"Research article" DOI: 10.30495/JVCP.2020.561604.1182

Effect of magnesium sulfate on letrozole-induced oxidative stress in the ovarian tissue of adult female Wistar rats

Aslahnezhad, S.Z.[1], Eidi, A.[2*], Mortazavi, P.[3], Oryan, Sh.[4]

1- MSc of Animal Physiology, Department of Biology, Faculty of Basic Science, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
2- Professor, Department of Biology, Faculty of Basic Science, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
3- Associate Professor, Department of Pathobiology, Faculty of Specialized Veterinary Medicine, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
4- Professor, Department of Biology, Kharazmi University, Tehran, Iran.
*Corresponding author's email: eidi@srbiau.ac.ir
(Received: 2021/11/11 Accepted: 2022/3/17)

Abstract

Magnesium is the second most abundant element (after potassium) in the cell and plays an important role in various biological functions. Polycystic ovary syndrome (PCOS) is a prevalent endocrinological disorder in reproductive-age women and is often associated with metabolic syndrome. Evidence indicates that oxidative stress and low levels of chronic inflammation have an important role in the pathogenesis of PCOS. The purpose of this study was to investigate the effect of magnesium sulfate on letrozole-induced oxidative stress in the ovarian tissue of adult female Wistar rats. In this study a total of 36 female rats were randomly divided into 6 groups of 6: the normal control group, the healthy experimental group (magnesium sulfate 10, 50 and 100 mg/kg body weight), ovarian damage control group (letrozole 1mg/kg body weight) and ovarian damage experimental group (magnesium sulfate 10, 50 and 100 mg/kg body weight together with letrozole). The animals were euthanized 24 h after the last dose of the treatment on day 31. The activity of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), and glutathione peroxidase (GPX) enzymes in the ovarian tissue was investigated. The results of the present study showed that magnesium sulfate treatment significantly increased the levels of SOD, CAT and GPX enzymes compared to the ovarian damage control group (p<0.05). Therefore, magnesium sulfate can probably reduce ovarian damage, eliminate free radicals, and inhibit oxidative stress.

Conflict of interest: None declared.
Keywords: Antioxidants, Letrozole, Magnesium sulfate, PCOS, Rat.

"مقاله پژوهشی" DOI: 10.30495/JVCP.2020.561604.1182

اثر سولفات منیزیم بر استرس اکسیداتیو القاءشده توسط لتروزول در بافت تخمدان موش‌های صحرایی ماده بالغ نژاد ویستار

سیده‌زهرا اصلح‌نژاد[۱]، اکرم عیدی[۲*]، سیدپژمان مرتضوی[۳]، شهربانو عریان[٤]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد، گروه زیست‌شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
۲- استاد گروه زیست‌شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
۳- دانشیار گروه پاتوبیولوژی، دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
٤- استاد گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران.
*نویسنده مسئول مکاتبات: eidi@srbiau.ac.ir

(دریافت مقاله: ۱٤۰۰/۸/۲۰ پذیرش نهایی: ۱٤۰۰/۱۲/۲٦)

چکیده

منیزیم دومین عنصر فراوان بعد از پتاسیم در سلول می‌باشد و نقش مهمی در عملکردهای گوناگون بیولوژیکی ایفا می‌کند. سندرم تخمدان پلی‌کیستیک (polycystic ovary syndrome, PCOS) یک بیماری شایع غدد درون‌ریز در زنان در سنین باروری می‌باشد که اغلب با سندرم متابولیک همراه است. شواهد نشان می‌دهند که استرس اکسیداتیو و درجات پایین التهاب مزمن نقش مهمی را در پاتوژنز PCOS ایفا می‌کنند. هدف از مطالعه حاضر، بررسی اثر سولفات منیزیم بر استرس اکسیداتیو القاءشده توسط لتروزول در بافت تخمدان موش‌های صحرایی ماده بالغ نژاد ویستار بود. بدین منظور تعداد ۳٦ سر موش صحرایی ماده به صورت تصادفی به ٦ گروه ٦تایی شامل کنترل سالم (بدون تیمار)، تیمار سالم (تیمار با سولفات منیزیم خوراکی با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم وزن بدن)، کنترل آسیب تخمدانی (تیمار با لتروزول به‌طور خوراکی به میزان ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) و تیمار تجربی آسیب تخمدانی (تیمار با سولفات منیزیم در دوزهای ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن همراه با لتروزول) تقسیم شدند. حیوانات ۲٤ ساعت پس از آخرین دوز درمان در روز ۳۱ آسان‌کشی شده و فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز (superoxide dismutase, SOD)، کاتالاز (catalase, CAT) و گلوتاتیون پراکسیداز (glutathione peroxidase, GPX) در بافت تخمدان آن‌ها بررسی گردید. تیمار سولفات منیزیم باعث افزایش معنی‌دار میزان فعالیت آنزیم‌های SOD، CAT و GPX بافت تخمدان نسبت به گروه کنترل شد ($p<۰/۰۵$). بر اساس یافته‌های این مطالعه به‌نظر می‌رسد که سولفات منیزیم احتمالاً بتواند باعث کاهش آسیب تخمدان توسط لتروزول از طریق مهار رادیکال‌های آزاد و از بین بردن استرس اکسیداتیو در موش‌های صحرایی شود.

کلیدواژه‌ها: سولفات‌منیزیم، لتروزول، سندرم تخمدان پلی‌کیستیک، آنتی‌اکسیدان، موش‌صحرایی.

