Feyz Medical Sciences Journal
2024, Volume 28, Issue 2
Pages: 123-131
Doi: 10.48307/FMSJ.2024.28.2.123
Original Article

The effect of intraovarian injection of platelet-rich plasma on ovarian morphology and insulin resistance in polycystic ovary syndrome (PCOS) rats

Mojtaba Sarvestani [1], Alireza Rajabzadeh [2], Gholamreza Ghavipanjeh [1*], Tahereh Mazoochi [2], Morteza Salimian [3]

[1] Physiology Research Center, Institute for Basic Sciences, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran
[2] Anatomical Sciences Research Center, Kashan University of Medical Sciences, Iran
[3] Department of medical laboratory, Faculty of Paramedical Sciences, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran

[*]**Corresponding author: Gholamreza Ghavipanjeh**, Physiology Research Center, Institute for Basic Sciences, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran
Email: rghp2017@gmail.com

Received: 8 February 2024 **Revised:** 19 May 2024 **Accepted:** 19 May 2024

Abstract

Background and Aim: Polycystic ovary syndrome (PCOS) is a multifaceted endocrine and infertility disorder characterized by symptoms such as insulin resistance, hyperandrogenism, anovulation, and ovarian cysts. This study aimed to examine the effect of intraovarian injection of platelet-rich plasma (PRP) on ovarian morphology and insulin resistance in a PCOS rat model.

Methods: In this experimental study, 20 Wistar rats were divided into four groups (N=5): control, sham, PCOS, and PCOS group treated with PRP. PCOS was induced using 1 mg/kg of letrozole dissolved in 0.5% carboxymethyl cellulose. The PRP group received 35 microliters of PRP injected directly into both ovaries. After 14 days of treatment, serum insulin levels, blood glucose, and the insulin resistance index (HOMA-IR) were measured. Ovarian tissue sections were also examined for histopathological changes and follicle count.

Results: Intraovarian injection of PRP led to a significant decrease in serum insulin levels ($P<0.01$) and glucose levels ($P<0.01$) compared to the PCOS group. The PRP-treated groups exhibited a significant reduction in the insulin resistance index (HOMA-IR) ($P<0.0001$). Histological analysis demonstrated that a single dose of PRP improved the ovarian pathological condition, resulting in a significant increase in healthy follicles at all developmental stages and corpus luteum ($P<0.0001$), along with a significant decrease in cystic follicles ($P<0.0001$).

Conclusion: Intraovarian PRP injection may ameliorate PCOS symptoms, including ovarian morphology and insulin resistance. However, further studies are necessary to elucidate the underlying mechanisms of PRP's effectiveness.

Keywords: Polycystic ovary syndrome, Platelet-rich plasma, Insulin resistance, Rat

Copyright© 2024. This open-access article is published under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License which permits Share (copy and redistribute the material in any medium or format) and Adapt (remix, transform, and build upon the material) under the Attribution-NonCommercial terms. Downloaded from: http://feyz.kaums.ac.ir/

مجله علوم پزشکی فیض
دوره ۲۸، شماره ۲، خرداد و تیر ۱۴۰۳
صفحات:۱۳۱-۱۲۳
Doi: 10.48307/FMSJ.2024.28.2.123
اصیل پژوهشی

تاثیر تزریق داخل تخمدانی پلاسمای غنی از پلاکت بر مورفولوژی تخمدان و مقاومت به انسولین در موش صحرایی مدل سندرم تخمدان پلی کیستیک (PCOS)

مجتبی سروستانی [۱]، علیرضا رجب زاده [۲]، غلامرضا قوی پنجه [۱*]، طاهره مازوچی [۲]، مرتضی سلیمیان [۳]

[۱] مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران
[۲] مرکز تحقیقات علوم تشریح، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران
[۳] گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

دریافت مقاله: ۱۴۰۲/۱۱/۱۹ **اصلاح مقاله:** ۱۴۰۳/۰۲/۳۰ **پذیرش مقاله:** ۱۴۰۳/۰۲/۳۰

چکیده

زمینه و هدف: سندرم تخمدان پلی کیستیک (PCOS) یک اختلال اندوکرینی و ناباروری پیچیده است که با علائم مختلفی مانند مقاومت به انسولین، هایپرآندروژنیسم، عدم تخمک‌گذاری و وجود کیست در تخمدان مشخص می‌شود. این مطالعه با هدف تعیین تاثیر تزریق داخل تخمدانی پلاسمای غنی از پلاکت (PRP) بر مورفولوژی تخمدان و مقاومت به انسولین در موش صحرایی مدل PCOS انجام شد.

روش‌ها: در این مطالعه تجربی، ۲۰ سر موش صحرایی نژاد ویستار به ۴ گروه (N=۵): کنترل، Sham، PCOS و گروه PCOS تیمار شده با PRP تقسیم شدند. برای القای PCOS از گاواژ مقدار ۱ mg/kg لتروزول محلول در کربوکسی متیل سلولز ۰/۵ درصد استفاده شد. برای گروه تیمار شده با PRP، مقدار ۳۵ میکرولیتر از PRP به‌طور مستقیم داخل هر دو تخمدان تزریق گردید. پس از دوره ۱۴ روزه تریتمنت، سطح سرمی انسولین، گلوکز خون و شاخص مقاومت به انسولین (HOMA-IR) اندازه گیری شد. همچنین برش‌های بافتی از تخمدان زده شد و تغییرات هیستوپاتولوژیک و تعداد فولیکول‌ها بررسی گردید.

یافته‌ها: در مقایسه با گروه PCOS، تزریق داخل تخمدانی PRP سبب کاهش معنی داری در سطح سرمی انسولین (P<۰/۰۱) و گلوکز (P<۰/۰۱) شد. گروه های دریافت کننده PRP کاهش معنی‌داری در مقدار شاخص مقاومت با انسولین (HOMA-IR) را نشان دادند (P<۰/۰۰۰۱). یافته‌های بافت شناسی نشان داد تیمار تک دوز با PRP سبب بهبود وضعیت پاتولوژیک تخمدان از جمله افزایش معنی‌دار تعداد فولیکول‌های سالم (در همه مراحل تکاملی) و جسم زرد (P<۰/۰۰۰۱) و کاهش معنی‌دار تعداد فولکیول‌های کیستیک شد (P<۰/۰۰۰۱).

نتیجه‌گیری: تزریق PRP می‌تواند سبب بهبود علائم PCOS از جمله مورفولوژی تخمدان و مقاومت به انسولین شود. با این حال مطالعات بیشتری برای بررسی مکانیسم‌های اثرگذاری PRP مورد نیاز است.

