

## عملکرد هورمونی تخمدان پس از اتوترانسپلانت بدون پایه‌ی عروقی به ناحیه‌ی گردن در رت

دکتر سیده زهرا علامه<sup>۱</sup>، دکتر سپیده خدائی<sup>۲</sup>، دکتر مجید خزاعی<sup>۳</sup>

### خلاصه

**مقدمه:** فقدان یک روش مناسب جهت حفظ عملکرد تخمدان به خصوص در بیماران مبتلا به سرطان هنوز به عنوان یک مسأله مهم مطرح می‌باشد. هدف این مطالعه، بررسی حفظ عملکرد هورمونی پس از اتوترانسپلانت تخمدان بدون پایه‌ی عروقی به ناحیه‌ی گردن در رت‌های ماده بود.

**روش‌ها:** ۳۱ رت ماده به طور تصادفی به سه گروه شم، تخمدان برداری و اتوترانسپلانت تقسیم شدند. در گروه تخمدان برداری پس از برش روی شکم، تخمدان‌ها برداشته شد. در گروه اتوترانسپلانت هر دو تخمدان به ناحیه‌ی قدام گردن مجاور روید ژوگولر چپ پیوند زده شد. نمونه‌های خونی روز اول (زمان صفر)، ۷ و ۲۱ بعد از جراحی جهت اندازه‌گیری LH، FSH و استرادیول گرفته شد.

**یافته‌ها:** در گروه تخمدان برداری و اتوترانسپلانت سطح سرمی استرادیول ۷ روز پس از جراحی کاهش معنی‌داری یافت ( $P < 0.05$ )، اما پس از ۲۱ روز در گروه اتوترانسپلانت افزایش معنی‌داری نسبت به روز ۷ داشت. سطح سرمی FSH در گروه‌های تخمدان برداری و اتوترانسپلانت تا روز ۷ پس از تخمدان برداری تغییری نکرد، اما پس از آن در گروه تخمدان برداری افزایش چشمگیری داشت ( $P < 0.05$ ) در حالی که در گروه اتوترانسپلانت افزایش بسیار مختصری یافت و این افزایش بسیار کمتر از گروه تخمدان برداری بود. سطح سرمی LH در گروه تخمدان برداری و اتوترانسپلانت ۷ و ۲۱ روز پس از جراحی افزایش نشان داد.

**نتیجه‌گیری:** به نظر می‌رسد پیوند تخمدان بدون پایه‌ی عروقی به ناحیه‌ی گردن سبب حفظ عملکرد هورمونی آن‌ها شده است، هر چند که اثبات این امر به مطالعات بیشتری نیاز دارد.

**واژگان کلیدی:** اتوترانسپلانت، باروری، تخمدان، استروژن.

### مقدمه

زودرس تخمدان می‌شوند (۲). پیوند مغز استخوان نیز که در بیماری‌های هماتولوژیک بدخیم استفاده می‌شود به دلیل مقادیر زیاد کموتراپی و رادیوتراپی جهت تخریب بقایای مغز استخوان بیمار سبب نارسایی تخمدان می‌گردد (۳). برداشتن ارگان‌های تناسلی یا استفاده از داروهای سیتوتوکسیک در درمان سرطان‌های شایع زنان جوان، عملکرد باروری این افراد را به طور کامل و یا نسبی تحت تأثیر قرار می‌دهد؛ البته، از دست دادن زودرس عملکرد تخمدان،

حفظ باروری در زنان به خصوص در سال‌های اخیر به دلایل مختلف یکی از مهم‌ترین مسایل به شمار می‌رود. سرطان در زنان سن باروری نادر نمی‌باشد. بیش از ۶۵۰۰۰۰ مورد جدید سرطان در زنان در سال ۲۰۰۳ در آمریکا تخمین زده شده است (۱). رادیوتراپی و اکثر مواد آلکیلان (مانند Busulfan یا Cisplatin) که در رژیم‌های شیمی‌درمانی استفاده می‌شوند گنادوتوکسیک هستند و باعث نارسایی

<sup>۱</sup> دانشیار، گروه زنان و مامایی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

<sup>۲</sup> دستیار، گروه زنان و مامایی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

<sup>۳</sup> دانشیار، گروه فیزیولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

بیماران را در خطر عوارض وابسته به منوپوز در سنین جوانی قرار خواهد داد. در بررسی بافتی بخشی از یک تخمدان که بعد از درمان با داروهای سیتوتوکسیک که منجر به نارسایی آن شده بود، طیفی از تغییرات از کاهش تعداد فولیکول تا نبود فولیکول و فیروز نشان داده شده است.

