

An Investigation of Biochemical and Structural Changes in Reproductive System Hyperandrogenism in Experimental Letrozole-induced Polycystic Ovary Syndrome in Rat

Azam Soleimani^{1*}, Mohammad Saleh Rasoli², Reza Heidari¹, Abbas Ahmadi³

¹Department of Biology,
Faculty of Sciences, Urmia
University, Urmia, Iran.

²Department of Food
Industry, Faculty of
Agriculture, Saba University,
Urmia, Iran.

³Faculty of Veterinary
Medicine, Urmia University,
Urmia, Iran.

*Corresponding Author:
Azam Soleimani,
Department of Biology,
Faculty of Sciences, Urmia
University, Urmia, Iran.

Email:
azam.soleimani87@gmail.com

Received: 28 Sep, 2015

Accepted: 5 Nov, 2015

Abstract

Background and Objectives: Polycystic ovary syndrome (PCOS) is one of the most important endocrine disorders, which affects about 5-10% of women in reproductive age and is one of the main causes of infertility due to anovulation. In this study, the effect of letrozole was investigated on serum levels of testosterone and estradiol hormones and body and ovarian weight.

Methods: This experimental study was carried out on 20 adult female Wistar rats (180-200 g) in 2 groups. The first group (control) received 0.2 ml of distilled water (solvent) and the second group (hyperandrogenism) received letrozole through gavage at a dose of 1 mg/kg bw for 21 days. At the end of this period, 6 mice of each group were randomly selected and sacrificed for hormonal studies. In the first step, blood samples were taken from the animals' heart and centrifuged to prepare serum samples; also, uterine samples were prepared. The serum levels of testosterone and estradiol were measured by ELISA method. Data analysis was performed using independent t test. The significance level was considered $p < 0.05$.

Results: According to the obtained results, the concentration of testosterone, body weight, and ovarian weight significantly increased in the group receiving Letrozole compared to the control group ($p < 0.05$).

Conclusion: The results of this study showed that letrozole as a non-steroidal aromatase inhibitor, blocks the conversion of testosterone into estradiol, and increases serum testosterone levels, also causes increase in body weight and ovarian weight.

Keywords: Polycystic Ovary Syndrome; Hyperandrogenism; Weights ovary; Body weights and measures; Letrazol.

بررسی تغییرات بیوشیمیایی و ساختاری دستگاه تناسلی هایپرآندروژنیسم سندرم تخمدان پلی کیستیک تجربی القا شده با لتروزول در موش صحرایی

اعظم سلیمانی^{۱*}، محمد صالح رسولی^۲، رضا حیدری^۱، عباس احمدی^۳

چکیده

زمینه و هدف: سندرم تخمدان پلی کیستیک (PCOS) یکی از مهم ترین اختلالات آندوکرینی است که در حدود ۱۰-۵٪ زنان را در سنین تولیدمثل تحت تأثیر قرار می دهد. همچنین این سندرم یکی از مهم ترین علل ناباروری ناشی از عدم تخمک گذاری می باشد. در این مطالعه اثر لتروزول بر روی هورمون های تستوسترون، استرادیول سرم، وزن بدن و تخمدان بررسی گردید.

روش بررسی: این مطالعه تجربی بر روی ۲۰ سر موش صحرایی ماده بالغ نژاد ویستار (وزن ۲۰۰-۱۸۰ گرم)، در قالب ۲ گروه انجام شد. گروه اول (کنترل)، ۰/۲ میلی لیتر آب مقطر (حلال) و گروه دوم (هایپرآندروژنیسم) لتروزول را با دوز ۱ میلی گرم بر کیلوگرم به صورت گاواژ و به مدت ۲۱ روز دریافت کردند. بعد از پایان دوره، از هر گروه، ۶ قطعه موش به طور تصادفی، انتخاب و جهت مطالعات هورمونی کشته شدند. در اولین اقدام، از قلب حیوانات خونگیری به عمل آمد و نمونه های سرمی تهیه و سانتیفریژ شدند، همچنین نمونه های رحم نیز تهیه گردید. در مطالعات سرمی، میزان تستوسترون و استرادیول به روش ELISA اندازه گیری شد. برای آنالیز داده ها از آزمون تی مستقل استفاده گردید. سطح معنی داری، $p < 0/05$ در نظر گرفته شد.

یافته ها: با توجه به نتایج به دست آمده میزان غلظت هورمون تستوسترون، وزن بدن و تخمدان در گروه های دریافت کننده لتروزول در مقایسه با گروه کنترل، به طور معنی داری افزایش یافت ($p < 0/05$).

نتیجه گیری: نتایج این مطالعه نشان داد لتروزول به عنوان یک مهارکننده غیراستروئیدی آروماتاز، بلوکه کننده تبدیل تستوسترون به استرادیول بوده و باعث افزایش سطح سرمی هورمون تستوسترون، همچنین باعث افزایش وزن تخمدان و بدن می شود.

کلید واژه ها: سندرم تخمدان پلی کیستیک؛ هایپرآندروژنیسم؛ وزن تخمدان؛ وزن بدن و اندازه گیری؛ لتروزول.