کلیدواژه‌ها: سندرم تخمدان پلی‌کیستیک، پلاسمای غنی از پلاکت، مقاومت به انسولین، رت

*نویسنده مسئول: **غلامرضا قوی پنجه**، پست الکترونیک: rghp2017@gmail.com
آدرس: مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

مقدمه

سندرم تخمدان پلی‌کیستیک (PCOS) شایع‌ترین بیماری اختلال تولیدمثلی و متابولیک در زنان در سنین باروری می‌باشد و علی‌رغم مطالعات متعدد، هنوز درمان قطعی برای آن پیدا نشده است. این بیماری بین ۱۵ تا ۲۰ درصد زنان در سنین باروری را تحت تاثیر قرار می‌دهد [۱]. برای تشخیص بالینی PCOS وجود حداقل دو مورد از موارد اختلالات هایپرآندروژنیسم، اختلالات قاعدگی مانند الیگوآمنوره و آمنوره و همچنین دیسپلازی فولیکولی (وجود فولیکول‌های کیستیک متعدد) ضروری می‌باشد [۲]. PCOS همچنین با افزایش خطر ابتلاء به چاقی، بیماری‌های قلبی- عروقی و دیابت نوع ۲ همراه است [۳]. از جمله مهمترین دلایل ایجاد این سندرم می‌توان به نقص در عملکرد محور هیپوتالاموس- هیپوفیز و متعاقب آن تغییر الگوی ترشح هورمون‌های جنسی مانند LH و FSH اشاره کرد [۴]. اختلالات تخمدان و تخمک گذاری یکی از معیارهای مهم تشخیصی برای PCOS است. بین ۷۰ تا ۸۰ درصد زنان مبتلا به PCOS دارای الیگوآمنوره (قاعدگی‌های کم تکرار و با فواصل طولانی مدت) و آمنوره (فقدان قاعدگی) هستند. علاوه بر این زنان مبتلا به PCOS دارای تخمدان بزرگ به همراه استرومای هایپرتروفیک می‌باشند. در این زنان علیرغم وجود تعداد زیاد فولیکول به دلایلی از جمله کاهش سطح هورمون‌های پروژسترون و FSH و همچنین نرخ بالای آپوپتوز سلول‌های گرانولوزا، رشد و تکامل فولیکولی متوقف می‌شود. علاوه بر این حدود ۷۵ درصد از بیماران مبتلا به PCOS با مقاومت به انسولین (IR) همراه هستند. مقاومت به انسولین به عدم واکنش به انسولین در بافت‌های هدف انسولین مانند ماهیچه اسکلتی، چربی و کبد گفته می‌شود [۵]. IR سبب اختلال در متابولیسم گلوکز ازجمله مهار لیپولیز و تحریک سنتز گلیکوژن می‌گردد. همچنین IR ایجاد شده سبب افزایش جبرانی تولید انسولین در سلول‌های بتا و در نتیجه ایجاد هایپرانسولینمی می‌شود [۶].

تاکنون روش‌های مختلفی اعم از دارویی و غیردارویی برای درمان این سندرم به کار گرفته شده است و از مهمترین داروهای رایج برای درمان این بیماری می‌توان به متفورفین و کلومیفن سیترات اشاره کرد. اما با توجه به بروز عوارض جانبی متعدد گزارش شده ناشی از مصرف این داروها، بررسی روش‌های درمانی جایگزین با کمترین عوارض جانبی و بالاترین میزان اثرگذاری ضروری می‌نماید [۷].

پلاسمای غنی از پلاکت (PRP) یک محصول اتولوگ مشتق از خون می‌باشد که حاوی غلظت بالایی از پلاکت است که از طریق سانتریفیوژ نمونه خون بدست می آید. برای اولین بار در سال ۱۹۷۰ هماتولوژیست‌ها این محصول را برای درمان بیماران مبتلا به ترومبوسیتوپنی پیشنهاد دادند [۸]. این محصول برای درمان تعداد زیادی از بیماری‌ها از جمله ترمیم زخم، آسیب‌های اسکلتی و تاندون [۹]، آلوپسی و درماتولوژی [۱۰] استفاده شده است. همچنین گزارش شده که PRP دارای خواص ضد التهابی قابل توجهی می‌باشد [۱۱]. پلاکت‌ها قطعات کوچک سلولی بدون هسته‌ای هستند که دارای سه نوع گرانول داخلی به نام گرانول متراکم، لیزوزوم و گرانول‌های آلفا می‌باشند. گرانول‌های آلفا که قسمت عمده ترشحات پلاکت را به خود اختصاص می‌دهند دارای فاکتورهای مهمی نظیر فاکتورهای رشد آندوتلیال عروقی، آنژیوژنین و فاکتورهای رشد مختلف مانند فاکتور رشد مشتق از پلاکت (PDGF)، فاکتور رشد اپیدرمی (EGF)، فاکتور رشد شبه انسولینی (IGF) و فاکتور رشد تغییر شکل دهنده بتا (TGF-β) هستند [۱۲]. نتایج مطالعات نشان می‌دهد هنگامی که این فاکتورها ترشح می‌شوند سبب رشد، تکثیر و تمایز سلول‌های مختلف می‌گردند. علاوه بر این، این فاکتورها از طریق افزایش میزان آنژیوژنز، کلاژن، الاستین و ماده بین سلولی سبب ترمیم بافت می‌شوند [۱۳]. در سال‌های اخیر پلاسمای غنی از پلاکت جایگاه ویژه‌ای برای درمان بیماری‌های ناباروری پیدا کرده است. به‌طور مثال در مطالعات متعددی تزریق پلاسمای غنی از پلاکت سبب افزایش ضخامت آندومتر در بیماران مبتلا به اندومتر نازک گردیده است [۱۴]. همچنین گزارش شده تزریق داخل تخمدانی پلاسمای غنی از پلاکت سبب بهبود علائم بیماران با پاسخ ضعیف به تحریک گنادوتروپین می‌شود [۱۵]. در مطالعه دیگری، پلاسمای غنی از پلاکت توانست ضخامت آستر آندومتر را به حدود ۱۰ میلی‌متر برساند که نسبت به بیماران اندومتریوم نازک با ضخامت کمتر از ۷ میلی‌متر تفاوت معناداری را رقم زده است [۱۶]. علاوه بر این، نتایج یک مطالعه که در مدل حیوانی PCOS انجام شد نشان داد تزریق داخل تخمدانی PRP سبب بهبود پروفایل هورمونی و افزایش تعداد رسپتورهای استروژن گردید [۱۷].