امروزه گزینه‌های طبی متعددی برای حفظ باروری در این بیماران پیشنهاد شده است. یکی از این روش‌ها شامل نگهداری رویان، اووسیت‌ها و بافت تخمدان با استفاده از روش Cryopreservation می‌باشد. تغییر محل تخمدان در مکانی خارج از رشته‌ی رادیوتراپی نیز یکی دیگر از روش‌های حفظ عملکرد تخمدان در زنان سن باروری است که دچار بدخیمی‌های لگنی بوده یا تحت رادیوتراپی گره‌های لنفاوی لگنی قرار می‌گیرند.

اتوترانسپلانت تخمدان یک گزینه‌ی مطرح شده‌ی دیگر جهت حفظ بارداری در بیماران مبتلا به سرطان‌ها است، اگر چه موفقیت این کار به خصوص در موارد پیوند بدون پایه‌ی عروقی به سرعت رگ سازی بستگی دارد (۴). Callejo و همکاران عمل اتوترانسپلانت تخمدان بدون پایه‌ی عروقی را در پریتنون و بافت زیر جلدی با موفقیت انجام دادند (۵).

هدف ما در این مطالعه، بررسی حفظ عملکرد هورمونی پس از اتوترانسپلانت تخمدان بدون پایه‌ی عروقی به ناحیه‌ی گردن در رت‌های ماده بود.

سانتی‌گراد و ۱۲ ساعت سیکل روشنایی/تاریکی نگهداری شدند. پس از یک هفته تطابق با لانه‌ی حیوانات، خون‌گیری از گوشه‌ی چشم انجام گرفت. سپس نمونه‌های خونی سانتریفوژ شد و سرم آن‌ها جهت اندازه‌گیری سطوح سرمی LH، FSH و استرادیول در فریزر -۷۰ درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری گردید. سپس حیوانات به طور تصادفی در سه گروه شم، تخمدان برداری و اتوترانسپلانت تقسیم شدند. در گروه شم برش در خط میانی شکم به طول ۲-۱ سانتی‌متر داده و تخمدان‌ها در محل دست نخورده گذاشته و محل آن بخیه زده شد. در گروه تخمدان برداری پس از برش روی شکم تخمدان‌ها برداشته شد. در گروه اتوترانسپلانت هر دو تخمدان رت برداشته شده، به ناحیه‌ی قدام گردن در مجاورت ورید ژوگولر چپ پیوند زده شد (۶). پس از بهبودی، نمونه‌های خونی روز اول (زمان صفر)، ۷ و ۲۱ روز بعد از جراحی از حیوانات گرفته شد. نمونه‌های خونی سانتریفوژ شد و سطح سرمی LH، FSH و استرادیول با استفاده از کیت‌های رادیوایمونواسی اندازه‌گیری شد.

برای مقایسه‌ی روند تغییرات میانگین LH، FSH و استرادیول بین زمان‌های مختلف در هر گروه از آزمون آنالیز واریانس با تکرار مشاهدات (Repeated measured ANOVA) و جهت مقایسه‌ی داده‌ها بین گروه‌ها از آزمون ANOVA استفاده شد.

#### یافته‌ها

##### سطح سرمی استرادیول:

میانگین سطح سرمی استرادیول در ۳ گروه مورد مطالعه در زمان‌های مختلف در نمودار شماره‌ی ۱

#### روش‌ها

۳۱ رت ماده از نژاد ویستار با وزن بین ۲۵۰-۲۰۰ گرم از انستیتو پاستور خریداری شد. حیوانات در لانه‌ی حیوانات گروه فیزیولوژی در دمای ۲۵-۲۰ درجه‌ی