^۱گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

^۲گروه صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صبا، ارومیه، ایران.

^۳دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

*نویسنده مسئول مکاتبات:

اعظم سلیمانی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران؛

آدرس پست الکترونیکی:
azam.soleimani87@gmail.com

تاریخ دریافت: ۹۵/۷/۷

تاریخ پذیرش: ۹۵/۹/۱۵

لطفاً به این مقاله به صورت زیر استناد نمایید:

Soleimani A, Rasoli MS, Heidari R, Ahmadi A. An investigation of biochemical and structural changes in reproductive system hyperandrogenism in experimental letrozole-induced polycystic ovary syndrome in rat. Qom Univ Med Sci J 2016;10(8):9-17. [Full Text in Persian]

مقدمه

سندرم تخمدان پلی کیستیک، در ۱۰-۵٪ از جمعیت زنان رخ می‌دهد و ممکن است یکی از دلایل اصلی ناباروری باشد. کیست‌های تخمدانی، ساختارهایی حاوی مایع فولیکولی هستند و توسط لایه نازکی از سلول‌های گرانولوزا در تخمدان احاطه شده که در نتیجه عدم تعادل هورمون‌ها می‌باشد (۱). کیست‌های تخمدانی با علائمی مانند هایپراآندروژنیسم، عدم تخمک‌گذاری، افزایش استرومای تخمدان، کیست‌های فولیکولی، چاقی و اختلالات قاعدگی مشخص می‌شوند (۲).

در بیماران دچار PCOS به‌طور معمول افزایش غلظت LH، کاهش غلظت FSH و افزایش کیست‌های تخمدان دیده می‌شود (۱). شواهدی در ارتباط با بیماری‌های قلبی آترواسکلروتیک و افزایش چربی، فشارخون، چاقی و تری‌گلیسرید در زنان PCOS وجود دارد. بنابراین، در زنان PCOS، شیوع بالایی از دیابت غیروابسته به انسولین و بیماری قلبی دیده می‌شود (۳). در بیش از ۵۰٪ از زنان مبتلا به PCOS، مقاومت به انسولین نیز وجود دارد. شیوع چاقی در زنان PCOS از مکانی به مکان دیگر در کشورها متغیر است که به احتمال زیاد در ارتباط با بیماری متابولیک می‌باشد. تستوسترون نیز ممکن است از طریق حساسیت انسولین بر تعدادی از انواع بافت‌ها و سلول‌ها تأثیر بگذارد. بنابراین، تستوسترون جذب گلوکز در بافت چربی ماده را کاهش می‌دهد (۴). در ۸۰-۶۰٪ بیماران مبتلا به این سندرم، افزایش آندروژن خونی دیده می‌شود. البته باید یادآور شد علت این افزایش دقیقاً مشخص نیست. محققان و پزشکان بالینی نیز هنوز کاملاً مطمئن نیستند با اندازه‌گیری کدام یک از خانواده آندروژن‌ها و یا استفاده از کدام تکنیک اندازه‌گیری می‌توان افزایش آندروژن خون را تأیید کرد (۵). اما در حال حاضر اصلی‌ترین مورد، اندازه‌گیری تستوسترون آزاد خون است؛ چراکه در زنان PCOS، اکثر مقادیر این عضو خانواده آندروژن‌ها، بالا می‌باشد (۶). سندرم تخمدان پلی کیستیک (PCOS)، یک اختلال ناهمگن است که با افزایش آندروژن در خون (HA)، اختلال در تخمک‌گذاری و ریخت‌شناسی تخمدان کیستیک توصیف می‌شود. این سندرم یک بیماری پیچیده شامل طیف زیادی از یافته‌های بالینی است که به‌علل گوناگونی ظهور پیدا می‌کند.

دوگونه معیار برای تشخیص این سندرم معرفی شده است: اولین معیار مربوط به کنگره مرکز ملی ایالات متحده در سال ۱۹۹۰ بوده که برای نامگذاری یک سندرم به‌نام PCOS در یک زن بیمار، شرایط زیر باید به ترتیب اهمیت وجود داشته باشد: HA، تخمک‌گذاری نامنظم و عدم تطابق علائم بالینی با یک بیماری شناخته‌شده (۷)؛ دومین معیار مربوط به نشست انجمن تولیدمثل و جنین‌شناسی اروپا و انجمن تولیدمثلی امریکا بوده که در روتردام برگزار گردید و در آن برای نامگذاری PCOS برای یک زن بیمار دو شرط از سه شرط زیر باید وجود داشته باشد: عدم تخمک‌گذاری یا بی‌نظمی در آن، نشانه‌های بالینی یا بیوشیمیایی که نشان‌دهنده HA باشد و بیمارانی با اختلال تخمک‌گذاری یا تخمدان کیستیک (PCO)؛ درحالی‌که هیچ مدرکی دال بر وجود آن نباشد (۸). در این تصمیم دو گروه به جمع بیماران PCOS (شامل بیماران با HA همراه با PCO و بیماران با اختلال تخمک‌گذاری و بدون HA) پیوستند، اما هنوز پذیرش این مسئله که افراد بدون وجود علائمی از HA درون گروه PCOS قرار بگیرند، مورد بحث است (۹). همچنین در مطالعه بالینی بر روی زنان PCOS بدون HA، علائم بالینی متابولیک خاصی مشاهده نشده است (۱۰). در یک مطالعه دیگر، HA اصلی‌ترین مشکل بیوشیمیایی موجود در زنان مبتلا به PCOS عنوان شده است (۱۱). از لتروزول به‌عنوان یک بازدارنده غیراستروئیدی آروماتاز برای تولید هایپراآندروژنیسم آندروژنوس استفاده می‌شود (۱۲). در موش ماده، لتروزول موجب اختلال در سیکل استروس و افزایش وزن تخمدان می‌شود، درحالی‌که هرکدام دارای چندین کیست لایه سلولی نازک گرانولوزا لایه سلولی ضخیم تکا می‌باشند. همچنین لتروزول می‌تواند باعث افزایش سطح گنادوتروپین‌ها، تستوسترون و کاهش سطح استروژن شود. این مطالعه با هدف تأثیر لتروزول در جلوگیری از آسیب‌های ناشی از هایپراآندروژنیسم ایجادشده در اثر PCOS تجربی در مدل موش صحرایی انجام شد.

