DOI: 10.22055/IVJ.2022.343180.2470

بررسی اثرات هورمون‌های استروئیدی بر فیبرهای کلاژن موجود در استرومای اندومتر موش‌های تحریک تخمک‌گذاری شده

هانیه ملازاده[۱]، فاطمه افشاری[۲*] و آرش خاکی[۳]

[۱] دانش‌آموخته دکترای پزشکی عمومی، دانشکده علوم پزشکی، علوم پزشکی تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران
[۲] استادیار گروه هیستوپاتولوژی و آناتومی، دانشکده علوم پزشکی، علوم پزشکی تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران
[۳] استاد گروه پاتولوژی، دانشکده دامپزشکی، علوم پزشکی تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران

دریافت: ۱۴۰۱/۳/۸ پذیرش: ۱۴۰۱/۷/۱۲

چکیده

لانه گزینی موفقیت‌آمیز بلاستوسیست نیازمند محیط رحمی مناسب است. هورمون‌های تخمدانی مسئول بلوغ آندومتر هستند. هدف از این مطالعه بررسی اثرات هورمون‌های استروئیدی بر رشته‌های کلاژن و قطر غدد آندومتر در استرومای اندومتر موش‌های تخمک‌گذاری شده بوده است. در این تحقیق موش‌ها پس از تحریک تخمک‌گذاری و ایجاد حاملگی به پنج گروه تقسیم شدند. ۱) کنترل ۲) شاهد آزمایشی ۳) استروژن ۴) پروژسترون، ۵) استروژن همراه با پروژسترون. موش‌ها ۵ روز بعد از حاملگی با روش جا به جایی مهره‌های گردنی کشته شدند و از رحم آن‌ها نمونه‌برداری شد و برای مطالعه با میکروسکوپ نوری آماده شدند. بررسی‌ها نشان می‌دهد که تجویز پروژسترون ضخامت فیبرهای کلاژن را در آندومتر کاهش می‌دهد در حالی که تزریق استروژن همراه با پروژسترون می‌تواند باعث رشد فیبر کلاژن در آندومتر و افزایش قطر غدد در مقایسه با پروژسترون شود. همچنین نتایج هیستومورفومتری به دست آمده از این مطالعه نشان داد که اندازه قطر غدد در مقایسه بین گروه‌ها جز در گروه‌های استروژن و استروژن همراه با پروژسترون در سایر گروه‌ها معنی‌دار می‌باشد. نتایج این مطالعه نشان داد که پروژسترون در مقایسه با گروه کنترل نمی‌تواند محیط مناسبی برای لانه گزینی فراهم کند و افزودن استروژن به پروژسترون می‌تواند وضعیت بهتری را برای لانه‌گزینی در فاز لوتئال ایجاد کند.

کلمات کلیدی: تخمک‌گذاری، لانه‌گزینی، کلاژن، استروژن، پروژسترون

مقدمه

آندومتر یک بافت چند سلولی پیچیده است که تحت بازسازی پویا قرار می‌گیرد تا محیطی مناسب برای حمایت از بارداری ایجاد کند. بارداری فرآیند پیچیده‌ای است که شامل رویدادهای جداگانه‌ای از جمله دسیدوالیزاسیون، لانه‌گزینی و تشکیل جفت است (Okada, 2018). در استرومای اندومتر سلول‌های لکوسیتی وجود دارد که تعداد و انواع آن در سیکل قاعدگی و در طول بارداری تغییر می‌کند. لکوسیت‌های آندومتر شامل لنفوسیت‌های B، T و از دیگر سلول‌های موجود، ماست سل‌ها، ماکروفاژها و نوتروفیل‌ها است (King, 2000). تعداد و انتشار ماست

* نویسنده مسئول : فاطمه افشاری، استادیار گروه هیستوپاتولوژی و آناتومی، دانشکده علوم پزشکی، علوم پزشکی تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران
E-mail: F_afshar@iaut.ac.ir

© 2020 by the authors. Licensee SCU, Ahvaz, Iran. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0 license) (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

سل‌ها در طول چرخه قاعدگی تغییر نمی‌کند، اما این سلول-ها قبل از قاعدگی فعال هستند و در انسان گیرنده پروژسترون را بیان نمی‌کنند (Crow et al, 1991).

