مقاله پژوهشی

اثر سلول‌های بنیادی حاوی ژن TSP-1 به همراه لترازول بر میزان ROS و VEGF در سندرم تخمدان پلی‌کیستیک القاء شده توسط استرادیول والپرات در مدل رت ماده نژاد ویستار

معصومه رحیمی[۱]، مریم بنانج[۱*]، رامین حاجی‌خانی[۱]، مریم اخوان طاهری[۲]

۱- گروه زیست‌شناسی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲- گروه بافت‌شناسی و پاتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

*مسئول مکاتبات: maryambananaj@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۱/۲۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۵/۱۱

DOI: 10.22034/ascij.2024.1952846.1364

چکیده

سندرم تخمدان پلی‌کیستیک (PCOS) یک اختلال ناهمگن پیچیده‌ی ژنتیکی، اندوکرینی و متابولیکی و شایع‌ترین بیماری اندوکرین و اختلال متابولیکی در سنین باروری و مهم‌ترین علت نازایی ناشی از عدم تخمک‌گذاری در زنان محسوب می‌شود. شـواهدی متعددی مبنی بر رابطه مستقیم و نزدیک بـین التهاب سیستمیک و موضعی و میزان آنزیوژنز و PCOS وجود دارد. در این پژوهش، ۴۰ سر رت ماده نژاد ویستار در ۵ گروه موش‌های گروه کنترل، موش‌های دارای سندرم پلی‌کیستیک (با تزریق استرادیول والپروات)، موش‌های دریافت‌کننده سلول‌های بنیادی TSP-1 و موش‌های دریافت‌کننده‌ی داروی لترازول و موش‌های دریافت‌کننده‌ی همزمان سلول‌های بنیادی TSP-1 و داروی لترزازول تقسیم‌بندی شدند. سپس میزان VEGF به روش Real Time PCR و ROS به روش الیزا سنجش گردید. رت‌های ماده نژاد ویستار مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک در قیاس با گروه کنترل، افزایش میزان بیان ژن VEGF و سطح ROS بافتی را دارند که این میزان معنادار می‌باشد. بررسی نتایج حاکی از کاهش معنادار میزان بیان ژن VEGF و سطح ROS در قیاس با گروه موش‌های PCOS گردید. بیشترین کاهش در موش‌های دریافت کننده ی لترازول و به همراه سلول بنیادی حاوی TSP-1 در قیاس با دو تیمار دیگر در هر دو فاکتور VEGF و ROS دیده می‌شود. سطح ROS و VEGF با افزایش توده‌های تخمدان همراه است و از طرفی افزایش توده‌های تخمدان با ایجاد شرایط هیپوکسی، آندروژن‌ها، انسولین و AMH ممکن است که باعث افزایش مقادیر VEGF گردد.

کلمات کلیدی: سندرم تخمدان پلی‌کیستیک، سلول اندومتریال، TSP-1، لترازول.

مقدمه

سندرم تخمدان پلی‌کیستیک (PCOS) شایع‌ترین بیماری اندوکرین و اختلال متابولیکی در سنین باروری و مهم‌ترین علت نازایی ناشی از عدم تخمک گذاری در زنان محسوب می‌شود (۴) شیوع PCOS در دنیا حدود ۵ تا ۱۰ درصد گزارش شده است (۵، ۹). عوامل مختلفی در بروز این بیماری از جمله: استعداد ژنتیکی و عوامل محیطی مانند سبک زندگی، عادات غذایی، وضعیت اقتصادی و اجتماعی دخیل می‌باشند (۲۱). این سندرم بر اساس معیار روتردام، در صورت وجود حداقل دو فاکتور از موارد زیر تشخیص داده می‌شود: ۱- عدم یا کاهش تخمک‌گذاری، ۲- شواهد بالینی یا آزمایشگاهی افزایش سطوح آندروژن‌ها ۳- نمای

