مقاله پژوهشی

مجله سلول و بافت (علمی - پژوهشی)
جلد ٤، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۲، ۱۵۷-۱٤۹

بررسی اثرات هیپرگلیسمی و انسولین‌تراپی بر دوره استروس و ساختار رحم در موش صحرایی

فاطمه جمیل .M.Sc [۱*]، مرتضی بهنام رسولی .Ph.D [۲]، ناصر مهدوی شهری .Ph.D [۲]، حسام دهقانی .Ph.D [۳]

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد سلولی- تکوینی دانشگاه فردوسی مشهد
۲- گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم دانشگاه فردوسی مشهد
۳- دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد
* پست الکترونیک نویسنده مسئول: fatemeh.jamil@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۷/۲۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۱/۲۰

چکیده

هدف: دیابت، به‌عنوان یک اختلال متابولیک، دستگاه‌های مختلف از جمله اندام‌های دستگاه تولیدمثل را تحت تاثیر قرار می‌دهد. در این مطالعه اثرات هیپرگلیسمی و انسولین‌تراپی بر دوره استروس، ساختار رحم و سطوح هورمون‌های هیپوفیزی و تخمدانی در موش صحرایی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش: این تحقیق برروی ۴ گروه (n=۶) از موش‌های صحرایی ماده بالغ کنترل، هیپرگلیسمی، هیپرگلیسمی تحت تیمار با انسولین (انسولین) و شم (تزریق بافر سیترات به‌عنوان حلال استرپتوزوتوسین) انجام شد. القای هیپرگلیسمی توسط استرپتوزوتوسین (۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌صورت داخل صفاقی) و تیمار انسولین (۲۰IU/kg) به‌صورت روزانه انجام شد. در طول دوره آزمایش (۳۶ روز)، تغییرات سیکل جنسی حیوان‌ها (تست اسمیر واژینال) بررسی و در روز ۳۶ پس از خون‌گیری (جهت سنجش سطوح LH، FSH، استروژن و پروژسترون) شاخ راست رحم خارج، وزن و ۱/۳ میانی آن، مورد بررسی هیستولوژیک و هیستومتریک قرار گرفت.

نتایج: در مقایسه با گروه کنترل و گروه انسولین، در گروه هیپرگلیسمیک علاوه بر آنکه وزن بدن، وزن و حجم رحم، حجم و ضخامت اندومتر و میومتر به‌طور معنی‌داری (p<۰/۰۰۱) کاهش و سطح پروژسترون بطور معنی‌داری (p<۰/۰۰۱) افزایش یافت، اتساع عروقی و نفوذ سلول‌های التهابی نیز مشاهده شد. بین گروه کنترل و گروه تیمار با انسولین تفاوت معنی‌داری در متغیرهای بالا، مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: کاهش انسولین، استرس اکسیداتیو ناشی از هیپرگلیسمی، و اختلال احتمالی در محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گناد (HPG)، رحم حیوانات هیپرگلیسمیک را به شدت تحت تاثیر قرار می‌دهد. انسولین‌تراپی احتمالا به‌صورت مستقیم و یا از طریق اصلاح محور HPG و اختلالات متابولیک، می‌تواند به میزان زیادی از اختلالات رحمی ناشی هیپرگلیسمی بکاهد.

واژگان کلیدی: هیپرگلیسمی، چرخه استروس، هورمون‌های جنسی، رحم، موش صحرایی

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

دیابت ملیتوس اختلال متابولیکی با علت‌شناسی گوناگون است که به‌واسطه هیپرگلیسمی مزمن همراه با اختلال در متابولیسم کربوهیدرات، چربی و پروتئین که ناشی از نقص در ترشح یا عمل انسولین و یا هر دو عامل است، مشخص می‌شود (۱). دیابت علاوه بر آن‌که خطر ابتلا به بیماری‌های مختلفی از جمله بیماری‌های قلبی- عروقی، رتینوپاتی، نفروپاتی، نوروپاتی را بالا می‌برد (۲)، باعث محدودیت‌های تولیدمثلی در هر دو جنس نیز می‌شود. در این رابطه، محققان زیادی به بررسی اثرات دیابت بر اندام‌های مختلف از جمله دستگاه تولیدمثل پرداخته‌اند. نتایج حاصل از مطالعه Garris و همکاران (۳)، تخریب بخش اپی‌تلیال و استرومال اندومتر را در همسترهای کتونوریک دیابتی نشان داد. بهم ریختگی ساختمان اندومتر و تحلیل رحم نیز در همسترهای دیابتی توسط این محققین نشان داده شد (۴). بررسی مورفولوژیکی اندام‌های تولیدمثلی موش‌های دیابتی NOD(Non- obese diabetic mice) که توسط Tatewaki (۵) و همکاران انجام شد، تجمع لیپید در اپی‌تلیوم لومنی و غده‌ای، کاهش وزن رحم و آتروفی اندومتر و میومتر را نشان داد. در این راستا، بررسی اثرات دیابت القا شده با آلوکسان و درمان با انسولین بر عملکرد تولیدمثلی موش‌های صحرایی دیابتی نشان داد که انسولین موجب برطرف کردن اختلال در عملکرد تخمدان، رحم و نیز تغییرات دوره‌ای اپی‌تلیوم واژن می‌شود (۶). القای دیابت توسط مواد شیمیایی سیتوتوکسیک همچون استرپتوزوتوسین که موجب تخریب انتخابی سلول‌های بتا می‌شود، مدلی مناسب از دیابت نوع یک در انسان است (۷). با توجه به‌این‌که تاکنون مطالعه‌ای به بررسی هیستولوژیک و هیستومتریک رحم و نیز تغییرات سطوح هورمونی در موش‌های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوتوسین نپرداخته است، مطالعه حاضر با هدف بررسی اثرات هیپرگلیسمی ناشی از دیابت تجربی نوع یک و درمان با انسولین بر تغییرات ساختاری رحم، سطوح هورمون‌های جنسی و چرخه استروس در موش‌های صحرایی نژاد ویستار انجام شد.

