

## خواص بیوفارماکولوژیک رسوراترول

سیران کاکه برای<sup>۱</sup>، دکتر الهام نیرومند<sup>۲</sup>، دکتر مظفر خزاعی<sup>۳</sup>

### مقاله مروری

#### چکیده

**مقدمه:** رسوراترول یک فیتوآلکسین پلی فنولی گیاهی است که در برخی گیاهان از جمله بادام زمینی، انگور و تمشک به وفور یافت می‌شود. رسوراترول یکی از ملکول‌های زیستی مهم با خواص بیوفارماکولوژیک متعدد و متنوع است. تاکنون تحقیقات آزمایشگاهی و حیوانی متعددی در مورد آن انجام و کاربردهای مفیدی برای آن بیان شده است. هدف این مطالعه، بررسی و معرفی خواص متنوع این ترکیب زیستی مهم می‌باشد.

**روش‌ها:** با کلید واژه‌ی Resveratrol در بانک‌های اطلاعاتی معتبر مانند ISI، Scopus، Pubmed و جستجو انجام شد و پس از بررسی اولیه‌ی عناوین توسط تیم تحقیق و تعیین مقالات مشترک، خلاصه‌ی مقالات منتخب، تفکیک و در نهایت، حدود ۱۰۰ مقاله مورد مطالعه و بررسی قرار گرفتند. اطلاعات متعدد به طور مکرر بازبینی و خلاصه شدند و پس از دسته‌بندی در متن مقاله‌ی حاضر ارایه گردیدند.

**یافته‌ها:** رسوراترول اثرات آنتی‌اکسیدانی دارد و در درمان و کاهش ابتلا به بیماری‌های قلبی - عروقی، چاقی و دیابت تأثیر دارد. همچنین از رشد انواع سرطان‌ها مثل سرطان معده، ریه، پستان، پروستات، کبد و کولورکتال جلوگیری می‌کند و دارای خواص ضد التهابی، ضد پیری و ضد آلزایمری است و به عنوان تنظیم کننده‌ی چرخه و مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده (آپوپتوز) عمل می‌کند. رسوراترول دارای خواص شبه استروژنی قوی است.

**نتیجه‌گیری:** رسوراترول یک ملکول زیستی با خواص پزشکی متنوع است که به طور روزمره تحقیقات بیشتری در مورد آن انجام می‌شود و جایگاه مهم‌تری به خود اختصاص می‌دهد.

**واژگان کلیدی:** رسوراترول، آنتی‌اکسیدان، ضد سرطان، ضد دیابت

**ارجاع:** کاکه برای سیران، نیرومند الهام، خزاعی مظفر. خواص بیوفارماکولوژیک رسوراترول. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۳۰۸):

۱۸۹۶-۱۸۷۹

#### مقدمه

رسوراترول (Trans-۳,۵,۴-trihydroxystilbene) یک فیتوآلکسین پلی فنولی مشتق شده از گیاهان می‌باشد که در پاسخ به استرس‌های محیطی مانند تغییرات آب و هوا، قرار گرفتن در معرض ازن، نور خورشید، فلزات سنگین و عوامل عفونت‌زا مثل میکروارگانیسم‌های پاتوژن، به وسیله‌ی آنزیم استیلبن

سیتاز (Stilbene synthase) تولید می‌شود (۱). رسوراترول در حداقل ۷۲ گونه‌ی گیاهی وجود دارد و از طریق واکنش بین ۳ مولکول مالونیل کوآنزیم A و یک مولکول از کوماریل کوآنزیم A تشکیل می‌شود (۲).

ساختار ایزومری رسوراترول به دو شکل سیس و ترانس است. ایزومر ترانس، به علت ساختار غیر

۱- کارشناس ارشد، گروه علوم تشریحی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

۲- استادیار، گروه داخلی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

۳- استاد، مرکز تحقیقات باروری و ناباروری، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

### خواص فیزیکی و شیمیایی

رسوراترول به صورت پودر و به رنگ سفید مایل به زرد و با فرمول مولکولی  $C_{14}H_{12}O_3$ ، وزن مولکولی  $228/24 \text{ g/mol}$  و نقطه ذوب بین  $253-255^\circ\text{C}$  است (۱۲). رسوراترول یک ترکیب محلول در چربی است که در اتانول به میزان  $50^{-1} \text{ mg/ml}$  ( $200 \text{ mM}$ ) و در دی‌متیل سولفوکساید به میزان  $16^{-1} \text{ mg/ml}$  ( $70 \text{ mM}$ ) و در آب به میزان  $3^{-1} \text{ mg/100ml}$  ( $10$ ) و در  $0/13 \text{ mM}$  حل می‌شود (۵، ۱۱).

### جذب و متابولیسم

یکی از منابع رسوراترول، پوست انگور قرمز است که دارای  $50-100 \mu\text{g}$  در هر گرم وزن مرطوب آن است و این امر موجب غلظت به نسبت بالای رسوراترول در آب انگور قرمز می‌باشد (۱۱). در گیاهان، رسوراترول اغلب به شکل گلیکوزیدها (۳-O-b-d -glucosides) وجود دارد. دیگر اشکال کونژوگه‌های آن حاوی گروه‌های ۱-۲ متیل (Pterostilbene) و یک گروه سولفات (Trans-resveratrol-۳-sulfate) است (۱۲).

در انسان پس از جذب رسوراترول در کبد به وسیله آنزیم‌های فاز II کبدی به Trans-resveratrol-۳-O-glucuronide محلول در آب و Trans-resveratrol ۱-۳-sulfate متابولیزه می‌شود و اغلب از طریق ادرار دفع می‌گردد. رسوراترول موجود در پلاسما دارای نیمه‌عمر ۸-۱۴ دقیقه و متابولیت‌های آن در پلاسما دارای نیمه‌عمر حدود ۹/۲ ساعت است. به هر حال، جذب و میزان اثربخشی متابولیت‌های آن هنوز ناشناخته است (۱۳). در مقایسه با دیگر پلی‌فنول‌ها مانند Catechin و

قطبی دارای فعالیت بیولوژیکی بیشتری نسبت به نوع سیس است. ایزومر سیس، ناپایدار است و در دسترس نمی‌باشد (۳-۴). اگر ایزومر ترانس برای حداقل ۴۲ ساعت از نور محافظت و حداقل ۲۸ روز در pH ۱ تا ۷ نگهداری شود، پایدار است. در حالی که نوع سیس فقط در pH خنثی و بدون قرار گرفتن در معرض نور پایدار است (۵-۶). رسوراترول یک ترکیب حساس به نور است و اگر یک ساعت در معرض نور باشد، باعث تبدیل ۹۰-۸۰ درصد ایزومر ترانس به شکل سیس می‌شود (۴). همچنین گزارش شده است که نوع ترانس اگر تحت تأثیر اشعه‌ی ماورای بنفش قرار بگیرد، برای مدت ۱۲۰ دقیقه در طول موج  $366 \text{ nm}$  به میزان ۹۰/۶ درصد به نوع سیس تبدیل می‌شود (۳).

### منابع

اولین بار در سال ۱۹۳۹ در یک مقاله‌ی ژاپنی از Takaoka (۷) به رسوراترول اشاره شد که آن را از یک داروی پزشکی به نام Veratrum album استخراج کرده بود. این نام برگرفته از مشتقات Resorcinol است که از گونه‌های Veratrum می‌آید. در سال ۱۹۶۳ آن را از ریشه‌ی Polygoum cuspidatum گرفتند که یکی از غنی‌ترین منابع رسوراترول است و در طب سنتی ژاپن و چین کاربرد دارد (۸). رسوراترول در درختانی مانند اکالیپتوس و صنوبر نیز یافت می‌شود. همچنین در گیاهان خوراکی و میوه‌ها از جمله بادام زمینی، کره‌ی بادام زمینی، انگور به خصوص پوست انگور قرمز، تمشک، زغال اخته، توت و کاج سفید اسکاتلندی یافت می‌شود (۹-۱۱).

در انسان، رسوراترول به میزان ۲۴/۶ درصد در ادرار وجود دارد (۱۷، ۱۴). در حالی که میزان متابولیت‌های رسوراترول در پلاسمای موش بعد از تجویز داخل معدی آن فقط در حدود ۱/۵ درصد است (۱۶). همچنین پلی‌مورفیسم مربوط به جذب و میزان متابولیسم رسوراترول در کبد و روده در میان گونه‌های مختلف متفاوت است. جذب خوراکی رسوراترول در انسان در حدود ۷۵ درصد و به طور عمده از طریق انتشار از بافت پوششی است. متابولیسم گسترده‌ی آن در روده و کبد به طور قابل توجهی کمتر از ۱ درصد می‌باشد. عمده متابولیت‌های رسوراترول هم در ادرار و هم در پلاسما، گلوکورونید سولفات می‌باشد (۱۴).