روش بررسی

در این تحقیق تجربی، از ۲۰ سر موش صحرایی ماده بالغ نژاد ویستار ۸-۶ هفته‌ای (وزن ۱۸۰-۲۰۰ گرم) جهت ایجاد

جهت بررسی‌های هورمونی در دمای ۷۰- درجه سانتیگراد نگهداری شد. پس از مراحل کشتن رت‌ها با کلروفرم، خونگیری و برش دادن پوست ناحیه شکمی؛ اقدام به خارج کردن تخمدان‌ها و جداسازی چربی‌های زائد و لوله‌های اوویداکت از آنها شد. درنهایت، وزن تخمدان‌ها با ترازوی حساس اندازه‌گیری شد. همچنین به منظور تغییرات متابولیک در حیوانات دو گروه کنترل و تیمار، وزن و تغییرات مشاهده‌شده با هم مقایسه گردید. نتایج به دست آمده به صورت میانگین \pm انحراف معیار ارائه شد. داده‌ها به کمک نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ و آزمون تست تی مستقل با ضریب اطمینان $p < 0/05$ تجزیه و تحلیل شدند.

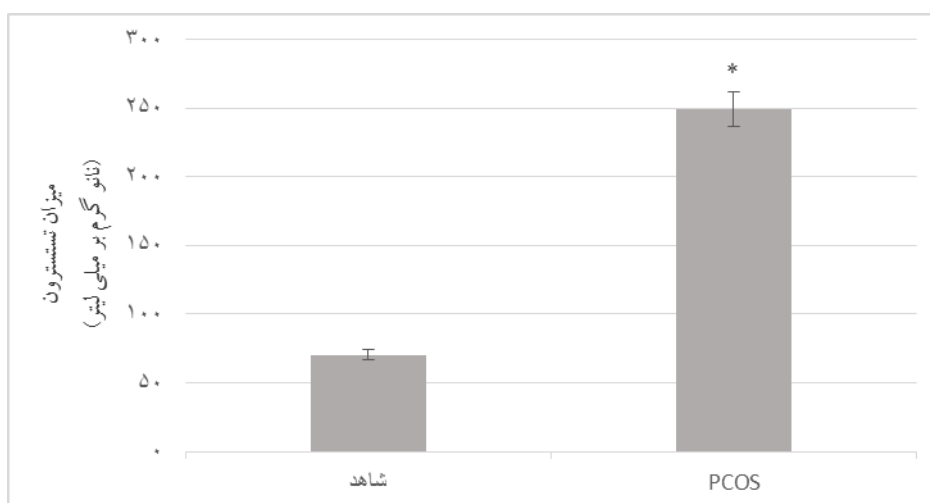
یافته‌ها

در نتیجه القای سندرم، میزان هورمون‌های تستوسترون و استرادیول دچار تغییرات زیادی گردید، به طوری که میزان تستوسترون در گروه PCOS ($434/3 \pm 24/87$) در مقایسه با گروه کنترل ($70/3 \pm 3/41$)، به صورت معنی‌داری افزایش یافت ($p < 0/05$)، همچنین میزان استرادیول، کاهش معنی‌داری در گروه PCOS ($11/9 \pm 1/08$) در مقایسه با گروه کنترل ($31/5 \pm 1/84$) داشت ($p < 0/05$). بدین ترتیب افزایش معنی‌دار میزان آندروژن‌ها و در پی آن کاهش میزان استروژن‌ها سبب بروز علائم مورفولوژیک در این سندرم گردید ($p < 0/05$) (نمودار شماره ۱ و ۲). همچنین افزایش معنی‌داری در وزن تخمدان‌های گروه PCOS ($0/057 \pm 0/017$) نسبت به گروه کنترل ($0/04 \pm 0/012$) مشاهده شد ($p < 0/05$) (نمودار شماره ۳). علاوه بر افزایش معنی‌دار در میزان وزن بدن در گروه PCOS نسبت به گروه کنترل، میزان چربی‌های محوطه شکمی نیز به صورت ماکروسکوپی افزایش یافتند ($p < 0/05$) (نمودار شماره ۴).

