

اثرات محافظتی لاکتوفرین در برابر سمیت دوکسوروبیسین بر روی گناد اصلی موش صحرایی: کارآزمایی تجربی تصادفی شده شاهددار

تهمینه پیروی^۱، علی شالیزار جلالی*^۲، سید سالار میریعقوبی پور^۳، خدیجه مقراضی^۴

تاریخ دریافت ۱۳۹۹/۰۱/۱۴ تاریخ پذیرش ۱۳۹۹/۰۴/۱۵

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: دوکسوروبیسین به‌صورت گسترده در درمان تومورهای توپر اندامها و بدخیمی‌های خونی کاربرد دارد، ولی سمیت ایجادشده توسط آن کاربردش را محدود کرده است. هدف این مطالعه ارزیابی اثرات محافظتی لاکتوفرین در برابر سمیت دوکسوروبیسین بر روی گناد اصلی موش صحرایی است. **مواد و روش کار:** ۲۴ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار به چهار گروه تقسیم شدند. به گروه شاهد سرم فیزیولوژی به‌صورت داخل صفاقی و بعد خوراکی، به گروه دوم دوکسوروبیسین به‌صورت داخل صفاقی، به گروه سوم به‌صورت داخل صفاقی داروی دوکسوروبیسین و به‌صورت خوراکی لاکتوفرین چهار ساعت پس از تجویز دارو و به گروه چهارم لاکتوفرین به‌صورت خوراکی تجویز شد. تجویز به‌صورت هفتگی انجام پذیرفت. بعد از تشریح، بیضه حیوان بعد از پاساژ بافتی و رنگ‌آمیزی مورد مطالعه قرار گرفت.

یافته‌ها: میانگین قطر لوله‌های اسپرم‌ساز بین گروه شاهد ($20/82 \pm 0/28$ میکرومتر) و گروه دوکسوروبیسین ($114/28 \pm 1/73$ میکرومتر) و بین گروه شاهد و گروه دوکسوروبیسین + لاکتوفرین ($178/10 \pm 0/57$ میکرومتر) واجد تفاوت معنی‌داری از نظر آماری می‌باشد ($P \leq 0/05$) و بین گروه لاکتوفرین ($200/32 \pm 0/57$ میکرومتر) و گروه دوکسوروبیسین + لاکتوفرین نیز تفاوت معنی‌داری از نظر آماری وجود دارد ($P \leq 0/05$). تفاوت میانگین ضخامت اپی تلیوم لوله‌های اسپرم‌ساز بین گروه شاهد ($58/80 \pm 0/57$ میکرومتر) و گروه دوکسوروبیسین ($31/07 \pm 3/47$ میکرومتر) و بین گروه شاهد و گروه دوکسوروبیسین + لاکتوفرین ($49/45 \pm 0/57$ میکرومتر) از نظر آماری معنی‌داری می‌باشد ($P \leq 0/05$). همچنین، بین گروه لاکتوفرین ($59/14 \pm 1/00$ میکرومتر) و گروه‌های دوکسوروبیسین و گروه دوکسوروبیسین + لاکتوفرین از نظر آماری تفاوت معنی‌داری وجود دارد ($P \leq 0/05$). همچنین، تجویز هم‌زمان لاکتوفرین موجب افزایش قابل‌ملاحظه تعداد سلول‌های واجد واکنش مثبت نسبت به رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی PCNA و HSP70 در مقایسه با گروه دوکسوروبیسین گردید ($P \leq 0/05$).

بحث و نتیجه‌گیری: از لاکتوفرین می‌توان جهت کاهش عوارض جانبی دوکسوروبیسین بر روی اندام‌های تولیدمثلی مانند بیضه استفاده نمود.

کلیدواژه‌ها: لاکتوفرین، دوکسوروبیسین، گناد اصلی، موش صحرایی

مجله مطالعات علوم پزشکی، دوره سی و یکم، شماره پنجم، ص ۳۴۶-۳۳۵، مرداد ۱۳۹۹

آدرس مکاتبه: گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران، تلفن: ۰۹۱۱۱۱۶۶۰۰۴

Email: ali_shalizar@yahoo.com; a.shalizar@urmia.ac.ir

مقدمه

موجب افزایش خطر سمیت برای اندام‌هایی نظیر بیضه، کلیه، قلب و مغز که هدف شیمی‌درمانی نیستند، می‌گردد (۳-۵). دوکسوروبیسین نقش مهمی در شیمی‌درمانی سرطان ایفا می‌کند و به همین دلیل رویکردهای متعددی جهت بهینه‌سازی دوز درمانی، سنتز و استفاده از آنالوگ‌ها یا داروهای ترکیبی برای کاهش یا

دوکسوروبیسین (DOX) یکی از قوی‌ترین داروهای است که برای درمان سرطان و تومورهای پاسخ‌دهنده به شیمی‌درمانی نظیر سرطان‌های تخمدان، سرطان‌های پستان و لنفوم‌ها به کار می‌رود (۱، ۲). مطالعات نشان داده‌اند شیمی‌درمانی با دوکسوروبیسین

^۱ مرکز تحقیقات چاقی مادر و کودک، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران

^۲ گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران (نویسنده‌ی مسئول)

^۳ بخش بافت‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران

^۴ بخش بافت‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران

همین دلیل، ایده استفاده از دوکسوروبیسین به همراه یک آنتی‌اکسیدانت مؤثر و ایمن جهت خنثی کردن آسیب‌های بیضوی ناشی از این دارو منطقی به نظر می‌رسد (۲۸).

پروتئین‌های شوک حرارتی (HSPs) در سلول در پاسخ به هیپرترمی، رادیکال‌های آزاد اکسیژن، عفونت و التهاب در سلول افزایش می‌یابند (۳۱ - ۲۹). برخی از پروتئین‌های شوک حرارتی از جمله HSP70 در تمایز جنس نر و اسپرماتوزنز نقش اساسی دارد (۲۹). از آنجایی‌که دوکسوروبیسین از طریق افزایش تولید تنش اکسیداتیو و التهاب منجر به آپوپتوز می‌شود و همچنین نقش تداخلی HSP70 در سمیت دوکسوروبیسین شناخته شده است، پس می‌توان گفت که HSP70 دارای نقش حفاظتی در سمیت دوکسوروبیسین دارد (۳۱).

PCNA ها به‌عنوان فاکتور پردازشگر برای آنزیم‌های پلی‌مراز عمل می‌کنند و نقش کلیدی در ترمیم DNA (برداشت بازها) ایفا می‌کنند (۳۲). مطالعات مختلف نشان می‌دهد که دوکسوروبیسین باعث کاهش مقدار PCNA در سلول‌ها و به دنبال آن افزایش آپوپتوز می‌شود (۳۵ - ۳۳).