با توجه به مطالب ذکر شده، این مطالعه با هدف تعیین اثر PRP بر تعداد فولیکول‌ها، گلوکز، انسولین ناشتا و شاخص مقاومت به انسولین در مدل حیوانی PCOS انجام شد.

روش‌ها

در این مطالعه تجربی از ۲۰ سر موش صحرایی ماده، نژاد ویستار با میانگین وزن ۲۰۰ تا ۲۲۰ گرم استفاده شد. موش‌های صحرایی از مرکز تکثیر و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی کاشان تهیه شدند و تحت شرایط استاندارد آزمایشگاهی (۲۱-۲۳ درجه سانتی گراد، دوره روشنایی /تاریکی ۱۲ ساعته و رطوبت نسبی ۵۰ درصد) به همراه دسترسی آزادانه به آب و غذا ، نگهداری شدند [۱۸].

تست اسمیر واژن

در این مطالعه از موش‌های هم سیکل که دارای حداقل ۲ سیکل جنسی منظم بودند استفاده شد. بدین منظور از تست اسمیر واژینال استفاده گردید. به‌طور خلاصه، مقدار ۵۰ میکرولیتر از سرم

فیزیولوژی به وسیله یک سمپلر به آرامی به درون واژن موش تزریق و چندین بار پیپتاژ شد. سپس چندین قطره از سرم فیزیولوژی برداشته شد و روی یک لام قرار داده شد و با میکروسکوپ نوری بررسی گردید. در این مرحله تنها موش‌هایی که در مرحله استروس بودند انتخاب شدند. لازم به ذکر است مهمترین مشخصه این مرحله، وجود تعداد زیاد سلول‌های شاخی و عدم وجود لکوسیت ها هستند [۱۹].

طراحی مطالعه

تعداد ۲۰ سر موش هم سیکل به ۴ گروه (N=۵) تقسیم شدند:

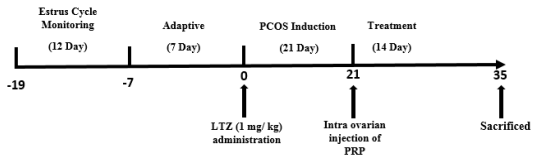
۱) گروه کنترل: بدون دریافت هیچ گونه مداخله ای

۲) گروه Sham: دریافت کربوکسی متیل سلولز ۰/۵ درصد به صورت گاواژ به‌مدت ۲۱ روز و انجام جراحی در روز ۲۲ و تزریق داخل تخمدانی مقدار ۳۵ میکرولیتر نرمال سالین

۳) گروه PCOS: دریافت مقدار mg/kg ۱ لتروزول روزانه و به مدت ۲۱ روز به صورت گاواژ

۴) گروه PCOS+ PRP دریافت مقدار mg/kg ۱ لتروزول روزانه و به مدت ۲۱ روز به صورت گاواژ و همچنین دریافت مقدار ۳۵ میکرولیتر PRP، به صورت تک دوز و در روز ۲۲

برای القای سندرم تخمدان پلی کیستیک از گاواژ روزانه مقدار mg/kg ۱ داروی لتروزول (Aburaihan, Iran) محلول در کربوکسی متیل سلولز ۰/۵ درصد استفاده گردید.



شکل۱. Time line انجام پژوهش

آماده سازی PRP

یک موش تحت بیهوشی با ترکیبی از کتامین (mg/kg ۱۰) و زایلازین (۱۰mg/kg) قرار گرفت. با استفاده از یک سرنگ یکبار مصرف ۵ میلی‌لیتری حاوی سدیم سیترات ۳/۸ درصد، از قلب خون گرفته شد. برای تهیه PRP ابتدا نمونه خون به مدت ۲۰ دقیقه در دور ۱۶۰rpm سانتریفیوژ شد. سپس تمام محتوی پلاسما به لوله دیگری منتقل شد و مجدداً به‌مدت ۱۵ دقیقه در دور rpm ۴۰۰ سانتریفیوژ شد. حدود دوسوم بالایی پلاسما دو ریخته شد و یک سوم پایینی به‌عنوان PRP برداشته شد [۱۷].

جراحی و تزریق PRP

برای تزریق PRP، موش‌ها تحت بیهوشی با استفاده از مخلوط کتامین (mg/kg ۱۰) و زایلازین (۱۰mg/kg) قرار گرفتند. سپس تحت شرایط استریل یک برش در سطح پشتی و نزدیک به کمر زده شد تا تخمدان محصور در چربی نمایان شود. سپس با استفاده از یک سرنگ استریل مقدار ۳۵ میکرولیتر از PRP (به‌صورت تازه آماده شده) به داخل هر دو تخمدان تزریق شد [۲۰].

نمونه برداری

پس از دوره درمان ۱۴ روزه، موش‌ها به مدت ۱۲ ساعت در حالت ناشتا نگه داری شدند و سپس با استفاده از کتامین (mg/kg ۱۰) و زایلازین (۱۰mg/kg) بیهوش شدند. با استفاده از سرنگ ml ۵ به طور مستقیم از قلب، خون گرفته شد و سرم با استفاده از سانتریفیوژ به مدت ۱۰ دقیقه و با سرعت ۴۵۰۰ دور بر دقیقه جداسازی گردید [۲۱]. سرم خون تا زمان بررسی های هورمونی در دمای ۲۰- درجه نگهداری شد. همچنین تخمدان موش ها برای بررسی‌های هیستولوژی در فرمالین ۱۰ درصد فیکس شدند.

تست بیوشیمیایی

سطح سرمی هورمون انسولین با روش الایزا و با کیت مخصوص (Fine Test, China) اندازه‌گیری شد. سطح گلوکز خون با کیت گلوکز (ParsAzmon,Iran) اندازه‌گیری گردید. برای بررسی شاخص مقاومت به انسولین از روش HOMA-IR استفاده شد:

HOMA-IR index = fasting serum glucose (mg/dL) × fasting serum insulin (μIU/L) /405

برش بافتی

برای بررسی‌های هیستوپاتولوژیکی، با میکروتوم برش‌های سریالی به ضخامت ۵ میکرون از تخمدان زده شد و با هماتوکسیلین و ائوزین رنگ‌آمیزی گردید. برای جلوگیری از شمارش مجدد فولیکول‌های بزرگ، از هر ۱۰ برش یک برش و در مجموع ۵ برش انتخاب شد. سپس تعداد فولیکول‌های بدوی، اولیه، ثانویه، آنترال، جسم زرد و همچنین فولیکول‌های کیستیک شمارش شدند.

