اثرات آگونیست هورمون آزاد کننده گنادوتروپین (بوسرلین) بر رشد و تکامل فولیکول‌های تخمدان موش‌های صحرایی بالغ

تهمینه پیروی[۱]، حدیث محمدبیگی*[۲]

۱-دانشیار، گروه علوم تشریح، مرکز تحقیقات مادر و کودک، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران.
۲- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم تشریح، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۲/۰۴ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۵/۲۰

چکیده

زمینه و هدف

امروزه در درمان ناباروری از آگونیست‌های صناعی هورمون آزاد کننده گنادوتروپین مانند بوسرلین استات استفاده می‌گردد که باعث رشد و تکامل فولیکول‌های تخمدان می‌شود. هدف پژوهش حاضر بررسی اثرات بوسرلین استات بر رشد و تکامل فولیکول‌های تخمدان است.

مواد و روش‌ها

در مطالعه تجربی-مداخله‌ای حاضر، ۲۴ سر موش صحرایی نژاد ویستار ماده بالغ تهیه و به ۳ گروه، دو گروه تیمار اول و دوم و یک گروه کنترل (n=۸) تقسیم شدند. موش‌های صحرایی گروه‌های اول و دوم آزمایش روزانه به ترتیب ۳۰۰ µg/kg و ۶۰۰ µg/kg آگونیست GnRH و گروه کنترل، نرمال سالین را به مدت ۵ روز بصورت زیر جلدی دریافت نمودند. یک ماه بعد از اولین تزریق، موش‌های صحرایی با کلروفرم با دوز کشنده، بیهوش و سپس تخمدان‌ها خارج شدند. نمونه‌ها بعد از فیکساسیون و پاساژ بافتی و برش با هماتوکسیلین و ائوزین رنگ‌آمیزی شده و زیر میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفتند. داده‌ها توسط نرم‌افزار GraphPad Prism Software و آزمون One Way ANOVA و Tukey تجزیه و تحلیل شد و سطح معنی‌داری $P<۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

میانگین تعداد فولیکول‌های کلاس I در گروه آزمایش اول و دوم در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌داری داشت ($P=۰/۰۱۲$ و $P=۰/۰۱۸$). همچنین میانگین فولیکول‌های کلاس II در گروه آزمایش اول و دوم در مقایسه با گروه کنترل از کاهش معنی‌داری برخوردار بود ($P=۰/۰۰۵$ و $P=۰/۰۳۱$)

نتیجه‌گیری

یافته‌ها نشان داد که تجویز کوتاه مدت بوسرلین و دوز بالای آن بر رشد و تکامل فولیکول‌های تخمدان اثر مهاری دارد.

کلیدواژه‌ها

تخمدان، بوسرلین، هورمون آزاد کننده گنادوتروپین، فولیکول، موش صحرایی

*نویسنده مسئول: دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، دانشکده پزشکی.
پست الکترونیک: Hadis.mohammadbeigi@gmail.com

Archive of SID
www.SID.ir

■ مقدمه

ناباروری از جمله مشکلاتی است که ۱۵-۱۰ درصد زوجین در جامعه را درگیر نموده است و گاهی عدم درمان آن، باعث جدایی و مشکلات روحی و روانی در آنها می‌گردد. دلایل مختلفی مانند عوامل مردانه و عوامل زنانه و عوامل توام مردانه و زنانه در این امر دخیل هستند که در میان عوامل زنانه می‌توان به کاهش ذخیره تخمدانی، اختلالات تخمک‌گذاری، آسیب لوله‌ای، انسداد یا چسبندگی جنب لوله‌ای اشاره داشت (۱).

رشد فولیکول و تخمک‌گذاری تحت کنترل هورمون‌های مترشحه از آدنوهیپوفیز LH[۱]، FSH[۲] می‌باشد. ترشح هورمون‌های مذکور با ترشح پالسی هورمون آزاد کننده گنادوتروپین[۳] (GnRH) هیپوتالاموس کنترل می‌گردد و معمولاً در اوایل سیکل طبیعی جنسی ترشح GnRH باعث رهایی بیشتر FSH و میزان کمتر LH از هیپوفیز می‌شود که این امر تحریک رشد فولیکول‌ها را به دنبال خواهد داشت (۲). در اواسط سیکل با افزایش پالس‌های GnRH ترشح LH نسبت به FSH بیشتر شده که مقدمه‌ای برای اوولاسیون می‌شود. بعد از اوولاسیون پالس‌های GnRH به تدریج کاهش یافته و منجر به کاهش آزادسازی LH و FSH می‌گردد. بنابراین، این روند به هماهنگی هورمون‌های هیپوتالاموس-هیپوفیز-گنادی وابسته است (۲،۳). اختلال در هر یک از قسمت‌های فوق منجر به ناباروری می‌گردد. امروزه در دنیا برای رفع مشکل ناباروری روش‌های مختلفی رایج شده است. از جمله آنها می‌توان به استفاده از آگونیست‌های صناعی GnRH مانند بوسرلین اشاره نمود که عملکرد هورمون آزاد کننده هیپوتالاموس را تقلید می‌کند. از طرف دیگر از خود هورمون قوی‌تر و نیمه عمر بالاتری دارد (۴).

تجویز اولیه یا متناوب بوسرلین مانند تولید طبیعی LHRH از هیپوتالاموس ترشح هورمون لوتئال (LH) و هورمون محرک فولیکولی (FSH) را از هیپوفیز قدامی با افزایش گیرنده‌های GnRHتحریک می‌کند. با این وجود تجویز مداوم و روزانه بوسرلین ترشح FSH وLH را به علت تنظیم کاهشی گیرنده‌های GnRH مهار می‌نماید (۵).