مواد و روش‌ها

حیوانات مورد مطالعه: در این مطالعه تجربی، از ۲۴ سر موش صحرایی ماده از نژاد ویستار در محدوده وزنی ۱۸۰ تا ۲۰۰گرم که در اتاق حیوانات دانشکده علوم در شرایط استاندارد ۲±۲۰ درجه سانتی گراد و سیکل روشنایی- تاریکی ۱۲ ساعته تکثیر و پرورش یافته بودند، استفاده شد. حیوانات با رعایت مقررات بین‌المللی اخلاق علمی و انجمن حمایت از حیوانات آزمایشگاهی نگه‌داری و مورد آزمایش قرار گرفتند. موش‌های صحرایی به‌طور تصادفی به چهار گروه شامل گروه کنترل، شم، هیپرگلیسمی و هیپرگلیسمی تحت درمان با انسولین (انسولین) تقسیم شدند. در گروه تجربی جهت القای هیپرگلیسمی، یک بار تزریق درون صفاقی استرپتوزوتوسین (STZ) با دوز ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم انجام شد. پس از گذشت ۷۲ ساعت از تزریق استرپتوزوتوسین از ناحیه دم خون‌گیری به عمل آمد و با استفاده از گلوکومتر (Bioneem) قند خون اندازه‌گیری شد. مبنای دیابتی شدن موش‌های صحرایی قند خون بالای ۳۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر در نظر گرفته شد. در گروه هیپرگلیسمیک، برای اطمینان از پایداری شرایط هیپرگلیسمیک، قند خون به‌طور یک روز در میان با استفاده از گلوکومتر اندازه‌گیری شد. در گروه انسولین، پس از القای هیپرگلیسمی با استفاده از STZ، تزریق زیرپوستی انسولین NPH با دوز IU/kg ۲۰ روزانه و به مدت ۳۶ روز صورت گرفت. در گروه شم نیز جهت ایجاد استرس ناشی از تزریق در موش‌های صحرایی، تزریق درون صفاقی بافر سیترات انجام شد.

تعیین مراحل دوره استروس: برای هر موش مراحل دوره استروس با بررسی اسمیر واژینال تعیین شد. برای این کار نمونه‌برداری از واژن با استفاده از سواپ مرطوب شده با سرم فیزیولوژی انجام شد. بلافاصله پس از گسترش نمونه، بر روی لام به‌منظور تثبیت آن‌ها با الکل ۹۶ درصد اضافه و در هوای آزاد خشک شد. سپس لام‌ها به مدت ۴ تا ۷ دقیقه با محلول هماتوکسیلین رنگ شدند. پس از آن لام‌ها به مدت ۲ دقیقه در محلول Ea50 (جهت رنگ‌آمیزی سیتوپلاسم) قرار گرفتند. مراحل دوره استروس با توجه به نسبت‌ها و مورفولوژی لوکوسیت‌ها و سلول‌های اپی‌تلیال تعیین شد، بدین ترتیب که در مرحله پرواستروس، غالبیت با سلول‌های اپیتلیال هسته‌دار، در مرحله استروس، سلول‌های شاخی بدون هسته و طی مرحله بعدی یعنی متاستروس، درصد یکسانی از سلول‌های شاخی، اپی‌تلیالی هسته‌دار و لوکوسیت‌ها در گسترش مشاهده شد. در مرحله دی‌استروس، غالبیت با لوکوسیت‌ها می‌باشد (۸ و۹).

نمونه‌برداری و مطالعات بافت‌شناسی: پس از گذشت ۳۶ روز و در مرحله دی‌استروس سیکل جنسی، ابتدا موش‌های صحرایی وزن و سپس با استفاده از دی اتیل اتر بی‌هوش شدند. جهت

www.SID.ir
Archive of SID

تعیین سطوح سرمی هورمون‌های تخمدانی و هیپوفیزی، خون‌گیری از سینوس چشمی و با استفاده از لوله‌های هماتوکریت در هر گروه صورت گرفت. پس از لخته شدن خون در دمای آزمایشگاه، نمونه‌ها با سرعت ۴۰۰۰ rpm به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ و از آن‌ها سرم تهیه شد. نمونه‌های سرم در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان اندازه‌گیری هورمون‌ها نگهداری شدند. هورمون‌های لوتئینی (LH) و محرک فولیکولی (FSH) به روش Radioimmuno assay، کیت (دیاسورین- ایتالیا) و هورمون‌های استروژن و پروژسترون با استفاده از کیت‌های مخصوص (دیاسورین- ایتالیا) مورد سنجش قرار گرفت. پس از خون‌گیری از سینوس چشمی، حیوانات تشریح، شاخ راست رحم آن‌ها خارج، وزن و سپس ۱/۳ میانی شاخ راست رحمی جهت انجام مطالعات بافت‌شناسی در محلول بوئن به مدت ۲۴ ساعت فیکس و به‌دنبال آن مراحل آبگیری، شفاف‌سازی، آغشتگی و قالب‌گیری با پارافین انجام شد. سپس مقاطع عرضی به ضخامت ۷ میکرون که به روش سیستماتیک تصادفی تهیه شده بودند، به روش هماتوکسیلین- ائوزین رنگ‌آمیزی شدند. از این مقاطع علاوه بر مطالعات هیستولوژیک کلی، برای اندازه‌گیری پارامترهای کمی از جمله حجم رحم، حجم اندومتر، حجم لایه‌های عضلانی رحم از روش‌های استریولوژیکی استفاده شد.

