

اثر بازدارنده رشد فولیکولی روغن پنبه دانه هیدروژنه روی تخمدان موش ماده

دکتر سیدهدایت‌اله رشیدی^۱ دکتر محمد اسلامیان^۲

مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، دوره ۵۶، شماره ۲، ۱۲۲-۱۱۹، (۱۳۸۰)

آسان‌کشی شدند. از هر تخمدان پس از ثبوت در فرمالین ۱۰ درصد برشهای طولی - وسطی (MID-Sagittal sections) به ضخامت ۵ میکرومتر تهیه و به روش H&E رنگ‌آمیزی گردید. علت انتخاب چنین برشی ایجاد تشابه میدان میکروسکوپی و امکان قضاوت نسبی بر روی هر تخمدان بود.

مطالعه به‌صورت بررسی انواع فولیکولها و شمارش فولیکولی در هر برش بافتی از گروههای مورد آزمایش و گروه شاهد انجام گردید. برای شمارش فولیکولی ابتدا از هر تخمدان برشهای سریال به فواصل ۱۰ میکرومتر از مرکز به سمت خارج تهیه و با روش مورفومتری (۹) تعداد کل فولیکولها محاسبه گردید، لیکن با توجه به هدف مطالعه که صرفاً بررسی تغییرات روند رشد و تکامل فولیکولی بود، از هر نمونه در درشت‌نمایی ۴۰ و از وسطی‌ترین برش شمارش فولیکولی به‌صورت ماریچ از نقطه‌ای از کور تکس در جهت عقربه‌ها ساعت به سمت مدولا بعمل آمد. شمارش به تفکیک انواع فولیکول صورت گرفت. ارقام به‌دست آمده با روش میانگین و انحراف معیار و با استفاده از آزمون "t" (t-test) مورد بررسی و تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

نتایج

در این بررسی فولیکولها به‌صورت نوع اول، نوع دوم، بالغ (فولیکول گراف) و جسم آترتیک دسته‌بندی شدند. اجسام زرد به‌طور کیفی مورد مطالعه قرار گرفته و در شمارش منظور نگردیدند. علت این امر با توجه به هدف بررسی، صرفاً مراحل رشد و تکامل فولیکولها تا مرحله بلوغ فولیکولی (فولیکول دو گراف) مورد نظر بوده است.

شمارش فولیکولی در تخمدانهای راست و چپ نشان داد که جیره غذایی حاوی ۱۰ درصد روغن پنبه دانه هیدروژنه در سه مقطع سنی تعیین شده در مقایسه با گروه شاهد باعث کاهش در میانگین انواع فولیکولها شده است. این کاهش در زیر گروههای سنی شش و نه هفتگی یبوزه در تخمدانهای راست چشمگیرتر بود. در زیر گروه سنی دوازده هفتگی که آغاز مرحله بلوغ جنسی است، اثرات ملایمتر بود. این وضعیت عمدتاً در تعداد فولیکولهای نوع اول و دوم آشکارتر بود (جدول ۱-۴). تخمدانهای چپ در مقایسه با تخمدانهای راست در هر سه مقطع سنی، تغییرات بیشتری را نشان دادند (تساوی ۶-۱).

بحث

در مطالعه حاضر نشان داده شد که در موشهای تغذیه شده با جیره حاوی روغن پنبه دانه هیدروژنه تعداد فولیکولهای نوع اول و دوم نسبت به موشهای شاهد در همه زیر گروهها کاهش قابل توجهی داشته است، در حالی که تعداد اجسام آترتیک برعکس افزایش نشان داده است. روغن پنبه دانه هیدروژنه باعث می‌شود ماده مهارکننده اتصال (Receptor binding inhibitor) یا FSH به گیرنده در مایع فولیکولی افزایش یابد. ترکیب FSH-RBI میزان استروژن‌ها را به شدت کاهش داده و برعکس باعث تجمع آندروژن‌ها می‌شود. این تغییر می‌تواند یکی از علل اصلی کندی روند تکثیر سلولهای گرانولوزا و در نهایت آتزی فولیکولهای در حال رشد باشد (۸). در هر حال تخمدانهای راست بیش از تخمدانهای چپ واکنش نشان داده‌اند که علت آن به درستی روشن نیست.

