مقاله تحقیقی

ارزیابی روند تغییرات فعالیت اسید فسفاتاز آندومتر موش پس از تحریک تخمک‌گذاری طی دوران ابتدای بارداری طبیعی و کاذب تا زمان لانه‌گزینی

مریم نظم بجنوردی M.Sc.*، مژده صالح نیا Ph.D.*، عبدالامیر علامه Ph.D.*

* دانشکده پزشکی دانشگاه تربیت مدرس

تاریخ وصول: آذرماه ۸۴، تاریخ پذیرش: بهمن‌ماه ۸۴

چکیده

هدف: بررسی الگوی تغییرات فعالیت این آنزیم در رحم موش پس از تحریک تخمک‌گذاری با استفاده از تزریق گنادوتروپینهای (Pregnant More Serum Gonadotropin) PMSG و (human Chorionic Gonadotropin) hCG نسبت به گروه شاهد طی دوران ابتدای بارداری طبیعی و کاذب

مواد و روشها: در این مطالعه که یک تحقیق تجربی است، برای رسیدن به هدف فوق موشهای ماده نژاد NMRI با سن بین ۱۰-۶ هفته انتخاب و به‌طور تصادفی به دو گروه شاهد و تحریک شده تقسیم شدند. سپس هر گروه نیز به دو گروه باردار به روش طبیعی و باردار کاذب تقسیم شدند. برای القای بارداری کاذب از تحریک مکانیکی واژن استفاده شد. در هر گروه روزانه ۵ سر موش از روز اول تا ششم به طریق جابه‌جایی مهره‌های گردنی کشته شدند و به منظور ارزیابیهای بیوشیمیایی، نمونه‌هایی از شاخهای رحم آنها جدا و پس از هموژن و سانتریفوژ کردن با دور g ۱٤۰۰۰استخراج بافتی در معرض سوبسترای پارانیتروفنیل فسفات قرارگرفت و فعالیت آنزیم برحسب U/dl محاسبه و پس از تعیین مقدار پروتئین نمونه‌ها، فعالیت اختصاصی ACP (Acid Phosphatase) برحسب واحد U/mg محاسبه شد. در بررسیهای هیستوشیمیایی نیز نمونه‌هایی به‌طور مشابه از یک سوم میانی یکی از شاخهای رحم انتخاب شد و با استفاده از دستگاه کرایوستات، برشهایی به ضخامت ۵ میکرومتر تهیه شد. سپس برشها، طبق روش گوموری، رنگ‌آمیزی شدند.

یافته‌ها: یافته‌های به‌دست آمده نشان داد که تغییرات فعالیت آنزیم رحم در مطالعات بیوشیمیایی با نتایج به‌دست آمده در بررسیهای هیستوشیمیایی در کلیه گروهها مطابقت دارد. روند تغییرات فعالیت اختصاصی آنزیم ACP در نمونه‌های بافتی رحم تقریباً در کلیه گروهها از روز اول تا چهارم افزایش و پس از آن کاهش داشت.همچنین تفاوت معنی‌داری بین گروههای کنترل و تحریک شده مشاهده نشد. تغییرات شدت واکنش آنزیم در سلولهای اپی‌تلیال سطحی و غددی آندومتر بیشتر بود. فعالیت آنزیم در بخش میومتریوم و لامیناپروپریا ثابت دیده شد.

نتیجه‌گیری: در مجموع نتایج این تحقیق نشان داد که افزایش فعالیت آنزیم اسیدفسفاتاز در روزهای سوم و چهارم بارداری مؤید نقش این آنزیم در لانه‌گزینی است، همچنین تحریک تخمک‌گذاری، نمی‌تواند باعث تغییرات مشخصی در الگوی فعالیت آنزیم ACP آندومتر طی بارداری اولیه شود. هر چند که به مطالعات بیشتری در این زمینه نیاز است.

کلیدواژه‌ها: اسیدفسفاتاز، تحریک تخمک‌گذاری، رحم، لانه‌گزینی، بارداری کاذب

آدرس مکاتبه: تهران، دانشگاه تربت مدرس، دانشکده پزشکی، گروه علوم تشریح، صندوق پستی ۱۱۱-۱٤۱۱۵

E-mail: mogde@dr.com

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

فرآیند لانه‌گزینی، یکی از پیچیده‌ترین پدیده‌های بیولوژیک در روند تولید مثل است که طی آن تروفوبلاست با بافت آندومتر مادر ارتباط نزدیکی را برقرار می‌کند [۱ و ۲]. تغییرات آنزیمی طی مراحل بارداری و به‌ویژه زمان لانه‌گزینی، در ایجاد محیط بیوشیمیایی مناسب برای پذیرش جنین نقش مهمی دارند [۳ و ٤]. تغییرات آنزیمی سیستم تناسلی توسط هورمونهای جنسی تنظیم می‌شود [۵].

