ORIGINAL ARTICLE

Poly Cystic Ovary Model as an Elevated Oxidative Stress Factor

Fateme Tahmasebi[1],
Mansoure Movahedin[2],
Zohre Mazaheri[3]

[1] MSc in Anatomy, Faculty of Medicine, Tarbiat Modarres University, Tehran, Iran
[2] Professor, Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Tarbiat Modarres University, Tehran, Iran
[3] Assistant Professor, Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Tarbiat Modarres University, Tehran, Iran

(Received December 8, 2015 ; Accepted July 20 , 2015)

Abstract

Background and purpose: Polycystic ovary syndrome (PCOS) is one of the most common causes of infertility in modern societies. The etiology of PCOS is unknown, so a good animal model can be valuable in studying its pathogenesis and could help in making a more effective diagnosis and choosing appropriate treatments. All PCOS disorders may be the result of multiple genetic and environmental factors. One of these environmental factors is reactive oxygen species (ROS). The aim of this study was to make oxidative stress by induction of polycystic ovary model.

Materials and methods: PCOS was induced in 30 NMRI mature female mice during 8 weeks which were divided into a control group and an experimental group. PCOS was induced by single injection of estradiol valerate (40 mg/kg). After PCOS induction, body weight was measured weekly for 8 weeks. Mice in each group were scarified and their ovarian tissues were collected. Histopathological study was done to confirm the model. Oxidative stress and antioxidant capacity levels were measured in ovarian tissue using Flow cytometric and Fluorometric techniques. Data was analyzed by independent sample T-test.

Results: Results: Both groups showed significant increase in weight at the end of the study ($P \leq 0.05$). Histopathological studies confirmed PCO model. Flow cytometric analysis revealed that oxidative stress significantly increased in ovarian tissue in PCO group, ($P \leq 0.05$). Also, in TAC study of ovarian tissue no significant difference was observed between the two groups.

Conclusion: According to this study, PCO can increase oxidative stress in ovarian tissue. This increase could make more cysts in mouse ovarian tissue.

Keywords: Polycystic ovarian syndrome, oxidative stress, reactive oxygen specious, antioxidant

J Mazandaran Univ Med Sci 2015; 25(127): 82-91 (Persian).

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و پنجم شماره ۱۲۷ مرداد سال ۱۳۹۴ (۹۱-۸۲)

مدل تخمدان پلی کیستیک به عنوان یک عامل افزاینده استرس اکسیداتیو در بافت تخمدان

فاطمه طهماسبی[۱]
منصوره موحدین[۲]
زهره مظاهری[۳]

چکیده

سابقه و هدف: سندرم تخمدان پلی‌کیستیک (PCOS) یکی از شایع‌ترین علل ناباروری می‌باشد. یک مدل حیوانی مناسب می‌تواند وسیله با ارزشی برای مطالعه پاتوژنز آن فراهم کند. اختلالات PCOS می‌تواند در نتیجه فاکتورهای محیطی از جمله گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن ایجاد گردد. در این مطالعه تلاش بر آن بود تا با القای مدل PCO، شرایط استرس اکسیداتیو در تخمدان ایجاد شود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، مدل PCO در موش‌های ماده بالغ در طی ۸ هفته ایجاد گردید. ۳۰ سر موش به دو گروه کنترل و آزمایش (القای PCO با استفاده از استرادیول والریت به میزان mg/kg ۴۰) تقسیم شدند. در طی ۸ هفته پس از القای مدل، وزن موش‌ها به صورت هفتگی اندازه‌گیری شد. سپس موش‌ها به روش نخاعی کشته شدند، بافت تخمدان آن‌ها برداشته و نمونه بافتی تهیه گردید. پس از لیز بافت، میزان استرس اکسیداتیو با استفاده از ماده DCFH-DA به روش فلوسایتومتری ارزیابی گردید. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل نیز توسط روش FRAP اندازه‌گیری شد. نتایج بررسی با نرم‌افزار SPSS و آزمون T-test ارزیابی شد.

یافته‌ها: وزن موش‌ها در گروه‌ها طی هشت هفته، افزایش معنی‌داری ($p\leq ۰/۰۵$) را نسبت به هم نشان دادند. در بررسی‌های بافتی، مدل PCO تایید گردید. نتایج حاصل از بررسی میزان ROS نشان داد که استرس اکسیداتیو در گروه PCO نسبت به کنترل افزایش معنی‌داری ($p\leq ۰/۰۵$) یافته بود. میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل در بافت تخمدان، بین گروه‌ها اختلاف معنی داری نداشت.

استنتاج: ایجاد مدل PCO با استفاده از تک تزریق استرادیول والریت می‌تواند منجر به افزایش استرس اکسیداتیو در بافت تخمدان گردد. این افزایش می‌تواند منجر به کیست‌های بیش‌تری در تخمدان موش گردد.

