

بررسی تاثیر عصاره‌ی متانولی سویا بر آپوپتوز سلول‌های قلب در موش‌های صحرایی اواریکتومی شده

دکتر محمدرضا نصیرزاده^۱

نویسنده‌ی مسوول: تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، دانشکده‌ی دامپزشکی، گروه فیزیولوژی mr.nasirzadeh@yahoo.com

دریافت: ۹۳/۹/۱۵ پذیرش: ۹۴/۲/۱۶

چکیده

زمینه و هدف: با حذف هورمون استروژن در زنان یائسه اثرات محافظتی آن بر روی بافت قلب کاهش می‌یابد. داده‌های اپیدمیولوژیک نشان می‌دهد می‌توان فیتواستروژن‌ها را در بیماری‌های مرتبط با استروژن جهت کاهش علائم و درمان آن‌ها استفاده نمود. لذا هدف این مطالعه بررسی اثرات عصاره‌ی سویا بر میزان آپوپتوز سلول‌های قلب در موش‌های صحرایی اواریکتومی شده می‌باشد.

روش بررسی: در این مطالعه تعداد ۴۰ سر رت ماده در ۴ گروه ۱۰ تایی به‌صورت: (۱) گروه شش (جراحی شکم بدون برداشت تخمدان)، (۲) گروه کنترل-گاواژ (حیوانات سالم دست نخورده، همراه با دریافت عصاره سویا)، (۳) گروه اواریکتومی شده و (۴) گروه درمان (اواریکتومی همراه با دریافت عصاره‌ی سویا) به‌طور تصادفی انتخاب شدند. حیوانات گروه‌های ۲ و ۴ عصاره‌ی سویا را به‌میزان ۶۰ میلی‌گرم در کیلوگرم از طریق آب آشامیدنی و به‌مدت ۲۸ روز (۴ هفته) دریافت کردند. در پایان دوره درمان جهت تشخیص سلول‌های قلبی آپوپتوتیک از کیت تانل (TUNEL) استفاده گردید. داده‌ها با استفاده از آزمون واریانس یکطرفه مقایسه شدند.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که در گروه اواریکتومی شده تعداد کاردیومیوسیت‌های آپوپتوتیک نسبت به گروه‌های دیگر مورد مطالعه به‌طور معنی‌داری افزایش یافته است ($P < 0.05$). همچنین مشخص گردید تعداد کاردیومیوسیت‌های آپوپتوتیک در گروه درمان نسبت به گروه اواریکتومی شده به‌طور معنی‌داری کاهش دارد ($P < 0.05$).

نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان داد که تجویز خوراکی عصاره‌ی سویا در موش‌های صحرایی اواریکتومی شده می‌تواند میزان آپوپتوز در بافت قلب را کاهش دهد.

واژگان کلیدی: عصاره‌ی متانولی سویا، اواریکتومی، آپوپتوز، سلول‌های قلب

مقدمه

ایزوفلاون‌ها به‌ویژه جنیستئین (Genistein) و دایدزئین (Daidzein) می‌باشند (۱). با حذف استروژن در دوران یائسگی اثرات محافظتی استروژن بر روی سیستم قلبی-عروقی کاهش می‌یابد به‌طوری‌که در زنان در مقایسه‌ی با

دانه‌ی سویا و مکمل‌های آن یک منبع غنی از فیتواستروژن‌ها می‌باشد. فیتواستروژن‌ها در ۲ گروه اصلی قرار دارند. فلاونوئیدها و غیر فلاونوئیدها، که فیتواستروژن‌های مصرفی در غذای انسانی در گروه فلاونوئیدها هستند و شامل

مردان، سکنه در سنین پیری رخ می‌دهد زیرا در دوران قبل از یائسگی غلظت‌های بالای استروژن اثرات محافظتی دارد (۲). سالیانه تعداد زیادی از زنان، قبل از رسیدن به یائسگی طبیعی، تحت عمل جراحی اواریکتومی دوطرفه قرار می‌گیرند و در نتیجه دچار یائسگی زود رس می‌گردند. تومورها، بیماری‌های خوش‌خیم تخمدان‌ها، و یا پیشگیری از بدخیمی‌ها مهم‌ترین علل این نوع جراحی است (۱).