یکی از مهمترین این آنزیمها، آنزیم اسیدفسفاتاز است که در لیزوزوم اکثر سلولها یافت شده و دارای نقش فاگوسیتوزی است [٦]. اسیدفسفاتاز در سلولهای اپی‌تلیوم لومینال و غده‌ای آندومتر، با نقش فاگوسیتوزی خود باعث تخریب بافت آندومتر و نفوذ جنین به داخل بافت می‌شود [۷ و ۸]. افزایش فعالیت اسید فسفاتاز در سلولهای اپی‌تلیال آندومتر در زمان لانه‌گزینی در گونه‌های مختلف پستانداران گزارش شده است و این امر می‌تواند بیانگر نقش لیزوزومی این آنزیم در فرآیند لانه‌گزینی باشد [۱۱-۹]

در زمینه تأثیر هورمونهای جنسی برفعالیت این آنزیم جلینک (Jelinek) و همکارانش در سال ۱۹۷۸ ، در آزمایشی تأثیر پروژسترون بر میزان فعالیت ACP آندومتر انسانی را با استفاده از بررسیهای بیوشیمیایی انجام داد واعلام کردندکه میزان فعالیت ACP در گروه تجربی در مقایسه با گروه کنترل افزایش می‌یابد [۱۲].

در سال ۱۹۷۹، سنگاپتا (Sengupta) و همکارانش با استفاده از بررسیهای هیستوشیمیایی، تأثیر هورمونهای تخمدانی را بر میزان فعالیت اسید فسفاتاز آندومتر در گونه‌های موش، رت و خرگوش بررسی کردند. در این تحقیق آنتاگونیستهای استروژن یعنی Nafoxidine و CI-628باعث کاهش میزان فعالیت ACP سلولهای اپی‌تلیال آندومتر در گروههای تحریک شد [۱۳].

مورفی (Murphy)، با استفاده از بررسیهای هیستوشیمیایی میزان فعالیت ACP آندومتر رت را در مراحل استروس، اواخر مرحله دی استروس و روز ششم بارداری بررسی کرد. فعالیت ACP اپی‌تلیوم لومینال و غده‌ای، افزایش مشخصی را در روز ششم بارداری و مرحله دی استروس به نسبت مرحله استروس نشان می‌دهد [١٤].

از تحقیقات انجام شده، نتیجه‌گیری می‌شود که تزریق هورمونهای استروئیدی باعث تغییر در فعالیت ACP آندومتر می‌شود و این تغییرات در مجموع بر بارداری و لانه‌گزینی تأثیرگذار است [١٥و١٦].

تزریق هورمونهای استروئیدی که در کلینیکهای ناباروری و برنامه‌های درمانی IVF، به منظور کسب تعداد زیادی تخمک انجام می‌شود می‌تواند بر شرایط بیوشیمیایی و فعالیتهای آنزیمی آندومتر و همینطور در فعالیتهای تخمک‌گذاری و ترشحی تخمدان مؤثر باشد و در مجموع شرایط مناسب برای لانه‌گزینی جنین را تحت تأثیر قرار دهد [۲۰-۱۷]. از آنجایی که تأثیر تحریک تخمک‌گذاری بر تغییرات فراساختاری و مورفولوژیکی آندومتر و کاهش درصد بارداری و لانه‌گزینی اثبات شده است [۲۳-۲۱]، بنابراین به نظر می‌رسد که این روش با تغییر فعالیتهای آنزیمی آندومتر می‌تواند بر روند بارداری و لانه‌گزینی جنین تأثیر نامطلوب داشته باشد بنابراین با توجه به اطلاعات مختصر درخصوص فعالیت ACP طی ابتدای بارداری تا زمان لانه‌گزینی و همچنین تأثیر تحریک تخمک‌گذاری بر فعالیت این آنزیم سعی شد در این تحقیق با استفاده از روش بیوشیمیایی و هیستوشیمیایی تغییرات فعالیت آنزیم ACP طی دوران ابتدای بارداری موشهای باردار طبیعی و باردار کاذب که در دو گروه تحریک شده و تحریک نشده قرار داشتند تا روز ششم بررسی شود. و به سؤالات زیر پاسخ مناسبی داده شود:

۱- روند فعالیت ACP آندومتر طی ابتدای بارداری (به‌عنوان یک مدل) تا زمان لانه‌گزینی چگونه است؟

۲- آیا تحریک تخمک‌گذاری تخمدان باعث تغییر فعالیت آنزیم ACP آندومتر طی ابتدای بارداری در مقایسه با گروه شاهد می‌شود؟

۳- آیا تفاوتی بین فعالیت آنزیم ACP آندومتر در گروههای باردار طبیعی با گروههای باردار کاذب دیده می‌شود؟

Archive of SID
www.SID.ir

مواد و روشها

در این تحقیق از موشهای سوری ماده بالغ نژاد NMRI با سن ۱۰-٦ هفته استفاده شد، گروههای مورد مطالعه شامل گروه شاهد باردار به روش طبیعی، گروه شاهد باردار کاذب، گروه تحریک شده و باردار به روش طبیعی و گروه تحریک شده و باردار کاذب بود.