تجویز بوسرلین جهت درمان ناباروری با دوز µg ۵۰۰-۲۰۰ روزانه بصورت زیر جلدی غیرپالسی در ابتدای فاز فولیکولار (روز اول قاعدگی) یا میانه فاز لوتئال (در روز ۲۱ قاعدگی) شروع شده و بایستی تا Down Regulation هیپوفیز ادامه یابد. در صورت نیاز دوز دارو به µg ۵۰۰ در روز و بصورت دو بار تزریق زیرجلدی افزایش می‌یابد (۲). از این دارو به منظور جلوگیری از تحریک بیش از حد تخمدان‌ها به دنبال استفاده از داروهای محرک تخمک‌گذاری مانند کلومیفن سیترات و HMG و FSH جهت جلوگیری از رشد زودرس فولیکول‌ها استفاده می‌شود (۵).

GnRH و آنالوگ‌های آن دارای اثرات تحریکی و مهاری روی هیپوفیز است و تا حدودی این اثرات شرح داده شده است. اما مشخص شده است که این اثرات می‌تواند حاصل تأثیر مستقیم آنالوگ‌ها روی سلول‌های گنادال دارای گیرنده باشد (۶). مطالعات نشان داده‌اند که سلول‌های لوتئال گرانولوزای انسان و سلول‌های اپی‌تلیال سطح تخمدان انسان و همچنین تخمدان موش‌های صحرایی دارای mRNA برای GnRH و گیرنده آن (GnRHR) می‌باشند (۷).

با توجه به اینکه از بوسرلین در مراکز نازایی برای به کنترل درآوردن محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گنادال و همچنین جلوگیری از رشد بیش از حد فولیکول‌ها و جلوگیری از تخمک‌گذاری زودرس استفاده می‌شود مجریان پژوهش حاضر بر آن شدند که اثرات ۲ دوز مختلف از این دارو را بر رشد فولیکول‌های تخمدان مورد مطالعه قرار دهند.

■ مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی مداخله‌ای، ۲۴ سر موش صحرایی ماده بالغ نژاد ویستار ۴-۳ ماهه با وزن g ۲۰۰- ۱۵۰ از خانه حیوانات دانشکده پزشکی تهیه و به محل نگهداری حیوانات آزمایشگاهی در گروه آناتومی منتقل شدند. موش‌های صحرایی تحت شرایط استاندارد از نظر نور، دما و غذای مناسب قرار گرفتند (حجم نمونه بر اساس مطالعات قبلی تعیین شد) و جهت سازگاری با محیط جدید ۲ هفته در مرکز نگهداری حیوانات نگهداری شدند. سپس بطور تصادفی به سه گروه (n=۸)، دو گروه آزمایش اول و دوم و یک گروه کنترل تقسیم شدند. گروه آزمایش اول µg/kg ۳۰۰

[۱] Luteinizing Hormone
[۲] Follicle Stimulating Hormones
[۳] Gonadotropin: GnRH

Archive of SID
www.SID.ir

آگونیست GnRH (Buserelin, Injection 1mg/ml, Suprefact®, Germany) و گروه آزمایش دوم ۶۰۰ µg/kg آگونیست GnRH (بوسرلین استات) دریافت کردند (۸). دوز ۳۰۰، دوز پایین و دوز ۶۰۰، دوز بالا در نظر گرفته شد. به گروه کنترل، نرمال سالین تزریق شد. تزریقات به مدت ۵ روز و بصورت زیر جلدی انجام گردید. بعد از گذشت یک ماه بعد از اولین تزریق یعنی با گذشت چند سیکل جنسی ابتدا موش‌های صحرایی با کلروفرم با دوز کشنده بیهوش شدند و بافت تخمدان آن‌ها از حفره شکمی خارج گردید. پس از جداسازی چربی‌های اضافی اطراف تخمدان، نمونه‌ها در فرمالین ۱۰ درصد در دمای اتاق به مدت ۴۸ ساعت فیکس شدند. پس از انجام مراحل پاساژ بافتی (آبگیری، شفاف‌سازی و انفیلتراسیون) نمونه‌ها با پارافین در قالب‌های L شکل لوکهارت قالب‌گیری شدند. سپس به کمک میکروتوم دوار، برش‌هایی از نمونه‌ها به ضخامت ۵ میکرون تهیه و به روش هماتوکسیلین-ائوزین رنگ‌آمیزی شدند.

جهت اطمینان از اینکه تمام موش‌های صحرایی در یک مرحله از سیکل استروس باشند از آنها اسمیر واژینال تهیه شد. (شایان ذکر است برای هم سیکل نمودن موش‌های صحرایی، موش های نر وازکتومی شده، به مدت سه شبانه روز در قفس‌های موش‌های ماده قرار گرفتند).

برای گرفتن اسمیر، سواپ پنبه‌ای آغشته به سرم فیزیولوژی با حرکات دورانی روی دیواره واژن کشیده شد. سپس نمونه را روی لام کشیده و با الکل ۹۶ درصد به مدت ۲۰ دقیقه ثابت شدند. لام‌ها در معرض هوا قرار داده شد تا خشک شوند و در نهایت با استفاده از روش پاپانیکولائو رنگ‌آمیزی گردیدند. نمونه‌ها بعد از رنگ‌آمیزی با میکروسکوپ نوری مشاهده و مرحله سیکل استروس مشخص شد. تمام موش‌های صحرایی در مرحله مت استروس سیکل جنسی بودند.