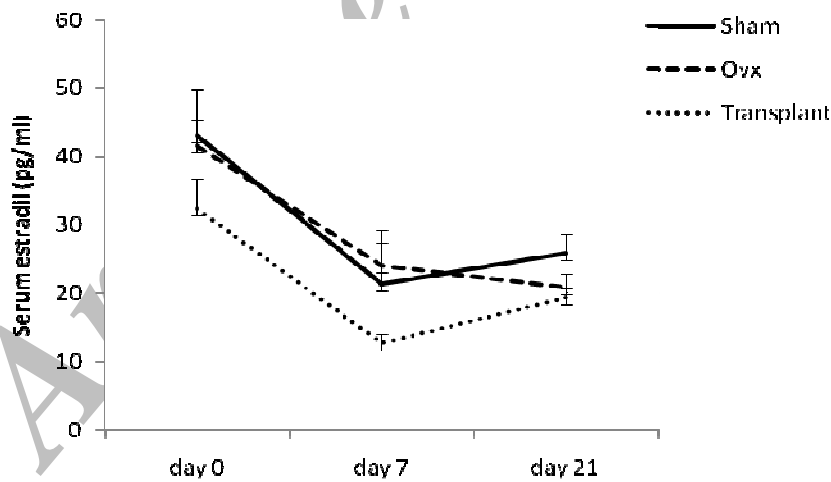
شده است. نتایج نشان داد سطح سرمی FSH در گروه تخمدان برداری تا روز ۷ پس از تخمک برداری تغییری نکرد، اما پس از آن افزایش چشمگیری داشت ( $P < 0/05$ ). سطح سرمی FSH در گروه اتوترانسپلانت تا روز ۷ تغییری نداشت و تا روز ۲۱ سطح FSH افزایش بسیار مختصری یافت و این افزایش بسیار کمتر از گروه تخمدان برداری بود.

جدول ۱ میانگین تغییرات سطح سرمی FSH در سه گروه مورد مطالعه از ابتدای مطالعه تا انتهای آزمایش را نشان می‌دهد. همان طور که در جدول ۱ نشان داده شده است میانگین تغییرات سطح سرمی FSH بین روز صفر و ۲۱ در گروه تخمدان برداری بسیار بیشتر از گروه اتوترانسپلانت است.

نشان داده شده است. میانگین سطح سرمی استرادیول در شروع مطالعه در سه گروه تفاوت معنی‌داری نداشت ( $P < 0/05$ ). در گروه تخمدان برداری و اتوترانسپلانت، سطح سرمی استرادیول ۷ روز پس از جراحی کاهش معنی‌داری یافت ( $P < 0/05$ )، اما پس از ۲۱ روز، سطح خونی استرادیول در گروه اتوترانسپلانت افزایش معنی‌داری نسبت به روز ۷ داشت در حالی که در گروه تخمدان برداری شده سطح سرمی استرادیول خون همچنان در حال کاهش بود.

### سطح سرمی FSH

میانگین سطح سرمی FSH در سه گروه مورد مطالعه در زمان‌های مختلف در نمودار شماره‌ی ۲ نشان داده

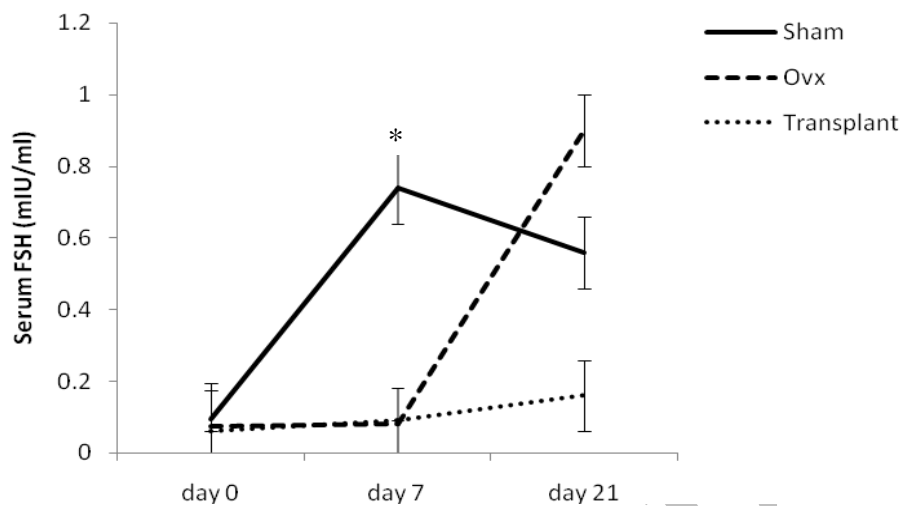


نمودار ۱. تغییرات سطح سرمی استرادیول در گروه‌های مختلف آزمایش در طول مطالعه

جدول ۱. میانگین تغییرات سطح سرمی FSH و LH در گروه‌های مختلف آزمایش از روز صفر تا روز ۲۱ پس از جراحی

