مقاله تحقیقی

مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی بابل
دوره هجدهم، شماره ۷، تیر ۱۳۹۵، صفحه ۵۴-۴۸

اثر محافظتی اسانس باریجه بر تغییرات هیستومورفومتریک جفت موش صحرایی تیمار شده با سیکلوفسفامید

زهرا رضائی (Msc)[۱]، طیبه محمدی(PhD)[۱*]، محمود خاکساری مهابادی(PhD)[۲]، حسین نجف‌زاده ورزی(PhD)[۲]

۱-گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز
۲-گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز

دریافت: ۹۴/۷/۵، اصلاح: ۹۴/۱۰/۱۶، پذیرش: ۹۴/۱۲/۱۲

خلاصه

سابقه و هدف: سیکلوفسفامید دارویی پرمصرف در درمان سرطان، بیماریهای پوستی و اختلال درسیستم ایمنی می باشد. از آنجائیکه سیکلوفسفامید در دوران بارداری از جفت عبور کرده و موجب ناهنجاری در جنین می شود، لذا این مطالعه به منظور ارزیابی اثرات محافظتی اسانس باریجه در برابر سیکلوفسفامید در بافت جفت موش صحرایی انجام شد.

مواد و روش‌ها: این مطالعه تجربی بر روی ۱۹سر موش صحرایی آبستن در ۳ گروه انجام شد. در روز سیزدهم آبستنی گروه‌های شاهد (۷سر)، سیکلوفسفامید(۷ سر) و سیکلوفسفامید و باریجه(۵ سر) به ترتیب یک دوز سرم فیزیولوژی، سیکلوفسفامید (۱۵mg/kg) و سیکلوفسفامید (۱۵mg/kg) و اسانس باریجه (۲۰۰mg/kg)، به صورت داخل صفاقی دریافت کردند. روز بیستم آبستنی همه موش‌ها آسان‌کشی شدند. جفت‌ها جدا و پس از مطالعه مورفولوژی و مورفومتری ، در فرمالدئید بافر ۱۰٪ فیکس شدند. مقاطع بافتی طبق روش رایج تهیه مقاطع بافتی آماده و با میکروسکوپ نوری مورد مطالعه بافت شناسی و هیستومتری قرار گرفتند.

یافته‌ها: در مقایسه با گروه شاهد(۰/۵ گرم)، سیکلوفسفامید وزن جفت را تا ۰/۴ گرم، ضخامت و طول قطرهای کوچک و بزرگ جفت را نیز به ترتیب از ۳/۶۲، ۱۱/۲و ۱۴/۱۵ میلی‌متر در گروه شاهد، به ۲/۸۱، ۹/۲۵ و ۱۱/۳۷ میلی‌متر کاهش داد ($p\leq ۰/۰۵$). در سطح بافتی نیز، ضخامت لایه‌های لابیرنت و بازال را به ۳۸۵/۷۳ و ۷۲/۸۰ میکرومتر و تعداد سلول‌های غول‌پیکر را به ۲/۴۵ عدد در مقایسه با گروه شاهد کاهش داد($p\leq ۰/۰۵$). تجویز همزمان اسانس باریجه و سیکلوفسفامید، طول قطر بزرگ، ضخامت لایه لابیرنت، بازال و تعداد سلول‌های غول‌پیکر را در مقایسه با گروه دریافت کننده سیکلوفسفامید، به ترتیب به ۱۲/۷۷ میلی‌متر، ۴۶۷/۶۴ و ۹۱/۱ میکرومتر و ۷/۶۰ عدد افزایش داد ($p\leq ۰/۰۵$).

نتیجه گیری: بر اساس نتایج این مطالعه اسانس باریجه می‌تواند بافت جفت را در برابر اثرات توکسیک سیکلوفسفامید محافظت کند.

واژه‌های کلیدی: باریجه، جفت، سیکلوفسفامید، ، موش صحرایی.