در مرحله بعد مورفومتری و طبقه‌بندی فولیکول‌ها انجام شد. در لام‌های تهیه شده از تخمدان قطر تمام فولیکول‌هایی که اووسیت با هستک مشخص آنها دیده می‌شد زیر میکروسکپ نوری با استفاده از عدسی چشمی مدرج اندازه‌گیری و ثبت شد. فولیکول‌ها بر اساس قطر دسته‌بندی شدند. فولیکول‌های کوچک که در بزرگترین برش عرضی دارای قطر کمتر از ۲۷۵ µm بودند، و فولیکول‌های بزرگ که دارای قطر بیشتر یا مساوی ۲۷۵ µm بودند.

فولیکول‌های کوچک به سه گروه تقسیم شدند. فولیکول‌های بدوی دارای یک ردیف سلول سنگفرشی پره گرانولوزا در اطراف اووسیت، فولیکول‌های تک لایه با یک ردیف سلول مکعبی شکل در اطراف اووسیت و فولیکول‌های چند لایه با بیش از یک لایه سلول گرانولوزا در اطراف اووسیت که قطر کمتر از ۲۷۵ µm دارند.

فولیکول‌های بزرگ نیز در سه گروه دسته‌بندی گردیدند. فولیکول‌های با قطر ۲۷۵-۴۵۰ µm، فولیکول‌های با قطر ۴۵۱-۵۷۵ µm و فولیکول‌های با قطر بیشتر از ۵۷۵ µm (۹،۱۰). مراحل اجرای پژوهش حاضر بر اساس قوانین بین‌المللی در مورد حیوانات آزمایشگاهی به انجام رسید.

آنالیز آماری

برای مقایسه گروه‌ها با یکدیگر با توجه به نرمال بودن داده‌ها از آزمون One Way ANOVA و به دنبال آن آزمون تکمیلی Tukey استفاده شد و سطح معنی‌داری $P<۰/۰۵$ در نظر گرفته شد. آنالیز داده‌ها توسط نرم‌افزار GraphPad Prism 6 v 6.01 انجام شد.

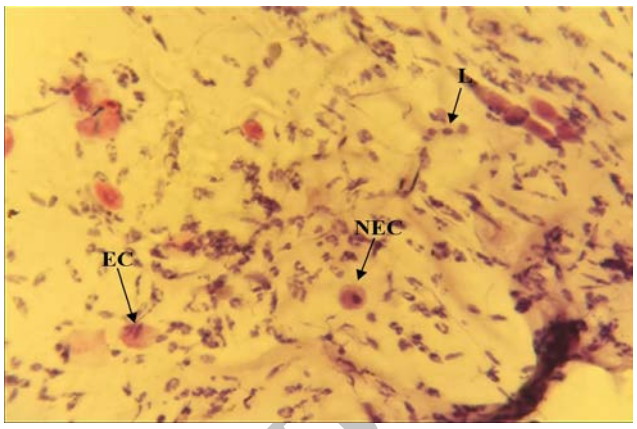
یافته‌ها

اسمیر واژینال نشان داد که موش‌های صحرایی در مرحله مت استروس بودند (شکل شماره ۱). لازم به ذکر است در این مرحله از سیکل جنسی موش صحرایی، در اسمیر سه نوع سلول به شرح زیر دیده می‌شود: سلول اپی تلیال هسته‌دار، سلول اپی تلیال بدون هسته و لکوسیت.

در مطالعه حاضر قطر فولیکول‌ها در مراحل مختلف رشد اندازه‌گیری شد. با توجه به اقطار بدست آمده، فولیکول‌ها در دو گروه بزرگ و کوچک دسته‌بندی شدند و هر دسته دوباره به سه زیر گروه تقسیم شدند و تعداد فولیکول‌ها مورد شمارش قرار گرفتند. نتایج بدست آمده با توجه به اینکه داده‌ها نرمال بوده و سه گروه موش صحرایی داشتیم، به کمک آزمون One Way ANOVA آنالیز شد و برای مقایسه میانگین‌ها (آزمون تکمیلی) Tukey بکار رفت.

یافته‌ها حاکی از آن بود که میانگین تعداد فولیکول‌های بدوی در گروه کنترل (۱۰/۱۴۲±۱/۰۵۶)، در گروه دوز پایین (۸/۸۷۵±۱/۰۰۷) و در گروه دوز بالا (۶/۸۰۰±۰/۷۳۴) بود که روند کاهشی را نشان می‌دهد، اما این کاهش معنی‌دار نبود (شکل شماره ۲) (نمودار A-۱).