رسیدگی آندومتر در موش تا حد زیادی به هورمون‌های استروژن و پروژسترون بستگی دارد. این هورمون‌ها اثرات خود را از طریق گیرنده‌های هسته‌ای انجام می‌دهند (Simón et al, 2000). استروژن به طور پیچیده در رویدادهای مولکولی کلیدی که زمینه‌ساز رشد بافت‌های دستگاه تناسلی زنانه است، نقش دارد (Hewitt et al, 2020). در طول بارداری طبیعی در جوندگان، تحریکات ناشی از جنین و اپیتلیوم لومینال رحم به سلول‌های فیبروبلاست منتقل می‌شود. یکی از این تحریکات، پروستاگلاندین‌ها است که توسط اپیتلیوم یا سلول‌های دسیدوایی تازه تشکیل شده ترشح می‌شود و سلول‌های فیبروبلاست را برای تبدیل به سلول‌های دسیدوایی جدید آماده می‌کند (Oliveira et al, 1998). دسیدوالیزاسیون با جریان فعال Uterine natural killer cells (UNKs) (سلول‌های کشنده طبیعی رحم) و تمایز مورفولوژیکی و بیوشیمیایی سلول‌های استرومایی آندومتر به سلول‌های دسیدوایی و با آنژیوژنزیس مشخص می‌شود. دسیدوا یک ماتریکس سلولی متراکم را تشکیل می‌دهد که نفوذ تروفوبلاست را ممکن می‌کند. سلول‌های دسیدوایی فاکتورهای رشد مانند پروتئین التهابی ماکروفاژ، اینترلوکین ۱۱ و ۱۵ و پرولاکتین را دفع می‌کنند که باعث سیگنال کموتاکسی، تکثیر و تمایز سلول‌های ایمنی تخصص یافته می‌شوند. این سلول‌ها همچنین در تغذیه رویان و محافظت از آن در برابر ایمونوگلوبولین‌های مادر نقش دارند (Brosens et al, 2006). سلول‌های دسیدوایی در موش‌ها فاکتورهای لتئوتروفیک ترشح می‌کنند که عملکرد آن‌ها مشابه پرولاکتین است. مطالعات نشان می‌دهند که اکثر این سلول‌ها کلاژن نوع ۴ را ترشح می‌کنند که در آندومتر غیرباردار یافت نمی‌شود (De Paiva et al, 1994). دسیدوالیزاسیون در آندومتر جوندگان شامل رشد سلولی و کاهش شدید فضای خارج سلولی است. از آن جایی که سلول‌های درگیر در این فرآیند متعلق به بافت همبند هستند، اعتقاد بر این است که این تغییرات سلولی بر ماتریکس خارج سلولی تأثیر می‌گذارد. یکی از این تغییرات، بازسازی رشته‌های کلاژن در آندومتر است که از روز دوم بارداری در موش شروع می‌شود و یکی از مهم‌ترین تغییراتی که در بازسازی رشته‌های کلاژن رخ می‌دهد، افزایش قطر فیبر کلاژن در روز ششم بارداری در موش‌ها است (Danielsson et al, 1997). الیاف کلاژن با قطر ۵۰ تا ۱۰۰ نانومتر در روز پنجم بارداری موش، ۱۰۰ تا ۲۰۰ نانومتر در روز ششم و در روز هفتم به ۱۰۰ تا ۴۰۰ نانومتر می‌رسد (Spiess et al, 2007).

دسیدوالیزاسیون یکی از مهم ترین و قابل توجه ترین رویدادهایی است که در آندومتر انسان در دوران بارداری رخ می‌دهد. اختلال در این فرآیند منجر به انواع اختلالات بارداری، از جمله ناباروری، سقط‌های مکرر و اختلالات جفتی رحمی می‌شود (Cha et al, 2012; Garrido et al, 2017; Wu et al, 2017).

مطالعات نشان می‌دهد که با انتقال جنین موش به رحم و استفاده از دوز کم استروژن همراه با پروژسترون می‌توان زمان پذیرش رحم را افزایش داد و در نتیجه باعث تغییر در پنجره لانه‌گزینی شد (Simon et al, 2003). با بررسی استفاده از استروژن همراه با پروژسترون برای حمایت از فاز لوتئال، محققان توانسته‌اند نشان دهند که حاملگی در انسان بیش‌تر از زمانی است که فقط از پروژسترون استفاده می‌شود (Hubayter et al, 2008; Lindhard et al, 2002; Proctor et al, 2006). در حالی که نتایج برخی از مطالعات نشان می‌دهد که افزودن استروژن به پروژسترون باعث افزایش میزان بارداری در IVF نمی‌شود (Kolibianakis et al, 2008). مطالعه حاضر مقایسه اثرات هورمون‌های مختلف فاز لوتئال بر فیبرهای کلاژن موجود در استرومای اندومتردر موش‌های تحریک تخمک‌گذاری شده می‌باشد.

مواد و روش کار

برای انجام این تحقیق جهت ایجاد حاملگی کاذب از موش‌های نر و ماده با سن ۸–۱۰ هفته و با وزن ۲۵–۳۰ گرم هفته استفاده گردید. حیوانات در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی با امکانات دسترسی به آب و غذای کافی نگهداری می‌شدند. در این پژوهش کلیه موازین اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت شده است.

موش‌های ماده در مجاورت موش‌های نر به مدت یک شب به منظور جفت‌گیری قرار گرفتند و سپس به پنج گروه تقسیم شدند. ۱) گروه کنترل: هیچ هورمونی را دریافت نکردند. ۲) گروه شاهد آزمایشی: ابتدا به موش‌های ماده داروی Pregnant Mare Serum Gonadotropin (سرم گنادوتروپین بارداری) به میزان ۱۰ واحد و ۴۸ ساعت بعد از آن Human Chorionic Gonadotropin (هورمون گنادوتروپین کوریونی انسانی) به میزان ۱۰ واحد به صورت داخل صفاقی تزریق شد. ۳) گروه استروژن: بعد از تحریک تخمک‌گذاری، از روز اول حاملگی استروژن به میزان ۱۰ نانوگرم به صورت زیر جلدی به مدت چهار روز تزریق شد. ۴) گروه پروژسترون: بعد از تحریک تخمک-گذاری، روزانه ۱ میلی‌گرم پروژسترون تا چهار روز به صورت زیر جلدی تزریق گردید ۵) گروه استروژن همراه با پروژسترون: بعد از تحریک تخمک‌گذاری روزانه ترکیبی ازهورمون‌های پروژسترون به میزان ۱ میلی‌گرم و استروژن به مقدار ۱۰ نانوگرم به مدت چهار روز به صورت زیر جلدی دریافت کردند. ۵ روز بعد از حاملگی کاذب، موش‌ها با روش جا به جایی مهره‌های گردنی کشته شدند و از رحم تمامی گروه‌ها نمونه‌برداری شد و برای مطالعه بافتی آماده گردید. به طوری که بعد از فیکس کردن در فرمالین ده درصد و قالب‌گیری، برش‌های ۵ میکرون به صورت سریال سکشن تهیه و با روش اسید پریودیک شیف و تری کروماسون رنگ‌آمیزی شدند. در رنگ‌آمیزی پاس از محلول اسید پریودیک و لوکو فوشین استفاده گردید و در رنگ‌آمیزی تری کروماسون از محلول آنیلین بلو برای نشان دادن رشته‌های کلاژن استفاده شد. برای تهیه تصاویر از میکروسکوپ اولمپیوس استفاده شد.