مقدمه

سیکلوفسفامید دارویی پرمصرف در درمان سرطان است و به عنوان مهارکننده ایمنی برای جلوگیری از ردپیوند بیماران(۱) و درمان برخی از بیماریهای پوستی، بویژه خودایمنی و اختلال در سیستم ایمنی نیز مفید است(۲). ازسوی دیگر، سیکلوفسفامید با تداخل در سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی بافت‌ها و تولید مقدار زیادی رادیکال آزاد اکسیژن، خواص موتاژنی نیز دارد. سیکلوفسفامید از جفت عبور می‌کند و می‌تواند باعث ناهنجاری‌های جنینی شود(۳). سهم عمده تراتوژن بودن این دارو به مکانیسم ایجاد استرس اکسداتیو برمی‌گردد(۴). Najafzadeh و همکاران نشان دادند که تجویز سیکلوفسفامید باعث ایجاد ناهنجاری‌های مختلف اسکلتی از جمله شکاف کام، نقایص اندام‌ها و اگزنسفالی در جنین موش صحرایی می‌شود(۵)؛ Delucia و همکاران نیز در مطالعه‌ای بیان نمودند که تجویز سیکلوفسفامید در دوران بارداری موجب تاخیر در رشد جنین، کاهش وزن جفت و طول بندناف کاهش می‌شود(۶) و Padmanabhan و همکاران نیز تغییرات هیستوپاتولوژیک در جفت متعاقب تجویز سیکلوفسفامید را گزارش کردند (۷). شواهد زیادی وجود دارد که برخی ترکیبات گیاهی مانند فلاونوئیدها، پلی‌فنول‌ها، کاروتنوئیدها و استروئیدهای گیاهی می‌توانند به عنوان مهارکننده‌های موتاژنیک عمل کنند(۸). باریجه با نام علمی *فرولا گوموزا بویس*(*Ferula gummosa Boiss*) دارای ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی است(۹) که پتانسیل بالایی در اتصال به رادیکال‌های آزاد اکسیژن دارند(۱۰). این گیاه در طب سنتی برای درمان صرع و تشنج، تقویت حافظه(۱۱)، ترمیم زخم‌ها و عفونت‌های پوستی و روماتیسم توصیه شده (۱۲) و به خاطر داشتن فعالیت ضد میکروبی نیز شناخته شده است(۱۴و۱۳). در مطالعه‌ای Rashidi و همکاران گزارش کردند که اسانس باریجه قادر است شکاف کام ناشی از کافئین در جنین-های موش را کاهش دهد(۱۵). جفت نقش مهمی در رشد و نمو جنینی دارد و از آنجا که سیکلوفسفامید با القاء استرس اکسیداتیو باعث آسیب جفت و ناهنجاری-های جنینی می‌شود، به نظر می‌رسد باریجه به واسطه دارا بودن ترکیبات آنتی اکسیدان بتواند از تغییرات بافت شناسی جفت موش صحرایی ناشی از سیکلوفسفامید جلوگیری کند. از آنجا که تاکنون اثر اسانس باریجه روی تغییرات بافت شناسی جفت ناشی از سیکلوفسفامید بررسی نشده است، این مطالعه به منظور بررسی اثر حفاظتی اسانس باریجه بر روی تغییرات بافت‌شناسی ناشی از تجویز سیکلوفسفامید در جفت موش صحرایی انجام شد.

این مقاله حاصل پایان نامه زهرا رضایی دانشجوی رشته زیست شناسی جاتوری گرایش بافت شناسی و جنین شناسی دانشگاه شهید چمران اهواز می باشد.

*مسئول مقاله: دکتر طیبه محمدی
آدرس: اهواز، دانشگاه شهید چمران اهواز، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی. تلفن: ۳۳۳۳۱۰۴۵ -۰۶۱
E-mail: t.mohammadi@scu.ac.ir