شماره	تخمدان برداری	متغیر
۰/۴۲ ± ۰/۰۷	۰/۸۴ ± ۰/۳۴*	FSH (mIU/ml)
۰/۳۲ ± ۰/۱۴	۱/۱۳ ± ۱/۲۰*	LH (IU/L)

\*: تفاوت معنی‌دار با سایر گروه‌ها

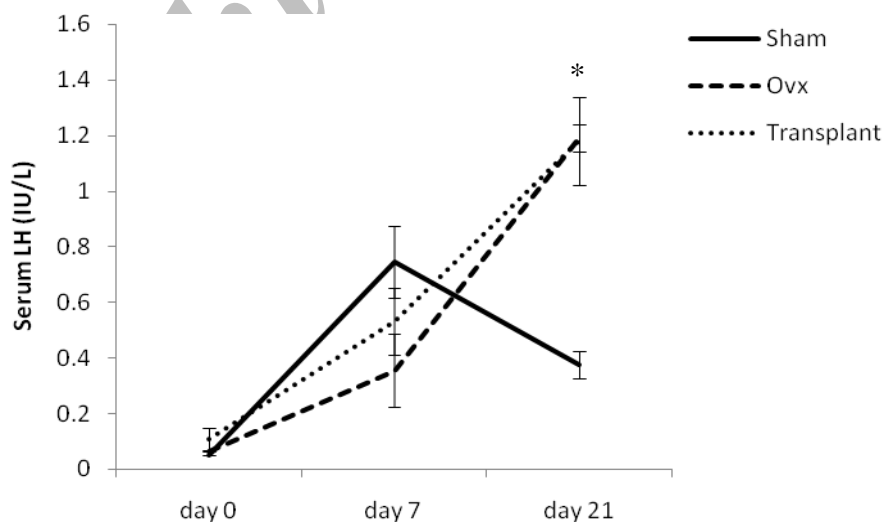


نمودار ۲. تغییرات سطح سرمی FSH در گروه‌های مختلف آزمایش در طول مطالعه  
\*: تفاوت معنی‌دار با سایر گروه‌ها

شده و اتوترانسپلانت ۷ و ۲۱ روز پس از جراحی افزایش نشان می‌دهد. جدول ۱ میانگین تغییرات سطح سرمی LH در سه گروه مورد مطالعه در زمان‌های مختلف را نشان می‌دهد.

### سطح سرمی LH

تغییرات سطح سرمی LH در گروه‌های مورد مطالعه در زمان‌های مختلف در نمودار شماره‌ی ۳ نشان داده شده است. سطح سرمی LH در گروه تخمدان برداری



نمودار ۳. تغییرات سطح سرمی LH در طول مطالعه در گروه‌های مختلف آزمایش  
\*: تفاوت معنی‌دار با گروه شم

## بحث

هدف اصلی از این پژوهش، تعیین حفظ عملکرد هورمونی تخمدان پس از اتوترانسپلانت بدون پایه‌ی عروقی آن به ناحیه‌ی گردن با اندازه گیری سطح سرمی استرادیول، FSH و LH بود.

ما در این مطالعه از پیوند بدون پایه‌ی عروقی تخمدان به ناحیه‌ی گردن استفاده نمودیم. در مطالعات قبلی، کارآمدی پیوند بدون پایه‌ی عروقی تخمدان‌ها در ناحیه‌ی پریتون و زیر جلدی نشان داده شده است (۷-۱۱، ۴-۵). در جریان پیوند بدون پایه‌ی عروقی، قسمتی از ذخیره‌ی فولیکول‌ها از بین می‌رود و ایسکمی یک فاکتور مهم در از دست رفتن فولیکول‌ها و یک فاکتور محدود کننده‌ی مهم در میزان بقای فولیکول‌های اولیه در بافت پیوندی است. در جراحی‌های بدون پایه‌ی عروقی، رگ‌زایی یا توسط فاکتورهای آنژیوژنز اگزوزن صورت می‌گیرد و یا همانند فرایند ترمیم زخم ناشی از فاکتورهای اندوژن می‌باشد (۴).