زنانی که به این ترتیب تخمدان‌های خود را قبل از رسیدن به سن طبیعی یائسگی از دست می‌دهند، در معرض خطرهای دیگری همچون مرگ، بیماری‌های قلب و عروق، سکنه، سرطان ریه، اختلال شناختی یا دمانس، پارکینسون، پوکی استخوان و اختلالات جنسی قرار می‌گیرند. این خطرهای زن‌های جوان تر بیشتر است (۱). تعادل هورمونی یک فاکتور حیاتی برای فعالیت مناسب اندام‌های بدن محسوب می‌شود. هرگونه عدم تعادل هورمونی منجر به اختلال روندهای متابولیکی می‌شود (۳). کاستاندا و همکاران در سال ۲۰۰۶ نشان دادند که حذف هورمون استروژن به شیوه‌ی اواریکتومی یا در اثر یائسگی با افزایش شاخص‌های استرس اکسیداتیو و مرگ سلولی در بافت قلب باعث القای اختلالات قلبی - عروقی می‌شود (۴).

سکنه، سومین عامل مرگ و میر در زنان و عامل اصلی ناتوانی آنان می‌باشد. بنابراین در دوران یائسگی برای مقابله با سکنه و بیماری‌های قلبی - عروقی از هورمون درمانی استفاده می‌شود، اما به علت عوارض جانبی هورمون درمانی از جمله سرطان پستان استفاده از استروژن باید با احتیاط انجام گیرد و هنوز نسبت خطر به فایده این شیوه درمانی قابل بحث است. لذا ارزیابی بهترین استراتژی برای جلوگیری از بیماری‌های قلبی - عروقی در زنان اهمیت فراوانی دارد (۵-۸). در سال‌های اخیر مطالعاتی بر روی فیتو استروژن‌ها صورت گرفته است. به هر ماده‌ی گیاهی یا متابولیتی که در مهره داران پاسخ بیولوژیکی ایجاد نموده و معمولاً به وسیله‌ی اتصال به

گیرنده‌های استروژنی عمل آن را تقلید یا تعدیل نماید، فیتواستروژن اطلاق می‌شود. فیتواستروژن‌ها اعمال خود را از چند طریق اعمال می‌کنند. از جمله اینکه قادرند با اشغال گیرنده‌های استروژنی نسبت به استرادیول طبیعی موجود در گردش خون به‌عنوان آنتاگونیست عمل نمایند در حالی که در غیاب استروژن قادرند با اتصال به گیرنده‌های استروژنی اثرات استروژن را تقلید نمایند (۱). آلتاویلا و همکاران در سال ۲۰۰۴ نشان دادند که جنیستین در موش‌های صحرایی اختلالات عروقی ایجاد شده با اواریکتومی و اندازه‌ی انفارکتوس را در مدل تجربی ایسکمیک - پرفوزیون مجدد بهبود می‌بخشد (۶). النکاش و همکاران در سال ۲۰۰۹ گزارش کردند که درمان دو روزه‌ی موش‌های صحرایی اواریکتومی شده با جنیستین باعث بهبودی معنی‌داری در فعالیت مکانیکی قلب نمی‌شود (۹).

همچنین مطالعات دیگری نیز نشان می‌دهند که جهت استفاده از ایزوفلاون‌های سویا به‌عنوان جایگزین استروژن درمانی اطلاعات کافی در دسترس نمی‌باشد و برای شناسایی اثرات ترکیبات مختلف سویا و مکانیسم اثر آن‌ها به‌ویژه موقعی که به‌شیوه‌ی خوراکی مصرف می‌شوند نیاز به مطالعات بیشتری است (۱۱ و ۱۰). با توجه به اینکه مطالعات صورت گرفته اثرات ترکیبات مختلف عصاره‌ی سویا را بر روی سیستم قلبی - عروقی بررسی نموده‌اند در حالی‌که افراد در رژیم غذایی خود سویا را به‌عنوان منبع فیتواستروژن‌ها مصرف می‌کنند نه اجزای آن را به صورت مجزا و تک تک، و از طرفی چون تاکنون اثرات عصاره‌ی تام سویا بر روی آپوپتوز سلول‌های قلب بررسی نشده است، لذا برای رسیدن به این هدف در این مطالعه اثرات عصاره‌ی متانولی سویا بر میزان آپوپتوز سلول‌های قلب در موش‌های صحرایی اواریکتومی شده بررسی شد.

روش بررسی

در این مطالعه‌ی تجربی مداخله‌ای، تعداد ۴۰ سر موش صحرایی ماده نژاد ویستار با وزن 250 ± 30 گرم از مرکز پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشکده‌ی دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی تبریز تهیه و به‌صورت تصادفی به ۴ گروه ۱۰ تایی تقسیم شدند موش‌های هر ۴ گروه در شرایط یکسان با دسترسی آزاد به آب و غذا و در دمای $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ درجه‌ی سانتی‌گراد و چرخه نوری ۱۲-۱۲ ساعت روشنایی- تاریکی و به‌صورت ۵ حیوان در هر قفس نگهداری می‌شدند. گروه‌های مورد مطالعه شامل:

گروه یک: در هر ۲ تهیگاه حیوان یک برش جراحی ایجاد و پس از دستکاری تخمدان، مجدداً برش بسته شد (شم).

