

مقاله پژوهشی

تأثیر ویتامین D₃ بر تغییرات بیوشیمیایی سرم، هیستوپاتولوژی و استرس اکسیداتیو در موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار دارای پروستاتیت مزمن غیرباکتریایی

فاطمه یوسف‌زاده روشن^۱، محمود احمدی همدانی^{۱*}، عباس جواهری وایقان^۲، حمیدرضا مسلمی^۱

۱. گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه سمنان، ایران

۲. گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه سمنان، سمنان، ایران

پذیرش: ۱۶ بهمن‌ماه ۱۳۹۹

دریافت: ۲۳ دی‌ماه ۱۳۹۸

چکیده

زمینه و هدف: تولید بیش از حد سیتوکین‌های التهابی و استرس اکسیداتیو در بیماری‌های پروستاتیت مزمن غیر باکتریایی نقش مهمی ایفا می‌کنند. باتوجه به نقش ویتامین D₃ در ایجاد تعادل بین سیتوکین‌های التهابی و ضدالتهابی و دارا بودن خواص آنتی‌اکسیدانی، این مطالعه با هدف بررسی اثر ویتامین D₃ بر تغییرات بیوشیمیایی، هیستوپاتولوژی و استرس اکسیداتیو در موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار القاء شده توسط پروستاتیت مزمن غیرباکتریایی انجام شد.

روش‌ها: ۲۴ سر موش صحرایی بالغ نژاد ویستار به گروه‌های سالم، مبتلا به پروستاتیت مزمن غیرباکتریایی درمان نشده، و دو گروه درمانی شامل مبتلا به پروستاتیت مزمن غیرباکتریایی درمان شده با سرنیلتون و ویتامین D₃ تقسیم شدند. پروستاتیت مزمن غیرباکتریایی از طریق تجویز داخل پروستاتی تک‌دز کاراجینان ۳٪ القا شد. سرنیلتون و ویتامین D₃ از راه خوراکی به ترتیب به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم و ۵ میکروگرم/کیلوگرم یک هفته پس از القا پروستاتیت مزمن غیرباکتریایی برای ۲۱ روز تجویز شد. اندیس پروستات، اندیس استرس اکسیداتیو، ازت اوره خون، کراتینین، کلسیم و تغییرات هیستوپاتولوژی بین گروه‌ها مقایسه شدند.

یافته‌ها: سرنیلتون و ویتامین D₃ موجب کاهش معنی‌دار ($p < 0.05$) اندیس پروستاتیت، اندیس استرس اکسیداتیو و کراتینین سرم نسبت به گروه مبتلا درمان نشده گردیدند. در غلظت کلسیم سرم تنها تجویز ویتامین D₃ باعث افزایش معنی‌دار ($p < 0.05$) در مقایسه با گروه مبتلا درمان نشده گردید. هیچ اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های درمانی با گروه مبتلا درمان نشده در غلظت ازت اوره خون مشاهده نگردید. از نظر هیستوپاتولوژی، کاهش معنی‌داری در میانگین هیپرپلازی سلول‌های آسینی دیواره توبول‌ها، التهاب و مجموع هیپرپلازی و التهاب در گروه درمان شده با ویتامین D₃ نسبت به گروه درمان نشده مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: مطالعه‌ی ما نشان داد که ویتامین D₃ با داشتن خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی دارای اثرات حفاظتی بر پروستاتیت مزمن غیرباکتریایی در موش صحرایی می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: اندیس استرس اکسیداتیو، پروستاتیت مزمن غیر باکتریایی، کاراجینان، ویتامین D₃، هیستوپاتولوژی

مقدمه

۲- پروستاتیت مزمن باکتریایی، ۳- پروستاتیت مزمن یا سندرم درد مزمن لگن و ۴- پروستاتیت التهابی بدون علامت. فرم سوم پروستاتیت خود به دو زیرمجموعه التهابی و غیرالتهابی تقسیم می‌شود. پروستاتیت مزمن التهابی غیرباکتریایی با تعداد مبتلایان

تحقیقات اپیدمیولوژی در دهه گذشته نشان می‌دهد پروستاتیت به‌عنوان یکی از مشکلات عمده بهداشتی و درمانی پزشکی در حوزه دستگاه ادراری-تناسلی محسوب می‌شود. پروستاتیت بر اساس طبقه‌بندی مؤسسه ملی سلامت به چهار گروه تقسیم می‌شود: ۱- پروستاتیت حاد باکتریایی،

هیدروکسیلاسیون پیش‌رس خود (۲۵-هیدروکسی کلسیفرول) تولید می‌شود و نقش مرکزی را در تعادل کلسیم و بازسازی استخوان‌ها ایفا می‌کند. ویتامین D₃ اثرات زیستی خود را از طریق گیرنده خودش (عضوی از خانواده بزرگ رسپتورهای هسته‌ای) به‌انجام می‌رساند. این گیرنده نه تنها در استخوان، روده و کلیه‌ها بلکه در بافت‌های بیشمار دیگری شامل سینوس‌های ادراری-تناسلی، پروستات و مثانه نیز بیان می‌شود. فعالیت غیرکلسیمی ویتامین D₃ رشد طبیعی و پاتولوژی سلول بافت‌های مختلف نظیر پروستات را متأثر می‌سازد [۲].

سرنیلتون از گرده گیاه چاودار علوفه‌ای بدست می‌آید و یکی از چندین گیاهان دارویی است که برای درمان تورم خوش‌خیم پروستات (BPH²) بکار می‌رود. این گیاه توسط میلیون‌ها مرد در سراسر جهان استفاده می‌شود و محصول دارویی ثبت شده در نواحی غربی اروپا، ژاپن، کره و آرژانتین است و در ایالات متحده آمریکا به‌عنوان مکمل غذایی مورد استفاده آقایان قرار می‌گیرد. دارای دو ماده سرنیتین T60 (محلول در آب) و سرنیتین GBX (محلول در استون) است. دو مکانیسم برای سرنیلتون پیشنهاد شده است. مکانیسم اول اثرات ضد آندروژنی است که می‌تواند عضلات صاف مجرای ادراری را شل کند و انقباض ماهیچه مثانه را افزایش دهد و مکانیسم دوم می‌تواند بر روی گیرنده‌های آلفا-اندروژنی عمل کند و ماهیچه‌های اسفنگتر داخلی و خارجی را شل کند [۳].