تعیین حجم رحم، حجم اندومتر و حجم لایه‌های عضلانی رحم: برای تخمین حجم رحم و قسمت‌های مختلف آن از روش کاوالیه استفاده شد (۱۰و۱۱)، بدین منظور، طلقی که بر روی آن تعدادی نقطه به طور یکنواخت و با فواصل برابر قرار گرفته بود، برروی تصاویر تهیه شده از برش‌ها قرار داده شد و تعداد نقاط واقع بر روی رحم، و اجزای مختلف آن به طور جداگانه شمارش شد. بدین ترتیب، وسعت و یا سطح مقطع‌های رحم و اجزای آن ($\sum A$) بر روی تمام برش‌ها اندازه‌گیری و به‌دنبال آن طبق فرمول زیر حجم کلی رحم و اجزای آن محاسبه گردید.

$$V = d \times \sum A$$

V= حجم رحم و یا هر یک از اجزای آن

d= فاصله بین برش‌ها بر حسب میلی‌متر

$\sum A$= مجموع مساحت سطح مقطع‌های رحم و یا هر یک از اجزاء آن که از فرمول زیر بدست می‌آید:

$$\sum A = \sum p \times a(p)$$

$\sum p$= تعداد نقاط شمارش شده روی کل سطح مقطع‌های نمونه

a(p)= مساحت مربوط به هر نقطه p (میلی‌متر مربع)

بنابراین:

$$V(mm^3) = d \times \sum p \times a(p)$$

آنالیز آماری داده‌ها: داده‌های به‌دست آمده با روش آماری (آنالیز واریانس) (ANOVA) و استفاده از آزمون Scheffe و با کمک نرم افزار Spss16 مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت و مقادیر $P<0/05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد. داده‌ها به صورت میانگین±انحراف معیار بیان و جداول و نمودارها نیز در نرم افزار Excele 2007 رسم شد.

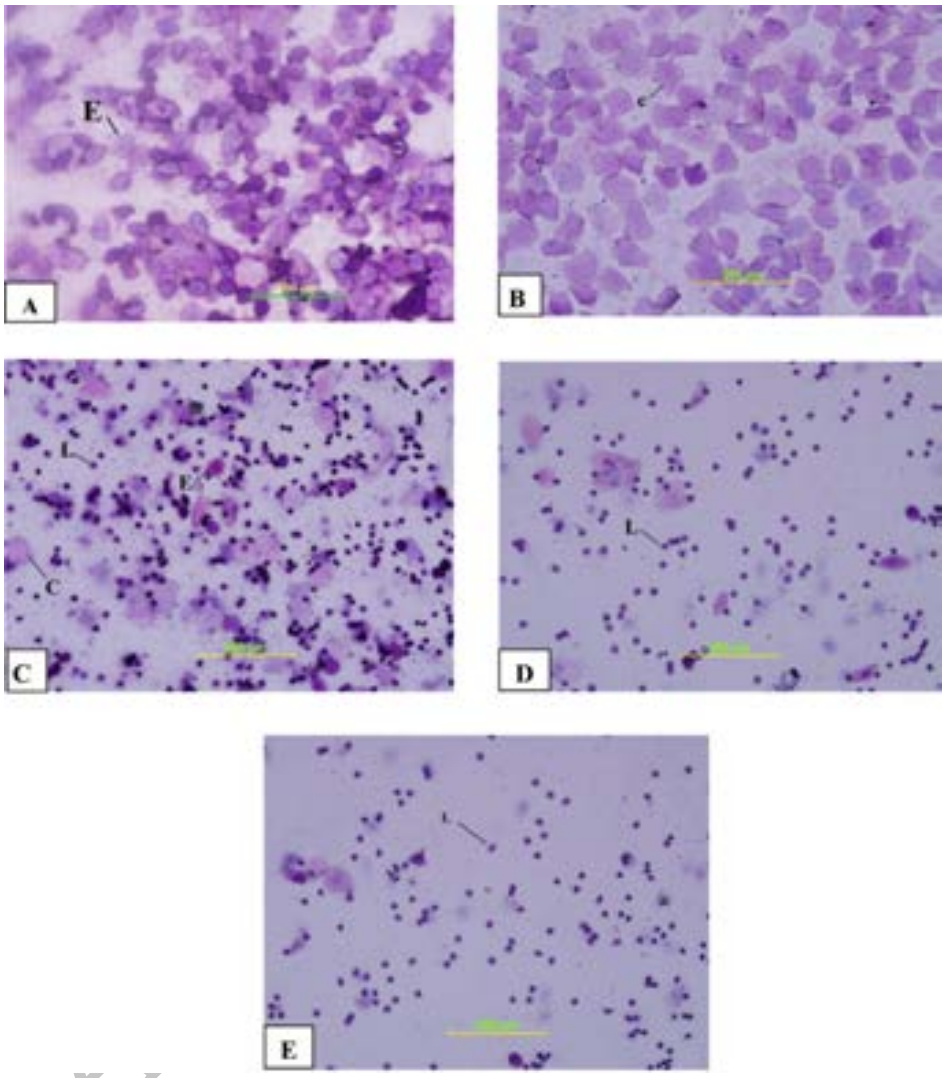
نتایج

نتایج حاصل از بررسی سیتولوژی اسمیر واژینال نشان داد که در مقایسه با موش‌های گروه کنترل که طی دوره آزمایش، سیکلی منظم داشتند، سیکل جنسی در موش‌های گروه هیپرگلیسمیک در مرحله دی‌استروس متوقف شد در حالی‌که درمان با انسولین توانست سیتولوژی اسمیر واژن را در گروه تحت درمان به حالت طبیعی برگرداند و سیکل جنسی این گروه همانند گروه کنترل منظم شد (شکل ۱). علاوه بر کاهش معنی‌دار ($p<0/001$) وزن بدن در گروه هیپرگلیسمیک، وزن رحم نیز به طور معنی‌داری ($p<0/01$) در مقایسه با گروه کنترل کاهش یافت. انسولین‌تراپی توانست کاهش وزن بدن و رحم را نسبت به گروه هیپرگلیسمی جبران نماید (جدول۱). نتایج حاصل از اندازه‌گیری سطح سرمی هورمون‌ها نشان داد که سطح هورمون پروژسترون در گروه هیپرگلیسمی در مقایسه با کنترل به طور معنی‌داری افزایش یافته ($p<0/001$)، در حالی‌که تغییرات معنی‌داری در سطح سرمی هورمون استروژن و هورمون‌های لوتئینی (LH) و محرک فولیکولی (FSH) دیده نشد. گروه تحت درمان با انسولین تفاوت معنی‌داری با کنترل نشان نداد. به عبارت دیگر، انسولین توانسته است در این گروه، سطح سرمی پروژسترون را به مقادیر گروه کنترل برگرداند (نمودار۱). علاوه بر کاهش معنی‌دار ($p<0/001$) قطر رحم و ضخامت اندومتر و میومتر (جدول ۲)، حجم رحم، اندومتر و لایه عضلانی رحم نیز در گروه هیپرگلیسمی در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی‌داری ($p<0/001$) کاهش یافت (نمودار ۲). انسولین‌تراپی توانست این کاهش را جبران کند و گروه تحت درمان تفاوت معنی‌داری با