واژه های کلیدی: تخمدان پلی کیستیک، استرس اکسیداتیو، آنتی اکسیدان

مقدمه

سندرم تخمدان پلی‌کیستیک (Polycystic Ovary Syndrome-PCOS) شایع‌ترین علت ناباروری است و ۶ تا ۸ درصد زنان سنین باروری مبتلا به این اختلال اندوکرینی‌اند که اولین بارتوسط Stein و Leventhal

مولف مسئول: منصوره موحدین– تهران: دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم پزشکی، گروه علوم تشریح E-mail:movahed.m@modares.ac.ir
۱. کارشناسی ارشد علوم تشریح، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
۲. استاد، گروه علوم تشریح، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
۳. استادیار، گروه علوم تشریح، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
تاریخ دریافت :۱۳۹۳/۹/۱۷ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات :۱۳۹۳/۹/۱۸ تاریخ تصویب : ۱۳۹۴/۴/۲۹

درسال ۱۹۳۵ شناخته شد(۲،۱). کلیه اختلالات نظیر عدم تخمک‌گذاری، تخمدان‌های پر از کیست‌های مشخص، هیپرآندروژنیسم و ناهنجاری‌های متابولیکی مانند چاقی در نتیجه فاکتورهای متعدد محیطی و ژنتیکی ایجاد می‌گردند(۳). از جمله فاکتورهای محیطی می‌توان به گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن (Reactive Oxygen Species ROS) اشاره داشت. ROS تولید شده توسط میتوکندری، به عنوان محصول فرعی متابولیسم اکسیداتیو طبیعی در نظر گرفته می‌شود(۴). این گونه‌ها شامل سوپراکسید آنیون (O_2)، پراکسید هیدروژن (H_2O_2) و رادیکال هیدورکسیل (OH) بوده و نقش‌های فیزیولوژیکی در بسیاری از فرآیندهای مختلف دستگاه تولیدمثلی زنان از جمله بلوغ اووسیت، تخمک‌گذاری، لقاح و ریزش‌های آندومتری دارند(۵). تخمدان از نظر متابولیکی یک عضو فعال است، از این‌رو به طور مداوم تحت تاثیر انواع استرس‌ها می‌باشد(۶). برای مثال در شرایط پاتولوژیکی مانند تخمدان پلی‌کیستیک، استرس اکسیداتیو بیش از حد، ممکن است به هایپرپلازی مزانشیم تخمدان کمک کند. ROS باعث آسیب به DNA اپیتلیوم تخمدانی یا آپوپتوز سلولی می‌شود. با این حال وضعیت اکسیداتیوی سلول، رشد فولیکولی، تشکیل جسم زرد، تمایز آندومتری و رشد جنینی را تعدیل می‌کند(۷).

Gong و همکارانش در سال ۲۰۱۵ به مطالعه استرس اکسیداتیو در تخمدان‌های موش صحرایی مدل PCO پرداختند. آن‌ها بیان کردند که در منحنی‌های رشد، وزن تخمدان و وزن رحم بین گروه‌های مورد مطالعه، تفاوت معنی‌داری وجود داشت(۸). Murri و همکاران در سال ۲۰۱۳، مارکرهای در گردش استرس اکسیداتیو و PCOS را در انسان بررسی کردند. آن‌ها بیان کردند در زنان مبتلا به PCOS مستقل از افزایش وزن، مارکرهای در گردش استرس اکسیداتیو غیر نرمال هستند و بر اساس این یافته‌ها پیشنهاد کردند که استرس اکسیداتیو ممکن است در پاتوفیزیولوژی این اختلال شایع شرکت کند(۹). یکی از مکانیسم‌های محافظتی بدن در برابر اثرات ROS، آنزیم‌های آنتی‌اکسیداتیو مانند سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز و پراکسی‌ردوکسین‌ها هستند. وجود این فاکتورها در بدن به تعادل بین ROS تولید شده توسط سلول کمک می‌کند(۱۰). در این مطالعه مدل حیوانی تخمدان پلی‌کیستیک به عنوان یک مدل بررسی اثرات فاکتورهای استرسی در بافت در نظر گرفته شد. به این ترتیب مدل مذکور، به عنوان یک فاکتور افزاینده سطح اکسیدان‌ها و کاهنده ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل (Total Antioxidant Capacity-TAC) بدن مدنظر قرار گرفت. ایجاد این مدل می‌تواند نگرشی جدید در درمان سندرم PCOS پیش روی محققین قرار دهد. بنابراین بر طبق مطالعات انجام شده، بررسی رابطه بین PCO و وزن، هم‌چنین بررسی ارتباط مابین این بیماری و استرس اکسیداتیو در خود بافت تخمدان ضروری به نظر می‌رسد.

