

اثر رزوراترول بر لیپیدهای خون و شاخص تصلب‌زایی در مدل موش صحرایی با تخمدان پلی‌کیستیک

مهناز قوسی^{۱*}، همایون خزعلی^۲ و سجاد سی‌سخت‌نژاد^۳

تاریخ دریافت: ۹۶/۱۲/۹

تاریخ پذیرش: ۹۷/۸/۱۹

چکیده

سندرم تخمدان پلی‌کیستیک یک اختلال اندوکرینی در زنان در سن تولیدمثل است که معمولاً با مقاومت به انسولین و هایپرلیپیدمی همراه است. رزوراترول یک پلی‌فنول طبیعی دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی و محافظت‌کننده‌ی قلبی می‌باشد. تاکنون مطالعه‌ای درباره‌ی اثر رزوراترول بر نمایه‌ی لیپیدی در این سندرم انجام نشده است. این مطالعه با هدف بررسی رزوراترول بر نمایه‌ی لیپیدی و شاخص تصلب‌زایی در موش‌های صحرایی مدل سندرم تخمدان پلی‌کیستیک انجام شد. در این مطالعه تجربی پانزده سر موش صحرایی ماده‌ی نژاد ویستار (۲۱ روزه) به ۳ گروه (n=5) تقسیم شدند: گروه‌های کنترل، پلی‌کیستیک، و گروه پلی‌کیستیک تحت تیمار با رزوراترول. برای القاء فنوتیپ تخمدان پلی‌کیستیک، به موش‌های صحرایی ماده‌ی نابالغ، تستوسترون انانتات با دوز ۱ mg/۱۰۰ g وزن بدن به صورت زیرجلدی به مدت ۳۵ روز تزریق شد. سپس به گروه تحت تیمار با رزوراترول، رزوراترول با دوز ۱۰ mg/kg به صورت داخل صفاقی به مدت ۲۸ روز تزریق گردید. در پایان، غلظت‌های سرمی کلسترول و تری‌گلیسریدهای تام، LDL-C، VLDL-C، HDL-C، گلوکز و شاخص تصلب‌زایی اندازه‌گیری شد. تیمار حیوانات گروه مدل تخمدان پلی‌کیستیک با رزوراترول سطوح سرمی LDL-C، گلوکز و شاخص تصلب‌زایی را کاهش و میزان HDL-C را افزایش داد. نتایج نشان می‌دهد که تیمار موش‌های صحرایی دچار تخمدان پلی‌کیستیک با رزوراترول ممکن است موجب بهبود وضعیت دیس‌لیپیدمی شود و میزان شاخص تصلب‌زایی و گلوکز خون را کاهش دهد و ممکن است یک ترکیب درمانی مناسب برای بهبود اختلالات متابولیکی همراه با سندرم تخمدان پلی‌کیستیک باشد.

کلمات کلیدی: لیپید، تخمدان پلی‌کیستیک، رزوراترول، شاخص تصلب‌زایی

مقدمه

سندرم تخمدان پلی‌کیستیک ارتباط قوی با سندرم متابولیک دارد و میزان شیوع آن در این بیماران ۴۰-۵۰ درصد است و احتمال ابتلای بیماران دچار سندرم تخمدان پلی‌کیستیک به سندرم متابولیک، ۲-۴ برابر زنان غیرمبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک است (Kasper et al. 2015). همچنین مقاومت به انسولین که با هایپرگلاسمی مشخص می‌شود یک ویژگی معمول در

سندرم تخمدان پلی‌کیستیک یک اختلال اندوکرینی چند عاملی با شیوع ۱۰-۵ درصد در میان زنان در سن تولید مثل است و در آن عدم تخمک‌گذاری، هیپرآندروژنیسم و تخمدان‌های دارای ظاهر پلی‌کیستیک دیده می‌شود. دیس‌لیپیدمی یک اختلال متابولیکی معمول با شیوع حدود ۷۰ درصد در میان زنان دچار سندرم تخمدان پلی‌کیستیک است (Kim and Choi 2013).