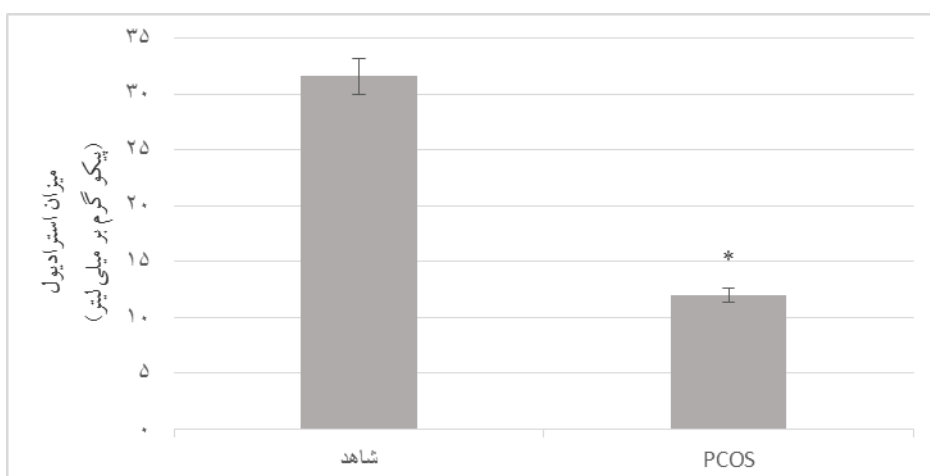
هایپرآندروژنیسم تجربی استفاده گردید. این حیوانات تحت شرایط استاندارد (۱۲ ساعت روشنایی، ۱۲ ساعت تاریکی و درجه حرارت 22 ± 2 درجه سانتیگراد) نگهداری شدند. موش‌ها هر روز توسط غذای مخصوص تغذیه می‌شدند و آب به میزان نیاز در دسترس آنها قرار می‌گرفت. تمامی حیوانات پس از گروه‌بندی به مدت ۲ هفته، به منظور حذف عامل استرس و آدابته‌شدن، در شرایط استاندارد نگهداری شدند.

۲۰ سر موش صحرایی ماده به دو گروه به شرح زیر تقسیم شدند: ۱- گروه کنترل شامل: موش‌هایی که به آنها $0/2$ میلی‌لیتر آب مقطر و بعد از ۲ ساعت $0/4$ میلی‌لیتر آب به صورت خوراکی با سوند گاواژ به مدت ۲۱ روز داده شد و ۲- گروه هایپرآندروژنیسم شامل: موش‌های که با داروی لتروزول (دوز ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم، حل‌شده در $0/2$ میلی‌لیتر آب مقطر)، به مدت ۲۱ روز گاواژ شدند.

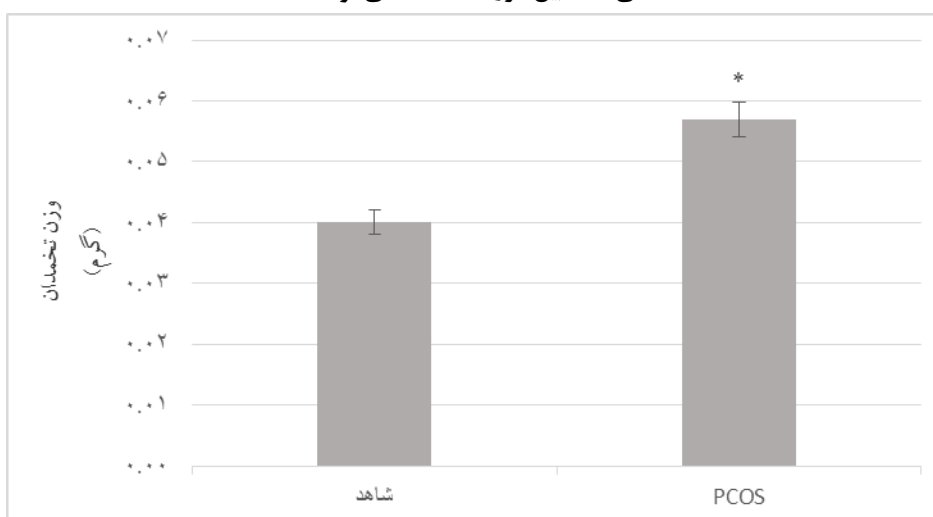
برای ایجاد هایپرآندروژنیسم تجربی، موش‌های صحرایی ماده ۶-۸ هفته‌ای، روزانه با لتروزول (دوز ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم، ساخت شرکت داروسازی سها حل‌شده در $0/2$ میلی‌لیتر) به مدت ۲۱ روز گاواژ شدند. این دارو به صورت پودر، هر ۴ روز یک‌بار به میزان لازم در آب مقطر کافی به وسیله دستگاه سونیکاتور حل شده و در یخچال نگهداری می‌شد. یک ساعت پس از گاواژ، غذا در اختیار حیوان قرار می‌گرفت. در ابتدای دوره برای حصول اطمینان از سالم بودن سیکل جنسی، اسمیر واژینال به مدت ۴ روز، تهیه و با میکروسکوپ نوری بررسی می‌شد و در صورت سالم بودن، به صورت تصادفی در گروه‌ها قرار می‌گرفت (۱۳). افزایش میزان مایع فولیکولی و استروما سبب افزایش وزن تخمدان در نمونه‌های گروه‌های تیمار گردید. پس از نمونه‌گیری خونی از رگ حیوانات همه گروه‌ها، سرم خون جمع‌آوری و