تعداد ۶۰ موش سفید ماده از نژاد BALB/c در سن سه هفتگی انتخاب و در شرایط یکسان به دو گروه یکی گروه روغن پنبه دانه هیدروژنه و دیگری گروه شاهد تقسیم شدند. هر گروه به سه زیر گروه شش هفته، نه هفته و دوازده هفته تقسیم شدند. موشهای گروه اول به مدت سه هفته در مقطع سنی مربوطه با جیره غذایی محتوی ۱۰ درصد از ماده خشک روغن پنبه دانه هیدروژنه به‌طور آزاد تغذیه شدند. موشهای گروه شاهد نیز به همان ترتیب با غذای معمولی تغذیه شدند. در پایان هر دوره موشها بیهوش شده و پس از بیهوشی، تخمدانها مورد مطالعه بافت‌شناسی قرار گرفتند و نتایج زیر به‌دست آمد: موشهای تغذیه‌شده با روغن پنبه‌دانه هیدروژنه در مقایسه با موشهای شاهد، کاهش تعداد انواع فولیکولها و برعکس ازدیاد تعداد اجسام آترتیک را نشان دادند. کاهش فولیکول در مقاطع سنی شش و نه هفتگی و نیز در فولیکول‌های نوع اول آشکارتر بود. علت پدیده فوق می‌تواند اشباع‌شدن اسید لینولئیک موجود در روغن پنبه دانه هیدروژنه باشد.

واژه‌های کلیدی: رشد فولیکولی، روغن پنبه دانه، تخمدان، موش.

بررسیهای انجام شده نشان داده‌اند که روغنهای گیاهی خوراکی مایع از قبیل روغن ذرت، روغن کنجد و روغن پنبه دانه به‌علت دارا بودن مقادیر بالایی از اسید لینولئیک، محرک رشد و بلوغ جنسی و تحریک رشد غدد پستانی در موش ماده بوده‌اند (۷، ۶، ۴، ۲). در ترکیبات روغنهای گیاهی خوراکی جامد عمدتاً از روغن پنبه دانه هیدروژنه استفاده می‌شود. اسیدهای چرب موجود در این روغنها اشباع و بی‌اثر می‌گردند (۱). اثرات بازدارندگی و اختلال در روند رشد فولیکولی و روند کار عادی دستگاه تناسلی ماده، روغن پنبه دانه هیدروژنه در مقایسه با روغن ذرت در خرگوش نشان داده شده است (۸ و ۲). این اثرات هر چند از لحاظ مهار رشد و تکثیر بی‌رویه سلولها در مقایسه با خطرات کارسینوژنتیکی روغنهای گیاهی مایع مفید به‌نظر می‌رسد، لیکن بروز اختلال در فولیکولوز و رشد طبیعی تخمدان احتمالاً یکی از عوارض مصرف آن است (۸ و ۲). اثرات یاد شده در تخمدان خرگوش در دوره‌های رویانی و جنینی نیز نشان داده شده است (۸). هدف از این پژوهش بررسی اثرات روغن پنبه دانه هیدروژنه بر روند رشد فولیکولی در موش ماده بوده است.

مواد و روش کار

تعداد ۶۰ موش سفید ماده از نژاد BALB/c در سن سه هفتگی انتخاب گردیده و در شرایط یکسان به دو گروه، یکی گروه روغن پنبه دانه هیدروژنه و دیگری گروه شاهد تقسیم شدند. هر گروه خود براساس مقاطع سنی به سه زیر گروه ده تایی، به‌ترتیب شش هفتگی، نه هفتگی و دوازده هفتگی تقسیم شدند. موشهای گروه روغن پنبه دانه هیدروژنه هر یک به مدت سه هفته با جیره غذایی استاندارد مخلوط با ۱۰ درصد از ماده خشک روغن پنبه دانه هیدروژنه به‌طور آزاد تغذیه شدند. موشهای گروه شاهد نیز به همان مدت با جیره غذایی استاندارد به‌طور آزاد تغذیه گردیدند.

موشهای مورد آزمایش همراه با شاهدهای مربوطه در پایان هر دوره بلافاصله با تزریق درون صفاقی تیوپنتال سدیم ۵/۵ درصد بیهوش شده، تخمدانهای راست و چپ هر یک ابتدا بیوپسی گردیده و پس از نمونه‌برداری

۱) گروه آموزشی علوم پایه دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز - ایران.

۲) دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی اهواز، اهواز - ایران.