### اثرات فیزیوپاتولوژیکی رسوراترول

#### اثرات ضد التهابی

التهاب بافت به عنوان یک عامل اپی ژنتیک در مراحل اولیه و پیشرفت سرطان یا القای آسیب اکسیداتیو، باعث تحریک رشد سلول می‌شود (۱). آنزیم سیکلواکسیژناز ۲ (COX-۲ یا Cyclooxygenase-۲) تبدیل اسید آراشیدونیک به پروستاگلاندین را کاتالیز می‌کند. پروستاگلاندین‌ها می‌توانند با تحریک تکثیر سلول‌های تومور، آغاز آنژیوژنز و سرکوب آپوپتوز را در طی پیشرفت سرطان، در مدل‌های آزمایشگاهی کشت سلول‌های انسانی و موش القا کنند. آنزیم سیکلواکسیژناز ۲ (COX-۲) در طی تبدیل اسید آراشیدونیک به پروستاگلاندین، باعث تولید گونه‌های اکسیژن فعال (ROS یا Reactive oxygen species) نیز می‌شود که علت مستقیم تخریب DNA ناشی از استرس اکسیداتیو می‌باشد. رسوراترول به طور

Quercetin، ترانس رسوراترول دارای بیشترین جذب و اثربخشی بعد از تجویز خوراکی آن در انسان است (۱۲).

استفاده از طیف گسترده‌ای از غلظت‌های رسوراترول اثرات بیولوژیکی متفاوتی بسته به نوع سلول و بافت ایجاد می‌کند. برای مثال، غلظت‌های بین ۳۲ nM و ۱۰۰ μM در شرایط آزمایشگاهی استفاده می‌شود. در مطالعات حیوانی، به طور معمول دوزهای بین ۵۰۰ mg/kg تا ۱ g/kg استفاده می‌شود (۱۴). در تجویز داخل معدی ۲۰ mg/kg ترانس رسوراترول به موش، حداکثر مقدار ۱/۲ μM در پلاسما ایجاد شد (۱۵).

در مطالعه‌ی دیگری، میزان غلظت پلاسمایی رسوراترول در موش‌های نر درمان شده با دوزهای ۳۰۰، ۱۰۰۰ و ۳۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن در روز، به ترتیب ۵۷۶، ۹۹۱ و ۲۷۲۸ نانوگرم بر میلی‌لیتر می‌باشد. در حالی که غلظت پلاسمایی در موش‌های ماده‌ی درمان شده با همین دوزها، به ترتیب ۳۳۳، ۷۰۴ و ۱۱۳۷ نانوگرم بر میلی‌لیتر برآورد شده بود (۱۶).

اثربخشی رسوراترول در انسان و موش به میزان جذب و متابولیسم آن بستگی دارد (۱۶). مطالعاتی که در شرایط زیستی درون بدن (In vivo) صورت گرفته‌اند، نشان می‌دهند که بیشترین میزان جذب رسوراترول یعنی ۷۰ درصد آن از طریق تجویز خوراکی است و بیشترین مقدار متابولیت‌های آن در پلاسما وجود دارد (۱۰). بعد از تجویز خوراکی در موش، بیشترین غلظت رسوراترول در مدفوع، ادرار، صفرا، پلاسما، معده و روده دیده می‌شود (۱۶، ۱۲).

آنزیم‌های فاز I کبدی نقش قابل توجهی در متابولیسم رسوراترول ندارند و بعد از تجویز خوراکی

جدید از سرطان پوست غیر ملانوم در ایالات متحده‌ی امریکا شناسایی می‌شود. اثرات رسوراترول در برابر اختلالات متعدد جلدی از جمله سرطان پوست، آزمایش شده است. کاربرد موضعی رسوراترول ( $25 \mu\text{mol}$ ) در مدل موش بدون مو SKH-1، به طور قابل توجهی اثرات فتوتوکسیسیته ناشی از اشعه‌ی ماورای بنفش با طول موج  $180 \text{ mJ/cm}^2$  (UV) را مهار می‌کند (۲۳). هیپرپلازی پوست ناشی از در معرض قرار گرفتن متناوب با اشعه‌ی UV ( $180 \text{ mJ/cm}^2$ ) به طور قابل توجهی در دوز  $10 \mu\text{mol}$  رسوراترول برای مدت ۳۰ دقیقه قبل از در معرض قرار گرفتن در برابر UV، مهار می‌شود (۲۵).

### سرطان سینه

سرطان سینه یکی از شایع‌ترین علل مرگ و میر در زنان و سومین سرطان شایع در سراسر جهان می‌باشد. عوامل ژنتیکی و محیطی نقش قابل توجهی را در پیشرفت سرطان سینه بازی می‌کنند (۲۶). رسوراترول بر اساس شباهت ساختاری به دی‌اتیل استیل بسترول که یک استروژن سنتتیک است، به عنوان یک فیتواستروژن نیز شناسایی شده است که می‌تواند به هر دوی گیرنده‌های  $\alpha$  و  $\beta$  متصل شود و عامل رونویسی وابسته به گیرنده‌ی استروژن را در سلول‌های سرطان سینه فعال کند (۲۶-۲۷).

رسوراترول در بسیاری از رده‌های سلولی سرطان سینه از جمله (Michigan cancer foundation-7) MCF-7 (گیرنده‌ی استروژن مثبت)، T47D (گیرنده‌ی استروژن منفی) به عنوان یک آگونیست قوی عمل می‌کند. در حالی که در برخی دیگر از

مستقیم فعالیت COX-2 را مهار و فعالیت ضد التهابی را در انسان و موش از طریق مسیره‌های مختلف که اغلب بر مهار COX-2 و COX-1 متمرکز می‌شوند، اعمال می‌کند (۱۸-۲۰). رسوراترول علاوه بر مهار بیان COX-2 و COX-1 از طریق سرکوب فعالیت  $\beta$  NF-Kappa (Nuclear factor-kappa  $\beta$ ) و کیناز I-K $\beta$  (Inhibitor of  $\beta$ )، باعث کاهش تولید پروستاگلاندین E $_2$  و شکل‌گیری ROS از لپو پلی‌ساکاریدهای سلول‌های میکروگلی فعال شده، می‌گردد (۲۱).

### فعالیت ضد سرطانی

اثرات قوی و ضد سرطانی رسوراترول در اوایل سال ۱۹۹۷ شناخته شد که از طریق القای تشکیل هیدروکربن‌های آروماتیک چند هسته‌ای (DMBA یا Dimethylbenz anthracene) از شروع و پیشرفت تومور در مدل‌های کشت رده‌های سلولی سرطانی جلوگیری می‌کند (۲۲، ۱). پس از آن، مطالعات گسترده‌ای در زمینه‌ی خواص ضد سرطانی رسوراترول بر روی سرطان‌های مختلف در مدل‌های مختلف موش از جمله سرطان پوست ایجاد شده از طریق مواد شیمیایی و یا اشعه‌ی UV (Ultraviolet) (۲۳)، سرطان‌های معده، کولورکتال، ریه، سینه، پروستات، کبد، فیروسارکوم، پانکراس، نوروبلاستوما و لوکمی صورت گرفت (۱، ۱۴، ۲۲، ۲۴).

### سرطان پوست

سرطان پوست یکی از شایع‌ترین نوع بدخیمی در انسان است و هر سال، بیش از یک میلیون مورد

و عفونت مزمن با هلیکوباکتر می‌باشد. رسوراترول به عنوان یکی از مهارکننده‌های تکثیر هلیکوباکتر پیلوری عمل می‌کند (۳۲). تعدادی از سلول‌ها در پاسخ به درمان رسوراترول، چرخه‌ی سلولی را متوقف می‌کنند و دچار آپوپتوز می‌شوند. در انواع رده‌های سلولی آدنوکارسینوما‌ی معده، سیگنال‌های آپوپتوزی داخل سلولی به وسیله‌ی رسوراترول تحریک می‌شود (۳۳). در سلول‌های سرطان کولون، رسوراترول باعث فعال شدن انواع کاسپازها و ایجاد آپوپتوز به دنبال آن می‌شود. همچنین، باعث تجمع پروتئین‌های پیش آپوپتوزی مانند Bax (BCL-2 associated x protein)، Bak (BCL-2 antagonist killer ۱) و انتشار Fas در غشای سلول می‌گردد. دوز  $100 \mu\text{M}$  رسوراترول به مدت ۴۸ ساعت، مرگ سلولی را در سلول‌های سرطانی کولورکتال القا می‌کند (۳۴).

### سایر خواص

پریودنتیت یک بیماری چند عاملی است که به وسیله‌ی عوامل بسیاری مانند میکروارگانیسم‌های دهانی، اختلالات ژنتیکی، استفاده از الکل و تنباکو، تغذیه، دیابت و استرس ایجاد می‌شود. رسوراترول به عنوان یک مهارکننده‌ی قوی التهاب است که خواص ضد التهابی آن همراه با مهار NF-K $\beta$  در LPS (Lipo poly saccharide) و TNF- $\alpha$  (Tumor necrosis factor-alpha) می‌باشد (۳۴، ۱۷). رسوراترول همچنین موجب القای گیرنده‌ی استروژنی و فعالیت سیگنال‌های ERK1/2 (Extracellular-signal-regulated kinases) می‌شود و نیز موجب افزایش بیان ژن استئوژنیک Runx2/cbfa1 - عامل رونویسی مهم در تمایز

رده‌های سلولی، رسوراترول فعالیت برابر یا کمتری نسبت به استرادیول از خود نشان می‌دهد (۲۸). در مطالعات دیگر گزارش شده است که رسوراترول به وسیله‌ی مهار لیگاند وابسته به Fas، رشد سلول‌های رده‌ی T4VD را مهار می‌کند و در دوزهای بیشتر از  $1 \mu\text{mol}$ ، به طور وابسته به دوز، رشد سلول‌های MCF-7 را نیز به وسیله‌ی آنتاگونیست کردن اثرات تحریکی  $17-\beta$  استرادیول متوقف می‌کند (۲۹). همچنین مکمل‌های رسوراترول، توسعه و رشد تومور پستان و متاستاز آن را در مدل موش ترانس ژنی HER12 کاهش می‌دهند (۳۰).