اطلاعات به دست آمده از هر نمونه با استفاده از نرم‌افزار SPSS و با روش واریانس یک طرفه (One Way ANOVA) بین گروه‌های کنترل، شاهد، استروژن، پروژسترون، استروژن همراه با پروژسترون در نرم‌افزار Prism GraphPa ورژن ۹/۳ مورد آنالیز قرار گرفت. نتایج به دست آمده به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شد و مقادیر $P<0.05$ معنی‌دار تلقی شد.

نتایج

بررسی نتایج هیستوژلویکی

نتایج به دست آمده از این مطالعه به شرح زیر می‌باشد:

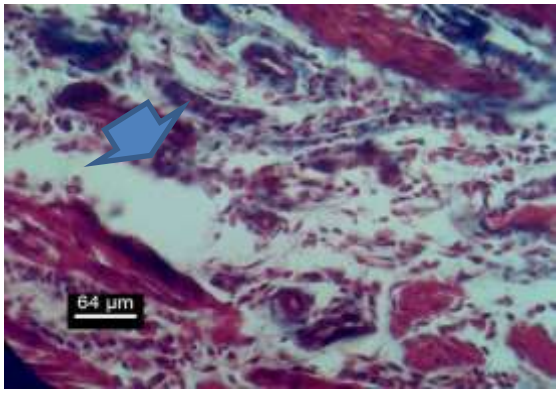

Figure 1: Endometrial tissue section Control group: Collagen fibers (blue) around blood vessels and stroma (flash). Mason Trichrome coloring, 400Xmagnification.Scale Bar

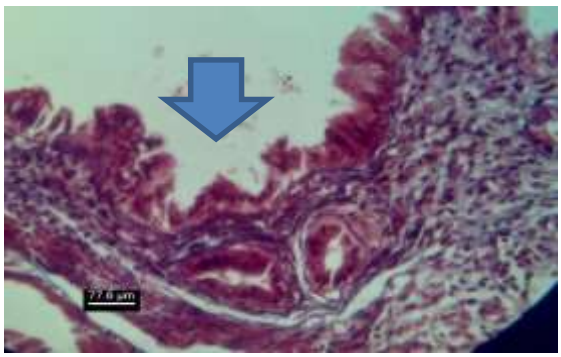

Figure 2: Endometrial tissue section of sham group: Collagen fibers (blue) in stroma (flash). Mason Trichrome coloring, 400X magnification. Scale Bar

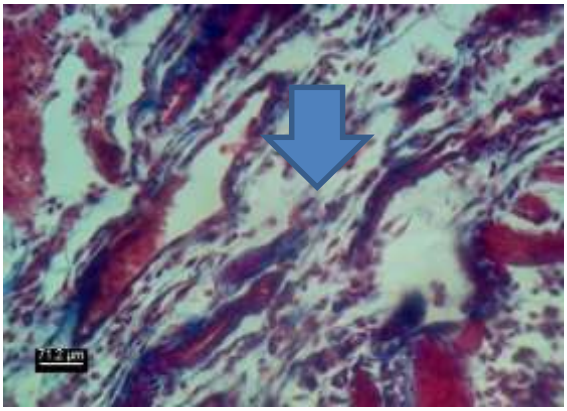

Figure 3: Endometrial tissue section of the estrogen group: Collagen fibers (blue) in the stroma (flash). Mason Trichrome coloring, 400X magnification. Scale Bar.

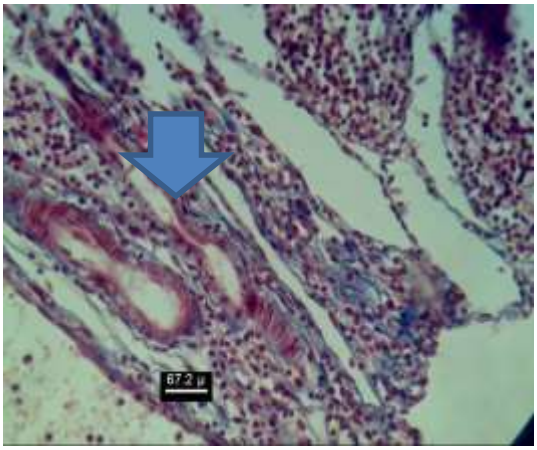

Figure 4: Endometrial tissue section Progesterone group: Collagen filaments (blue) in the endometrial stroma (flash). Mason trichrome staining, 400X magnification Scale Bar

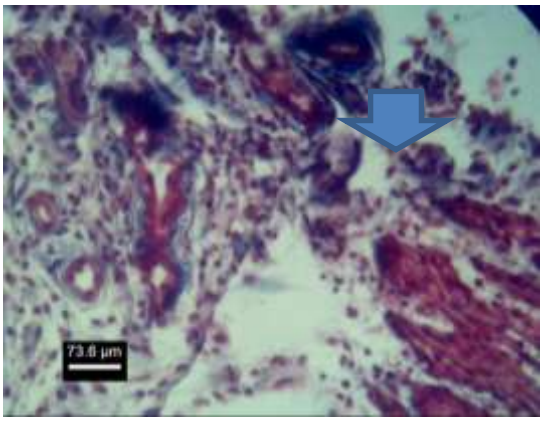

Figure 5: Endometrial tissue section of estrogen with progesterone group: Collagen fibers (blue) in the stroma (flash). Mason trichrome painting, magnification 400 X. Scale Bar.