مواد و روش ها

آماده‌سازی حیوان آزمایشگاهی

مطالعه تجربی از نوع مداخله‌ای بود و با استفاده از ۳۰ سر موش ماده نژاد NMRI بالغ انجام گرفت. موش‌های مورد آزمون در حیوانانهٔ دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس تحت شرایط مناسب ۱۲:۱۲ ساعت تاریکی و روشنایی) نگهداری شدند. در این مطالعه از موش‌هایی با وزن یکسان (میانگین ۲۵ گرم برای تمامی موش‌ها) در ابتدای مطالعه استفاده شد. تمام روش‌های مورد استفاده، طبق موازین مصوب کمیته اخلاق پزشکی دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس انجام گرفت. تمامی مواد مصرف شده در این مطالعه از شرکت Sigma (ساخت کشور آلمان) تهیه شد.

ایجاد مدل سندرم تخمدان پلی‌کیستیک

به موش‌های مورد آزمون، ۴۰mg/kg استرادیول والریت (EV) به صورت داخل عضلانی تزریق شد. این

تک‌تزریق بر اساس مطالعات قبلی و به منظور القای تخمدان پلی‌کیستیک انتخاب شده است(۱۱).

اندازه‌گیری وزن بدن

در طول ۸ هفته بعد از تزریق، وزن بدن موش‌ها به‌صورت هفتگی و در یک روز و زمان مشخص مورد ارزیابی قرار گرفت.

مطالعات هیستوپاتولوژیک بافت تخمدان

هشت هفته پس ازتزریق ۴۰ میلی‌گرم برکیلوگرم EV، تخمدان‌های پنج سر از موش‌های آزمون به صورت تصادفی با دقت جداسازی شد. پس از پاک‌سازی چربی‌های چسبیده و بافت همبند اطراف، با بافر سالین شستشو داده شد و در فرمالین ۱۰ درصد حداقل به مدت ۲۴ ساعت فیکس گردید. برش‌های تخمدانی (۶-۵ µm) توسط تکنیک‌های هیستولوژیکی استاندارد روتین تهیه شد و تخمدان‌ها توسط رنگ‌آمیزی H&E که توسط Guyer شرح داده شده، رنگ‌آمیزی شدند(۱۲). در نهایت حضور کیست در مقاطع بافتی توسط میکروسکوپ نوری با درشت‌نمائی ۲۰۰ مورد ارزیابی قرار گرفت.

اندازه‌گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدان کل در بافت تخمدان

به منظور بررسی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل در بافت تخمدان، از آزمون FRAP (Ferric Reducing Ability of Plasma) استفاده شد. روش FRAP به عنوان یک تکنیک بسیار حساس، تکرارپذیر و دقیق بوده که در سال ۱۹۹۶ توسط Strain و Benzie معرفی شده است(۱۳). در روش FRAP عوامل آنتی‌اکسیدانی محلول در آب موجود در نمونه مورد مطالعه موجب احیا کمپلکس فریک‌تری پیریدیل تریازین ($TpTz\text{-}Fe^{3+}$) به فرم فرو ($TpTz\text{-}Fe^{2+}$) می‌شوند که در محیط اسیدی آبی رنگ است و حداکثر جذب نوری آن در طول موج ۵۹۳ nm می‌باشد.

سرعت واکنش با قدرت احیاء کنندگی نمونه رابطه خطی دارد. در این روش Fe^{3+} به صورت مازاد استفاده می‌شود؛ عامل محدودکننده سرعت، قدرت احیاءکنندگی نمونه است. محلول‌های استاندارد یون آهن Fe^{2+} با استفاده از محلول ذخیره آهن ۱۰۰۰ میکرومولار مطابق با جدول شماره ۱ تهیه گردید. به منظور رسم نمودار استاندارد، ۱/۵ میلی‌لیتر از محلول کار FRAP در یک لوله آزمایش ریخته شد. سپس ۵۰ میکرولیتر از نمونه استاندارد به آن افزوده شد و کاملاً ورتکس گردید. پس از ۱۰ دقیقه انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، جذب نور کلیه نمونه‌ها در طول موج ۵۹۳ nm قرائت گردید. تمامی این مراحل برای نمونه مجهول نیز تکرار گردید. جذب نور کلیه نمونه‌ها در طول موج ۵۹۳ nm در مقابل بلانک‌ها (بلانک ۱، صفر استاندارد است) قرائت گردید. میزان غلظت آنتی‌اکسیدان‌های محلول در آب در نمونه‌های مجهول بر اساس نمودار استاندارد محاسبه شد. جهت به دست آوردن شیره سلولی به منظور دسترسی به آنتی‌اکسیدان‌های داخل سلولی، ۲۰۰ میکرولیتر Triton X-100 ۰/۵ درصد روی سلول‌های موجود در بافت لیز شده ریخته شد و با پیپتاژ خوب مخلوط گردید. سوسپانسیون سلولی به مدت ۳۰ دقیقه روی یخ توسط shaker تکان داده شد. سپس با استفاده از دستگاه سونیکیت (با فرکانس ۵۰ Hz، دامنه ۸۰، نیم سیکل در ثانیه) سلول‌های موجود در بافت شکسته شدند و با دور ۱۴۰۰۰RPM در دمای ۴ درجه سانتیگراد به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند. از سوپ روئی آن که حاوی شیره سلول‌ها بود، شیره سلولی جهت بررسی تست FRAP استفاده گردید.