گروه دو: حیوانات سالم دست نخورده که عصاره‌ی سویا دریافت کردند (کنترل-گاواژ).

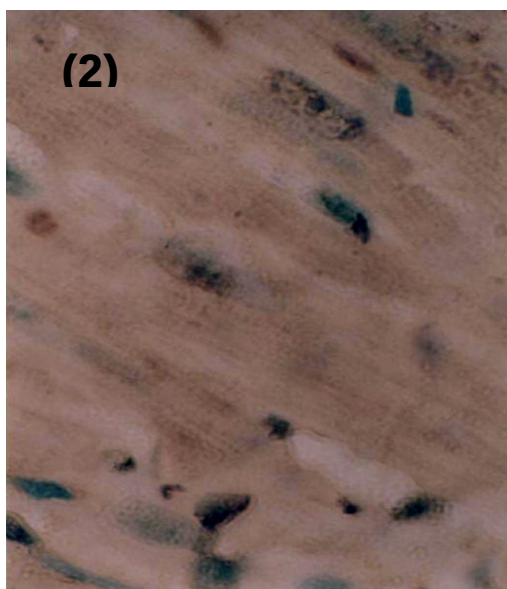
گروه سه: مورد جراحی دو طرفه قرار گرفته و هر دو تخمدان خارج شدند (اواریکتومی).

گروه چهار: مانند گروه سه اواریکتومی شدند و عصاره سویا دریافت کردند (درمان) (۱۱). (شکل ۱-۴).

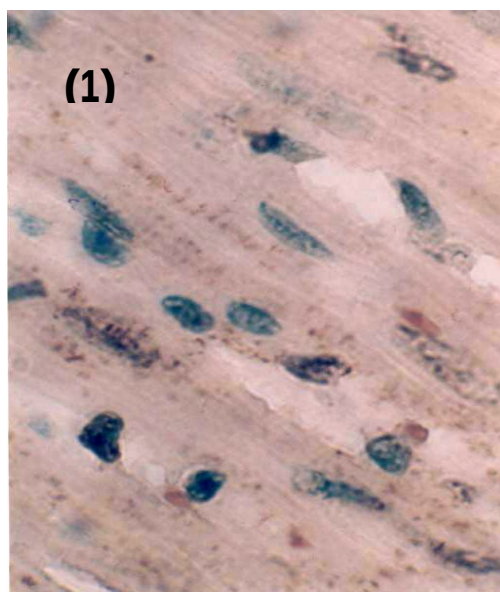
دو هفته پس از عمل جراحی و پس از بهبودی کامل حیوانات، موش‌های صحرایی گروه درمان روزانه ۶۰ میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره‌ی متانولی سویا به‌مدت ۲۸ روز (۴ هفته) و به‌صورت محلول در آب از طریق گاواژ دریافت نمودند در بقیه گروه‌های مورد مطالعه هم حجم عصاره‌ی سویا سرم فیزیولوژی گاواژ گردید (۱۲).

عصاره‌ی گیری: جهت تهیه عصاره‌ی سویا پودر دانه‌های سویا ابتدا توسط هگزان چربی‌زدایی شده و سپس توسط متانول