Archive of SID
www.SID.ir



شکل شماره ۱- اسمیر واژینال – مرحله مت استروس (NEC: سلول اپی تلیال هسته‌دار، EC: سلول سطحی بدون هسته، L: لکوسیت)

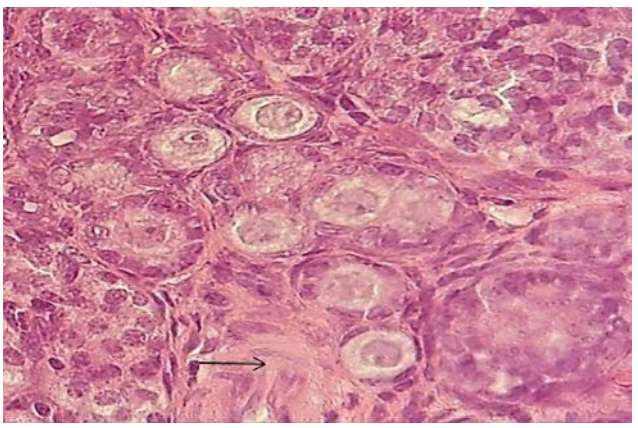
میانگین تعداد فولیکول‌های تک لایه در گروه کنترل (۹/۵۷۱±۰/۸۹۵)، در گروه دوز پایین (۶/۸۷۵±۰/۹۳۴) و در گروه دوز بالا (۶/۴۰۰±۰/۶۷۸) بود. میانگین تعداد فولیکول‌های تک لایه کاهش یافته است اما این کاهش معنی‌دار نبود (شکل شماره ۳) (نمودار B-۱).

میانگین تعداد فولیکول‌های چندلایه در گروه کنترل (۵/۵۷۱±۰/۹۹۶)، در گروه دوز پایین (۵/۲۵۰±۰/۷۵۰) و در گروه دوز بالا (۳/۸۰۰±۰/۸۶۰) بود میانگین تعداد فولیکول‌ها کاهش یافته است اما معنی‌دار نبود (شکل شماره ۴) (نمودار C-۱).

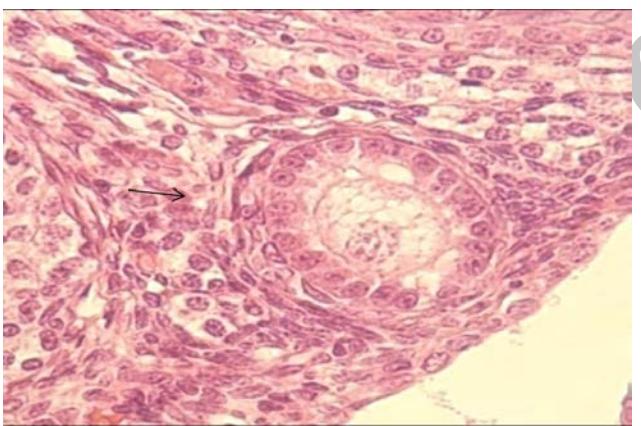
میانگین تعداد فولیکول‌های بزرگ کلاس I در گروه کنترل (۵/۱۲۵±۰/۴۷۹)، در گروه دوز پایین (۳/۱۴۲±۰/۵۰۸) و در گروه دوز بالا (۲/۸۰۰±۰/۳۷۴) بود. میانگین این دسته از فولیکول‌ها در گروه‌های دوز پایین و بالا نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری را نشان می‌دهد (به ترتیب، $P=$ ۰/۰۱۸، $P=$ ۰/۰۱۲) (شکل شماره۵) (نمودار D-۱).

میانگین تعداد فولیکول‌های بزرگ کلاس II در گروه کنترل (۳/۷۵۰±۰/۴۷۸)، در گروه دوز پایین (۱/۷۵۰±۰/۴۷۸) و در گروه دوز بالا (۱/۰۰۰±۰/۴۰۸) بود. این کاهش در گروه‌های دوز پایین و بالا نسبت به گروه کنترل معنی‌دار گزارش شد (به ترتیب، $P=$ ۰/۰۳۱، $P=$ ۰/۰۰۵) (نمودار E-۱).

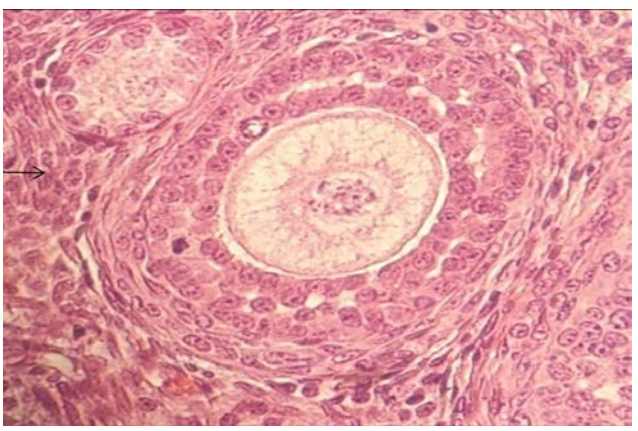
میانگین تعداد فولیکول‌های بزرگ کلاس III در گروه کنترل (۱/۲۰۰±۰/۲۰۰)، در گروه دوز پایین (۰/۸۰۰±۰/۳۷۴) و در گروه دوز بالا (۰/۴۰۰±۰/۲۴۴) بود که نشان می‌دهد تعداد فولیکول‌ها به ترتیب کاهش یافته است اما دارای سطح معنی‌داری نیست (شکل شماره ۶) (نمودار F-۱). همانطور که مشاهده می‌شود، میانگین تعداد فولیکول‌های مختلف در گروه‌های دوز پایین و بالا روند کاهشی را نسبت به گروه کنترل نشان می‌دهد اگرچه این کاهش در برخی گروه‌ها دارای سطح معنی‌داری نیست.