مطالعات مختلف اپیدمیولوژی ارتباط بین کمبود ویتامین D₃ و هیپرپلازی خوش‌خیم پروستات را نشان ند. در مطالعه‌ای که توسط پیتمن³ و همکاران صورت گرفته است، نشان داده شد ۵۲ درصد بیماران ادراری-تناسلی کمبود مشخص (کمتر از ۲۰ نانوگرم/میلی‌لیتر) در میزان ویتامین D₃ دارند. آن‌ها گزارش کردند که کمبود این ویتامین در بیماران جوان‌تر از ۵۰ سال ۴۴/۵ درصد، رنگین‌پوست ۵۳/۲ درصد و در اسپانیایی‌ها ۴۱/۶ درصد و بیماران بدون بدخیمی ادراری-تناسلی ۳۵/۴ درصد می‌باشد [۴]. مطالعه بازاریار و همکاران نشان داد که ویتامین D₃ با برقراری تعادل بین سیتوکین‌های التهابی و غیرالتهابی و دارا بودن خواص

۴۰ تا ۶۵٪ شایعترین شکل پروستاتیت محسوب می‌شود. در پروستاتیت مزمن التهابی غیر باکتریایی علائم متفاوتی از درد ملایم در هنگام ادرار کردن تا وجود خون در منی، اختلال در نعوظ و درد مزمن لگنی حداقل برای سه ماه، وجود دارد. معمولاً این درد متناوب و مبهم است و در قسمت اطراف مقعد، بیضه‌ها، آلت تناسلی و یا قسمت پائینی شکم متمرکز می‌شود. آزمایش تجزیه کامل ادرار و کشت ادرار برای هر بیمار مشکوک به پروستاتیت ضروری است. کشت منی به تنهایی جهت تشخیص پروستاتیت مزمن باکتریایی کافی نیست زیرا حساسیت این تست ۴۵٪ می‌باشد. آنتی‌ژن اختصاصی پروستات، سیتولوژی ادرار، عکس‌برداری از مثانه و سایر تست‌های اختیاری (جهت حذف سایر بیماری‌های مهمی که علائم مشابه پروستاتیت یا سرطان مثانه دارند) جهت تشخیص بکار می‌روند [۱].

کاراجینان‌ها، موکوپلی ساکاریدهایی هستند که از دیواره سلولی جلبک قرمز جدا شده‌اند. آن‌ها پلی‌مرهای خطی آنیونی هستند که از ۱ و ۳ آلفا، ۱ و ۴ بتا گالاکتان‌ها تشکیل شده‌اند و در هر واحد دی‌ساکاریدی ۱ (کاپا)، ۲ (آیوتا) و یا ۳ (لامبدا) سولفات دارند. در طول پاسخ التهابی القاء شده توسط کاراجینان، لکوسیت‌ها و ماست‌سل‌ها در ابتدا برای تولید رادیکال‌های آزاد و واسطه‌های مختلفی مانند کموکین‌ها و سیتوکین‌ها به‌خدمت گرفته می‌شوند که آن‌ها نیز سلول‌های التهابی بیشتری را برای تولید رادیکال‌های آزاد فرا می‌خوانند و حمله رادیکال‌های آزاد به غشاء پلاسمایی سلول‌ها منجر به تشکیل مالون‌دی‌آلدئید می‌شود. بعلاوه ممکن است رادیکال‌های آزاد التهاب را از طریق فعالسازی بیان ژن‌هایی مانند NF-κB¹ (کمپلکس پروتئینی که رونوشت‌برداری از DNA، تولید سیتوکین و بقاء سلول را کنترل می‌کند) شروع و یا تقویت کنند. فعال شدن این ژن پاسخ التهابی تقویتی خود را از طریق تنظیم بیش از حد تولید سیتوکین‌های پیش‌التهابی مثل فاکتور نکروزکننده تومور آلفا ایجاد می‌کند [۱].

ویتامین D در پوست طی تغییرات آنزیمی در کلسترول پس از قرار گرفتن در معرض اشعه ماوراء بنفش B تولید می‌شود. شکل فعال ویتامین D، ۱-آلفا-۲۵-دی‌هیدروکسی کلسیفرول (ویتامین D₃) می‌باشد که در کلیه توسط

² Benign Prostatitis Hyperplasia

³Pitman

¹ Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells

گروه‌های آزمایشی و نحوه تیمار دارویی

موش‌های صحرایی پس از توزین به‌صورت تصادفی در ۴ گروه (تعداد ۶ رت در هر گروه) توزیع شدند. گروه اول شامل ای سالمی که هیچ کار درمانی بر روی آن‌ها تا پایان مطالعه صورت نمی‌گرفت و تنها یک میلی لیتر روغن کنجد را به‌صورت خوراکی برای دو هفته دریافت کردند. گروه دوم شامل موش‌هایی که پروستاتیت مزمن غیرباکتریایی در آن‌ها القا شد و تنها یک میلی لیتر روغن کنجد را به‌صورت خوراکی روزانه برای دو هفته دریافت کردند. گروه سوم شامل موش‌هایی که پروستاتیت مزمن غیرباکتریایی در آن‌ها القا شد و روزانه ۱۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم سرنیلتون (داروی استاندارد درمان پروستاتیت مزمن غیرباکتریایی [۷]) را به‌صورت خوراکی برای دو هفته دریافت کردند. گروه چهارم شامل موش‌هایی که پروستاتیت مزمن غیرباکتریایی در آن‌ها القا شد و روزانه ۵ میکروگرم به ازای هر کیلوگرم ویتامین D₃ حل شده در یک میلی لیتر روغن کنجد را خوراکی برای دو هفته دریافت کردند. دز مؤثر ویتامین D₃ بر اساس مطالعات قبلی دز مؤثر آن جهت درمان پریودنتیت و دمیلینه‌شدن تجربی در موش صحرایی انتخاب شد [۸، ۹].

القاء پروستاتیت مزمن غیرباکتریایی

جهت القاء پروستاتیت، موش‌ها با کتامین (۲۵ mg/kg) داخل صفاقی) و زایلازین (۲۵ mg/kg) داخل صفاقی) بیهوش شدند. سپس قسمت پائینی شکم بالای اندام تناسلی رت‌ها تراشیده شد و پوست این ناحیه سه بار با پویدین-یداین ۱۰٪ استریل گردید. برش کوچکی از ناحیه خط وسط شکم در منطقه استریل شده ایجاد گردید تا مثانه و پروستات نمایان شوند. به هردو لوب شکمی راست و چپ پروستات موش‌های گروه‌های ۲ تا ۴، کاراجینان ۳٪ به میزان ۵۰ میکرولیتر تزریق گردید [۱۰]. به پروستات ای گروه اول به همان حجم نرمال سالین استریل تزریق گردید. پس از تزریق، محل زخم کاملاً بخیه شد.