مقدمه

سندرم تخمدان پلی‌کیستیک (polycystic ovary syndrome, PCOS) یکی از بیماری‌های شایع در دوران باروری است که به دلیل عوارضی که در ظاهر فرد ایجاد می‌نماید و نیز به دلیل اختلالات در باروری خانم‌ها مورد توجه می‌باشد. حدود ۱۰۵ میلیون نفر از زنان با سن ۱۵ تا ۴۹ سال در جهان، به سندرم مذکور مبتلا هستند. سندرم تخمدان پلی‌کیستیک یک عدم تعادل هورمونی و از شایع‌ترین اختلالات غدد درون‌ریز (آندوکرینوپاتی) در زنان در سن تولیدمثل بوده و نیز شایع‌ترین علت نازایی ناشی از عدم تخمک‌گذاری می‌باشد که تصور می‌شود از علل اصلی ناباروری در زنان باشد (Ehrmann *et al*., 2012; Veltman *et al*., 2012). PCOS یک بیماری سیستمیک مزمن بوده (نه یک بیماری موضعی ساده) و غالباً با مقاومت به انسولین، التهاب مزمن و استرس اکسیداتیو همراه است (Murri *et al*., 2013). اگرچه PCOS به‌عنوان یک بیماری وابسته به هورمون مطرح شده‌است، شواهد اخیر پیشنهاد می‌کنند که استرس اکسیداتیو و درجات پایین التهاب مزمن نقش مهمی را در پاتوژنز PCOS و متابولیت‌های وابسته به آن ایفا می‌کنند (Showell *et al*., 2013). استرس اکسیداتیو حالتی است که در آن تعادل بین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بدن و محصولات سمی اکسیژن و یا محصولات مشتق شده از نیتروژن دچار اختلال شده و در نتیجه رادیکال‌های آزاد باعث نارسایی در مسمومیت‌زدایی توسط آنتی‌اکسیدان‌ها می‌شوند. استرس اکسیداتیو نقش مهمی در اختلال تولید مثل زنان ایفا کرده و همچنین در پاتوفیزیولوژی PCOS دخالت دارد (Ruder *et al*., 2008; Vakilian *et al*., 2009).

لتروزول ترکیبی است که با مهار رقابتی آنزیم آروماتاز تبدیل آندروژن به استروژن را مهار می‌کند و می‌تواند تولید استروژن در بافت‌های محیطی و اندومتریوز را کاهش دهد. در واقع آنزیم مذکور، آندروستنه‌دیون (androstenedione) را به استروژن و تستوسترون را به استرادیول تبدیل می‌کند و لتروزول با مهار این فرآیند باعث افزایش آندروژن‌ها می‌شود که یکی از عوامل دخیل در پاتوژنز PCOS می‌باشد (Thomson *et al*., 2010).

منیزیم دومین عنصر داخل سلولی در بدن انسان است که دارای بیشترین فراوانی است و همچنین در واکنش‌های آنزیمی وابسته به کیناز از جمله در متابولیسم گلوکز، ترشح انسولین و عملکرد انسولین در بافت‌های محیطی دارای نقش بوده (Barbagallo *et al*., 2003) به صورتی که این واکنش‌ها تحت تاثیر غلظت منیزیم سرم قرار دارند (Mather *et al*., 1979). گزارش شده است که کمبود منیزیم با حضور دیابت نوع ۲ و دیگر اجزای سندرم متابولیک از جمله چاقی، فشارخون بالا، مقاومت به انسولین، اختلال در میزان چربی خون (دیس‌لیپیدمی) و بیماری‌های قلبی- عروقی در ارتباط است (Fung *et al*., 2003). همچنین تحقیقات نشان داده که با کاهش منیزیم، مرگ سلولی اکسیداتیو افزایش می‌یابد و نیز تیمار با منیزیم، موجب افزایش پایداری DNA، افزایش رونویسی ژنی، حفظ پایداری آنزیم‌های دخیل در بیوسنتز پروتئین‌ها و در نتیجه افزایش تولید پروتئین، رشد و بقاء سلولی می‌شود. باتوجه به این‌که منیزیم به عنوان کوفاکتور برای برخی از آنزیم‌های آنتی

اکسیدان عمل می‌کند، از این رو کمبود آن منجر به افزایش استرس اکسیداتیو می‌شود. منیزیم در ساختار و فیزیولوژی سلول‌ها نقش اساسی ایفا می‌کند. عنصر منیزیم دارای پتانسیل قوی ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی است (Massy and Drueke, 2012). در تحقیقات اخیر از منیزیم به عنوان فاکتور پنهان در ارتباط با سندرم متابولیک نام می‌برند و کاهش این عنصر حیاتی در بدن، فرد را مستعد انواع بیماری‌ها می‌سازد (Manmohan *et al.*, 2012). امروزه استفاده از یک عنصر زیستی با دارا بودن خصوصیات آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی، کوفاکتور بودن برای آنزیم‌ها، شرکت در پایداری ساختار غشاء و اندامک‌های سلولی موجودات زنده و همچنین اثرات جانبی کم، اهمیت زیادی دارد (Huang *et al.*, 2010). با توجه به خاصیت آنتی‌اکسیدانی منیزیم، در بسیاری از مطالعات اخیر از منیزیم برای درمان برخی از بیماری‌ها از جمله بیماری‌های مرتبط با استرس اکسیداتیو استفاده می‌شود (Morais *et al.*, 2017). لذا در مطالعه حاضر اثر سولفات منیزیم بر استرس اکسیداتیو القا شده توسط لتروزول در بافت تخمدان موش‌های صحرایی ماده بالغ نژاد ویستار مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

-آماده سازی حیوانات مورد استفاده: برای انجام مطالعه از ۳۶ سر موش صحرایی ماده نژاد ویستار (Wistar) با وزن تقریبی ۲۳۰–۲۰۰ گرم و با رعایت اصول اخلاقی در ارتباط با پرورش حیوانات آزمایشگاهی استفاده شد. موش‌های مذکور از انستیتو پاستور ایران خریداری شده و در اتاق حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران در دمای ۲۲–۲۰ درجه سلسیوس و شرایط نوری ۱۲ ساعت روشنایی، ۱۲ ساعت تاریکی و رطوبت نسبی ۶۰–۴۰ درصد نگه‌داری شدند. آب و غذا هم بدون هیچ محدودیتی در طی انجام آزمایشات در اختیار آن‌ها قرار داده شد. ابتدا برای یکسان‌سازی سیکل جنسی موش‌های مورد آزمایش از روش همسان‌سازی فحلی استفاده شد. بدین منظور، بعد از بالغ شدن موش‌ها به هر سر موش، ۰/۲ میلی‌لیتر (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) پروژسترون (داروسازی ایران هورمون، ایران) به روش زیرپوستی و ۰/۵ میلی‌لیتر (۰/۰۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) دی‌کلوپروستنول (آنالوگ پروستاگلاندین، نام تجاری وتاپروست ساخت شرکت داروسازی ابوریحان- ایران) به روش درون صفاقی تزریق گردید. پس از گذشت سه روز، ۰/۵ میلی‌لیتر دی‌کلوپروستنول دریافت نمودند. ۴۸ ساعت بعد از آخرین تزریق، تمامی موش‌ها از نظر سیکل جنسی همسان‌سازی شدند (Pallares and Gonzalez, 2009). ماده لتروزول نیز جهت القا آسیب تخمدانی از شرکت داروسازی ابوریحان- ایران خریداری شد.