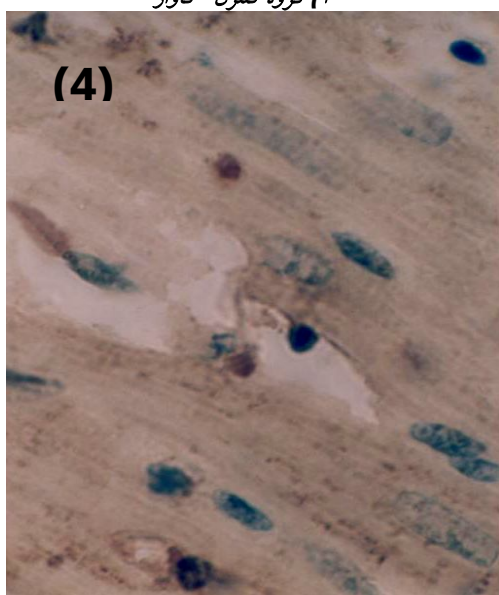
۱۰۰ درصد عصاره‌گیری گردید. پس از تبخیر حلال توسط دستگاه روتاری اوپراتور تحت دما و فشار کم، باقیمانده به‌عنوان عصاره‌ی متانولی سویا مورد استفاده قرار گرفت (۱۳). در پایان دوره‌ی تجویز عصاره‌ی سویا، حیوانات با استفاده از داروی بیهوشی بیهوش شده و بلافاصله بافت قلب حیوانات گروه‌های مورد مطالعه برداشته شده و در داخل فرمالین بافره ۱۰ درصد قرار گرفت سپس به آزمایشگاه بافت شناسی ارسال و در پارافین قالب‌گیری شدند. از مقاطع بافتی هر گروه، تعداد ۱۰ لام بافتی (از هر حیوان یک لام) انتخاب و با استفاده از تکنیک تشخیصی تانل (TUNEL) و مطابق بروشور کیت سلول‌های آپپتوتیک در بافت قلب مشخص و شمارش شدند. مشخصه این کیت که ساخت شرکت Roche کشور آلمان می‌باشد، جستجوی مرگ سلولی یا آپپتوزیس با مشخص نمودن قطعات شکسته شده DNA در سلول‌های انفرادی به‌وسیله‌ی میکروسکوپ نوری می‌باشد که روشی بسیار سریع، حساس و از روش‌های اختصاصی مطالعه سلول‌های آپپتوتیک با استفاده از میکروسکوپ نوری است. اساس این آزمایش نشاندار کردن انتهای آزاد 3-OH در DNA شکسته شده بوده و به تکنیک تانل مشهور است (۱۴). سپس در زیر میکروسکوپ نوری، سلول‌های آپپتوتیک عضلانی و همبندی در بافت قلب به تفکیک شمارش شدند. مقایسه بین گروه‌های مورد مطالعه‌ی از نظر میانگین تعداد سلول‌های آپپتوتیک در قلب به روش تجزیه واریانس یک‌طرفه و به شیوه‌ی Tukey صورت گرفت. در بررسی آماری نتایج ($P < 0.05$) معنی‌دار در نظر گرفته شد.



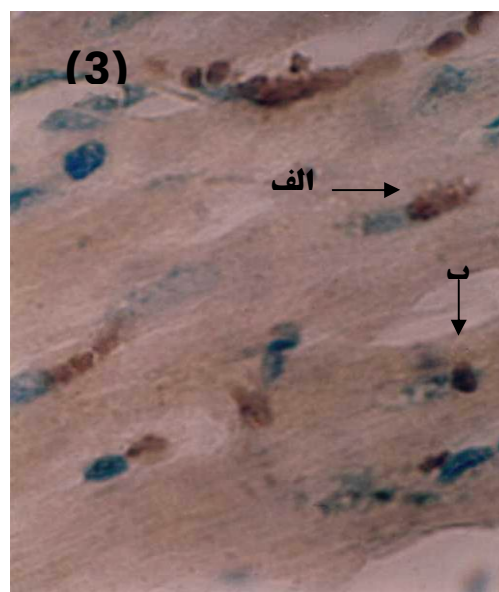
(۲) گروه کنترل - گاواژ



(۱) گروه شام (یافت طبیعی قلب)



(۴) گروه درمان (کاهش تعداد سلول‌های آپپتوتیک در بافت قلب)
سلول‌های آپپتوتیک که در نتیجه اجرای تکنیک تانل با رنگ قهوه‌ای
مشخص شده‌اند.



(۳) گروه اواریکتومی شده (فراوانی سلول‌های آپپتوتیک در بافت قلب)
الف - سلول آپپتوتیک عضلانی ب - سلول آپپتوتیک همبندی
(شکل ۱ تا ۴)

شکل ۱ تا ۴: نمای میکروسکوپی بافت قلب در گروه‌های مورد مطالعه (بزرگنمایی ۷۴۴ برابر).