در موش بدون سیستم ایمنی (Nude)، دوز  $25 \text{ mg/kg/day}$  رسوراترول موجب کاهش رشد تومور، کاهش آنژیوژنز و افزایش آپوپتوز در رده‌ی سلولی MDA-MB-231 می‌شود (۳۰). Udenigwe و همکاران نشان دادند که تجویز  $625 \text{ mg/kg}$  رسوراترول در رژیم غذایی برای مدت ۲۸ هفته، آدنوکارسینوما‌ی پروستات را در موش ترانس ژن سرکوب می‌کند (۳۱). در مطالعه‌ی دیگری بر روی سلول‌های سرطان پستانی با متاستاز بالا (4T1)، اثرات مهارتی رسوراترول در دوزهای  $1-5 \text{ mg/kg}$  به صورت تجویز داخل صفاقی و برای مدت زمان ۲۳ روز مشاهده نشد. اگر چه رشد این سلول‌ها در مطالعات In vitro مهار شد (۲۹). تفاوت در آزمایش‌های زونوگرافت، هنوز هم بی‌پاسخ مانده است؛ اگر چه احتمال می‌رود که ناشی از انتخاب دوزهای نامناسب باشد.

### سرطان معده و کولورکتال

از لحاظ شاخص اتیولوژیکی اولیه، علل اصلی سرطان معده، قرار گرفتن در معرض مواد شیمیایی سرطان‌زا

پیگمانته‌ی شبکه‌ی را مهار می‌کند. همچنین فعالیت آنتی‌اکسیدانی رسوراترول می‌تواند همراه با جلوگیری از پیشرفت آترواسکلروز در انسان باشد (۳۷-۳۸).

استئوبلاست‌ها- می‌شود (۲۸). در یک مطالعه، این فرضیه بیان شد که رسوراترول می‌تواند نقش مهمی را در درمان پریودنتیت ایفا کند (۳۵).

### فعالیت آنتی‌اکسیدان

گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) به عنوان یک واسطه‌ی مهم در مکانیسم‌های سلولی مانند عبور سیگنال‌های سلولی و کنترل رونویسی اهمیت دارند، اما افزایش بیش از حد ROS ممکن است منجر به ایجاد تغییرات اکسیداتیو در ماکرومولکول‌های سلولی از جمله لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک شود. بر این اساس، منشأ قابل توجهی از بیماری‌های انسان، تغییرات سطح ROS است. شواهد نشان می‌دهد که رسوراترول هم دارای خاصیت مهار کنندگی رادیکال‌های آزاد و هم خواص آنتی‌اکسیدانی و افزایش تعدادی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیداتیو می‌باشد که توانایی آنتی‌اکسیدانی آن وابسته به خواص گروه‌های هیدروکسیل پلی‌فنولی آن است (۳۶).

بسیاری از ترکیبات دارای گروه‌های آروماتیک، می‌توانند به عنوان آنتی‌اکسیدان عمل کنند و با تشکیل رادیکال‌های آزاد از طریق ساختار رزونانسی خود از اکسیداسیون مداوم جلوگیری کنند. رسوراترول محتوی ۲ گروه آروماتیک است و به عنوان یک آنتی‌اکسیدان از استرس اکسیداتیو ایجاد شده‌ی ناشی از تخریب سلولی و بیماری جلوگیری می‌کند (۱۰). رسوراترول آپوپتوز ناشی از القای اکسیداتیو در رده‌های سلولی مختلف از جمله فیبروبلاست‌های موش Swiss-۳T۳ و فئوکروموسیتوما (PC۱۲) یا Pheochromocytoma ۱۲ و سلول‌های اپی‌تلیال

### اثرات قلبی-عروقی

بیماری‌های قلبی-عروقی یکی از علل مهم مرگ و میر در کشورهای توسعه یافته مانند ایالات متحده‌ی آمریکا می‌باشد. در حدود ۱۰۰ میلیون آمریکایی از برخی بیماری‌های عروقی از جمله فشار خون بالا، آترواسکلروز و بیماری‌های کرونری قلب رنج می‌برند. عوامل متعددی از جمله سن، جنس، عوامل ژنتیکی و همچنین شیوه‌ی زندگی بر روی بیماری‌های قلبی-عروقی تأثیر می‌گذارند (۳۹).

بیماری‌های قلبی-عروقی در میان مردم فرانسه با وجود استفاده از رژیم غذایی پر چرب و استعمال دخانیات، کمتر از میزان مورد انتظار است. این مشاهدات به کلمه‌ای به نام French paradox اشاره می‌کند که ممکن است به علت افزایش مصرف آب انگور همراه با رژیم غذایی این مردم باشد (۹). آب انگور قرمز، یکی از غنی‌ترین منابع رسوراترول می‌باشد که عوارض قلبی-عروقی را کاهش می‌دهد. در مطالعات انسانی رسوراترول موجب مهار پراکسیداسیون لیپوپروتئین با چگالی پایین، افزایش سطح HDL (High-density lipoprotein)، گشاد شدن عروق (شاید از طریق القای سنتز نیتریک اکساید)، مهار آندوتلین، تغییرات آنژیوژنیک و کاهش آریتمی بطنی و فعالیت آنتی‌ترومبین، جلوگیری از تجمع پلاکت و مهار یا کاهش ROS و کاهش فشار خون می‌شود (۴۰-۴۲).

حفاظت قلبی رسوراترول در انسان، جلوگیری از اکسیداسیون LDL (Low-density lipoprotein) می‌باشد. اکسیداسیون LDL می‌تواند باعث شکل‌گیری یک لایه‌ی چربی در شریان‌ها و ایجاد و توسعه‌ی آترواسکلروز شود (۴۰). تجویز رسوراترول همراه با رژیم غذایی غنی از چربی، میزان تجمع پلاکت را کاهش داد. همچنین جلوگیری از ورود کلسیم از طریق کانال‌های کلسیم به عنوان هدفی برای عملکرد رسوراترول در مهار تجمع پلاکتی ناشی از ترومبین پیشنهاد می‌شود (۴۲). با توجه به این که رسوراترول آنتی‌اکسیدان مهم در آب انگور است، در تعدادی از مطالعات اپیدمیولوژیکی میزان مرگ و میر ناشی از بیماری‌های قلبی - عروقی می‌تواند با مصرف روزانه‌ی ۱۵۰-۳۰۰ ml/day آب انگور قرمز کاهش یابد (۳۹).

### چاقی و دیابت

مطالعات طولانی مدت بر روی جوندگان، شواهد و مدارک قانع‌کننده‌ای را در خصوص اثرات مطلوب مصرف رسوراترول همراه با رژیم غذایی غنی از چربی ارائه می‌دهد. آزمایش‌ها بر روی موش با رژیم غذایی غنی از کالری به همراه تجویز رسوراترول به میزان ۰/۰۴ درصد برای مدت ۱۵ هفته نشان می‌دهد که رسوراترول باعث افزایش بقا و بهبود عملکرد حرکتی و تغییرات در بیان ژن‌های متعددی می‌گردد که در حیوانات با الگوی رژیم غذایی استاندارد یافت می‌شود. هر چند الگوی رژیم غذایی غنی از چربی به همراه تجویز رسوراترول در موش، کاهش کل محتوای چربی بدن به خصوص در اپیدیدیم، کانال اینگوینال و بافت چربی سفید خلف صفاقی را موجب می‌شود (۴۳).

رسوراترول تجویز شده در حیوانات، به طور قابل ملاحظه‌ای باعث کاهش شاخص چربی احشایی و شاخص توده‌ی کبدی می‌شود (۴۴). گزارش شده است که رسوراترول (دوز ۱۰ mg/kg به ازای وزن بدن)، برای مدت ۸ هفته در کاهش وزن بدن در موش‌های صحرایی چاق بی‌اثر است، هر چند کاهش اندکی در محتوای چربی بدن ایجاد می‌کند. علاوه بر این، در موش‌های صحرایی چاق، رسوراترول تغییرات سودمندی را بر پارامترهای لیپید ایجاد می‌کند. در این حیوانات، تجویز رسوراترول منجر به کاهش معنی‌داری در تری‌گلیسیریدهای پلاسما، اسیدهای چرب آزاد و کلسترول و تری‌گلیسیرید کبد در مقایسه با موش صحرایی چاق درمان نشده با رسوراترول را نشان می‌دهد. شواهد بیانگر آن است که رسوراترول نه تنها قادر است بخشی از اثرات زیانبار رژیم غذایی غنی از کالری را جبران کند؛ بلکه دارای توانایی القای تغییراتی مشابه در محدودیت دریافت کالری نیز می‌باشد (۴۵).