- **گروه‌بندی حیوانات مورد آزمایش:** حیوانات مورد آزمایش به صورت تصادفی به ۶ گروه مجزا (هر گروه شامل ۶ سر موش) به‌صورت زیر تقسیم شدند:

گروه ۱ (کنترل سالم): حیوانات این گروه بدون هیچ تیماری، در طول آزمایش شرکت داشتند.

گروه ۲ (کنترل آسیب تخمدانی): حیوانات این گروه فقط لتروزول را با دوز ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به‌صورت گاواژ به مدت ۳۰ روز دریافت کردند.

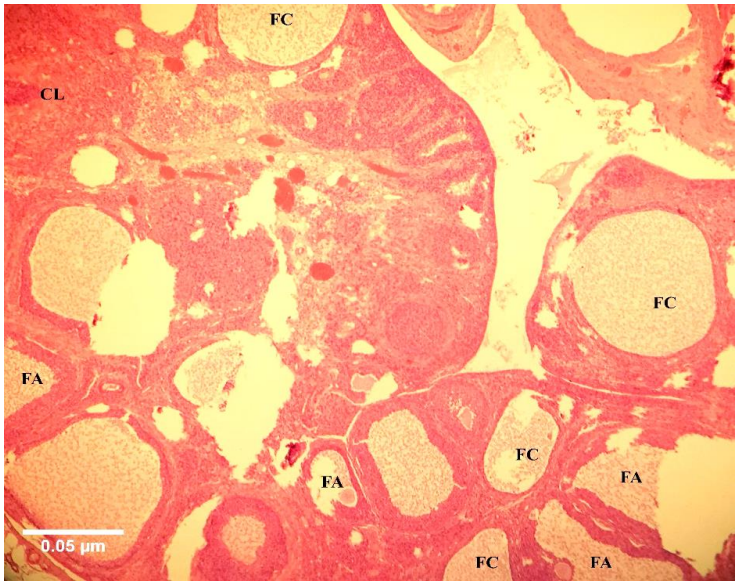
گروه ۳ (گروه تجربی سالم): حیوانات این گروه فقط سولفات منیزیم (Merck، آلمان) را با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به صورت گاواژ دریافت کردند.
گروه‌های ٤، ٥ و ٦ (گروه‌های تجربی آسیب تخمدانی): حیوانات این گروه‌ها علاوه بر لتروزول (۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن)، سولفات منیزیم را نیز به ترتیب با دوزهای ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم وزن بدن به صورت گاواژ دریافت کردند.

پس از پایان دوره ۳۰ روزه آزمایش، حیوانات تمام گروه‌ها بعد از ۱۲ ساعت ناشتایی آسان‌کشی شده و پس از شکافته شدن بدن، تخمدان‌ها از بدن خارج گردید. سپس با همگن کردن بافت تخمدان سمت راست هر یک از حیوانات مورد آزمایش با استفاده از دستگاه Glass Homogenizer مدل ۱۸۰ ساخت کشور آمریکا، میزان فعالیت آنزیم SOD (superoxide dismutase) طبق روش استاندارد مارکلند و مارکولند (Marklund and Marklund, 1974)، آنزیم CAT (catalase) طبق روش قوس (Goth, 1991) و آنزیم GPX (glutathione peroxidase) طبق روش پاگلیا و والنتین (Paglia and Valentine, 1967) توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (Spectrophotometer, UV 2100; Unico -USA)، سنجش و ارزیابی گردید. همچنین به منظور تایید القاء آسیب تخمدانی توسط تیمار لتروزول، در گروه کنترل آسیب تخمدانی، بر روی یک تخمدان، بررسی هیستولوژیکی به روش رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین (H&E) هم انجام شد.

- **تحلیل آماری داده‌ها:** تمامی داده‌ها بر اساس میانگین± انحراف معیار (mean±SEM) ارائه گردیدند. همچنین داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه۲۳ و روش آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه (one-way ANOVA) و آزمون تکمیلی توکی (Tukey) مورد ارزیابی قرار گرفتند. در استنتاج اختلافات آماری معنی‌دار $p<۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

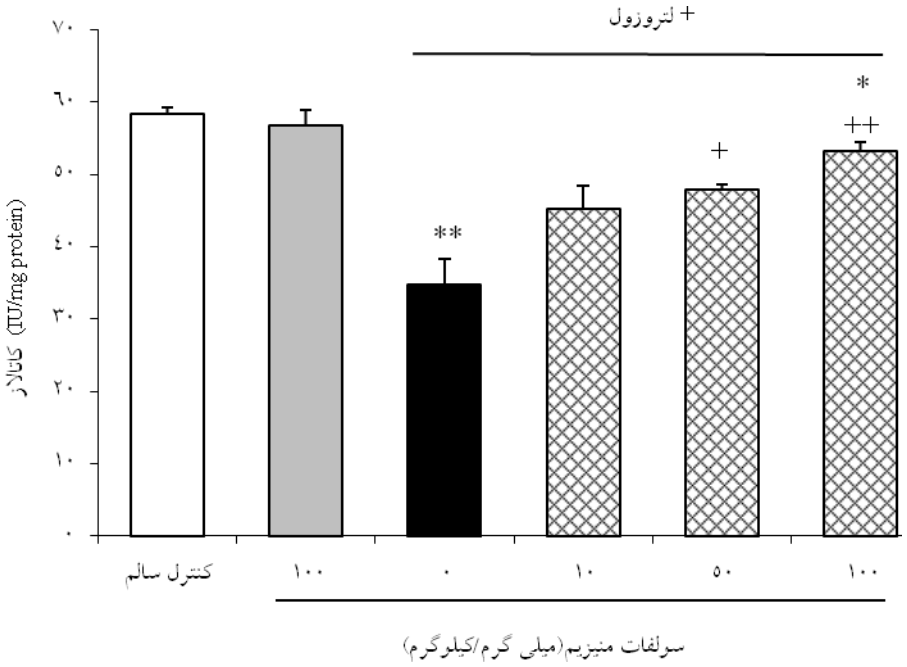
یافته‌ها

جهت تایید القاء آسیب تخمدانی فقط بر روی تخمدان‌های گروه کنترل آسیب تخمدانی بررسی هیستولوژی صورت گرفت. در مشاهدات ریزبینی تخمدان حیوانات گروه کنترل آسیب تخمدانی (القاءشده توسط لتروزول)، تعداد زیادی کیست فولیکولی (cystic follicle; FC) و فولیکول آترتیک (atretic follicle; FA) دیده شد که تاییدی بر القاء آسیب تخمدانی توسط تیمار لتروزول می‌باشد (شکل ۱).