محاسبه وزن پروستات و اندیس پروستاتیت

شرایط عمومی بدن هر موش در کل دوره آزمایش مورد ارزیابی قرار می‌گرفت. میزان مصرف غذا و وزن بدن در پایان

آنتی‌اکسیدانی در بهبود بیماران مبتلا به مولتیپل اسکروزیس مؤثر است [۵]. بهبود بافت‌های آسیب‌دیده در اثر ورزش شدید به‌واسطه نقش ویتامین D در کاهش پراکسیداسیون، توسط که^۴ و همکاران گزارش شده است [۶]. بنابر این با توجه به این‌که التهاب پروستات (پروستاتیت) به‌عنوان یکی از عوامل ناباروری مردان شناخته شده و از طرف دیگر ویتامین D₃ با مکانیسم ضدالتهابی دارای پتانسیل گسترده‌ای در درمان بیماری‌های مختلف التهابی و از جمله هیپرپلازی خوش‌خیم پروستات^۴ می‌باشد، در این مطالعه تأثیر تجویز ویتامین D₃ بر پروستاتیت مزمن غیرباکتریایی در موش‌های صحرایی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

داروها

ویتامین D₃ از شرکت داروسازی امین، کاراجینان از شرکت احیای جاده ابریشم و سرنیلتون از شرکت بارلو، سوئد خریداری گردید.

حیوانات آزمایشگاهی

برای انجام این مطالعه، ۲۴ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار (۲۰۰-۱۸۰ گرمی) از مرکز تحقیقاتی حیوانات آزمایشگاهی آموزشده دامپزشکی شه‌میرزاد تهیه شد. رت‌ها در قفس‌های فلزی در گروه‌های ۴تایی در آزمایشگاه حیوانات خانگی دانشکده دامپزشکی دانشگاه سمنان با دسترسی آزاد به رژیم غذایی استاندارد (پلت استاندارد) و آب و چرخه نوردهی ۱۲ ساعت و درجه حرارت $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ مستقر شدند. این مطالعه تجربی در مرکز تحقیقات حیوانات آزمایشگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه سمنان انجام شد. کلیه پروتکل‌های آزمایش با رعایت اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی (مصوب جلسه کمیته اخلاق در پژوهش‌های زیستی دانشکده دامپزشکی دانشگاه سمنان مورخ ۹۶/۰۷/۲۰ با کد اخلاقی EC976) صورت گرفت و سعی شد که از حیوانات کمتری برای انجام مطالعه استفاده گردد.

⁴ Ke

تجزیه و تحلیل آماری

آنالیز آماری نتایج به‌دست‌آمده با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS انجام شد. مقادیر به صورت میانگین \pm انحراف از میانگین^۷ بیان شده است. در صورت نرمال بودن داده‌ها برای مقایسه نتایج از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه^۸ و آزمون تعقیبی توکی^۹ استفاده شد اختلاف آماری ($p < 0/05$) به‌عنوان معنی‌دار در نظر گرفته شد. در یافته‌های هیستوپاتولوژی بافت پروستات از رتبه‌بندی نیمه کمی استفاده شد و نتایج با آزمون Kruskal wallis آنالیز شدند.

یافته‌ها

مقایسه وزن موش‌های صحرائی، وزن پروستات و اندیس پروستاتیت

میانگین وزن موش‌های صحرائی در روز شروع آزمایش بین گروه سالم با گروه‌های تیمار اختلاف آماری نداشت، اما در روز پایانی اختلاف آماری معنی‌داری ($p < 0/05$) در میانگین وزن موش‌های صحرائی گروه پروستاتیت مزمن درمان‌نشده ($12/7 \pm 1/5$) با گروه سالم ($21/1 \pm 2/3$) مشاهده گردید. همچنین میانگین وزن موش‌های صحرائی در گروه‌های مبتلا به پروستاتیت مزمن درمان‌شده با سرنیلتون و ویتامین D₃ اختلاف آماری معنی‌داری ($p < 0/05$) با گروه پروستاتیت مزمن درمان‌نشده داشتند (جدول ۲). پس از القای پروستاتیت مزمن غیرباکتریایی با کاراجینان در گروه پروستاتیت بدون درمان نسبت به گروه سالم افزایش معنی‌داری در وزن پروستات و متعاقباً در اندیس پروستاتیت ($p < 0/05$) مشاهده شد. همچنین در گروه‌های درمانی که سرنیلتون و ویتامین D₃ را به‌صورت خوراکی دریافت کرده بودند درعین حال که افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل مشاهده گردید اما نسبت به گروه پروستاتیت بدون درمان کاهش معنی‌داری در وزن پروستات و همچنین اندیس پروستاتیت ($p < 0/05$) مشاهده شد به‌طوری‌که در گروه درمان‌شده با ویتامین D₃ نسبت به سرنیلتون کاهش در اندیس پروستات مشاهده گردید اما این کاهش از لحاظ آماری معنی‌دار نبوده است (جدول ۲).

هر هفته محاسبه می‌شد. پس از آخرین تجویز روز ۲۱، موش‌ها برای ۱۲ ساعت ناشتا نگهداشته شدند، سپس توزین شدند و نمونه خون آن‌ها جمع‌آوری گردید. سپس موش‌ها تحت شرایط بی‌هوشی با کلروفورم آسان‌کشی شدند و پروستات آن‌ها از بدن خارج گردید. برای اطمینان از اینکه در موش‌های گروه دوم پروستاتیت غیرباکتریایی مزمن با کاراجینان به‌صورت موفقیت‌آمیزی ایجاد شده است، اندیس پروستاتیت^۵ (PI) از طریق تقسیم وزن پروستات برحسب میلی گرم به وزن بدن هر موش برحسب کیلوگرم محاسبه شد.

انجام آزمایشات بیوشیمیایی و استرس اکسیداتیو

سرم نمونه خون پس از لخته‌شدن خون از طریق سانتریفیوژ ۳۰۰۰ دور به مدت ۱۰ دقیقه جمع‌آوری گردید و وضعیت اکسیداتیو و کسیدانی تام سرم و اندیس استرس اکسیداتیو به روش شرح‌داده‌شده توسط ارل تعیین گردید [۱۲، ۱۱]. میزان سرمی کلسیم به روش فتومتری توسط کیت شرکت پیشتاز طب، ازت اوره خون و کراتینین سرم به ترتیب توسط روش کالریمتری اوره آز و جافه توسط کیت پارس آزمون و دستگاه اتوآنالایزر BS-120 تعیین گردید.

انجام آزمایشات هیستوپاتولوژی بافت پروستات

نمونه‌های پروستات در فرمالین ۱۰٪ فیکس شدند و سپس بافت‌ها با الکل آبگیری شدند و در پارافین غوطه‌ور شدند و بلوک‌های بافتی با ضخامت ۵ میکرون تهیه شد و جهت ارزیابی پاتولوژی بارنگ همتوکسیلین-ائوزین^۶ رنگ‌آمیزی می‌شوند. مقاطع رنگ‌آمیزی شده در گروه‌های چهارگانه از نظر هایپرپلازی (چین خوردگی)، التهاب، عملکرد ترشحاتی و مجموع هایپرپلازی و التهاب مورد ارزیابی قرار گرفتند و بر اساس این پارامترها امتیازهایی از صفر، یک، دو و سه در نظر گرفته شد. آنالیز نیمه کمی داده‌های حاصل از هیستوپاتولوژی نمونه‌های پروستات موش‌های صحرائی، با توجه به امتیازهایی که از پارامترهای مورد سنجش (جدول ۱) بدست آمده است، صورت گرفت.