تخمدان پلی‌کیستیک در سونوگرافی است. این بیماری با علائمی همچون الیگومنوره، آمنوره، افزایش سطح آندروژن‌ها، چاقی، هیرسوتیسم، آکنه، افزایش غلظت تستوسترون، کاهش گلوبین باندکننده هورمون جنسی (SHBG) و افزایش LH و FSH همراه است (۷، ۲۲). شواهدی مبنی بر رابطه مستقیم و نزدیک بین التهاب سیستمیک و موضعی و PCOS وجود دارد . گزارش شده است که در بافت تخمدان مبتلا به سندرم تخمدان پلیکیستیک، پراکسیداسیون لیپیدی افزایش و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاهش می‌یابد. هیپوکسی و افزایش فاکتورهای استرس اکسیدتیو همچون ROS باعث افزایش فاکتورهای پروآنژیوژنیک و کاهش فاکتورهای آنتی‌آنژیوژنیک می‌شود و به هم خوردن این تعادل منجر به انجام فرایند رگ‌زایی می‌شود (۷، ۲۲). فرایند رگ‌زایی فرایند تشکیل عروق جدید از عروق موجود می‌باشد. در سال ۱۸۷۸، Hunter برای اولین بار از این واژه استفاده کرد (۱۰). در بزرگسالان، فرایند رگ‌زایی در حالت فیزیولوژیک مانند چرخه‌ی تولیدمثل زنان، بهبود زخم و ایسکمی دارای نقش مهمی می‌باشد (۷، ۲۲). در سیکل تولیدمثل زنان فرایند رگ‌زایی در دو فاز لوتئال و فولیکولار انجام می‌گیرد که یک فرایند ضروری جهت تأمین مواد مغذی و هورمون‌های مورد نیاز برای ساخت فولیکول، تخمک‌گذاری و تشکیل جسم زرد می‌باشد (۱). در بدن فاکتورهای پروآنژیوژنیک و آنتی-آنژیوژنیک وجود دارد. در بافت‌های نرمال فاکتورهای آنتی‌آنژیوژنیک بیشتر از فاکتورهای پروآنژیوژنیک می‌باشند بنابراین فرایند رگ‌زایی صورت نمی‌گیرد. روش‌های درمانی متعددی برای کنترل و یا درمان علامتی سندرم تخمدان پلیکیستیک مطرح شده است مانند تغییرعادت زندگی، جراحی و مصرف دارو که در حال حاضر شناخته‌شده‌ترین روش درمانی استفاده از داروهایی مانند لتروزول است. با توجه به اینکه این داروهای سنتتیک مرسوم می‌توانند باعث عوارض جانبی ناخواسته شوند، شناسایی روش‌های جدید درمانی و تهیه داروهای جایگزین دارای اهمیت زیادی است (٤). لذا امروز هم یتوان شاهد گسترش روز افزون تحقیقات در زمینه‌ی ژن درمانی و استفاده از سلول‌های بنیادی برای کاربردی کردن آنها در کشورهای مختلف جهان هستیم در این مطالعه اثر داروی شیمیایی لتروزول به همراه سلول‌های بنیادی اندومتریوم حاوی ژن آنتی‌آنژیوژنز بر سندرم تخمدان پلی‌کیستیک در مدل رت ماده نژاد ویستار بررسی گردید. سلول‌های بنیادی مزانشیمی (Mesenchymal stromal cell) سلول‌های بنیادی بالغی هستند که به دودمان مزودرمی تعلق دارند و برای اولین بار به صورت سنتی در مغز استخوان یافت شده و سلول‌های مزانشیمی مغز استخوان نامیده می‌شوند (۱۷). از جمله آنها سلول‌های مزانشیمی بنیادی مشتق از اندومتر انسانی (HEDSCs) می‌باشد که به‌راحتی، بدون جراحی و بیهوشی بدست آمده و بسیاری از مشکلات سلول‌های سلول‌های بنیادی جنینی و چندتوانی تحریک شده و سایر سلول‌های مزانشیمی را ندارند (۲، ۱۵). اثرات ضدرگ‌زایی و ضد التهابی TSP-1 بررسی گردید. بیماری Inflammatory Bowel(IBD) در مدل موشی که با اختلالات ساختمانی عروقی و فاکتورهای پیش آنژیوژنز و التهاب همراه است، TSP-1 اثرات معنی‌دار ضد رگ‌زایی و ضد التهاب را نشان داد (٦). همچنین گزارش شده است که TSP-1,2 بطور مستقیم و غیرمستقیم انتاگونیسم VEGF است. اینتگرین‌ها، CD36 و CD47 در پیشبرد رگ‌زایی دخالت دارند و CD 36 و CD47 در مهار NO (نیتریک اکسید) موثرند (۱۸).