شکل ۱ – نمای ریزبینی از تخمدان گروه کنترل آسیب تخمدانی که در آن کیست‌های فولیکولی (FC) و فولیکول‌های آترتیک (FA) متعدد دیده می‌شود (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین، درشت‌نمایی ×۱۰۰).

از طرف دیگر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در بافت تخمدان موش‌های گروه آسیب تخمدانی (القاءشده توسط لتروزول به میزان ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) در مقایسه با موش‌های گروه کنترل سالم به صورت معنی‌داری ($p<۰/۰۱$) کاهش یافت (نمودار ۱). همچنین مشخص شد که سولفات منیزیم در دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن در موش‌های گروه آسیب تخمدانی تیمارشده با سولفات منیزیم (به‌ترتیب $p<۰/۰۵$ و $p<۰/۰۱$) ، افزایش معنی‌داری را در میزان فعالیت آنزیم کاتالاز بافت تخمدان در مقایسه با گروه کنترل آسیب تخمدانی ایجاد کرد (نمودار ۱). تیمار سولفات منیزیم در دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز بافت تخمدان در حیوانات تجربی سالم در مقایسه با مقدار آنزیم مذکور در بافت تخمدان حیوانات گروه کنترل سالم، تغییر معنی‌داری ایجاد نکرد (نمودار ۱).

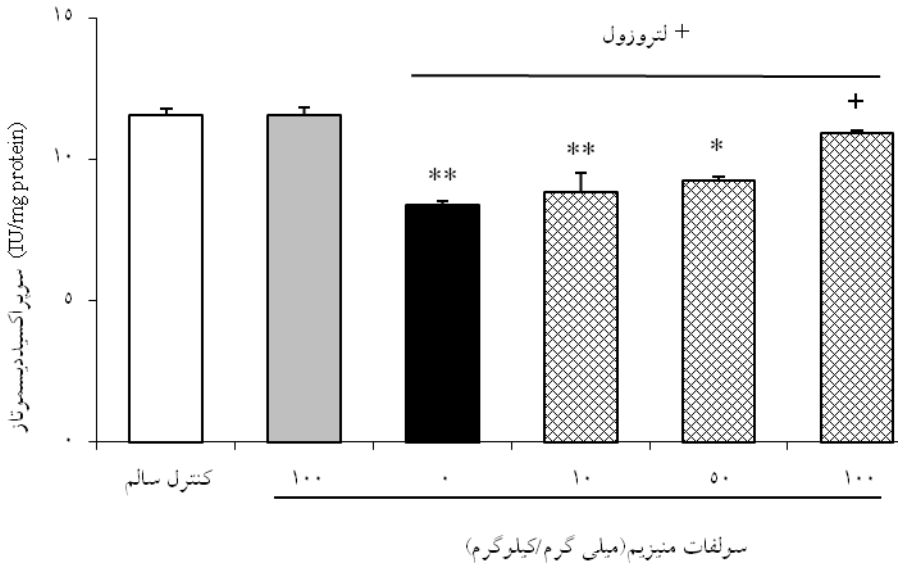


نمودار ۱- مقایسه اثر تیمار خوراکی سولفات منیزیم بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در بافت تخمدان موش‌های صحرایی ماده بالغ گروه‌های کنترل سالم، تجربی سالم، کنترل آسیب تخمدانی و تجربی آسیب تخمدانی القاءشده توسط لتروزول (mean±SEM).

$p<۰/۰۱$**، $p<۰/۰۵$* اختلاف از گروه کنترل سالم را نشان می‌دهد.

$p<۰/۰۱$++، $p<۰/۰۵$+ اختلاف از گروه کنترل آسیب تخمدانی را نشان می‌دهد.

همچنین میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در بافت تخمدان موش‌های گروه آسیب تخمدانی (القاءشده توسط لتروزول) در مقایسه با موش‌های گروه سالم به صورت معنی‌داری کاهش یافت ($p<۰/۰۱$) سولفات منیزیم با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم وزن بدن در موش‌های گروه آسیب تخمدانی تیمارشده با سولفات منیزیم، باعث افزایش معنی‌داری در میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در مقایسه با گروه کنترل آسیب تخمدانی گردید ($p<۰/۰۵$) سولفات منیزیم در دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، بر میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز بافت تخمدان در حیوانات تجربی سالم در مقایسه با میزان فعالیت آنزیم مذکور در بافت تخمدان حیوانات گروه کنترل سالم تغییر معنی‌داری ایجاد نکرد (نمودار ۲).

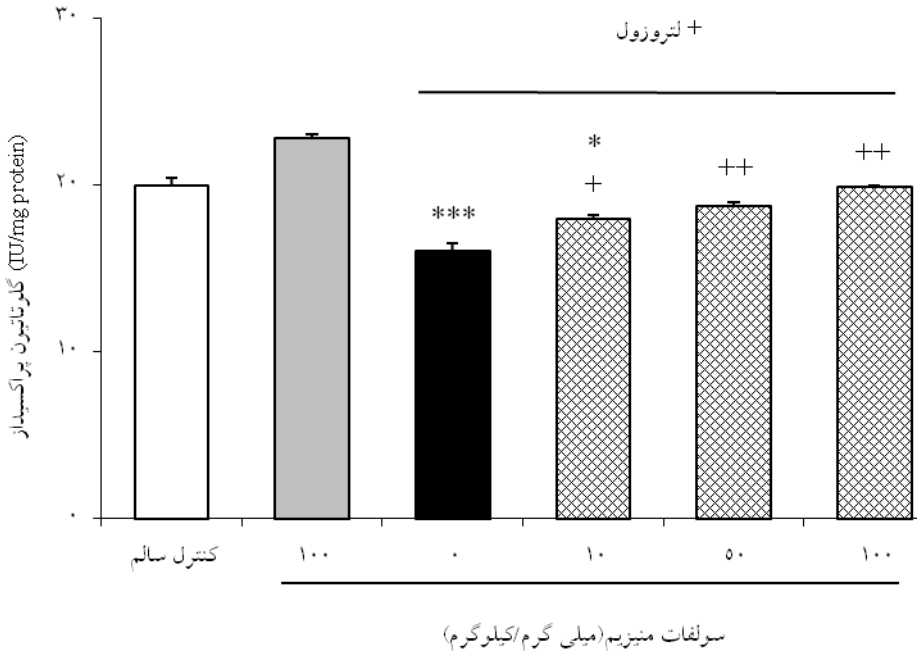


نمودار ۲- مقایسه اثر تیمار خوراکی سولفات منیزیم بر میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در بافت تخمدان موش‌های صحرایی ماده بالغ گروه‌های کنترل سالم، تجربی سالم، کنترل آسیب تخمدانی و تجربی آسیب تخمدانی القاءشده توسط لتروزول (mean±SEM).