اندازه‌گیری میزان استرس اکسیداتیو در بافت تخمدان

به منظور بررسی میزان ROS بافت لیز شده، از دستگاه فلوسایتومتری استفاده شد. این روش با به کارگیری پروب‌های فلورسنت برای تشخیص ROS درون سلول، انجام می‌گیرد. اکسیداسیون (Sigma-Germany)

DCF-DA[1]، توسط ROS که در داخل سلول تولید می‌شود، سبب افزایش خاصیت فلورسنتی آن‌ها شده و می‌تواند برای اندازه‌گیری میزان ساخت هیدروژن پراکسید، استفاده شود.

به این ترتیب پس از گذشت ۸ هفته از تیمار موش‌های مورد مطالعه، بافت تخمدان در گروه‌های مورد بررسی جداسازی گردید. سپس بافت به‌طور کامل لیز شد و با دور RPM ۲۵۰۰ در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید و سوپ روئی دور ریخته شد. این مرحله با PBS (Phosphate Buffered Saline) تکرار شد. در تاریکی، ۱۰ میکرولیتر از DCF-DA ۲۰ میکرومولار به بافت لیز شده اضافه شد و به آرامی پیپتاژ گردید. سپس به مدت ۴۵ دقیقه در ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. بعد از سپری شدن مدت انکوباسیون در تاریکی، ۹۰۰ میکرولیتر PBS به آن اضافه شد و با دور RPM ۲۵۰۰ در دمای ۴ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید، سوپ روئی آن‌ها تخلیه و جهت بررسی با دستگاه فلوسیتومتری (BD Biosciences، آمریکا) آماده شدند.

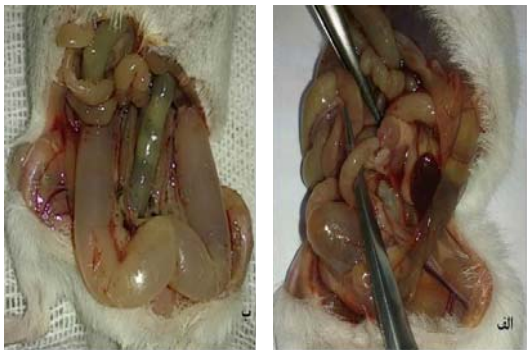
آنالیز آماری

کلیه داده های کمی با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۶، آزمون Independent sample t-test تجزیه و تحلیل شد. تفاوت داده‌ها در سطح P≤۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد. بین میانگین غلظت آنتی‌اکسیدان‌های محلول در آب و میانگین بازتابش فلورسنت ROS آزمون همبستگی انجام شد، سطح معنی‌داری p≤۰/۰۵ در نظر گرفته شد. داده ها به صورت میانگین ± انحراف معیار (SD) گزارش شده است.

یافته ها

ایجاد مدل سندرم تخمدان پلی‌کیستیک

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که تک تزریق استرادیول والریت (۴۰mg/kg) به صورت داخل عضلانی در موش‌های گروه آزمون، پس از گذشت ۸ هفته موجب پیدایش تخمدان‌های کیستیک شد. در اطراف تخمدان‌ها کیسه پر از مایعی، به‌طور چشمی مشاهده گردید. اندازه این کیسه‌ها در موش‌های مختلف، بسته به وزن و اندازه موش، متفاوت بود (شکل شماره ۱.الف). موش‌های گروه کنترل فاقد چنین ظاهری بودند. علاوه بر این در برخی از موش‌های مدل شده، سایر اعضای تناسلی موش نیز تحت تاثیر قرار گرفته بود و همان‌گونه که در تصویر شماره ۱.ب مشاهده می‌شود، رحم حالت متورم و غیرطبیعی را نشان می‌داد. این تظاهرات در هیچ‌یک از موش‌های گروه کنترل دیده نشد و اندام‌های تناسلی این موش‌ها کاملاً طبیعی مشاهده گردید.

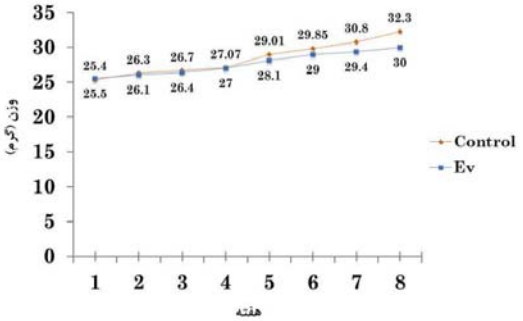


تصویر شماره ۱: (الف) مدل تخمدان پلی کیستیک، پس از گذشت هشت هفته از تک تزریق استرادیول والریت (۴۰mg/kg(EV ایجاد شد. (ب) رحم موش پلی کیستیک +

اندازه‌گیری وزن بدن

ارزیابی تغییرات وزنی موش‌ها در طی ۸ هفته از زمان القای مدل PCO، به‌طور هفتگی انجام شد. نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که میانگین وزنی موش‌ها در هر دو گروه با گذشت زمان به طور معنی‌داری (P≤۰/۰۵) افزایش یافته بود، اما این افزایش وزن در بین دو گروه کنترل و گروه دریافت‌کننده استرادیول والریت تفاوت معنی داری نداشت (نمودار شماره ۱).