مواد و روش‌ها

این مطالعه تجربی بر روی ۱۹ سر از موش‌های صحرایی ماده بالغ نژاد ویستار انجام گردید. موش‌های صحرایی ماده و نر ۱۲-۱۰ هفته‌ای با میانگین وزنی ۲۰±۲۰۰ گرم در قفس‌های سیمی و تحت شرایط نوری(۱۲ ساعت روشنایی، ۱۲ ساعت تاریکی) در دمای اتاق(۲±۲۳ درجه سانتی‌گراد) و رطوبت ثابت(۱۰±۵۰ درصد) برای دو هفته قبل از شروع انجام آزمایش به طور جداگانه نگهداری و با آب لوله کشی شهری و غذای فشرده ساخت کارخانه خوراک دام پارس تهران به طور منظم و روزانه تغذیه شدند. کلیه مراحل کار با توجه به اصول اخلاقی پژوهش بر روی حیوانات آزمایشگاهی مصوب کمیته اخلاق دانشگاه شهید چمران انجام گرفت. برای عمل جفت‌گیری، هر سه سر موش ماده با یک سر موش نر برای مدت ۱۲ ساعت در یک قفس نگهداری شدند و روز بعد جهت تائید آبستنی، موش‌های ماده از نظر وجود پلاک واژنی بررسی شدند. وجود پلاک واژنی به عنوان روز صفر آبستنی در نظر گرفته شد. موش‌های آبستن به صورت اتفاقی به ۳ گروه تقسیم شدند. در روز سیزده آبستنی، به گروه اول(شاهد: تعداد ۷ موش) هم‌حجم سیکلوفسفامید، سرم فیزیولوژی به صورت داخل صفاقی تجویز شد؛ به گروه دوم(سیکلوفسفامید: تعداد ۷ موش) سیکلوفسفامید(باکسترآلمان) به میزان ۱۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت داخل صفاقی تجویز شد(۱۶) و به گروه سوم (تعداد ۵ موش) مانند گروه دوم سیکلوفسفامید، به همراه اسانس باریجه(باریج اسانس کاشان- ایران) با دوز ۲۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت داخل صفاقی تجویز شد(۱۵). روز بیستم آبستنی تمام موش-های مورد مطالعه با رعایت ملاحظات اخلاقی با اتر آسان‌کشی شدند. پس از باز کردن محوطه شکمی و برش شاخ رحم، جفت‌ها به همراه جنین‌ها خارج شدند و علاوه بر بررسی ظاهری، با ترازو وزن شدند و با کولیس قطر و ضخامت جفت‌ها اندازه‌گیری شد. جهت مطالعه میکروسکوپی، با استفاده از روش رایج تهیه مقاطع بافتی برش‌های ۵ میکرومتری تهیه و پس از رنگ‌آمیزی با هماتوکسیلین-ائوزین(H&E) و پریودیک اسید شیف(PAS)، از هر گروه ۵ نمونه و از هر نمونه ۵ لام و در هر لام ۵ میدان دید میکروسکوپی به صورت تصادفی با میکروسکوپ نوری(المپیوس BX51) بررسی شدند. پس از گرفتن تصاویر با کمک دوربین دیجیتال (المپیوسDP71) متصل به میکروسکوپ، ضخامت نواحی بازال، لابیرنت و دسیدوا با کمک نرم‌افزار Image J اندازه گیری شد. در هر مقطع، تعداد سلولهای غول پیکر تروفوبلاستی نیز شمارش گردید و تغییرات اندازه و شکل سلولهای غول پیکر و گلیکوژن دار نیز بررسی شد. داده‌های به دست آمده با کمک نرم افزار SPSS۱۶ و آزمونهای آماری آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و پس آزمون LSD تجزیه و تحلیل شدند و $p\leq ۰/۰۵$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

یافته‌های مورفولوژی و مورفومتری: میانگین وزن جفت در گروه دریافت کننده سیکلوفسفامید(۰/۰۱±۰/۳۹۹۴گرم) به طور معنی داری کمتر از گروه شاهد(۰/۰۱±۰/۵۰۲۴گرم) بود($p\leq ۰/۰۵$) ولی نسبت به گروه دریافت کننده سیکلوفسفامید+باریجه(۰/۰۲±۰/۴۴۸۶گرم) معنی دار نبود. میانگین ضخامت جفت در گروه سیکلوفسفامید(۰/۱۲ ±۲/۸۱ mm) به طور معنی‌داری کمتر از گروه شاهد(۰/۲۲ ±۳/۶۲ mm) بود($p\leq ۰/۰۵$) و در گروه دریافت‌کننده سیکلوفسفامید + باریجه(۰/۱۳ ±۳/۲۶ mm) اگر چه بیشتر از گروه دریافت‌کننده سیکلوفسفامید بود اما از نظر آماری معنی‌دار نبود ($p=۰/۰۹$) و از گروه شاهد نیز کمتر بود($p\leq ۰/۰۵$)(جدول ۱). میانگین طول قطر کوچک جفت در گروه دریافت‌کننده سیکلوفسفامید (۰/۲۷ ±۹/۲۵ mm) و سیکلوفسفامید+باریجه(۰/۲۱ ±۹/۸۵ mm) کمتر از گروه شاهد (۰/۲۳ ±۱۱/۰۲ mm) بود($p\leq ۰/۰۵$) و بین دو گروه تیمار فاقد تفاوت معنی دار بود($p=۰/۱۱$). میانگین طول قطر بزرگ جفت در گروه دریافت‌کننده سیکلوفسفامید (۰/۳۲ ±۱۱/۳۷ mm) و سیکلوفسفامید+باریجه (۰/۳۰ ±۱۲/۷۷ mm) کمتر از گروه شاهد(۰/۲۶ ±۱۴/۱۵ mm) بود($p\leq ۰/۰۵$) و بین گروه های دریافت کننده سیکلوفسفامید و سیگلوفسفامید+باریجه تفاوت معنی دار نداشت($p\leq ۰/۰۵$)(جدول ۱). از نظر ظاهری جفت‌ها در گروه شاهد به رنگ قرمز روشن و فاقد هر گونه تغییر شکل یا پرخونی بودند. در گروه دریافت‌کننده سیکلوفسفامید، جفت‌ها کوچک، به رنگ قرمز تیره و دارای نقاط پرخون بودند و در گروه دریافت کننده سیکلوفسفامید و باریجه از نظر ظاهری مشابه گروه شاهد بودند.