Archive of SID

www.SID.ir

کنترل نشان نداد. در بررسی‌های بافت‌شناسی، علاوه بـر کـاهش چشم‌گیر قطر رحم در گـروه هیپرگلیسـمی (شـکل۲B)، اتسـاع عروق موجود در بافت همبند بینابین لایه عضلانی (شـکل۲B) و نفوذ سلول‌های التهابی به اندومتر که احتمال می‌رود پلاسماسـل باشند (شکل۲E)، در مقایسه با گروه کنترل (شکل۲A)، مشاهده شد. انسولین‌تراپی توانست تا حد زیادی اختلالات ایجاد شـده در شرایط هیپرگلیسمیک را تصحیح کند (شکل۲D).

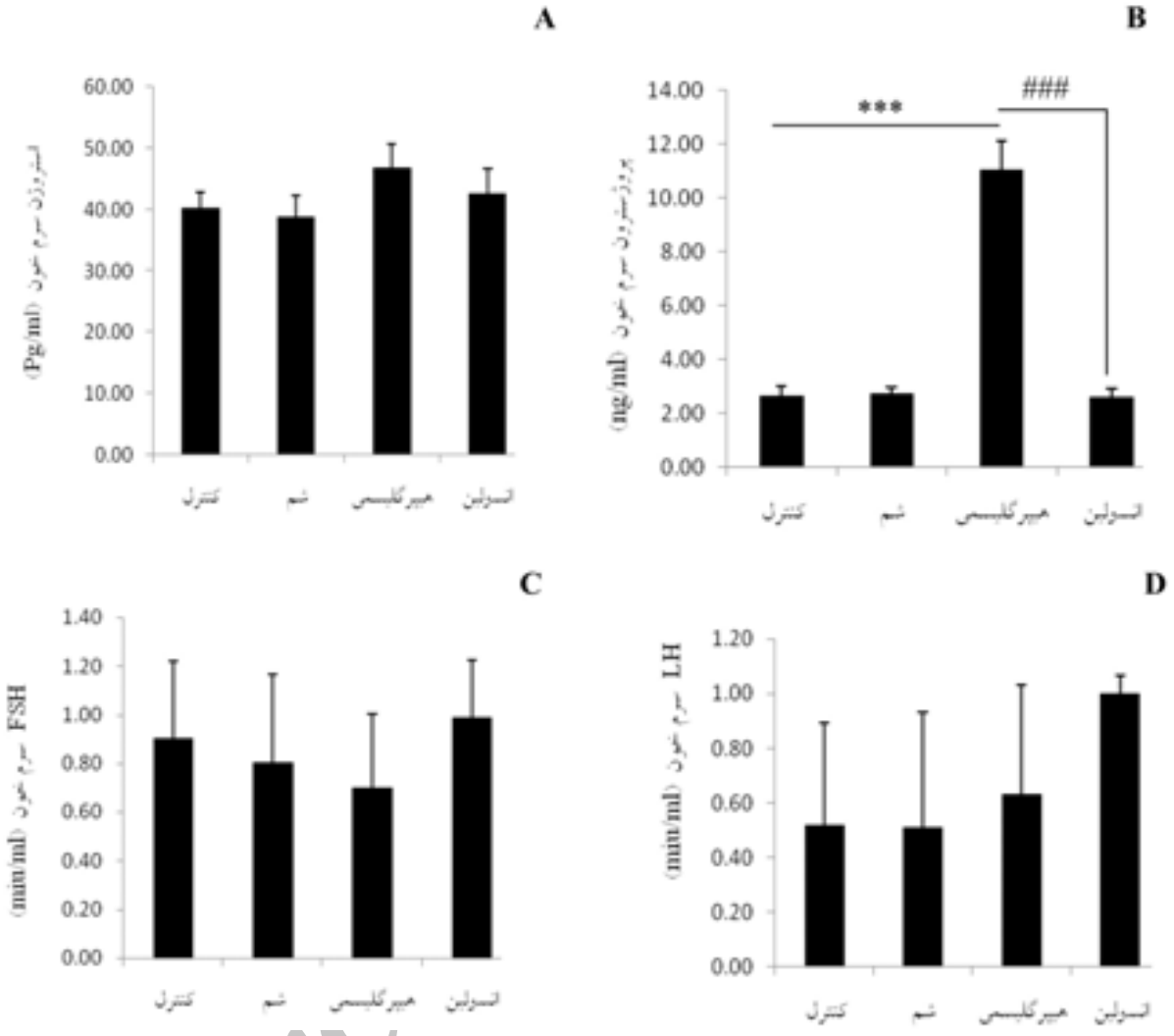


شکل۱: تصاویر اسمیر واژینال موش‌هـای صـحرایی گـروه کنتـرل و انسـولین در مراحـل مختلـف سـیکل جنسـی A) مرحلـه پرواسـتروس، B) مرحلـه استروس،C) مرحله مت استروس، D) مرحله دی‌استروس، E) اسمیر واژینال موش‌های صحرایی هیپرگلیسمیک را در مرحله دی استروس سیکل جنسی نشان می‌دهد. علائم مندرج بر روی شکل‌ها: E. سلول‌های اپی‌تلیال هسته‌دار، C. سلول‌های اپی‌تلیال شاخی، L. لوکوسیت. (رنگ‌آمیزی هماتوکسـیلین-Ea50، بزرگنمایی ۲۰۰x).