آنالیز آماری

برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزار آماری GraphPad Prism نسخه ۹ استفاده شد. از آزمون کولموگروف- اسمیرنوف برای بررسی نرمال بودن توزیع داده‌ها و آزمون One-Way ANOVA و TUKEY برای مقایسه اختلاف بین گروه‌ها استفاده شد. همچنین نتایج به صورت میانگین + انحراف معیار گزارش گردید و مقدار P<۰/۰۵ به‌عنوان معیار معنی‌دار بودن در نظر گرفته شد.

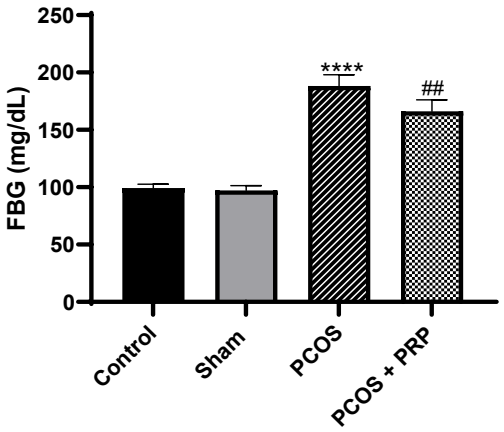
ملاحظات اخلاقی

در این مطالعه ملاحظات اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی ثبت شده در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی کاشان رعایت شد. این مطالعه دارای کد اخلاق از کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی کاشان (IR.KAUMS.AEC.1401.002) می‌باشد.

نتایج

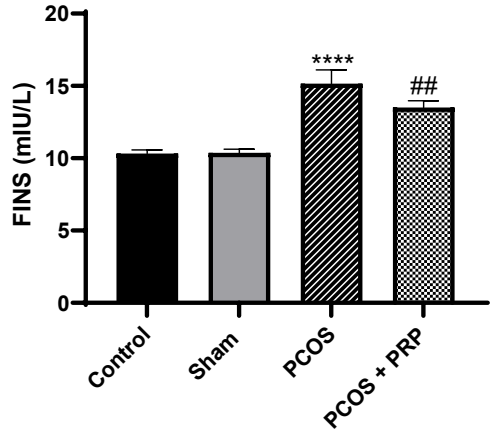
نمودار-۱ سطح گلوکز ناشتا را در گروه کنترل، Sham، PCOS و گروه PCOS تیمار شده با PRP نشان می‌دهد. اختلاف معناداری بین گروه کنترل و Sham مشاهده نشد (P>۰/۰۵). سطح

گلوکز ناشتا در گروه PCOS نسبت به گروه Sham به‌طور معناداری افزایش پیدا کرد (P<۰/۰۰۰۱). نسبت به گروه PCOS تزریق داخل تخمدانی PRP توانست سطح گلوکز ناشتا را به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه PCOS کاهش دهد (P<۰/۰۱).



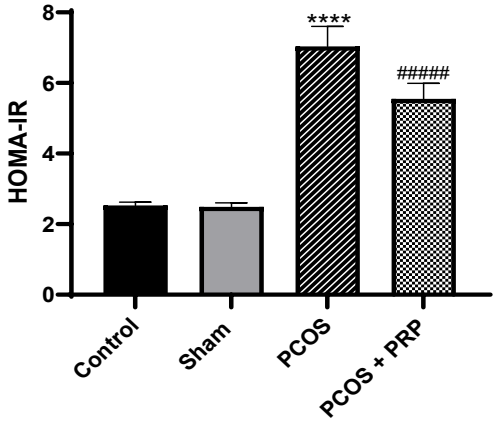
نمودار-۱. اثر PRP بر سطح گلوکز ناشتا
داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار نشان داده شده‌اند.
vs PCOS. P< ۰/۰۱ ##، vs Sham ****P<۰/۰۰۰۱

همچنین سطح هورمون انسولین در گروه‌های مورد مطالعه اندازه‌گیری و مقایسه شد. طبق نمودار-۲، اختلاف معناداری بین گروه کنترل و Sham مشاهده نشد (P>۰/۰۵). سطح سرمی هورمون انسولین ناشتا در گروه PCOS در مقایسه با گروه Sham به طور معنی‌داری افزایش پیدا کرد (P<۰/۰۰۰۱). در مقایسه با گروه PCOS تزریق داخل تخمدانی PRP سبب کاهش سطح انسولین شد که از لحاظ آماری معنی‌دار بود (P<۰/۰۱).



نمودار-۲. اثر PRP بر سطح انسولین ناشتا
داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار نشان داده شده‌اند.
vs PCOS. P< ۰/۰۱ ##، vs Sham ****P<۰/۰۰۰۱

طبق نمودار-۳، مقدار شاخص مقاومت به انسولین (HOMA-IR) تفاوت معنی‌داری بین گروه های کنترل و Sham نشان نداد (P>۰/۰۵). در گروه PCOS نسبت به گروه Sham شاخص مقاومت به انسولین (HOMA-IR) به‌طور معنی‌داری افزایش پیدا کرد (P<۰/۰۰۰۱). نسبت به گروه PCOS تیمار با PRP سبب کاهش شاخص مقاومت به انسولین HOMA-IR شد که از لحاظ آماری معنی‌دار بود (P<۰/۰۰۰۱).



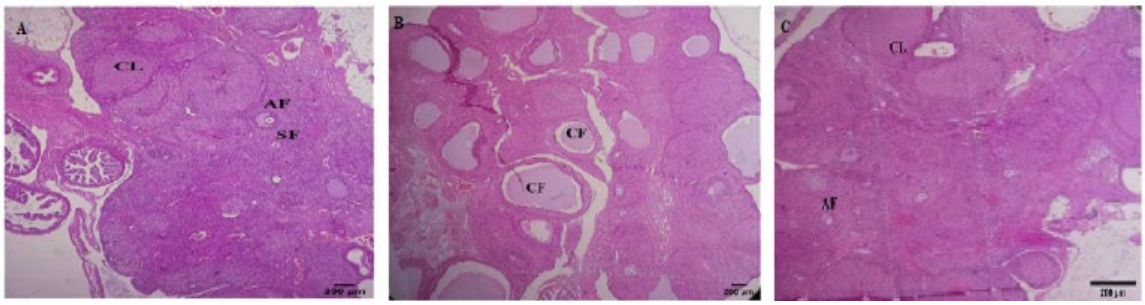
نمودار-۳. اثر PRP بر مقدار شاخص مقاومت به انسولین (HOMA-IR)
داده ها به صورت میانگین ± انحراف معیار نشان داده شده‌اند.
vs PCOS. P<۰/۰۱ ####، vs Sham ****P<۰/۰۰۰۱

ارزیابی هیستوپاتولوژیک

برای بررسی اثر PRP بر ساختار تخمدان، برش های تخمدان رنگ آمیزی شده با رنگ آمیزی H&E زیر میکروسکوپ بررسی شدند. تخمدان گروه‌های کنترل و Sham دارای ساختار مورفولوژیکی نرمال با وجود فولیکول‌های سالم در تمام مراحل تکاملی به همراه تعداد زیادی جسم زرد بود. همچنین هیچ گونه فولیکول کیستیک در این گروه‌ها مشاهده نشد.