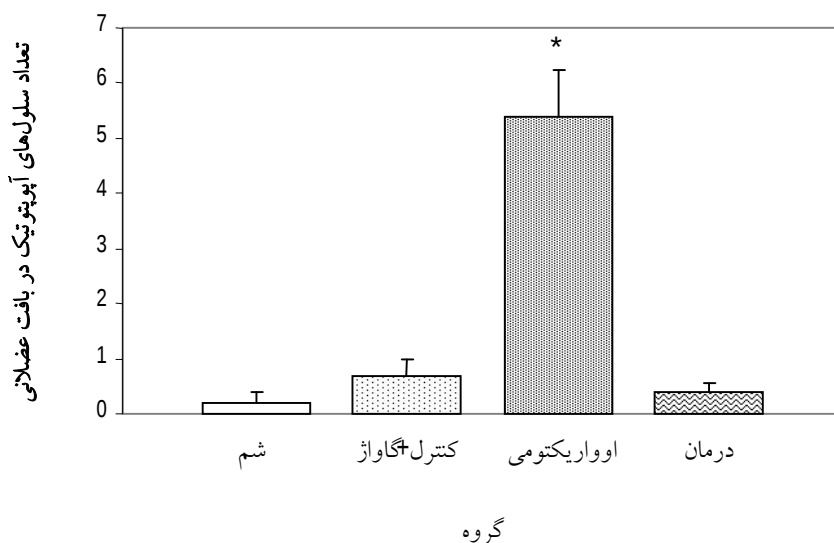
یافته‌ها

قلبی آپپتوتیک اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($P < 0.05$)،
نمودار ۱). اما بین گروه شام با گروه درمان از نظر تعداد

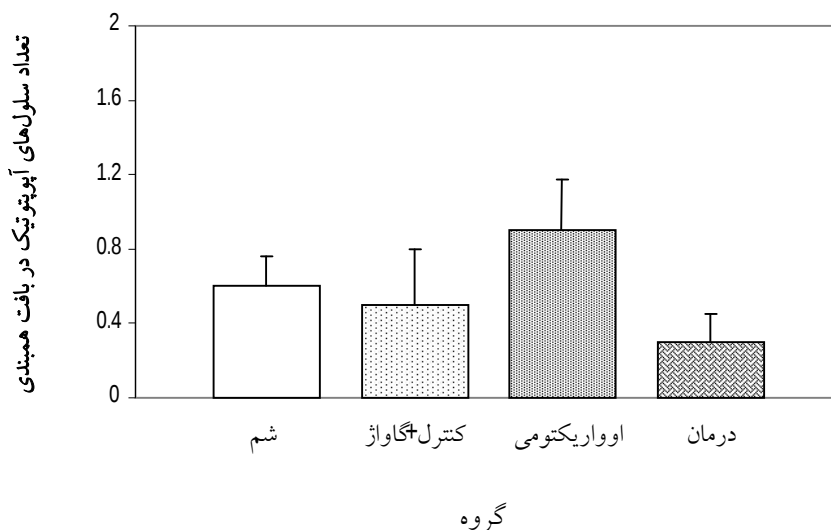
بررسی آماری داده‌ها نشان داد که بین گروه اواریکتومی
شده با سایر گروه‌های مورد مطالعه از نظر تعداد سلول‌های

مقایسه‌ی آماری گروه‌های مورد مطالعه به لحاظ تعداد سلول‌های همبندی مشخص نمود که بین هیچ یک از گروه‌های مورد مطالعه تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ($P > 0.05$)، نمودار ۲).

کاردیومیوسیت‌های آپوتوتیک تفاوت معنی‌داری وجود ندارد ($P > 0.05$)، نمودار ۱). همچنین مشخص گردید بین گروه کنترل - گاواژ با گروه درمان تفاوت معنی‌داری از نظر تعداد سلول‌های آپوتوتیک وجود ندارد ($P > 0.05$)، نمودار ۱).



نمودار ۱؛ نمودار میانگین تعداد سلول‌های آپوتوتیک عضلانی در بافت قلب گروه‌های مورد مطالعه داده‌ها به صورت $Mean \pm SEM$ ارائه شده‌اند ($p < 0.05$). * اختلاف معنی‌دار با سایر گروه‌ها



نمودار ۲؛ نمودار میانگین تعداد سلول‌های آپوتوتیک همبندی در بافت قلب گروه‌های مورد مطالعه داده‌ها به صورت $Mean \pm SEM$ ارائه شده‌اند ($p < 0.05$).