*جدول ۱ نتایج حاصل از محاسبه وزن بدن و رحم. مقادیر برحسب Mean±SD ارائه شده است. ***P<۰/۰۰۱ در مقایسه با کنترل و ###P<۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه هیپرگلیسمی (n=۶).*

	وزن بدن	وزن رحم
کنترل	۱۹۴/۸۳±۵/۹۸	۰/۱۶±۰/۰۱
شم	۱۹۰/۵۳ ±۱/۳۷	۰/۱۶±۰/۰۲
هیپرگلیسمی	۱۳۵±۷/۰۴***	۰/۰۷±۰/۰۰۵***
انسولین	۱۸۶/۴۵±۲/۳۰###	۰/۱۵±۰/۰۱###

www.SID.ir

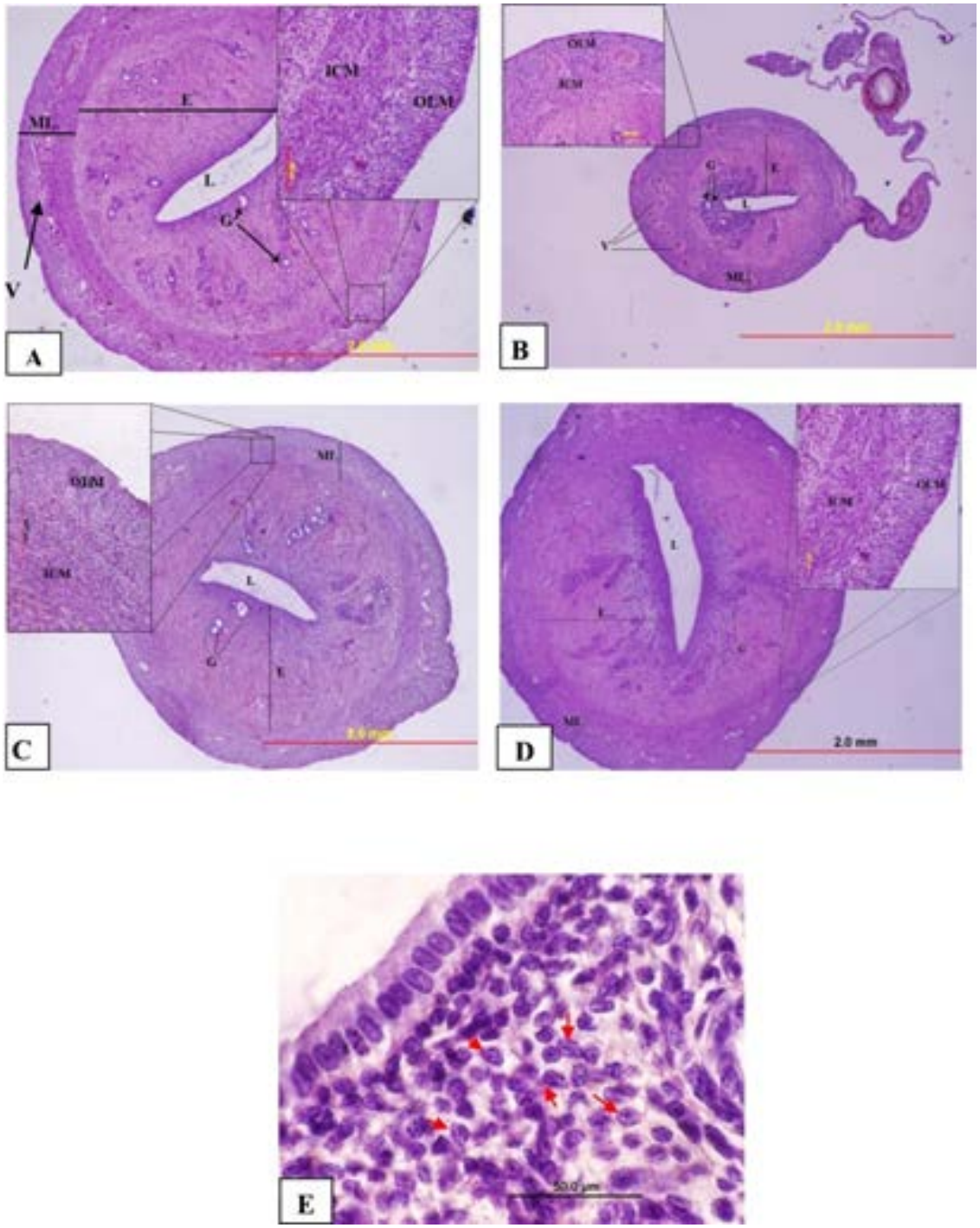


*نمودار ۱: نتایج حاصل از سنجش سطوح سرمی هورمون‌های A) استروژن B) پروژسترون C) هورمون محرک فولیکولی (FSH) و D) هورمون لوتئینی (LH) در گروه‌های مختلف (n=۶). علی‌رغم عدم تفاوت معنی‌دار در سطوح سرمی هورمون استروژن، LH و FSH، سطح سرمی هورمون پروژسترون در گروه هیپرگلیسمی درمقایسه با گروه کنترل به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. سطوح سرمی هورمون‌ها در گروه تحت تیمار با انسولین تفاوت معنی‌داری با کنترل نشان نداد. نتایج به صورت Mean±SD ارائه شده‌اند. ***P<۰/۰۰۱ مقایسه گروه هیپرگلیسمی و کنترل، ###P<۰/۰۰۱ مقایسه گروه هیپرگلیسمی و تحت درمان با انسولین.*