⁷ Mean \pm SEM

⁸ ANOVA one-way

⁹ Post-Hoc Tukey

⁵ Prostatic index

⁶ H & E

جدول ۱- نحوه ارزیابی هیستوپاتولوژیک بافت پروستات

| پارامترها | امتیاز | | | |
|------------------------|---------------------|-----------------------------------|--------------------------------|--|
| | ۰ | ۱ | ۲ | ۳ |
| هایپرپلازی (چین وردگی) | دیده نشده | کمتر از ۵۰٪ شعاع لومن | بیش از ۵۰٪ شعاع لومن | بیش از شعاع لومن |
| سلول‌های التهابی | دیده نشده | حضور یک کانون التهابی بین لومن‌ها | حضور بیش از یک کانون التهابی | علاوه بر فضای بین لومن‌ها نفوذ سلول‌های التهابی به درون لومن |
| عملکرد ترشحات | درون لومن کاملاً پر | کمتر از ۵۰٪ لومن خالی از ترشحات | بیش از ۵۰٪ لومن خالی از ترشحات | هیچ‌گونه ترشحاتی ندارند |

مقایسه پارامترهای بیوشیمیایی سرم

کاهش معنی‌داری ($p < 0/05$) در غلظت کلسیم سرم در موش‌های صحرایی گروه پروستاتیت بدون درمان نسبت به گروه سالم مشاهده گردید که پس از استفاده از ویتامین D₃ غلظت کلسیم افزایش معنی‌داری ($p < 0/05$) پیدا کرد. سطح سرمی اوره در سایر گروه‌ها نسبت به گروه سالم افزایش معنی‌داری ($p < 0/05$) نشان داد اما نسبت افزایش در گروه‌های درمان شده با ویتامین D₃ و سرنیلتون کمتر از گروه پروستاتیت مزمن غیرباکتریایی درمان نشده بود. القاء پروستاتیت مزمن غیرباکتریایی باعث افزایش معنی‌دار ($p < 0/05$) غلظت سرمی کراتینین گردید که پس از درمان با سرنیلتون و ویتامین D₃ کاهش معنی‌داری در غلظت آن مشاهده گردید ($p < 0/05$)، جدول ۲).

مقایسه ظرفیت اکسیدانی و آنتی اکسیدانی تام، و

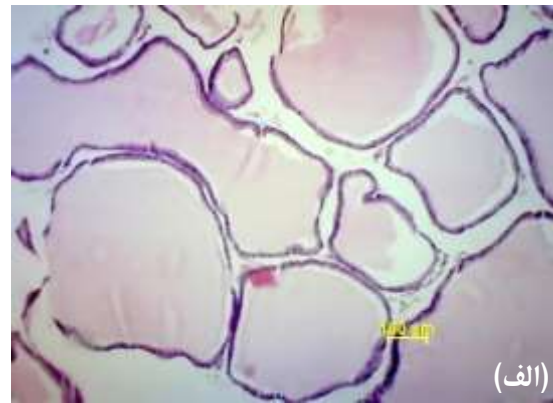
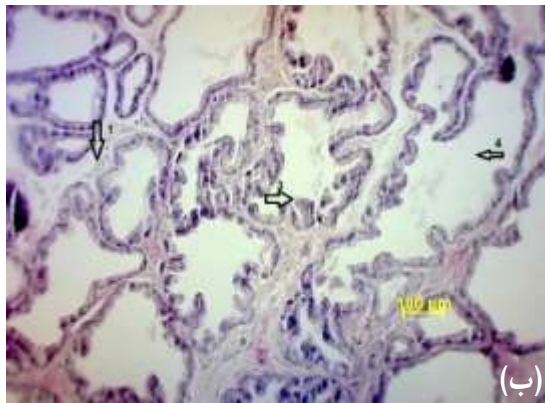
اندیس استرس اکسیداتیو

ظرفیت اکسیدانی تام سرم در سایر گروه‌ها نسبت به گروه سالم افزایش معنی‌دار ($p < 0/05$) پیدا کرد اما ویتامین D₃ ظرفیت اکسیدانی تام را به صورت معنی‌داری ($p < 0/05$) کاهش داد. القاء پروستاتیت منجر به کاهش معنی‌دار ($p < 0/05$) ظرفیت آنتی اکسیدانی تام سرم در موش‌های صحرایی گروه درمان شده و نشده نسبت به گروه سالم شد. نتایج حاصل از اندازه‌گیری سرم در موش‌های صحرایی گروه پروستاتیت بدون درمان اندیس استرس اکسیداتیو نسبت به گروه سالم افزایش معنی‌داری ($p < 0/05$) پیدا کرد که پس از تجویز سرنیلتون و ویتامین D₃ کاهش معنی‌داری ($p < 0/05$) در میزان این اندیس مشاهده گردید (جدول ۲).

جدول ۲- مقایسه وزن، اندیس پروستات و برخی پارامترهای بیوشیمیایی سرم در چهار گروه تحت آزمایش

| متغیر تیمار | سالم + روغن کنجد | پروستاتیت + روغن کنجد | پروستاتیت + سرنیلتون | پروستاتیت + ویتامین D ₃ |
|---|------------------|-----------------------|----------------------------|------------------------------------|
| وزن (گرم) | ۱۷۵ ± ۱۲/۷ | ۲۶۳/۱۶ ± ۲۱/۱* | ۲۳۲/۷۶ ± ۱۳/۷ [#] | ۲۴۸/۳ ± ۱۵/۵ [#] |
| اندیس پروستات (میلی‌گرم/گرم) | ۱/۵ ± ۰/۲ | ۲/۷ ± ۰/۲* | ۲/۰ ± ۰/۲ ^{#*} | ۱/۹ ± ۰/۲ ^{#*} |
| اوره (میلی‌گرم/دسی‌لیتر) | ۱۸/۵ ± ۱/۵ | ۵۴ ± ۱۳/۶* | ۴۸/۶ ± ۲/۲* | ۴۶ ± ۵/۶* |
| کراتینین (میلی‌گرم/دسی‌لیتر) | ۰/۴۷ ± ۰/۰ | ۰/۹۳ ± ۰/۲* | ۰/۶۱ ± ۰/۰ [#] | ۰/۴۹ ± ۰/۰ [#] |
| کلسیم (میلی‌گرم/دسی‌لیتر) | ۹/۹ ± ۰/۶ | ۵/۴ ± ۳/۷* | ۷/۴ ± ۱/۱ | ۸/۸ ± ۰/۹ [#] |
| ظرفیت اکسیدانی تام (میکرومول آب‌اکسیژنه/لیتر) | ۱۶/۲ ± ۱/۶ | ۲۴/۶ ± ۱/۶* | ۲۱/۲ ± ۳/۱* | ۲۰/۴ ± ۱/۸ ^{#*} |
| ظرفیت آنتی اکسیدانی تام (میلی‌مول تام/لیتر) | ۷/۶ ± ۱/۸ | ۴/۱ ± ۱/۹* | ۵/۲ ± ۰/۵* | ۵/۶ ± ۰/۵* |
| اندیس استرس اکسیداتیو (میکرومول آب‌اکسیژنه/ میلی‌مول تام) | ۲/۲ ± ۰/۴ | ۵/۹ ± ۰/۵* | ۴/۱ ± ۱/۱ ^{#*} | ۳/۶ ± ۰/۳ ^{#*} |