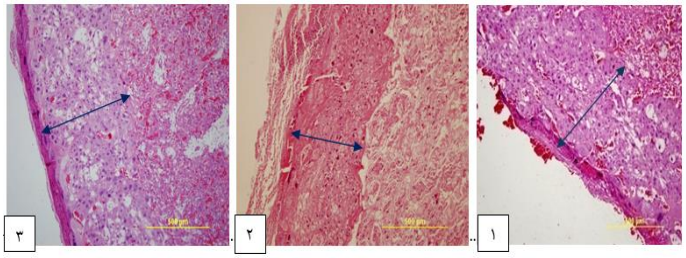
جدول ۱. مقایسه میانگین وزن، قطر کوچک، قطر بزرگ و ضخامت جفت در گروه‌های شاهد، دریافت‌کننده سیکلوفسفامید، سیکلوفسفامید و باریجه

گروه‌ها پارامترها	شاهد Mean±SD	سیکلوفسفامید Mean±SD	سیکلوفسفامید+باریجه Mean±SD
وزن جفت(g)	۰/۵۰±۰/۰۱^{b}	۰/۴۰±۰/۰۱^{a}	۰/۴۴±۰/۰۲^{ab}
قطرکوچک(mm)	۱۱/۰۲±۰/۲۳^{b}	۹/۲۵±۰/۲۷^{a}	۹/۸۵±۰/۲۱^{a}
قطر بزرگ(mm)	۱۴/۱۵±۰/۲۶^{c}	۱۱/۳۷±۰/۳۲^{a}	۱۲/۷۷±۰/۳۰^{b}
ضخامت(mm)	۳/۶۲±۰/۲۲ ^{b}	۲/۸۱±۰/۱۲^{a}	۳/۲۶±۰/۱۳^{ab}

حروف غیرمشابه درهر ردیف افقی نشاندهنده اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها در سطح $p<۰/۰۵$ می‌باشد.

یافته‌های هیستولوژی و هیستومتری: میانگین ضخامت ناحیه لابیرنت جفت در گروه‌های دریافت‌کننده سیکلوفسفامید (۳۹/۸۱±۳۸۵/۷۳میکرومتر) و سیکلوفسفامید +باریجه (۱۷/۱۸±۴۶۷/۶۴میکرومتر) کمتر از گروه شاهد (۱۵/۶۳±۴۵۶/۱۴ میکرومتر) بود ($p\leq ۰/۰۵$)، بین دو گروه تیمار اختلاف معنی‌دار نبود. میانگین ضخامت ناحیه بازال جفت در گروه‌های دریافت کننده سیکلوفسفامید (۳/۲۹±۷۲/۸میکرومتر) و سیکلوفسفامید+باریجه (۹/۴۵±۹۱/۱میکرومتر) کمتر از گروه شاهد (۳/۱۰±۹۴/۰۴میکرومتر) بود ($p\leq ۰/۰۵$) و بین دو گروه تیمار اختلاف معنی دار نبود(تصویر ۱). میانگین ضخامت ناحیه دسیدوای جفت در گروه دریافت کننده سیکلوفسفامید (۴/۸۲±۴۳/۱۲میکرومتر) بیشتر از گروه شاهد (۲/۵۱±۲۸/۸میکرومتر) ($p\leq ۰/۰۵$) اما با گروه دریافت کننده سیکلوفسفامید+باریجه (۰/۹۷±۲۷/۶۹میکرومتر) اختلاف معنی‌دار نداشت. میانگین تعداد سلول‌های غول‌پیکر در گروه دریافت‌کننده سیکلوفسفامید (۰/۱۷±۲/۴۵) کمتر از گروه شاهد(۰/۵۴±۵/۶)بود ($p\leq ۰/۰۵$). ولی تجویز باریجه به همراه سیکلوفسفامید(۰/۶۵±۷/۶۰) تعداد این سلولها نسبت به گروه شاهد را به طور معنی‌داری افزایش داد($p\leq ۰/۰۵$)(جدول ۲). در مطالعه بافت شناسی، سیکلوفسفامید باعث جمع‌شدگی و کوچک شدن هسته‌های سلولهای غول‌پیکر، نکروز شدید سلولهای اسپانژیوتروفوبلاستی همراه با پرخونی لایه لابیرنتی، کوچک شدن سلولهای تروفوبلاستی در ناحیه لابیرنتی و نکروز سلولهای

دسیدوا گردید و تجویز اسانس باریجه با سیکلوفسفامید موجب عدم بروز تغییرات هسته در سلولهای غول‌پیکر و نکروز سلول‌های اسپانژیوتروفوبلاستی و کاهش پرخونی در ناحیه بازالی گردید. در ناحیه لابیرنتی هم سلولهای تروفوبلاستی ساختار طبیعی خود را همانند سلولهای تروفوبلاستی گروه شاهد حفظ کردند (تصویر ۲). در مجموع، اسانس باریجه به طور معنی‌داری موجب افزایش ضخامت لایه بازالی و تعداد سلولهای غول‌پیکر، افزایش ضخامت لایه لابیرنت و نیز کاهش ضخامت لایه دسیدوا در مقایسه با گروه دریافت‌کننده سیکلوفسفامید شد ($p\leq ۰/۰۵$).