*جدول ۲: نتایج حاصل از محاسبه قطر رحم و ضخامت اجزا تشکیل دهنده آن. مقادیر برحسب Mean±SD ارائه شده است. ***P<۰/۰۰۱ در مقایسه با کنترل و ###P<۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه هیپرگلیسمی (n=۶).*

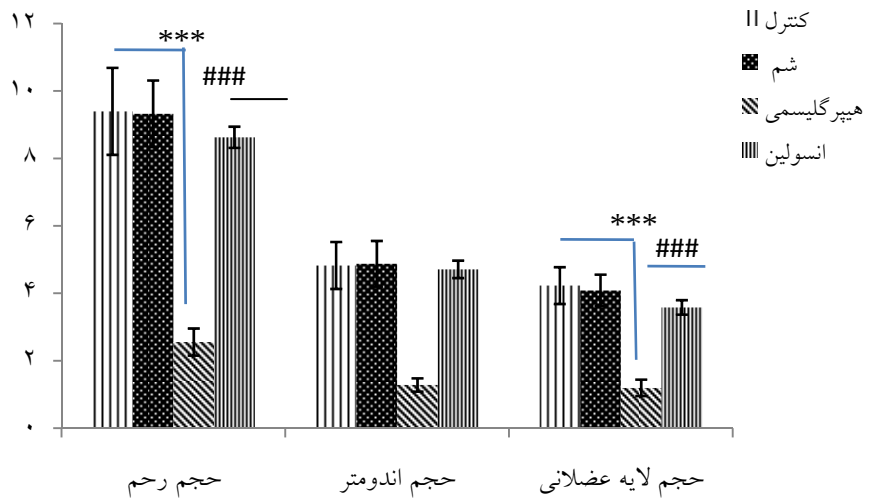
	کنترل	شم	هیپرگلیسمی	انسولین
قطر رحم	۲/۱۱±۰/۱۱	۲/۱۱±۰/۰۹	***۱/۱۳±۰/۰۷	###۱/۹۷±۰/۰۳
ضخامت اندومتر	۰/۶۴±۰/۰۳	۰/۶۴±۰/۰۵	***۰/۳۲±۰/۰۳	###۰/۵۹±۰/۰۳
ضخامت عضله حلقوی	۰/۱۷±۰/۰۱	۰/۱۷±۰/۰۲	***۰/۰۹±۰/۰۰۶	###۰/۱۵±۰/۰۰۴
ضخامت عضله طولی	۰/۱۲±۰/۰۰۸	۰/۱۲±۰/۰۰۸	***۰/۰۶±۰/۰۰۴	###۰/۱۱±۰/۰۰۷
ضخامت لایه عضلانی	۰/۳۱±۰/۰۲	۰/۳۰±۰/۰۲	***۰/۱۸±۰/۰۲	###۰/۲۸±۰/۰۱

www.SID.ir



شکل ۲: برش عرضی ۱/۳ میانی شاخ راست رحم در A) کنترل، B) هیپرگلیسمی، C) شم و D) انسولین. کاهش معنی‌دار حجم رحم و اتساع عروق موجود در بافت همبند بینابین لایه عضلانی در گروه هیپرگلیسمی در مقایسه با سایر گروه‌ها مشهود است. شکل E) سلول‌های التهابی را در اندومتر موش‌های صحرایی گروه هیپرگلیسمی در بزرگنمایی بالاتر (۱۰۰۰X) نشان می‌دهد. فلش‌ها سلول‌های التهابی را نشان می‌دهند. علائم مندرج بر روی شکل‌ها: L: لومن، E: اندومتر، G: غدد رحم، ML: لایه عضلانی رحم، ICM: عضله حلقوی داخلی، OLM: عضله طولی خارجی و V: عروق موجود در بافت همبند بینابین لایه عضلانی رحم. (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین، تصویر رحم در بزرگنمایی۴۰ و لایه عضلانی در بزرگنمایی ۲۰۰ میکروسکوپ نوری تهیه شده است).

www.SID.ir



*نمودار ۲: نتایج حاصل از محاسبه حجم رحم، اندومتر و لایه عضلانی رحم در گروه کنترل، شم، هیپرگلیسمی و انسولین (n=۶). نتایج به صورت Mean±SD ارائه شده‌اند. ***P<۰/۰۰۱ مقایسه گروه هیپرگلیسمی و کنترل، ###P<۰/۰۰۱ مقایسه گروه هیپرگلیسمی و تحت درمان با انسولین.*

بحث

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که در موش صحرایی، هیپرگلیسمی موجب توقف سیکل جنسی در مرحله دی‌استروس، کاهش وزن بدن، وزن و حجم رحم، حجم و ضخامت اندومتر و میومتر می‌شود و درمان جایگزین با انسولین تزریقی می‌تواند به میزان زیادی اختلالات ایجاد شده ناشی از شرایط هیپرگلیسمیک را برطرف نماید. براساس سیتولوژی اسمیر واژن، سیکل جنسی در موش‌های صحرایی هیپرگلیسمیک در مرحله دی‌استروس متوقف شد. توقف سیکل جنسی در مرحله دی‌استروس احتمالا ناشی از اختلال در فعالیت محور هیپوتالاموس- هیپوفیز- گناد (HPG) و کاهش سطح سرمی هورمون FSH است. درمقایسه با گروه کنترل، هیپرگلیسمی موجب کاهش سطح سرمی FSH به میزان ۲۳ درصد در گروه هیپرگلیسمی شد. در عین حال، انسولین‌تراپی به‌واسطه اثرات گنادوتروپیک خود (۱۲)، توانست سیتولوژی اسمیر واژن و سیکل جنسی را در گروه انسولین، به حالت طبیعی برگرداند.