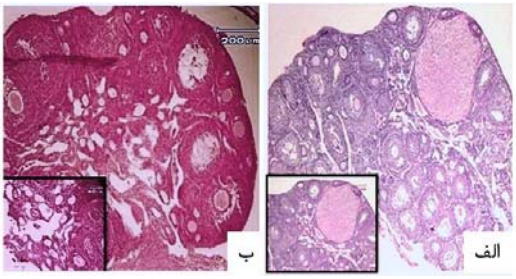
1. 2, 7 dichlorofluorescein diacetate



نمودار شماره ۱. میانگین تغییرات وزن موش ها در طول هشت هفته پس از القای PCO

مطالعات هیستوپاتولوژیک بافت تخمدان

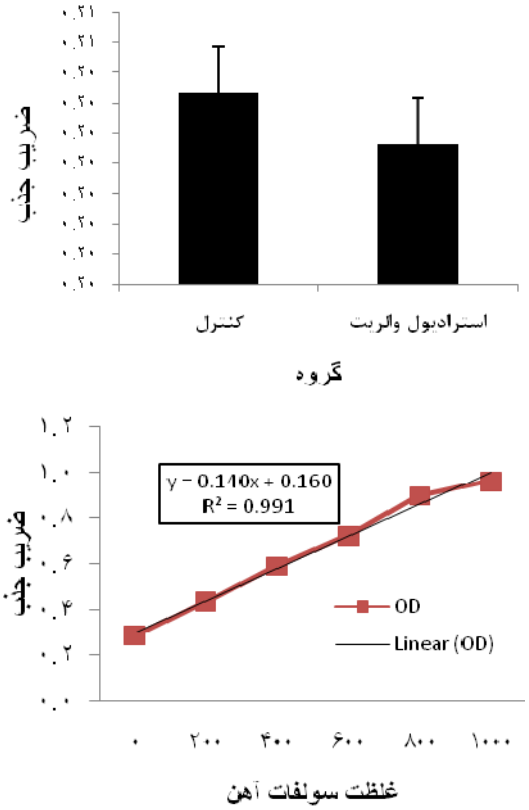
نتایج حاصل از مطالعات بافتی در برش‌های تخمدانی موش‌های گروه PCO نشان داد که تک تزریق استرادیول والریت منجر به ایجاد کیست‌هایی با سایزهای متفاوت گردید که این کیست‌ها بیش‌تر در ناحیه مرکزی تخمدان متمرکز شده بودند (تصویر شماره ۲.ب). در بعضی از فولیکول‌ها، قطر سلول‌های گرانولوزا کاهش و سلول‌های تکا ضخیم‌تر شده بودند. این درحالی بود که فولیکول‌های تخمدانی موش‌های گروه کنترل کاملا طبیعی و در مراحل مختلف رشد قرار داشتند (تصویر شماره ۲. الف).



تصویر شماره ۲: تخمدان موش گروه کنترل (الف)، تخمدان موش گروه PCO (ب)، در مقایسه با برش بافتی تخمدان موش گروه کنترل، در گروه تیمارشده با EV، کیست های متعدد در ناحیه مرکزی تخمدان مشاهده می گردد. رنگ آمیزی به صورت H&E می باشد (درشت نمائی 200×)

اندازه گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدان کل در بافت تخمدان

در این بخش از بررسی ابتدا نمودار استاندارد رسم گردید که در نمودار شماره ۲. ب آورده شده است. نتایج حاصل از ۵ تکرار برای بررسی میزان آنتی‌اکسیدان‌های درون سلولی در دو گروه مورد مطالعه نشان داد که در گروه کنترل، میزان غلظت آنتی‌اکسیدان‌های محلول در آب (۰/۲۰۳±۰/۰۰۱) و در گروه EV (۰/۲۰۱±۰/۰۰۱) مشاهده شد. این دو غلظت به دست آمده با یکدیگر اختلاف معنی‌داری ($p \leq ۰/۰۵$) داشتند (نمودار شماره ۲).