$p<۰/۰۱$**، $p<۰/۰۵$* اختلاف از گروه کنترل سالم را نشان می‌دهد.

$p<۰/۰۵$+ اختلاف از گروه کنترل آسیب تخمدانی را نشان می‌دهد.

همچنین مطابق نتایج ثبت شده در نمودار ۳ میزان فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در بافت تخمدان موش‌های گروه آسیب تخمدانی (القاءشده توسط لتروزول به میزان ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) در مقایسه با موش‌های گروه کنترل سالم به صورت معنی‌داری کاهش یافت ($p<۰/۰۰۱$) سولفات منیزیم در دوزهای ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم وزن بدن در موش‌های گروه آسیب تخمدانی تیمارشده با سولفات منیزیم، افزایش معنی‌داری را در میزان آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز بافت تخمدان در مقایسه با گروه کنترل آسیب تخمدانی نشان داد (به‌ترتیب $p<۰/۰۵$، $p<۰/۰۱$ و $p<۰/۰۱$). سولفات منیزیم در دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن بر میزان فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز بافت تخمدان در حیوانات تجربی سالم در مقایسه با میزان فعالیت آنزیم مذکور در بافت تخمدان حیوانات گروه کنترل سالم، تغییر معنی‌داری ایجاد نکرد.



نمودار ۳- مقایسه اثر تیمار خوراکی سولفات منیزیم بر میزان فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در بافت تخمدان موش‌های صحرایی ماده بالغ گروه‌های کنترل سالم، تجربی سالم، کنترل آسیب تخمدانی و تجربی آسیب تخمدانی القاءشده توسط لتروزول (mean±SEM).

$p<۰/۰۰۱$***، $p<۰/۰۵$* اختلاف از گروه کنترل سالم را نشان می‌دهد.

$p<۰/۰۱$++، $p<۰/۰۵$+ اختلاف از گروه کنترل آسیب تخمدانی را نشان می‌دهد.

بحث و نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر تیمار لتروزول موجب القاء آسیب تخمدانی گردید و با بررسی بافت تخمدان مشخص گردید که افزایش معنی‌داری در تعداد کیست فولیکولی و فولیکول آترتیک رخ داده است (شکل ۱) که تاییدی بر القاء آسیب تخمدانی توسط تیمار لتروزول می‌باشد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که پارامترهای استرس اکسیداتیو در بافت تخمدان موش‌های گروه کنترل آسیب تخمدانی القاءشده توسط لتروزول، افزایش معنی‌داری داشته (نمودارهای ۱ تا ۳) و این حیوانات دچار استرس اکسیداتیو شده‌بودند. در این ارتباط فنکسی و همکاران در سال ۲۰۰۳ بیان کرده‌اند که افزایش استرس اکسیداتیو و کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ممکن است منجر به افزایش خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی-عروقی در زنان مبتلا به PCOS و کمک به عوامل خطرزا مانند فشارخون بالا، چاقی مرکزی و مقاومت به انسولین شود (Fenkci *et al.*, 2003). رضوانفر و همکاران نیز در سال ۲۰۱۲ گزارش کرده‌اند که استرس اکسیداتیو ناشی از آندروژن بالا ازعوامل پاتوژنز PCOS می‌باشد (Rezvanfar *et al.*, 2012). موری و همکاران نیز در سال ۲۰۱۳ نشان دادند که آترزی فولیکولی و کاهش کمیت و کیفیت تخمک در طی سیستوژنزیس (cystogenesis) به دلیل افزایش استرس اکسیداتیو در PCOS می‌باشد (Murri *et al.*, 2013). ملاحظه می‌گردد که یافته‌های پژوهش حاضر هم در توافق با نتایج تحقیقات مذکور می‌باشد.

در بررسی حاضر از ماده لتروزول برای القاء آسیب تخمدانی استفاده شد و نتایج حاصله نشان داد کـه مـاده مذکور قادر به القاء آسیب تخمدان در مـوش‌هـای بـالغ می‌باشد (شکل ۱). در این ارتباط، کافالی و همکاران در سـال ۲۰۰٤ بیـان کردنـد کـه لتـروزول یـک مهارکننـده آروماتاز غیراستروئیدی اسـت کـه در مـوش‌هـای مـاده منجر به توسعه PCOS می‌شـود (Kafali *et al*., 2004). کاسپر و میتوالی هم در سال ۲۰۱۱ در تحقیق خود نشان دادند، از آنجا که کاتالیز آروماتاز محدودکننـده سـرعت مرحله بیوسنتز استروژن از آنـدروژن مـی‌باشـد، انتظـار می‌رود که کاهش فعالیـت ایـن آنـزیم بتوانـد منجـر بـه افزایش تولید آندروژن تخمدان و توسـعه PCOS شـود (Casper and Mitwally, 2011). همچنـین شـای و واین در سال ۲۰۱۲ گـزارش کردنـد کـه عـدم فعالیـت آنزیم آروماتاز یک اختلال معنی‌دار در تخمدان در طـی استروئیدوژنز است که سبب PCOS می‌شود (Shi and Vine, 2012). از طـرف دیگـر زوروارا و همکـاران در سال ۲۰۰۹ بیان کردنـد کـه در حیوانـات دچـار PCOS القاءشـده توسـط لتـروزول، افـزایش معنـی‌دار در بیـان گیرنده‌های آندروژن ظاهر مـی‌شـود (Zurvarra *et al*., 2009). همچنین ون ورهیس و همکاران در سـال ۱۹۹٤ بیان کردند که لتـروزول باعـث مهـار آنـزیم سـیتوکروم P450 آروماتـاز کـه مسـئول تولیـد اسـترادیول اسـت، می‌شود (Van voorhis *et al*., 1994). سان و همکـاران نیز در سال ۲۰۱۳ گزارش کردند کـه در PCOS تجربـی القاءشده توسـط لتـروزول، یافتـه‌هـای بافـت‌شناسـی و بیوشیمیایی بسیاری مشاهده می‌شود که مشابه با PCOS در انسـان مـی‌باشـد (Sun *et al*., 2013). همچنـین گودرزی و همکاران در سال ۲۰۱۱ گـزارش کردنـد کـه هایپرآندروژنیسم یک ویژگی بیوشیمیایی در زنان مبـتلا به PCOS است که باعث توقف رشد فولیکولی تخمدان می‌شـود (Godarzi *et al*., 2011). بنـابراین بـر اسـاس یافته‌های تحقیق حاضـر و گزارشـات مـذکور مـی‌تـوان چنین نتیجه‌گیری نمـود کـه لتـروزول بـا القـاء اسـترس اکسـیداتیو موجـب آسـیب بافـت تخمـدان مـی‌گـردد. همچنین نتایج تحقیق حاضر نشان داد که لتروزول باعث کـاهش میـزان فعالیـت آنزیم‌هـای کاتـالاز (CAT)، سوپراکسید دیسـموتاز (SOD) و گلوتـاتیون پراکسـیداز (GPX) می‌شود (نمودارهای ۱ تا ۳). در توافق با نتـایج مطالعه حاضر، رضوانفر و همکاران نیـز در سـال ۲۰۱٤ گزارش کرده‌انـد کـه لتـروزول باعـث کـاهش فعالیـت پارامترهای مذکور می‌شود (Rezvanfar *et al*., 2014).