*: اختلاف آماری معنی‌دار با گروه سالم با $p < 0/05$ و #: اختلاف معنی‌دار با گروه پروستاتیت بدون درمان با $p < 0/05$.



شکل ۱- نمای میکروسکوپی از بافت پروستات موش‌ها در ۴ گروه مطالعه. تصاویر با مقیاس ۱۰۰ میکرون و بزرگنمایی ۴۰ برابر نشان داده شده است. (الف) گروه سالم؛ وجود ترشحات یکنواخت و ساختار منظم، عدم وجود هیپرپلازی و سلول‌های التهابی. (ب) گروه مبتلا به پروستاتیت مزمن غیرباکتریایی درمان نشده؛ عدم وجود ترشحات و یا ترشحات کم در آسینی‌ها، ساختار نامنظم، وجود هیپرپلازی شدید دیواره‌ی آسینی‌ها و حضور سلول‌های التهابی مشاهده می‌شود. (ج) گروه مبتلا به پروستاتیت مزمن غیرباکتریایی درمان شده با سرنیلتون؛ وجود ترشحات یکنواخت‌تر و ساختار منظم، عدم وجود و یا وجود هیپرپلازی و سلول‌های التهابی به میزان کمتر مشاهده می‌شود. (د) گروه مبتلا به پروستاتیت مزمن غیرباکتریایی درمان شده با ویتامین D₃؛ وجود ترشحات یکنواخت‌تر و ساختار منظم، عدم وجود و یا وجود هیپرپلازی و سلول‌های التهابی به میزان کمتر مشاهده می‌شود.

کاهش فضای درون لومن گردید. ترشحات درون لومن کاملاً پر نبود و گاهی هیچ‌گونه ترشحاتی دیده نمی‌شد که این نشان‌دهنده نقص در عملکرد سلول بود. هیپرپلازی آنقدر زیاد بود که لومن جمع شده بود. اینفلتراسیون بارزی بین لوبول‌ها مشاهده شد که حاکی از حضور سلول‌های التهابی می‌باشد. عروق خونی متسع و پرخونی در فضای بین لومن مشهود بود. گاهی سلول‌های التهابی به داخل لومن نیز نفوذ کرده که شدت التهاب را نشان می‌دهد (شکل ۱ب). در موش‌های صحرایی گروه مبتلا به پروستاتیت که در طول دوره‌ی درمان قرص سرنیلتون محلول در روغن کنجد را به صورت خوراکی دریافت کرده بودند، هیپرپلازی با شدت کمتر به طوری که چین‌خوردگی از شعاع لومن کمتر بود. ترشحات درون لوبول حضور داشت. فضای بین لوبول‌ها یکنواخت‌تر و سلول‌های التهابی اندکی

مقایسه کیفی و کمی نتایج هیستوپاتولوژی بافت پروستات

در موش‌های صحرایی گروه سالم حضور ترشحات یکنواخت و یکدست در اغلب آسینی‌های ترشحاتی حجم وسیعی از داخل لومن را پر کرده بود که نشان‌دهنده‌ی عملکرد صحیح واحدهای ترشحاتی می‌باشد. همچنین فضاها همبند بین لوبول‌ها حاوی ماتریکس خارج سلولی یکنواخت می‌باشد و رشته‌ها و سلول‌های التهابی در آن‌ها مشاهده نمی‌شود (شکل ۱الف). در موش‌های صحرایی گروه دو مبتلا به پروستاتیت مزمن بدون درمان که در طول دوره درمان تنها روغن کنجد را به صورت خوراکی دریافت کرده بودند، هیپرپلازی شدید سلول‌های مکعبی دیواره‌ی لومن به صورت چین‌خوردگی به سمت داخل لومن مشاهده شد که این چین‌خوردگی باعث

اتصال با گیرنده‌ی خود در سلول‌های T می‌تواند فعالیت سلول‌های Th₁ را مهار کند و در نتیجه باعث آزادسازی اینترلوکین ۲^{۱۰}، اینترفرون گاما و فاکتور نکروزکننده تومورآلفا^{۱۱} و تاخیر در پیشرفت بیماری‌های خودایمن التهابی مزمن شود. علاوه بر این، می‌تواند تمایز سلول‌های تک‌هسته‌ای را در ماکروفاژها افزایش داده و باعث تولید کموکین و کنترل عفونت گردد. همچنین ویتامین D باعث تکثیر سلول B و ترشح ایمونوگلوبولین E و M می‌شود که این فرآیند منجر به تشکیل سلول‌های B خاطره و افزایش آپوپتوز می‌گردد [۱۴]. نقش سیگنالی ویتامین D بر تمایز مونوسیت یا ماکروفاژ، عملکرد لنفوسیت‌های T و تولید سیتوکین در مطالعات مختلف مطرح شده است. سیکلواکسیژناز-۲^{۱۲} آزمی است که سنتز پروستاگلاندین را کاتالیز می‌کند، و در جراحات التهابی پیش‌ساز سرطان در پروستات، کارسینومای پروستات، و ماکروفاژهای توموری و سایر سلول‌های نفوذی در محیط پروستات بیش از حد بیان می‌شود [۱۵]. بنابراین در این مطالعه برای اولین بار به بررسی تاثیر ویتامین D₃ بر مدل تجربی پروستاتیت مزمن غیرباکتریایی القاشده با کاراجینیان در موش صحرایی پرداخته شد.