پیشنهاد می‌شود که رسوراترول اثرات خود را با مکانیسمی در ارتباط با بیان ژن‌های فسفریلاسیون اکسیداتیو و بیوژنز میتوکندری اعمال می‌کند. اطلاعات متعددی همچنین دلالت می‌کند که فعالیت پروتئین داستیلاز کننده (Deacetylase) وابسته به  $NAD^+$  (Nicotinamid adenine dinucleotide) و Sirt1 (Sirtuin1) هم نقش محوری در فعالیت رسوراترول دارد (۴۶-۴۷). تجویز داخل معدی رسوراترول (۵۰ mg/kg وزن بدن) به موش طبیعی غیر ناشتا، موجب کاهش انسولین خون در مدت زمان ۳۰ دقیقه شد. از طرف دیگر، تجویز داخل صفاقی رسوراترول به میزان ۳ mg/kg یا ۱۰ mg/kg وزن بدن

در موش ناشتا، پس از مدت زمان ۹۰ دقیقه به طور معنی‌داری موجب افزایش انسولین خون می‌شود (۴۸).

### رسوراترول و بیماری‌های تولید مثل

رسوراترول و ترانس رسوراترول، فیتواستروژن‌های قوی هستند که به طور طبیعی از ترکیبات غیر استروئیدی گیاهان مشتق می‌شوند و از نظر عملکردی و ساختاری شبیه استروژن‌هایی (استرادیول) هستند که در بدن تولید می‌شود. تحقیقات اخیر نشان می‌دهد که ترانس رسوراترول به گیرنده‌های استروژن انسانی متصل می‌شود و فعالیت استروژنی را در بدن افزایش می‌دهد (۲۸، ۴۹). Singh و همکاران گزارش کردند که رسوراترول وزن مرطوب رحم و نیز وزن رحم موش صحرایی را به طور معنی‌داری افزایش می‌دهد. همچنین تکثیر سلول‌های اپی‌تلیال و تعداد غدد اپی‌تلیالی رحمی افزایش می‌دهد که در نتیجه باعث افزایش فسفوریلاسیون (Protein kinase B) AKT، PTGS<sub>2</sub>، و پروتئین (Prostaglandin-endoperoxide synthase<sub>2</sub>) و پروتئین (X-linked inhibitor of apoptosis protein) XIAP می‌شود. همچنین نتایج این مطالعه نشان داد که رسوراترول دارای فعالیت استروژنیک برای هر دو ایزوفرم (Estrogen receptor alpha, beta) ESR (ESR<sub>1</sub>، ESR<sub>2</sub>) می‌باشد. بیان گیرنده‌ی پروژسترون A در حضور رسوراترول از این فرضیه حمایت می‌کند که رسوراترول در آندومتر به عنوان یک آنتی‌آپوپتوتیک از طریق تنظیم عوامل AKT، PTGS<sub>2</sub> و پروتئین XIAP عمل می‌کند و به طور مثبت در حاملگی و باروری ایفای نقش می‌کند (۵۰).

در یک مطالعه، تجویز رسوراترول همراه با قرص‌های پیشگیری از بارداری برای درمان دردهای

آندومتریوزی صورت گرفت. نتیجه‌ی این مطالعه نشان می‌داد که رسوراترول (۳۰ mg) همراه با مصرف قرص ضد بارداری بعد از استفاده در مدت ۲ ماه، در ۸۲ درصد از بیماران به طور معنی‌داری دردهای لگنی و دیسمنوره را در آن‌ها کاهش داده، همچنین بیان سیکلواکسیژناز ۲ و آروماتاز در بافت‌های آندومتر ۴۲ نفر از این بیماران برای بررسی آندومتریوز مورد مطالعه قرار گرفتند. با توجه به این که در ۱۶ نفر از این بیماران مصرف قرص‌های ضد بارداری به تنهایی و در ۲۶ نفر باقی‌مانده ترکیب رسوراترول با قرص ضد بارداری تجویز شده بود مهار هم آروماتاز و سیکلواکسیژناز ۲ به طور معنی‌داری در آندومتر بیماران مصرف‌کننده ترکیب رسوراترول + دروسپیرون (Drospirenone) در مقایسه با بیماران مصرف‌کننده قرص‌های پیشگیری از بارداری به تنهایی، بیشتر است (۵۱).

مطالعه‌ی Hsia و همکاران نشان داد که تجویز رسوراترول موجب مهار PGF- $2\alpha$  (Prostaglandin F<sub>2</sub> alpha)، اکسی‌توسین، استیل‌کولین و Carbachol القا شده در انقباضات رحم در موش می‌شود. رسوراترول موجب مهار انقباضات رحمی ایجاد شده به وسیله‌ی فعال کردن کانال‌های کلسیم و دپلاریزه کردن در پاسخ به افزایش KCL (Potassium chloride) می‌شود. همچنین موجب مهار افزایش PGF- $2\alpha$  القا شده در سلول‌های عضله‌ی صاف رحم در انسان و مهار PGF- $2\alpha$  القا شده در انقباضات رحمی در موش و در شرایط *In vivo* می‌شود. همچنین نتیجه این مطالعه نشان می‌دهد که رسوراترول افزایش داخل سلولی غلظت کلسیم القا شده به وسیله‌ی افزایش K و PGF- $2\alpha$  را سرکوب می‌کند (۵۲).



## سیستم عصبی مرکزی

رسوراترول به طور قابل توجهی باعث کاهش تشکیل پلاک در مغز حیوانات که یکی از علل ایجاد بیماری آلزایمر می‌باشد، می‌گردد (۵۳). در موش تجویز خوراکی رسوراترول شکل‌گیری پلاک‌های مغزی در هیپوتالاموس را به میزان ۹۰ درصد و در جسم مخطط (استریاتوم) ۸۹ درصد و در قسمت قشر میانی مغز به میزان ۴۸ درصد کاهش می‌دهد. در انسان نیز به صورت تئوری بیان شده است که دوز خوراکی رسوراترول، تشکیل پلاک‌های آمیلوئیدی بتا همراه با تغییرات سنی ایجاد شده در مغز را کاهش می‌دهد. محققین، تئوری مکانیسم جلوگیری از تشکیل پلاک توسط رسوراترول را توانایی باند شدن آن به یون مس (Copper) می‌دانند (۵۴-۵۵).

مطالعات قبلی نشان می‌دهد که افزایش سطح سیرتوئین ۱ در مغز جنین، نقش مهمی در رشد و توسعه مغز دارد. در موش بالغ، سیرتوئین ۱ (Sirtuin ۱) در مخچه، قشر مغز و در ناحیه هیپوکمپ یافت می‌شود. ارتباط بین بیماری آلزایمر و سیرتوئین ۱ به طور مشخصی مشهود است. در حقیقت، اشکال الیگومری محلول آمیلوئیدی بتا در خارج و در داخل سلول موجب آغاز و علائم بیماری آلزایمر می‌باشند (۵۵). نقش رسوراترول در جلوگیری از بیماری آلزایمر هنوز هم ناشناخته است. رسوراترول مکانیسم‌های متعددی را در بیماری آلزایمر تنظیم می‌کند، از جمله فعال کردن سیرتوئین ۱ که می‌تواند موجب محدودیت در رژیم غذایی شود. در بیماری هانتینگتون ایجاد شده در مدل موش، تجویز رسوراترول موجب القای سیرتوئین ۱ و به دنبال آن محافظت از عصب در برابر سمیت و

تخریب آهسته‌ی نورون ناشی از قطع شدن آکسون می‌شود (۵۶).

مطالعات اخیر نشان می‌دهد که مکانیسم حفاظتی رسوراترول در برابر تخریب عصبی مستقل از خواص آنتی‌اکسیدانی آن است. تحقیقات دیگر نشان می‌دهد که آب انار، غنی از پلی‌فنول است و می‌تواند مغز موش تازه متولد شده را در برابر هیپوکسی ناشی از ایسکمی محافظت کند؛ به دلیل این که پلی‌فنول موجود موجب کاهش فعالیت کاسپاز ۳ و کالپین (Calpain) می‌شود (۵۷).

## اثرات ضد پیری

Howitz و همکاران گزارش کردند که رسوراترول به طور معنی‌داری موجب افزایش طول عمر در مخمر (*Saccharomyces cerevisiae*) می‌شود (۵۸). مطالعات بعدی نشان داد که رسوراترول موجب افزایش طول عمر در نوعی کرم (*Caenorhabditis elegans*) و مگس سرکه (*Drosophila*) نیز می‌شود (۵۶). گروهی دیگر از محققان ایتالیایی اولین نتیجه‌ی مثبت را از تجویز رسوراترول در مهره‌داران به دست آوردند. آن‌ها با استفاده از یک ماهی با طول عمر کوتاه (در حدود ۹ هفته) از نوع *Nothobranchius furzeri* دریافتند که بیشترین دوز رسوراترول در آن مطالعه به طور متوسط، طول عمر ماهی را در حدود ۵۶ درصد نسبت به گروه شاهد افزایش می‌دهد. هر چند، افزایش اندک در میزان مرگ و میر در ماهی‌های جوان به علت فعالیت سمی ضعیف رسوراترول مشاهده شد (۵۹).