جدول ۱ - مقایسه میانگین و انحراف معیار تعداد فولیکولهای تخمدانهای راست و چپ در موشهای ۶ هفته

انواع فولیکولها	گروه روغن پنبه دانه هیدروژنه		گروه شاهد	
	تعداد ۱۰ موش		تعداد ۱۰ موش	
	تخمندان راست	تخمندان چپ	تخمندان راست	تخمندان چپ
فولیکول نوع اول	۵/۵±۱/۹۸	۶/۲±۱/۳	۶/۹۳±۱/۶۷	۶/۸±۱/۶
فولیکول نوع دوم	۴/۵±۱/۲۸	۴/۵±۱/۵	۵/۸±۱/۶۶	۴/۶±۱/۳۵
فولیکول بالغ	۱۰/۲±۱/۲۲	۹/۹±۱/۹۲	۱۰/۴±۱/۶۴	۱۰/۳۸±۱/۹۸
جسم آترتیک	۲/۵±۱/۰۲	۲±۰/۷۷	۱/۸±۱/۱۶	۱/۴±۱/۰۱



تصویر ۱ - تخمدان راست گروه شاهد، زیر گروه سنی ۶ هفتگی (H&E ×۴۰).

جدول ۲ - مقایسه میانگین و انحراف معیار تعداد فولیکولهای تخمدانهای راست و چپ در موشهای ۹ هفته

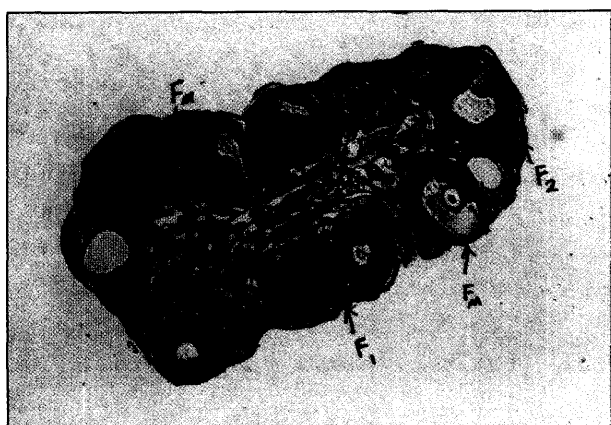
انواع فولیکولها	گروه روغن پنبه دانه هیدروژنه		گروه شاهد	
	تعداد ۱۰ موش		تعداد ۱۰ موش	
	تخمندان راست	تخمندان چپ	تخمندان راست	تخمندان چپ
فولیکول نوع اول	۵±۱/۴۱	۶/۴±۱/۴۹	۶/۳±۱/۶۷	۶/۸±۱/۶
فولیکول نوع دوم	۲/۷±۱/۲۶	۴/۱±۱/۴۴	۴/۸±۱/۶۶	۴/۶±۱/۳۵
فولیکول بالغ	۶/۶±۱/۶۲	۸/۷±۲/۱۳	۱۰/۳±۲/۶۴	۱۳/۸±۱/۹۸
جسم آترتیک	۲/۳±۰/۹	۳±۱/۳۴	۱/۸±۱/۱۶	۱/۴±۱/۰۱



تصویر ۲ - تخمدان راست گروه شاهد، زیر گروه سنی ۹ هفتگی. (F1 فولیکول نوع اول، F2 فولیکول نوع دوم و FM فولیکول بالغ (H&E ×۴۰)).

جدول ۳ - مقایسه میانگین و انحراف معیار تعداد فولیکولهای تخمدانهای راست و چپ در موشهای ۱۲ هفته

انواع فولیکولها	گروه روغن پنبه دانه هیدروژنه		گروه شاهد	
	تعداد ۱۰ موش		تعداد ۱۰ موش	
	تخمندان راست	تخمندان چپ	تخمندان راست	تخمندان چپ
فولیکول نوع اول	۶/۶±۱/۹	۸/۶±۳/۵۲	۶/۳±۱/۶۷	۶/۸±۱/۶
فولیکول نوع دوم	۴±۱/۶۷	۳/۸±۱/۹۳	۴/۸±۱/۶۶	۴/۶±۱/۳۵
فولیکول بالغ	۱۰/۹±۱/۹۷	۱۱/۹±۲/۲۱	۱۰/۳±۲/۶۴	۱۳/۸±۱/۹۸
جسم آترتیک	۱/۹±۱/۷	۱/۷±۱/۳۴	۱/۸±۱/۱۶	۱/۴±۱/۰۱



تصویر ۳ - تخمدان راست گروه شاهد، زیر گروه سنی ۱۲ هفتگی. (F1 فولیکول نوع اول، F2 فولیکول نوع دوم و FM فولیکول بالغ، (H&E ×۴۰)).