لاکتوفرین یک گلیکوپروتئین متصل شونده به آهن است که از لحاظ ساختاری مشابه ترانسفرین است (۳۶). همچنین لاکتوفرین در خلط، اشک، ترشحات بینی و برونشی، مایعات گوارشی، صفرا، ادرار، مایع منی، موکوس دهانه رحم و مایع آمنیوتیک مشاهده شده است (۳۷). نکته جالب‌توجه در مورد لاکتوفرین نقش‌های بسیار متنوع این گلیکوپروتئین است و فعالیت‌های ضد باکتریایی، ضد ویروسی، ضد التهابی و ضد سرطانی و فعالیت‌های آنزیمی بسیاری نیز دارد (۳۸). همچنین، لاکتوفرین نقش تنظیمی در رشد سلولی و ایمنی دارد (۳۹). لاکتوفرین رادیکال‌های آزاد را سرکوب کرده و مواد ضروری قابل‌دسترس برای میکروب‌های مهاجم و سلول‌های نئوپلاستیک را کاهش می‌دهد (۴۰). اگرچه نقش اصلی لاکتوفرین به‌عنوان دفاع موکوسی می‌باشد اما به‌عنوان عامل آنتی‌نئوپلاستیک هم معرفی می‌شود (۴۱، ۴۲). همچنین این ترکیب به‌عنوان محافظتی در روش‌های متداول شیمی‌درمانی نیز استفاده می‌گردد. مطالعات انجام شده بر روی موش‌ها نشان داده‌اند که لاکتوفرین موجب کاهش تومورها شده و از متاستاز ممانعت می‌کند (۴۳). همچنین، استفاده از لاکتوفرین به همراه داروهای شیمی‌درمانی موجب کاهش عوارض ناشی از شیمی‌درمانی بر روی تخمدان و حفظ توان باروری در بیماران تحت شیمی‌درمانی با داروهایی که اثرات مخرب بر روی باروری دارند، می‌شود (۴۴، ۴۵). با توجه به مطالب ذکر شده، دوکسوروبیسین یکی از داروهای دارای استفاده وسیع در شیمی‌درمانی است که عوارض جانبی فراوانی به‌ویژه بر روی گنادها دارد. طبق مطالعات بیان شده،

جلوگیری از عوارض جانبی پیشنهاد شده است (۹-۶). ناباروری نیز به‌عنوان یکی از عوارض استفاده از دوکسوروبیسین شناخته شده است و مطالعات متعددی که تاکنون بر روی انسان‌ها و حیوانات آزمایشگاهی انجام شده است، آسیب وارده از سوی این دارو بر روی دستگاه تناسلی رو اثبات کرده‌اند (۱۰، ۱۱). بر اساس مطالعات انجام شده، DOX می‌تواند موجب القای جهش و اختلالات کروموزومی در سلول‌های طبیعی و بدخیم گردد و مکانیسم اصلی شناخته شده در سمیت بیضوی ناشی از DOX شامل تنش اکسیداتیو، پراکسیداسیون چربی و آپوپتوز سلولی است (۱۲). علاوه بر آن، مطالعات بسیاری نشان داده‌اند که DOX می‌تواند مانع اسپرماتوزنز شده و تحرک اسپرم را مختل سازد. همچنین، این دارو قادر است تا درصد اسپرماتوزوای غیرطبیعی را افزایش و وزن بدن، وزن بیضه‌ها و سطوح تستوسترون را کاهش داده و به‌طور کلی باعث نارسایی بیضه‌ها گردد (۱۳). مکانیسم ایجاد این نارسایی نیز به‌طور عمده از طریق آسیب اسپرماتوزن‌های نوع B، آسیب اسپرماتوسیت‌های اولیه، القای آپوپتوز در بیضه‌ها و تأثیر بر لیپیدهای بیضوی است (۱۷-۱۴). علاوه بر مطالب بیان شده، دوکسوروبیسین موجب آپوپتوز چرخه اپیتلیوم زایا و آسیب کروموزومی به سلول‌های زایا می‌گردد (۱۸، ۱۹). حتی استفاده از دوز پائین دوکسوروبیسین (۱mg/kg) در موش‌ها می‌تواند سلول‌های زایای بیضه و به‌طور عمده اسپرماتوزن‌های AI-A4 را هدف قرار داده و موجب آسیب اپیتلیوم زایا شود (۱۵). مکانیسمی که طی آن DOX باعث سمیت سلولی می‌شود شناخته شده نیست ولی مکانیسم‌های متعددی برای اثرات ضد سرطانی و زیان‌آور آن مطرح شده است. با این‌وجود، تولید رادیکال‌های آزاد متعاقب متابولیسم دوکسوروبیسین به‌عنوان مکانیسم اصلی سمیت این دارو بیان شده است (۲۰). به این معنی که آسیب اکسیداتیو متعاقب درمان با DOX، توسط مجموعه‌ای از رادیکال‌های اکسیژن نظیر سوپراکسید، رادیکال هیدروکسیل و آهن رخ می‌دهد و این رادیکال‌ها موجب آسیب غشایی و میتوکندریایی و آسیب به سایر اندامک‌های سیتوپلاسمی از طریق پراکسیداسیون لیپیدی، فرآگمنتاسیون DNA و اکسیداسیون پروتئین می‌شود (۲۴-۲۰). به همین دلیل DNA سلول‌هایی نظیر سلول‌های زایای بیضه‌ها که تقسیم سریع دارند می‌توانند توسط دوکسوروبیسین مورد هدف قرار بگیرند. این دارو در میان رشته‌های DNA قرار گرفته و موجب توقف چرخه سلولی در فاز G2. شکستگی‌های تکرار شده‌ای و ممانعت از فعالیت برخی پروتئین‌های هسته‌ای نظیر DNA پلیمرز، RNA پلیمرز و DNA توپوایزومراز II می‌شود (۲۵، ۲۶). از طرفی اسپرماتوزوای پستانداران به دلیل اینکه دارای مقادیر بالای اسیدهای چرب غیراشباع و ظرفیت پائین آنتی‌اکسیدانتی می‌باشد، در مقابل فرایندهای اکسیداتیو بسیار آسیب‌پذیر است (۲۷). به

قرار داده شدند. بعد از فیکساسیون، آب‌گیری، شفاف‌سازی و آغشتگی انجام شد و در مرحله بعد قالب گیری صورت گرفت.

متعاقب قالب گیری با استفاده از دستگاه میکروتوم دوار از بلوک‌ها برش تهیه شد. پس از تهیه مقاطع بافتی و رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین اتوزین، جهت انجام ارزیابی‌های هیستومورفومتریک بیضه نظیر بررسی قطر لوله‌های منی‌ساز و ارتفاع اپی‌تلیوم لوله‌های منی‌ساز از نرم افزار موتیک ۲ استفاده شد.

همچنین برای بررسی HSP70 و PCNA رنگ‌آمیزی ایمنوهیستوشیمی انجام شد. برای ارزیابی سطوح بیان پروتئین‌های HSP70 و PCNA تعداد سلول‌های دارای این پروتئین‌ها در هر میلی متر مربع از بافت شمارش شدند. مراحل رنگ‌آمیزی ایمنوهیستوشیمی طبق دستور شرکت سازنده کیت انجام گرفت. در رنگ‌آمیزی ایمنوهیستوشیمی، قسمت‌های حاوی پروتئین‌های HSP70 و PCNA در زیر میکروسکوپ نوری، به رنگ قهوه‌ای مشاهده می‌شوند.

تصاویر عکاسی به‌وسیله‌ی یک دوربین SONY (Zeiss, Cyber-Shot, Japan) تهیه شده‌اند. اندازه تصاویر و پردازش و ادغام آن‌ها به‌وسیله‌ی Adobe Photoshop CS10 (Adobe System Inc., Mountain View, CA, US) جهت به حداقل رساندن خطاهای بصری و ارزیابی واکنش‌های HSP70 و PCNA تصاویر با نرم‌افزار Image pro-insight software نسخه شماره ۸ ارزیابی شدند. به‌این منظور، جهت ارزیابی شدت واکنش‌های مثبت مورد نظر برای پروتئین‌های هدف در پیکسل‌های تصاویر از ۲۰ چشم‌انداز میکروسکوپی (500 μm×500 μm) تصادفی استفاده شد.