مطالعات دیگر نشان می‌دهد که آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند کاتالاز و سوپر اکسید دیس‌موتاز، می‌تواند موجب افزایش طول عمر شود. اثر داروهای

### تنظیم سیکل سلولی

تنظیم عملکرد چرخه‌ی سلولی از طریق واکنش بین کیناز وابسته به سایکلین (۶، ۴، ۲، ۱ cdk) و تنظیم زیر واحدهای سایکلین از جمله سایکلین‌های A، B، Ds و E و مهار پروتئین‌هایی مانند P21WAF1 و p27Kip1 صورت می‌گیرد. فعالیت هماهنگ میان سایکلین‌های CDK4/6/Ds و سایکلین E/cdk2 و سایکلین A/cdk2 که برای پیشرفت و انتقال از مرحله‌ی G1/S به مرحله‌ی S مورد نیاز می‌باشد؛ در حالی که برای عبور از نقاط بحرانی چرخه‌ی سلولی، فعالیت سایکلین‌های cdk1/A و B مورد نیاز است. به طور مشخصی آزادسازی سایکلین D1-Rb محور مشترک انواع مختلف سرطان‌های بدخیم انسانی از جمله سرطان سینه، مری، کبد، ریه و پوست می‌باشد. رسوراترول واسطه‌های چرخه‌ی سلولی را در سلول‌های سرطانی در مرحله‌ی G1/S متوقف می‌سازد (۱).

فعالیت ضد تکثیری رسوراترول به صورت القای p21WAF1 و p27KIP1 و تنظیم کاهشی سایکلین D1/D2/E و cdk2/4/6 و افزایش فسفوریلاسیون pRb می‌باشد. در انواع سلول‌های دیگر، رسوراترول چرخه‌ی سلولی را در مرحله‌ی S متوقف می‌کند. همچنین به وسیله‌ی مهار cdk7 و p34cdc2 کیناز موجب توقف سیکل سلول در مرحله‌ی G2/M می‌شود (۶۵-۶۳).

### تنظیم آپوپتوز

رسوراترول باعث توقف رشد سلول به وسیله‌ی مرگ برنامه‌ریزی شده می‌شود. اثرات مهاری رسوراترول بر روی رشد سلول در مراحل اولیه، به واسطه‌ی بیان

آنتی‌اکسیدان به عنوان مولکول‌های ضد پیری به طور شفاف مشخص نیست؛ چرا که افزایش طول عمر در حضور گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) از بین می‌رود (۶۱-۶۰). بنابراین، می‌توان استدلال کرد که اثرات سودمند رسوراترول در طول عمر منحصر به خواص آنتی‌اکسیدانی آن نیست. جدیدترین مطالعه در این زمینه نشان می‌دهد که اثرات مثبت رسوراترول بر روی بافت‌های پیر از جمله مغز، قلب و عضلات اسکلتی، همراه با افزایش بیان سیرتوئین ۱ نیست. بنابراین پیشنهاد شده است که اثرات ضد پیری رسوراترول می‌تواند مستقل از فعالیت سیرتوئین ۱ باشد (۲۴).

به نظر می‌رسد که اثرات بیولوژیکی رسوراترول ناشی از محدودیت در رژیم غذایی است که عملکرد آن به وسیله‌ی مهار لیپاز و کاهش جذب چربی از طریق دیواره‌های روده صورت می‌گیرد. مطالعات دیگر نشان می‌دهد که رسوراترول با افزایش فعالیت سیرتوئین ۱ و PGC-1 $\alpha$  (peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha) موجب بهبود در عملکرد میتوکندری می‌شود. فقط شکل مولکولی ترانس-رسوراترول قادر به فعال کردن ژن سیرتوئین ۱ در پستانداران در شرایط *In vitro* می‌باشد. آنزیم‌های گروه سیرتوئین یک مسیر بیوشیمیایی که منجر به محدودیت در رژیم غذایی می‌شود، می‌باشند که نقش اصلی آن تنظیم فعالیت بسیاری از ژن‌های کلیدی مسئول در متابولیسم، دفاع و تقسیم سلول می‌باشد. رسوراترول یک فعال‌کننده‌ی بالقوه‌ی سیرتوئین است (۶۲).

انسانی، رسوراترول با القای غشای میتوکندری، منجر به آزاد شدن سیتوکروم C و در پی آن فعال شدن کاسپاز ۳ و ۹ می‌شود که از پروتئازهای سیستمی با فعالیت پیش‌آپوپتوزی هستند (۷۱).

### آنژیوژنز

آنژیوژنز فرایندی است که در آن عروق خونی جدید از عروقی قبلی، جوانه می‌زنند. بعد از تولد آنژیوژنز هم به عنوان یک تنظیم کننده در بازسازی بخشی از ساختارهای آسیب دیده و همچنین در تغییرات پاتولوژیک گوناگون دخالت می‌کند. مکانیسم مولکولی رسوراترول در مهار تکثیر سلول‌های تومور به صورت سرکوب عوامل رونویسی از جمله Egr-1 (Early growth response protein-1)، Ap-1 (Activator protein-1)، NF-K $\beta$  و تنظیم کاهشی بیان ژن‌های آنتی‌آپوپتوزی و فعالیت کاسپازها می‌باشد (۷۲).

یافته‌های اخیر نشان می‌دهد که رسوراترول بر روی متابولیسم سلول‌های آندوتلیال شریان کرونری تأثیر دارد و به عنوان یک فعال کننده قوی در بیوژنز میتوکندری عمل می‌کند. این اثرات به صورت تنظیم افزایشی مسیر سیگنالی، موجب افزایش میتوکندری‌ها و محتوای mtDNA (Mitochondrial DNA) و افزایش بیان زنجیره‌ی انتقال الکترون و القای عوامل بیوژنز میتوکندری از جمله Nrf-1 (Nuclear respiratory factor-1)، PGF- $\alpha$  (Transcription factor A mitochondrial) و Tfam می‌شود (۷۳).

اثرات رسوراترول به عنوان سرکوبگر آنژیوژنز در سلول‌های گلیوما در موش به طور معنی‌داری موجب

فعالیت P53 یا بدون واسطه‌ی P53 همراه با تنظیم افزایشی P21WAF1 و تنظیم کاهشی فعال کننده‌های چرخه‌ی سلولی اعمال می‌شود (۱). رسوراترول از طریق فعال کردن گیرنده‌ی آپوپتوز Fas/CD95-Apo1 موجب مرگ سلول می‌شود. اعضای گیرنده‌های آپوپتوزی بعد از اتصال لیگاند مربوط به صورت سیگنال‌های آبخاری فعال می‌شوند. رسوراترول همچنین می‌تواند باعث انتشار Fas/CD95 به داخل نواحی خاصی از غشا (Lipid raft) در مسیر غیر وابسته به لیگاند شود و با افزایش اثر سیگنال‌های Fas/CD95 و دیگر گیرنده‌ها، باعث مرگ سلول‌های سرطان کولون گردد (۶۸-۶۶). همچنین رسوراترول بیان عوامل پیش‌آپوپتوزی از جمله عوامل 1 PMA-induced protein (Phorbol-12-myristate-13-acetate-induced protein 1)، Immediate-early-response protein APR (BCL2-associated X protein) Bax، PUMA (BCL2-antagonist/ killer 1) BAK، Noxa (p53 upregulated modulator of apoptosis)، Bim (Bcl-2 Interacting Mediator Of Cell Death) را القا می‌کند و بیان عوامل ضد آپوپتوزی bcl-x1، bcl-2، Mcl-1 را که به طور مستقیم در مسیر مرگ میتوکندری اعمال می‌شوند، مهار می‌کند. فعالیت آپوپتوزی رسوراترول ممکن است از طریق تغییر در عملکرد میتوکندری صورت گیرد. در این حالت، رسوراترول موجب القای دپولاریزاسیون غشای میتوکندری و مهار بیان ذرات F $\cdot$ F $\cdot$ 1 در مسیر وابسته به تغییرات bcl-2 می‌شود. رسوراترول همچنین بیان NAG-1 (NSAID-activated gene) را که یک پروتئین پیش‌آپوپتوزی است، القا می‌کند (۶۹-۷۰). در سلول‌های نوروبلاستوما

وزن بیضه به دنبال داشت، تأیید نمی‌کند. در شرایط *In vivo* تجویز بیشترین دوز رسوراترول به میزان  $750 \text{ mg/kg/day}$  برای مدت ۳ ماه در موش‌های نر و ماده و نیز در خرگوش، نشان می‌دهد که رسوراترول به خوبی توسط این حیوانات تحمل می‌شود و هیچ عارضه‌ی سمی بر جنین آن‌ها نیز ایجاد نمی‌کند (۷۸، ۱۵).

### مطالعات انسانی

در انسان نیز اثرات جانبی رسوراترول مورد بررسی قرار گرفته است. در یک مطالعه بعد از تجویز رسوراترول به میزان  $5 \text{ g} / 70 \text{ kg}$  وزن بدن به عنوان مصرف واحد و دوز  $0.9 \text{ g/day}$  برای تجویز تکراری آن در ۱۰۴ بیمار به ترتیب در حدود یک در ۲۰۰ و یک در ۴۰ مورد سمیت کلیوی انسان گزارش شد (۳۷). در مطالعه‌ی دیگری بعد از تجویز  $400 \text{ mg}$  رسوراترول، سه عارضه‌ی جانبی از جمله تغییرات الکترولیت‌های خون، نازوفارنژیت و بشورات جلدی قرمز در سه مورد از ۲۴ بیمار گزارش شد. در دیگر دوزهای تجویز شده در مطالعات فارماکوکینتیک، در ۲ مورد از ۴۰ بیمار دریافت کننده‌ی  $1 \text{ g}$  رسوراترول، عارضه‌ی جانبی بیولوژیکی خفیفی از جمله کمی افزایش بیلی‌روبین خون و سطح آلانین آمینو ترانسفراز دیده شد (۸۰-۷۹).