با در نظر گرفتن این نکته که نفوذ گلبول‌های سفید به داخل پروستات و هیپرپلازی اپی‌تلیال ناشی از پروستاتیت مزمن غیرباکتریایی منجر به افزایش وزن پروستات و اندیس پروستات می‌گردند، معیار اصلی جهت تشخیص التهاب پروستات، محاسبه‌ی وزن پروستات و اندیس پروستات است. در مطالعه‌ی ما القاء پروستاتیت مزمن به‌طور معنی‌داری باعث افزایش وزن پروستات و اندیس پروستاتیت در گروه سالم نسبت به گروه پروستاتیت بدون درمان گردید اما پس از درمان با سرنیلتون و ویتامین D₃ کاهش معنی‌داری در اندیس پروستات مشاهده گردید که بیانگر اثر حفاظتی آن‌ها در کاهش التهاب و بهبود پروستاتیت می‌باشد. میزان کاهش این اندیس در گروه مبتلا به پروستاتیت مزمن غیرباکتریایی درمان شده با ویتامین D₃ بیشتر از گروه درمان شده با سرنیلتون بود. این تفاوت می‌تواند احتمالاً مربوط به مکانیسم عمل گسترده‌تر ویتامین D₃ بر درمان پروستاتیت مزمن غیرباکتریایی باشد. به‌نظر می‌رسد که

حضور داشت (شکل ۱ ج). در موش‌های صحرایی گروهی که پروستاتیت القاشده و در طول دوره‌ی درمان قرص ویتامین D₃ محلول در روغن کنجد را به‌صورت خوراکی دریافت کرده بودند، حضور ترشحات یکنواخت درون لومن، حضور اندکی سلول‌های بین لومن‌ها و کاهش هیپرپلازی و نفوذ به درون لومن دیده می‌شود (شکل ۱ د).

در این مطالعه هر لام تهیه شده در ۱۰ شان میکروسکوپی با بزرگنمایی ۱۰۰ مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج حاصل از آنالیزمقایسه‌ی میانگین رتبه‌های اندیس‌های هیستوپاتولوژی توسط آزمون آماری غیرپارامتری کروس کالوالیس افزایش آماری معنی‌داری ($p < 0/05$) در گروه مدل پروستاتیت بدون درمان نسبت به گروه سالم در تمام پارامترهای اندازه‌گیری شده مشاهده گردید. همچنین در گروه درمان شده با ویتامین D₃ شاهد کاهش میانگین در پارامترهای هیپرپلازی، التهاب، عملکرد و مجموع هیپرپلازی و التهاب بودیم اما این کاهش به‌صورت معنی‌داری نبوده است. در گروه درمان شده با سرنیلتون شاهد کاهش معنی‌داری ($p < 0/05$) در پارامتر هیپرپلازی نسبت به گروه سالم بودیم. در حالی که سایر پارامترها نسبت به گروه پروستاتیت کاهش یافتند اما این کاهش معنی‌دار نبود (جدول ۳).

بحث

در سال‌های اخیر، شواهد اپیدمیولوژی و آزمایشگاهی نشان داده‌اند که کمبود ویتامین D₃ با شروع و پیشرفت بسیاری از بیماری‌های مزمن در ارتباط است. مطالعات اپیدمیولوژی گذشته‌نگر نشان داده‌اند که سطوح ویتامین D₃ کمتر از ۲۰ نانوگرم در میلی‌لیتر خطر ابتلا به سرطان پروستات را ۳۰ تا ۵۰٪ افزایش می‌دهد و موجب مرگ‌ومیر بالا در این سرطان‌ها می‌شود. کاهش ویتامین D₃ تکثیر سلولی را ترغیب می‌کند و آپوپتوز را در سلول‌های سالم پروستات کاهش می‌دهد، در حالی که سلول‌های پروستات گیرنده‌های ویتامین D₃ را بیان می‌کنند. بعلاوه، مطالعات اپیدمیولوژی نشان دادند خطر هیپرپلازی خوش‌خیم علامتی در مردان با استفاده از مکمل ویتامین D₃ تا حدود کمی کاهش می‌یابد [۱۳].

بسیاری از سلول‌های ایمنی بدن انسان مانند مونوسیت‌ها، ماکروفاژها، سلول‌های دندریتیک، سلول‌های T و سلول‌های B، گیرنده ویتامین D₃ را بیان می‌کنند. ویتامین D₃ پس از

¹⁰ Interleukin-2

¹¹ Tumor necrosis factor- α

¹² COX-2

جدول ۳- مقایسه میانگین رتبه‌های پارامترهای هیستوپاتولوژی در چهار گروه تحت آزمایش

| تیما | پارامترها | هایپرپلازی | التهاب | عملکرد ترشچی | هایپرپلازی + التهاب |
|------------------------------------|-----------|------------|--------|--------------|---------------------|
| سالم + روغن کنجد | ۳/۲۰ | ۳/۰۰ | ۳/۰۰ | ۳/۰۰ | ۳/۰۰ |
| پروستاتیت + روغن کنجد | ۱۶/۷۵* | ۱۷/۰۰* | ۱۸/۵۰* | ۱۷/۰۰* | ۱۷/۲۵* |
| پروستاتیت + سرنیلتون | ۱۵/۰۸* | ۹/۵۰ | ۱۱/۵۰ | ۱۲/۲۵ | ۱۲/۲۵ |
| پروستاتیت + ویتامین D ₃ | ۹/۵۸ | ۱۱/۱۷ | ۱۱/۳۳ | ۱۰/۵۸ | ۱۰/۵۸ |

* اختلاف آماری معنی‌دار با گروه سالم با $p < 0/05$.

از میان سیتوکین‌ها و کموکین‌ها، اینترلوکین-۸ مطمئن‌ترین و پیش‌بینی‌کننده‌ترین جایگزین برای تشخیص شرایط التهابی پروستات مانند پروستاتیت مزمن غیرباکتریایی و هایپرپلازی خوش خیم پروستات باشد. درمان بیماران مبتلا به پروستاتیت مزمن غیرباکتریایی با سرنیلتون باعث کاهش اینترلوکین-۸ می‌شود و به‌علاوه کاهش این سیتوکین می‌تواند نشان‌گر مناسبی برای پاسخ به درمان باشد [۱۶].

نتایج کنونی با نتایج هیستوپاتولوژی سازگار است. نتایج هیستوپاتولوژی اختلاف معنی‌داری در اینفیلتراسیون شدید گلوبول‌های سفید، هایپرپلازی سلول‌های دیواره‌ی آسینی‌ها، فیروز بینابینی و کاهش عملکرد ترشچی درون آسینی در گروه پروستاتیت بدون درمان نسبت به گروه سالم را نشان داد. در حالی که در گروه‌های درمانی با سرنیلتون و ویتامین D₃ شاهد مهار پارامترهای ارزیابی‌شده‌ی هیستوپاتولوژی بودیم اما این اختلاف معنی‌دار نبود. که با نتایج حاصل از موتریج^{۱۳} و همکاران همخوانی داشت [۱۷]. آن‌ها به ارزیابی تأثیر خاموشی رسپتور ویتامین D بر تظاهرات پروستاتیت اتوایمیون در موش‌های دیابتی غیرچاق^{۱۴} پرداختند و نیز پتانسیل آنالوگ جدید ویتامین D با نام TX527 را بر تظاهرات این بیماری ارزیابی کردند. نتایج مطالعه آن‌ها نشان داد که موش‌هایی که رسپتور ویتامین D در آن‌ها خاموش شده بود بیماری شدیدتری را هم به لحاظ بافت‌شناسی و هم از نظر واکنش‌پذیری سلول‌های ایمنی نشان دادند. استفاده از آنالوگ ویتامین D مزیت مشخصی در درمان پروستاتیت اتوایمیون نداشت.