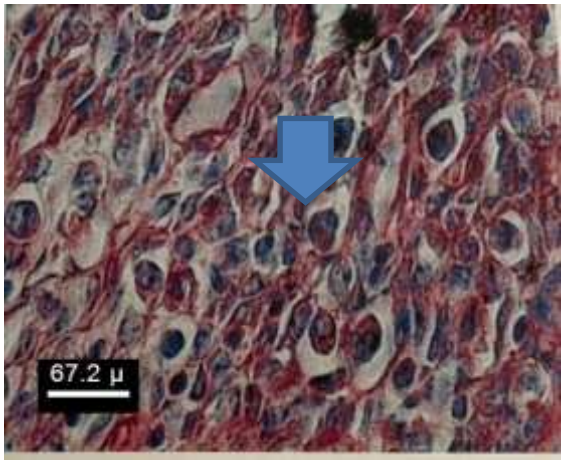

Figure 6: Endometrial tissue section Control group: Dissidual cells in the endometrial stroma (flash). PAS staining. magnification 400 X. Scale Bar

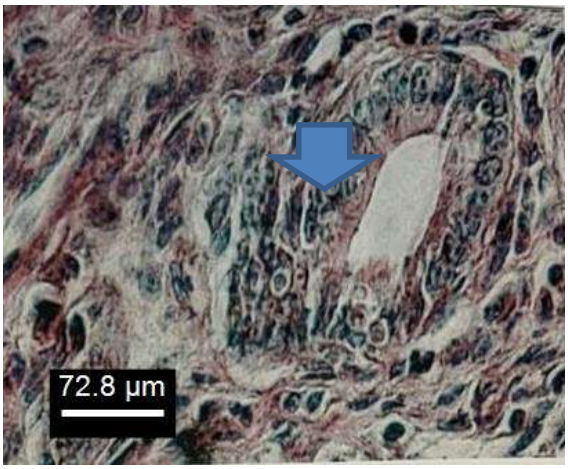

Figure 7: Endometrial tissue section of estrogen with progesterone group: Dissocial cells in the endometrial stroma (flash). PAS staining .magnification 400 X Scale Bar

نتایج هیستومورفومتریک

نتایج حاصل از اندازه‌گیری قطر غدد آندومتر در گروه-های مورد مطالعه به شرح زیر است.

در گروه کنترل متوسط قطر غدد آندومتر برابر با ۲۰/۶۰±۰/۶ و در گروه شاهد آزمایشی برابر با ۲۳/۵۰±۰/۵ بود. گروه دریافت کننده پروژسترون میانگین قطر غدد آندومتر برابر ۱۵/۵۰±۰/۵ و در گروه دریافت کننده استروژن ۲۸/۸۰±۰/۵۷ بود. بررسی نتایج در گروه استروژن همراه با پروژسترون نشان داد که میانگین قطر غدد

آندومتر برابر با ۰/۵۷±۲۹/۷۰ می‌باشد. اندازه‌گیری قطر غدد آندومتر در گروه‌های مورد مطالعه نشان می‌دهد که اندازه قطر غدد در مقایسه بین دو به دوی گروه‌ها جز در گروه‌های استروژن و استروژن همراه با پروژسترون در سایر گروه‌ها معنی‌دار می‌باشد P<0.0001 **** ، Figure 8.

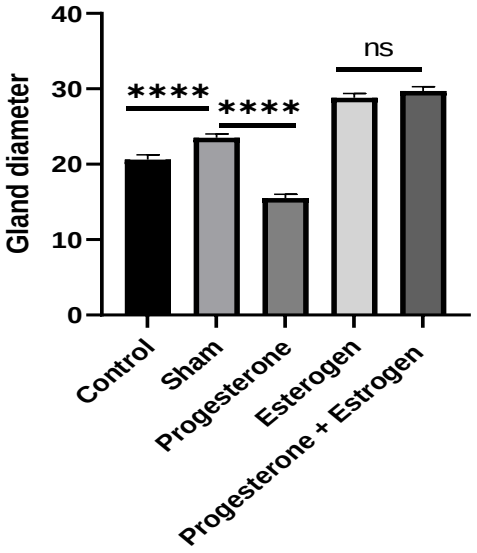

Figure 8: Measurement of endometrial gland diameter in the studied groups shows that according to One Way ANOVA, gland diameter is significant in comparison between two groups except in the estrogen and estrogen with with progesterone groups. * *** P <0.0001
ns= non significant