به منظور تحریک تخمک‌گذاری ۱۰ واحد ، PMSG به طریق داخل صفاقی و ٤٨ ساعت بعد به همان روش ۱۰ واحد دیگر hCG تزریق شد. موشهای ماده در دو گروه تحریک شده (پس از تزریق hCG) و گروه شاهد (در ساعت پنج بعدازظهر) به‌صورت تک به تک با موش نر همنژاد خود در یک قفس قرار گرفته و صبح روز بعد برای مشاهده پلاک واژن بررسی شدند. القای بارداری کاذب در گروههای باردار کاذب توسط یک سواپ که چندین بار در دهانه واژن چرخانده شد انجام شد [٢٤].

به منظور بررسیهای کمی و کیفی فعالیت آنزیم اسید فسفاتاز به ترتیب از روشهای بیوشیمیایی و هیستوشیمیایی استفاده شد.

در روش بیوشیمیایی از ۱۲۰ رأس موش ماده نژاد NMRI استفاده شد و در هر گروه روزانه ۵ رأس موش در نظر گرفته شد و فعالیت آنزیم از روز اول تا ششم بررسی شد. جانوران به روش جابه‌جایی مهره‌های گردنی کشته شده و شاخهای رحم به‌عنوان نمونه رحمی انتخاب شد.

پس از تهیه نمونه و نگهداری آنها در ظرف یخ توسط تیغ بیستوری تا حدامکان به قطعات ریزی تقسیم شدند و به لوله آزمایشی که تقریباً دو برابر حجم نمونه بافر تریس (Tris) داشت، برای هموژن کردن منتقل شد. هموژن کردن نمونه‌ها به مدت یک دقیقه با دور ۲۰۵۰۰ در دقیقه انجام شدوبعد نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ٤° سانتی‌گراد و با دور g ۱٤۰۰۰ سانتریفوژ شدند، سوپ رویی از محلول استخراج شده و برای بررسی فعالیت آنزیم استفاده شد. فعالیت آنزیم اسید فسفاتاز با استفاده از کیت بیوشیمیایی (با شماره کاتالوگ ۵۰۳-۱۰ ساخت شرکت زیست شیمی) محاسبه شد. پروتئین کل با استفاده از کیت بیوشیمیایی (محصول شرکت شیم آنزیم) بررسی شد و در نهایت فعالیت اختصاصی آنزیم بر اساس میزان فعالیت آنزیم بر mg پروتئین محاسبه شد. داده‌های تحقیق حاضر با استفاده از برنامه آماری SPSS و آزمون Mann Whitheny محاسبه شد.

برای بررسیهای هیستوشیمیایی، بعدازنمونه گیری به طورمشابه باروش بیوشیمیایی نمونه کوچکی از یکی از شاخهای رحمی جدا شد پس از انجماد نمونه با استفاده از دستگاه کرایواستات برشهایی با ضخامت ۵ میکرون تهیه شد سپس برشها توسط استون به مدت یک دقیقه تثبیت شدند و در محلول سوبسترای پارانیتروفنیل فسفات و استات سرب به مدت ٤٥ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شدند وپس از رنگ آمیزی، لامها توسط میکروسکوپ نوری Olympus مشاهده و عکسبرداری شد. مناطقی که فعالیت آنزیم وجود داشت به شکل قهوه ای دیده شد[١٤]. به منظور تعیین حداقل فعالیت آنزیم (واکنش صفر) برشی از بافت آندومتر مطابق مراحل فوق رنگ‌آمیزی شد، با این تفاوت که نمونه‌ها به مدت یک ساعت قبل از رنگ‌آمیزی در شرایط دمایی ٦۰°سانتی‌گراد انکوبه شدند تا فعالیت آنزیم به وسلیه گرما مهار شود. همچنین برای کنترل مثبت از برشهای کبد استفاده شد. در ارزیابی میکروسکوپی نمونه‌ها، حداکثر واکنش آنزیم با ٤+ و حداقل واکنش با صفر مشخص شد و واکنشهای حدواسط به‌طور نسبی بین اعداد فوق در نظر گرفته شد. به‌منظور رنگ‌آمیزی افتراقی از هماتوکسیلین استفاده شد.

یافته‌ها

جدول ۱ نتایج حاصل از بررسیهای بیوشیمیایی اسیدفسفاتاز رحم را در گروههای مختلف نشان می‌دهد.

همانطور که مشخص است فعالیت اختصاصی آنزیم ACP در گروه شاهد باردار طبیعی در روز اول و دوم بارداری حداقل فعالیت را داشت. در روزهای سوم و چهارم به حداکثر رسید و سپس در روزهای پنجم و ششم مجدداً کاهش یافت.