داده‌های این مطالعه با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ مورد ارزیابی آماری قرار گرفتند و نتایج به‌صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شدند. جهت مقایسه بین گروه‌ها آنالیز واریانس یک طرفه و به دنبال آن تست‌های مقایسه‌ای چندگانه توکی مورد استفاده قرار گرفت. مقدار $P \leq 0/05$ برای تعیین سطح معنی‌داری بین گروه‌ها در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در مطالعه حاضر از بیست و چهار سر موش صحرایی نر نژاد ویستار چهارماهه استفاده شد. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که بین میانگین قطر لوله‌های اسپرم‌ساز گروه شاهد و گروه لاکتوفرین تفاوت معنی‌داری وجود ندارد ($P \geq 0/05$). از طرفی بین میانگین قطر لوله‌های اسپرم‌ساز گروه شاهد و گروه دوکسوروبیسین و بین گروه شاهد و گروه دوکسوروبیسین + لاکتوفرین تفاوت معنی‌داری از نظر آماری وجود دارد ($P \leq 0/05$).

لاکتوفرین می‌تواند گزینه خوبی برای محافظت از عوارض شیمی‌درمانی در سرطان‌های انسانی باشد و از آنجایی‌که در مورد خواص و اثرات لاکتوفرین در خصوص محافظت در برابر داروهای شیمی‌درمانی و به‌خصوص دوکسوروبیسین مطالعات زیادی انجام نشده است، ما در این مطالعه اقدام به بررسی اثرات مفید این ماده در مقابله با تغییرات بافتی متعاقب شیمی‌درمانی با دوکسوروبیسین بر روی گناد اصلی موش صحرایی نموده‌ایم.

مواد و روش

در این مطالعه تجربی تصادفی‌شده شاهددار، ۲۴ سر موش صحرایی نر بالغ چهارماهه نژاد ویستار با وزن ۲۲۰-۲۰۰ گرم از مرکز پرورش و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشکده‌ی دامپزشکی دانشگاه ارومیه خریداری و به چهار گروه (n=۶) تقسیم شدند. موش‌های صحرایی در داخل قفس‌های پلاستیکی و در دمای 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. موش‌ها دسترسی آزاد به آب و غذا در شرایط استاندارد داشتند.

گروه‌ها به ترتیب عبارت‌اند از گروه شاهد، دوکسوروبیسین، دوکسوروبیسین + لاکتوفرین و گروه لاکتوفرین. گروه شاهد: حیوانات این گروه به‌عنوان شاهد در نظر گرفته‌شده و ۰/۲ میلی‌لیتر به ازای هر موش به‌صورت داخل‌صفاقی سرم فیزیولوژی در روزهای ۱، ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ و چهار ساعت پس از تجویز، مجدداً ۲ میلی‌لیتر به ازای هر موش به‌صورت خوراکی سرم فیزیولوژی تجویز شد. گروه دوکسوروبیسین: به حیوانات این گروه ۴ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به‌صورت داخل‌صفاقی داروی دوکسوروبیسین (Ebedoxo, EBWE Pharma, Austria) در روزهای ۱، ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ تجویز شد. گروه دوکسوروبیسین + لاکتوفرین: حیوانات این گروه ۴ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به‌صورت داخل‌صفاقی داروی دوکسوروبیسین در روزهای ۱، ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ و ۰/۲ میلی‌گرم به ازای هر موش به‌صورت خوراکی لاکتوفرین (SIGMA-ALDRICH, USA) چهار ساعت پس از تجویز داروی دوکسوروبیسین دریافت کردند. گروه لاکتوفرین: حیوانات این گروه ۰/۲ میلی‌گرم به ازای هر موش به‌صورت خوراکی لاکتوفرین در روزهای ۱، ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ تجویز شد.

مدت‌زمان این مطالعه نیز ۴ هفته در نظر گرفته شد. ۲۴ ساعت پس از آخرین تیمار، متعاقب بیهوشی با کتامین، به‌وسیله‌ی گاز CO2 حیوانات آسان کشی شدند و بر روی صفحه‌ی مخصوص به‌صورت طاقباز جهت تشریح ثابت شدند. سپس بیضه‌های حیوان از داخل کیسه‌ی اسکروتوم خارج‌شده و بلافاصله در داخل فرمالین ۱۰٪ قرار گرفت. به منظور پاساز بافتی نمونه‌ها در داخل ظرف ویژه اتوتکنیکون

همچنین بین میانگین قطر لوله‌های اسپرم‌ساز گروه لاکتوفرین و گروه دوکسوروبیسین و گروه دوکسوروبیسین + لاکتوفرین تفاوت معنی‌داری از نظر آماری وجود دارد ($p \leq 0/05$). همچنین، میانگین قطر لوله‌های اسپرم‌ساز بین گروه دوکسوروبیسین و گروه دوکسوروبیسین + لاکتوفرین واجد تفاوت معنی‌داری از نظر آماری است ($p \leq 0/05$).

تفاوت میانگین ضخامت اپی تلیوم لوله‌های اسپرم‌ساز در بین گروه‌های دوکسوروبیسین و دوکسوروبیسین + لاکتوفرین از نظر آماری دارای تفاوت معنی‌داری می‌باشد (جدول ۱؛ شکل ۱).

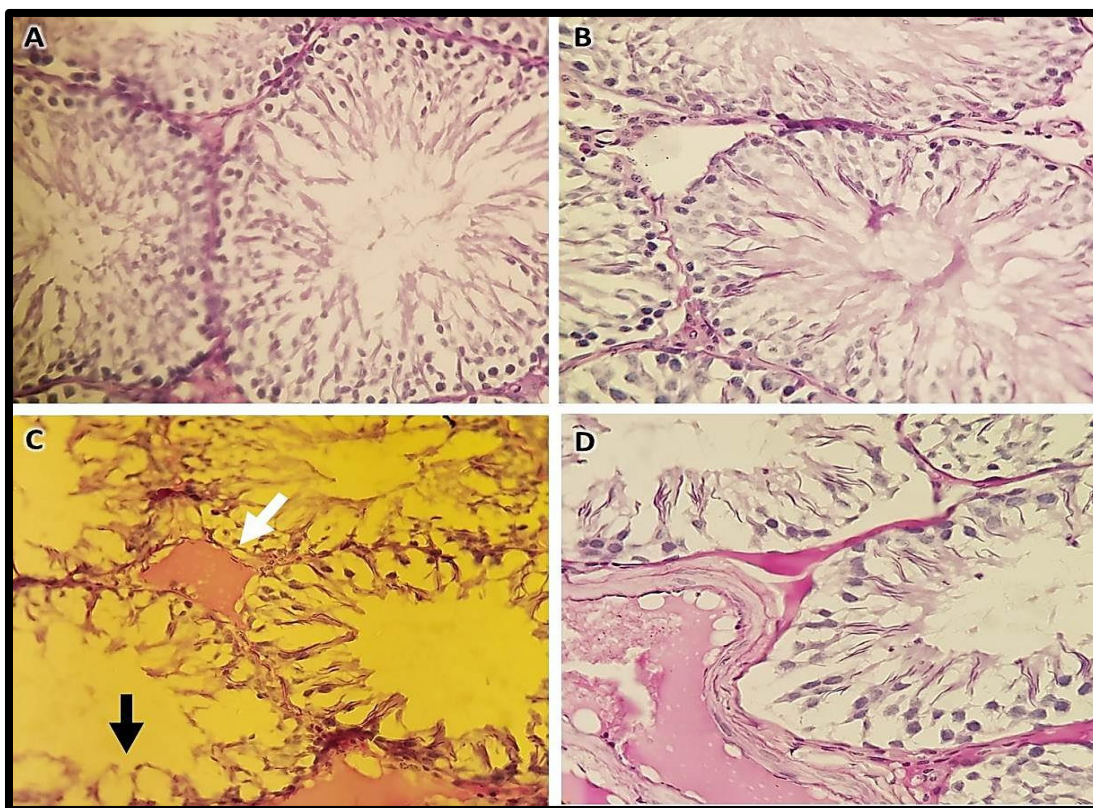
همچنین میانگین قطر لوله‌های اسپرم‌ساز گروه لاکتوفرین و گروه دوکسوروبیسین و گروه دوکسوروبیسین + لاکتوفرین تفاوت معنی‌داری از نظر آماری وجود دارد ($p \leq 0/05$). همچنین، میانگین قطر لوله‌های اسپرم‌ساز بین گروه دوکسوروبیسین و گروه دوکسوروبیسین + لاکتوفرین واجد تفاوت معنی‌داری از نظر آماری است ($p \leq 0/05$).