بحث

لانه‌گزینی به عنوان فرآیند سازمان یافته‌ای تعریف می‌شود که از طریق آن بلاستوسیست به آندومتر می‌چسبد و به اپیتلیوم حمله می‌کند و جفت را تشکیل می‌دهد. لانه‌گزینی مستقیماً به هم‌زمانی پیشرفت تخمک بارور شده به بلاستوسیست و تمایز خاص آندومتر از طریق تغییرات مولکولی و سلولی که توسط عواملی با فعالیت غدد درون‌ریز، پاراکرین یا اتوکرین تنظیم می‌شود، بستگی دارد (Krüssel et al, 2003; Teh et al, 2016). هم‌زمانی در یک دوره زمانی معین به نام "پنجره لانه گزینی" روی می‌دهد و مستلزم یک وقایع مولکولی بین فعالیت ترشحی آندومتر و بلاستوسیست است (Sharma et al, 2012). بر اساس مطالعات متعدد انجام شده، مولکول‌های چسبنده، پروتئین‌های ماتریکس خارج سلولی، فاکتورهای رشد، پروتئین‌های تخریب سوبسترای خارج سلولی و عوامل پیش‌التهابی، در فرآیند لانه‌گزینی بلاستوسیست در آندومتر دخالت دارند (Fox et al, 2018). در ابتدای لانه‌گزینی، فیبروبلاست‌هایی که بلاستوسیست را احاطه کرده‌اند به سلول‌های اپی‌تلوییدی تبدیل می‌شوند. دسیدوایی شدن در اندومتر جوندگان شامل رشد سلولی و کاهش شدید فضای خارج سلولی بافت همبند است. واکنش دسیدوایی در استرومای رحم جوندگان و انسان‌ها در اوایل بارداری قابل مشاهده است. عقیده بر این است که در طی واکنش دسیدوایی تغییراتی در ترکیب و ساختار ماتریکس خارج سلولی رخ می‌دهد و اینها شامل تغییراتی در توزیع، ساختار و ضخامت الیاف کلاژن است. یکی از مهم‌ترین تغییرات در بازسازی الیاف کلاژن افزایش قطر الیاف کلاژن در روز ۶ حاملگی در موش است (Greca et al, 2000). اگر چه افزایش قطر فیبرهای کلاژن نسبت مستقیمی با دسیدوایی شدن دارد، اما به وجود بلاستوسیست وابسته نبوده، زیرا فیبرهای ضخیم در دسیدوای موش با حاملگی کاذب نیز دیده شده است (Greca et al, 2000).

رسوب فیبرهای کلاژن ضخیم در دسیدوا ممکن است به تشکیل سدی کمک کند که مانع از مهاجرت لکوسیت‌ها در دسیدوا می‌شود وازرد ایمونولوژیک بافت‌های جنینی متفاوت از نظر ژنتیکی جلوگیری می‌کند (Carbone et al, 2006). بازسازی ماتریکس خارج سلولی به ویژه برای دسیدوالیزاسیون یک رویداد مهم در اوایل بارداری است. کلاژن‌ها و پروتئین‌های موجود در ماتریکس خارج سلولی، الگوهای بیانی و زمانی مشخصی در اوایل بارداری دارند. کلاژن اصلی فیبریل‌ساز انواع I و III در آندومتر موش وجود دارد و در مکان‌های لانه‌گزیتی در مقایسه با مکان‌های دیگر کاهش می‌یابد. کلاژن IV، یک کلاژن غیرفیبریل‌ساز، در غشای پایه در محل لانه‌گزینی ناپدید می‌شود و در نواحی دسیدوایی تجمع می‌یابد (Zheng et al, 2020).

دسیدوایی شدن باعث آرایش شبکه پروتئوگلیکان در نواحی مختلف آندومتر در روزهای مختلف بارداری می‌شود. رنگ‌آمیزی با کاپرولین نشان دهنده وجود پروتئوگلیکان در ماتریکس خارج سلولی به دو شکل ستونی و گرانولی است. کوچکترین استوانه‌ها در غشای پایه دیده می‌شوند و آرایش این فیلامنت‌ها شبیه فیلامنت‌هایی است که در غشا پایه سایر ارگان‌ها یافت می‌شود (Greca et al, 2000). یافته‌های بافت‌شناسی این مطالعه نشان داد که استرومای آندومتر در گروه کنترل حاوی رشته‌های کلاژن قطور و واکنش دسیدوایی خوبی داشت و لومن غدد حاوی ترشحات بود. در حالی که در گروه شاهد که تنها تحریک تخمک‌گذاری شده و هیچ هورمونی را دریافت نکرده بودند، از شدت رنگ‌آمیزی رشته‌های کلاژن در مقایسه با گروه کنترل کاهش یافته بود. به نظر می‌رسد تحریک بیش از حد تخمدان‌ها در پایان فاز فولیکولی منجر به افزایش زودرس پروژسترون می‌شود که باعث کاهش پذیرش آندومتر می‌شود (Fatemi et al, 2015). این تغییرات منجر به ناهم‌زمانی بین آندومتر و جنین می‌گردد که به نوبه خود منجر به شکست لانه گزینی می‌گردد (Mascarenhas et al, 2015). در تحقیقی که Salehnia و همکاران انجام دادند نشان داده شد که تحریک تخمک‌گذاری باعث کاهش ضخامت گلیکوکالیکس در اندومتر رحم شده و این مسئله می‌تواند باعث تغییر شارژ اندومتر در زمان لانه گزینی و در نتیجه تأثیر بر روی لانه گزینی جنین شود (Salehnia et al, 2006).