شکل شماره ۲- فتومیکروگرافی از فولیکول بدوی. رنگ‌آمیزی H&E (بزرگنمایی ×40)

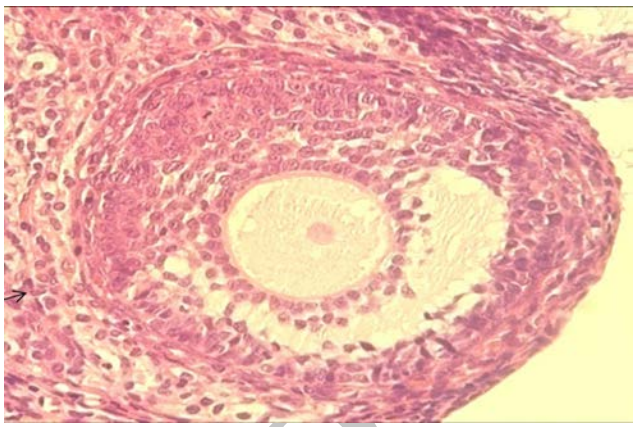


شکل شماره ۳- فتومیکروگرافی از فولیکول اولیه تک لایه. رنگ‌آمیزی H&E (بزرگنمایی ×40)

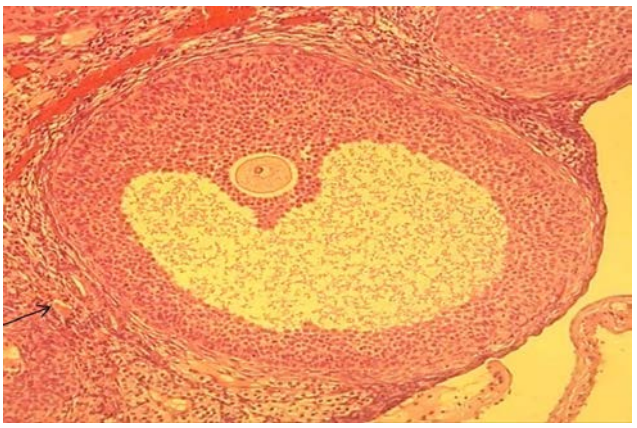


شکل شماره ۴- فتومیکروگرافی از فولیکول اولیه چندلایه. رنگ‌آمیزی H&E (بزرگنمایی ×40)

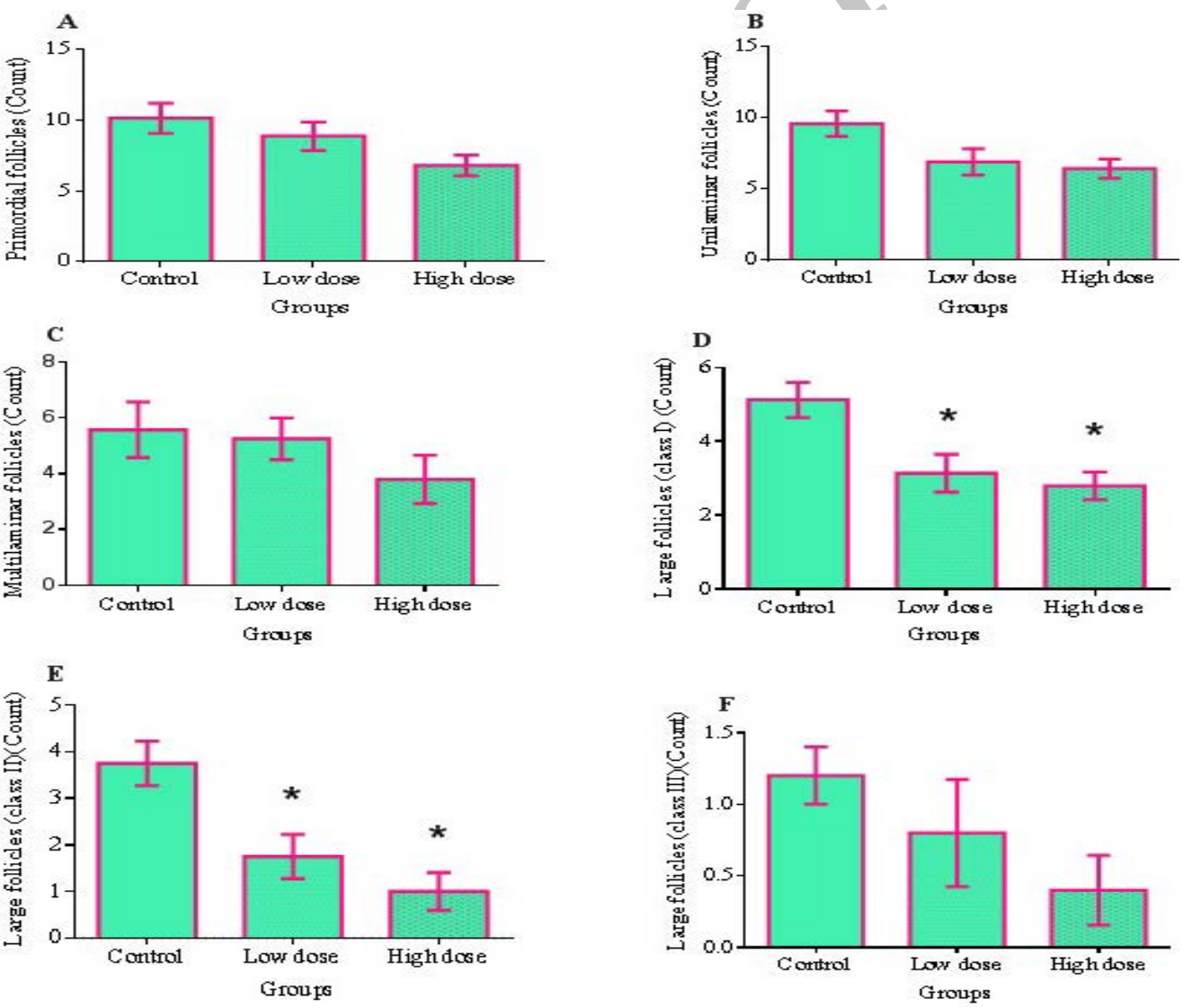
Archive of SID
www.SID.ir



شکل شماره ۵- فتومیکروگرافی از فولیکول ثانویه. رنگ‌آمیزی H&E (بزرگنمایی ×10)