حداقل و حداکثر فعالیت اختصاصی آنزیم ACP در گروه شاهد باردار کاذب به ترتیب در روزهای اول و چهارم بارداری

Archive of SID

www.SID.ir

مشاهده شد. علاوه بر این آنالیز آماری فعالیت اختصاصی آنزیم در روزهای مختلف در گروه شاهد باردار کاذب و مقایسه آن با گروه شاهد باردار طبیعی، تفاوت معنی‌داری را از لحاظ آماری نشان نداد (جدول۱).

افزایش فعالیت اختصاصی آنزیم بود که این افزایش فقط در روز اول بارداری اختلاف معنی‌داری از نظر آماری داشت (P<0.05) (جدول۱).

مقایسه فعالیت اختصاصی آنزیم در گروه تحریک شده و

جدول ۱. میانگین و مقایسه روزانه فعالیت اختصاصی آنزیم اسیدفسفاتاز (U/mg) در نمونه‌های استخراج بافتی رحمی در گروههای تحریک شده وتحریک نشده

روز بارداری / گروههای مورد مطالعه	روز اول Mean±SD	روز دوم Mean±SD	روز سوم Mean±SD	روز چهارم Mean±SD	روز پنجم Mean±SD	روز ششم Mean±SD
شاهد باردار طبیعی	۰/۷۶ ± ۰/۱۲	۰/۷۸ ± ۰/۱۷	۱/۸۵ ± ۰/۴۲	۱/۸۸ ± ۰/۴۹	۰/۹۲ ± ۰/۱۶	۱/۰۸ ± ۰/۱۶
شاهد باردار کاذب	۰/۸۱ ± ۰/۰۶۵	/۹۰ ± ۰/۲۸	۱/۷۷ ± ۰/۴۴	۱/۹۳ ± ۰/۳۶	۱/۲۲ ± ۰/۴۷	۱/۲۶ ± ۰/۲۹
تحریک شده باردار طبیعی	۱/۰۵ ± ۰/۰۶ a	/۹۹ ± ۰/۱۸	۲/۰۵ ± ۰/۳۲	۲/۱۵ ± ۰/۴۰	۱/۰۲ ± ۰/۲۲	۱/۲۴ ± ۰/۳۲
تحریک شده باردار کاذب	۱/۲۹ ± ۰/۰۶ b, c	۱/۲۹ ± ۰/۳۱	۲/۰۱ ± ۰/۳۶	۲/۰۸ ± ۰/۴۱	۱/۳۱ ± ۰/۳۶	۱/۳۰ ± ۰/۳۳

a: وجود اختلاف معنی دار با گروه شاهد، باردار طبیعی

b: وجود اختلاف معنی دار با گروه شاهد باردار کاذب

c: وجود اختلاف معنی دار با گروه تحریک شده و باردار طبیعی

در گروه تحریک شده و باردار به روش طبیعی فعالیت اختصاصی آنزیم در روز چهارم بارداری حداکثر فعالیت را نشان داد.

مقایسه آماری فعالیت اختصاصی آنزیم در گروههای تحریک شده و باردار به روش طبیعی با گروه شاهد باردار طبیعی نشان داد که فعالیت اختصاصی آنزیم در گروههای تحریک شده، افزایش یافته ولی این افزایش فقط در روز اول بارداری اختلاف معنی‌داری از لحاظ آماری دارد (P<0.05) (جدول۱).

یافته‌های جدول ۱ نشان می‌دهد که فعالیت اختصاصی آنزیم در گروه تحریک شده و باردار کاذب از روز اول تا چهارم به‌طور خطی دچار افزایش شده و پس از آن کاهش می‌یابد. مقایسه آماری فعالیت اختصاصی آنزیم در گروههای تحریک شده باردار کاذب با گروه شاهد باردار کاذب نشان دهنده

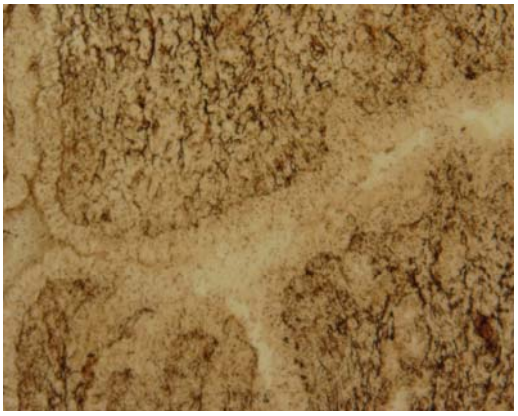
باردار به روش طبیعی با گروه تحریک شده باردار کاذب، اختلاف معنی‌داری را در روز اول بارداری نشان داد (P<0.05) (جدول۱).