بحث

مطالعه‌ی حاضر نشان داد که عصاره‌ی سویا اثرات محافظتی در بافت قلب موش‌های صحرایی اواریکتومی شده دارد. موافق با مطالعات دیگر مشخص گردید که اواریکتومی باعث افزایش التهاب، آسیب سلولی و آپوپتوز در بافت قلب می‌شود (۴ و ۱۶). مطالعات چندی نیز گزارش کرده‌اند که استروژن به طرق مختلف از جمله با داشتن اثرات آنتی‌اکسیدانی قوی یک عامل محافظت کننده قلب به شمار می‌رود (۱۷). در مطالعه‌ی حاضر نیز بهترین نتایج مربوط به گروه شم بود که نقش مثبت استروژن را در محافظت قلبی تایید نمود. چنانچه بین این گروه با گروه اواریکتومی شده اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($P < 0/05$). بیماری‌های قلبی - عروقی در زنان در دوران قبل از یائسگی در مقایسه با مردان و زنان یائسه نادر است. فاکتورهای اصلی خطر در زنان یائسه عبارتند از اختلالات در متابولیسم چربی و افزایش وزن، دیابت شیرین، فشار خون و... که همگی از عوارض دوران یائسگی بوده و فرد را مستعد بیماری‌های قلبی می‌کنند (۱۸). ریکچیتی و همکاران در سال ۲۰۰۸ نشان داده‌اند که استروژن ضمن داشتن اثرات مفید دارای اثرات مضری نیز هست، به‌طوری‌که باعث افزایش پروتئین‌های آسیب رسان قلبی مانند گیرنده تیپ یک آنژیوتانسین دو (AT_1R) می‌شود (۱۹). طی مطالعه‌ای مشخص شده است که اگر چه استروژن درمانی اندازه انفارکتوس را کاهش می‌دهد اما باعث افزایش میزان تلفات پس از انفارکتوس می‌گردد می‌شود (۲۰). همچنین مشخص شده است استروژن قادر است در شرایط *In vitro* و *In vivo* با استفاده از مسیرهای وابسته به فسفو- اینوزیتید-۳ کیناز آپوپتوز کاردیومیوسیت‌ها را کاهش دهد و با مهار آزادسازی سیتوکروم- C از میتوکندری‌ها، آپوپتوز القا شده با ایسکمی را مهار نماید (۲۱ و ۲۲). مطالعه‌ی حاضر نیز نقش مثبت استروژن در مهار آپوپتوز را تایید نمود. چنانچه بین این

دو گروه با گروه اواریکتومی شده اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($P < 0/05$). نشان داده شده است که فیتو استروژن‌ها در برابر عوارض مرتبط با استروژن درمانی از جمله سرطان پستان، عوارض یائسگی و بیماری‌های قلبی - عروقی نقش ممانعت کننده دارند. لذا از این نظر می‌تواند گزینه‌ی مناسبی برای جایگزینی استروژن درمانی باشند (۲۳).

مطالعات دیگری حاکی از اثرات آنتی‌اکسیدانی فیتواستروژن‌ها همانند استروژن بوده و نشان داده‌اند که جنیستئین می‌تواند به‌عنوان یک مسدود کننده‌ی کانال کلیسمی در عضلات صاف عروق و میوسیت‌های ایزوله شده کوچک هندی عمل نمایند (۲۴). طی مطالعه‌ای مشخص شده است که جنیستئین دارای اثرات محافظت قلبی است (۶). همچنین نشان داده شده است که رژیم‌های غذایی حاوی فیتواستروژن‌ها قلب را در برابر آسیب ایسکمیک - پرفوزیون مجدد محافظت می‌کنند (۲۵). مطالعه‌ی دیگری نشان داده است که جنیستئین اندازه‌ی ضایعه انفارکتوس و آپوپتوز میوسیت‌ها را در خرگوش کاهش می‌دهد (۲۶). در مقابل مطالعات دیگری نشان داده‌اند که پروتئین ایزوله شده سویا و ایزوفلاون‌ها اثرات سودمندی بر عوارض یائسگی از جمله علائم وازوموتوری ندارند. در صورتی که عصاره‌ی سویا با داشتن ترکیبی از ویتامین‌ها، مواد معدنی، فیبر و چربی‌های غیر اشباع می‌تواند اثرات مفیدی بر سلامت قلب داشته باشد (۲۷).

نتایج مطالعه‌ی حاضر نیز با این یافته‌ها سازگاری داشته و نشان داد که عصاره‌ی سویا قادر به کاهش آپوپتوز سلول‌های میوکاردی در موش‌های صحرایی اواریکتومی شده می‌باشد. چنانچه مقایسه‌ی آماری بین دو گروه درمان و اواریکتومی شده مشخص نمود که از نظر میزان آپوپتوز تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های مذکور وجود دارد ($P < 0/05$). این مطالعه نشان داد که عصاره‌ی سویا می‌تواند تعداد سلول‌های آپوپتوتیک را در قلب حیوانات اواریکتومی شده به‌طور قابل ملاحظه‌ای

مورد استفاده عموم قرار می‌گیرد و به‌ویژه در جوامع شرقی یک منبع غذایی محسوب می‌شود (۲۹)، همچنین احتمال دارد که فارماکوکیتیک عصاره‌ی سویا در تجویز خوراکی با تزریقی آن متفاوت بوده و اثرات بیولوژیکی متفاوتی ایجاد نماید (۲۴ و ۱). جهت شناسایی اثرات ترکیبات سویا و مکانیسم اثر آن‌ها در پارامترهای متابولیک به‌ویژه موقعی که به شیوه خوراکی مصرف می‌شوند به مطالعات بیشتری نیاز است (۱۱).