القاء تجربی پروستاتیت مزمن غیرباکتریایی در موش‌های صحرایی وضعیت اکسیدانی و آنتی‌اکسیدانی تام سرم را به

ترتیب افزایش و کاهش داد و اندیس استرس اکسیداتیو را نیز افزایش داد. با تجویز خوراکی ویتامین D₃ روزانه برای ۱۴ روز وضعیت اکسیدانی تام، آنتی‌اکسیدانی تام و اندیس استرس اکسیداتیو بطور معنی‌داری بهبود یافت. تجویز سرنیلتون نیز تقریباً نتایج مشابهی با تجویز ویتامین D₃ داشت، هرچند که ویتامین D₃ اثرات به مراتب بهتری را نشان داد. به‌خوبی مشخص شده است که ویتامین D به گیرنده هسته‌ای خود (VDR^{۱۵}) درون سلول متصل می‌شود و بیان ژن مورد نظر را تنظیم می‌کند. بنابراین ویتامین D می‌تواند استرس اکسیداتیو را از طریق تنظیم بیش از حد گلوکوکورتیکوئیدها و سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی سلولی مثل گلوکوکورتیکوئیدها و سوپراکسید دیسموتاز کاهش دهد. به‌علاوه ویتامین D می‌تواند ترشح گونه‌های فعال اکسیژن را متوقف سازد. مطالعات جدید نشان داده اند که مکمل ویتامین D بطور مفیدی بیومارکرهای استرس اکسیداتیو را کاهش می‌دهد [۱۸].

سطح سرمی کلسیم در گروه مبتلا به پروستاتیت درمان نشده نسبت به گروه سالم کاهش قابل‌ملاحظه‌ای نمود. هر دو نوع سلول نرمال و سرطانی پروستات دارای گیرنده سنجش کلسیم هستند، یک گیرنده همراه با پروتئین G که بوسیله کلسیم خارج سلولی فعال می‌شود. سلول‌های پروستات کانال‌های وابسته به کلسیم را نیز بیان می‌کنند که تکثیر سلولی را از طریق کنترل ورود کلسیم به‌داخل سلول‌ها تنظیم می‌کنند [۱۹]. پس از تجویز ویتامین D₃ میزان کلسیم سرم افزایش قابل توجهی یافت. تجویز سرنیلتون باعث افزایش سطح سرمی کلسیم گردید اما نسبت به تجویز ویتامین D₃ در موش‌های صحرایی که پروستاتیت مزمن باکتریایی تجربی در آن‌ها القاء شده بود، اثر بخشی بیشتری نداشت. شاید بتوان

¹³ Motrich¹⁴ Non-obese diabetic rats¹⁵ Vitamin D Receptor

نتیجه‌گیری

مطالعه‌ی ما برای نخستین بار نشان داد که ویتامین D₃ با داشتن خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی می‌تواند اثرات حفاظتی بر پروستاتیت مزمن غیرباکتریایی در موش‌های صحرایی داشته باشد. جهت اعتباربخشی نتایج حاصل از این تحقیق نیاز است تا مطالعات تکمیلی و ارزیابی وضعیت مبتلایان پس از قطع درمان با این ویتامین صورت پذیرد.

سپاسگزاری

نویسندگان از مدیر محترم پژوهش دانشکده دامپزشکی، پرسنل محترم آموزشکده دامپزشکی دانشگاه سمنان و همکاران گرامی آقای دکتر اشکان جلیلی جوان و آقای مهندس مرتضی صابری کارشناس آزمایشگاه تهیه مقاطع جهت همکاری در انجام این مطالعه تقدیر و تشکر به عمل می‌آورند.

تعارض در منافع

نویسندگان این مقاله تعارض در منافع ندارند.

نقش نویسندگان

ف،ی،ر: انجام مطالعه؛ م،ا،ه: ایده، طراحی، نظارت بر حسن اجرای مطالعه و نگارش مقاله؛ ع،ج،و: آنالیز آماری؛ ح،م: کمک در انجام مطالعه.

فهرست منابع

- [1] Alshahrani S, McGill J, Agarwal, A, Prostatitis and male infertility. *J Reprod Immunol* 100 (2013) 30-36.
- [2] Manchanda PK, Kibler AJ, Zhang M, Ravi J, Bid HK, Vitamin D receptor as a therapeutic target for benign prostatic hyperplasia. *Indian journal of urology*. *Indian J Urol* 28 (2012) 377-381.
- [3] MacDonald R, Ishani A, Rutks I, Wilt TJ, A systematic review of Cernilton for the treatment of benign prostatic hyperplasia. *BJU Int* 85 (2000) 836-841.
- [4] Pitman MS, Cheetham PJ, Hruby GW, Katz AE, Vitamin D deficiency in the urological population: a single center analysis. *J Urol* 186 (2011) 1395-1399.

علت هایپوکلسمی را ازوتمی پس کلیوی ناشی از پروستاتیت دانست. سطح سرمی کلسیم پس از تجویز ویتامین D₃ و سرنیلتون بهبود یافت. هم ویتامین D₃ و هم سرنیلتون باعث کاهش التهاب پروستات شدند. از سوی دیگر در اثر التهاب غلظت سرمی آلبومین که از پروتئین‌های منفی فاز حاد محسوب می‌شود کاهش می‌یابد و شاید به همین دلیل در اثر پروستاتیت غلظت کلسیم متصل به آلبومین (و نه غلظت کلسیم یونیزه) کاهش می‌یابد.

در همین راستا غلظت سرمی کراتینین و ازت اوره خون در گروه پروستاتیت بدون درمان افزایش محسوسی پیدا کرد که پس از درمان با ویتامین D₃ و سرنیلتون تا حدودی غلظت سرمی آنالیت‌های نامبرده کاهش یافت. همانگونه که بیان شد علت این امر می‌تواند ناشی از ازوتمی پس کلیوی باشد ولی به‌خاطر اینکه درمان با ویتامین D₃ و سرنیلتون در بازه زمانی کوتاهی صورت گرفت افت کراتینین و ازت اوره قابل ملاحظه نبود. در مطالعه‌ای که توسط جنا¹⁶ و همکاران در سال ۲۰۱۶ صورت گرفت، نشان داده شد که بیماران مبتلا به تورم خوش‌خیم پروستات با داشتن اختلالات کلیوی به‌طورکلی افزایش سطح سرمی کراتینین را نشان می‌دهند و در اکثر موارد برای غربال ابتدایی این بیماری سنجش سطح سرمی کراتینین توصیه‌شده است [۲۰] نتایج مطالعه حاضر با نتایج این محققین در یک راستا است.