شکل شماره ۶- فتومیکروگرافی از فولیکول گراف. رنگ‌آمیزی H&E (بزرگنمایی ×10)



نمودار شماره ۱- تغییرات تعداد فولیکول‌ها بین گروه‌های مورد مطالعه (فولیکول بدوی (A)، فولیکول تک لایه (B)، فولیکول چند لایه (C)، فولیکول بزرگ کلاس I(D)، فولیکول بزرگ کلاس II(E)، فولیکول بزرگ کلاس III(F). داده ها به صورت (Mean ± SEM) بیان شده اند. داده‌ها با آزمون One Way ANOVA آنالیز شدند. *اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه کنترل ($P<۰/۰۵$)

www.SID.ir

■ بحث

در مطالعه حاضر اثرات بوسرلین آگونیست هورمون آزاد کننده گنادوتروپین بر رشد و تکامل فولیکول‌های تخمدان موش‌های صحرایی ماده بالغ ارزیابی شد. یافته‌ها نشان داد بوسرلین در دو دوز مصرفی ۳۰۰ µg/kg و ۶۰۰ بصورت غیر پالسی از رشد فولیکول‌های بزرگ کلاس I و II جلوگیری می‌نماید و باعث کاهش تعداد فولیکول‌های بزرگ کلاس I و II می‌گردد. در کلاس‌های I و II، سلول‌های فولیکولی چند لایه حفره‌دار و بدون حفره و همچنین سلول‌های فولیکولی چند لایه با چند حفره در اطراف اووسیت دیده می‌شوند.

با توجه به اینکه سلول‌های گرانولوزا برای GnRH گیرنده دارند، بوسرلین می‌تواند علاوه بر تأثیر بر محور هیپوتالاموس-هیپوفیز گناد، با اتصال به گیرنده‌های موجود در سلول‌های گرانولوزا، اثر مستقیم نیز داشته باشد که به این ترتیب نتایج پژوهش قابل توجیه است.

همچنین مطالعه حاضر نشان داد که تزریق غیر پالسی بوسرلین در دوز ۳۰۰ µg/kg و ۶۰۰ بر رشد فولیکول‌های کوچک (بدوی و اولیه تک لایه) تأثیر بسزایی نداشته با اینکه تعداد آنها کاهش یافته است. فاکتورهای دخیل در تنظیم رشد فولیکول‌های کوچک معلوم نشده است و وابستگی آنها به هورمون‌های هیپوفیزی به اثبات نرسیده است (۹).

معمولاً رشد فولیکول‌های بزرگ با قطر بیشتر از ۲۷۵ میکرومتر تحت تأثیر هورمون‌های هیپوفیزی است. تجویز غیر پالسی بوسرلین ابتدا با اتصال به گیرنده‌های GnRH در هیپوفیز قدامی باعث آزادسازی FSH و LH و رشد فولیکول‌های با سلول‌های گرانولوزایی دارای گیرنده می‌شود. اما ادامه تزریق و استفاده از دوز بالای بوسرلین به گیرنده‌های هورمون آزاد کننده گنادوتروپین متصل شده و با اثرات Down Regulation باعث تضعیف اثر GnRH می گردد و در نتیجه رشد فولیکول‌ها با گیرنده GnRH کاهش می‌یابد (۱۱،۱۲).

یافته‌ها حاکی از آن است که تعداد کل فولیکول‌های تخمدان در دوزهای مورد مطالعه نسبت به گروه کنترل کاهش یافته است. به عبارت دیگر بوسرلین در دو دوز مورد استفاده باعث مهار رشد فولیکول‌ها می‌شود که تأیید کننده مطالعات گذشته است. مطالعات گذشته نشان می‌دهد که درمان با آگونیست GnRH در موش‌های صحرایی، تعداد کل فولیکول‌های در حال رشد در تخمدان‌ها را کاهش می‌دهد (۱۳).

در پژوهش قنادی و همکاران، تجویز غیر پالسی دوزهای بالای آگونیست GnRH (بوسرلین)، رشد فولیکول‌های اولیه را در موش‌های صحرایی نابالغ تحریک و رشد فولیکول‌های رسیده را مهار می‌کرد، در حالیکه تأثیر دوزهای پایین آن در فرایند رشد فولیکول‌ها گزارش نشد. یافته‌های مطالعه مذکور در توافق با نتایج پژوهش حاضر است (۱۴).

صدرخانلو در مطالعه‌ای نشان داد که تجویز غیرپالسی آگونیست GnRH در موش‌های صحرایی نابالغ هیپوفیزکتومی شده باعث کاهش قابل ملاحظه‌ای در تعداد تقسیمات میتوزی سلول‌های گرانولوزایی فولیکولهای پره آنترال در مقایسه با گروه کنترل می‌شود که در راستای نتایج مطالعه حاضر می‌باشد (۱۵).