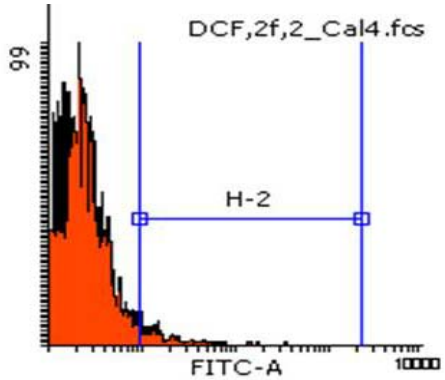


نمودار شماره ۲: بررسی غلظت آنتی اکسیدان های محلول در بافت تخمدان گروه کنترل و آزمون (الف). نمودار استاندارد (ب)اعداد به صورت میانگین ± انحراف معیار (SD) بیان شده است.

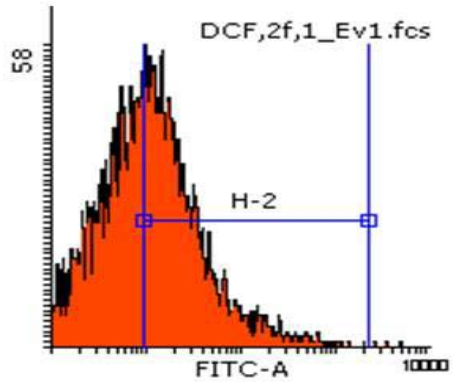
اندازه گیری میزان استرس اکسیداتیو در بافت تخمدان

نتایج میانگین بازتابش فلورسنت DCF نشان دهنده میزان ROS درون سلولی است که در گروه کنترل و EV با هم مقایسه شدند. در این آزمون نتایج حاصل از ۵ تکرار نشان می‌دهد که در گروه کنترل پایین‌ترین میزان ROS (۲/۸±۰/۱) و در گروه EV بالاترین میزان ROS

(۳۴/۰۵±۴/۷۵) مشاهده شد. مطابق با نمودار شماره ۳ و ۴، میزان ROS در گروه EV نسبت به گروه کنترل به طور معنی‌دار (P≤۰/۰۵) افزایش یافته بود.



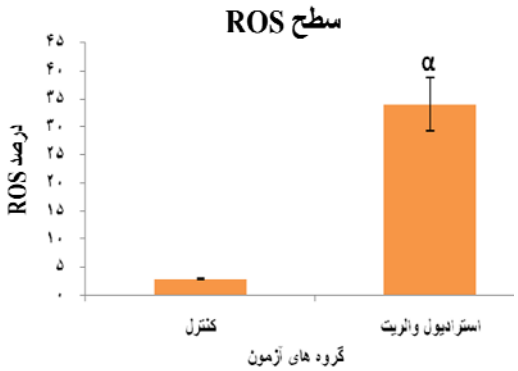
الف



ب

نمودار شماره ۳: نمودار فلوسایتومتری (الف) گروه کنترل (ب) گروه استرادیول والریت

بین میانگین غلظت آنتی‌اکسیدان‌های محلول در آب و میانگین بازتابش فلورسنت ROS، آزمون همبستگی انجام شد که نشان داد رابطه بین میزان میانگین بازتابش فلورسنت و غلظت آنتی‌اکسیدان‌های محلول یک رابطه معکوس متوسط در گروه کنترل و یک رابطه معکوس قوی در گروه استرادیول والریت داشت.



نمودار شماره ۴: بررسی میزان ROS موجود در بافت تخمدان در دو گروه کنترل و PCO که توسط استرادیول والریت مدل شدند. α تفاوت معنی‌داری (p≤۰/۰۵) را نسبت به گروه کنترل نشان می‌دهد. اعداد به صورت میانگین ± انحراف معیار (SD) بیان شده است

بحث

در جوامع امروزی سندرم تخمدان پلی‌کیستیک یکی از شایع‌ترین علل ناباروری ناشی از عدم تخمک‌گذاری در زنان محسوب می‌شود. به این ترتیب استفاده از مدل‌های حیوانی می‌تواند در زمینه یافتن علل این سندرم موثر باشد. القای مدل PCO جهت انجام مطالعات تحقیقاتی در شرایط in vivo، با استفاده از روش‌های مختلفی صورت می‌گیرد. در مطالعه حاضر از تک تزریق استرادیول والریت ۴۰mg/kg، برای ایجاد مدل استفاده گردید. استفاده از این دوز در مدت زمان ۸ هفته توانست تخمدان‌های حاوی کیست با ابعاد متفاوت را ایجاد کند. بیش‌تر روش‌های ذکرشده برای مدل‌سازی PCOS، تخمدان‌های پلی‌کیستیک را که مشخصه مورفولوژیکی این سندرم می‌باشد، ایجاد می‌کنند(۱۴). Abdul و همکاران در سال ۲۰۱۲ با استفاده از استرادیول والریت به همراه روغن ذرت، مدل تخمدان پلی‌کیستیک را ایجاد نمودند و به دنبال آن فولیکول‌های کیستیک بزرگ در تخمدان مشاهده شدند(۱۵).