کاهش وزن رحم در گروه هیپرگلیسمی در توافق با تحقیقات گذشته است. در مطالعات قبلی آتروفی رحم در موش NOD (۵)، موش‌های صحرایی دیابتی شده با آلوکسان (۶) و موش C57BL/KsJ (۱۳) گزارش شده است. در این رابطه چنین به‌نظر می‌رسد که کاهش وزن رحم در حیوانات هیپرگلیسمیک، که ناشی از آتروفی اندومتر و میومتر است، احتمالا به‌دلیل فقدان اثرات تروفیک گنادوتروپین‌ها/انسولین اتفاق می‌افتد. انسولین علاوه بر اثرات تروفیک خود، احتمالا با اصلاح محور HPG و به‌دنبال آن بازگرداندن سطوح هورمونی به محدوده طبیعی (۱۲) موجب برقراری مجدد دوره استروس و بازیابی ساختار طبیعی رحم در حیوانات تحت درمان با انسولین می‌شود. نتایج حاصل از سنجش سطوح هورمونی حاکی از آن است که علی‌رغم عدم تغییر معنی‌دار در سطوح هورمون‌های LH، FSH و استروژن، سطوح پروژسترون در گروه هیپرگلیسمی در مقایسه با گروه کنترل، ۳۱۷/۷ درصد افزایش یافته است. افزایش پروژسترون در این حیوانات را می‌توان به غده آدرنال نسبت داد، از آنجا که در حیوانات دیابتی افزایش فعالیت محور HPA (Hypothalamic-Pituitary-Adrenal axis) و افزایش ترشح ACTH (Adrenocorticotropic Hormone) گزارش شده (۱۴) و ترشح پروژسترون آدرنال نیز تحت تاثیر ACTH است (۱۵)، بنابراین این احتمال وجود دارد که در حیوانات هیپرگلیسمیک مقادیر افزایش یافته ACTH موجب افزایش ترشح پروژسترون با منشا آدرنال شده باشد. در عین حال، اثرات گنادوتروپیک انسولین می‌تواند با تنظیم پدیده استروئیدوژنز تخمدانی (۱۲)، سطوح هورمونی را در گروه تحت درمان با انسولین به حالت طبیعی برگرداند.

اتساع عروق موجود در بافت همبند بینابین لایه‌های عضلانی رحم در حیوانات هیپرگلیسمیک، نیز به احتمال زیاد از عوارض هیپرگلیسمی است (۱۶). اتساع عروقی به نوبه خود موجب افزایش فشار و جریان خون مویرگی و احتمالا آغازگر مکانیسمی است که به میکروآنژیوپاتی دیابتی منتهی می‌گردد (۱۶و۱۷). در

Archive of SID

www.SID.ir

اندومتر گروه هیپرگلیسمی ارتشاح سلول‌هایی که احتمال می‌رود پلاسماسل باشند، مشاهده شد. از دلایل احتمالی نفوذ این سلول‌های التهابی به اندومتر، می‌توان به وجود محصولات گلیکوزیلاسیون پیشرفته (AGEs)(Advanced Glycation End Products در حیوانات هیپرگلیسمیک اشاره کرد. اتصال AGEs به گیرنده خود (RAGE)(Receptor for Advanced Glycation End products)، علاوه بر افزایش اتصال لوکوسیت‌ها به اندوتلیوم (۱۸)، نفوذپذیری اندوتلیوم عروق خونی را نیز افزایش می‌دهد (۱۹). از آنجا که RAGE علاوه بر اندوتلیوم، به میزان بالایی در ماکروفاژها، لنفوسیت‌های B و T نیز بیان می‌شود و لنفوسیت‌های B پیش‌ساز پلاسماسل‌های تولیدکننده آنتی‌بادی می‌باشند، احتمالا اتصال AGEs به RAGE موجب نفوذ این سلول‌های التهابی به اندومتر می‌شود. در چنین صورتی، با نفوذ پلاسماسل‌ها به اندومتر، علاوه بر آن‌که اندومتر دچار التهاب مزمن (Chronic Endometritis) می‌شود (۲۰)، احتمال سقط‌های خودبخودی، ناباروری و حاملگی‌های خارج رحمی نیز بالا می‌رود (۲۱).

نتیجه‌گیری

در مجموع، نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که هیپرگلیسمی علاوه بر آن‌که مستقیما موجب اختلال در عمل‌کرد طبیعی دستگاه تولیدمثل جنس ماده می‌شود، به‌طور غیرمستقیم در سایر سطوح از جمله کنترل اندوکرینی سیکل جنسی، ساختار و عمل‌کرد دستگاه تولیدمثل را تحت تاثیر قرار می‌دهد. در شرایط هیپرگلیسمی، تغییرات ساختاری غیرطبیعی رحم که بخشی از آن ناشی از تغییر در سطوح هورمون‌های تخمدانی است، موجب کاهش میزان لانه‌گزینی و نیز پایداری جنین‌ها در مرحله پس از لانه‌گزینی می‌شود. انسولین‌تراپی با اصلاح شرایط هیپرگلیسمیک به حالت طبیعی و برقراری مجدد سیکل‌های تخمدانی- رحمی طبیعی، می‌تواند به میزان زیادی از شدت عوارض ناشی از هیپرگلیسمی بر دستگاه تولیدمثل جنس ماده بکاهد.

تشکر و قدردانی

این طرح به پشتیبانی مالی معاونت پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد از بودجه مصوبه مربوط به طرح کاربردی شماره ۳/۱۷۸۱۹ مورخ ۱۳۹۰/۳/۳ انجام شده است که بدین وسیله مراتب قدردانی از ایشان اعلام می‌گردد.

منابع

1. Alberti KG, Zimmet PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. WHO. 1999; part1: 1-65.

2. Bastaki S. Diabetes mellitus and its treatment. Int J Diabetes & Metabolism. 2005; 13: 111-134.

3. Garris DR, Smith C. Diabetes- associated endometrial disruption in the ketonuric, diabetic chinese hamster. Gynecol Obstet Invest. 1983; 16: 86-96.

4. Garris DR, Smith-West WC, West L. Diabetes-associated endometrial disruption in the chinese hamster: structural changes in relation to progressive hyperglycemia. Gynecol Obstet Invest. 1984; 17: 293-300.

