۲۰ mg/kg/bw توام با ویتامین E به ترتیب با دوزهای ۵۰ mg/kg/bw، ۱۰۰ و ۲۰۰) تقسیم شدند. تجویزها به صورت گاوآذ طی ۳۰ روز انجام شد. پس از خونگیری از حیوانات برای اندازه‌گیری هورمون‌های FSH، LH، 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 متابی سولفیت و ویتامین E به تنهایی نسبت به گروه کنترل کاهش آماری معنی‌دار یافت ($P < 0/05$)؛ اما در حیوانات تحت تیمار با سدیم متابی سولفیت و ویتامین E با دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ mg/kg/bw نسبت به گروه کنترل اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده نگردید. **نتیجه‌گیری:** مصرف همزمان سدیم متابی سولفیت با دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن از ویتامین E می‌تواند اثرات سدیم متابی سولفیت بر فولیکول‌های تخمدانی و هورمون‌های جنسی را کاهش دهد. **کلید واژه‌ها:** سدیم متابی سولفیت، 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 صدر پردیس دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز، تلفن ۴۳۱۱۱۴۸-۰۷۱، نمابر ۴۳۱۱۱۷۲

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

مقدمه

(۲). سدیم متابی سولفیت 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 متابی سولفیت به‌صورت وابسته به دوز با افزایش آنزیم لیپید پراکسیداز باعث تخریب بافتی می‌شود (۵). سدیم متابی سولفیت با داشتن خواص اکسیدانتهی 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

امروزه به‌منظور پیشگیری از فساد مواد غذایی، نوشیدنی‌ها و داروها استفاده از مواد نگهدارنده در صنایع وابسته افزایش یافته است. سدیم متابی سولفیت 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 به‌منظور 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

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

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

سدیم متابی سولفیت و ویتامین E مورد استفاده از شرکت سیگما تهیه شد. کلیه تجویزها برای مدت ۲۸ روز به صورت گاوآز انجام گردید (۳ و ۱۶). 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 به عمل آمد. خون حیوانات در لوله‌های 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.

به منظور 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 آبیگری 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

فولیکول‌های آنترال و اووسیت‌های تخمدانی باعث کاهش قدرت باروری و تولید سلول‌های جنسی در حیوانات ماده می‌گردد (۸). ویتامین E (توکوفرول) یکی از آنتی‌اکسیدانت‌های غیرآزمیمی 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 تخمدان را از بین ببرد (۹). ویتامین E می‌تواند 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 رادیکال‌های 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 لازم و ضروری است. این مطالعه به منظور تعیین اثر ویتامین E در بهبود عوارض ناشی از سدیم متابی سولفیت 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 20 ± 2 درجه سانتی‌گراد 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 کنترل گردید ($P < 0/01$). 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 ($P < 0/01$). در گروه‌های تجربی چهارم و پنجم افزایش آماری معنی‌داری در میزان سرمی هورمون‌های استروژن، پروژسترون و FSH ($P < 0/01$) و هورمون LH ($P < 0/05$) 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 ($P < 0/05$) نسبت به گروه تجربی اول ($P < 0/01$) افزایش آماری معنی‌داری مشاهده شد (جدول یک).

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

داغ با دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. برای رنگ‌آمیزی مقاطع تهیه شده از روش رنگ‌آمیزی 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 شش اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده نگردید.

سدیم متابی سولفیت باعث کاهش آماری معنی‌دار در میزان سرمی هورمون‌های استروژن، پروژسترون، LH و FSH نسبت به