مواد و روش‌ها

طی این تحقیق ٤٠ سر موش صحرایی ماده بالغ از نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۰۰ گرمی از انیستو پاستور تهران خریداری و در مرکز پرورش حیوانات دانشگاه آزاد اسلامی در قفس‌های مخصوص با فضای استاندارد و تحت شرایط محیطی مناسب شامل درجه حرارت و سیکل روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعته و دسترسی آزادانه به غذا و آب، به مدت دو هفته نگهداری شدند سیکل استروس توسط اسمیر واژن مورد بررسی قرار گرفت. این مطالعه دارای کد اخلاق IR.IAU.TNB.REC. 1400.117 از دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال می‌باشد. از طریق نمونه-گیری از ترشحات واژن و مشاهده سلول‌های موجود در اسمیر در زیر میکروسکوپ نوری می‌توان حیوانات را از لحاظ نظم مراحل سیکل جنسی بررسی گردیدند .برای این منظور، به‌وسیله پیپت پاستوراستریل شده مقداری سرم فیزیولوژی به همراه سلول‌های شستشو شده از دیواره رحم جمع‌آوری می‌شود و از محلول حاصل از واژن اسمیر تهیه می‌گردد. نمونه‌ها توسط میکروسکوپ نوری جهت تأیید هم سیکل شدن بررسی می‌شوند. موش‌هایی که در مرحله ی استروس سیکل تولید مثلی قرار داشتند انتخاب شدند (١٤). موش‌ها در ۵ گروه ۸ تایی بصورت تصادفی طبقه بندی شدند. گروه کنترل: شامل موش‌هایی است که در شرایط معمولی آزمایشگاه نگهداری می‌شوند هیچگونه تیماری دریافت نکردند، گروه بیمار: شامل حیواناتی است که با تزریق داخل عضلانی٤ میلی‌گرم/کیلوگرم استرادیول طی مدت ۸ هفته به سندرم پلی‌کیستیک تخمدانی مبتلا شده و به مدت ۲۸ روز، روزانه ۱ میلی‌گرم/کیلوگرم آب سالین دریافت می‌کردند (۳)، گروه تیمار اول: شامل حیواناتی است که با تزریق داخل عضلانی ٤ میلی‌گرم/کیلوگرم استرادیول طی مدت ۸ هفته به سندرم پلی‌کیستیک تخمدانی مبتلا شده و به مدت ۲۸ روز ۱ میلی‌گرم/کیلوگرم داروی لترازول بصورت داخل موضعی بصورت تک دوز دریافت کردند (۲، ۱۵)، گروه تیمار دوم: شامل حیواناتی است که با تزریق داخل عضلانی ٤ میلی‌گرم/کیلوگرم استرادیول طی مدت ۸ هفته به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک مبتلا شده و به مدت ۲۸ روز ۱ میلی‌گرم/کیلوگرم داروی لترازول بصورت گاواژی دریافت کردند (١٦). گروه تیمار سوم: شامل حیواناتی است که با تزریق داخل عضلانی ٤ میلی‌گرم/کیلوگرم استرادیول طی مدت ۸ هفته به سندرم پلی‌کیستیک تخمدانی مبتلا شده و به مدت ۲۸ روز ۵ × ۱۰۵ سلول/میکرولیتر سلول‌های بنیادی مزانشیمی بصورت داخل موضعی بصورت تک دوز دریافت کرده و روزانه ۱ میلی‌گرم/کیلوگرم داروی لترازول بصورت گاواژی دریافت نمودند (۲، ١٦).

القای سندرم پلی‌کیستیک در حیوان: استرادیول والرات به صورت آمپول از شرکت داروسازی اسوه ایران خریداری شد و در یخچال در دمای ٤ درجه سانتیگراد نگهداری شد. در این تحقیق جهت تیمار حیوانات با دوزهای مناسب دارو، به منظور القاء سندرم تخمدان پلیکیستیک، از ٤ میلی‌گرم داروی استرادیول والرات)در ویال‌های یک سیسی (به ازای هر کیلوگرم وزن بدن که در ۰/۲ میلی‌گرم روغن کنجد به عنوان حلال حل شد، استفاده گردید و به صورت عضلانی و یکبار در ناحیه پشت ران در سطح شکمی با سرنگ انسولین تزریق شد (۱۵، ۱۹).