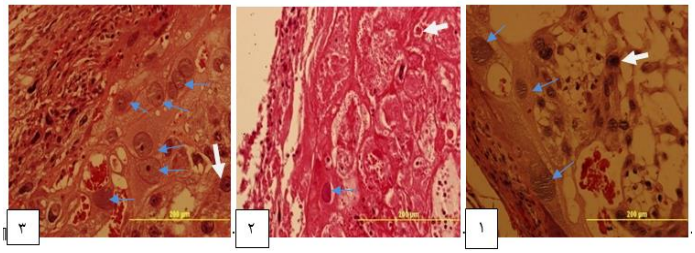


تصویر ۱. ساختار میکروسکوپی جفت در گروه‌های مورد مطالعه. در این تصویر کاهش مشخص لایه بازالی (پیکان آبی رنگ) در گروه سیکلوفسفامید (۲) نسبت به شاهد(۱) و سیکلوفسفامید+باریجه (۳)دیده می‌شود (H&E،۱۰×)

جدول۲. مقایسه میانگین ضخامت لایه های لابیرنت، بازالی و دسیدوا و تعداد سلول‌های غول‌پیکر جفت در گروه‌های شاهد، دریافت‌کننده سیکلوفسفامید، سیکلوفسفامید و باریجه

پارامترها	گروه‌ها	شاهد Mean±SD	سیکلوفسفامید Mean±SD	سیکلوفسفامید+باریجه Mean±SD
ضخامت لایه لابیرنت(µm)		۴۵۶/۱۴±۱۵/۶۳ b	۳۸۵/۷۳±۳۹/۸۱ a	۴۶۷/۶۴±۱۷/۱۸ b
ضخامت لایه اتصالی (µm)		۹۴/۰۴±۳/۱۰ b	۷۲/۸±۳/۲۹ a	۹۱/۱±۹/۴۵ b
ضخامت لایه دسیدوا (µm)		۲۸/۸±۲/۵۱ a	۴۳/۱۲±۴/۸۲ b	۲۷/۶۹±۰/۹۷ a
سلولهای غول پیکر		۵/۶۰±۰/۵۴ b	۲/۴۵±۰/۱۷ a	۷/۶۰±۰/۶۵ c

حروف غیرمشابه درهر ردیف افقی نشاندهنده اختلاف معنی‌دار بین گروهها در سطح $p<۰۵/۰$ می‌باشد.



تصویر ۲. ساختار میکروسکوپی جفت در گروه‌های مورد مطالعه. در این تصویر افزایش تعداد سلول‌های غول‌پیکر(پیکان آبی رنگ) گروه سیکلوفسفامید+باریجه (۳) نسبت به گروه سیکلوفسفامید(۲)، همین‌طور جمع شدگی و نکروز سلول‌های اسپانژیوتروفوبلاست(پیکان سفید رنگ) و پرخونی ناحیه لابیرنتی در گروه سیکلوفسفامید نسبت به دو گروه دیگر مشاهده می‌شود(H&E،۴۰×).