نتایج حاصل از مطالعه هیستوآنزیمولوژی،نشان دادکه آنزیم ACP در اپی‌تلیوم سطحی و غددی، لامیناپروپریا و میومتریوم فعالیت دارد. فعالیت آنزیم در اپی‌تلیوم سطحی گروه شاهد باردار به روش طبیعی از روز اول تا ششم افزایش داشت (شکل ۱). حداقل و حداکثر واکنش در روز سوم بین ۲+ و ۳+ مشاهده شد. دامنه تغییرات واکنش آنزیم در اپی‌تلیوم غددی بین ۰ و ۳+ متغیر بود، شدت واکنش آنزیم در تمام روزها با اپی‌تلیوم سطحی مشابه بود که خلاصه‌ای از این نتایج در جدول ۲ آورده شده است. محدوده تغییرات واکنش آنزیم

Archive of SID
www.SID.ir

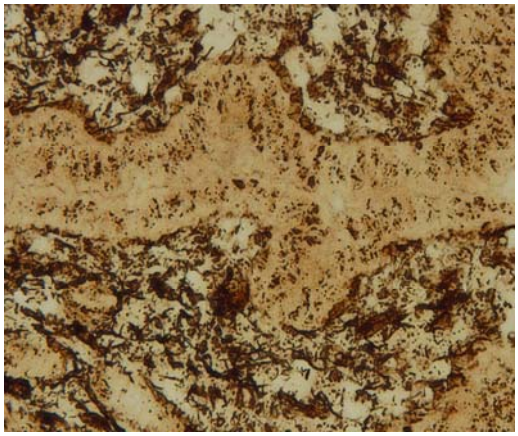
گروه شاهد باردار کاذب در روز چهارم بین ۲+ و ۳+ متغیر بود و ۸۰درصد نمونه‌ها حداکثر واکنش را نشان دادند. در اپی‌تلیوم غددی شدت فعالیت آنزیم مشابه با اپی‌تلیوم سطحی بود (جدول۲ و شکل ۲).

شکل۱. تصویر آندومتر رحم موش، گروه شاهد باردار طبیعی در روز اول. پس از رنگ‌آمیزی هیستوشیمیایی اسید فسفاتاز فعالیت آنزیم به شکل نقاط قهوه ای در بخش بازال سلولهای اپی تلیالی لومینال و غده ای قابل مشاهده است بزرگنمایی: ۱۰۰×



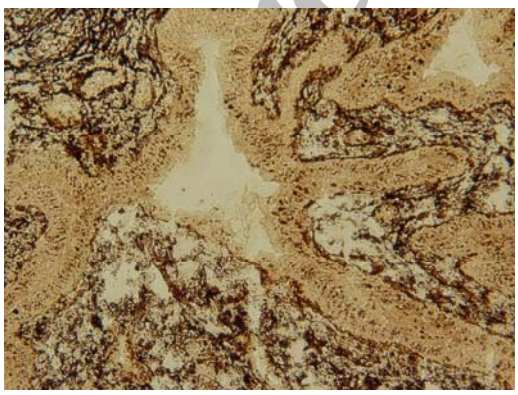
شکل۲ . تصویر آندومتر رحم موش، گروه شاهد باردار کاذب در روز پنجم. پس از رنگ آمیزی هیستوشیمیایی اسید فسفاتاز فعالیت آنزیم به شکل نقاط قهوه ای در بخش بازال سلولهای اپی تلیالی لومینال و غده ای قابل مشاهده است بزرگنمایی: ۱۰۰×

طیف وسیعی از تغییرات فعالیت آنزیم در اپی‌تلیوم سطحی گروه تحریک شده باردار به روش طبیعی مشاهده شد (۱+ تا ٤+) و در روز چهارم حداکثر شدت واکنش (٤+) در ۸۰ درصد از نمونه‌ها مشاهده شد. الگوی تغییرات واکنش آنزیم در اپی‌تلیوم غددی در کلیه روزها با اپی‌تلیوم سطحی مشابه بود (جدول ۲ و شکل ۳).



شکل۳. تصویر آندومتر رحم موش، گروه باردار طبیعی در روز سوم . پس از رنگ آمیزی هیستوشیمیایی اسید فسفاتاز فعالیت آنزیم به شکل نقاط قهوه ای در بخش بازال سلولهای اپی تلیالی لومینال و غده ای قابل مشاهده است بزرگنمایی: ۱۰۰×

دامنه تغییرات شدت واکنش آنزیم اپی‌تلیوم سطحی در گروه تحریک شده باردار کاذب در روز چهارم بین ۳+ و ٤+ مشاهده شد به‌طوری که ۸۰ درصد از نمونه‌ها واکنش ٤+ داشتند. دامنه تغییرات شدت واکنش آنزیم در اپی‌تلیوم غددی بین ۰ و ٤+ متغیر بود و با اپی‌تلیوم سطحی مشابه بود (جدول۲ و شکل ٤). در تمام نمونه‌ها، واکنش آنزیم در لامیناپروپریا و میومتریوم حداکثر شدت را نشان داد (٤+).