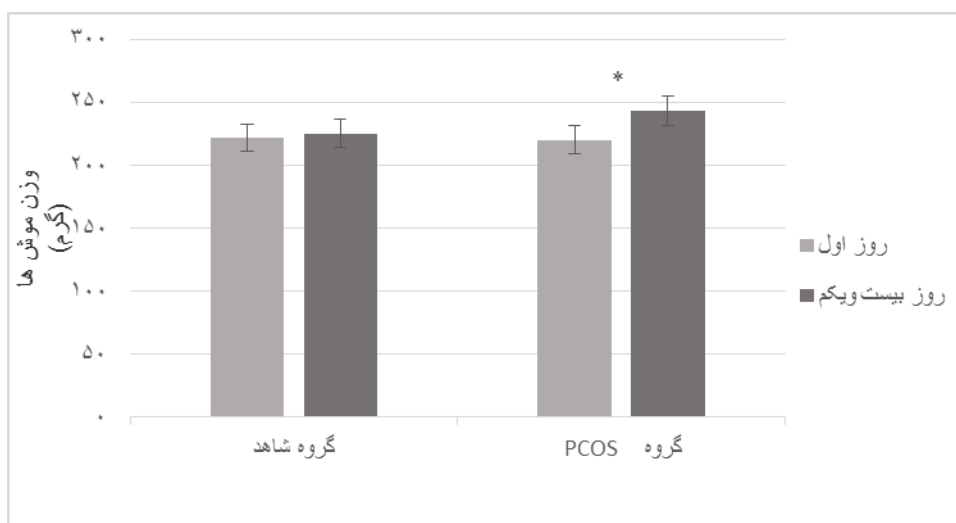
نمودار شماره ۱: میزان میانگین تستوسترون سرمی بین گروه‌های شاهد و لتروزول در موش‌ها. اختلاف معنی‌داری بین گروه‌ها مشاهده می‌شود ($p < 0.05$).



نمودار شماره ۲: میزان میانگین استرادیول سرمی بین گروه‌های شاهد و لتروزول در موش‌ها. اختلاف معنی‌داری بین گروه‌ها مشاهده می‌شود ($p < 0.05$).



نمودار شماره ۳: میزان وزن تخمدان بین گروه‌های شاهد و لتروزول در موش‌ها. اختلاف معنی‌داری بین گروه‌ها دیده می‌شود ($p < 0.05$).



نمودار شماره ۴: میزان اختلاف میانگین وزن بین گروه لتروزول و شاهد در موش ها.

اختلاف معنی داری دیده می شود ($p < 0/05$).

بحث

امروزه، با افزایش روزافزون ناباروری در زنان و مردان، مشکلات متعددی در سطح دنیا دیده می شود. در جامعه ما این مشکلات در زنان، نمود بیشتری دارد؛ اگرچه مشکل ناباروری در مردان نیز وجود دارد. در این میان، اختلالات هورمونی از جمله بیماری هایی است که در هر دوره ای از زندگی می تواند بروز کرده و تأثیر منفی بر عملکرد دستگاه تناسلی زنان داشته باشد. سندرم تخمدان پلی کیستیک (PCOS) نیز به عنوان یکی از عوامل ناباروری در سطح جامعه، ۱۰-۵٪ زنان را در سن تولیدمثل درگیر می کند. اهمیت این سندرم از چندین جهت قابل توجه است: اینکه مهم ترین اختلال هورمونی است که زنان را درگیر کرده و به عنوان یک سندرم، علل متفاوت و ناشناخته ای در بروز آن نقش دارند، همچنین علائم بالینی و شدت آن نیز در بیماران مختلف، متفاوت است. البته مطالعات زیادی برای یافتن علل آن صورت گرفته، اما همچنان چهره غامض خویش را حفظ کرده است (۱۴). درمان سندرم تخمدان پلی کیستیک به علت اتیولوژی ناشناخته و بروز سایر علائم کلینیکی، کار مشکلی است. بنابراین، گاهی فقط به درمان علائم ثانویه چون پرمویی بسنده می شود، اما برای درمان آن، شناخت کامل فاکتورهای مختلف مؤثر در بیماری مهم است تا علائم بیشتری بهبود یابند (۱۵). همچنین در زنان با تستوسترون بالا، استرس اکسیداتیو افزایش می یابد (۱۶)، به طوری که Belgorosky و همکاران در مطالعه خود، کاهش فعالیت SOD را در تخمدان و سرم موش های