تفاوت میانگین ضخامت اپی تلیوم لوله‌های اسپرم‌ساز در بین گروه‌های شاهد و لاکتوفرین از نظر آماری معنی‌داری نبود.

جدول (۱): میانگین قطر لوله‌های اسپرم‌ساز و ضخامت اپی تلیوم را در بین چهار گروه به صورت $Mean \pm SD$ نشان داده شده است.

گروه‌ها	قطر لوله‌های اسپرم‌ساز بر حسب (μm)	ضخامت اپی تلیوم بر حسب (μm)
گروه شاهد	$200/82 \pm 0/28a$	$58/80 \pm 0/57a$
گروه لاکتوفرین	$200/32 \pm 0/57a$	$59/14 \pm 1/00a$
گروه دوکسوروبیسین	$114/28 \pm 1/73c$	$31/07 \pm 3/47c$
گروه دوکسوروبیسین + لاکتوفرین	$178/10 \pm 0/57b$	$49/45 \pm 0/57b$

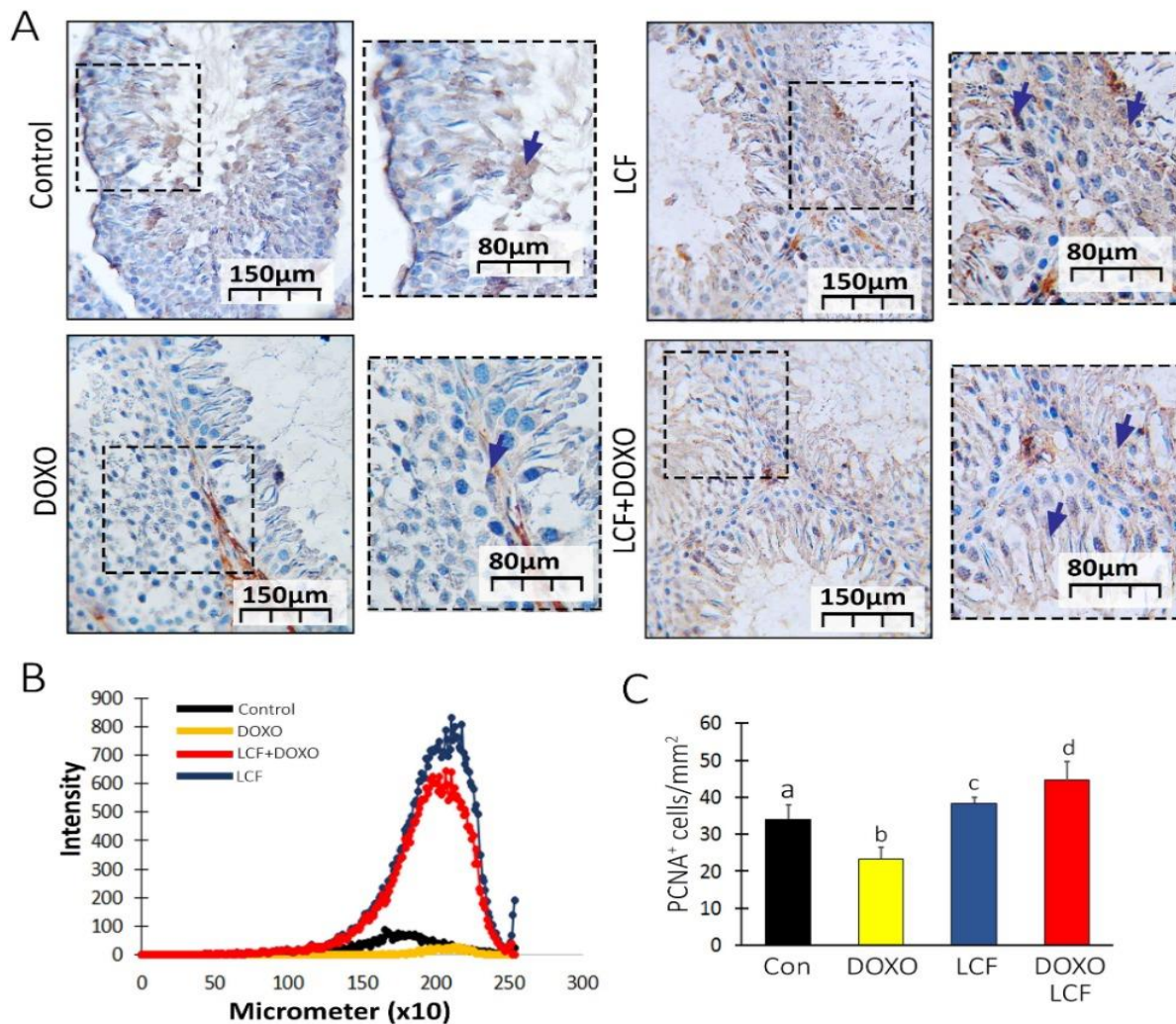
حروف غیر مشابه نشان دهنده معنی دار بودن در سطح $P \leq 0/05$ می‌باشند.