همچنین یافته‌های بررسی حاضر نشـان داد کـه در حیوانات تیمارشده با سولفات منیزیم، به دلیل دارا بودن پتانسیل قوی ضد التهابی و خاصیت آنتـی‌اکسـیدانی آن، میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در بافت تخمـدان بهبود یافت (نمودارهای ۱ تا ۳). در این خصوص چـن و همکاران در سال ۲۰۱۳ گزارش کردند که منیـزیم بـه عنوان کوفاکتور برای برخی از آنزیم‌های آنتـی‌اکسـیدانی عمل می‌کند و از ایـن رو کمبـود آن منجـر بـه افـزایش استرس اکسیداتیو می‌شـود (Chen *et al*., 2013). یـون هیونگ و همکاران هم در سـال ۲۰۱٤ بیـان کردنـد کـه تشکیل رادیکـال‌هـای آزاد در گـوش داخلـی باعـث از دست رفتن شـنوایی، مـرگ سـلولی و انقبـاض عـروق می‌شود و مصرف ویتامین‌های آنتی‌اکسـیدانی و منیـزیم موجب بهبود این علائـم می‌گـردد (Yoon-Hyeong *et al*., 2014). ولـف و همکـاران نیـز در سـال ۱۹۹۰ در تحقیقات خود نشان دادند که منیزیم باعث جلوگیری از

آسیب‌های مغزی و نورونی در برابر تشنج موش‌های صحرائی نوزاد می‌شود (Wolf *et al*., 1990). سان و همکاران نیز در سال ۲۰۰۰ گزارش کردند که منیزیم بر سکته مغزی ایسکمیک اثر درمانی دارد (Sun *et al*., 2000). همچنین طبق مطالعه دموژئوت و همکاران در سال ۲۰۰٤، مشخص گردید که منیزیم اثرات نوروپروتکتیو قابل توجهی دارد و نیز ارتباط آن با فشارخون و دیگر ریسک فاکتورهای سکته مغزی شامل هیپرگلیسیریدمی و بیماری‌های قلبی-عروقی هم ثابت شد (Demougeot *et al*., 2004). ون و همکاران هم در سال ۱۹۹۵ با توجه به نقش استرس اکسیداتیو به عنوان عامل احتمالی در ایجاد نوروپاتی دیابتی و این‌که کمبود منیزیم سبب افزایش آسیب‌پذیری در برابر آسیب ناشی از استرس اکسیداتیو می‌شود، منیزیم خوراکی را به عنوان یک آنتی‌اکسیدان در درمان دیابت، موثر گزارش کردند (Van *et al*., 1995). همچنین روسانف و همکاران در سال ۲۰۱۲ بیان کردند که منیزیم در بهبود دیابت نوع ۲ در بیماران مبتلا به PCOS موثر است، زیرا در فرآیندهای سلولی شرکت دارد و به‌ویژه عملکرد آن به عنوان یک کوفاکتور در مورد آنزیم‌های دخیل در سوخت و ساز انرژی می‌باشد (Rosanoff *et al*., 2012). دی سوسا روچا و همکاران هم در سال ۲۰۱۵ اثر منیزیم و ارتباط آن با استرس اکسیداتیو و التهاب در زنان مبتلا به پره‌اکلامپسی (pre-eclampsia) را بررسی کردند که نتیجه تحقیق آن‌ها نشان داد، منیزیم باعث بهبود عدم تعادل هومئوستاتیک و تغییرات فیزیولوژیکی در عارضه مذکور می‌شود. همچنین نامبردگان گزارش کردند که منیزیم با غلظت آنزیم‌های CAT و GPX ارتباط داشته‌است (De Sousa Rocha *et al*., 2015).

خاریتونوا و همکاران نیز در سال ۲۰۱۵ نشان دادند که کمبود منیزیم باعث تضعیف دفاع آنتی‌اکسیدانی و باعث افزایش استرس اکسیداتیو با ایجاد التهاب، اختلال عملکرد اندوتلیال، اختلال در میتوکندری و تولید بیش از حد اسیدهای چرب می‌شود (Kharitonova *et al*., 2015). ملاحظه می‌گردد که یافته‌های پژوهش حاضر هم در توافق با نتایج تحقیقات مذکور تاییدکننده خاصیت آنتی‌اکسیدانی منیزیم می‌باشد. همان‌طور که ذکر گردید نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تیمار سولفات منیزیم باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی SOD، CAT و GPX شده‌است (نمودارهای ۱ تا ۳). در این ارتباط ماتوویک و همکاران در سال ۲۰۱۲ اثرات درمانی منیزیم را بر استرس اکسیداتیو کبد موش تیمارشده با کادمیوم بررسی کردند که طبق گزارشات آن‌ها منیزیم اثر مثبتی در این زمینه داشت، به‌طوری‌که میزان فعالیت آنزیم‌های SOD، CAT و GPX افزایش و مقدار MDA کاهش پیدا کرد (Matovic *et al*., 2012). عیدی و همکاران هم در سال ۲۰۱۳ اثر محافظتی سولفات منیزیم را در برابر آسیب کبدی ناشی از تتراکلرید کربن بررسی کردند که طبق گزارش آن‌ها ترکیب مذکور دارای پتانسیل مناسبی برای درمان آسیب کبدی ناشی از مسمومیت شیمیایی بوده و همچنین پارامترهای استرس اکسیداتیو در بافت کبد موش‌صحرایی را کاهش می‌دهد (Eidi *et al*., 2013). همچنین عیدی و همکاران در سال ۲۰۱۵ گزارش کردند که سولفات منیزیم در قبال آسیب کبدی کلستازی (cholestasis) دارای اثرات مفید بوده و موجب بهبود سطوح سرمی آلبومین، بیلی‌روبین، کلسترول تام، تری‌گلیسرید و LDL شده و میزان SOD