شکل٤. تصویر آندومتر رحم موش، گروه شاهد باردار طبیعی در روز دوم. پس از رنگ آمیزی هیستوشیمیایی اسید فسفاتاز فعالیت آنزیم به شکل نقاط قهوه ای در بخش بازال سلولهای اپی تلیالی لومینال و غده‌ای قابل مشاهده است بزرگنمایی: ۱۰۰×

www.SID.ir

جدول ۲. ارزیابی شدت واکنش آنزیم اسید فسفاتاز آندومتر، از روز اول تا ششم در گروههای مورد نظر

گروههای مورد مطالعه	جایگاه فعالیت آنزیم / روز	اپی تلیوم سطحی		اپی تلیوم غددی	
		حداقل واکنش (درصد) *	حداکثر واکنش(درصد)	حداقل واکنش(درصد)	حداکثر واکنش(درصد)
شاهد باردار طبیعی	روز اول	۰ (۶۰)	+۱ (۴۰)	۰ (۶۰)	+۱ (۶۰)
شاهد باردار کاذب		۰ (۶۰)	+۱ (۴۰)	۰ (۶۰)	+۱ (۴۰)
تحریک باردار طبیعی		+۱ (۴۰)	+۲ (۶۰)	+۱ (۶۰)	+۲ (۴۰)
تحریک باردار کاذب		+۱ (۲۰)	+۲ (۸۰)	+۱ (۴۰)	+۲ (۶۰)
شاهد باردار طبیعی	روز دوم	۰ (۲۰)	+۱ (۸۰)	۰ (۴۰)	+۱ (۶۰)
شاهد باردار کاذب		۰ (۴۰)	+۱ (۶۰)	۰ (۴۰)	+۱ (۶۰)
تحریک باردار طبیعی		+۱ (۴۰)	+۲ (۶۰)	+۱ (۶۰)	+۲ (۴۰)
تحریک باردار کاذب		+۱ (۲۰)	+۲ (۸۰)	+۱ (۴۰)	+۲ (۶۰)
شاهد باردار طبیعی	روز سوم	+۲ (۴۰)	+۳ (۶۰)	+۲ (۶۰)	+۳ (۴۰)
شاهد باردار کاذب		+۲ (۴۰)	+۳ (۶۰)	+۲ (۲۰)	+۳ (۸۰)
تحریک باردار طبیعی		+۲ (۲۰)	+۳ (۸۰)	+۲ (۴۰)	+۳ (۶۰)
تحریک باردار کاذب		+۲ (۲۰)	+۳ (۸۰)	+۲ (۲۰)	+۳ (۸۰)
شاهد باردار طبیعی	روز چهارم	+۲ (۲۰)	+۳ (۸۰)	+۲ (۴۰)	+۳ (۶۰)
شاهد باردار کاذب		+۲ (۲۰)	+۳ (۸۰)	+۲ (۴۰)	+۳ (۶۰)
تحریک باردار طبیعی		+۳ (۲۰)	+٤ (۸۰)	+۳ (۲۰)	+٤ (۸۰)
تحریک باردار کاذب		+۳ (۲۰)	+٤ (۸۰)	+۲ (۲۰)	+۳ (۸۰)
شاهد باردار طبیعی	روز پنجم	+۱ (۸۰)	+۲ (۲۰)	+۱ (۸۰)	+۲ (۲۰)
شاهد باردار کاذب		+۱ (۴۰)	+۲ (۶۰)	+۱ (۴۰)	+۲ (۶۰)
تحریک باردار طبیعی		+۱ (۶۰)	+۲ (۴۰)	+۱ (۸۰)	+۲ (۲۰)
تحریک باردار کاذب		+۱ (۲۰)	+۲ (۸۰)	+۱ (۴۰)	+۲ (۶۰)
شاهد باردار طبیعی	روز ششم	+۱ (۴۰)	+۲ (۶۰)	+۱ (۶۰)	+۲ (۴۰)
شاهد باردار کاذب		+۱ (۲۰)	+۲ (۸۰)	+۱ (۴۰)	+۲ (۶۰)
تحریک باردار طبیعی		+۱ (۲۰)	+۲(۸۰)	+۱ (۴۰)	+۲ (۶۰)
تحریک باردار کاذب		+۱ (۲۰)	+۲ (۸۰)	+۱ (۴۰)	+۲ (۶۰)

* درصد شدت واکنش در برشهای بافتی هر گروه در همان روز محاسبه شد.

بحث

یافته‌های این تحقیق نشان داد که در گروههای شاهد باردار طبیعی و شاهد باردار کاذب حداکثر فعالیت آنزیم حوالی زمان لانه‌گزینی که همزمان با روز چهارم است دیده می‌شود. افزایش فعالیت آنزیم ACP در حوالی زمان لانه‌گزینی نشانگر اهمیت آن در پروسه لانه‌گزینی است.