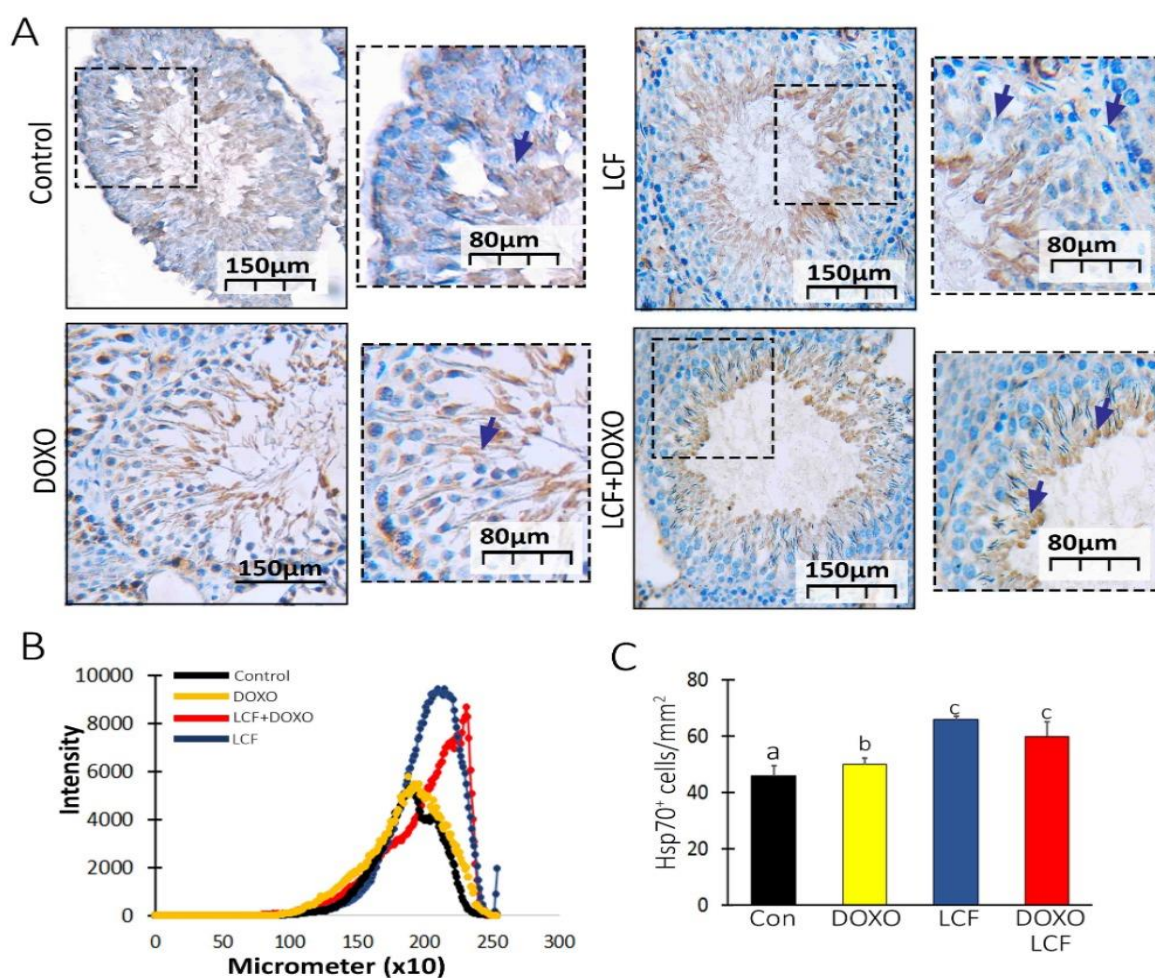
شکل (۱): لوله‌های اسپرم‌ساز در گروه شاهد (A) و گروهی که تنها لاکتوفرین را دریافت کرده بودند (B)، واجد ساختار بافتی طبیعی می‌باشند و اسپرماتوزنز فعالی را نشان می‌دهند. تجویز دوکسوروبیسین (C) آتروفی لوله‌های اسپرم‌ساز و توقف بلوغ سلول‌های زایا به همراه واکوتل‌دار شدن اپی تلیوم زایا (پیکان تیره)، افزایش فضای بین‌لوله‌ای و تجمع مایعات ناشی از آدم را در بافت بیضه (پیکان روشن) موجب شده است. تغییرات دژنراتیو در گروهی که داروی دوکسوروبیسین را به همراه لاکتوفرین دریافت کرده بودند (D، دارای شدت کمتری می‌باشند و عمدتاً به صورت از هم گسیختگی اپی تلیوم زایا جلب توجه می‌نماید، رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-انوزین درشت‌نمایی $400 \times$).

حرارتی در تمام گروه‌ها افزایش یافته است و میزان این افزایش در گروه‌های لاکتوفرین و دوکسوروبیسین + لاکتوفرین در مقایسه با گروه شاهد از نظر آماری معنی دار است. (اشکال ۲ و ۳).

رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی نشان دهنده کاهش معنی دار مقدار PCNA در گروه دوکسوروبیسین در مقایسه با گروه لاکتوفرین، گروه دوکسوروبیسین + لاکتوفرین و گروه شاهد است. همچنین، رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی نشان داد که میزان پروتئین شوک



شکل (۲): رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی PCNA؛ واکنش مثبت در برابر آنتی‌بادی اولیه با پیکان در گروه‌های مختلف نمایش داده شده است، (B) بررسی نرم‌افزاری شدت رنگ‌پذیری برای رنگ قهوه‌ای (نشان دهنده واکنش مثبت در برابر PCNA) در گروه‌های مختلف، تمامی داده‌ها بر اساس Mean±SD نمایش داده شده‌اند. (C) تعداد سلول‌های PCNA+ در یک میلی‌متر مربع بافت بیضه در گروه‌های مختلف، تمامی داده‌ها بر اساس Mean±SD بیان گردیده‌اند.



شکل (۳): رنگ‌آمیزی ایمنوهیستوشیمی پروتئین شوک حرارتی ۷۰ (HSP70)؛ واکنش مثبت در برابر آنتی‌بادی اولیه با پیکان در گروه‌های مختلف نمایش داده شده است، (B) بررسی نرم‌افزاری شدت رنگ‌پذیری برای رنگ قهوه‌ای (نشان دهنده واکنش مثبت در برابر HSP70) در گروه‌های مختلف، تمامی داده‌ها بر اساس $Mean \pm SD$ نمایش داده شده‌اند. (C) تعداد سلول‌های HSP70+ در یک میلی‌متر مربع بافت بیضه در گروه‌های مختلف، تمامی داده‌ها بر اساس $Mean \pm SD$ بیان گردیده‌اند.

سوء داروهای ضد سرطان و در عین حال حفظ کارایی‌های درمانی این داروها امری ضروری به نظر می‌رسد. کاربردهای درمانی داروی دوکسوروبیسین به شدت تحت تأثیر سمیت بالقوه این ترکیب برای اندام‌های مختلف از جمله بیضه قرار گرفته است (۴۹ - ۴۸). مطالعات صورت گرفته سیتوتوکسیسیته ناشی از دوکسوروبیسین در بافت بیضه را عمدتاً به بروز تنش‌های اکسیداتیو، شکست DNA و القاء آپوپتوز نسبت می‌دهند (۵۰). در مطالعه حاضر نیز تغییرات بافت‌شناسی بیضه متعاقب تجویز داروی دوکسوروبیسین، بر سمیت تولید مثلی این دارو دلالت دارند. مطالعات صورت گرفته در گذشته نشان داده‌اند که شیمی‌درمانی به واسطه از بین بردن سلول‌های زایای بیضه موجب

بحث

بسیاری از داروهایی که به منظور شیمی‌درمانی سرطان‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند، در دستگاه‌های متعدد بدن اثرات جانبی سمی بر جای می‌گذارند که دستگاه تولید مثلی نر یکی از آنهاست. گزارشات متعددی نشان داده‌اند که اختلال در عملکرد بیضه، یکی از معمول‌ترین عوارض جانبی شیمی‌درمانی طولانی مدت بسیاری از بدخیمی‌ها محسوب می‌گردد (۴۶). بررسی‌های بالینی همچنین نشان داده‌اند که آسیب سلول‌های زایای بیضه در بیمارانی که برای دوره محدودی نیز در معرض داروهای شیمی‌درمانی قرار می‌گیرند، می‌تواند به نازایی و یا تغییرات ژنتیکی طولانی مدت منجر گردد (۴۷). از این روی، دست یابی به راهکارهایی جهت کاهش عوارض