آنالیز کمی بیان ژن VEGF: نمونه خونی جهت بررسی فعالیت ژن VEGF به روش Real-time PCR مورد استفاده قرار گرفت. جهت انجام Real-time PCR ابتدا استخراج RNA از لکوسیت‌ها با استفاده ازکیت تجاری TRIzol (پارس توس) انجام شد. سپس ساخت cDNA با استفاده از کیت (Revert Aid

First Strand cDNA Synthesis Kit) طبق دستورکارکیت cDNA سیناژن انجام شد. همچنین برای ژن مورد بررسی در این مطالعه (GAPDH ,VEGF) طراحی پرایمر (جدول ۱) شده و و در ادامه مراحل مربوط به روش Real time PCR با استفاده از سایبرگرین SYBR®Premix Ex Taq™ (TaKaRa، دالیان، چین) انجام گرفت. آنالیز داده‌های حاصله بصورت $2^{-\Delta\Delta Ct}$ است (۲۶، ۲۷).

سنجش فاکتور ROS: در پایان روز بیست و هشتم با تزریق درون صفاقی ۵۰ میلی‌گرم داروی کتامین به همراه ۲/۵ میلی‌گرم زایلازین برای ۲۰۰ گرم وزن حیوان بیهوش شدند و بافت با بافر لیز مخلوط شد، همگن شد و سانتریفیوژ شد تا مایع رویی به دست آمد. سپس سطوح ROS در سوپرناتانت‌های بافتی در سه نوبت توسط ELISA با استفاده کیت شرکت TPR و به روش الایزا سنجش گردیدند حد حساسیت برای سنجش ۲۰ pg/mL بود (۱۳، ۲۵).

آنالیز آماری: روش تجزیه و تحلیل اطلاعات نتایج به دست آمده با استفاده از تست ANOVA و TUKEY مورد ارزیابی قرار گرفت و تغییرات $p < ۰/۰۵$ معنی-دار در نظر گرفته شد. تمام آنالیزها توسط نسخه‌ی ۲۰ نرم‌افزار SPSS انجام شد.

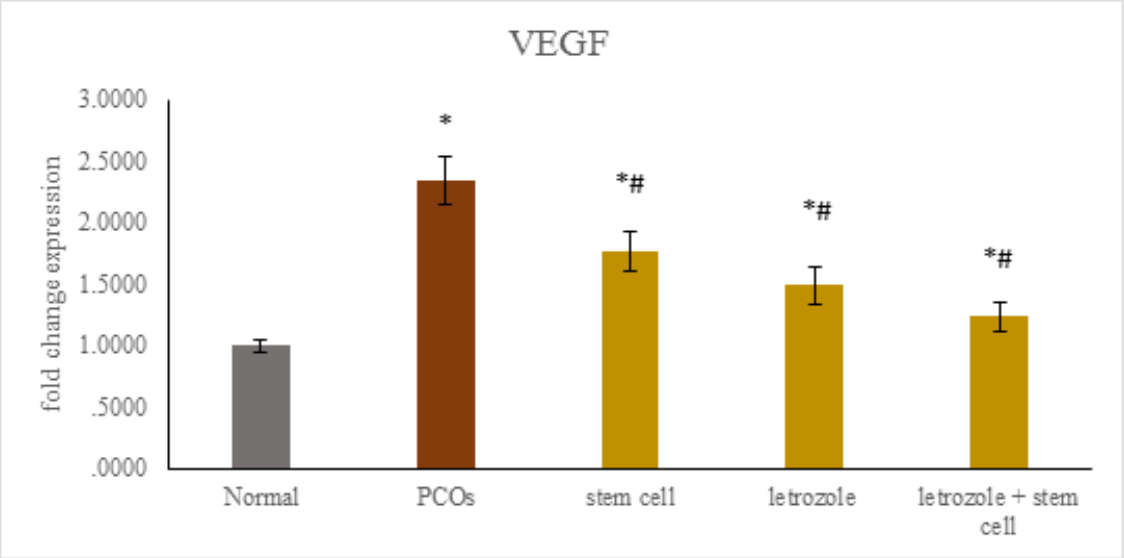
جدول ۱- پرایمرهای پیشرو و پسرو مربوط به ژن VEGF

Gene	Primer	Primer sequence	The length of the replicating fragment (bp)
VEGF	F	5′-GAGTATATCTTCAAGCCGTCCTGT-3′	221
	R	5′- ATCTGCATAGTGACGTTGCTCTC -3′	198