بحث و نتیجه گیری

در این مطالعه تجویز سیکلوفسفامید، موجب کاهش وزن، قطر و ضخامت جفت شد، Delucia و همکاران نیز گزارش کردند تجویز داخل صفاقی سیکلوفسفامید در روز دهم آبستنی موش موجب کاهش اندازه جفت شده است(۶). همچنین Park و همکاران کاهش وزن جفت به دنبال تجویز سیکلوفسفامید در موش صحرایی را گزارش کردند(۴). Najafzadeh و همکاران گزارش کردند که تجویز سیکلوفسفامید در روز سیزدهم آبستنی باعث ایجاد ناهنجاری‌های سیستم اسکلتی در جنین موش صحرایی می‌شود (۵). در مطالعه حاضر، تیمار با سیکلوفسفامید به طور معنی‌داری موجب تغییرات هیستومتری و هیستولوژیکی از جمله کاهش تعداد سلول‌های غول‌پیکر و افزایش ضخامت ناحیه دسیدوا نسبت به گروه شاهد شد که با پرخونی شدید و نکروز سلولی همراه بود که با یافته Padmanabhan و همکاران مطابقت دارد(۷). آکرولئین به عنوان یکی از متابولیت‌های سیکلوفسفامید، با تداخل در سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی و تولید مقدار زیادی رادیکال آزاد اکسیژن با ملکول‌های دیگر ترکیب شده و باعث اکسیداسیون مستقیم یا مهار عملکرد عادی آنها و راه‌اندازی آپوپتوز می‌شود (۱۷). آکرولئین درهنگام فرآیند تقسیم سلولی با DNA ترکیب شده و موجب شکسته شدن آن به رشته‌های منفرد می‌شود که نهایتا منجر به شکل‌گیری میکرونوکلئوس‌ها و مرگ سلول می‌گردد (۱۸). Ghaffarie و همکاران رابطه بین ژنوتوکسیتی و استرس اکسیداتیو در بسیاری از مدلهای تجربی حیوانی را به خوبی نشان داده‌اند(۱۹). بنابراین به نظر می‌رسد مطابق با مطالعات متعدد، تجویز سیکلوفسفامید در بافت جفت نیز موجب القای استرس اکسیداتیو و ایجاد گونه‌های فعال اکسیژن می‌گردد که با مرگ سلولی همراه است. تجویز همزمان باریجه با سیکلوفسفامید ضخامت قطر بزرگ، لایه‌های لابیرنت و بازال و تعداد سلول‌های غول‌پیکر را نسبت به گروه سیکلوفسفامید افزایش داد و پرخونی و نکروز سلول‌ها را کاهش داد. گیاهان دارویی بخصوص گیاهان غنی از ترکیبات پلی‌فنولی و فلاونوئیدها با دارا بودن خاصیت آنتی‌اکسیدانی به عنوان عامل حفاظتی در برابر داروهای شیمی درمانی عمل می‌کنند(۸). باریجه دارای خاصیت آنتی اکسیدانی است که مربوط به ترکیبات فنلی و فلاونوئیدهای موجود در آن است(۲۰). ترکیبات فنولی اثرات محافظتی در برابر اثرات زیان‌بار مواد سرطان‌زای ژنوتوکسیک را با مهار گونه‌های فعال اکسیژن(*ROS*) و افزایش سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی میزبان نشان می دهند(۲۱). باریجه دارای خاصیت جمع آوری-کنندگی پراکسید هیدروژن می‌باشد که این خاصیت به دلیل وجود فنول‌ها در این عصاره می‌باشد(۲۲). Dehpour و همکاران طی مطالعه درباره خاصیت آنتی-اکسیدانی باریجه بیان داشتند، ترکیبات پلی‌فنولی موجود در فرولا گوموزا(باریجه) می‌تواند به عنوان اهداکننده‌های خوب الکترون و اتم هیدروژن عمل کنند و بنابراین بایستی قادر به جلوگیری از واکنش‌های زنجیره‌ای رادیکالهای آزاد و تبدیل *ROS* به محصولات پایدار و با ثبات شوند(۲۳). در مطالعه حاضر نیز احتمالا تجویز سیکلوفسفامید موجب افزایش پراکسید هیدروژن در بافت جفت و در نتیجه تولید استرس‌اکسیداتیو و سمیت در این بافت شده است و ترکیبات آنتی-اکسیدانی موجود در باریجه تا حدود زیادی موجب مهار آن‌ها شده است. Kim و همکاران نیز طی مطالعه‌ای اثر حفاظتی دی‌الیل‌دی‌سولفید را دربرابر سمیت ناشی از سیکلوفسفامید در روند تکاملی جنین موش مورد ارزیابی قرار دادند و بیان نمودند دی‌الیل‌دی‌سولفید به خاطر داشتن ترکیباتی با خصوصیات آنتی‌اکسیدانی،

توانسته با مشارکت در حفظ فعالیت‌های آنزیمی آنتی‌اکسیدان‌ها از اثر توکسیکی سیکلوفسفامید در روند نمو جنین موش صحرایی جلوگیری کند(۲۴). در مطالعه دیگر، Kim و همکاران گزارش کردند که تجویز سیکلوفسفامید در موش صحرایی موجب کاهش وزن جنین و جفت، افزایش جذب جنین‌ها و ناهنجاری-های جنینی می‌شود و تجویز همزمان عصاره پوست درخت کاج (*pycnogenol*) در جلوگیری از عوارض سیکلوفسفامید سودمند می‌باشد و علت سودمند بودن عصاره کاج را فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی آن دانستند(۲۵). یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که تجویز ۲۰۰ میلی‌گرم اسانس باریجه به همراه ۱۵ میلی‌گرم سیکلوفسفامید به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در موش صحرایی آبستن می‌تواند از جفت در برابر آسیبهای هیستومورفولوژیکی ناشی از سیکلوفسفامید محافظت کند.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه شهید چمران اهواز به جهت حمایت مالی از این تحقیق و همچنین از آقای دکتر محسن تقی زاده مدیر تحقیق و توسعه شرکت باریج اسانس کاشان که در تهیه اسانس باریجه همکاری داشـتند، تشکر و قدردانی می‌گردد.