Klemmet و همکاران نیز به بررسی تأثیر تحریک تخمک‌گذاری بر روی زنان نابارور پرداختند و به این نتیجه رسیدند که آنالوگ‌های GnRH در مراحل اولیه لانه گزینی برروی ظرفیت آندومتر تأثیر منفی می‌گذارد (Klemm et al, 2009). یافته‌های بافت‌شناسی و هیستومورفومتری به دست آمده از گروه پروژسترون نشان داد که به طور کلی استفاده از پروژسترون باعث کاهش سنتز کلاژن و کاهش واکنش دسیدوایی می‌شود. کاهش واکنش دسیدوایی در گروه پروژسترون می‌تواند به دلیل کاهش آنژیوژنزیس باشد. در تأیید یافته‌های ما Arian Manesh و همکارانش نشان دادند که تجویز پروژسترون پس از تحریک تخمک‌گذاری تغییراتی را در آندومتر ایجاد می‌کند که احتمالا نمی‌تواند شرایط مناسبی را برای پذیرش جنین فراهم آورد (Arian Manesh et al, 2002). نتایج به دست آمده از گروه پروژسترون و مقایسه آن با گروه کنترل نشان داد که پروژسترون به تنهایی نمی‌تواند شرایط مناسبی را در آندومتر جهت لانه گزینی فراهم کند. نتایج به دست آمده از گروه استروژن نشان می‌دهد که فاصله بین سلول‌ها در استرومای آندومتر افزایش یافته و شدت سنتز کلاژن بیش‌تر از گروه کنترل بود.

اما در گروه استروژن به اضافه پروژسترون استروما از یک سلولاریتی و واکنش دسیدوایی نسبتاً مناسب برخوردار بود و میزان فیبرهای کلاژن تقریباً مشابه گروه استروژن بود. در حالی که Basir و همکارانش به بررسی مورفومتری اندومتر رحم در بیمارانی با غلظت بالای استروئید در زمان پیش از لانه گزینی پرداختند و به این نتیجه رسیدند که تغییرات مورفومتری ایجاد شده باعث کاهش درصد لانه گزینی جنین شده است (Basir et al, 2001).

در تحقیقی که Engmann و همکارانش انجام دادند نشان دادند که افزودن مکمل E2 واژینال به p برای حمایت لوتئال، احتمال بارداری پس از درمان IVF را بهبود نمی‌بخشد (Engmann et al, 2008).

نتایج ارزیابی قطر غدد در گروه‌های مورد مطالعه نشان می‌دهد که در مقایسه بین دو به دوی گروه‌ها جز در گروه‌های استروژن و استروژن همراه با پروژسترون در سایر گروه‌ها معنی‌دار می‌باشد (Figures 1-3). در تأیید یافته‌های ما Salehnia و همکارانش نشان دادند که تحریک بیش از حد تخمدان و به دنبال آن تزریق پروژسترون باعث تغییر شاخص‌های مورفومتریک اپیتلیوم سطحی و غده‌ای آندومتر می‌شود که می‌تواند بر پذیرش ندومتر تأثیر بگذارد (Salehnia et al, 2006) گیرنده‌های استروژن (ER)α و β و گیرنده‌های پروژسترون (PR)-A و –B در اپیتلیوم و استرومای اندومتر انسان بیان می‌شوند. ER بیش‌تر اثر

بیولوژیکی استروژن را با تعامل با DNA اختصاصی و سایر پروتئین‌های تنظیم کننده انجام می‌دهد. سیگنال‌دهی ER و PR در طول لانه‌گزینی از طریق فاکتورهای پاراکرین و اتوکرین با واسطه فاکتورهای رشد و همچنین سیتوکین‌ها انجام می‌شود (Kumar et al, 2011). پروژسترون اثرات خود را با فعال کردن PR اعمال می‌کند تا به روش ژنومی برای تنظیم پاسخ‌های رونویسی ژن‌های مرتبط با لانه گزینی عمل کند (Young, 2013).

تفاوت در بیان گیرنده‌های استروژن و پروژسترون در استرومای اندومتر تغییرات بافتی دراستروما را توجیه می‌کند. علی‌رغم وجود مطالعات متعدد در مورد نقش هورمون‌های استروئیدی و گیرنده‌های آن‌ها در سطح آندومتر، دانش در مورد بیان پروتئین و توزیع آن‌ها در طول پنجره لانه‌گزینی در انسان محدود است. یکی از دلایل اصلی این عدم آگاهی این است که شرکت کنندگان در چنین مطالعاتی ملزم به انجام بیوپسی آندومتر هستند که به وضوح بر پذیرش آندومتر و متعاقباً موفقیت لقاح آزمایشگاهی (IVF) تأثیر می‌گذارد. بنابراین انجام مطالعه بر روی زنان تحت IVF امکان‌پذیر نیست زیرا این روش تأثیر نامطلوبی بر نتیجه خواهد داشت (Klonos et al, 2020). نتایج این مطالعه نشان داد که بیان رشته‌های کلاژن در استرومای آندومتر با هورمون‌های استروئیدی مرتبط است به گونه‌ای که استروژن باعث افزایش سنتز رشته‌های کلاژن و پروژسترون باعث کاهش آن می‌شود. همچنین برای ایجاد واکنش دسیدوایی مناسب در آندومتر نیاز به حضور همزمان استروژن و پروژسترون می‌باشد.

تشکر و قدردانی

از زحمات کارشناس محترم آزمایشگاه بافت‌شناسی دانشکده پزشکی جناب آقای مهندس جعفر اسدی تشکر و قدردانی می‌شود.