نتایج مطالعه‌ی ما نشان داد که پس از تخمدان برداری، سطح سرمی استرادیول در پایان ۲۱ روز پس از جراحی کاهش و سطح سرمی FSH و LH افزایش داشت. این تغییرات نشان دهنده‌ی کارآمدی جراحی تخمدان برداری در این حیوانات بود.

در گروه شم با توجه به این که بررسی اسمیر واژینال انجام نشده بود، نمی‌توان در خصوص تغییرات سطح سرمی استرادیول، FSH یا LH به خوبی قضاوت نمود؛ چرا که ممکن است این حیوانات هر کدام در یک زمان از سیکل ماهیانه قرار داشته باشند و این از محدودیت‌های مطالعه‌ی ما بود. اما در گروه اتوترانسپلانت، نتایج مطالعه‌ی ما نشان داد

سطح استرادیول از حدود روز ۷ شروع به افزایش نمود و تا روز ۲۱ ادامه داشت و همزمان سطح سرمی FSH افزایش بسیار مختصری در مقایسه با گروه تخمدان برداری یافت. این نتایج نشان داد عملکرد هورمونی در تخمدان پیوند زده شده از سر گرفته شده است؛ اگر چه روند افزایش سطح سرمی LH در گروه اتوترانسپلانت و تخمدان برداری یکسان بود، اما افزایش سطح FSH در گروه اتوترانسپلانت به مراتب کمتر از افزایش سطح آن در گروه تخمدان برداری بود.

نتایج دو مطالعه‌ی قبلی نشان دادند که اتوترانسپلانت تخمدان به بافت زیر جلدی بدون پایه‌ی عروقی سبب حفظ عملکرد هورمونی می‌شود (۱۱، ۵). در یکی از این مطالعات ابتدا اتوترانسپلانت به صورت موقت باعث کاهش سطح استرادیول همراه با افزایش سطح FSH گردید، اما فعالیت مجدد تخمدان با افزایش سطح استرادیول و کاهش سطح FSH نسبت به گروه شاهد (بدون تخمدان) از روز ۳۰ بعد از پیوند مشاهده شد؛ اما سطح FSH در انتهای مطالعه به طور معنی‌داری در همه‌ی گروه‌ها از سطح آن در ابتدای مطالعه بیشتر بود و این گونه استدلال شد که افزایش سطح FSH نسبت به گروه شاهد حتی بعد از سرگیری فعالیت تخمدان به دلیل کمبود اینهیپین ناشی از کاهش ذخیره‌ی Small follicles است که فولیکول‌های Ovulatory از بین آن‌ها انتخاب می‌شوند و این کاهش ذخیره‌ی فولیکولی ناشی از ایسکمی بافتی در حین پیوند می‌باشد (۵). مطالعه‌ی دیگری که در سال ۱۹۹۹ در بر روی گوسفندان انجام شد نشان داد که سطح FSH و LH در گروه اتوترانسپلانت همانند گروه بدون تخمدان می‌باشد که می‌تواند ناشی

به طور خلاصه، اگر چه به نظر می‌رسد اتوترانسپلانت تخمدان بدون پایه‌ی عروقی می‌تواند به عنوان یکی از روش‌های حفظ باروری در موارد نارسایی زودرس تخمدان در نظر گرفته شود، اما مطالعات ایمنوهایستولوژیک تخمدان پیوندی و تحقیقات بیشتر جهت تعیین دقیق نقش اینهیپین و سایر هورمون‌های جنسی و نیز مطالعات طولانی‌تر از نظر بررسی دقیق‌تر زمان عملکرد هورمونی تخمدان و میزان بقای بافت تخمدان پیوندی پیشنهاد می‌گردد.

از ترشح مقدار کم استرادیول و اینهیپین توسط تخمدان پیوندی باشد. در این مطالعه حدود ۴ ماه بعد از انجام پیوند، کاهش چشمگیر FSH و LH در تخمدان‌ها مشاهده گردید که احتمال می‌رود به دلیل تکامل Small and large follicles باشد (۱۲). در مطالعه‌ی حاضر نیز شاید با طولانی کردن زمان مورد بررسی، تغییرات LH به صورت کاهش سطح سرمی نشان داده می‌شد که این مسأله نیاز به طولانی‌تر کردن مدت مطالعه دارد.