بعد از القای PCOS تعداد فولیکول‌های سالم و جسم زرد کاهش پیدا کرد و فولیکول‌های کیستیک عمده فولیکول‌های مشاهده شده را تشکیل دادند. اگرچه تزریق PRP سبب بازیابی ساختار تخمدان شد و تعداد فولیکول‌های سالم و جسم زرد را افزایش و فولیکول‌های کیستیک را کاهش داد.

تعداد فولیکول‌ها سالم، جسم زرد و فولیکول‌های کیستیک در مقاطع بافتی گروه‌های مختلف شمارش و مقایسه شدند. نسبت به گروه Sham، تعداد فولیکول‌های بدوی (P<۰/۰۰۰۱)، اولیه (P<۰/۰۰۰۱)، ثانویه (P<۰/۰۰۰۱)، آنترال (P<۰/۰۰۰۱) و جسم زرد (P<۰/۰۰۰۱) در گروه PCOS به‌طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد. در مقایسه با گروه PCOS، درگروه‌های دریافت کننده PRP تعداد فولیکول‌های بدوی (P<۰/۰۰۰۱)، اولیه (P<۰/۰۱)، ثانویه (P<۰/۰۱)، آنترال (P<۰/۰۰۰۱) و جسم زرد (P<۰/۰۰۰۱) به طور معنی‌داری افزایش پیدا کرد. همچنین نسبت به گروه Sham تعداد فولیکول‌های کیستیک در گروه PCOS به‌طور معنی‌داری افزایش داشت (P<۰/۰۰۰۱) که بعد از درمان با PRP تعداد فولیکول‌ها کاهش معنی‌داری را نشان داد (P<۰/۰۰۰۱).



شکل ۳ . برش میکروسکوپی تخمدان گروه های A) کنترل، B) PCOS، C) PRP در تصویر B) بعد از القای PCOS عمده فولیکول‌ها را فولیکول‌های کیستیک تشکیل داده است و فولیکول‌های سالم به تعداد کمی مشاهده می‌شوند. در حالی که تزریق داخل تخمدانی PRP (C) سبب بازیابی ساختار تخمدان و افزایش تعداد فولیکول‌های سالم شد و همچنین تعداد فولیکول‌های کیستیک را کاهش داد (رنگ آمیزی هماتوکسیلین – ائوزین ۴ ×)
AF:Antral Follicle, SF:Secondary Follicle, CL: Corpus Luteum, CF: Cystic Follicle

جدول-۱. مقایسه تعداد فولیکول‌ها در بین گروه‌های مختلف

	فولیکول بدوی	فولیکول اولیه	فولیکول ثانویه	فولیکول آنترال	جسم زرد	فولیکول کیستیک
کنترل	۶۶/۰±۳۳/۱۸	۲۵/۰±۳۹/۱۲	۲۵/۰±۳۹/۳	۰۸/۰±۷۳/۱	۲۵/۰±۳۹/۱۲	۰۰/۰±۰۰/۰
Sham	۵۲/۰±۴۱/۱۸	۲۱/۰±۷۱/۱۲	۱۳/۰±۲۶/۳	۰۷/۰±۶۱/۱	۲۱/۰±۷۱/۱۲	۰۰/۰±۰۰/۰
PCOS	****۹۵/۰±۹۷/۲	****۱۲/۱±۵۳/۱	****۱۶/۰±۸۲	****۱۲/۰±۲۴/۰	****۱۲/۱±۵۳/۱	****۹۹/۰±۰۱/۱۹
PCOS+ PRP	#### ۴۶/۱±۷۷/۸	###۵۰/۰±۳۶/۵	###۲۱/۰±۴۵/۱	####۰/۰۸±۶۰	####۵۰/۰±۳۶/۵	####۴۱/۱ ±۷۵/۷

داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار نشان داده شده‌اند. *مقایسه با گروه کنترل ، # مقایسه با گروه PCOS. (P<۰/۰۵)

بحث

سندرم تخمدان پلی‌کیستیک یکی از بیماری‌های مهم در زنان می‌باشد که تاکنون درمان قطعی برای آن پیدا نشده است. در پژوهش حاضر اثرات PRP بر روی سندرم تخمدان پلی‌کیستیک مورد مطالعه قرار گرفت. در این مطالعه برای القای PCOS از لتروزول که یک مهارکننده آنزیم آروماتاز می‌باشد، استفاده شد. نتایج هیستوپاتولوژی و همچنین بررسی‌های بیوشیمیایی نشان داد گاواژ لتروزول سبب افزایش تعداد فولیکول کیستیک و کاهش تعداد فولیکول سالم و جسم زرد شد. همچنین گاواژ لتروزول سبب افزایش سطح گلوکز و انسولین ناشتا و افزایش شاخص مقاومت به انسولین گردید. نتایج مطالعه حاضر مشابه مطالعات پیشین بود. Ibrahim و همکاران پس از القای PCOS با لتروزول در موش‌های صحرایی گزارش کردند که عمده فولیکول‌ها در برش بافتی گروه PCOS را فولیکول‌های کیستیک تشکیل دادند و تعداد فولیکول‌های سالم به‌طور معنی‌داری کاهش داشت. همچنین آنها مشاهده کردند سطح انسولین و گلوکز ناشتا و شاخص مقاومت به انسولین در گروه PCOS به طور معنی داری افزایش داشت [۲۲].