تعارض منافع

بین نویسندگان تعارض در منافع وجود ندارد.

منابع مالی

پژوهش حاضر در قالب پایان‌نامه با حمایت مالی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز انجام شد.

منابع

Arian Manesh, M., Saleh Nia, M. & Nik Nafs, B. (2002). The effect of progesterone administration after ovulation stimulation on rat endometrial ultrastructure in pre-implantation time. *Yakhteh* 4 (14), 61–65.

Basir, G. S., O, W. S., Yu Ng, E. H., & Ho, P. C. (2001). Morphometric analysis of peri-implantation endometrium in patients having excessively high oestradiol concentrations after ovarian stimulation. *Human Reproduction*, *16*(3), 435-440.

Brosens, J. J., & Gellersen, B. (2006). Death or survival–progesterone-dependent cell fate decisions in the human endometrial stroma. *Journal of molecular endocrinology*, *36*(3), 389-398.

Crow, J., Wilkins, M., Howe, S., More, L., & Helliwell, P. (1991). Mast cells in the female genital tract. *International Journal of Gynecological Pathology: Official Journal of the International Society of Gynecological Pathologists*, *10*(3), 230-237.

Cha, J., Sun, X., & Dey, S. K. (2012). Mechanisms of implantation: strategies for successful pregnancy. *Nature medicine*, *18*(12), 1754-1767.

Carbone, K., Pinto, N. M., Abrahamsohn, P. A., & Zorn, T. M. (2006). Arrangement and fine structure of collagen fibrils in the decidualized mouse endometrium. *Microscopy research and technique*, *69*(1), 36-45.

De Paiva, S., Abrahamsohn, P. A., & Zorn, T. M. T. (1994). Histochemical demonstration of phospholipid containing choline in the cytoplasm of murine decidual cells. *Cells Tissues Organs*, *150*(2), 119-126.

Danielsson, K. G., Swahn, M. L., Westlund, P., Johannisson, E., Seppälä, M., & Bygdeman, M. (1997). Effect of low daily doses of mifepristone on ovarian function and endometrial development. *Human reproduction (Oxford, England)*, *12*(1), 124-131.

Engmann, L., DiLuigi, A., Schmidt, D., Benadiva, C., Maier, D., & Nulsen, J. (2008). The effect of luteal phase vaginal estradiol supplementation on the success of in vitro fertilization treatment: a prospective randomized study. *Fertility and sterility*, *89*(3), 554-561.

Fox, C., & Lessey, B. A. (2018). Signaling between embryo and endometrium: Normal implantation. In *Recurrent Implantation Failure* (pp. 1-19). Springer, Cham.

Fatemi, H. M., & Van Vaerenbergh, I. (2015). Significance of premature progesterone rise in IVF. *Current Opinion in Obstetrics and Gynecology*, *27*(3), 242-248.

Garrido-Gomez, T., Dominguez, F., Quiñonero, A., Diaz-Gimeno, P., Kapidzic, M., Gormley, M., ... & Simón, C. (2017). Defective decidualization during and after severe preeclampsia reveals a possible maternal contribution to the etiology. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *114*(40), E8468-E8477.

Greca, C. D. P. S., Nader, H. B., Dietrich, C. P., Abrahamsohn, P. A., & Zorn, T. M. T. (2000). Ultrastructural cytochemical characterization of collagen-associated proteoglycans in the endometrium of mice. *The Anatomical Record: An Official Publication of the American Association of Anatomists*, *259*(4), 413-423.

Hewitt, S. C., Grimm, S. A., Wu, S. P., DeMayo, F. J., & Korach, K. S. (2020). Estrogen receptor α (ERα)-binding super-enhancers drive key mediators that control uterine estrogen responses in mice. *Journal of Biological Chemistry*, *295*(25), 8387-8400.

Hubayter, Z.R. and Muasher, S.J., 2008. Luteal supplementation in in vitro fertilization: more questions than answers. *Fertility and sterility*, *89*(4), pp.749-758.

Kolibianakis, E. M., Venetis, C. A., Papanikolaou, E. G., Diedrich, K., Tarlatzis, B. C., & Griesinger, G. (2008). Estrogen addition to progesterone for luteal phase support in cycles stimulated with GnRH analogues and gonadotrophins for IVF: a systematic review and meta-analysis. *Human reproduction*, *23*(6), 1346-1354.

Krüssel, J. S., Bielfeld, P., Polan, M. L., & Simón, C. (2003). Regulation of embryonic implantation. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, *110*, S2-S9..King, A., 2000. Uterine leukocytes and decidualization. *Human reproduction update*, *6*(1), pp.28-36.

Klemmt, P. A., Liu, F., Carver, J. G., Jones, C., Brosi, D., Adamson, J., ... & McVeigh, E. (2009). Effects of gonadotrophin releasing hormone analogues on human endometrial stromal cells and embryo invasion in vitro. *Human reproduction*, *24*(9), 2187-2192.

Kumar, R., Zakharov, M. N., Khan, S. H., Miki, R., Jang, H., Toraldo, G., ... & Jasuja, R. (2011). The dynamic structure of the estrogen receptor. *Journal of amino acids*, *2011*.

Klonos, E., Katopodis, P., Karteris, E., Papanikolaou, E., Tarlatzis, B., & Pados, G. (2020). Endometrial changes in estrogen and progesterone receptor expression during implantation in an oocyte donation program. *Experimental and therapeutic medicine*, *20*(6), 1-1.