درمانی بهره می‌برند، مطرح نموده‌اند (۵۷-۵۹) که مطالعه تجربی حاضر نیز این امر را مورد تأیید قرار می‌دهد. چنین به نظر می‌رسد که لاکتوفیرین به واسطه تقویت فعالیت دستگاه دفاع آنتی‌اکسیدانت و کاهش آسیب‌های اکسیداتیو، قادر به بهبود نسبی اختلالات تولیدمثلی ناشی از دوکسوروبیسین در موش‌های صحرایی نر می‌باشد. در این راستا، مطالعات اخیر نیز آشکار ساخته است که لاکتوفیرین به سبب ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانت و ضدالتهابی قابل‌توجه موجبات کاهش تنش اکسیداتیو و سمیت سلولی ناشی از پراکسید هیدروژن در سلول‌های اندوتلیال ورید نافی انسان را فراهم می‌آورد (۶۰) و در برابر آسیب کلیوی حاد ناشی از کروم در موش‌های صحرایی دارای اثرات محافظتی می‌باشد (۶۱). یافته‌های بررسی حاضر نیز هم‌راستا با گزارشات پیشین در این زمینه نشان دادند که لاکتوفیرین ممکن است به سبب قابلیت مهار تنش‌های بیوشیمیایی در برابر سمیت‌های تولیدمثلی ناشی از دوکسوروبیسین در موش صحرایی واجد آثار محافظتی باشد (۶۲). همچنانکه بررسی‌های اخیر نشان می‌دهند که شیر شتر به سبب دارا بودن مقادیر بالای لاکتوفیرین به‌عنوان ترکیبی ضدالتهاب و آنتی‌اکسیدانت واجد اثر محافظتی قابل توجهی در برابر اختلالات عملکردی بیضه در موش صحرایی می‌باشد (۶۳).

با این وجود، آشکار شدن دقیق کارایی درمانی لاکتوفیرین جهت ارتقاء مطلوب روند شیمی‌درمانی‌های وابسته به دوکسوروبیسین مستلزم پی‌ریزی مطالعات تجربی وسیع‌تر به منظور ارزیابی شاخص‌های تنش‌های اکسیداتیو، عملکرد دستگاه دفاع آنتی-اکسیدانت بافتی، روند آپوپتوز در بافت‌های غیرهدف و شاخص‌های التهابی و نیز کارآزمایی‌های بالینی می‌باشد.

تقدیر و تشکر

این پژوهش حاصل پایان نامه دکتری عمومی پزشکی در دانشگاه علوم پزشکی ارومیه با شناسه اخلاق IR.UMSU.REC.1397.165 می‌باشد. پژوهشگران همچنین لازم می‌دانند از معاونت محترم تحقیقات دانشگاه بابت تأمین هزینه‌های مورد نیاز برای انجام این طرح، کمال تشکر و قدردانی را نمایند.

آزوسپرمی طولانی مدت یا دائمی می‌گردد (۵۱)، که این کاهش شدید سلول‌های زایا ناشی از داروهای ضد سرطان، کاهش محسوس را نیز در پارامترهای استریولوژیکی نظیر قطر لوله‌های منی ساز و ارتفاع اپی‌تلیوم لوله‌های منی ساز در پی خواهد داشت که نمایانگر میزان آسیب وارده به بافت بیضه در نتیجه از بین رفتن سلول‌های زایا می‌باشد (۵۲) که یافته‌های هیستولوژیک و مورفومتریک به دست آمده در مطالعه حاضر نیز این امر را تأیید می‌کنند.

از سوی دیگر، گزارشات پیشین نشان داده‌اند که کاهش PCNA در سلول‌های زایای بیضه از کاهش فعالیت تزایدی و اسپرماتوزن حکایت دارد (۵۳) که یافته‌های ایمونوهیستوشیمی مطالعه حاضر نیز نقش دوکسوروبیسین را در کاهش PCNA و اختلال در روند اسپرماتوزن تأکید می‌کند. در همین راستا، گزارش شده است که تجویز اتانول (۵۴) و نیکوتین (۵۳) نیز به واسطه کاهش تزايد سلولی در بافت بیضه موش صحرایی موجبات مهار اسپرماتوزن را فراهم می‌آورند. از طرفی در این مطالعه لاکتوفیرین باعث افزایش مقادیر PCNA می‌شود و اثرات کاهنده‌ی دوکسوروبیسین در مقدار PCNA را خنثی می‌کند، همچنانکه ملاتونین با افزایش مقدار PCNA باعث کاهش سمیت دوکسوروبیسین و افزایش تکثیر سلولی در فیبروبلاست‌ها شد (۳۵).

HSP70 می‌تواند باعث افزایش پتانسیل آنتی‌اکسیدانتی سلول‌ها شود و از آنجایی که دوکسوروبیسین از طریق تنش اکسیداتیو و افزایش گونه‌های فعال اکسیژن باعث صدمه به DNA سلول می‌شود (۳۱ و ۵۵)، از طرفی سنتز پروتئین شوک حرارتی ۷۰ که به‌عنوان بخشی از دستگاه هومئوستاز بافت بیضه در بازسازی DNA و تنظیم روند آپوپتوز نقش بسیار مهمی را ایفا می‌کند، در اختلالات اسپرماتوزنیک مختل می‌گردد (۵۶) بنابراین در این مطالعه می‌توان نتیجه گرفت که لاکتوفیرین باعث کاهش سمیت دوکسوروبیسین از طریق افزایش HSP70 و تقویت دستگاه هومئوستاز بافت بیضه در راستای کاهش اختلالات اسپرماتوزنیک می‌شود.

پژوهش‌های صورت گرفته پیشین لاکتوفیرین را به‌عنوان ترکیبی ضدالتهاب و آنتی‌اکسیدانت گزینه مناسبی جهت کاهش عوارض سوء شیمی‌درمانی و نیز حفظ توان باروری در بیمارانی که از این شیوه

References:

- Patil L, Balaraman R. Effect of Melatonin on Doxorubicin Induced Testicular Damage in Rats. *Int J PharmTech Res* 2009; 1(3): 879-84.
- Lefrak EA, Pitha J, Rosenheim S, Gottlieb T. A clinicopathologic analysis of adriamycin cardiotoxicity. *Cancer* 1973; 32: 302-14.
- Al-Shabanah O, Mansour M, Al-Kashef H, Al-Bekairi A. Captopril ameliorates myocardial and