با تجویز دوزهای متعدد رسوراترول از جمله  $25 \text{ mg}$ ،  $50$ ،  $100$  و  $150$  در ۴۰ نفر از بیماران برای مدت زمان ۴۸ ساعت و به فواصل ۴ ساعت، شایع‌ترین عارضه‌ی جانبی گزارش شده سردرد در ناحیه‌ی فرونتال بود. عوارض جانبی دیگر در گروه دریافت کننده‌ی  $25 \text{ mg}$ ، سردرد، درد عضلانی در اندام تحتانی و خواب‌آلودگی بود. در گروه دریافت

کاهش در اندازه‌ی تومور می‌شود (۷۴). بعد از درمان با لیزر در موش، آنژیوژنز به صورت غیر طبیعی در شبکه‌ی اتفاق می‌افتد که در صورت تزریق رسوراترول به موش‌ها، عروق خونی غیر طبیعی شروع به ناپدید شدن کردند. به طور مشابه، رسوراترول رشد عروق خونی جدید را در حیوانات به وسیله‌ی مهار مستقیم رشد سلول‌های آندوتلیال مویرگی سرکوب می‌کند (۷۵) و بیان (Vascular endothelial growth factor) VEGF و گیرنده‌ی عامل رشد فیروبلاستی (FGF یا Fibroblast growth factor) را که واسطه‌های مهم رگ‌زایی هستند، متوقف می‌کند و به طور قابل توجهی ترمیم زخم وابسته به آنژیوژنز را به تأخیر می‌اندازد. در معرض قرار دادن سلول‌های آندوتلیال ورید بند ناف انسانی با دوزهای پایین رسوراترول به طور معنی‌داری مهاجرت و تشکیل عروق وابسته به VEGF را متوقف می‌کند، اما تکثیر سلولی را متوقف نمی‌سازد (۷۶).

### سمیت رسوراترول

#### مطالعات حیوانی

در یک تحقیق پس از تجویز رسوراترول با دوزهای  $0.3 \text{ g/kg/day}$ ،  $1$  و  $3$  برای مدت ۴ هفته، فقط ۲ مورد از ۴۰ موش دریافت کننده‌ی بیشترین دوز در این آزمایش مردند. بسیاری از عوارض جانبی ایجاد شده در بیشترین دوز مورد استفاده، سمیت کلیوی بود و هیچ عارضه‌ی جانبی دیگری در این حیوانات به خصوص در بافت کبد مشاهده نشد (۷۷-۷۸). علاوه بر این، نتایج مطالعه حاضر، نتایج مطالعات قبلی در خصوص تجویز دوز  $20 \text{ mg/kg/day}$  برای مدت ۴ هفته در موش را که افزایش خفیفی در میزان سطح آنزیم‌های آسپاراتات آمینو ترانسفراز در کبد، مغز و در

بیشتر از  $10 \mu\text{M}$  ممکن است اثرات مضر را بر بلوغ اووسیت‌ها داشته باشند و علت آن ممکن است مهار فعالیت‌های فسفودی‌استرازهای مختلف باشد که منجر به افزایش غلظت cAMP (Cyclic adenosine monophosphate) سیتوزول و ایجاد توقف در بلوغ می‌شود. دوز  $0.5 \mu\text{M}$  رسوراترول موجب تشکیل بلاستوسیست‌ها، افزایش تعداد کل آن‌ها در شرایط IVM و بکرزایی شود. همچنین حوادثی را که منجر به آپوپتوز به واسطه‌ی تنظیم کاهشی در بیان mRNA (Messenger RNA) کاسپاز ۳ در رشد جنین می‌شود را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۸۶-۸۵).

### نتیجه‌گیری

رسوراترول یکی از ملکول‌های مهم زیستی با خواص بیوفارماکولوژیک متعدد و متنوع است که به طور فزاینده در تحقیقات زیستی مورد مطالعه قرار می‌گیرد و خواص و عملکردهای جدید آن هر روزه شناسایی و معرفی می‌شود. توجه به این ماده‌ی مفید گیاهی در پزشکی نوین، می‌تواند در پیشگیری و درمان برخی بیماری‌ها نظیر انواع سرطان‌ها مؤثر واقع شود.

### تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی - پایان‌نامه‌ی کارشناسی ارشد مصوب دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه به شماره‌ی ۹۱۰۰۴ است.

کننده‌ی  $100 \text{ mg}$ ، عارضه‌ی التهاب اپیدیدیم و در گروه  $150 \text{ mg}$  سرگیجه و سردرد در ناحیه‌ی اکسی‌پیتال گزارش شد (۸۱).

### رسوراترول و بلوغ آزمایشگاهی تخمک

در طی بلوغ اووسیت‌های خوک در شرایط بلوغ آزمایشگاهی (IVM یا *In vitro maturation*)، رسوراترول (دوز  $2 \mu\text{M}$ ) موجب کاهش سطح داخل سلولی گونه‌های آزاد اکسیژنی (ROS) و افزایش غلظت داخل سلولی GSH (Intracellular glutathione) در اووسیت‌های بالغ می‌شود. همچنین موجب کاهش آپوپتوز وابسته به بیان ژن در اووسیت‌های بالغ و سلول‌های کومولوس می‌گردد (۸۲). از این یافته می‌توان فهمید که رسوراترول ممکن است نقش قابل توجهی در کاهش داخل سلولی ROS در اووسیت‌های بالغ داشته باشد. درمان با دوز  $10 \mu\text{M}$  رسوراترول طی شرایط IVM به طور معنی‌داری موجب کاهش بلوغ هسته‌ای می‌شود. در غلظت‌های خاص، رسوراترول خواص پیش‌آپوپتوزی خود را در سلول‌های سوماتیک اعمال می‌کند (۸۳).

تنظیم هموستاز GSH به وسیله‌ی رسوراترول ممکن است نقش مهم و سودمندی را در بلوغ اووسیت و رشد جنین بازی کند. در طی IVM اووسیت‌های گاو، رسوراترول ( $20-40 \mu\text{M}$ ) به طور معنی‌داری موجب کاهش درصد اووسیت‌های رسیده به متافاز II می‌شوند (۸۴). بنابراین، دوزهای

### References

1. Athar M, Back JH, Kopelovich L, Bickers DR, Kim AL. Multiple molecular targets of resveratrol: Anti-carcinogenic mechanisms. Arch Biochem Biophys 2009; 486(2): 95-102.
2. Dercks W, Creasy LL. Influence of fosetyl-Al on phytoalexin accumulation in the Plasmopara viticola-grapevine interaction. Physiological and Molecular Plant Pathology 1989; 34(3): 203-13.