نتیجه‌گیری

این مطالعه نشان داد که مصرف خوراکی عصاره‌ی سویا قادر است از تعداد کاردیومیوسیت‌های آپوپتوتیک در موش‌های صحرایی اواریکتومی شده بکاهد.

References

- 1- Phytoestrogens and health. The Food Standards Agency Committee on Toxicity 2003; Available from: <http://www.food.gov.uk/multimedia/pdfs/phyto-report 0503>.
- 2- Billeci A M, Paciaroni M, Caso V, Agnelli G. Hormone replacement therapy and stroke. *Curr Vasc Pharmacol*. 2008; 6: 112-23.
- 3- Al-Rejaie SS. Thymoquinone treatment alleviate ovariectomy-induced hepatic oxidative damage in rats. *JAP S*. 2013; 3: 126-131.
- 4- Muñoz-Castañeda JR, Muntané J, Herencia C, et al. Ovariectomy exacerbates oxidative stress and cardiopathy induced by Adriamycin. *Gynecol Endocrinol*. 2006; 22:74-79.
- 5- Anderson S. Nuclear receptor functions in the central nervous system: clues from knockout mice. *Department of biosciences and nutrition Karolinska institutet*. 2006; 1-5.

کاهش دهد، به‌طوری‌که بین گروه شم با گروه درمان از نظر تعداد سلول‌های آپوپتوتیک اختلاف معنی‌داری دیده نشد ($P>0.05$). به‌عبارتی دیگر عصاره‌ی سویا قادر است بافت قلب را از اثرات حذف استروژن محافظت نماید. مشخص شده است که فیتواستروژن‌ها به علت داشتن ترکیبات گوناگون قادرند گیرنده‌های استروژنی را فعال یا مهار نمایند هر چند داشتن اثرات آگونیستی - آنتاگونیستی وابسته به دوز می‌باشد (۲۸ و ۱۰).

اکثر مطالعات انجام گرفته اثرات ایزوفلاون‌ها به‌ویژه جینیستین را بررسی نموده‌اند. حال آنکه سویا به‌عنوان منبع غنی از فیتواستروژن‌هاست که با داشتن ترکیب این مواد که می‌توانند اثرات آگونیستی و یا آنتاگونیستی بر یکدیگر داشته باشند،

- 6- Altavilla D, Crisafulli A, Marini H, et al. Cardiovascular effects of the phytoestrogen genistein. *Curr Med Chem Cardiovasc Hematol Agents*. 2004; 2: 179-86.
- 7- Beral V. Breast cancer and hormone-replacement therapy in the million women study. *Lancet*. 2003; 362: 412-27.
- 8- Manson J. Estrogen plus progestin and the risk of coronary heart disease. *N Engl J med*. 2003; 342: 523-34.
- 9- Al-Nakkash L, Markus B, Bowden K, Batia LM, Prozialeck WC, Broderick TL. Effects of acute and 2-day genistein treatment on cardiac function and ischemic tolerance in ovariectomized rats. *Gender Medicine*. 2009; 6: 488-97.
- 10- Vincent A, Fitzpatrick L A. Soy isoflavones: are they useful in menopause? *Mayo Clin Proc* 2000; 75: 1174-84.