هایپرآندروژن نشان دادند، ولی تغییری در مقادیر GSH مشاهده نکردند (۱۷). میزان رادیکال های آزاد اکسیژن که بر اثر افزایش آندروژن در تخمدان زنان مبتلا بالا می رود، می تواند انتشار یافته و با عبور از غشای سلولی، انواع زیادی از مولکول های سلول از جمله لیپیدها، پروتئین ها و اسیدهای نوکلئیک را تغییر دهد (۱۸). اثرات تخریبی رادیکال های آزاد به وسیله سیستم درون سلولی مانند GSH، ویتامین C و آنزیم هایی مانند سوپراکسید دیسموتاز مهار می گردد. در این سندرم به علت افزایش LH، کاهش FSH و به طور کلی عدم تعادل هورمونی، محور هیپوتالاموسی-هیپوفیزی-تخمدانی دچار مشکل شده و با وجود تحریک به تخمک گذاری به وسیله PMSG و یا HCG در روند IVF، بسیاری از موش ها تخمک گذاری نمی کنند. در این مطالعه، میزان تستوسترون سرم گروه هایپرآندروژن، افزایش معنی داری نسبت به سایر گروه ها داشت.

لتروزول بدون تأثیر بر فعالیت گیرنده های انسولین (برخلاف سایر مدل های سندرم)، گلوکز خون را افزایش نمی دهد و یا مقاومت به گلوکز ایجاد نمی کند (۱۹)، اما علاوه بر تأثیر لتروزول در جلوگیری از عملکرد آروماتاز، آندروژن نیز باعث افزایش میزان چربی داخل صفاقی در موش های اخته می شود. گرچه خود تستوسترون چنین تأثیری نداشته و سایر اعضای این خانواده باعث افزایش چربی می شوند (۲۰). در مطالعه حاضر، القای PCOS با داروی لتروزول موجب افزایش معنی داری در سطح سرمی هورمون تستوسترون و کاهش معنی داری در هورمون استرادیول،

بیان آنزیم‌های کلیدی $\alpha 17$ -هیدروکسیلاز و 17β -لیاز و آنزیم برش‌دهنده زنجیره جانبی کلسترول که آنزیم‌های کلیدی درگیر در مسیر بیوستنز آندروژن‌ها هستند، می‌باشد (۲۸، ۱۴). انسولین فعالیت آنزیم 17β -آلفا هیدروکسیلاز را که عهده‌دار مرحله‌ای از تولید آندروستندیون از پروژسترون در سلول‌های تک است افزایش می‌دهد. همچنین تولید آندروژن به واسطه LH و IGF1 را فعال کرده و تستوسترون آزاد، تولید SHBG و پروتئین متصل‌شونده به IGF1 را کاهش می‌دهد (۲۹). آندروژن‌ها از دیگر عوامل خارجی متأثرکننده تخمدان در سندرم تخمدان پلی کیستیک هستند. افزایش آندروژن‌های خون، جزء اختلالات رایج در PCOS است. این امر در ابتدا به وسیله فاکتورهای بسیاری آغاز شده و به وسیله تداخل‌کننده‌های بیشتر با منشأ آدرنال و بافت چربی به میزان کمتر در عملکرد تخمدان، تداخل ایجاد می‌کنند. افزایش سطح آندروژن‌های بیواکتیو آزاد در گردش خون ممکن است ناشی از افزایش مستقیم در سطح تولیدات تخمدانی و یا مهار سنتز گلوبین متصل‌شونده به هورمون‌های جنسی توسط کبد در بیماران دارای سندرم تخمدان پلی کیستیک همراه با مقاومت انسولینی باشد. بالابودن غلظت آندروژن در مایع فولیکولی با بالا رفتن سطح سرمی LH در ارتباط است که ممکن است تکامل فولیکول غالب را بلوک کرده و سبب توقف فولیکولی و دژنراسیون شود. همچنین در مطالعات این موضوع عنوان شده است که سطح بالای آندروژن ممکن است تأثیر منفی بر توانایی تکاملی اووسیت داشته باشد (۳۳-۳۰).

در مطالعه حاضر موش‌های تحت درمان با لتروزول نسبت به گروه کنترل، وزن بیشتری پیدا کردند، و هنگامی که وزن تخمدان‌های گروه PCOS با گروه کنترل مقایسه گردید، تخمدان‌های گروه PCOS، افزایش وزن قابل توجهی را نشان دادند. در این مطالعه وزن رت و تخمدان نیز افزایش یافت. علاوه بر آن، کاهش تستوسترون و افزایش استرادیول نیز مشاهده شد.

نتیجه گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان داد به‌طور کلی لتروزول به‌عنوان یک مهارکننده غیراستروئیدی آروماتاز، بلوکه‌کننده تبدیل تستوسترون به استرادیول است که باعث افزایش سطح سرمی هورمون

همچنین افزایش معنی‌دار وزن بدن و تخمدان در گروه PCOS نسبت به گروه کنترل گردید. اگرچه در مطالعات قبلی، موش‌ها به‌طور پیوسته در معرض لتروزول بوده‌اند، ولی با این وجود افزایش سطح بالای تستوسترون، اختلال متابولیکی گسترده‌ای نداشته است، به‌نظر می‌رسد غلظت آندروژن‌ها برای به‌وجود آوردن تغییرات متابولیک مهم است. بنابراین، در مطالعات قبلی دوز بالای لتروزول ممکن است به‌طور کامل آروماتیزه کردن آندروژن‌ها را بلوکه کرده باشد. حدود ۵۰٪ از زنان PCOS، دارای اضافه وزن هستند. همچنین مطالعات پیشین نشان می‌دهد وزن بدن با مقادیر لتروزول افزایش می‌یابد (۱۲). غلظت تستوسترون در حال گردش نیز در نتیجه افزایش تولید آندروژن‌ها به‌وسیله تخمدان، بالا می‌رود. در زنان PCOS، منشأ اولیه تولید آندروژن‌ها سلول‌های تکای تخمدان است (۲۱). بنابراین، انتظار می‌رود غلظت استرادیول پلاسما به‌علت بلوک آروماتاسیون تستوسترون به استرادیول و مهار آروماتاز سیتوکروم P450 که مسئول تولید استرادیول است کاهش یابد و تولید بیش از اندازه NO نیز از طریق مهار ترشح آندروستیندون باعث اثرات منفی روی استروئیدوزنر شود (۲۲، ۲۳). جالب توجه است که استرادیول در اثر آپوپتوزیس ناشی از استرس اکسیداتیو (Oxidative Stress) در سلول‌های گرانولوزا قبل از تخمک‌گذاری فولیکول‌های گوسفندی در شرایط آزمایشگاهی، کاهش نشان می‌دهد (۲۴). همچنین غلظت استرادیول در فولیکول‌های استرس اکسیداتیو نیز پایین است (۲۵). تشکیل فولیکول‌های کیستیک و آترزی انحطاط فولیکول‌ها، در اثر لتروزول افزایش می‌یابد که مدرک خوبی برپایه علمی است و نشان می‌دهد آنتی‌اکسیدان‌ها دارای اثرهای حفاظتی و درمانی در اختلالات مرتبط با استرس اکسیداتیو بوده و سلنیوم نیز به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان و عنصر ضروری، سلول را از استرس اکسیداتیو حفظ می‌کند (۲۶، ۲۷). مطالعات بر روی سلول‌های تازه جداشده بافت تکا یا محیطی از سلول‌های محیطی (تکا) مشتق‌شده از زنان نرمال و PCOS نشان می‌دهد سلول‌های محیطی در افراد مبتلا به PCOS، مقدار آندروژن ترشحی بیشتری نسبت به بافت‌ها یا سلول‌های زنان با تخمک‌گذاری منظم دارند. افزایش بیوستنز آندروژن‌ها در سلول‌های محیطی (تکا) در افراد مبتلا به PCOS در نتیجه افزایش

تستوسترون، همچنین باعث افزایش وزن تخمدان و بدن می گردد.

References:

1. Sasikla SL, Shamiha S. Unique rat model exhibiting biochemical fluctuations of letrozole induced polycystic ovary syndrome and subsequent treatment with allopathic and Ayurvedic medicines. *J Cell Tissue Res* 2009;9(3):2013-17.
2. Rezvanfar M, Ahmadi A, Shojaei-Saadi H, Baeeri M, Abdollahi M. Molecular mechanisms of a novel selenium-based complementary medicine which confers protection against hyperandrogenism-induced polycystic ovary. *Theriogenology* 2012;78(3):620-31.
3. Gencer M, Gazi E, Hacivelioglu S, Binnetoglu E, Barutcu A, Turkon H, et al. The relationship between subclinical cardiovascular disease and lipocalin-2 levels in women with PCOS. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2014;181:99-103.
4. Lefevre J, McClintock Mk. Reproductive senescence in female rats: A longitudinal study of individual differences in estrous cycles and behavior. *Biol Reprod* 1988;38(4):780-9.
5. Barth JH, Field HP, Yasmin E, Balen AH. Defining hyperandrogenism in polycystic ovary syndrome: measurement of testosterone and androstenedione by liquid chromatography-tandem mass spectrometry and analysis by receiver operator characteristic plots. *Eur J Endocrinol* 2010;162(3):611-5.
6. Teede H, Deeks A, Moran L. Polycystic ovary syndrome: A complex condition with psychological, reproductive and metabolic manifestations that impacts on health across the lifespan. *BMC Med* 2010;8(1):41.
7. Zawdaski JK, Dunaif A. Diagnostic criteria for polycystic ovary syndrome: Toward a rational approach. Boston: Blackwell Scientific Publications; 1992.
8. Hofman A, Breteler MM, Van Duijn CM, Janssen HL, Krestin GP, Kuipers EJ, et al. The Rotterdam study: 2010 objectives and design update. *Eur J Epidemiol* 2009;24(9):553-72.
9. Azziz R. Diagnostic criteria for polycystic ovary syndrome: A reappraisal. *Fertil Steril* 2005;83(5):1343-6.
10. Dewailly D, Catteau-Jonard S, Reyss AC, Leroy M, Pigny P. Oligoanovulation with polycystic ovaries but not overt hyperandrogenism. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91(10):3922-7.
11. Rosenfield RL. Ovarian and adrenal function in polycystic ovary syndrome. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1999;28(2):265-93.
12. Maliqueo M, Sun M, Johansson J, Benrick A, Labrie F, Svensson H, et al. Continuous administration of a p450 aromatase inhibitor induces polycystic ovary syndrome with a metabolic and endocrine phenotype in female rats at adult age. *Endocrinology* 2013;154(1):434-445.
13. Kafali H, Iriadam M, Ozardali I, Demir N. Letrozole-induced polycystic ovaries in the rat: A new model for cystic ovarian disease. *Arch Med Res* 2004;35(2):103-8.
14. Ledger WL. Clinical utility of measurement of anti-Müllerian hormone in reproductive endocrinology. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;95(12):5144-54.
15. Wang CC, Li L, Tang LY, Leung PC. Safety evaluation of commonly used Chinese herbal medicines during pregnancy in mice. *Hum Reprod* 2012;27(8):2448-56.
16. Hilali N, Vural M, Camuzcuoglu H, Camuzcuoglu A, Aksoy N. Increased prolidase activity and oxidative stress in PCOS. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2013;79(1):105-10.
17. Belgorosky D, Sander VA, Yorio MPD, Faletti AG, Motta AB. Hyperandrogenism alters intraovarian parameters during early folliculogenesis in mice. *Reprod Biomed Online* 2010;20(6):797-807.