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

گروه‌ها	FSH (IU/L)	LH (IU/L)	استروژن (pg/ml)	پروژسترون (ng/ml)
کنترل	۴/۱۲±۰/۳۷	۳/۰۷±۰/۱۵	۱۹۹/۳۴±۱۲/۲۳	۷/۹۲±۰/۹۳
شش	۴/۰۰±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	۴/۱۰±۰/۳۳ †	۲/۷۰±۰/۳۱	۱۴۴/۶۶±۱۲/۷۲ *	۱/۶۶±۰/۶۶ *
تجربی سوم	۲/۹۵±۰/۱۷ #	۲/۱۵±۰/۳۰	۱۳۲/۴۸±۷/۰۲ *	۳/۲۱±۰/۸ #
تجربی چهارم	۴/۱۰±۱/۴۰ †	۲/۶۴±۰/۳۵ #	۱۸۹/۷۲±۱۵/۵۰ †	۷/۱۲±۱/۱۲ †
تجربی پنجم	۴/۰۵±۰/۳۳ †	۲/۷۸±۰/۲۸ #	۱۸۸/۹۰±۱۱/۲۴ †	۷/۱۰±۰/۹۲ †

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

* اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل در سطح $P < 0/01$ # و † اختلاف معنی‌دار با گروه تجربی اول به ترتیب در سطح $P < 0/05$ و $P < 0/01$

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

گروه‌ها	بدوی	پره آنترال	آنترال	گراف	جسم زرد	آنتریک
کنترل	۴/۴۲±۰/۶۱	۹/۱۴±۲/۱۷	۸/۵۷±۰/۸۱	۱/۷۱±۰/۳۵	۱۰/۷۱±۰/۹۱	۳/۱۴±۰/۸۵
شش	۵/۷۱±۰/۲۸	۹/۸۵±۲/۲۱	۸/۰۰±۰/۵۷	۱/۷۱±۰/۰۴	۹/۵۷±۱/۴۱	۴/۷۱±۱/۲۰
تجربی اول	۴/۶۶±۰/۵۵	۳/۰۰±۰/۷۳ *	۳/۸۳±۰/۷۰ *	۰/۱۶±۰/۰۶ *	۵/۳۳±۰/۴۲ *	۸/۶۶±۱/۱۷ *
تجربی دوم	۵/۳۳±۱/۱۴	۳/۳۳±۰/۶۶ *	۴/۱۶±۰/۶۰ *	۰/۱۶±۰/۰۶ *	۶/۱۶±۰/۱۴ *	۸/۵۰±۰/۸۴ *
تجربی سوم	۵/۱۶±۰/۷۹	۶/۰۰±۰/۷۳ †	۶/۶۶±۱/۶۸ #	۰/۸۳±۰/۴۷ #	۱۰/۳۳±۱/۱۱ †	۵/۱۶±۰/۸۷ #
تجربی چهارم	۴/۲۰±۰/۹۶	۸/۶۰±۱/۴۰ †	۷/۸۰±۱/۵۶ †	۱/۶۰±۰/۰۶ †	۹/۴۰±۰/۶۷ †	۴/۸۰±۰/۸۰ †
تجربی پنجم	۴/۰۰±۰/۶۳	۸/۸۳±۰/۹۴ †	۸/۵۰±۰/۷۱ †	۱/۸۳±۰/۰۶ †	۱۰/۱۶±۰/۹۴ †	۵/۰۰±۰/۷۵ †

* $P < 0/01$ / اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل؛ # $P < 0/01$ / اختلاف معنی‌دار با گروه تجربی اول