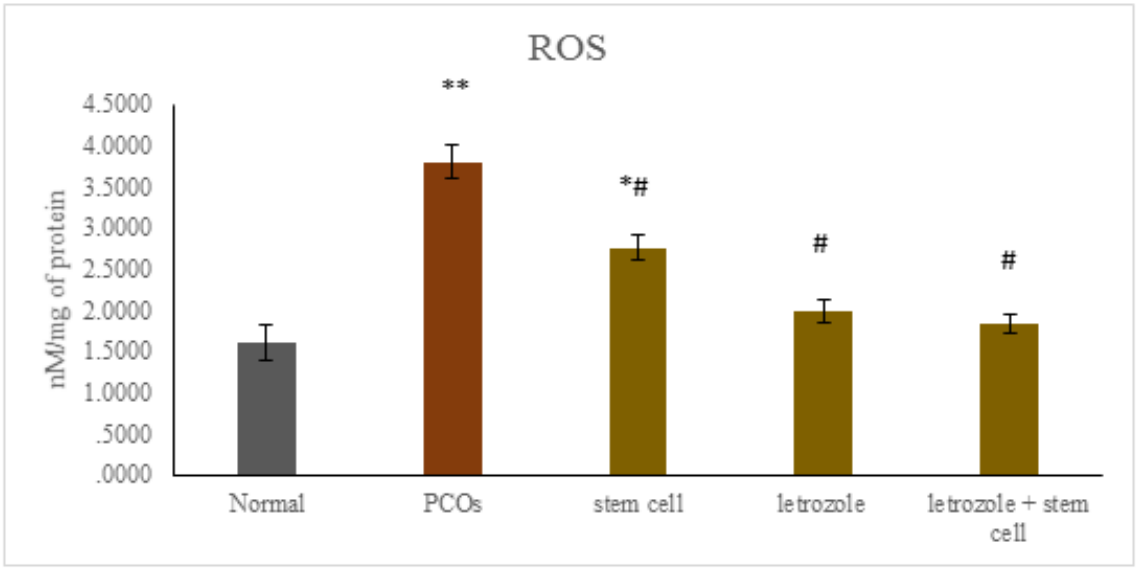
نتایج

میزان تغییرات در بیان ژن VEGF بر حسب ژن gapdh: رت‌های ماده نژاد ویستار مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک (PCOS) در قیاس با گروه کنترل، افزایش میزان بیان ژن VEGF را دارند که این میزان معنادار می‌باشد ($p < ۰/۰۵$). بررسی نتایج حاکی از کاهش معنادار میزان بیان ژن VEGF در قیاس با گروه موش‌های PCOS گردید ($p < ۰/۰۵$) که این میزان تغییرات در هر دو گروه نسبت به گروه کنترل معنادار است و بیشترین کاهش در موش‌های دریافت کننده ی لترازول و به همراه سلول بنیادی حاوی TSP-1 در قیاس با دو تیمار دیگر است ($p < ۰/۰۵$).

میزان تغییرات در فاکتور ROS : تزریق استرادیول والرات باعث افزایش معنادار فاکتور استرس اکسیداتیو ROS رت‌های ماده مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک (PCOS) نسبت به گروه کنترل گردید ($p < ۰/۰۱$). همچنین مقایسه نتایج میان گروه های تیمار شده با گروه پلاسبو حاکی از کاهش معنادار میزان ROS خصوصا در گروه‌های تیمار شده با لترازول و گروه موش‌های دریافت کننده همزمان لترازول و سلول‌های بنیادی حاوی TSP-1 در قیاس با گروه PCOS گردید ($p < ۰/۰۵$). این کاهش در هر دو گروه به شکلی است که اختلاف معناداری نسبت به گروه کنترل دارا نمی‌باشند.



نمودار ۱- اثر تیمار سلول‌های بنیادی TSP-1 و داروی لترازول بر میزان بیان ژن VEGF در رت ماده مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک (PCOS). داده‌ها به‌صورت Mean ± S.E.M نشان داده شده‌اند. *: تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل ($p < ۰/۰۵$) و #: تفاوت معنی‌دار با گروه PCOS ($p <۰/۰۵$).



نمودار ۲- اثر تیمار سلول‌های بنیادی‌های TSP-1 و داروی لترازول بر میزان ROS در رت ماده مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک (PCOS). داده‌ها به‌صورت Mean ± S.E.M نشان داده شده‌اند. *: تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل ($p < ۰/۰۵$)، **: تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل ($p <۰/۰۱$) و #: تفاوت معنی‌دار با گروه PCOS ($p <۰/۰۵$).