18. Guerin P, El Mouatassim S, Menezo Y. Oxidative stress and protection against reactive oxygen species in the pre-implantation embryo and its surroundings. *Hum Reprod Update* 2001;7(2):175-89.
19. Mannerås L, Lystig T, Holmäng A, Ottosson-Lönn M, Stener-Victorin E. Continuous administration of dihydrotestosterone or letrozole to immature female rats results in polycystic ovary syndrome characteristics at adult age. *Am J Physiol-Regul Integr Comp Physiol* 2007;281(5):488-501.
20. Movérare-Skrtic S, Venken K, Andersson N, Lindberg MK, Svensson J, Swanson C, et al. Dihydrotestosterone treatment results in obesity and altered lipid metabolism in orchidectomized mice. *Obesity (Silver Spring)* 2006;14(4):662-72.
21. El-Shamy M, Gibreel A, Refai E, Sadek E, Ragab A. Aromatase inhibitor “letrozole” versus progestin “norethisterone” in women with simple endometrial hyperplasia without atypia: A prospective cohort trial. *Middle East Fertil Soc J* 2012;17(2):111-15.
22. Dunnam RC, Hill MJ, Lawson DM, Dunbar JC. Ovarian hormone secretory response to gonadotropins and nitric oxide following chronic nitric oxide deficiency in the rat. *Biol Reprod* 1999;60(4):959-63.
23. Van Voorhis BJ, Dunn MS, Snyder GD, Weiner CP. Nitric oxide: An autocrine regulator of human granulosa-luteal cell steroidogenesis. *Endocrinology* 1994;135(5):1799-806.
24. Lund SA, Murdoch J, Van Kirk EA, Murdoch WJ. Mitogenic and antioxidant mechanisms of estradiol action in preovulatory ovine follicles: relevance to luteal function. *Biol Reprod* 1999;61(2):388-92.
25. Seino T, Saito H, Kaneko T, Takahashi T, Kawachiya S, Kurachi H. Eight-hydroxy-2'-deoxyguanosine in granulosa cells is correlated with the quality of oocytes and embryos in an in vitro fertilization-embryo transfer program. *Fertil Steril* 2002;77(6):1184-90.
26. Abdollahi M, Rahmat-Jirdeh N, Soltaninejad K. Protection by selenium of lead-acetate-induced alterations on rat submandibular gland function. *Hum Exp Toxicol* 2001;20(1):28-33.
27. Brozmanová J, Mániková D, Vlc̃ková V, Chovanec M. Selenium: a double-edged sword for defense and offence in cancer. *Arch Toxicol* 2010;84:919 –38.
28. Cohen I. Review Aromatase inhibitors and the endometrium. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2004;18(5):755-71.
29. Van Der Spuy ZM, Dyer SJ. The pathogenesis of infertility and early pregnancy loss in polycystic ovary syndrome. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2004;18(5):755-71.
30. Nisenblast V, Norman RJ. Androgens and polycystic ovary syndrome. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2009;16(3):224-31.
31. Balen AH, Conway GS, Kaltsas G, Techatrasak K, Manning PJ, West C, et al. Polycystic ovary syndrome: The spectrum of the disorder in patients. *Hum Reprod* 1995;10(8):2107-11.
32. Kurzawa R, Ciepiela P, Baczkowski T, Safranow K, Brelik P. Comparison of embryological and clinical outcome in GnRH antagonist vs. GnRH agonist protocols for in vitro fertilization in PCOS non-obese patients. A prospective randomized study. *J Assist Reprod Genet* 2008;25(8):365-74.
33. Jabara S, Coutifaris C. In vitro fertilization in the PCOS patient: clinical considerations. *Semin Reprod Med* 2003;21(3):317-24.