نتایج مطالعه Gougeon و همکاران نشان داد که بوسرلین بطور نسبی می‌تواند آغاز رشد فولیکول‌های تخمدانی در میمون‌ها را مهار نماید (۱۶).

مقدم و همکاران با بررسی تحت عنوان تأثیر تجویز استروئیدها و GnRH در روز فحلی بر روی شاخص‌های رشد فولیکول‌های تخمدانی در تلیسه‌های هلشتاین نشان دادند که تجویز GnRH و یا استروئید همزمان با شروع فحلی در تخمک‌گذاری اختلالی ایجاد نکرده و در ایجاد همزمان موج فولیکولی جدید تفاوتی با یکدیگر ندارند (۱۷).

با توجه به اهمیت و نقش سلول‌های گرانولوزا در کنترل بلوغ اووسیت و استفاده‌ای که از اشکال صناعی هورمون آزاد کننده گنادوتروپین (بوسرلین) در مراکز ناباروری جهت تحریک تخمک‌گذاری و یا برای جلوگیری از رشد تعداد زیاد فولیکول‌های تخمدانی می‌شود و نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر، که نشان داد تجویز بوسرلین در موش های صحرایی ماده بالغ باعث کاهش رشد فولیکول‌ها می‌گردد، می‌توان نتیجه گرفت که بوسرلین علاوه بر مزایایی که دارد دارای معایبی نیز هست و باید توجه داشت که اثرات مثبت و منفی بوسرلین وابسته به دو عامل دوز و مدت زمان تجویز است و برای دست یافتن به نتیجه مطلوب در موارد درمانی بایستی این عوامل در نظر گرفته شوند. این مطالعه به این دلیل انجام شده است

Archive of SID
www.SID.ir

که معمولاً در هر سیکل جنسی تعداد زیادی فولیکول شروع به رشد کرده و پس از سپری شدن مراحل رشد، فولیکول‌های بالغ ایجاد می‌شوند که پس از اوولاسیون اووسیت آزاد می‌نمایند. اما برای فولیکول‌ها دسته‌بندی استانداردی وجود ندارد و معمولاً ارزیابی فولیکول‌های کوچک به سختی صورت می‌گیرد. یک دسته‌بندی بر اساس معیارهای مورفولوژیکی مانند تعداد لایه‌های سلولی گرانولوزا و وجود یا عدم وجود حفره وجود دارد که فولیکول‌ها را به فولیکول‌های اولیه، ثانویه، ثالث، پره آنترال و آنترال تقسیم‌بندی می‌کند (۱۸).

با این وجود چون در فولیکول‌های تخمدان موش‌های صحرایی تعداد لایه‌های سلول‌های گرانولوزا دو لایه یا سه لایه به خوبی قابل تشخیص نیست و تشکیل حفره در طیف گسترده‌ای از فولیکول‌ها از قطر ۱۵۰-۳۵۰ µm اتفاق می‌افتد، بنابراین یک روش ساده و دقیق برای دسته‌بندی فولیکول‌ها اندازه‌گیری قطر آنها در زیر میکروسکوپ نوری است. اما اندازه‌گیری قطر برای فولیکول‌های کوچک مانند فولیکول بدوی، اولیه تک لایه و فولیکول اولیه چند لایه خیلی دقیق نیست زیرا در بسیاری از موارد فولیکول‌های کوچک از نظر قطر مشابهند. بنابراین بهتر است برای دسته‌بندی فولیکول‌های کوچک تخمدان از تفاوت‌های مورفولوژیکی استفاده کنیم در حالیکه برای فولیکول‌های بزرگ از قطر استفاده می‌کنیم (۱۹).

■ نتیجه‌گیری

از محدودیت‌های این مطالعه می‌توان به عدم ارزیابی هورمون‌های LH و FSH هیپوفیزی در پلاسمای خون اشاره نمود که باعث رشد فولیکول‌ها در تخمدان می‌گردد. بعلاوه بهتر بود موش‌های صحرایی برای هر دوز تزریقی به دو زیر گروه تقسیم می‌شدند و یک زیر گروه بلافاصله و دیگری با فاصله یک ماه مورد مطالعه قرار می‌گرفتند تا با مقایسه نتایج، داده‌های قابل تفسیر بیشتری بدست آیند.

تجویز کوتاه مدت بوسرلین و دوز بالای آن بر رشد و تکامل فولیکول‌های تخمدان اثر مهاری دارد. به دلیل وجود اثرات مضر در کنار آثار مفید در استفاده از آگونیست‌های GnRH باید دقت نظر لازم اعمال گردد.

■ تشکر و قدردانی

این مطالعه بخشی از پایان‌نامه دانشجویی کارشناسی ارشد مصوب کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی ارومیه با کد IR.UMSU.REC.1393.141 می‌باشد که بدینوسیله از همکاری معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه در تأمین بودجه آن نهایت تشکر را داریم.

■ References

1. Berek JS. Berek & Novak,s Gynecology. 16th ed. US: Lippincott Williams& Wilkins; 2011.

2. Danied R, Mishel JR, Davajan V, Rogerio A. Infertility Contraception and Reproductive Endocrinology. 4th ed. London: Black well Science; 1999.

3. Lenon S RH, Nathan GK. Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility. 5th Ed. US: Lippincott Williams& Wilkins; 1994.

4. Fritz MA, Speroff Leon. Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility. 8th ed. Lippincott Williams &Wilkins; 2010.