تأثیرات فوق الذکر در مقطع سنی ۹ هفتگی که موشها در آستانه بلوغ جنسی بوده‌اند، آشکارتر بوده است. این در حالی است که در مقطع سنی دوازده هفتگی که مرحله بلوغ جنسی است، تأثیرات یادشده ملایمتر بوده است. کندی اثرات کاهش‌دهندگی رشد و نمو فولیکولی توسط روغن پنبه دانه هیدروژنه در مرحله بلوغ جنسی، می‌تواند به علت تأثیرات متقابل هورمونهای جنسی و نیز رشد پیشین فولیکولها باشد.

تجزیه و تحلیل میانگین و انحراف معیار نتایج به دست آمده از شمارش فولیکولی در هر مقطع سنی نشان داد که در موشهای شش هفته بین تعداد فولیکولهای نوع اول، دوم و بالغ در تخمدان راست موشهای گروه روغن پنبه دانه هیدروژنه و موشهای گروه شاهد اختلاف معنی داری ($P < 0/05$) وجود دارد، ولی اجسام آترتیک اختلاف معنی داری ($P < 0/05$) را نشان ندادند.

تخمدانهای چپ در انواع فولیکولها نیز اختلاف معنی داری را نشان ندادند. در موشهای نه هفته بین تعداد انواع فولیکولها و اجسام آترتیک در گروه روغن پنبه دانه هیدروژنه و گروه شاهد در هر دو تخمدانها اختلاف معنی داری وجود داشت، ولی بین تعداد فولیکولهای نوع اول و دوم در تخمدانهای چپ اختلاف معنی دار نبود. در موشهای دوازده هفته بین تعداد فولیکولهای نوع اول و بالغ تخمدانهای چپ گروه روغن پنبه دانه هیدروژنه و گروه شاهد و نیز فولیکولهای نوع دوم تخمدانهای راست اختلاف معنی داری وجود داشت، لیکن بین فولیکولهای نوع اول و بالغ تخمدانهای راست و کلیه اجسام آترتیک در هر دو تخمدانهای راست و چپ اختلاف معنی داری نشان داده نشد.

برخی از گزارشات نشان داده اند که روغن ذرت با دارابودن میزان بالای اسیدلینولئیک (۵۹/۹ درصد) اثر تحریکی بر رشد و نمو فولیکولها داشته و حتی باعث تسریع روند رشد و تکثیر سلولی بافتهای دیگر شده است (۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶).

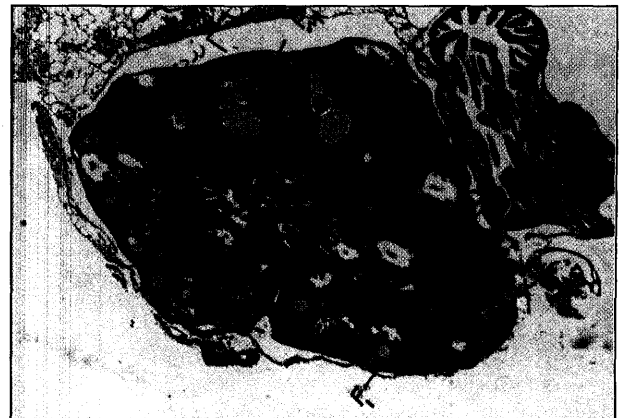
روغن کنجد نیز با دارابودن اسید لینولئیک به میزان ۴۳-۴۵ درصد اثرات تحریکی مشابهی با روغن ذرت نشان داده است (۷). بالعکس روغن پنبه دانه هیدروژنه اثر بازدارندگی رشد سلولی را نشان داده است (۸ و ۲). پی بردن به مکانیسمهای دقیق و نحوه تأثیر روغنهای فوق الذکر به کار بیشتری نیاز دارد.