را افـزایش داده‌اسـت (Eidi *et al.*, 2015). آزلیانـا و همکاران هم در سـال ۲۰۱۷ اثـر منیـزیم را بـر اسـترس اکسیداتیو و آپوپتوز سـلول‌هـای شـبکیه در مـوش‌هـای صحرایی بررسی کردند که بر طبق گزارش آن‌ها منیـزیم اثر محافظتی آنتی‌اکسیدانی داشته و از آپوپتوز سلول‌های شبکیه جلوگیری کرده و نیز باعث افزایش فعالیت آنزیم SOD می‌شـود (Azliana *et al.*, 2017). بنـابر نتـایج تحقیق حاضر و پژوهش‌هـای ذکرشـده، می‌تـوان نقـش منیزیم را به‌عنوان یک عنصـر آنتـی‌اکسـیدان در کـاهش میزان استرس اکسیداتیو در بافت‌های مختلـف از جملـه تخمدان در نظر گرفت.

با جمع‌بندی یافته‌های تحقیق حاضر، می‌توان نتیجه گرفت که منیـزیم بـه عنـوان یـک مـاده آنتـی‌اکسـیدان می‌تواند از طریق مهار رادیکال‌های آزاد و از بـین بـردن استرس اکسیداتیو باعث کاهش آسیب در بافت تخمدان شود. در واقع در مطالعه حاضر که اثر سولفات منیزیم بر آسیب تخمدانی القاءشده توسط لتروزول مـورد بررسـی قرار گرفت، مشخص شد که تیمار با سولفات منیزیم در یک روند وابسته به دوز می‌تواند باعث بهبـود و کـاهش شدت آسـیب تخمـدانی شـود. بـا ایـن حـال مطالعـات بیشـــتری جهـــت شـــناخت مکانیســـم و عملکـــرد آنتی‌اکسیدانی سولفات منیزیم ضروری به‌نظر می‌رسد.

سپاسگزاری

نویسـندگان از معاونـت پژوهشـی واحـد علـوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی بـه خـاطر تـامین هزینـه اجرای این تحقیق قدردانی می‌نمایند.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام مـی‌دارنـد کـه هـیچ‌گونـه تضـاد منافعی ندارند.

منابع

- Azliana, J., Jafria, A., Najwa, N., Arfuzir, N., Lambuk, L., Iezhitsa, I., *et al*. (2017). Protective effect of magnesium acetyltaurate against NMDA-induced retinal damage involves restoration of minerals and trace elements homeostasis. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, 39: 147-154.
- Barbagallo, M., Dominguez, L.J., Galioto, A., Ferlisi, A., Cani, C., Malfa, L., *et al.* (2003). Role of magnesium in insulin action, diabetes and cardio-metabolic syndrome X. Molecular Aspects of Medicine, 24(1-3): 39-52.
- Casper, R.F. and Mitwally, M.F. (2011). Use of the aromatase inhibitor letrozole for ovulation induction in women with polycystic ovarian syndrome. Clinical Obstetrics and Gynecology, 54(4): 685-695.
- Chen, P.C., Guo, C.H., Tseng, C.J., Wang, K.C. and Liu, P.J. (2013). Blood trace minerals concentrations and oxidative stress in patients with obstructive sleep apnea. Journal of Nutrition Health and Aging, 17(8): 639-644.

- Choi, Y.H., Miller, J.M., Tucker, K.L., Hu, H. and Park, S.K. (2014). Antioxidant vitamins and magnesium and the risk of hearing loss in the US general population. American Journal of Clinical Nutrition, 99(1): 148-155.
- Demougeot, C., Bobillier–chaumonts, C., Mossiat, C. and Berthelot, A. (2004). Effect of diets with different magnesium content in ischemic stroke rats. Neuroscience Letters, 362(1): 17-20.
- De Sousa Rocha, V., Della Rosa, F.B., Ruano, R., Zugaib, M. and Colli, C. (2015). Association between magnesium status, oxidative stress and inflammation in preeclampsia: A case–control study. Clinical Nutrition, 34(6): 1166-1171.
- Ehrmann, D.A. (2012). Metabolic dysfunction in PCOS: relationship to obstructive sleep apnea. Steroids, 77(4): 290-294.
- Eidi, A., Mortazavi, P., Moradi, F., Haeri Rohani, A. and Safi, Sh. (2013). Magnesium attenuates carbon tetrachloride-induced hepatic injury in rats. Magnesium Research, 26(4): 165-175.
- Eidi, A., Eshraghi, T., Mortazavi, P., Asghari, A. and Tavangar, M. (2015). Magnesium protects against bile duct ligation-induced liver injury in male Wistar rats. Magnesium Research, 28(1): 32-45.
- Fenkci, V., Fenkci, S., Yilmazer, M. and Serteser, M. (2003). Decreased total antioxidant status and increased oxidative stress in women with polycystic ovary syndrome may contribute to the risk of cardiovascular disease. Fertility and Sterility, 80(1): 123-127.
- Fung, T.T., Manson, J.E., Solomon, C.G., Liu, S., Willett, W.C. and Hu, F.B. (2003). The association between magnesium intake and fasting insulin concentration in healthy middle-aged women. Journal of American College of Nutrition, 22(6): 533-538.
- Goodarzi, M.O., Dumesic, D.A., Chazenbalk, G. and Azziz, R. (2011). Polycystic ovary syndrome: etiology, pathogenesis and diagnosis. Nature Reviews Endocrinology, 7: 219-231.
- Goth, L. (1991). A simple method for determination of serum catalase activity and revision of reference range. Clinica Chimica Acta, 196(2-3): 143-152.
- Huang, Ch.Y., Liou, Y.F., Chung, S., Lin, Y., Jong, G.P., Kuo, C.H., *et al*. (2010). Role of erk signaling in the neuroprotective efficacy of magnesium sulfate treatment during focal cerebral ischemia in the gerbil cortex. Chinese Journal of Physiology, 53(5): 299-309.
- Kafali, H., Iriadam, M., Ozardali, I. and Demir, N. (2004). Letrozole-induced polycystic ovaries in the rat: a new model for cystic ovarian disease. Archives of Medical Research, 35(2): 103-108.
- Kharitonova, M., Iezhitsa, I., Zheltova, A., Ozerov, A., Spasov, A. and Skalny, A. (2015). Comparative angioprotective effects of magnesium compounds. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, 29: 227-234.
- Manmohan, K., Purnima, M., Pradeepkumar, M. and Rupali, M. (2012). The role of magnesium sulphate in tuberculous meningitis. Journal of Clinical and Diagnostic Research, 6(5): 848-850.
- Marklund, S. and Marklund, G. (1974). Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. European Journal of Biochemistry, 47(3): 469-474.
- Massy, Z.A. and Drueke, T.B. (2012). Magnesium and outcomes in patients with chronic kidney disease: focus on vascular calcification, atherosclerosis and survival. Clinical Kidney Journal, 5(1): 52-61.