## References

1. Jemal A, Murray T, Samuels A, Ghafoor A, Ward E, Thun MJ. Cancer statistics, 2003. *CA Cancer J Clin* 2003; 53(1): 5-26.
2. Chatterjee R, Goldstone AH. Gonadal damage and effects on fertility in adult patients with haematological malignancy undergoing stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1996; 17(1): 5-11.
3. Wallace WH, Anderson RA, Irvine DS. Fertility preservation for young patients with cancer: who is at risk and what can be offered? *Lancet Oncol* 2005; 6(4): 209-18.
4. Barros FS, de Oliveira RM, Alves FM, Sampaio M, Geber S. Successful ovarian autotransplant with no vascular reanastomosis in rats. *Transplantation* 2008; 86(11): 1628-30.
5. Callejo J, Jáuregui MT, Valls C, Fernandez ME, Cabré S, Lailla JM. Heterotopic ovarian transplantation without vascular pedicle in syngeneic Lewis rats: six-month control of estradiol and follicle-stimulating hormone concentrations after intraperitoneal and subcutaneous implants. *Fertil Steril* 1999; 72(3): 513-7.
6. Lara HE, Dees WL, Hiney JK, Dissen GA, Rivier C, Ojeda SR. Functional recovery of the developing rat ovary after transplantation: contribution of the extrinsic innervation. *Endocrinology* 1991; 129(4): 1849-60.
7. Donnez J, Dolmans MM, Demylle D, Jadoul P, Pirard C, Squifflet J, et al. Livebirth after orthotopic transplantation of cryopreserved ovarian tissue. *Lancet* 2004; 364(9443): 1405-10.
8. Meirow D, Levron J, Eldar-Geva T, Hardan I, Fridman E, Zalel Y, et al. Pregnancy after transplantation of cryopreserved ovarian tissue in a patient with ovarian failure after chemotherapy. *N Engl J Med* 2005; 353(3): 318-21.
9. Oktay K, Economos K, Kan M, Rucinski J, Veeck L, Rosenwaks Z. Endocrine function and oocyte retrieval after autologous transplantation of ovarian cortical strips to the forearm. *JAMA* 2001; 286(12): 1490-3.
10. Oktay K, Buyuk E, Veeck L, Zaninovic N, Xu K, Takeuchi T, et al. Embryo development after heterotopic transplantation of cryopreserved ovarian tissue. *Lancet* 2004; 363(9412): 837-40.
11. von Eye Corleta H, Corleta O, Capp E, Edelweiss MI. Subcutaneous autologous ovarian transplantation in Wistar rats maintains hormone secretion. *Fertil Steril* 1998; 70(1): 16-9.
12. Baird DT, Webb R, Campbell BK, Harkness LM, Gosden RG. Long-term ovarian function in sheep after ovariectomy and transplantation of autografts stored at -196 C. *Endocrinology* 1999; 140(1): 462-71.

## Ovarian Autotransplantation without Vascular Pedicle on the Region of the Neck in Female Rats

Seyedeh Zahra Alameh MD<sup>1</sup>, Sepideh Khodaei MD<sup>2</sup>, Majid Khazaei MD, PhD<sup>3</sup>

### Abstract

**Background:** Absence of method for preserving ovarian function, especially in patients with cancer, is still unsolved in reproductive medicine. The aim of this study was to evaluate the effect of ovarian autotransplantation without vascular pedicle on the region of the neck in female rats.

**Methods:** 31 female rats were divided into three groups: sham (n = 10), ovariectomized (OVx) (n = 10) and transplant (T) (n = 11). In T group, ovaries were removed and transplanted into the neck close to jugular vein. Blood samples were taken on day 0, 7 and 21 after surgery.

**Finding:** Serum estradiol levels in OVx and T groups were decreased in day 7. The estradiol levels increased on day 21 in T group while in OVx group was decreased further. Serum FSH level in OVx group not in T group was significantly increased after day 7. Serum LH level on 7 and 21 days after surgery was increased in OVx and T groups.

**Conclusion:** It seems that ovarian autotransplant to the region of the neck without vascular pedicle maintains hormone secretion; however, it needs more study to validate this method.

**Keywords:** Autotransplant, Fertility, Ovary.

<sup>1</sup> Associate Professor, Department of Obstetrics and Gynecology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.

<sup>2</sup> Resident, Department of Obstetrics and Gynecology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.

<sup>3</sup> Associate Professor, Department of Physiology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.

**Corresponding Author:** Majid Khazaei MD, PhD Email: Khazaei@med.mui.ac.ir