- 11- Christopher R, Cederroth Serge. Soy phytoestrogens and metabolism: Areview. *Molecular and cellular Endocrinology*. 2009; 304: 30-42.
- 12- Nemeth H, Toth T, Kis Z, Farkas T, Toldi J. Weak if any effect of estrogen on spatial memory in rats. *Acta Biologica Szegediensis*. 2002; 46: 13-16.
- 13- Perez – Martin M, Salazar V, Castillo C, et al. Estradiol and soy extract increase the production of new cells in the dentate gyrus of old rats. *Exp Gerontol*. 2005; 40: 450-453.
- 14- Choi E, Suh K, Kim Y, Choue R. Soy been ethanol extract increases the function of Osteoblastic MC₃T₃-E₁ cells. *Phytochemistry*. 2001; 56: 733-39.
- 15- Liu Z, Gastard M, Verina T, Bora S, Mouton P.R, Koliatsos V.E. Estrogens modulate experimentally induced apoptosis of granule cells in the adult hippocampus. *J Comp Neurol*. 2001; 441: 1-8.
- 16- Hamilton KL, Lin L, Wang Y, Knowlton AA. Effect of ovariectomy on cardiac gene expression: inflammation and changes in SOCS gene expression. *Physiol Genomics*. 2008; 32: 254-63.
- 17- Rainer HS. The complex role of estrogens in inflammation. *Endocrine Reviews*. 2007; 28: 521-74.
- 18- Effect of estrogen replacement therapy on metabolic risk factors for cardiovascular diseases in hysterectomized postmenopausal women. Department of Internal Medicine, University of Oulu Biocenter Oulu, 2003.
- 19- Ricchiuti V, Lian C, Oestreicher E, et al. Estradiol increases angiotensin II type 1 receptor in hearts of ovariectomized rats. *J Endocrinol*. 2009; 200: 75-84.
- 20- Van Eickels M, Patten R, Aronovitz M, et al. 17-beta-estradiol increases cardiac remodeling and mortality in mice with myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*. 2003; 41: 2084-92.
- 21- Morkuniene R, Arandarcikaite O, Borutaite V. Estradiol prevents release of cytochrome c from mitochondria and inhibits ischemia-induced apoptosis in per fused heart. *Exp Gerontol*. 2006; 41: 704-8.
- 22- Patten RD, Pourati I, Aronovitz MJ, Baur J, Celestin F, Chen X. 17beta-estradiol reduces cardiomyocyte apoptosis in vivo and in vitro via activation of phospho-inositide-3 kinase/Akt signaling. *Circ Res*. 2004; 95: 692-9.
- 23- Zittermann A. Phytoestrogens. *Zentralbl Gynakol* 2003; 125: 195-201.
- 24- Marsh J. Phytoestrogens and vascular therapy. *J Am Coll Cardiol*. 2000; 35: 1986-87.
- 25- Zhai P, Eurell TE, Cotthaus RP, Jeffery EH, Bahr JM, Gross DR. Effects of dietary phytoestrogen on global myocardial ischemia-reperfusion injury in isolated female rat hearts. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2001; 281: 1223-32.
- 26- Ji ES, Yue H, Wu YM, He RR. Effects of phytoestrogen genistein on myocardial ischemia/reperfusion injury and apoptosis in rabbits. *Acta Pharmacol Sin*. 2004; 25: 306-12.

- 27- Sacks FM, Lichtenstein A, Van Horn L, Harris W, Ether ton PK, Winston M. Soy Protein, Isoflavones, and cardiovascular health. *Circulation*. 2006; 113: 1034-44.
- 28- Mueller SO, Simon S, Chae K, Metzler M, Korach KS. Phytoestrogens and their human metabolites show distinct agonistic and antagonistic properties on estrogen receptor alpha (ERalpha) and ERbeta in human cells. *Toxicol Sci*. 2004; 80: 14-25.
- 29- Wang M, Crisostomo P, Markel T, Wang Y, Lillemoe K, Meldrum D. Estrogen receptor beta mediates acute myocardial protection following ischemia. *Surgery*. 2009; 144: 233-38.

The Effect of Methanol Soybean Extract on Cardiomyocytes Apoptosis in Ovariectomized Rats

Nasirzadeh MR¹

¹Dept. of Physiology, Faculty of Veterinary, Tabriz Islamic Azad University, Tabriz, Iran.

Corresponding Author: Nasirzadeh MR, Dept. of Physiology, Faculty of Veterinary, Tabriz Islamic Azad University, Tabriz, Iran.

E-mail: mr.nasirzadeh@yahoo.com

Received: 6 Dec 2014 **Accepted:** 6 May 2015

Background and Objective: Following estrogen depletion in postmenopausal women, its cardioprotective effect decreases. Epidemiologic data have shown that phytoestrogens can be used in estrogen – related diseases to reduce symptoms and to treat these diseases. Therefore, the present study was designed to evaluate the effect of soy extract on the rate of apoptosis in heart tissue in ovariectomized rats.

Materials and Methods: Forty female Wistar rats were randomly divided into four groups: (n=10): 1) sham operated control, 2) control gavage (intact animals with soybean extract), 3) untreated ovariectomized and 4) treated ovariectomized with soybean. Soybean extracts were given orally (60mg/kg/day) to animals in groups 2 and 4 for 28 days. At the end of the treatment, TUNEL kit was used to detect apoptotic cardiomyocytes. ANOVA was used to compare and analyze the data.

Results: The results showed that the number of apoptotic cardiomyocytes significantly increased in ovariectomized group compared to the other groups ($p<0.05$). Also, the number of apoptotic cardiomyocytes in the treated group significantly decreased more than ovariectomized group ($p<0.05$).

Conclusion: This study showed that oral administration of soybean extracts to ovariectomized rats reduced the rate of apoptosis in heart tissue.

Keywords: Soybean extract, Ovariectomy, Apoptosis, Cardiomyocyte