قاسم زاده و همکاران در سال ۲۰۱۳ به بررسی اثرات آنتی اکسیدانی عصاره Allium Cepa در رت پرداختند که با استفاده از استرادیول والریت (4mg/rat/IM) مدل تخمدان پلی‌کیستیک شده بود. در گروه PCO بدون

تیمار، تعداد کیست‌ها و سلول‌های آپوپتوتیک گرانولوزا به‌طور قابل توجهی افزایش یافته بود(۷). هشت هفته پس از تزریق EV، با استفاده از تصاویر ماکروسکوپیک و بررسی‌های هیستوپاتولوژیک مدل PCO اثبات شد و به دنبال آن میزان ROS درون بافتی توسط دستگاه فلوسایتومتری اندازه‌گیری گردید. نتایج مطالعه نشان دادند که در گروه PCO، میزان ROS نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری یافته بود، در حالی‌که میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل در گروه PCOنسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری داشت. این امر نشان‌دهنده این موضوع می‌باشد که القای PCO توسط EV، توانسته است میزان ROS درون بافت تخمدان را افزایش دهد. این افزایش استرس اکسیداتیو نیز به نوبه خود باعث کاهش میزان TAC طبیعی موجود در تخمدان شده است.

عوامل متعددی می‌توانند در ایجاد گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن دخیل باشند. نتایج این مطالعه نشان داد که کیست‌های ایجاد شده در بافت تخمدان می‌تواند به عنوان یک عامل ایجاد ROS در بدن محسوب شود. میتوکندری در سلول خود می‌تواند به عنوان عامل طبیعی در ایجاد ROS باشد(۴). ROS و رادیکال‌های آزاد هم‌چنین می‌توانند توسط فاکتورهای محیطی (مانند دود سیگار، اگزوز، مواد شیمیایی موجود در مواد غذایی)، پاسخ‌های ایمنی و برخی از بیماری‌ها به وجود آیند(۷). با این حال در فرایندهای فیزیولوژیکی نظیر بلوغ اووسیت، تخمک‌گذاری، لقاح و ریزش‌های آندومتری وجود این عوامل ضروری به نظر می‌رسد(۵). توجه به این نکته حائز اهمیت می‌باشد که اساسا تخمدان از نظر متابولیکی یک عضو فعال به شمار می‌رود، از این‌رو به طور مداوم تحت تاثیر انواع استرس‌ها می‌باشد(۶). آسیب‌های زیستی حاصل از استرس اکسیداتیو (OS) می‌تواند به‌عنوان ایجاد کننده یا تشدیدکننده برخی از بیماری‌ها مد نظر قرار گیرد(۱۶). استرس اکسیداتیو می‌تواند در سایر اختلالات مربوط به فرایند باروری نظیر پره‌اکلامپسی، سقط جنین، آندومتریوز، تخمدان پلی‌کیستیک، ناباروری، مول هیداتیفورم و نقایص هنگام تولد نقش داشته باشد. از این رو ارزیابی و حفاظت علیه استرس اکسیداتیو، در علم باروری بسیار مهم است(۷).

در مطالعه حاضر این نکته مدنظر قرار گرفته شد که ایجاد مدل تخمدان پلی‌کیستیک می‌تواند عاملی در راستای ایجاد ROS و یا برهم خوردن تعادل ROS و محتوای آنتی‌اکسیدانی باشد. لذا بررسی محتوای آنتی‌اکسیدان‌های بافت تخمدان پلی‌کیستیک و گروه کنترل در بخش دیگری از مطالعه ارزیابی شد. تجویز انواع آنتی‌اکسیدان‌ها به عنوان یک راه‌کار درمانی، امروزه در برخی از بیماری‌ها خصوصا موارد ناباروری با علت مردانه یا زنانه گزارش شده است. به این ترتیب در زمان افزایش سطح ROS به صورت پاتولوژیکی، غلظت آنتی‌اکسیدان‌ها افزایش یافته تا آسیب اکسیداتیو را به حداقل برسانند، اختلالات احتمالی را ترمیم کنند و یا کاملا از آن جلوگیری نمایند(۱۷). گزارش شده است که تجویز ویتامین E یا ترکیبات ویتامین E و سلنیوم باعث کاهش وقوع اختلالات تولید مثلی پس از زایمان، مانند غشاهای جنینی باقی‌مانده، عفونت‌های رحمی و تخمدان‌های کیستیک و بهبود باروری می‌شود(۱۸). به این ترتیب مطابق با داده‌های حاصل از این مطالعه، ایجاد مدل تخمدان پلی‌کیستیک با هدف افزایش میزان ROS در بافت تخمدان و بر هم خوردن تعادل ROS با محتوای آنتی‌اکسیدان کل در بافت، می‌تواند نگاهی جدید به استفاده از این مدل‌های آزمایشگاهی را در به کار بردن درمان پزشکی پیش روی محققین این شاخه از علم پزشکی قرار دهد. با این حال باید توجه داشت که مدل حاضر نظیر مدل‌های دیگر، به‌طور کامل نمی‌تواند تمامی شرایط پاتولوژیکی را مطابق با نمونه‌های انسانی ایجاد نماید، لذا برای بررسی سایر خصوصیات مربوط به این سندرم مانند مقاومت بدن به انسولین، چاقی و یا موارد دیگر باید سایر روش‌ها را جهت ایجاد مدل، بررسی نمود. با این حال مطابق با