بحث

سندرم تخمدان پلی‌کیستیک (PCOS) یک اختلال ناهمگن پیچیده‌ی ژنتیکی، اندوکرینی و متابولیکی است که تقریباً ۵ تا ۱۲ درصد زنان در سن باروری را مبتلا به PCOS می‌کند. زنان مبتلا به PCOS گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) نقش مهمی در فرایند رگ‌زایی دارند (۱۴، ۱۲). تحقیقات کریم‌زاده و همکاران نشان داد استرادیول والرات با افزایش میزان VEGF و افزایش فاکتورهای التهابی همچون IL-6 و

COX-2 در موش‌های مبتلا PCOS نسبت به موش‌های نرمال همراه است (۱۲). مطالعات کلینیکال ترایال و تصادفی‌سازی شده نشان می‌دهد استرس اکسیداتیو التهابی عامل ترشح عوامل رگ‌زایی در مدل انسانی است به گونه‌ای که سطح عوامل رگ‌زایی مانند فاکتور رشد اندوتلیال عروقی، فاکتور رشد فیبروبلاست و آنژیوپویتین در زنان مبتلا به PCOS نست به زنان سالم بالا می‌برد. افزایش این عوامل سبب عدم تعادل در فرآیند رگ‌زایی در زنان مبتلا به PCOS می‌شود (۲۰). VEGF با تشکیل عروق خونی جدید در تخمدان بیماران مبتلا به PCOS منجر به افزایش توده‌های تخمدان می‌شود و از طرفی افزایش توده‌های تخمدان با ایجاد شرایط هیپوکسی، آندروژن-ها، انسولین و AMH ممکن است که باعث افزایش مقادیر VEGF شود (۱۱). علاوه بر این، غدد درونریز، VEGF به عنوان یک میتوژن اندوتلیال سلولی، در تخمدان بیماران مبتلا به PCOS بیش از حد بیان می‌شود گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) با فرایند رگ‌زایی در بیماران مبتلا به PCOS همبستگی مثبت دارد افزایش گونه‌های فعال اکسیژن مانند پراکسید هیدروژن شایعترین مکانیسم ایجاد فرایند رگ‌زایی در بیماران مبتلا به PCOS می‌باشد (۱۱، ۲۰). پراکسید هیدروژن با فعال کردن گیرنده‌های VEGF به طور عمده VEGFR2 و گیرنده آنژیوپویتین ۸ و گیرنده Tie2 receptor موجب فعال شدن فرایند رگ‌زایی می‌شود (۱). مطالعه ما نیز نشان می‌دهد که رابطه مستقیمی در افزایش میزان فاکتور اسرس اکسیداتیو ROS با میزان بیان ژن VEGF در موش‌های مبتلا به PCOS می‌باشد که این میزان با دریافت سلول‌های مزانشیمی اندومتریال حاوی Tsp-1 کاهش می‌یابند و این میزان کاهش در موش‌های مبتلا به PCOS معنادار می‌باشد. Tahergorabi و همکاران نشان داده شد که سطح سرمی فاکتور رشد اندوتلیال عروقی و ترومبوسپوندین-۱ با شاخص توده بدن در سندرم تخمدان پلی‌کیستیک ارتباط وجود دارد (۲۳). همچنین تحقیقات Asad Ullah نشان میدهد که داروی لترازول با کاهش فاکتور سرمی استرس اکسیداتیو ROS از پیشرفت PCOS پیشگری بعمل آمده و می‌تواند کاهش معنادار التهاب در پی مصرف لترازول مشاهده گردد (۲٤). یافته‌های حاصل از آنالیز نتایج مطالعه ما نیز نشان‌دهنده‌ی اثرات کاهش التهاب و فاکتور ROS در گروه دریافت کننده ی داروی لترازول می‌باشد. همچنین لترازول بطور معناداری در کاهش فاکتور VEGF موثر می‌باشد که این با یافته‌های ما مطابقت دارد (۸).

نتیجه‌گیری

بررسی نتایج حاکی از کاهش معنادار میزان بیان ژن VEGF و سطح ROS در قیاس با گروه موش‌های PCOS گردید. بیشترین کاهش در موش‌های دریافت کننده‌ی لترازول و به همراه سلول بنیادی حاوی TSP-1 در قیاس با دو تیمار دیگر در هر دو فاکتور VEGF و ROS دیده می‌شود. سطح ROS و VEGF با افزایش توده‌های تخمدان همراه است و از طرفی افزایش توده‌های تخمدان با ایجاد شرایط هیپوکسی، آندروژن‌ها، انسولین و AMH ممکن است که باعث افزایش مقادیر VEGF گردد.