آنزیم اسیدفسفاتاز با شرکت در آندوسیتوز و پینوسیتوز درتغذیه جنین شرکت می کند. در همین ارتباط شواهد مختلفی وجود دارد که در زمان لانه‌گزینی جوندگان فعالیت آنزیمهای لیزوزومی افزایش یافته و حتی تعداد لیزوزومها افزایش می‌یابد [۲۵].

نتایج بررسیهای هیستوشیمیایی مورفی (Murphy)، نشان داد که آنزیم اسید فسفاتاز اپی‌تلیوم سطحی و غده‌ای افزایش مشخصی را در روز ششم بارداری دارد [۱٤].

همچنین در زمان لانه‌گزینی بعضی از سلولهای بافت آندومتر تخریب می شوند تا جنین خود را نزدیک به عروق

Archive of SID
www.SID.ir

خونی آندومتر برساند و بنابراین فعالیت آنزیمهای لیزوزومی افزایش می‌یابد. نتایج تحقیق کاتز (Katz) نشان داد که افزایش فعالیت آنزیم ACP در زمان لانه‌گزینی می‌تواند بیانگر نقش این آنزیم در فرآیند فوق باشد، به‌طوری که این آنزیم باتخریب سلولهای دسیدوایی مجاور جنین، باعث نفوذ آن به داخل بافت آندومتر می‌شود [۲۶]

از سوی دیگر؛ فعالیت آنزیمهای آندومتر، اصولاً توسط عوامل مختلفی مثل استروژن، پروژسترون، پروستاگلاندین E2 و cAMP کنترل می شود. پروستاگلاندین و cAMP که در سلولهای دسیدوایی شده آندومتر در زمان لانه‌گزینی، افزایش می‌یابد می‌تواند یکی از علل افزایش فعالیت ACP در این مرحله باشد.

از سوی دیگر با توجه به اینکه تغییرات pH داخل لیزوزوم به‌وسیله پمپهای پروتونی (H+) کنترل می‌شود [۱٤]، بنابراین افزایش پروژسترون در زمان لانه‌گزینی، هم باعث افزایش تعداد و هم باعث افزایش فعالیت پمپهای پروتونی غشای لیزوزومها شده و فعالیت آنزیم اسیدفسفاتاز را افزایش

می‌دهد [۱٤]. یافته‌های هیستوشیمی تحقیق حاضر نشان داد که شدت رنگ حاصل از فعالیت آنزیم در اپی‌تلیوم سطحی بیشتر از اپی‌تلیوم غده‌ای بوده که این امر می‌تواند به علت نیاز به تخریب بیشتر اپی‌تلیوم لومینال به هنگام لانه‌گزینی جنین به داخل آندومتر باشد [۱٤].همچنین یافته های این تحقیق نشان دادکه در دو گروه شاهد باردار به روش طبیعی و شاهد باردار کاذب الگوی فعالیت آنزیم یکسان بود و مقایسه روزانه فعالیت آنزیم بین این دو گروه تفاوت معنی‌داری نداشت. پس می‌توان نتیجه گرفت که پس از القای بارداری کاذب و تشکیل سلولهای دسیدوما، شرایط بیوشیمیایی و فعالیت آنزیم ACP سلولهای اپی‌تلیال آندومتر تفاوت چندانی را با شرایط بارداری طبیعی نشان نمی‌دهد.

مقایسه بین گروه تحریک باردار به روش طبیعی و شاهد باردار به روش طبیعی و گروه تحریک باردار کاذب با شاهد باردار کاذب نشان دادکه گرچه فعالیت آنزیم در گروههای تحریک شده در مقایسه با گروههای شاهد بیشتر بود، اما به جز روز اول این تفاوت از لحاظ آماری معنی‌دار نبود و الگوی تغییرات مشابهی باگروههای شاهدخودنشان دادند. یعنی در حوالی لانه‌گزینی معادل روزهای ۳ و ٤ افزایش داشت و در روزهای دیگر از میزان فعالیت آنزیم کاسته شد که توجیه افزایش در روزهای سوم و چهارم (زمان لانه‌گزینی)، قبلا بیان شد.

در مجموع یافته‌های تحقیق حاضر نشان داد که فعالیت آنزیم اسیدفسفاتاز رحم در روزهای سوم و چهارم بارداری (معادل زمان لانه‌گزینی) افزایش می‌یابد و این امر می‌تواند مؤید اهمیت این آنزیم در فرایند لانه‌گزینی باشد. همچنین علی‌رغم وجود تغییرات فعالیت آنزیم درگروههای تحریک شده نسبت به گروههای تحریک نشده، تحریک تخمک‌گذاری نمی‌تواند تغییرات معنی‌داری را در فعالیت آنزیم ACP و الگوی فعالیت آن در مرحله پیش از لانه‌گزینی ایجاد کند.