Protective Effects of Galbanum Essential Oil on Histomorphometric Changes in Placenta of Cyclophosphamide Treated Rat

Z. Rezai (MSc)[1], T. Mohammadi (PhD)[1*], M. Khaksary Mahabadi (PhD)[2], H. Najaf¬ZadeVarzi (PhD)[2]

1.Department of Biology, Faculty of Sciences, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, I.R.Iran
2.Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, I.R.Iran

J Babol Univ Med Sci; 18(7); Jul 2016; PP: 48-54
Received: Sep 27th 2015, Revised: Jan 5th 2016, Accepted: Mar 2th 2016

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Cyclophosphamide is a drug widely used to treat cancer, skin diseases and immune system disorders. Since cyclophosphamide passes placenta during pregnancy and causes disorders in fetus, this study was conducted to assess the protective effects of galbanum essential oil against cyclophosphamide toxicity in rat placenta tissue.

METHODS: In this experimental study, 19 pregnant rats were divided into 3 groups. On the 13th day of pregnancy, control group (n=7), cyclophosphamide group (n=7) and cyclophosphamide and galbanum group (n=5) received intraperitoneally a dose of normal saline and cyclophosphamide (15 mg/kg), cyclophosphamide (15 mg/kg) and galbanum essential oil (200 mg/kg), respectively. All rats were euthanized on 20th day of pregnancy. Placentas were separated and fixed in 10% buffered formaldehyde after their morphology and morphometry was studied. Tissue sections were prepared using the routine techniques of tissue sections preparation and their histology and histometry were studied by light microscopy.

FINDINGS: Cyclophosphamide decreased 0.4 g of placental weight compared with control group (0.5 g) and decreased the thickness and length of large and small diameter of placenta from 3.62, 11.2 and 14.15 mm in control group to 2.81, 9.25 and 11.37 mm, respectively ($p\leq0.05$). Histologically, it decreased the thickness of the labyrinth and basal layers to 385.73 and 72.80 µm and decreased the number of giant cells to 2.45 compared with control group ($p\leq0.05$). Co-administration of galbanum essential oil and cyclophosphamide increased the length of large diameter, thickness of the labyrinth and basal layers and number of giant cells to 12.77 mm, 467.64 and 91.1 µm and 7.60, respectively ($p\leq0.05$).

CONCLUSION: Results of the study revealed that galbanum essential oil can protect placenta tissue against toxic effects of cyclophosphamide.

KEY WORDS: *Galbanum, Placenta, Cyclophosphamide, Rat.*

Please cite this article as follows:

Rezai Z, Mohammadi T, Khaksary Mahabadi M, Najaf¬ZadeVarzi H. Protective Effects of Galbanum Essential Oil on Histomorphometric Changes in Placenta of Cyclophosphamide Treated Rat. J Babol Univ Med Sci. 2016;18(7):48-54.

***Corresponding author: T. Mohammadi (PhD)**
Address: Department of Biology, Faculty of Sciences, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, I.R.Iran
Tel: +98 61 33331045
E-mail: t.mohammadi@scu.ac.ir

References

1.Baumann F, Preiss R. Cyclophosphamide and related anticancer drugs. J Chromatogr B Biomed Sci Appl. 2001;764(1):173-92.

2.Shreder OV, Shreder ED, Durnev AD, Seredenin SB. Association of genotoxic and teratogenic effects induced by cyclophosphamide and their modification with afobazole. Gig Sanit. 2011;(5):64-8.

3.Leal O, Leal EAS, Borges JB, Leal E A. Frankl R. Júnior1 P, ML Torres Paez1, Sebastião Teodósio2 e Tavares N. Clinical-parasitological response to treatment with quinine associated to doxycycline in uncomplicated falciparum malaria. Revista Sociedade Brasileira Med Tropical.2003;36(6):751-4.

4.Park D, Jeon JH, Shin S, Joo SS, Kang DH, Moon SH, et al. Green tea extract increases cyclophosphamide-induced teratogenesis by modulating the expression of cytochrome P-450 mRNA. Reprod Toxicol.2009;27(1):79-84.

5.Najafzadeh Varzi H, Mahabadi MK.A comparison study of the effects of Echinacea purpurea ethanolic extract and mesna on cyclophosphamide-induced macroscopic fetal defects in rats. Iran J Med Sci. 2009;12(1):61-6.

6.DeLucia MBI, Azoubel R. Cyclophosphamide effects on the epithelial covering of rats fetus's tongue. Morphometric Study. Int J Morphol. 2005;23(2):105-9.

7.Padmanabhan R, Singh S. Histopathological Changes of Placenta Induced by Cyclophosphamide in Rats. Congen Anomal. 1984;24(1):1-8.

8.Mohammadi F, Nikzad H, Taghizadeh M, Moravveji A. Effect of pumpkin extract regimen on testicular structure and serum biochemical parameters in cyclophosphamide-treated adult rats. J Faze Med Edu.2013;17(5):438-6.[In Persian].

9.Khounani Z,Taghavi MH, Omidi M, dastnodehi M, Talebi E. Ecotype genetic diversity of Galbanum (Ferula gummosa) different regions of Iran using AFLP markers. J Med Plants. 2010;10(2):117-26.[In Persian].

10. VanZyl RL, Seatlholo ST, VanVuuren SF, Viljoen AM. The biological activities of 20 nature identical essential oil constituents. J Essent Oil Res.2006;18:129-33.

11. Adhami HR, Fitz V, Lubich A, Fitz V, Krenn L, Zehl M. Acetylcholinesterase inhibitors from galbanum, the oleo gum-resin of Ferula gummosa Boiss. Phytochem Lett.2014;10:132-7.

12.Zarifkar A, Karami-Kheirabad M, Edjtehadi M, Rastegar k,Ghaljeh M. Evaluation of antinociceptive effect of galbanum by formalin test in mice. J Armaghan Danesh.2007;12(1):18-27.

13.Mandegary A, Sayyah M, Heidari MR. Antinociceptive and Anti-Inflammatory activity of the seed and root extracts of Ferula gummosa Boiss in mice and rats. DARU.2004;12(2):58-62.

14.TalebiKouyakhi E, Naghavi MR, Alayhs M. Study of the essential oil variation of Ferula gummosa samples from Iran.Chem Nat Compd.2008;44(1):124-6.

15. Rashidi F, Khaksary-Mahabady M, Ranjbar R, Najafzadeh-Varzi H. The effects of essential oil of galbanum on caffeine induced-cleft palate in rat Embryos. Zahedan J Res Med Sci.2014;16(2):37-41.

16.Slott VL, Hales BF. Enhancement of the embryotoxicity of acrolein, but not phosphoramide mustard, by glutathione depletion in rat embryos in vitro. Biochem pharmacol.1987;36(12):2019-25.

17. Senthilkumar S, Yogeeta SK, Subashini R, Devaki T. Attenuation of cyclophosphamide induced toxicity by squalene in experimental rats. Chemico Biologic Intact.2006;160(3):252-60.

18.Alkan FÜ, Gursel FE, Ates A, ÖZYÜREK M, GÜÇLÜ K. Protective effects of Salvia officinalis extract against cyclophosphamide-induced genotoxicity and oxidative stress in rats. Turk J Veterin Ani Sci.2012;36(6):646-54.

19.Ghaffarie T, Johari H, Najafian M, Kargar H. Effect of eydroalcoholic extract of cinnamon on the pituitary-gonadal axis in adult male rats under chemotherapy by cyclophosphamide. Zahedan J Res Med Sci.2014;16(3):16-20.[In Persian]

20.Ebrahimzadeh MA NS, Nabavi SF Dehpour AA. Antioxidant activity of hydroalcoholic extract of Ferula gammosa boiss roots. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2011;15(6):658-64.

21. Subapriya R, Kumaraguruparan R, Abraham SK, Nagini S. Protective effects of ethanolic neem leaf extract on N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine-induced genotoxicity and oxidative stress in mice. Drug Chem Toxicol.2004;27(1):15-26.

22.Nabavi SF, Ebrahimzadeh M, Nabavi SM, Eslami B. Antioxidant activity of flower, stem and leaf extracts of Ferula gummosa boiss. Grasas y Aceites. 2010;61(3):244-50.

23.Sayyah M, Mandgary A, Kamalinejad M. Evaluation of the anticonvulsant activity of the seed acetone extract of Ferula gummosa Boiss. against seizures induced by pentylenetetrazole and electroconvulsive shock in mice. J Ethnopharmacol.2002; 82(2): 105-9.

24.Kim SH, Lee IC, Baek HS, Moon C, Kim SH, Yoo JC, et al. Induction of cytochrome P450 3A1 expression by diallyl disulfide: Protective effects against cyclophosphamide-induced embryo-fetal developmental toxicity. Food Chem Toxicol.2014;69:312-9.

25.Kim SH, Lee IC, Lim JH, Moon C, Bae CS, Kim SH, et al. Protective effects of pine bark extract on developmental toxicity of cyclophosphamide in rats. Food Chem Toxicol. 2012;50(2):109-15.