5. Parborell F, Dain L, Tesone M. Gonadotropin-releasing hormone agonist affects rat ovarian follicle development by interfering with FSH and growth factors on the prevention of apoptosis. Mol Reprod Dev. 2001;60(2):241-7.

6. Janssens R, Brus L, Cahill D, Huirne J, Schoemaker J, Lambalk C. Direct ovarian effects and safety aspects of GnRH agonists and antagonists. Hum Reprod Update. 2000;6(5):505-18.

7. Hwang WS, Kang SK, Lee BC. The role of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) and its receptor in the extrapituitary tissues. J Korean Soc Endocrinol. 2001;16(6):542-9. [Korean]

8. Botte´ MC, Lerrant Y, Lozach A, Be´rault A, Counis R, Kottler M. LH down-regulates gonadotropin-releasing hormone (GnRH) receptor, but not GnRH, mRNA levels in the rat testis. J Endocrinol. 1999;162(3):409-15.

9. Gaytan F, Morales C, Bellido C, Aguilar E, Sanchez-criado JE. Proliferative activity in the different ovarian compartments in cycling rats estimated by the 5-bromodeoxyuridine technique'. Biol Reprod. 1996;54(6):1356-65.

Archive of SID
www.SID.ir

10. Takagi K, Yamada T, Miki Y, Umegaki T, Nishimura M, Sasaki J. Histological observation of the development of follicles and follicular atresia in immature rat ovaries. Acta Medica Okayama. 2007;61(5):283-98.

11. Lanzone A, Fulghesu A, Spina M, Apa R, Menini E, Caruso A, et al. Successful induction of ovulation and conception with combined gonadotropin-releasing hormone agonist plus highly purified follicle-stimulating hormone in patients with polycystic ovarian disease. J Clin Endocrinol Metab. 1987;65(6):1253-8.

12. Hsueh A, Erickson GF. Extrapituitary action of gonadotropin-releasing hormone: direct inhibition ovarian steroidogenesis. Science, 1979;204(4395):854-5.

13. Sridaran R, Hisheh S, Dharmarajan A. Induction of apoptosis by a gonadotropin-releasing hormone agonist during early pregnancy in the rat. Apoptosis, 1998;3(1):51-7.

14. Ghanadee A, Nasresfahani MH, Behdadipoor Z. Effects of nonpulsatile GnRH agonist administration on ovaries of immature rats. YAKHTE, 2004;6(23):124-31. [Persian]

15. sadrkhanloo R. [Effect of GnRHa on the ovarian follicles growth of hypophysectomized prepubertal rat contain capsule]. J Vet Res. 1989;44(3):75-96. [Persian]

16. Gougeon A, lefevre B, Testart J. Influence of a gonadotropin-releasing hormone agonist and gonadotropins on morphometric characteristics of the population of small ovarian follicles in cynomolgus monkeys (Macaca Fascicularis). J Reprod Fertill. 1992;95(2):567-75.

17. Moghaddam AA, Niasari Naslaji A, Bolourchi M. Effect of steroids and GnrH, given on the day of estrus, on ovarian follicle characteristics in holstein Heifers. J Vet Rs. 2001;56(4):45-52. [Persian]

18. Mescher A. Junqueira,s Basic Histology. 13th ed. New York: McGraw-Hill Education; 2013.

19. Hirshfield AN, Rees Midgley JR. Morphometric analysis of follicular development in the rat. Biol Reprod. 1978;19(3):597-605.

Archive of SID

www.SID.ir

Effects of Gonadotropin Releasing Hormone Agonist (Buserelin) on Development of Ovarian Follicles of Adult Rats

Tahmineh Peirouvi[1], Hadis Mohammadbeigi*[2]

1- Associate Professor, Department of Anatomical Sciences, Maternal and Childhood Obesity Center, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran.
2- MSc Student of Anatomical Sciences, School of Medicine, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran.

Received Date: 2016/04/23 **Accepted Date: 2016/08/10**

Abstract

Introduction and Aims

Nowadays, GnRH agonist like buserelin acetate was used for treatment of infertility witch causes development of ovarian follicles. The purpose of this study was to investigate effects of buserelin on the follicles development of ovary.

Materials and Methods

In this experimental interventional study, 24 adult female Wistar rats were randomly divided into 3 groups (n=8). First and second treated groups received 300 µg/kg and 600 µg/kg buserelin for 5 days respectively. Control group received normal saline the same times. Buserelin administrated subcutaneously. One month after first administration, the rats were anesthetized with a lethal dose of chloroform and ovaries were removed. After fixation and routine Tissue Processing specimens were sectioned into 5 µ thickness and then were stained with Hematoxilin and Eosin. Data were analyzed in GraphPad Prism 6 v 6.01 for windows, GraphPad Software using One Way ANOVA and Tukey test. $P<0.05$ was statistically considered significant.

Results

The mean of multilaminar follicles class I decreased significantly in the second and first treated groups compared with the control group ($P=0.018$, $P=0.012$, respectively). Also, mean of multilaminar follicles class II decreased significantly in second and first treated groups compared with the control group ($P=0.031$, $P=0.005$, respectively).

Conclusion

Our findings suggest short-term administration of high dose buserelin inhibits development of follicles in rat ovary.

Keywords

ovary, Buserelin, GnRH, follicles, rat

***Corresponding Author:** Urmia University of Medical Sciences, School of Medicine.
Email: Hadis.mohammadbeigi@gmail.com

Archive of SID
www.SID.ir