3. Chen X, He H, Wang G, Yang B, Ren W, Ma L, et al. Stereospecific determination of cis- and trans-resveratrol in rat plasma by HPLC: application to pharmacokinetic studies. *Biomed Chromatogr* 2007; 21(3): 257-65.
4. Trela BC, Waterhouse AL. Resveratrol: Isomeric molar absorptivities and stability. *J Agric Food Chem* 1996; 44(5): 1253-7.
5. Sobolev VS, Cole RJ. Trans-resveratrol content in commercial peanuts and peanut products. *J Agric Food Chem* 1999; 47(4): 1435-9.
6. Vian MA, Tomao V, Gallet S, Coulomb PO, Lacombe JM. Simple and rapid method for cis- and trans-resveratrol and piceid isomers determination in wine by high-performance liquid chromatography using chromolith columns. *J Chromatogr A* 2005; 1085(2): 224-9.
7. Takaoka M. Resveratrol, a new phenolic compound from *Veratrum grandiflorum*. *J Chem Soc Japan* 1939; 60(11): 1090-100.
8. Mishra RN. Resveratrol-the new rasayan (anti aging) drug. *Current Research in Medicine and Medical Sciences* 2011; 1(1): 5-18.
9. Hillis WE, Hart JH, Yazaki Y. Polyphenols of *Eucalyptus sideroxylon* wood. *Phytochemistry* 1974; 13 (8): 1591-5.
10. King RE, Bomser JA, Min DB. Bioactivity of resveratrol. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 2006; 5(3): 65-70.
11. Wang Y, Catana F, Yang Y, Roderick R, van Breemen RB. An LC-MS method for analyzing total resveratrol in grape juice, cranberry juice, and in wine. *J Agric Food Chem* 2002; 50(3): 431-5.
12. Soleas GJ, Yan J, Goldberg DM. Ultrasensitive assay for three polyphenols (catechin, quercetin and resveratrol) and their conjugates in biological fluids utilizing gas chromatography with mass selective detection. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl* 2001; 757(1): 161-72.
13. Walle T, Hsieh F, DeLegge MH, Oatis JE, Jr., Walle UK. High absorption but very low bioavailability of oral resveratrol in humans. *Drug Metab Dispos* 2004; 32(12): 1377-82.
14. Asensi M, Medina I, Ortega A, Carretero J, Bano MC, Obrador E, et al. Inhibition of cancer growth by resveratrol is related to its low bioavailability. *Free Radic Biol Med* 2002; 33(3): 387-98.
15. Wenzel E, Soldo T, Erbersdobler H, Somoza V. Bioactivity and metabolism of trans-resveratrol orally administered to Wistar rats. *Mol Nutr Food Res* 2005; 49(5): 482-94.
16. Vitrac X, Desmouliere A, Brouillaud B, Krisa S, Deffieux G, Barthe N, et al. Distribution of [<sup>14</sup>C]-trans-resveratrol, a cancer chemopreventive polyphenol, in mouse tissues after oral administration. *Life Sci* 2003; 72(20): 2219-33.
17. Walle T. Bioavailability of resveratrol. *Ann N Y Acad Sci* 2011; 1215: 9-15.
18. Tsujii M, Kawano S, Tsuji S, Sawaoka H, Hori M, DuBois RN. Cyclooxygenase regulates angiogenesis induced by colon cancer cells. *Cell* 1998; 93(5): 705-16.
19. Subbaramaiah K, Chung WJ, Michaluart P, Telang N, Tanabe T, Inoue H, et al. Resveratrol inhibits cyclooxygenase-2 transcription and activity in phorbol ester-treated human mammary epithelial cells. *J Biol Chem* 1998; 273(34): 21875-82.
20. Baliga MS, Meleth S, Katiyar SK. Growth inhibitory and antimetastatic effect of green tea polyphenols on metastasis-specific mouse mammary carcinoma 4T1 cells in vitro and in vivo systems. *Clin Cancer Res* 2005; 11(5): 1918-27.
21. Candelario-Jalil E, de Oliveira AC, Graf S, Bhatia HS, Hull M, Munoz E, et al. Resveratrol potently reduces prostaglandin E2 production and free radical formation in lipopolysaccharide-activated primary rat microglia. *J Neuroinflammation* 2007; 4: 25.
22. Athar M, Back JH, Tang X, Kim KH, Kopelovich L, Bickers DR, et al. Resveratrol: a review of preclinical studies for human cancer prevention. *Toxicol Appl Pharmacol* 2007; 224(3): 274-83.
23. Afaq F, Adhami VM, Ahmad N. Prevention of short-term ultraviolet B radiation-mediated damages by resveratrol in SKH-1 hairless mice. *Toxicol Appl Pharmacol* 2003; 186(1): 28-37.
24. Baur JA, Sinclair DA. Therapeutic potential of resveratrol: the in vivo evidence. *Nat Rev Drug Discov* 2006; 5(6): 493-506.
25. Reagan-Shaw S, Afaq F, Aziz MH, Ahmad N. Modulations of critical cell cycle regulatory events during chemoprevention of ultraviolet B-mediated responses by resveratrol in SKH-1 hairless mouse skin. *Oncogene* 2004; 23(30): 5151-60.
26. Le CL, Chalabi N, Delort L, Bignon YJ, Bernard-Gallon DJ. Resveratrol and breast cancer chemoprevention: molecular mechanisms. *Mol Nutr Food Res* 2005; 49(5): 462-71.
27. Basly JP, Marre-Fournier F, Le Bail JC, Habrioux G, Chulia AJ. Estrogenic/antiestrogenic and scavenging properties of (E)- and (Z)-resveratrol. *Life Sci* 2000; 66(9): 769-77.
28. Gehm BD, McAndrews JM, Chien PY, Jameson JL. Resveratrol, a polyphenolic compound found in grapes and wine, is an agonist for the estrogen receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997; 94(25): 14138-43.

29. Bove K, Lincoln DW, Tsan MF. Effect of resveratrol on growth of 4T1 breast cancer cells in vitro and in vivo. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; 291(4): 1001-5.
30. Garvin S, Ollinger K, Dabrosin C. Resveratrol induces apoptosis and inhibits angiogenesis in human breast cancer xenografts in vivo. *Cancer Lett* 2006; 231(1): 113-22.
31. Udenigwe CC, Ramprasath VR, Aluko RE, Jones PJ. Potential of resveratrol in anticancer and anti-inflammatory therapy. *Nutr Rev* 2008; 66(8): 445-54.
32. Mahady GB, Pendland SL. Resveratrol inhibits the growth of *Helicobacter pylori* in vitro. *Am J Gastroenterol* 2000; 95(7): 1849.
33. Riles WL, Erickson J, Nayyar S, Atten MJ, Attar BM, Holian O. Resveratrol engages selective apoptotic signals in gastric adenocarcinoma cells. *World J Gastroenterol* 2006; 12(35): 5628-34.
34. Aires V, Limagne E, Cotte AK, Latruffe N, Ghiringhelli F, Delmas D. Resveratrol metabolites inhibit human metastatic colon cancer cells progression and synergize with chemotherapeutic drugs to induce cell death. *Mol Nutr Food Res* 2013; 57(7): 1170-81.
35. Khazaei S, Khazaei M, Kazemi S, Yaghini J. Resveratrol as a supplemental treatment for periodontitis. *Dent Res J (Isfahan)* 2012; 9(5): 655-7.
36. Ghanim H, Sia CL, Abuaysheh S, Korzeniewski K, Patnaik P, Marumganti A, et al. An antiinflammatory and reactive oxygen species suppressive effects of an extract of *Polygonum cuspidatum* containing resveratrol. *J Clin Endocrinol Metab* 2010; 95(9): E1-E8.
37. Cucciolla V, Borriello A, Oliva A, Galletti P, Zappia V, Della RF. Resveratrol: from basic science to the clinic. *Cell Cycle* 2007; 6(20): 2495-510.
38. King RE, Kent KD, Bomser JA. Resveratrol reduces oxidation and proliferation of human retinal pigment epithelial cells via extracellular signal-regulated kinase inhibition. *Chem Biol Interact* 2005; 151(2): 143-9.
39. Petrovski G, Gurusamy N, Das DK. Resveratrol in cardiovascular health and disease. *Ann N Y Acad Sci* 2011; 1215: 22-33.
40. Frankel EN, Waterhouse AL, Kinsella JE. Inhibition of human LDL oxidation by resveratrol. *Lancet* 1993; 341(8852): 1103-4.
41. Holthoff JH, Woodling KA, Doerge DR, Burns ST, Hinson JA, Mayeux PR. Resveratrol, a dietary polyphenolic phytoalexin, is a functional scavenger of peroxynitrite. *Biochem Pharmacol* 2010; 80(8): 1260-5.
42. Dobrydneva Y, Williams RL, Blackmore PF. trans-Resveratrol inhibits calcium influx in thrombin-stimulated human platelets. *Br J Pharmacol* 1999; 128(1): 149-57.
43. Baur JA, Pearson KJ, Price NL, Jamieson HA, Lerin C, Kalra A, et al. Resveratrol improves health and survival of mice on a high-calorie diet. *Nature* 2006; 444(7117): 337-42.
44. Shang J, Chen LL, Xiao FX. Resveratrol improves high-fat induced nonalcoholic fatty liver in rats. *Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi* 2008; 16(8): 616-9.
45. Szkudelska K, Szkudelski T. Resveratrol, obesity and diabetes. *Eur J Pharmacol* 2010; 635(1-3): 1-8.
46. Lagouge M, Argmann C, Gerhart-Hines Z, Meziane H, Lerin C, Daussin F, et al. Resveratrol improves mitochondrial function and protects against metabolic disease by activating SIRT1 and PGC-1alpha. *Cell* 2006; 127(6): 1109-22.
47. Lee JH, Song MY, Song EK, Kim EK, Moon WS, Han MK, et al. Overexpression of SIRT1 protects pancreatic beta-cells against cytokine toxicity by suppressing the nuclear factor-kappaB signaling pathway. *Diabetes* 2009; 58(2): 344-51.
48. Hong HJ, Kang W, Kim DG, Lee DH, Lee Y, Han CH. Effects of resveratrol on the insulin signaling pathway of obese mice. *J Vet Sci* 2014; 15(2): 179-85.
49. Bagchi D, Das DK, Tosaki A, Bagchi M, Kothari SC. Benefits of resveratrol in women's health. *Drugs Exp Clin Res* 2001; 27(5-6): 233-48.
50. Singh M, Parent S, Leblanc V, Asselin E. Resveratrol modulates the expression of PTGS2 and cellular proliferation in the normal rat endometrium in an AKT-dependent manner. *Biol Reprod* 2011; 84(5): 1045-52.
51. Maia H, Jr., Haddad C, Pinheiro N, Casoy J. Advantages of the association of resveratrol with oral contraceptives for management of endometriosis-related pain. *Int J Womens Health* 2012; 4: 543-9.
52. Hsia SM, Wang KL, Wang PS. Effects of resveratrol, a grape polyphenol, on uterine contraction and Ca(2)+ mobilization in rats in vivo and in vitro. *Endocrinology* 2011; 152(5): 2090-9.
53. Karuppagounder SS, Pinto JT, Xu H, Chen HL, Beal MF, Gibson GE. Dietary supplementation with resveratrol reduces plaque pathology in a transgenic model of Alzheimer's disease. *Neurochem Int* 2009; 54(2): 111-8.
54. Anekonda TS. Resveratrol--a boon for treating Alzheimer's disease? *Brain Res Rev* 2006; 52(2): 316-26.