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

دخيل در رشد و مهار آپاتوز ایفا می نمایند (۱۸). از طرف دیگر تحقیقات جدید عوارض جانبی و غیرمنتظره آنتی اکسیدانها را نشان داده اند. به طوری که اکسیدانهای فعال موجود در فولیکولهای تخمدانی، پیش از اوولاسیون برای پاسخ تخمک گذاری ضروری بوده و کاهش گونه های فعال اکسیژن در تخمدان، از تخمک گذاری و مجموعه کاملی از پاسخ های ضروری پیش از تخمک گذاری ممانعت می کنند (۱۷). به طور انبوه از سلول های التهابی مانند ماکروفاژها و نوتروفیل ها و بعد از افزایش هورمون LH در زمان تخمک گذاری در تخمدان تولید می شوند (۱۹). لذا احتمالاً ویتامین E به عنوان یک عامل با ویژگی های آنتی اکسیدانی قوی و از طریق کاهش شدید رادیکال های آزاد و گونه های فعال اکسیژن در تخمدان باعث افزایش فولیکول های آترزی شده و کاهش سایر فولیکول ها و هورمون های جنسی شده است. به علاوه 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 فولیکول های تخمدان به آترزی فولیکولی منجر می شود (۱۲). لذا گونه های فعال اکسیژن می توانند به عنوان انتقال دهنده سیگنال های مربوط به رگزایی پاسخ های رگ زایی ایجاد نمایند (۲۰ و ۲۱). از بین رفتن شدید گونه های فعال اکسیژن توسط خاصیت آنتی اکسیدانی ویتامین E (۱۳) می تواند با کاهش خونرسانی به فولیکول های تخمدان دلیلی برای از بین رفتن فولیکول های پره آنترال، آنترال، گراف و کاهش معنی دار تعداد آنها و افزایش تعداد فولیکول های اترزی شده باشد. همسو با نتایج این مطالعه براساس داده های یک مطالعه دیگر ویتامین E و پنتوکسی فیلین که هر دو دارای خاصیت آنتی اکسیدانی هستند؛ بر بلوغ فولیکول های تخمدانی اثر منفی می گذارند (۲۲).

در مطالعه حاضر نشان داده شد که مصرف هم زمان سدیم متابی سولفیت و ویتامین E از کاهش فولیکول های تخمدانی ناشی از مصرف هر کدام از این دو ترکیب به تنهایی جلوگیری به عمل می آورد که احتمالاً به دلیل نقش تعدیل کنندگی ویتامین E در میزان رادیکال های آزادی است که به علت مصرف سدیم متابی سولفیت به مقدار زیاد افزایش یافته است. زیرا ورود مقادیر زیاد سولفیت به بدن باعث می شود که آنزیم سولفیت اکسیداز، توانایی خنثی کردن این مقدار سولفیت را نداشته باشد و با تجمع سولفیت در بدن موجب افزایش رادیکال های سولفیت می شود که می تواند با لیبیدهای غشاء واکنش داده و منجر به پراکسیداسیون لیپیدها شوند و موجبات آسیب های بافتی را فراهم آورند. ویتامین E می تواند میزان رادیکال های آزاد را به حد طبیعی در بدن کاهش داده و از آسیب به سلول ها و فولیکول های تخمدانی و در نهایت کاهش هورمون های جنسی جلوگیری نماید (۲۱). همچنین در بررسی اثر پنتوکسی فیلین و ویتامین E بر تخمدانها، پس از ایسکمی تجربی آنها در موش های

آماری معنی دار تعداد فولیکول های آترزی شده نسبت به گروه کنترل گردید ($P < 0/01$). افزایش آماری معنی داری در تعداد فولیکول های پره آنترال، آنترال، گراف و اجسام زرد و کاهش آماری معنی داری در تعداد فولیکول های آترزی شده گروه های تجربی سوم و چهارم و پنجم نسبت به گروه های تجربی اول و دوم مشاهده شد ($P < 0/01$). در حالی که نسبت به گروه کنترل تفاوت آماری معنی داری یافت نشد (جدول ۲).

بحث

با توجه به نتایج مطالعه حاضر سدیم متابی سولفیت باعث کاهش معنی دار میزان سرمی هورمون های LH و FSH گردید. همچنین سدیم متابی سولفیت و ویتامین E هر کدام به تنهایی باعث کاهش معنی دار در میزان سرمی هورمون های استروژن و پروژسترون و در تعداد فولیکول های پره آنترال، آنترال (ثانویه)، گراف و جسم زرد و افزایش معنی دار در تعداد فولیکول های آترزی شده گردید؛ اما مصرف هم زمان سدیم متابی سولفیت و ویتامین E با یکدیگر باعث افزایش معنی دار در میزان سرمی هورمون های استروژن و پروژسترون و در تعداد فولیکول های پره آنترال، آنترال (ثانویه)، گراف و جسم زرد و کاهش معنی دار در تعداد گروه فولیکول های آترزی شده نسبت به هر یک از این دو ترکیب به تنهایی گردید. همچنین مصرف هم زمان سدیم متابی سولفیت و ویتامین E باعث افزایش معنی دار در میزان سرمی LH و FSH نسبت به سدیم متابی سولفیت به تنهایی گردید.