- hematological toxicities induced by Adriamycin. *Biochem Mol Biol Int* 1998; 45(2): 419-27.
4. El-Sayyad HI, Ismail MF, Shalaby FM, Abou-El-Magd RF, Gaur RL, Fernando A, et al. Histopathological effects of cisplatin, doxorubicin and 5-fluorouracil (5-FU) on the liver of male albino rats. *Int J Biol Sci* 2009; 5(5): 466-73.
 5. Adachi T, Nishimura T, Imahre H, Yamamura T. Collaborative work to evaluate toxicity on male reproductive organs by repeated dose studies in rats. *J Toxicol Sci Zoo* 2000; 25(SpecialIssue):1-21.
 6. Tsuneuiri I, Kawachi M, Matsumaru T, Katsuki S. Collaborative work to evaluate toxicity on male reproductive organs by repeated dose studies in rats. *J Toxicol Sci* 2000; 25:103-15.
 7. Goodman J, Hochstein P. Generation of free radicals and lipid peroxidation by redox cycling of adriamycin and daunomycin. *Biochem Biophys Res Commun* 1977; 77: 797- 803.
 8. Chularojmontri L, Wattanapitayakul SK, Herunsalee A, Charuchongkolwongse S, Niumsakul N, Srichairat S. Antioxidative and cardioprotective effects of *Phyllanthus urinaria* L. on doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Biol Pharm Bull* 2005; 28 (7): 1165-71.
 9. Prahalathan C, Selvekumar E, Varalakshmi P. Lipoic acid ameliorates adriamycin- induced testicular mitochondriopathy. *Reprod Toxicol* 2005; 20: 111-16.
 10. Vernet, P, Aitken RJ, Drevet JR. Antioxidant strategies in the epididymis. *Mol Cell Endocrinol* 2004; 216: 31-9.
 11. Lonnerdal B, Lyer S. Lactoferrin: molecular structure and biological function. *Annu Rev Nutr* 1995; 15: 93-110.
 12. Kanyshkova TG, Buneva VN, Nevinsky GA. Lactoferrin and its biological functions. *Biochemistryw (Mosc)* 2001; 66: 1-7.
 13. Wright DG, Gallin JI. Secretory responses of human neutrophils: exocytosis of specific (secondary) granules by human neutrophils during adherence in vitro and during exudation in vivo. *J Immunol* 1979; 123: 285-94.
 14. Wichmann L, Vaalasti T, Tuohimaa P. Localization of lactoferrin in the male reproductive tract. *Int J Androl* 1989; 12: 179-86.
 15. Vorland LH. Lactoferrin a multifunctional glycoprotein. *Apmis* 1999; 107: 971-81.
 16. Baker EN, Baker HM, Kidd RD. Lactoferrin and transferring: functional variation on a common structural framework. *Biochem Cell Biol* 2002; 80: 27-34.
 17. Fujita K, Matsuda E, Sekine K, Iigo M, Tsuda H. Lactoferrin enhances Fas expression and apoptosis in the colon mucosa of azoxymethane treated rats. *Carcinogenesis* 2004; 25: 1961-6.
 18. Varadhachary A, Wolf JS, Petrak K, O, Malley BW Jr, Spadaro M, Curcio C, et al. Oral Lactoferrin inhibits growth of established tumors and potentiates conventional chemotherapy. *Int J Cancer* 2004; 111: 389-403.
 19. Bezault J, Bhimani R, Wiprovnick J, Furmanski P. Human lactoferrin inhibits growth of solid tumors and development of experimental metastases in mice. *Cancer Res* 1994; 54:2310-12.
 20. Rizak SM, Zaki HF, Mina MA. Propolis attenuates doxorubicin-induced testicular toxicity in rats. *Food and Chemical Toxicol* 2014; 67: 176-186.
 21. El-sheikh AA, Morsy MA, Mahmoud MM. Protective mechanisms of coenzyme-Q10 may involve up-regulation of testicular p-glycoprotein in doxorubicin-induced toxicity. *Environ Toxicol Pharmacol* 2014; 37: 772-81.
 22. Turedi S, Yulug E, Alver A, Kutlu Ö, Kahraman C. Effects of resveratrol on doxorubicin induced testicular damage in rats. *Exp Toxicol Pathol* 2015; 67: 229-35.
 23. Olusoji MJ, Oyeyemi OM, Asenuga, Omobowale TO, Ajayi OL, Oyagbemi AA. Protective effect of

- galic acid on doxorubicin- induced testicular and epididymal toxicity. *Andrologia* 2017; 49: e12635.
24. Vijay Kranti M, Mahesh V, Srinivas P, Ganesh YV, Godwin AP, Lahkar M. Evaluation of the protective effect of silymarin on doxorubicin induced chronic testicular toxicity in rats. *Int J Pharm Bio Sci* 2013;4(1):437-84.
 25. Ward PP, Paz E, Conneely OM. Multifunctional roles of lactoferrin: a critical overview. *Cell Mol Life Sci* 2005; 62: 2540-8.
 26. Malekinejad H, Janbaz H, Razi M, Varasteh S. Preventive and protective effects of silymarin on doxorubicin-induced testicular damages correlate with changes in c-myc gene expression. *Phytomedicine* 2012; 19:1077-84.
 27. Shalizar Jalali A, Najafi GH, Nafisi S. Protective effects of *Citrullus colocynthis* pulp hydroalcoholic extract against doxorubicin-induced alterations on fertilizing capacity of mouse epididymal sperms. *Sci J Kurdistan Univ Med Sci* 2016; 21(2): 94-102.
 28. Shaerbafi R, Moradian F, Rafiye AR, Barzegar A. Isolation and Purification of Bovine Lactoferrin. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2011; 21(84):44-51.
 29. He Y, Lue M, Yi M, Sheng Y, Cheng Y, Zhou R, et al. Identification of a testis – enriched hest shock protein and fourteen members of Hsp70 family in the Swamp Eel. *PLOS ONE* 2013; 8(6): 1-10.
 30. Neuer A, Spandorfer SD, Giraldo P, Dieterle S, Rosenwaks Z, Witkin SS. The role of heat shock proteins in reproduction. *Human Reproduction Update* 2000; 6(2): 149-59.
 31. Naka KK, Vezyraki P, Kalaitzakis A, Zerikiotis S, Michalis L, Angelidis Ch. Hsp70 regulates the doxorubicin-mediated heart failure in Hsp70-transgenic mice. *Cell Stress Chaperones* 2014; 19: 853-64.
 32. Tousson E, Ali EM, Ibrahim W, Mansour MA. Proliferating cell nuclear antigen as a molecular biomarker for spermatogenesis in PTU-induced hypothyroidism of rats. *Reproductive Sciences* 2011; 18(7): 679-86.
 33. Zheng L, Gou M, Zhou S, Yi T, Zhong Q, Li Z, et al. Antitumor activity of monomethoxy poly(ethylene glycol)-poly(ϵ -caprolactone) micelle-encapsulated doxorubicin against mouse melanoma. *Oncol Rep* 2011; 25: 1557-64.
 34. Czczuga-Semieniuk E, Wotczynski S, Dabrowska M, Dzieciot J, Anchim T. The effect of doxorubicin and retinoids on proliferation, necrosis and apoptosis in MCF-7 breast cancer cells. *Folia Histochem Cytobiol* 2004; 42(4): 221-7.
 35. Guven C, Taskin E, Akcakaya H. Melatonin Prevents Mitochondrial Damage Induced by Doxorubicin in Mouse Fibroblasts Through Ampk-Ppar Gamma-Dependent Mechanisms. *Med Sci Monit* 2016; 22: 438-46.
 36. Shalizar Jalali A, Hasanzadeh S. *Crataegus monogyna* fruit aqueous extract as a protective agent against doxorubicin-induced reproductive toxicity in male rats. *Avicenna Journal of Phytomedicine* 2013; 3(2): 159-70.
 37. Saghaei P, Hasanzadeh S, Malekinejad H, Shalizar Jalali A. Study of the effects of lactoferrin in reduction of cyclophosphamide-induced embryotoxicity: in vitro fertilization study in mouse. *J Ilam Univ Med Sci* 2018; 25(5): 100-7.
 38. Arias M, Hilchie AL, Haney EF, Bolscher JGM, Hyndman ME, Hancock REW, et al. Anticancer activities of bovine and human lactoferricin-derived peptides. *Biochem Cell Biol* 2017; 95(1): 91–8.
 39. Legrand D. Overview of lactoferrin as a natural immune modulator. *J Pediatr* 2016; 173: S10–15.
 40. Bagwe S, Tharappel LJP, Kaur G, Buttar HS. Bovine colostrum: an emerging nutraceutical. *J Complement Integr Med* 2015; 12(3): 175-85.
 41. Sharma D, Shastri S, Sharma P. Role of lactoferrin in neonatal care: a systematic review. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2017; (30): 1920–32.