Lindhard, A., Bentin-Ley, U., Ravn, V., Islin, H., Hviid, T., Rex, S., ... & Sørensen, S. (2002). Biochemical evaluation of endometrial function at the time of implantation. Fertility and Sterility, 78(2), 221-233.

Mascarenhas, M., Kamath, M. S., Chandy, A., & Kunjummen, A. T. (2015). Progesterone/estradiol ratio as a predictor in the ART cycles with premature progesterone elevation on the day of hCG trigger. *Journal of reproduction & infertility*, *16*(3), 155.

Okada, H., Tsuzuki, T., & Murata, H. (2018). Decidualization of the human endometrium. *Reproductive medicine and biology*, *17*(3), 220-227.

Oliveira, S. F., Abrahamsohn, P., & Zorn, T. M. T. (1998). Autoradiography reveals regional metabolic differences in the endometrium of pregnant and nonpregnant mice. *Brazilian journal of medical and biological research*, *31*(2), 307-312.

Proctor, A., Hurst, B. S., Marshburn, P. B., & Matthews, M. L. (2006). Effect of progesterone supplementation in early pregnancy on the pregnancy outcome after in vitro fertilization. *Fertility and sterility*, *85*(5), 1550-1552.

Simón, C., Martín, J. C., & Pellicer, A. (2000). Paracrine regulators of implantation. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*, *14*(5), 815-826.

Spiess, K., Teodoro, W. R., & Zorn, T. M. (2007). Distribution of collagen types I, III, and V in pregnant mouse endometrium. *Connective tissue research*, *48*(2), 99-108.

Simon, C., Domínguez, F., Valbuena, D., & Pellicer, A. (2003). The role of estrogen in uterine receptivity and blastocyst implantation. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, *14*(5), 197-199.

Sharma, A., & Kumar, P. (2012). Understanding implantation window, a crucial phenomenon. *Journal of human reproductive sciences*, *5*(1), 2.

Salehnia, M., Arianmanesh, M., & Beygi, M. (2006). The impact of ovarian stimulation on mouse endometrium: a morphometrical study.

Teh, W. T., McBain, J., & Rogers, P. (2016). What is the contribution of embryo-endometrial asynchrony to implantation failure?. *Journal of assisted reproduction and genetics*, *33*(11), 1419-1430.

Wu, D., Kimura, F., Zheng, L., Ishida, M., Niwa, Y., Hirata, K., ... & Murakami, T. (2017). Chronic endometritis modifies decidualization in human endometrial stromal cells. *Reproductive biology and endocrinology*, *15*(1), 1-10.

Young, S. L. (2013). Oestrogen and progesterone action on endometrium: a translational approach to understanding endometrial receptivity. *Reproductive biomedicine online*, *27*(5), 497-505.

Zheng, H. T., Zhang, H. Y., Chen, S. T., Li, M. Y., Fu, T., & Yang, Z. M. (2020). The detrimental effects of stress-induced glucocorticoid exposure on mouse uterine receptivity and decidualization. *The FASEB Journal*, *34*(11), 14200-14216.

Received: 29.05.2022
Accepted: 04.10.2022

Vol. 19, No. 4, Winter, 2024 **Original Article**
DOI: 10.22055/IVJ.2022.343180.2470

Evaluation of the effects of steroid hormones on collagen fibers in the endometrial stroma of ovulation-stimulated mice

Hanieh Molazade[1], Fatemeh Afshari[2*] and Arash khaki[3]

[1] Graduate of General Medicine, Faculty of Medicine, Tabriz Medical Sciences, Islamic Azad University, Tabriz, Iran
[2] Assistant Professor, Dpartment of Histopathology and Anatomy, Faculty of Medicine, Tabriz Medical Sciences, Islamic Azad University, Tabriz, Iran
[3] Professor, Dpartment of Pathology, Faculty of Veterinary, Tabriz Medical Sciences, Islamic Azad University, Tabriz, Iran

Received: 29.05.2022 Accepted: 04.10.2022

Abstract

Successful blastocyst implantation requires a suitable uterine environment. Ovarian hormones are responsible for endometrial maturation. The aim of this study is to investigate the effects of steroid hormones on collagen fibers and the diameter of endometrial glands in the endometrial stroma of ovulated mice. In this study, mice were divided into five groups after stimulation of ovulation and pregnancy: 1) Control 2) Experimental control 3) Estrogen 4) Progesterone, 5) Estrogen with progesterone 5 days after pregnancy, mice were killed by cervical vertebral dislocation and their uterus was sampled and prepared for light microscope. The results obtained from this study showed that progesterone administration reduces the thickness of collagen fibers in the endometrium, while injection of estrogen with progesterone can cause the growth of collagen fibers in the endometrium and increase the diameter of glands compared to progesterone. Also, histomorphometric results obtained from this study showed that the size of glandular diameter between groups was significant except in the estrogen and estrogen with progesterone groups. The results of this study also showed that progesterone compared to the control group cannot provide a suitable environment for implantation and the addition of estrogen to progesterone can create a better situation for implantation in the luteal phase.

Key words: Ovulation, Implantation, Collagen, Estrogen, Progesterone

[*] **Corresponding Author**: Fatemeh Afshari, Assistant Professor, Dpartment of Histopathology and Anatomy, Faculty of Medicine, Tabriz Medical Sciences, Islamic Azad University, Tabriz, Iran
E-mail: F_afshar@iaut.ac.ir

© 2020 by the authors. Licensee SCU, Ahvaz, Iran. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0 license) (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).