Archive of SID

References

1. **Brayman M, Thathiah A, Carson D**. MUCI: a multifunctional cell surface component of reproductive tissue epithelial. Reprod Biol 2004; 2: 4-8.
2. **Aplin JD**. The cell biological basis of human implantation. Obstet Gynecol 2000; 14: 757-764.
3. **Cheema R, Dhanju CK, Matharoo JS**. Response related enzymatic changes in ovaries of superovulated mice. Exp Biol 2003; 41(2): 171-173.
4. **Tsiligiann TH, Karagiannidis A, Saratsis P, Brikas P**. Enzyme activity in bovine cervical mucus during spontaneous and induced estrus. J Vet Res 2003; 67: 189-193.
5. **Duran R, Diaz F, Castillo S, Hicks J**. Nuclear

www.SID.ir

presence of two lysosomal enzymes in rat implantation sites. Int J Menop Stud 1994; 39(5): 299-303.

6. **Zamiri MJ**. Acid and Alkalkine phosphatase in histologically defined arease of the sheep uterus and placenta. Aus J Sci 1980; 33: 549-55.
7. **Beckman G, Beckman L, Lofstrand T**. Acid and alkaline phosphatase in amniotic fluid in normal and complicated pregnancy. Act Obstet Gynccol 1978; 57: 1-5.
8. **Li TC, Rogers A, Dockery P**. A new method of histologic dating of human endometrium in the luteal phase. Fertil Steril 1988; 50: 52-56.
9. **Kennedy TG**. Prostaglandins and uterine sensitization for decidual cell reaction. Ann N Y Acad Sci 1986; 476: 73.
10. **Bull H, Murray P, Thomas D, Fraser A, Nelson P**. Acid phosphatase. J Clin Pathol 2002; 55: 65-72.
11. **Tsiligiann TH, Karagiannidis A, Saratsis P, Brikas P**. Enzyme activity in bovine cervical mucus during spontaneous and induced estrus. J Vet Res 2003; 67: 189-193.
12. **Jelinek J, Ylikorkala O, Jelinkova M, Jarvinen P, Alapessa U**. Effect of endogenous and exogenous progestrone on human endometrial enzymes. Int J Fertil 1978; 23(1): 31-37.
13. **Sengupta J, Roy SK, Manchanda SK**. Hormonal control of implantation: A possible role of lysosomal function in the embryo-uterus interaction. J Steroid Biochem 1979; 11: 729-744.
14. **Murphy CR, Krik T**. Changes in intralysosomal environment in the uterine epithelium during early pregnancy in the rat. Acta Histochem 1990; 89: 167-172.
15. **Wang I, Fraster I, Barsamian S, Monconi F, Street D, Cornillie F, Beach D, Peretz B**. Endometrial lysosomal enzyme activity in ovulatory dysfunctional uterine bleeding, IUCD users and post-partum women. Mol Human Reprod 2000; 6(3): 258-263.
16. **Lindenbaum E, Beach D, Peretz B**. Ultrastructural localization of alkaline and acid phosphatase in the human fallopian tube epithelium during the menstrual cycle. Anat Record 1982; 203: 67-72.
17. **Krajni M, Lenhardt L, Valocky L, Cigankova V, Kostecky M, Maragek I**. Activity of alkaline and acid phosphatase and non specific esterase in the endometrium and oviduct of post partum does. Biol Reprod 1997; 36: 211-225.
18. **Tavanioton A, Albano A, Smitz J, Devroey P**. Impact of ovarian stimulation on corpus luteum function and embryonic implantation. J Reprod Immunol 2002; 55: 123-30.
19. **Krik AT, Murphy CR**. Increase in lysosomal numbers and activity in the rat uterine luminal and glandular epithelial during early pregnancy: A histochemical study. Acta Anat 1991; 141: 63-69.
20. **Kudlac E, Studencik B**. Glycogen content and the activity of alkaline and acid phosphatase and lactate dehydrogenase in the sow endometrium during the sexual cycle. Vet Med 1975; 20(3): 153-9.
21. **Sengupta J, Ghosh D**. A comparative study of endometrial acid phosphatase activity in the mid-luteal phase of the menstrual cycle and in the peri-implantation stage in the Rhesus monkey (Macaca mulatta). J Endocrinol 1988; 116: 7-9.
22. **Banos ME, Rosales AM, Ballesteros LM, Hrnandez O, Rosado A**. Changes in lysosomal enzyme activities in pre-ovulatory follicles and endometrium of PMSG superovulated rats. Arch Med Res 1996; 27(1): 49-55.
23. **Sengupta J, Roy SK, Manchanda SK**. Hormonal control of implantation: A possible role of lysosomal function in the embryo-uterus interaction. J Steroid Biochem 1979; 11: 729-744.
24. **Emadi SM, Salehnia M**. Localization and activity of mouse endometrial alkaline phosphatase after hyperstimulation and progesterone injection at the

Archive of SID
www.SID.ir