55. Camins A, Junyent F, Verdaguer E, Beas-Zarate C, Rojas-Mayorquin AE, Ortuno-Sahagun D, et al. Resveratrol: an antiaging drug with potential therapeutic applications in treating diseases. *Pharmaceuticals (Basel)* 2009; 2(3): 194-205.
56. Wood JG, Rogina B, Lavu S, Howitz K, Helfand SL, Tatar M, et al. Sirtuin activators mimic caloric restriction and delay ageing in metazoans. *Nature* 2004; 430(7000): 686-9.
57. West T, Atzeva M, Holtzman DM. Pomegranate polyphenols and resveratrol protect the neonatal brain against hypoxic-ischemic injury. *Dev Neurosci*. 2007; 29(4-5): 363-72.
58. Howitz KT, Bitterman KJ, Cohen HY, Lamming DW, Lavu S, Wood JG, et al. Small molecule activators of sirtuins extend *Saccharomyces cerevisiae* lifespan. *Nature* 2003; 425(6954): 191-6.
59. Valenzano DR, Terzibasi E, Genade T, Cattaneo A, Domenici L, Cellerino A. Resveratrol prolongs lifespan and retards the onset of age-related markers in a short-lived vertebrate. *Curr Biol* 2006; 16(3): 296-300.
60. Tyagi S, Sharma A., Aggarwal G. Clinical and medicinal application of resveratrol: a review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research* 2010; 3(1): 49-52.
61. Orallo F. Comparative studies of the antioxidant effects of cis- and trans-resveratrol. *Curr Med Chem* 2006; 13(1): 87-98.
62. Sathis Kumar D, Shankar P, Upender Rao G. Health benefits of resveratrol. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Nanotechnology* 2009; 2 (1): 327-32.
63. Kim AL, Zhu Y, Zhu H, Han L, Kopelovich L, Bickers DR, et al. Resveratrol inhibits proliferation of human epidermoid carcinoma A431 cells by modulating MEK1 and AP-1 signalling pathways. *Exp Dermatol* 2006; 15(7): 538-46.
64. Joe AK, Liu H, Suzui M, Vural ME, Xiao D, Weinstein IB. Resveratrol induces growth inhibition, S-phase arrest, apoptosis, and changes in biomarker expression in several human cancer cell lines. *Clin Cancer Res* 2002; 8(3): 893-903.
65. Liang YC, Tsai SH, Chen L, Lin-Shiau SY, Lin JK. Resveratrol-induced G2 arrest through the inhibition of CDK7 and p34CDC2 kinases in colon carcinoma HT29 cells. *Biochem Pharmacol* 2003; 65(7): 1053-60.
66. Zhang S, Cao HJ, Davis FB, Tang HY, Davis PJ, Lin HY. Oestrogen inhibits resveratrol-induced post-translational modification of p53 and apoptosis in breast cancer cells. *Br J Cancer* 2004; 91(1): 178-85.
67. Clement MV, Hirpara JL, Chawdhury SH, Pervaiz S. Chemopreventive agent resveratrol, a natural product derived from grapes, triggers CD95 signaling-dependent apoptosis in human tumor cells. *Blood* 1998; 92(3): 996-1002.
68. Delmas D, Rebe C, Lacour S, Filomenko R, Athias A, Gambert P, et al. Resveratrol-induced apoptosis is associated with Fas redistribution in the rafts and the formation of a death-inducing signaling complex in colon cancer cells. *J Biol Chem* 2003; 278(42): 41482-90.
69. Zheng J, Ramirez VD. Inhibition of mitochondrial proton F0F1-ATPase/ATP synthase by polyphenolic phytochemicals. *Br J Pharmacol* 2000; 130(5): 1115-23.
70. Baek SJ, Wilson LC, Eling TE. Resveratrol enhances the expression of non-steroidal anti-inflammatory drug-activated gene (NAG-1) by increasing the expression of p53. *Carcinogenesis* 2002; 23(3): 425-34.
71. van Ginkel PR, Sareen D, Subramanian L, Walker Q, Darjatmoko SR, Lindstrom MJ, et al. Resveratrol inhibits tumor growth of human neuroblastoma and mediates apoptosis by directly targeting mitochondria. *Clin Cancer Res* 2007; 13(17): 5162-9.
72. Dulak J. Nutraceuticals as anti-angiogenic agents: hopes and reality. *J Physiol Pharmacol* 2005; 56(Suppl 1): 51-67.
73. Kode A, Rajendrasozhan S, Caito S, Yang SR, Megson IL, Rahman I. Resveratrol induces glutathione synthesis by activation of Nrf2 and protects against cigarette smoke-mediated oxidative stress in human lung epithelial cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2008; 294(3): L478-L488.
74. Chen JC, Chen Y, Lin JH, Wu JM, Tseng SH. Resveratrol suppresses angiogenesis in gliomas: evaluation by color Doppler ultrasound. *Anticancer Res* 2006; 26(2A): 1237-45.
75. Brakenhielm E, Cao R, Cao Y. Suppression of angiogenesis, tumor growth, and wound healing by resveratrol, a natural compound in red wine and grapes. *FASEB J* 2001; 15(10): 1798-800.
76. Lin MT, Yen ML, Lin CY, Kuo ML. Inhibition of vascular endothelial growth factor-induced angiogenesis by resveratrol through interruption of Src-dependent vascular endothelial cadherin tyrosine phosphorylation. *Mol Pharmacol* 2003; 64(5): 1029-36.
77. Crowell JA, Korytko PJ, Morrissey RL, Booth TD, Levine BS. Resveratrol-associated renal toxicity. *Toxicol Sci* 2004; 82(2): 614-9.
78. Borriello A, Cucciolla V, Della RF, Galletti P. Dietary polyphenols: focus on resveratrol, a promising agent in the prevention of



- cardiovascular diseases and control of glucose homeostasis. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2010; 20(8): 618-25.
79. Cottart CH, Nivet-Antoine V, Laguillier-Morizot C, Beaudoux JL. Resveratrol bioavailability and toxicity in humans. *Mol Nutr Food Res* 2010; 54(1): 7-16.
80. Chachay VS, Macdonald GA, Martin JH, Whitehead JP, O'Moore-Sullivan TM, Lee P, et al. Resveratrol does not benefit patients with nonalcoholic Fatty liver disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2014; 12(12): 2092-103.
81. la Porte C, Voduc N, Zhang G, Seguin I, Tardiff D, Singhal N, et al. Steady-State pharmacokinetics and tolerability of trans-resveratrol 2000 mg twice daily with food, quercetin and alcohol (ethanol) in healthy human subjects. *Clin Pharmacokinet* 2010; 49(7): 449-54.
82. Kwak SS, Cheong SA, Jeon Y, Lee E, Choi KC, Jeung EB, et al. The effects of resveratrol on porcine oocyte in vitro maturation and subsequent embryonic development after parthenogenetic activation and in vitro fertilization. *Theriogenology* 2012; 78(1): 86-101.
83. Lee K, Wang C, Chaille JM, Machaty Z. Effect of resveratrol on the development of porcine embryos produced in vitro. *J Reprod Dev* 2010; 56(3): 330-5.
84. Wang F, Tian X, Zhang L, He C, Ji P, Li Y, et al. Beneficial effect of resveratrol on bovine oocyte maturation and subsequent embryonic development after in vitro fertilization. *Fertil Steril* 2014; 101(2): 577-86.
85. Park SJ, Ahmad F, Philp A, Baar K, Williams T, Luo H, et al. Resveratrol ameliorates aging-related metabolic phenotypes by inhibiting cAMP phosphodiesterases. *Cell* 2012; 148(3): 421-33.
86. Kwak SS, Hyun SH. The effects of resveratrol on oocyte maturation and preimplantation embryo development. *J Emb Trans* 2012; 27(2): 71-80.

## Biopharmacologic Properties of Resveratrol

Syran Kakeh-Baraei MSc<sup>1</sup>, Elham Niroumand MD<sup>2</sup>, Mozafar Khazaei PhD<sup>3</sup>

### Review Article

#### Abstract

**Background:** Resveratrol is a polyphenolic phytoalexin agent which is found in grapes, berries and peanuts. It is one of the important biomolecules with different biopharmacologic properties in modern medicine. To date, many experimental and animal researches were done on its properties and functions; the aim of present study was to introduce different properties of this important biomolecule.

**Methods:** Acceptable database, Scopus, Pubmed and ISI, were searched with keyword of resveratrol. After the primary survey of the title by research team, and determination of common articles, abstracts of selected article were chosen and finally near to one hundred articles were included in the study. Important data were summarized and rewrite by research team, and were categorized and presented here.

**Findings:** Resveratrol had antioxidant activities and was used in treatment of cardiovascular diseases, obesity and diabetes. In addition, it prevented gastric, lung, breast, and prostate, liver and colorectal cancer developments. Resveratrol showed anti-inflammatory, anti-aging and anti-Alzheimer's disease effects, and worked as regulator of cell cycle and programmed cell death (apoptosis). Resveratrol had strong estrogenic-like effects.

**Conclusion:** Resveratrol is an important biomolecule with different medical properties which many studies were done on its new application and it get pivotal position in this area.

**Keywords:** Resveratrol, Antioxidant, Anticancer, Antidiabetic

**Citation:** Kakeh-Baraei S, Niroumand E, Khazaei M. **Biopharmacologic Properties of Resveratrol.** J Isfahan Med Sch 2015; 32(308): 1879-96

1- Department of Anatomical Sciences, School of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran

2- Assistant Professor, Department of Internal Medicine, School of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran

3- Professor, Fertility and Infertility Research Center, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran

**Corresponding Author:** Mozafar Khazaei PhD, Email: mkhazaei1345@yahoo.com