- Mather, H.M., Nisbet, J.A., Burton, G.H., Poston, G.J., Bland, J.M., Bailey, P.A., *et al*. (1979). Hypomagnesaemia in diabetes. Clinica Chimica Acta, 95(2): 235-242.
- Matovic, V., Buha, A., Bulat, Z., Dukic-Cosic, D., Miljkovic, M., Ivanisevic, J., *et al*. (2012). Route-dependent effects of cadmium/ cadmium and magnesium acute treatment on parameters of oxidative stress in rat liver. Food and Chemical Toxicology, 50(3-4): 552-557.
- Morais, J.B., Severo, J.S., Santos, L.R., de Sousa Melo, S.R., de Oliveira Santos, R., de Oliveira, A.R., *et al*. (2017). Role of magnesium in oxidative stress in individuals with obesity. Biological Trace Element Research, 176(1): 20-26.
- Murri, M., Luque-Ramırez, M., Insenser, M., Ojeda, M. and Escobar, H.F. (2013). Circulating markers of oxidative stress and polycystic ovary syndrome (PCOS): a systematic review and meta-analysis. Human Reproduction Update, 19(3): 268-288.
- Paglia, D.E. and Valentine, W.N. (1967). Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. Journal of Laboratory Clinical Medicine, 70(1): 158-169.
- Pallares, P. and Gonzalez, A. (2009). A new method for induction and synchronization of oestrus and fertile ovulations in mice by using exogenous hormones. Laboratory Animals, 43(3): 295-299.
- Rezvanfar, M.A., Ahmadi, A., Shojaei Saadi, H.A., Baeeri, M. and Abdollahi, M. (2012). Molecular mechanisms of a novel selenium based complementary medicine which confers protection against hyperandrogenism-induced polycystic ovary. Theriogenology, 78(3): 620-631.
- Rezvanfar, M.A., Shojaei Sadi, H.A., Gooshe, M., Abdolghaffari, A.H., Baeeri, M. and Abdollahi, M. (2014). Ovarian aging-like phenotype in the hyperandrogenism-induced murine model of polycystic ovary. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2014: 948-951.
- Rosanoff, A., Weaver, C.M. and Rude, R.K. (2012). Suboptimal magnesium status in the United States: are the health consequences underestimated. Nutrition Reviews, 70(3): 153-164.
- Ruder, E.H., Hartman, T.J., Blumberg, J. and Goldman, M.B. (2008). Oxidative stress and antioxidants: exposure and impact on female fertility. Human Reproduction Update, 14(4): 345-57.
- Shi, D. and Vine, D. (2012). Animal models of polycystic ovary syndrome: a focused review of rodent models in relationship to clinical phenotypes and cardiometabolic risk. Fertility and Sterility, 98(1): 185-193.
- Showell, M.G., Brown, J., Clarke, J. and Hart, R.J. (2013). Antioxidants for female subfertility. Cochrane Database of Systematic Reviews, 8(CD007807): 45-52.
- Sun, X., Mei, Y. and Tong, E. (2000). Effect of magnesium on nitric oxide synthase of neurons in cortex during early period of cerebral Ischemia. Journal of Tongji Medical University, 20(1): 135-142.
- Sun, J., Jin, C., Wu, H., Zhao, J., Cui, Y., Liu, H., *et al*. (2013). Effects of electro-acupuncture on ovarian P450arom, P450c17a and mRNA expression induced by letrozole in PCOS rats. PLOS One, 8(11): 782-793.
- Thomson, R.L., Buckley, J.D., Lim, S.S., Noakes, M., Clifton, P.M., Norman, R.J., *et al*. (2010). Lifestyle management improves quality of life and depression in overweight and obese women with polycystic ovary syndrome. Fertility and Sterility, 94(5): 1812-1816.

- Vakilian, K., Ranjbar, A., Zarganjfard, A., Mortazavi, M., Vosough-Ghanbari, S., Mashaiee, S., *et al*. (2009). On the relation of oxidative stress in delivery mode in pregnant women; a toxicological concern. Toxicology Mechanisms and Methods, 19(2): 94-99.
- Van Dam, P.S., Van Asbeck, B.S., Erkelens, D.W., Marx, J.J.M., Gipsen, W.H. and Bravenboet, B. (1995). The role of oxidative stress in neuropathy and other diabetic complications. Diabetes Metabolism Research and Reviews, 11(3): 181-192.
- Van Voorhis, B.J., Dunn, M.S., Snyder, G.D. and Weiner, C.P. (1994). Nitric oxide: an autocrine regulator of human granulosa-luteal cell steroidogenesis. Endocrinology, 135(5): 1799-1806.
- Veltman-Verhulst, S.M., Boivin, J., Eijkemans, M.J. and Fauser, B.J. (2012). Emotional distress is a common risk in women with polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis of 28 studies. Human Reproduction Update, 18(6): 638-651.
- Wolf, G., Keilhoff, G., Fischer, S. and Hass, P. (1990). Subcutaneously applied magnesium protects reliably against quinolinate-induced N-methyl-D-aspartate (NMDA)-mediated neurodegeneration and convulsions in rats: are there therapeutical implications. Neuroscience Letters, 117(1-2): 207-211.
- Zurvarra, F.M., Salvetti, N.R., Mason, J.I., Velazquez, M.M., Alfaro, N.S. and Ortega, H.H. (2009). Disruption in the expression and immunolocalization of steroid receptors and steroidogenic enzymes in letrozole-induced polycystic ovaries in rat. Reproduction, Fertility and Development, 21(7): 827-839.