در این مطالعه نتایج هیستوپاتولوژی نشان داد تزریق PRP سبب بهبود مورفولوژی تخمدان از جمله افزایش تعداد فولیکول‌های سالم در تمام مراحل تکاملی شد. همچنین تعداد جسم زرد نیز نسبت به گروه PCOS افزایش پیدا کرد که این امر نشان‌دهنده افزایش روند تخمک‌گذاری می‌باشد و در مقابل، تعداد فولیکول‌های کیستیک کاهش یافت. در این راستا، فریمانی و همکاران گزارش کردند که تزریق داخل تخمدانی PRP سبب افزایش تعداد فولیکول و تخمک در بیماران پاسخ ضعیف تخمدانی شد [۲۳]. سیدانوری و همکاران نیز نشان دادند تزریق داخل تخمدانی PRP به موش مدل PCOS سبب بازیابی ساختار تخمدان و افزایش تعداد فولیکول‌های سالم شد [۱۷].

یکی از فاکتورهای ترشح شده از PRP پروتئین‌های مورفوژنتیک استخوان (BMPs) است. نتایج مطالعات حاکی از کاهش معنی‌دار سطح بیان این پروتئین‌ها از جمله BMP2 و BMP15 در سلول‌های گرانولوزای بیماران مبتلا به PCOS نسبت به زنان سالم می‌باشد. نتایج یک مطالعه نشان داد تزریق BMP نوترکیب به تخمدان موش، سبب افزایش تعداد فولیکول‌ها در همه مراحل تکاملی شد [۲۴].

یکی از دلایل عمده شکست روند فولیکولوژنز در بیماران PCOS افزایش نرخ آپوپتوز در سلول‌های گرانولوزا است. عوامل مختلفی از جمله استرس اکسیداتیو و اختلال میتوکندری می‌تواند به پیشبرد آپوپتوز سلول‌های گرانولوزا در بیماران PCOS کمک کند. نتایج مطالعه Gong و همکاران نشان داد که فاکتورهای رشد می‌توانند سبب مهار آپوپتوز سلول‌های گرانولوزا و همچنین تحریک تکثیر این سلول‌ها از طریق کاهش استرس اکسیداتیو و بهبود عملکرد میتوکندری شوند [۲۵]. رازی و همکاران نشان دادند که تزریق PRP به‌طور معنی‌داری سبب افزایش سطح هورمون

استروژن و همچنین تعداد رسپتورهای استروژن Erα و Erß شد [۱۷]. Kakuda و همکاران پیشنهاد دادند یکی دیگر از مکانیسم‌های اثرگذاری تزریق داخل تخمدانی PRP وجود فاکتورهای تحریک کننده رگزایی مانند VEGF می‌باشد [۲۶]. تغذیه فولیکول‌ها یکی از حیاتی‌ترین عوامل موثر در روند فولیکولوژنز می‌باشد، از این رو ایجاد عروق جدید منجر به افزایش خون رسانی و در نهایت تغذیه فولیکول می‌شود. وجود فاکتورهای رشد در PRP مانند GDF9 و BMP پتانسیل قابل توجهی در افزایش حساسیت فولیکول‌ها به هورمون FSH دارند. علاوه بر این فاکتورهای BMP و SCF نقش مهمی در جذب فولیکول‌های بدوی و تحریک تبدیل این فولیکولها به فولیکول‌های اولیه و همچنین انتخاب فولیکول غالب دارند [۲۷]. از آنجایی که هورمون‌های جنسی و همچنین میزان رسپتورهای آنها در سلول‌های گرانولوزا نقش مهمی در تنظیم روند فولیکولوژنز دارد بنابراین به‌نظر می‌رسد یکی از مکانیسم‌ها بهبود روند فولیکولوژنز بعد از تزریق PRP، بهبود سطح هورمون‌های مهم در روند فولیکولوژنز مانند استروژن و بازیابی تعداد گیرنده‌های آنها از طریق ترشح فاکتورهای رشد در تخمدان باشد. از طرفی وجود فاکتورهای رشد ترشح شده از PRP، می‌تواند با جلوگیری از آپوپتوز سلول‌های گرانولوزا سبب بهبود کیفیت فولیکول و همچنین تحریک روند فولیکولوژنز شود.

طبق نتایج پژوهش حاضر تزریق PRP توانست سبب کاهش گلوکز و انسولین شود و به نوبه خود سبب کاهش مقدار شاخص مقاومت به انسولین (HOMA-IR) گردد. مشابه این نتایج، El-Tahawy و همکاران نشان دادند که درمان با PRP به طور معنی‌داری سطح گلوکز خون را در موش دیابتی کاهش می‌دهد [۲۸]. همچنین نعمتی و همکاران گزارش کردند تزریق PRP سبب کاهش سطح گلوکز خون و شاخص مقاومت به انسولین (HOMA-IR) در مدل موش دیابتی شد [۲۹].

PRP حاوی تعداد زیادی از فاکتورهای رشد هستند که می‌تواند سبب بهبود مقاومت به انسولین، افزایش جذب گلوکز و کاهش سطح گلوکز خون شوند. نتایج یک مطالعه بالینی نشان داد که فاکتور رشد IGF سبب کاهش سطح انسولین و گلوکز شد و به طور کلی سبب افزایش حساسیت به انسولین در بیماران دیابتی گردید. فاکتورهای رشد سبب افزایش بیان mRNA و انتقال ناقل‌های گلوکز به سطح سلول و افزایش جذب گلوکز می‌شوند. Inoki و همکاران نشان دادند که فاکتور رشد TGF-β1 با افزایش بیان GLUT1 منجر به تحریک جذب گلوکز می‌شود [۳۰]. همچنین گزارش شده که پلاکت‌ها سبب افزایش جذب گلوکز از طریق افزایش بیان ناقل‌های گلوکز (GLUT3) می‌گردند [۳۱]. در مطالعه Fan و همکاران، فاکتور رشد فیبروبلاست (FGF) سبب افزایش حساسیت به انسولین در موش‌های مدل دیابتی شد [۳۲]. نتایج یک مطالعه in vitro نیز نشان داد فاکتور رشد مشتق از پلاکت (PDGF) سبب افزایش جذب گلوکز در سلول‌های چربی با افزایش انتقال ناقل‌های گلوکزهای نوع ۱ و ۴ و تحریک فعالیت مسیر phosphatidylinositol (PI) 3-kinase می‌شود [۳۳]. در مطالعه دیگری نشان داده شد که فاکتور IGF-1 می‌تواند مستقیماً انتقال گلوکز به عضلات را از طریق گیرنده‌های IGF-1 یا گیرنده‌های هیبریدی IGF-1R/INSR تحریک کند [۳۴]. PRP حاوی مقادیر زیاد فاکتور رشد هپاتوسیت (HGF) می‌باشد. نتایج یک مطالعه in vitro نشان داده که فاکتور HGF سبب افزایش جذب گلوکز در سلول‌های چربی می‌شود [۳۵]. بنابراین می‌توان احتمال داد که فاکتورهای رشد ترشح شده از پلاکت با افزایش بیان و انتقال ناقل‌های گلوکز به سطح سلول، سبب افزایش جذب گلوکز به داخل سلول‌ها و افزایش حساسیت به انسولین شود.

نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان داد پلاسمای غنی از پلاکت (PRP) می‌تواند سبب کاهش سطح سرمی گلوکز و انسولین ناشتا و همچنین بهبود مقاومت به انسولین در تخمدان پلی کیستیک شود. علاوه بر این، تزریق داخل تخمدانی PRP منجر به بهبود مورفولوژی تخمدان از جمله افزایش تعداد فولیکول‌های سالم و جسم زرد و کاهش تعداد فولیکول کیستیک در مدل حیوانی PCOS شد. با توجه به یافته‌های این مطالعه، به نظر می‌رسد PRP می‌تواند سبب بهبود علائم در زنان مبتلا به PCOS شود. با این حال با توجه به عدم بررسی مکانیسم‌های سلولی و مولکولی در این مطالعه، بررسی مکانیسم‌های تاثیرگذاری و همچنین بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی PRP پیشنهاد می‌شود.

تشکر و قدردانی: مطالعه حاضر حاصل بخشی از پایان نامه مقطع کارشناسی ارشد فیزیولوژی مصوب دانشگاه علوم پزشکی کاشان با کد طرح ۴۰۱۵۶ می‌باشد. بدین وسیله از تمامی کسانی که در این تحقیق همکاری داشتند تشکر و قدردانی می‌گردد.

نقش نویسندگان: همه نویسندگان در نگارش اولیه مقاله یا بازنگری آن سهیم بودند و همه با تایید نهایی مقاله حاضر، مسئولیت دقت و صحت مطالب مندرج در آن را می‌پذیرند.

تضاد منافع: نویسندگان تصریح می‌کنند که هیچ گونه تضاد منافعی در مطالعه حاضر وجود ندارد.

منابع

1. Gomaa MA, Desoky AA, Amer D, Alaa D, Khalil MA. Impulsivity, depression, and suicide in female patients with polycystic ovary syndrome and infertility. Middle East Curr Psychiatry. 2023; 30(1): 116. doi:10.1186/s43045-023-00386-2

2. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome. Fertil Steril. 2004; 81(1): 19-25. doi:10.1016/j.fertnstert.2003.10.004 PMid:14711538
3. Sirmans SM, Pate KA. Epidemiology, diagnosis, and management of polycystic ovary syndrome. Clin Epidemiol. 2013; 6:1-13. doi:10.2147/CLEP.S37559 PMid:24379699 PMCid:PMC3872139
4. Liao B, Qiao J, Pang Y. Central Regulation of PCOS: Abnormal Neuronal-Reproductive-Metabolic Circuits in PCOS Pathophysiology. Front Endocrinol (Lausanne). 2021; 12: 667422. doi:10.3389/fendo.2021.667422 PMid:34122341 PMCid:PMC8194358
5. Tabassum R, Imtiaz F, Sharafat S, Shukar-Ud-Din S, Nusrat U. Prevalence and clinical profile of insulin resistance in young women of poly cystic ovary syndrome: A study from Pakistan. Pak J Med Sci. 2013; 29(2): 593-6. doi:10.12669/pjms.292.3180 PMid:24353584 PMCid:PMC3809275
6. Quartey P, Owusu B, Agbenyikey G, Appiah Rhodeline L, Nutakor M, Yeboah Abrokwah K. Effects of low-fat whole milk on postprandial glycemia after consumption of two common Ghanaian local meals among healthy young adults. Novel Clin Med, 2023; 2(3): 149-154. doi: 10.22034/ncm.2023.410935.1110
7. Bednarska S, Siejka A. The pathogenesis and treatment of polycystic ovary syndrome: What's new? Adv Clin Exp Med. 2017; 26(2): 359-67. doi:10.17219/acem/59380 PMid:28791858
8. Alves R, Grimalt R. A Review of Platelet-Rich Plasma: History, Biology, Mechanism of Action, and Classification. Skin Appendage Disord. 2018; 4(1): 18-24. doi:10.1159/000477353 PMid:29457008 PMCid:PMC5806188
9. Yuan T, Zhang CQ, Wang JH. Augmenting tendon and ligament repair with platelet-rich plasma (PRP). Muscles Ligaments Tendons J. 2013; 3(3): 139-49. doi:10.32098/mltj.03.2013.05 PMid:24367773 PMCid:PMC3838322
10. Emer J. Platelet-Rich Plasma (PRP): Current Applications in Dermatology. Skin Therapy Lett. 2019; 24(5): 1-6.
11. Abdul Ameer LA, Raheem ZJ, Abdulrazaq SS, Ali BG, Nasser MM, Khairi AWA. The anti-inflammatory effect of the platelet-rich plasma in the periodontal pocket. Eur J Dent. 2018; 12(4): 528-31. doi:10.4103/ejd.ejd_49_18 PMid:30369798 PMCid:PMC6178670
12. Pavlovic V, Ciric M, Jovanovic V, Stojanovic P. Platelet Rich Plasma: a short overview of certain bioactive components. Open Med (Wars). 2016; 11(1): 242-7. doi:10.1515/med-2016-0048 PMid:28352802 PMCid:PMC5329835
13. Imam SS, Al-Abbasi FA, Hosawi S, Afzal M, Nadeem MS, Ghoneim MM, et al. Role of platelet rich plasma mediated repair and regeneration of cell in early stage of cardiac injury. Regen Ther. 2022; 19: 144-53. doi:10.1016/j.reth.2022.01.006 PMid:35229012 PMCid:PMC8856949
14. Zadehmodarres S, Salehpour S, Saharkhiz N, Nazari L. Treatment of thin endometrium with autologous platelet-rich plasma: a pilot study. JBRA Assist Reprod. 2017; 21 (1): 54-6. doi:10.5935/1518-0557.20170013 PMid:28333034 PMCid:PMC5365202
15. Davari Tanha F, Salimi Setudeh S, Ebrahimi M, Feizabad E, Khalaj Sereshki Z, Akbari Asbagh F, et al. Effect of intra-ovarian platelet rich plasma in women with poor ovarian response. Caspian J Intern Med. 2023; 14(3): 485-9.
16. Coksuer H, Akdemir Y, Ulas Barut M. Improved in vitro fertilization success and pregnancy outcome with autologous platelet-rich plasma treatment in unexplained infertility patients that had repeated implantation failure history. Gynecol Endocrinol. 2019;35(9):815-8. doi:10.1080/09513590.2019.1597344 PMid:30966843
17. Seyyed Anvari S, Dehghan GH, Razi M. Preliminary Findings of Platelet-Rich Plasma-Induced Ameliorative Effect on Polycystic Ovarian Syndrome. Cell J. 2019; 21(3): 243-52.
18. Mohammed S, Sundaram V, Zyuzikov N. Effect of 150 kHz electromagnetic radiation on the development of polycystic ovaries induced by estradiol Valerate in Sprague Dawley rats. J Ovarian Res. 2021; 14(1): 26. doi:10.1186/s13048-021-00774-4 PMid:33546719 PMCid:PMC7866699
19. Sadoughi S. Investigation the Effect of Curcumin on the Hormones of Pituitary-Ovarian Axis in Alloxan-induced Diabetic Rats. J Ardabil Univ Med Sci. 2016; 16(4): 441-51.
20. Wang J, Zhao Y, Zheng F, Ma N, Qin R, Qin W, et al. Activated Human Umbilical Cord Blood Platelet-Rich Plasma Enhances the Beneficial Effects of Human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells in Chemotherapy-Induced POF Rats. Stem Cells Int. 2021; 2021: 8293699. doi:10.1155/2021/8293699 PMid:34733331 PMCid:PMC8560297
21. Li J, Yin FF, Hou YL. Early diagnosis of rats with acute myocardial infarction by measurement of brain natriuretic peptide. Exp Ther Med. 2013; 5(4): 1201-5. doi:10.3892/etm.2013.964 PMid:23596490 PMCid:PMC3627457
22. Ibrahim YF, Alorabi M, Abdelzaher WY, Toni NDM, Thabet K, Hegazy A, et al. Diacerein ameliorates letrozole-induced polycystic ovarian syndrome in rats. Biomed Pharmacother. 2022; 149: 1 12870. doi:10.1016/j.biopha.2022.112870 PMid:35367769
23. Farimani M, Nazari A, Mohammadi S, Anvari Aliabad R. Evaluation of intra-ovarian platelet-rich plasma administration on oocytes-dependent variables in patients with poor ovarian response: A retrospective study according to the POSEIDON criteria. Reprod Biol Endocrinol. 2021;19(1):137. doi:10.1186/s12958-021-00826-w
24. Lee WS, Otsuka F, Moore RK, Shimasaki S. Effect of bone morphogenetic protein-7 on folliculogenesis and ovulation in the rat. Biol Reprod. 2001; 65(4): 994-9. doi:10.1095/biolreprod65.4.994 PMid:11566718
25. Liu S, Jia Y, Meng S, Luo Y, Yang Q, Pan Z. Mechanisms of and Potential Medications for Oxidative Stress in Ovarian Granulosa Cells: A Review. Int J Mol Sci. 2023; 24(11). doi:10.3390/ijms24119205 PMid:37298157 PMCid:PMC10252376
26. Kakudo N, Morimoto N, Kushida S, Ogawa T, Kusumoto K. Platelet-rich plasma releasate promotes angiogenesis in vitro and in vivo. Med Mol Morphol. 2014; 47(2): 83-9. doi:10.1007/s00795-013-0045-9 PMid:23604952
27. Vo TKC, Tanaka Y, Kawamura K. Ovarian Rejuvenation Using Autologous Platelet-Rich Plasma. Endocrines. 2021; 2(1): 15-27. doi:10.3390/endocrines2010002
28. El-Tahawy NF. Effect of Platelet Rich Plasma (PRP) Injection on the Endocrine Pancreas of the Experimentally Induced Diabetes in Male Albino Rats: A Histological and Immunohistochemical Study. J Diabetes Metab. 2017;08. doi:10.4172/2155-6156.1000730
29. Nemati M, Karbalaei N, Mokarram P, Dehghani F. Effects of platelet-rich plasma on the pancreatic islet survival and function, islet transplantation outcome and pancreatic pdx(1) and insulin gene expression in streptozotocin-induced diabetic rats. Growth Factors. 2020;

38(3-4): 137-51. doi:10.1080/08977194.2021.1881502 PMid:33569978
30. Inoki K, Haneda M, Maeda S, Koya D, Kikkawa R. TGF-β1 stimulates glucose uptake by enhancing GLUT1 expression in mesangial cells. Kidney International. 1999;55(5):1704-12. doi:10.1046/j.1523-1755.1999.00438.x PMid:10231432
31. Fidler TP, Marti A, Gerth K, Middleton EA, Campbell RA, Rondina MT, et al. Glucose Metabolism Is Required for Platelet Hyperactivation in a Murine Model of Type 1 Diabetes. Diabetes. 2019;68(5):932-8. doi:10.2337/db18-0981 PMid:30765335 PMCid:PMC6477909
32. Fan L, Ding L, Lan J, Niu J, He Y, Song L. Fibroblast Growth Factor-1 Improves Insulin Resistance via Repression of JNK-Mediated Inflammation. Front Pharmacol. 2019; 10. doi:10.3389/fphar.2019.01478 PMid:31866871 PMCid:PMC6906192
33. Wang L, Hayashi H, Ebina Y. Transient Effect of Platelet-derived Growth Factor on GLUT4 Translocation in 3T3-L1 Adipocytes. J Biol Chem. 1999; 274(27): 19246-53. doi:10.1074/jbc.274.27.19246 PMid:10383432
34. Giustina A, Berardelli R, Gazzaruso C, Mazziotti G. Insulin and GH-IGF-I axis: endocrine pacer or endocrine disruptor? Acta Diabetol. 2015;52(3):433-43. doi:10.1007/s00592-014-0635-6 PMid:25118998
35. Bertola A, Bonnafous S, Cormont M, Anty R, Tanti JF,

How to Cite this Article:
Sarvestani M, Rajabzadeh A, Ghavipanjeh G, Mazoochi T, Salimian M. The effect of intraovarian injection of platelet-rich plasma on ovarian morphology and insulin resistance in polycystic ovary syndrome (PCOS) rats. Feyz Med Sci J. 2024;28(2):123-131. doi: 10.48307/FMSJ.2024.28.2.123