منابع

1- Abramovich D., Irusta G., Bas D., Cataldi N.I., Parborell F., Tesone M. 2012. Angiopoietins/TIE2 system and VEGF are involved in ovarian function in a DHEA rat model of polycystic ovary syndrome. *Endocrinology*, 153(7):3446–3456.

2- BagheriMohammadi S., Alani B., Kari mian M., Moradian-Tehrani R., Noureddini M. 2019. Intranasal administration of endometrial mesenchymal stem cells as a suitable approach for

model of vascular arrest and angiogenesis renewed. *The Anatomical Record*, 229(4):453-461.

11- Kalyanaraman R., Pal L. 2021. A Narrative review of current understanding of the pathophysiology of polycystic ovary syndrome: Focus on plausible relevance of vitamin D. *International Journal of Molecular Sciences*, 22:4905.

12- Karimzadeh L., Nabiuni M., Mohseni Kouchesfehani H., Adham H., Bagheri A., Sheikholeslami A. 2013. Effect of bee venom on IL-6, COX-2 and VEGF levels in polycystic ovarian syndrome induced in Wistar rats by estradiol valerate. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*, 19:32

13- Lu H., Hu H., Yang Y., Li S.2020. The inhibition of reactive oxygen species (ROS) by antioxidants inhibits the release of an autophagy marker in ectopic endometrial cells. *Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology*, 59(2):256-261.

14- Nasaran S.N., Mokhtari M., Abedinzadeh M., Shariati M. The effect of hydroalcoholic extract of Nigella Sativa and honey on the levels of gonadotropins and sex hormones in a rat model with polycystic ovary syndrome, *Journal of Kurdistan University of Medical Sciences*, ۹-۹۹۱ (In Persian)

15- Poorgholam P., Yaghmaei, P., Noureddini M., Hajebrahimi Z. 2021. Effects of artemisinin and TSP-1-human endometrial-derived stem cells on a streptozocin-induced model of Alzheimer's disease and diabetes in Wistar rats. *Acta Neurobiologiae Experimentalis* (Wars), 81(2):141-150.

16- Reddy P.S., Begum N., Mutha S., Bakshi V. 2016. Beneficial effect of Curcumin in Letrozole induced polycystic ovary syndrome. *Asian Pacific Journal of Reproduction*, 5(2):116-122.

17- Rodríguez-Fuentes D.E., Fernández-Garza L.E., Samia-Meza J.A., Barrera-Barrera S.A., Caplan A.I., Barrera-Saldaña Parkinson's disease therapy. *Molecular Biology Reports*, 46(4):4293-4302.

3- Brawer J.R., Munoz M., Farookhi R. 1986. Development of the polycystic ovarian condition (PCOS) in the estradiol valerate-terated rate. *Biology of Reproduction*, 35:647-655.

4- Cunha A., Póvoa A.M. 2021. Infertility management in women with polycystic ovary syndrome: a review. *Porto Biomedical Journal*, 6(1):e116.

5- Escobar-Morreale HF. 2018. Polycystic ovary syndrome: definition, aetiology, diagnosis and treatment. *Nature Reviews Endocrinology*, 14:270-284.

6- Esteban S., Clemente C., Koziol A., Gonzalo P., Rius C., Martínez F., Linares P.M., Chaparro M., Urzainqui A., Andrés V., Seiki M., Gisbert J.P., Arroyo A.G. 2020. Endothelial MT1-MMP targeting limits intussusceptive angiogenesis and colitis via TSP1/nitric oxide axis. *EMBO Molecular Medicine*, 12(2):e10862.

7- Fox S.B., Gasparini G., Harris A.L. 2001. Angiogenesis: pathological, prognostic, and growth-factor pathways and their link to trial design and anticancer drugs. *The Lancet Oncology*, 2(5):278-289.

8- Haas J., Bassil R., Gonen N., Meriano J., Jurisicova A., Casper R.F. 2018. The VEGF and PEDF levels in the follicular fluid of patients co- treated with Letrozole and gonadotropins during the stimulation cycle. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 16(1):54.

9- Hornberger L.L., Schweisberger C., Sherman A., Barral R., Burgert T. 2019. Prevalence of sexual minorities among adolescents evaluated for polycystic ovary syndrome. *Journal of Pediatric and Adolescent Gynecology*, 32(2):212.

10- Hunter W.L., Arsenault A.L., Hodsman A.B. 1991. Rearrangement of the metaphyseal vasculature of the rat growth plate in rickets and rachitic reversal: a

H.A. 2021. Mesenchymal Stem Cells Current Clinical Applications: A Systematic Review. *Archives of Medical Research*, 52(1):93-101.