یافته‌های این مطالعه، ایجاد مدل استرس اکسیداتیو پس از ایجاد مدل PCO، امکان بررسی خواص مواد آنتی‌اکسیدانی جهت درمان بیماران مبتلا به تخمدان پلی‌کیستیک را برای محققین فراهم می‌آورد.

سپاسگزاری

تحقیق حاضر بخشی از پایان‌نامه کارشناسی ارشد رشته علوم تشریحی مصوب دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس است که با حمایت مالی آن دانشگاه انجام شده است.

References

1. Baravalle C, Salvetti NR, Mira GA, Pezzone N, Ortega HH. Microscopic characterization of follicular structures in letrozoleinducedpolycystic ovarian syndrome in the rat. Arch Med Res 2006; 37(7): 830-839.
2. Skrtic A, Sokolic L, Borovecki A, Rosa J, Fenzl V.Immunohistochemical localization of CD31, NOTCH1 and JAGGED1 proteins in experimentally induced polycystic ovaries ofimmature rats. Acta Histochem 2011; 113(3): 262-269.
3. Dasgupta S, Reddy BM. Present status of understanding on the genetic etiology of polycystic ovary syndrome. J Postgrad Med 2008; 54(2): 115-125.
4. Raha S, Robinson BH. Mitochondria, oxygen free radicals, and apoptosis. Am J Med Genet 2001; 106(1): 62-70.
5. Sugino N, Karube-Harada A, Taktani T, Sakata A, Nakamura Y. Withdrawal of Ovarian Steroids Stimulates Prostaglandin F2alpha Production Through Nuclear Factor-kappaB Activation via Oxygen Radicals in Human Endometrial Stromal Cells: Potential Relevance to Menstruation. J Reprod Dev 2004; 50: 215-225.
6. Fujii J, Iuchi Y, Okada F. Review: Fundamental roles of reactive oxygen species and protective mechanisms in the female reproductive system. Reprod Biol Endocrinol 2005; 3: 43-45.
7. Ghasemzadeh A, Farzadi L, Khaki A, Khan Ahmadi SH. Effect of Allium Cepa seeds Ethanolic Extract on Experimental Polycystic Ovary Syndrome (PCOS) Apoptosis induced by Estradiol-Valerate. Life Sci J 2013; 10(4s): 170-175.
8. Gong J, Wu DB, Zhang LL, Li J, Zhao X, Zhang D. Study on the oxidative stress in the ovaries of a rat model of polycystic ovary. Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban 2015; 46(2): 238-242.
9. Murri M, Luque-Ramírez M, Insenser M, Ojeda-Ojeda M, Escobar-Morreale HF. Circulating markers of oxidative stress and polycystic ovary syndrome (PCOS): a systematic review and meta-analysis. Hum Reprod Update 2013; 19(3): 268-288.
10. Štajner D, Milić N, Čanadanović-Brunet J, Kapor A, Štajner M, Popović BM. Exploring Allium species as a source of potential medicinal agents. Phytother Res 2006; 20(7): 581-584.
11. Peyghambari F, Amanpour S, Fayazi M, Haddadi M, Muhammadnejad S, Muhammadnejad A, et al. Expression of α4, αV, β1 and β3 integrins during the Implantationwindow on Blastocyst of a Mouse Model of Polycystic Ovarian

Syndromes. Iran J Reprod Med 2014; 12(9): 623-632.

12. Guyer M. Animal microbiology. 5th ed. Chicago: The University of Chicago press; 1993.
13. Benzie IF, Strain J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. Anal Biochem 1996; 239(1): 70-76.
14. Walters KA, Allan CM, Handelsman DJ, Rodent Models for Human Polycystic Ovary Syndrome. Biol Reprod 2012; 86(5): 149, 1-12.
15. Abdul R, Mahood H. Effects of Pimpinellaanisum oil Extract on Some Biochemical Parameters in Mice experimentally induced for human Polycystic Ovary Syndrome. Journal of Biotechnology Research Center 2012; 6(2): 67-73.
16. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. Int J Biochem Cell Biol 2007; 39(1): 44-84.
17. Lykkesfeldt J, Svendsen O. Oxidants and antioxidants in disease: oxidative stress in farm animals. Vet J 2007; 173: 205-511.
18. Aréchiga CF, Ortiz O, Hansen PJ. Effect of prepartum injection of Vitamin E and Selenium on postpartum reproduction function of dairy cattle. Theriogenolog 1994; 41(6): 1251-1258.