References

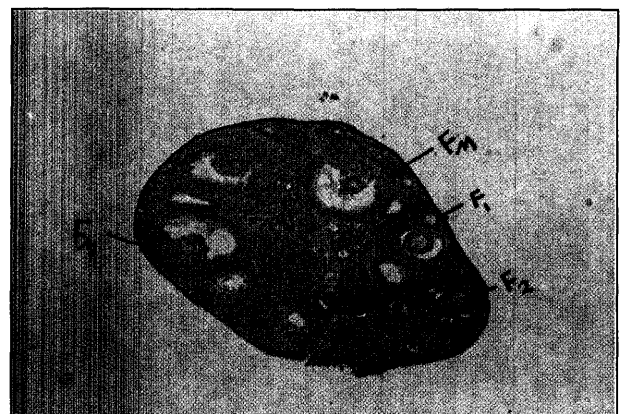
1. Abraham, S., Faulkin, L.J. and Mitchell, D.J. (1984): Effects of dietary fat on tumorigenesis in the mouse mammary glands. *KNCL*, 27: 1421-1429.
2. Faulkin, L.J., Abraham, S., Mitchell, D.J. and Hillyard, A. (1986): Effects of dietary fat on mammary development relative to age and hormones in BALB/c Mice (42295). *Proceeding of the society for experimental biology and medicine*. 181: 575-585.
3. Noori, M.H., Minaei, B., Shariat, S. and Rashidi, H. (1998): Comparison of the effects of corn oil and fish oil on ovarian folliculogenesis in female rabbit at prenatal stage. *Scient, Med. J.* 23: 1-9.
4. Rashidi, H. (1989): Effects of corn oil and menhaden fish oil on female mice reproductive system. *J. V. F.* 44: 1-9.
5. Rashidi, H. and Papahn, A.A. (1986): Study the corcinogeriesis effects of corn oil compounds. 3rd Iranian congress of pharmacy and pharmacological sciences.
6. Rashidi, H. and Papahn, A.A. (1992): The structure of female mice reproductive tract born from mothers fed with diets containing corn oil and fish oil during pregnancy. *Scient. Med. Journal*, 14: 35-45.
7. Rashidi, H. (1999): Effects of sesame oil on ovarian follicular growth in female mice. 26th W.V.C. Lyon, France.
8. Shariatzadeh, M., Shariat, S., Rashidi, H. and Rezazadeh, M. (1990): Effects of corn oil and cotton seed oil on structure of female rabbit ovary at embryonic stage. *Proceeding of first anatomical congress*. Kerman, Ima.
9. Vizzotto, L.M. and Vigilio, F.F. (1991): Morphometric study of the human neonatal ovary. *The anatomical record*, 237: 201-208.



تصویر ۴ - تخمدان راست گروه روغن پنبه دانه هیدروژنه، زیر گروه سنی ۶ هفتگی (H&E ۰۴۰).



تصویر ۵ - تخمدان راست گروه روغن پنبه دانه هیدروژنه، زیر گروه سنی ۹ هفتگی. (F1 فولیکول نوع اول، F2 فولیکول نوع دوم و FM فولیکول بالغ، به جسم زرد در سمت چپ بالای تصویر توجه شود (H&E ۰۴۰)).



تصویر ۶ - تخمدان راست گروه روغن پنبه دانه هیدروژنه، زیر گروه سنی ۱۲ هفتگی. (F1 فولیکول نوع اول، F2 فولیکول نوع دوم و FM فولیکول بالغ، (H&E ×۴۰)).



Suppressive effect of hydrogenated cotton seed oil on follicular growth in female miceRashidi, H.¹, Islamian, M.H.²

¹Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran Ahvaz University, Ahvaz - Iran. ²School of Pharmacy, Ahvaz Medical Sciences University, Ahvaz - Iran.

Sixty white female BALB/c mice at age 6 weeks were divided into two groups: Hydrogenated cotton seed oil and control. Each group was divided into three subgroups: 6, 9 and 12 weeks. The first group was fed with diet containing 10% hydrogenated cotton seed oil for 3 weeks, but controls with ordinary diet, ad libitum. Biopsy and histological studies showed decrease in number of follicles, but increase of atretic bodies. This was higher in 6 and 9 weeks. Decrease was more for primary follicles. The above phenomenon could be due to saturation of linoleic acid contained in hydrogenated cotton seed oil.

Key words : Follicular growth, Hydrogenated cotton seed oil, Ovary, Mice.