18- Rogers N.M., Sharifi-Sanjani M., Yao M., Ghimire K., Bienes-Martinez R., Mutchler S.M., Knupp H.E., Baust J., Novelli E.M., Ross M. 2017. TSP1–CD47 signaling is upregulated in clinical pulmonary hypertension and contributes to pulmonary arterial vasculopathy and dysfunction. *Cardiovascular Research*, 113(1):15-29.

19- Schulster A, Farookhi R, Brawer JR. 1984. Polycystic ovarian condition in esteradiol valerate treated rate: spontaneous changes in characteristic endocrine features. *Biology of Reproduction*, 31:587-93

20- Shirazi S., Pourghassem Gargari B., Izadi A., Taghizadeh S., Parizad M. 2021. Effect of vitamin E on serum levels of vascular endothelial growth factor and angiopoietin-1 in women with polycystic ovary syndrome: A pilot randomized, placebo-controlled trial. *International Journal of Fertility and Sterility*, 15(1):44-50.

21- Sood M., Zweig S.B., Tolentino M.C., Strizhevsky M., Poretsky L. 2017. Polycystic ovary syndrome. *Principles of Diabetes Mellitus*, 8(21):659-77.

22- Tal R., Seifer D.B., Arici A. 2015. The emerging role of angiogenic factor dysregulation in the pathogenesis of polycystic ovarian syndrome. *Seminars in Reproductive Medicine*, 33(3):195-207.

23- Tahergorabi Z., Salmani F., Hooshmand Jonaidabad S., Behdani B., Yazdi P., Zardast M., Moodi M. 2019. Association of serum levels of vascular endothelial growth factor and thrombospondin-1 to body mass index in polycystic ovary syndrome: a case-control study. *Obstetrics and Gynecology Science*, 62(6):420-428.

24- Ullah A., Jahan S., Razak S., Pirzada M., Ullah H., Almajwal A., Rauf N., Afsar T. 2017. Protective effects of GABA against metabolic and reproductive disturbances in letrozole induced polycystic ovarian syndrome in rats. *Journal of Ovarian Research*, 10(1):62

25- Wilcox C.S., Wang C., Wang D. 2019. Endothelin-1-induced microvascular ROS and contractility in angiotensin-II-infused mice depend on COX and TP receptors. *Antioxidants*, 8(6):193.

26- Yang L., Liu N., Zhao W., Li X., Han L., Zhang Z., Wang Y., Mao B. 2019. Angiogenic function of astragaloside IV in rats with myocardial infarction occurs via the PKD1-HDAC5-VEGF pathway. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 17: 2511-2518.

27- D., Liu L., Zhi X., Cao Y., lv G. 2011. Increased vascular endothelial growth factor (VEGF) expression in rats with spinal cord injury by transplantation of bone marrow stromal cells. *African Journal of Biotechnology*, 10(20: 4249-4255.

Effect of Stem Cells Containing TSP-1 Gene along with Letrazole on ROS and VEGF Levels in Polycystic Ovary Syndrome Induced by Estradiol Valproate in Female Wistar Rat Model

Masoumeh Rahimi[1], Maryam Bananj[1]*, Ramin Hajikhani[1], Maryam Akhavan Taheri[2]

1- Department of Biology, North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
2- Department of Histology and Pathology, Faculty of Medicine, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran

Abstract

Polycystic ovary syndrome (PCOS) is a complex genetic, endocrine and metabolic heterogeneous disorder and the most common endocrine disease and metabolic disorder in children of reproductive age and the most important cause of infertility due to ovulation in women. There is a direct and close relationship between systemic and local inflammation and the rate of angiogenesis and PCOS. Stem TSP-1 and mice receiving letrazole and mice receiving concomitant TSP-stem cells and letrazazole were categorized and VEGF was measured by Real Time PCR and ROS by ELISA. Wistar female rats with polycystic ovary syndrome (PCOS) had a significant increase in VEGF gene expression and tissue ROS levels compared to the control group, which was significant. The results showed a significant decrease in VEGF gene expression and ROS levels compared with PCOS mice. The highest reduction was observed in letrrazole-receiving mice with TSP-1-containing stem cells compared to the other two treatments in both VEGF and ROS. ROS and VEGF levels are associated with increased ovarian masses, and increased ovarian masses with hypoxia, androgens, insulin, and AMH may increase VEGF levels.

Keyword: Polycystic ovary syndrome, Endometrial cell, TSP-1, letrazole.