42. Benson KF, Carter SG, Patterson KM, Patel D, Jensen GS. A novel extract from bovine colostrum whey supports anti-bacterial and anti-viral innate immune functions in vitro and in vivo. *Prev Med* 2012; (54): S116–23.
43. Puddu P, Valenti P, Gessani S. Immunomodulatory effects of lactoferrin on antigen presenting cells. *Biochimie* 2009; (91): 11–8.
44. Siqueiros-Cendón T, Arévalo-Gallegos S, Iglesias-Figueroa BF, GarcíaMontoya IA, Salazar-Martínez J, Rascón-Cruz Q. Immunomodulatory effects of lactoferrin. *Acta Pharmacol* 2014; (35): 557–66.
45. Spadaro M, Caorsi C, Ceruti P, Varadhachary A, Forni G, Pericle F, et al. a major defense protein of innate immunity is a novel maturation factor for human dendritic cells. *FASEB J* 2008; (22): 2747–57.
46. Howell S, Shalet S. Testosterone deficiency and replacement. *Horm Res* 2001; 56 (Suppl 1):86-92.
47. Mizuno T, Sawada M, Marunouchi T, Suzumura A. Production of interleukin-10 by mouse glial cells in culture. *Biochem Biophys Res Commun* 1994; 205(3):1907-15.
48. Imahie H, Adachi T, Nakagawa Y, Nagasaki T, Yamamura T, Hori M. Effects of adriamycin, an anticancer drug showing testicular toxicity, on fertility in male rats. *J Toxicol Sci* 1995; 20(3):183-93.
49. Sugahara T, Ohama Y, Fukuda A, Hayashi M, Kawakubo A, Kato K. The cytotoxic effect of Eucheuma serra agglutinin (ESA) on cancer cells and its application to molecular probe for drug delivery system using lipid vesicles. *Cytotechnology* 2001; 36(1-3): 93-9.
50. Ateşşahin A, Karahan I, Türk G, Gür S, Yılmaz S, Ceribaşı AO. Protective role of lycopene on cisplatin-induced changes in sperm characteristics, testicular damage and oxidative stress in rats. *Reprod Toxicol* 2006; 21(1):42-7.
51. Meistrich ML. Critical components of testicular function and sensitivity to disruption. *Biol Reprod* 1986; 34(1):17-28.
52. França LR, Ogawa T, Avarbock MR, Brinster RL, Russell LD. Germ cell genotype controls cell cycle during spermatogenesis in the rat. *Biol Reprod* 1998;59(6):1371-7.
53. Azad F, Nejati V, Shalizar-Jalali A, Najafi G, Rahmani F. Antioxidant and anti-apoptotic effects of royal jelly against nicotine-induced testicular injury in mice. *Environ Toxicol* 2019; 34(6):708-18.
54. Koh PO, Kim MO. Ethanol exposure decreases cell proliferation and increases apoptosis in rat testes. *J Vet Med Sci* 2006; 68(10): 1013-7.
55. Selim ME, Rashed EA, Aleisa NA, Daghestani MH. The protection role of heat shock protein 70 (HSP-70) in the testes of cadmium-exposed rats. *Bioformation* 2012; 8(1): 58-64.
56. Purandhar K, Jena PK, Prajapati B, Rajput P, Seshadri S. Understanding the Role of Heat Shock Protein Isoforms in Male Fertility, Aging and Apoptosis. *World J Mens Health* 2014; 32(3): 123–32.
57. Baveye S, Ellass E, Mazurier J, Spik G, Legrand D. Lactoferrin: a multifunctional glycoprotein involved in the modulation of the inflammatory process. *Clin Chem Lab Med* 1999; 37:281-6.
58. Mulder AM, Connellan PA, Oliver CJ, Morris CA, Stevenson LM. Bovine lactoferrin supplementation supports immune and antioxidant status in healthy human males. *Nutr Res* 2008; 28: 583-9.
59. Horiuchi Y, Higuchi T, Tatsumi K, Takakura K, Fujii S, Konishi I. Lactoferrin is associated with a decrease in oocyte depletion in mice receiving cyclophosphamide. *Fertil Steril* 2009; 91: 2069-78.
60. Safaeian L, Javanmard SH, Mollanoori Y, Dana N. Cytoprotective and antioxidant effects of human lactoferrin against H₂O₂-induced oxidative stress in human umbilical vein endothelial cells. *Adv Biomed Res* 2015; 4: 188.

61. Hegazy R, Salama A, Mansour D, Hassan A. Renoprotective effect of lactoferrin against chromium-induced acute kidney injury in rats: involvement of IL-18 and IGF-1 inhibition. *PLoS One* 2016; 11: e0151486.
62. Shoji H, Oguchi S, Shinohara K, Shimizu T, Yamashiro Y. Effects of iron-unsaturated human lactoferrin on hydrogen peroxide-induced oxidative damage in intestinal epithelial cells. *Pediatr Res* 2007; 61: 89-92.
63. El-Sawy HBI, Soliman MM, El-Shazly SA, Ali HA. Protective effects of camel milk and vitamin E against monosodium glutamate induced biochemical and testicular dysfunctions. *Progress in Nutrition* 2018; 20(1): 76-85.

PROTECTIVE EFFECTS OF LACTOFERRIN AGAINST DOXORUBICIN TOXICITY ON MAIN GONAD OF RAT

Tahmine Peyrouvi¹, Ali Shalizar-Jalali², Seyyed Salar Mir Yaghoobipoor³, Khadije Meghrazi⁴

Received: 02 April, 2020; Accepted: 05 July, 2020

Abstract:

Background & Aims: Doxorubicin has been widely used to treat solid tumors and blood malignancies, but its toxicity has limited its application. The aim of the present study was to investigate the protective effects of lactoferrin against doxorubicin toxicity on the main gonad of rats.

Materials & Methods: 24 Adult male Wistar rats were divided into four groups. Control group received physiological saline intraperitoneally and then orally, the second group received doxorubicin intraperitoneally, the third group received intraperitoneal doxorubicin, oral lactoferrin four hours after drug administration, and the fourth group received oral lactoferrin. The administration was performed weekly. After dissection, the testes of the animal were studied after tissue passage and staining.

Results: There was a statistically significant difference in mean diameter of seminiferous tubules between the control and doxorubicin groups and between the control and doxorubicin + lactoferrin groups ($p \leq 0.05$). There was also a statistically significant difference in mean diameter of seminiferous tubules between lactoferrin group and doxorubicin and doxorubicin + lactoferrin groups ($p \leq 0.05$). The mean difference between doxorubicin and doxorubicin + lactoferrin groups was also statistically significant ($p \leq 0.05$). There was a significant difference between the mean thickness of germinal epithelium between the control and doxorubicin groups and between the control and doxorubicin + lactoferrin groups ($p \leq 0.05$). There was also a statistically significant difference between lactoferrin group and doxorubicin and doxorubicin + lactoferrin groups ($p \leq 0.05$). Moreover, lactoferrin co-treatment led to a considerable increase of PCNA- and HSP70-positive cells compared to the doxorubicin-only group ($p \leq 0.05$).

Conclusion: Lactoferrin can be used to reduce the side effects of doxorubicin on reproductive organs such as the testis.

Keywords: Lactoferrin, doxorubicin, main gonad, rat

Address: Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran
Tel: +989111166004

Email: ali_shalizar@yahoo.com; a.shalizar@urmia.ac.ir

SOURCE: STUD MED SCI 2020: 31(5): 346 ISSN: 2717-008X

¹ Maternal and Childhood Obesity Research Center, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran

² Department of Basic Sciences, School of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran (Corresponding Author)

³ Department of Histology, School of Medicine, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran

⁴ Department of Histology, School of Medicine, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran