زیست‌شناسی جانوری، سال پانزدهم، شماره سوم، بهار ۱۴۰۲، صفحات ۱۷۱- ۱۶۳

مقاله پژوهشی

اثرات تجویز مهارکننده و تحریک‌کننده‌ی سنتز نیتریک اکساید بر ضخامت پرده شفاف (زونا پلوسیدا) فولیکول‌های تخمدان در موش‌های صحرایی باردار

سید محمدحسین نوری موگهی [۱،۲]، شبنم موثقی [۱]، عطاردالسادات مصطفوی‌نیا [۱]، مهناز نوری [۳]، زهرا نادیا شریفی [۱*]

۱- گروه علوم تشریح و علوم اعصاب شناختی، واحد علوم پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲- گروه علوم تشریح، واحد علوم پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۳- گروه زنان و مامایی، واحد شاهرود، دانشگاه آزاد اسلامی، شاهرود، ایران

*مسئول مکاتبات: zsharifi@iautmu.ac.ir

DOI: 10.22034/ascij.2022.1965036.1413

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۵/۱۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۸/۱۸

چکیده

نیتریک اکساید، در بسیاری از اندام‌های بدن پستانداران تولید شده و اثرات فیزیولوژیک و پاتولوژیک فراوانی دارد. پیش‌ساز تولید آن در بدن نام ال-آرژنین و سنتز آن توسط آنزیم نیتریک اکساید سنتتاز (NOS) بوده و مهارکننده آن ترکیب ال-نیترو آرژینین متیل استر (L-NAME) می‌باشد. در تحقیق تجربی حاضر به بررسی اثرات این مواد بر تغییر ضخامت پرده شفاف (زونا پلوسیدا) فولیکول‌های تخمدان در موش‌های صحرایی باردار می‌پردازیم. ۳۲ سر موش صحرایی بالغ نژاد ویستار، با وزن ۲۵۰-۲۰۰ گرم و سن متوسط هشت هفته انتخاب و به ٤ گروه ۸ تایی تقسیم‌بندی شدند: به جز گروه کنترل، بقیه گروه‌های باردار به ترتیب ال-آرژنین ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم، ال-نیم ۲۰ میلی‌گرم/کیلوگرم و مخلوط دو ماده مذکور با همان دوزهای مشابه طی سه روز متوالی دریافت کردند. بعد از تزریق داخل صفاقی، روز ۱۸ بارداری ابتدا موش‌ها با اتر بی‌هوش و با انجام لاپاراتومی، تخمدان‌ها خارج و پس از تهیه مقاطع بافتی، ضخامت پرده شفاف با استفاده از نرم افزار Image tools III اندازه‌گیری شد. ضخامت پرده شفاف به صورت معنی‌داری در گروه ال-آرژنین کاهش نشان داد ($p < ۰/۰۵$)، ولی اختلاف معنی‌داری بین گروه کنترل با سایر گروه‌ها و نیز بین گروه‌های ال-نیم و ال-نیم + ال-آرژنین مشاهده نشد. نیتریک اکساید می‌تواند به عنوان یک عامل مخرب در شکل‌گیری پرده شفاف مطرح و همچنین سبب اختلال در عملکرد فولیکول‌های تخمدان شود.

کلمات کلیدی: نیتریک اکساید، ال-آرژنین، ال-نیم، پرده شفاف، موش صحرایی.

مقدمه

نیتریک اکساید (NO) آندوژن در بسیاری از اندام‌های بدن تولید شده و نقش‌های عملکردی بسیار مهمی را در هر بافت ایفا می‌کند (۱۲). نیتریک اکساید سنتتاز (NOS) آنزیم تولید کننده نیتریک‌اکساید از ترکیبی به نام ال-آرژنین است و برای این منظور از مولکول اکسیژن، نیکوتین-آدنین دی‌نوکلئوتید فسفات (NADPH) و کوفاکتورهای دیگر استفاده می‌کند (۱). نیتریک اکساید سنتتاز دارای سه ایزوفرم اندوتلیال (eNOS)، نورال (nNOS) و ایندیوسیبل (iNOS) است. nNOS نیتریک اکساید سنتتاز عصبی بوده و

فقط در نورون‌ها وجود دارد (۱۵، ۲٤). نوع iNOS نیتریک اکساید سنتتاز، القایی بوده و به‌طور القایی ساخته می‌شود. سلول‌هایی که در معرض اندوتوکسین باکتریایی یا برخی توکسین‌های دیگر قرار می‌گیرند در کمتر از چند ساعت این آنزیم را تولید می‌کنند (٤). ایزومر eNOS نیتریک اکساید سنتتاز اندوتلیالی بوده و در سلول‌های اندوتلیال به‌صورت متصل به غشای پلاسمایی دیده می‌شود. عمل این آنزیم در عروق منجر به گشادی آن‌ها می‌شود (١٦).

مطالعات انجام شده نشان داده است که تخمدان موش صحرایی بالغ توانایی تولید نیتریک اکساید سنتتاز آندوتلیالی و القایی را دارد (۲۲).

نیتریک اکساید سنتتاز القایی در سلول‌های گرانولوزای فولیکول‌های اولیه و ثانویه قرار می‌گیرد و مکان اصلی تولید نیتریک اکساید می‌باشد، در حالی که نیتریک اکساید سنتتاز آندوتلیالی در رگ‌های خونی تخمدان وجود دارد. اگر تخمدان با گنادوتروپین تحریک شود هر دو ایزوفرم مذکور ظاهر شده و نقش خود را در بلوغ فولیکول و در نهایت تخمک‌گذاری ایفا می‌کنند (۵، ۱۱).

چندین عامل مهارکننده نیتریک اکساید تاکنون شناخته شده است که از آن جمله می‌توان به آنزیم ال-نیم اشاره کرد. در صورتی که این ماده در حوالی زمان تخمک‌گذاری به بورسای تخمدان رت تجویز شود جریان خون تخمدانی را کاهش می‌دهد (۱۰).

تحقیقات گوناگون بر روی نیتریک اکساید نشان دهنده اثرات گسترده آن بر بافت‌های مختلف به‌ویژه تخمدان می‌باشد.

از آن جایی که پرده شفاف ماتریکس گلیکوپروتئینی خارج سلولی احاطه کننده اووسیت در تمامی پستانداران است و قطر آن در روند پاتولوژیک می‌تواند تحت تأثیر قرار گیرد (۳، ۸، ۱۳، ۱۷)، لذا هدف از این مطالعه بررسی قطر زونا پلوسیدا پس از تجویز نیتریک اکساید و مهارکننده آن (ال-نیم) در موش صحرایی نژاد ویستار می‌باشد.

یافته‌های حاصل از این تجربه می‌تواند دانش ما را در درک اثرات تجویز مهارکننده‌ها یا القا کننده‌های تولید نیتریک‌اکساید افزایش داده و جامعه علمی را در دستیابی به نتایج مفیدی در علوم پایه و نیز در معالجات بالینی یاری کند.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش که به‌صورت تجربی به مدت یک سال در گروه آناتومی و آزمایشگاه هیستوتکنیک بخش بافت‌شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام گرفت، ۳۲ سر موش صحرایی (رت) ماده نژاد ویستار با وزنی در حدود ۲۵۰-۲۰۰ گرم و سن متوسط هشت هفته از انستیتو پاستور ایران خریداری شد. سپس در ٤ گروه هشت‌تایی (۳۲ موش ماده به اضافه ۸ سر موش نر) در یک قفس استیل و در شرایط کنترل شده از نظر نور، دما و رطوبت نگه‌داری شدند پس از انجام عمل جفت‌گیری، روز مشاهده پلاک واژینال به عنوان روز صفر حاملگی در نظر گرفته شد.

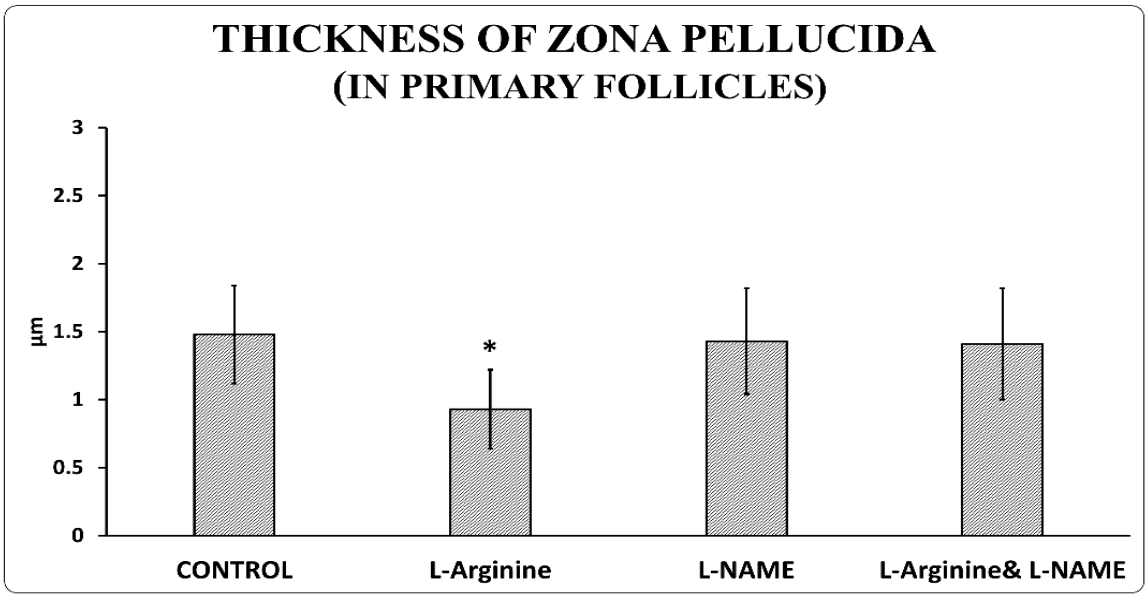
موش‌ها در ٤ گروه کنترل، ال-آرژنین، ال-نیم، ال-نیم + ال-آرژنین دسته‌بندی شدند. به جز گروه کنترل، بقیه گروه‌ها به ترتیب ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ال-آرژنین، ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ال-نیم و مخلوط دو ماده ال-نیم+ ال-آرژنین خریداری شده از شرکت سیگمای آلمان را با همان دوزهای مشابه دریافت کردند. این مواد طی سه روز متوالی (روزهای سوم، چهارم و پنجم بارداری) به صورت داخل صفاقی به موش‌ها تجویز شد. سپس در روز هجدهم حاملگی، موش‌ها پس از بیهوشی با اتر تشریح شده و تخمدان‌ها با انجام لاپاراتومی برداشته شد (۱۸، ۱۹).

سپس برای بررسی با میکروسکوپ نوری توسط دستگاه اتوتکنیکون لایکا (Lieca) ساخت آلمان پاساژ داده شدند. به منظور تهیه برش‌های عرضی مناسب، تخمدان‌ها به‌صورت محور طولی در قالب‌های پارافینی قرار داده شدند. پس از انجام مراحل آماده‌سازی بافتی، از بلوک‌های پارافینی مقاطعی به ضخامت ۵ میکرومتر و با فواصل منظم ۱۰۰ میکرومتر استفاده شد. نمونه‌های انتخاب شده به روش هماتوکسیلین-ائوزین (H&E) رنگ‌آمیزی و با میکروسکوپ نوری المپیوس (Olympus) مدل CX31 ساخت ژاپن برای مطالعات بافت‌شناسی و مورفومتریک مورد بررسی قرار گرفتند. اندازه ضخامت پرده شفاف در دو گروه فولیکول‌های اولیه و ثانویه با بکارگیری از تصاویر میکروسکپ نوری دو چشمی دوربین‌دار و با استفاده از نرم افزار Image tools III محاسبه شد که این یک روش دقیق در تعیین ضخامت پرده شفاف می‌باشد.

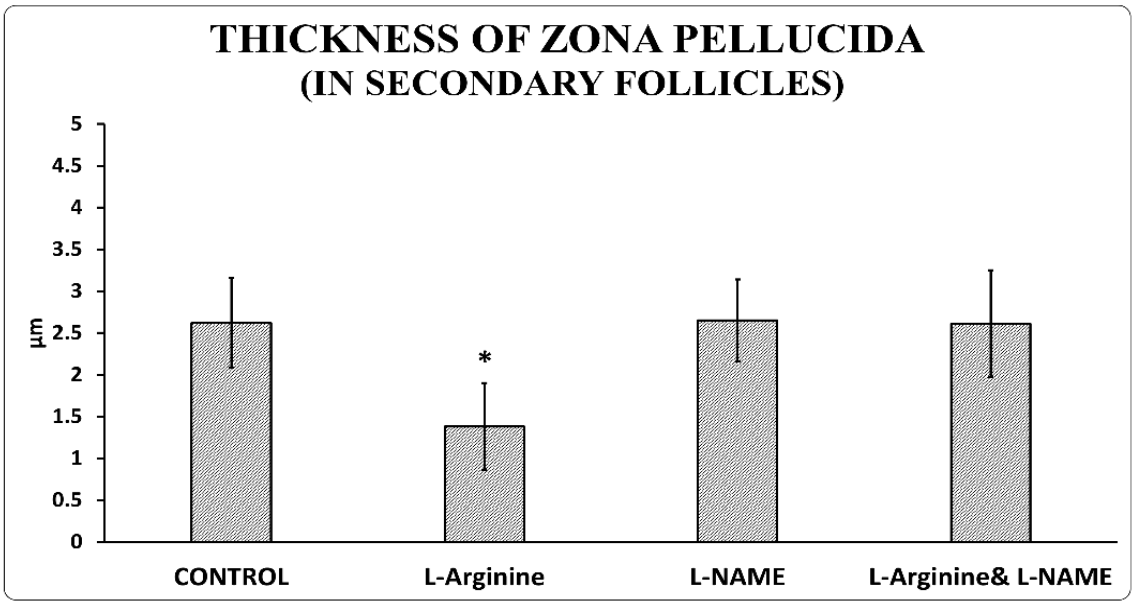
نتایج

در بررسی دو به دوی گروه‌ها با معیار Mann-Whitney در سطح ۰/۰۵، از نظر ضخامت پرده شفاف اختلاف معنی‌داری میان گروه کنترل و گروه ال-آرژنین مشاهده شد، در حالی‌که این اختلاف در میان گروه کنترل و ال-نیم و همچنین ال-نیم + ال-آرژنین معنی‌دار نبود. از طرف دیگر اختلاف میانگین در میان گروه‌های ال-نیم و ال-نیم + ال-آرژنین با گروه ال-آرژنین معنی‌دار بود. در حالی‌که اختلاف معنی‌داری بین دو گروه ال-نیم و ال-نیم + ال-آرژنین ملاحظه نشد (نمودارهای ۱ و ۲).

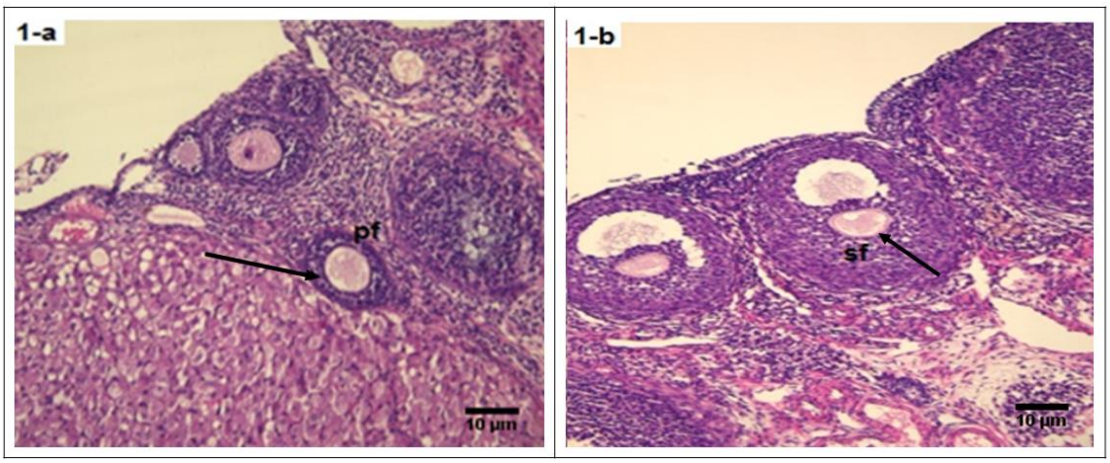
یافته‌های کیفی نشان داد که آرژینین اثر مخرب بر پرده شفاف دارد در حالی که در گروه‌های دیگر چنین اثری دیده نشد. (اشکال ٤-١).



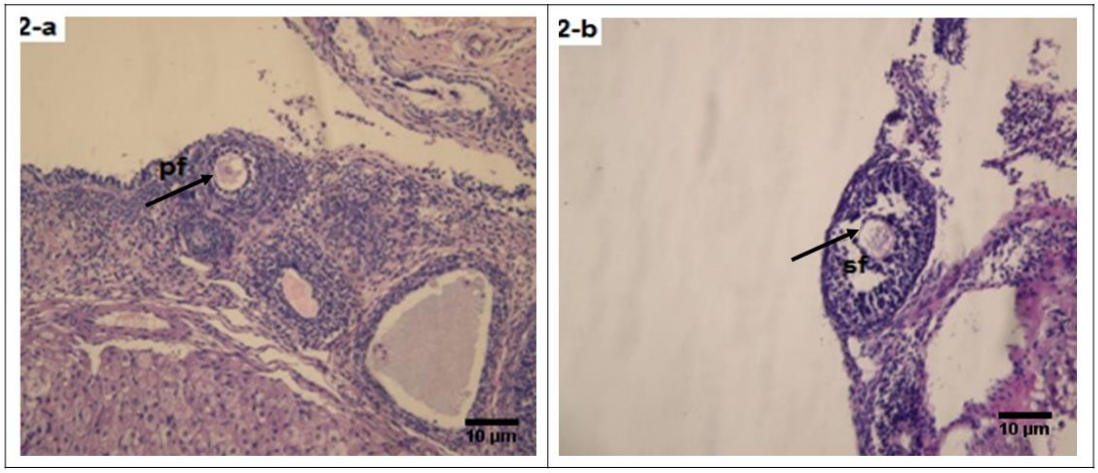
نمودار ۱- میانگین ضخامت پرده شفاف در فولیکول‌های اولیه بر حسب میکرومتر در گروه‌های مختلف را نشان می‌دهد، همان گونه که ملاحظه می‌شود تغییرات در مقایسه گروه ال-آرژنین با گروه‌های کنترل و ال-نیم و ال-آرژنین معنی‌دار است، در حالی که در بین گروه کنترل و ال-نیم و همچنین ال-آرژنین اختلاف معنی‌دار وجود ندارد (p <۰/۰۱).



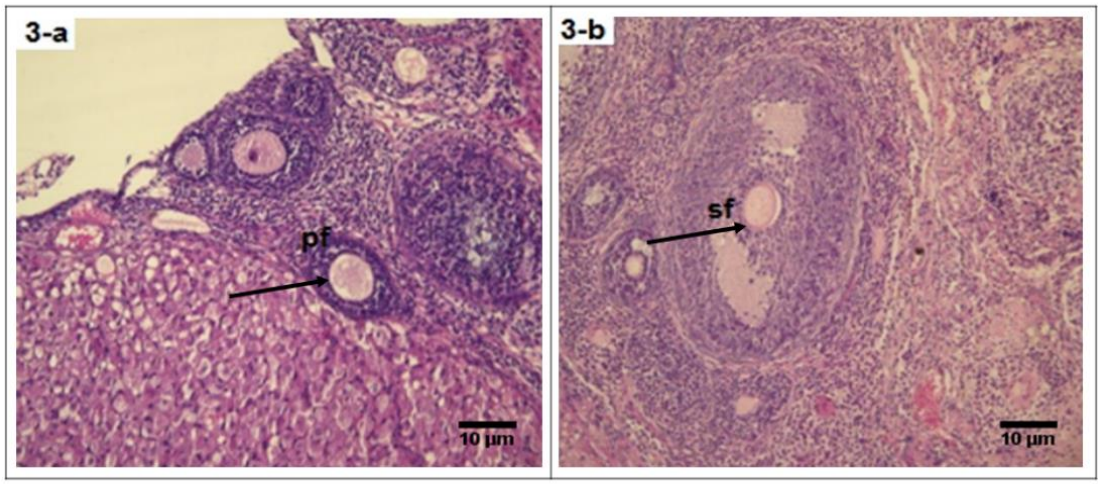
نمودار ۲- میانگین ضخامت پرده شفاف در فولیکول‌های ثانویه بر حسب میکرومتر در گروه‌های مختلف را نشان می‌دهد. همان‌گونه که ملاحظه می‌شود تغییرات در گروه ال- آرژنین با گروه‌های کنترل و ال-نیم و ال-آرژنین معنی‌دار است در حالی‌که در بین گروه کنترل و ال-نیم و همچنین ال-نیم + ال-آرژنین اختلاف معنی‌داری وجود ندارد (p <۰/۰۱).



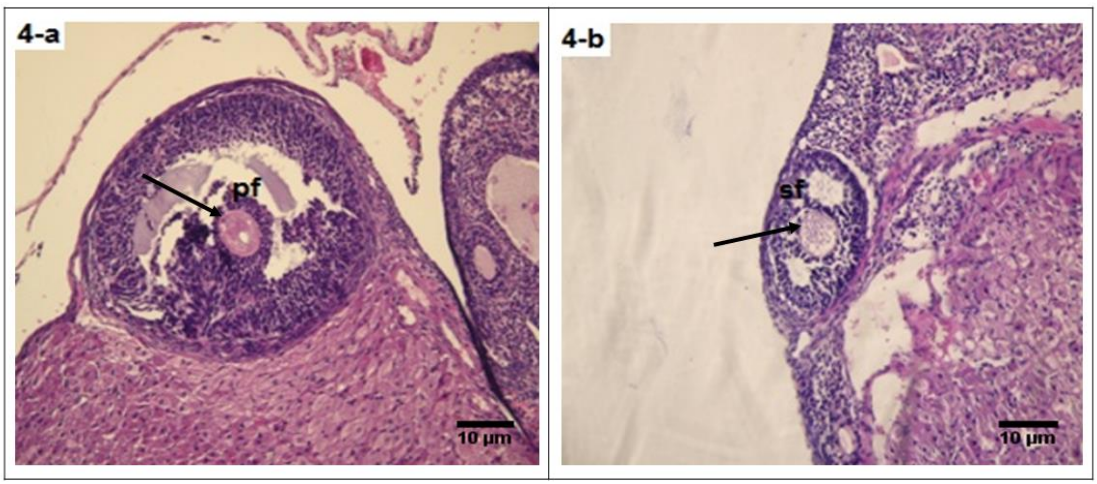
شکل ۱- گروه کنترل که در آن 1-a فولیکول اولیه (pf) و 1-b فولیکول ثانویه (sf) را نشان می‌دهد. فلش سیاه به پرده شفاف اشاره دارد (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین ائوزین، بزرگنمایی ٤٠٠ x).



شکل ۲- گروه ال-آرژنین که در آن 2-a اثرات تزریق بر فولیکول اولیه (pf) و 2-b اثرات تزریق بر فولیکول ثانویه (sf) را نشان می‌دهد. فلش سیاه به پرده شفاف اشاره دارد (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین ائوزین، بزرگنمایی ٤٠٠ x).



شکل ۳- گروه ال-نیم که در آن 3-a اثرات تزریق بر فولیکول اولیه (pf) و 3-b اثرات تزریق بر فولیکول ثانویه (sf) را نشان می‌دهد. فلش سیاه به پرده شفاف اشاره دارد (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین ائوزین با بزرگنمایی ٤٠٠ x).



شکل ٤- گروه ال-نیم + ال-آرژنین که در آن 4-a اثرات تزریق بر فولیکول اولیه (pf) و 4-b اثرات تزریق بر فولیکول ثانویه (sf) را نشان می‌دهد. فلش سیاه به پرده شفاف اشاره دارد (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین ائوزین با بزرگنمایی ٤٠٠ x).

بحث

مقایسه نتایج کمّی در هر دو گروه فولیکول‌های اولیه و ثانویه نشان می‌دهد ضخامت پرده شفاف در گروه ال-آرژنین در مقایسه با گروه‌های دیگر کاهش معنی‌داری یافته است که این اثر در گروه ال-نیم+ ال-آرژنین به میزان زیادی تعدیل شده بود. در بررسی انجام شده در سال ۲۰۰۹ که به بررسی اثرات نیتریک اکساید و مهارکننده‌های آن ال-نیم و آمینوگوانیدین بر روی اووسیت پرداختند اثرات تداخلی نیتریک اکساید بر باروری موش‌های بالغ تأیید شد، همچنین اثرات مثبت مهار کننده نیتریک اکساید بر باروری مشخص شد (۱٤).

برخی مطالعات نشان داد که غلظت بالای نیتریک اکساید نقش مهمی در توقف میوز ایفا می‌کند و چنانچه این غلظت توسط مهارکننده‌های آن کاهش یابد بلوغ اووسیت به نحو چشمگیری بهبود خواهد یافت (۲، ۷، ۲۱)

اگرچه تاکنون مطالعات زیادی اثرات تخریبی غلظت بالای نیتریک اکساید را بر حجم تخمدان، بلوغ اووسیت و روند تخمک‌گذاری تأیید کرده‌اند، در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۰۷ صورت گرفت به بررسی اثرات مفید نیتریک اکساید بر روند باروری پرداختند، از مهارکننده iNOS برای مهار تشکیل نیتریک اکساید استفاده شد و نشان داد که بقای اووسیت و تخمک‌گذاری به شدت تحت‌تأثیر قرار می‌گیرد. لذا نتایج حاصل این نکته را ثابت کرد که نیتریک اکساید در مقادیر آندوژن برای عملکرد طبیعی تخمدان مورد نیاز می‌باشد (٦).

مطالعات دیگری به اثرات نیتریک اکساید بر روند پیری اووسیت پرداختند و نشان دادند که نیتریک اکساید به عنوان یک مولکول سیگنالینگ در مسیر یوبیکوئیتین عمل می‌کند و نقش مهمی در بلوغ اووسیت بر عهده دارد. در این بررسی موش‌های بالغ در معرض مقادیر زیادی از نیتریک اکساید قرار گرفتند تا میزان تغییرات پرده شفاف در اووسیت مشاهده شود. نتایج حاصل نشان داد زمان اضمحلال پرده شفاف در این موش‌ها به مقدار زیادی کاهش می‌یابد که با نتایج حاصل از این تحقیق کاملاً مطابقت دارد (۲۳).

در سال ۲۰۱٤، بررسی بر روی مهار نیتریک اکساید در محیط کشت نشان داد که مهارکننده‌های آن کیفیت لقاح آزمایشگاهی را افزایش نمی‌دهد، اما اهمیت نیتریک اکساید در بلوغ و لقاح بعدی نشان داده شد (۲۰).

نتیجه مطالعه‌ای بر روی زنان مبتلا به اندومتریوز این بود که تغییرمحیط اطراف فولیکولی همراه با افزایش استرس اکسیداتیو و کمبود نیتریک اکساید، و تأثیر ثانویه آن‌ها بر سلول‌های گرانولوزا و تخمک‌ها، مکانیسم احتمالی برای شکست روش‌های کمک باروری در زنان مبتلا به اندومتریوز است (۹).

نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که ال-آرژنین سنتز نیتریک اکساید را افزایش داده و دارای اثرات تخریبی بر ضخامت پرده شفاف می‌باشد. این اثرات با به کارگیری ال-نیم مهار می‌شود و احتمالاً علت آن مهار تشکیل نیتریک اکساید می‌باشد. به همین دلیل در گروه‌هایی که از ال-نیم+ ال-آرژنین به‌صورت همزمان استفاده شد، نتایج مشابهی با گروه کنترل به‌دست آمد. لذا با توجه به نتایج به‌دست آمده نیتریک اکساید دارای اثرات ناهنجاری بر روی تخمدان‌ها بوده و احتمالاً چنین خطری در انسان نیز محتمل است، لذا توصیه می‌شود در دوره بارداری از تجویز مواد پیش‌ساز نیتریک اکساید و یا محرک تولید آن تا حد امکان اجتناب شود.

نتیجه‌گیری

نیتریک اکساید می‌تواند به عنوان یک عامل مخرب در شکل‌گیری پرده شفاف مطرح و همچنین سبب اختلال در عملکرد فولیکول‌های تخمدان شود. احتمالاً چنین خطری در انسان نیز محتمل است، لذا توصیه می‌شود در دوره بارداری از تجویز مواد پیش‌ساز نیتریک اکساید و یا محرک تولید آن تا حد امکان اجتناب شود.

منابع

1. Akkoyunlu G., Üstünel İ., Demir R., 2007. The distribution of transglutaminase in the rat oocytes and embryos. *Theriogenology*, 68(6):834-841.

2. Bian, K., Doursout, M.F. and Murad, F., 2008. Vascular system: role of nitric oxide in cardiovascular diseases. *The Journal of Clinical Hypertension*, 10(4):304-310.

3. Blashkiv T.V., Korniichuk A.N., Voznesenskaya T.Y., Pornichenko A.G. 2001. Role of nitric oxide in ovulation, meiotic maturation of oocytes, and implantation in mice. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 132(5):1034-1036.

4. Blashkiv T.V. 2003. Effect of NO on meiotic maturation of the oocytes in mice in vitro. *Fiziolohichnyi Zhurnal*, 49(1):100-103.

5. Bu S., Xia G., Tao Y., Lei L., Zhou B. 2003. Dual effects of nitric oxide on meiotic maturation of mouse cumulus cell-enclosed oocytes in vitro. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 207(1-2):21-30.

6. Calabrese V., Mancuso C., Calvani M., Rizzarelli E., Butterfield D.A. 2007. A. STELLA. Nitric oxide in the central nervous system: neuroprotection versus neurotoxicity. *Nature Reviews Neuroscience*, 8:766-775.

7. Girouard H., Wang G., Gallo E.F., Anrather J., Zhou P., Pickel V.M., Iadecola C. 2009. NMDA receptor activation increases free radical production through nitric oxide and NOX2. *Journal of Neuroscience*, 29(8):2545-2552.

8. Goud A.P., Goud P.T., Diamond M.P., Abu-Soud H.M. 2005. Nitric oxide delays oocyte aging. *Biochemistry*, 44(34):11361-11368.

9. Goud P.T., Goud A.P., Joshi N., Puscheck E., Diamond M.P., Abu-Soud H.M., 2014. Dynamics of nitric oxide, altered follicular microenvironment, and oocyte quality in women with endometriosis. *Fertility and Sterility*, 102(1):151-15

10. Hattori M.A., Takesue K., Kato Y., Fujihara N. 2001. Expression of endothelial nitric oxide synthase in the porcine oocyte and its possible function. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 219(1):121-126.

11.Huo L.J., Liang C.G., Yu L.Z., Zhong ZS, Yang Z.M., Fan H.Y., Chen D.Y., Sun Q.Y., 2005.Inducible nitric oxide synthase-derived nitric oxide regulates germinal vesicle breakdown and first polar body emission in the mouse oocyte. *Reproduction*, 129(4):403-409.

12.Majhi C.R., Khan S., Leo M.D.M., Manimaran A., Sankar P., Sarkar S.N. 2011. Effects of acetaminophen on reactive oxygen species and nitric oxide redox signaling in kidney of arsenic-exposed rats. *Food and Chemical Toxicology*, 49(4):974-982.

13. Mitchell L.M., Kennedy C.R., Hartshorne G.M. 2002. Effects of varying gonadotrophin dose and timing on antrum formation and ovulation efficiency of mouse follicles in vitro. *Human Reproduction*, 17(5):1181-1188.

14. Mondillo, C., Pagotto, R.M., Piotrkowski, B., Reche, C.G., Patrignani, Z.J., Cymeryng, C.B. and Pignataro, O.P., 2009. Involvement of nitric oxide synthase in the mechanism of histamine-induced inhibition of Leydig cell steroidogenesis via histamine receptor subtypes in Sprague-

Dawley rats. *Biology of Reproduction*, 80(1):144-152.

15.Nakamura Y., Yamagata Y., Sugino, N., Takayama H., Kato H. 2002. Nitric oxide inhibits oocyte meiotic maturation. *Biology of Reproduction*, 67(5):1588-1592.

16.Nemade R.V., Carrette O., Larsen W.J., Markoff E. 2002. Involvement of nitric oxide and the ovarian blood follicle barrier in murine follicular cyst development. *Fertility and Sterility*, 78(6):1301-1308.

17. Nishikimi A., Matsukawa T., Hoshino K., Ikeda S., Kira Y., Sato E.F., Inoue M., Yamada M. 2001. Localization of nitric oxide synthase activity in unfertilized oocytes and fertilized embryos during preimplantation development in mice. *ReproductionCambridge*, 122(6):957-963.

18. Noori Moogahi S.M.H., Sharifi Z.N., Movaseghi S., Mostafavinia A. 2022. Investigation of Excitatory and Inhibitory Effects of L-Arginine and L-NAME on the thickness of the cortex and medulla of Thymus in Pregnant Rats. *Developmental Biology*, 14(1):49-54.

19. Noori-Mugahi, S.M.H. and Moghani-Ghoroghi, F., 2015. Morphometry of Rat Jejunal Enterocytes Number and Height after L-Arginine and L-NAME Administration. *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences*, 17(2).

20. Romero-Aguirregomezcorta J., Santa Á.P., García-Vázquez F.A., Coy P., Matas, C. 2014. Nitric oxide synthase (NOS) inhibition during porcine in vitro maturation modifies oocyte protein S-nitrosylation and in vitro fertilization. *PLoS One*, 9(12):e115044.

21. Stanek A., Gadowska-Cicha A., Gawron K., Wielkoszynski T., Adamek B., Cieslar G., Wiczkowski A., Sieron A., 2008. Role of nitric oxide in physiology and pathology of the gastrointestinal tract. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 8(14):1549-60.

22.Tao Y., Fu Z., Zhang M., Xia G., Yang J., Xie H. 2004. Immunohisto chemical localization of inducible and endothelial nitric oxide synthase in porcine ovaries and effects of NO on antrum formation and oocyte meiotic maturation. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 222(1-2):93-103.

23. Thomas D.D., Ridnour L.A., Isenberg J.S., Flores-Santana W., Switzer C.H., Donzelli S., Hussain P., Vecoli C., Paolocci N., Ambs S., Colton C.A. 2008. The chemical biology of nitric oxide: implications in cellular signaling. *Free Radical Biology and Medicine*, 45(1):18-31.

24.Tůmová L., Romar R., Petr J., Sedmíková M. 2013. The effect of protein kinase C activator and nitric oxide donor on oocyte activation and cortical granule exocytosis in porcine eggs. *Animal*, 7(2):279-286.

Effects of Inhibitory and Stimulatory Administration of Nitric Oxide Synthesis on the Zona Pellucida Thickness of Ovarian Follicles in Pregnant Rats

Seyed Mohammad Hossein Noori Moogahi[1,2], Shabnam Movaseghi[1], Atarodosadat Mostafavinia[1], Mahnaz Nouri[3], Zahra Nadia Sharifi[1]*

1- Department of Anatomical Sciences and Cognitive Neurosciences, Tehran Medical Sciences Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
2- Department of Anatomical Sciences, Tehran University of Medical Sciences Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
3- Department of Medicine, Shahrood Branch, Islamic Azad University, Shahrood, Iran

Abstract

Nitric oxide is a short-lived mediator which produced in different mammalian cell types. Nitric oxide synthesizes (NOSs) are a family of complex enzymes that catalyze the oxidation of L-Arginine to form Nitric Oxide. Overproduction of nitric oxide may imply in the pathogenesis of several immune diseases. The present study demonstrates the potential role of nitric oxide in zona pellucida thickness. This study was performed on 8 weeks pregnant Wistar rats (n=32). To study the impact of Nitric Oxide on zona pellucida thickness four experimental designs were investigated. Control group, 200 mg/kg L-Arginine, 20 mg/kg L-NAME and a combination of L-Arginine, and L-NAME. Ovary removal via laparotomy was performed 13 days after intraperitoneal injection. Zona pellucida thickness was investigated by Image tools III quantitative technique. Based on our findings, L-Arginine causes a significant decrease in zona pellucida thickness ($p \leq 0.05$). No discrepancy was detected in zona pellucida thickness between the other experimental groups and the control group. The results support the hypothesis that destructive effects on ovary and zona pellucida formation can be mediated by the overproduction of nitric oxide.

Keywords: Nitric Oxide, L-Arginine, L-NAME, Zona Pellucida, Rat.