همسو با نتایج مطالعه حاضر بررسی دیگر ما نیز نشان داد که استفاده از ترکیبات سولفور نظیر سدیم متابی سولفیت باعث کاهش معنی دار حجم تخمدان، تعداد فولیکول های بدوی، اولیه، ثانویه، گراف و اجسام زرد و نیز با از بین بردن سلول های لایه گرانولوزای فولیکول های تخمدانی باعث افزایش تعداد فولیکول های آترزی شده و تغییر در میزان هورمون های جنسی می شوند (۱۶). سدیم متابی سولفیت، موجب القای استرس اکسیداتیو و تولید گونه های فعال اکسیژن در بافت های مختلف بدن از جمله بیضه ها و تخمدانها می شود که می تواند به روند فولیکوژنز آسیب برساند (۳ و ۱۶).

در مطالعه حاضر حیوانات دریافت کننده ویتامین E به تنهایی با دوز ۲۰۰ mg/kg/bw، کاهش معنی داری در غلظت هورمون های پروژسترون و استروژن، تعداد فولیکول های پره آنترال، آنترال، گراف و افزایش معنی داری در تعداد فولیکول های آتریک داشتند. در توجه نتایج این بررسی می توان بیان داشت رادیکال های آزاد و گونه های فعال اکسیژن که به عنوان واسطه گره های عملکردی در سیستم های بیولوژیک شناخته می شوند؛ به طور انبوه از سلول های التهابی مانند ماکروفاژها و نوتروفیل ها و بعد از افزایش هورمون LH در زمان تخمک گذاری در تخمدان تولید می شوند (۱۷). در غلظت های متوسط نقش مهمی در فرایندهای انتقال سیگنال های

رشد فولیکول‌های تخمدانی ضروری است؛ باعث افزایش تعداد فولیکول‌های آترزی شده و نیز کاهش تعداد فولیکول‌های پره‌آترال، آترال، گرآف و اجسام زرد و میزان سرمی هورمون‌های استروژن، پروژسترون، LH و FSH می‌شود. مصرف همزمان سدیم متابی‌سولفیت با ویتامین E احتمالاً به دلیل فعالیت آنتی‌اکسیدانی ویتامین E و نقش آن در تعدیل رادیکال‌های آزاد، مانع اثرات سوء سدیم متابی‌سولفیت می‌شود. میزان سرمی هورمون‌های جنسی و تعداد فولیکول‌های تخمدانی می‌گردد.

تشکر و قدردانی

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

References

1. Cavka A, Martín C, Alriksson B, Mörtzell 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, Ghandizadehdezfili 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,

صحرائی؛ نشان داده شد اثر مصرف همزمان ویتامین E 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 حد گونه‌های فعال اکسیژن و پراکسیداسیون لیپیدها و به دنبال آن محافظت از سلول‌های جنسی می‌گردد. به عبارتی دیگر می‌توان عنوان کرد که استفاده از ترکیبات جلوگیری کننده از افزایش بی‌رویه رادیکال‌های آزاد، می‌تواند موجب تقویت عملکرد سلول‌های دودمانی جنسی گردند (۸). از محدودیت‌های این مطالعه می‌توان به عدم وجود امکانات اندازه‌گیری ترکیبات اکسیدان و آنتی‌اکسیدان متعاقب تیمار حیوانات اشاره نمود.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که سدیم متابی‌سولفیت و ویتامین E احتمالاً از طریق افزایش بیش از حد رادیکال‌های آزاد و ویتامین E نیز از طریق کاهش شدید رادیکال‌های آزاد که تا حدودی برای

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 JHH, 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.

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

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}

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

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.hosseini@yahoo.com

Received 16 Oct 2016

Revised 18 Feb 2017

Accepted 19 Feb 2017