5. Tatewaki R, Otani H, Tanaka O, Kitada J. A morphological study on the reproductive organs as a possible cause of developmental abnormalities in diabetic NOD Mice. Histol Histopath. 1989; 4: 343-358.

6. Piyachaturawat P, Peungvicha P, Limlomwongse L, Krishnamra N. Depression of estrogen-induced uterine peroxidase in alloxan-diabetic rats. J. Steroid Biochem. 1984; 21: 685-690.

7. Kalter H. Reproductive toxicology in animals with induced and spontaneous diabetes. Reprod Toxicol. 1996; 10: 417-438.

8. Hubscher CH, Brooks DL, Johnson JRA. quantitative method for assessing stages of the rat estrous cycle. Biotech Histochem. 2005; 80(2): 79-87.

9. Marcondes FK, Bianchi FJ, Tanno AP. Determination of the estrous cycle phase of the rats: some helpful considerations. Braz. J. Biol. 2002; 62: 609-614.

10. Gundersen HJG, Bendtsen TF, Korbo L, Marcussen N, et.al Some new, simple and efficient stereological methods and their use in pathological research and diagnosis. APMIS. 1988; 96: 379- 394.

11. puelles VG, Zimanyi MA, Samuel T, Hughson MD, et al Estimating individual glomerular volume in the human kidney: clinical perspectives. Nephrol. Dial. Transplant. 2011; 26: 2202-2208.

12. Poretsky L, Kalin MF. The gonadotropic function of insulin. Endocr. Rev. 1987; 8(2): 132-41.

13. Garris RD. Diabetes- associated alteration in uterine structure in the C57BL/KsJ mouse: relationship to changes in estradiol accumulation, circulating ovarian steroid levels, and age. *Anat. Rec.* 1985; 211: 414-419.

Archive of SID

www.SID.ir

14. Repetto EM, Sanchez R, Cipelli J, Astrot F, et al Dysregulation of Corticosterone Secretion in Streptozotocin-Diabetic Rats: Modulatory Role of the Adrenocortical Nitrergic System. Endocrinol. 2010; 151(1)**:** 203-210.

15. Fajer AB, Holzbauer M, Newport HM. The contribution of the adrenal gland to the total amount of progestrone produced in the female rat. physiol. 1971; 214(1): 115-126.

16. Parving HH, Viberti GC, Keen H, Christiansen JS, et al Hemodynamic factors in the genesis of diabetic microangiopathy. Metab. 1983; 32(9)**:** 943-949.

17. Zatz R, Brenner BM. Pathogenesis of diabetic microangiopathy. the hemodynamic view. AJM. 1986; 80: 443-453.

18. Chavakis T, Bierhaus A, Nawroth PP. RAGE (receptor for advanced glycation end products): a central player in the inflammatory responce. Microbes Infect. 2004; 6**:** 1219-1225.

19. Chavakis T, Bierhaus A, Al-fakhri N, Schneider D, et al The pattern recognition receptor (RAGE) is a counter-receptor for leukocyte integrins: a novel pathway for inflammatory cell recruitment. J. Exp. Med. 2003; 198: 1507-1515.

20. Crum CP, Egawa K, Fenoglio CM, Richart RM. Chronic endometrities: the role of immunohistochemistry in the detection of plasma cells. Am J Obstet Gynecol. 1983; 147(7): 812-5.

21. Tawfik O, Venuti S, Brown S, Collins J. Immunohistochemical characterization of leukocytic subpopulations in chronic endometritis. Infect. Dis. Obstet. Gynecol. 1997; 4: 287-293.

Archive of SID

www.SID.ir

Journal of Cell & Tissue (JCT)
Summer 2013; 4(2): 149-157

Original Article

Study of the Effects of Hyperglycemia and Insulin Therapy on Uterus Histology and Estrous cycle in Wistar Rat

Jamil F. M.Sc.[1*], Behnam Rassouli M. Ph.D.[2], Mahdavi Shahri N. Ph.D.[2], Dehghani H. Ph.D.[3]

1. Postgraduate of Developmental Biology, Ferdowsi University of Mashhad
2. Department of Biology, Faculty of sciences, Ferdowsi University of Mashhad
3. Department of Basic Science, Faculty of Veterinary Medicine

* Email corresponding author: fatemeh.jamil@yahoo.com

Received: 16 Oct. 2012 Accepted: 9 Apr. 2013

Abstract

Aim: Diabetes as a metabolic disorder affects different tissues and organs, among them the female reproductive tract such as uterus may be a vulnerable organ. This study was undertaken to study the effects of hyperglycemia and insulin therapy on uterus structure, estrous cycle and serum levels of pituitary and ovarian hormones in Wistar rats.

Material and methods: Twenty-four female Wistar rats (180-200g) were randomly divided in: control, sham (Citrate buffer i.p), hyperglycemic (Streptozotocin; 60 mg/kg, i.p) and hyperglycemic+insulin (insulin 20 IU/Kg/day; s.c). At the end of experiment (36 Days) and in diestrus stage, all rats were weighted and blood samples were collected. Thereafter, their right uterus horn was taken out, weighted and then the middle third part of uterine horn was sampled and fixed (Bouein). After histological preparation, the histological and histomorphometrical examination of uterus was performed.

Results: Although in comparison with control and hyperglycemic+insulin groups, in hyperglycemic rats body weight, uterus weight and volume, endometrium and myometrium volume were dramatically decreased ($p<0.001$) and the serum level of progesterone significantly increased ($p<0.001$), vascular dilation and infiltrating cells resembling plasma cell was also observed. No significant difference was seen between control and insulin treated group for the above parameters.

Conclusion: Insulin deficiency, oxidative stress and alteration in the HPG axis which occurs in hyperglycemic condition, may affect the uterus structure. The observed structural changes might well play a significant role in the reproductive difficulties observed during hyperglycemia.

Keywords: Hyperglycemia, Estrous cycle, Uterus, Sexual hormones, Rat

Archive of SID

www.SID.ir