- [5] Bazyar H, Haidari F, Mohammad Shahi M, The role of vitamin D on levels of oxidative stress and inflammatory factors in patients with multiple Sclerosis. *Sci J Kurd Univ Med Sci* 23 (2018) 21-34 [In Persian].
- [6] Ke CY, Yang FL, Wu WT, Chung CH, Lee RP, Yang WT, Subeq YM, Liao KW, Vitamin D3 reduces tissue damage and oxidative stress caused by exhaustive exercise. *Int J Med Sci* 13 (2016) 147.
- [7] Lu CF, Meng XH, Li HB, Wu H, Dou ZL, Effect of phellodendron chinense extract on carrageenan-induced chronic prostatitis in rats. *Trop J Pharm Res* 14 (2015) 257-262.
- [8] Aral K, Alkan BA, Saraymen R, Yay A, Şen A, Önder GÖ, Therapeutic effects of systemic vitamin k2 and vitamin d3 on gingival inflammation and alveolar bone in rats with experimentally induced periodontitis. *J Periodontol* 86 (2015) 666-673.

¹⁶ Jena

- [14] Tarbali S, Khezri, S, Vitamin D3 attenuates oxidative stress and cognitive deficits in a model of toxic demyelination. *Iran J Basic Med Sci* 19 (2016) 80.
- [15] Yousefi S, Ahmadi-hamedani M, Narenji Sani R, Moslemi HR, Ghafari Khaligh S, Darvishi MM., Pentoxifylline mitigates detrimental impact of chronic nonbacterial prostatitis on sperm characteristics, reproductive hormones and histopathology in rats. *Androl* 50 (2018) e12932.
- [16] Erel O, A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clin Biochem* 37 (2004) 277-285.
- [17] Erel O, A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem* 38 (2005) 1103-1111.
- [18] Garland CF, Garland FC, Gorham ED, Lipkin M, Newmark H, Mohr SB, Olick MF, The role of vitamin D in cancer prevention. *Am J Public Health* 96 (2006) 252-261.
- [19] Thien R, Baier K, Pietschmann P, Peterlik M, Interactions of 1 α , 25-dihydroxyvitamin D3 with IL-12 and IL-4 on cytokine expression of human T lymphocytes. *J Allergy Clin Immunol* 116 (2005) 683-689.
- [20] Wang W, Bergh A, Damber JE, Cyclooxygenase-2 expression correlates with local chronic inflammation and tumor neovascularization in human prostate cancer. *Clin Cancer Res* 11 (2005) 3250-3256.
- [9] Penna G, Mondaini N, Amuchastegui S, Degli Innocenti S, Carini M, Giubilei G, Fibbi B, Colli E, Maggi M, Adorini L, Seminal plasma cytokines and chemokines in prostate inflammation: interleukin 8 as a predictive biomarker in chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome and benign prostatic hyperplasia. *Eur Urol* 51 (2007) 524-533.
- [10] Motrich RD, van Etten E., Depovere J, Riera CM, Rivero VE, Mathieu C, Impact of vitamin D receptor activity on experimental autoimmune prostatitis. *J Autoimmun* 32 (2009) 140-148.
- [11] Sepidarkish M, Farsi F, Akbari-Fakhrabadi M, Namazi N, Almasi-Hashiani A, Hagiagha AM, Heshmati J, The effect of vitamin D supplementation on oxidative stress parameters: a systematic review and meta-analysis of clinical trials. *Pharmacol Res* 139 (2019) 141-152.
- [12] Skinner HG, Schwartz GG, The relation of serum parathyroid hormone and serum calcium to serum levels of prostate-specific antigen: a population-based study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 18 (2009) 2869-2873.
- [13] Jena AK, Vasisht K, Sharma N, Kaur R, Dhingra MS, Karan M, Amelioration of testosterone induced benign prostatic hyperplasia by *Prunus* species. *J Ethnopharmacol* 190 (2016) 33-45.

Research paper

The effect of Vitamin D₃ on biochemical and histopathological changes, and oxidative stress in male Wistar rats induced by chronic non-bacterial prostatitis

Fatemeh Yousefzadeh Roshan¹, Mahmood Ahmadi-hamedani¹,
Abbas Javaheri Vayeghan², Hamid Reza Moslemi¹

¹Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Semnan University, Semnan, Iran

²Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Semnan University, Semnan, Iran

Received: 13 January 2020

Accepted: 4 April 2020

Abstract

Background and aims: Inflammatory cytokines and oxidative stress play an important role in the pathogenesis of non-bacterial chronic prostatitis. Given the role of vitamin D₃ in balancing inflammatory and anti-inflammatory cytokines and having antioxidant properties, this study aimed to evaluate the effect of vitamin D₃ on biochemical, histopathological and oxidative changes in Wistar male rats induced by chronic non-bacterial prostatitis (CNP).

Methods: Twenty four adult male Wistar rats were divided into healthy, CNP without treatment, and two treatment groups including CNP + cernilton and CNP + D₃ groups. CNP was induced by single intraprostatic injection of 3% carrageenan. Rats received orally cernilton 100 mg/kg and Vitamin D₃ 5µg/kg one week after CNP induction for 21 days. Prostatic index (PI), Oxidative index (OI), blood urea nitrogen (BUN), creatinine, calcium and histopathological changes were compared between groups.

Results: Oral administration of cernilton and Vitamin D₃ in the treatment groups significantly ($p < 0.05$) decreased prostatic and oxidative stress indices and serum creatinine compared to the untreated group. Vitamin D₃ significantly increased ($p < 0.05$) serum calcium concentration compared to the untreated group. No significant differences were observed between the treatment groups and the untreated group in the blood urea nitrogen concentration. In a quantitative evaluation of histopathological results, a significant decrease in mean cell wall hyperplasia, inflammation, and total hyperplasia and inflammation was observed in the vitamin D₃ treated group compared to the untreated group.

Conclusion: Our study indicates that Vitamin D₃ shows protective effects on CNP induced by carrageenan in rats due to its antioxidant and anti-inflammatory properties.

Keywords: Oxidative stress, Chronic nonbacterial prostatitis, Carrageenan, Vitamin D₃, Histopathology

Please cite this article as follows:

Yousefzadeh Roshan F, Ahmadi-hamedani M, Javaheri Vayeghan A, Moslemi HR, The effect of Vitamin D₃ on biochemical and histopathological changes, and oxidative stress in male Wistar rats induced by chronic non-bacterial prostatitis. *Iran J Physiol Pharmacol* 3 (2019) 185-195.

*Corresponding author: ahmadi.hamedani@semnan.ac.ir (ORCID ID: 0000-0002-8281-3720)