*۱ دانشجوی دکتری فیزیولوژی جانوری، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

E-mail: Ghowsi.mahnaz@gmail.com (نویسنده‌ی مسئول)

۲ دانشیار، گروه علوم جانوری و فناوری زیستی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

۳ استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران

درمان‌هایی مانند استفاده از قرص‌های حساس کننده به انسولین و استفاده از داروهای ضدآندروژن می‌باشد (Brawer et al. 1986). علی‌رغم درمان‌های در دسترس هیچ مداخله‌ی فارماکولوژیک ایده‌آلی وجود ندارد. بهبود وضعیت دیس‌لیپیدمی و مقاومت به انسولین می‌تواند در کاهش خطر بیماری‌های قلبی-عروقی در این بیماران مؤثر باشد. ترکیبات درمانی زیادی برای مدیریت دیس‌لیپیدمی در بیماران در دسترس است. رزوراترول (3,4,5-trihydroxystilbene) یک ماده‌ی غیرسمی در برخی از گیاهان از جمله انگور است و ماده‌ای آنتی‌اکسیدان، ضدالتهاب و ضدسرطان برای کاربردهای درمانی مختلف است (Arrick et al. 2011). برخی مطالعات نشان داده‌اند که رزوراترول دارای اثرات پایین آورنده‌ی لیپید در خون است و نیز می‌تواند غلظت گلوکز در خون را کاهش دهد (Su et al. 2006). همچنین مطالعات نشان داده‌اند که رزوراترول از طریق مکانیسم‌های مختلفی میزان لیپیدها و لیپوپروتئین‌های خون را تعدیل می‌کند و سنتز تری-گلیسریدها در کبد و تجمع تری‌گلیسریدها در کبد را مهار می‌کند. همچنین رزوراترول از طریق اثرات آنتی‌اکسیدانی خود موجب محافظت قلبی می‌شود. علاوه بر این نشان داده شده است که در مدل‌های حیوانی رزوراترول باعث کاهش چربی احشایی می‌شود (Shang et al. 2008). همچنین مطالعات قبلی نشان داده‌اند که رزوراترول موجب کاهش وسعت آترواسکلروزیس در حیوانات مدل آترواسکلروزیس شده است (Prasad 2012). یک مطالعه نشان داد که رزوراترول اندازه، چگالی و مساحت پلاک-های آترواسکلروتیک و ضخامت لایه‌ی ایتریم در خرگوش‌های دارای رژیم غذایی پرکلسترول را کاهش داد و دارای اثرات آنتی‌اسکلروتیک بود (Wang et al. 2005). برخی تحقیقات نشان داده که رزوراترول از طریق ایجاد اثرات ضدالتهابی موجب تضعیف تشکیل آسیب‌های آترواسکلروتیک می‌شود زیرا رزوراترول موجب مهار فعال‌سازی NFκB و در نتیجه کاهش بیان سایتوکاین‌های التهابی می‌گردد (Chang et al. 2015). در یک مطالعه

سندرم تخمدان پلی‌کیستیک است و در ۷۰-۵۰ درصد زنان دچار این اختلال دیده می‌شود (Burgen et al. 1983, Chang et al. 1980) و احتمالاً یک آغاز کننده‌ی اصلی هاپیرآندروژنیسم و عدم تخمک‌گذاری یا تعداد کم تخمک‌گذاری است (Goodarzi and Korenman 2003). افزایش میزان کلسترول و غیرطبیعی بودن سطوح لیپیدهای دیگر و افزایش غلظت کلسترول لیپوپروتئین کم چگالی (LDL-C (Very low-density lipoprotein-cholesterol) و کاهش غلظت کلسترول لیپوپروتئین بالا چگالی (HDL-C (High-density lipoprotein-cholesterol) از مهم‌ترین فاکتورهای خطری هستند که رابطه‌ای مستقیم با ایجاد بیماری‌های قلبی-عروقی دارند (Ramprasath and Jones 2010). برخی مطالعات نشان داده‌اند که در بیماران مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک، میزان کلسترول تام و کلسترول LDL افزایش و میزان کلسترول HDL کاهش یافته است (Bilal et al. 2018). تحقیقات نشان داده‌اند که هاپیرلیپیدمی، استرس اکسیداتیو، التهاب، لیپوپروتئین با چگالی کم اکسید شده و مولکول‌های چسبندگی^۱ از عوامل مؤثر در پیشرفت تصلب شرایین هستند (Prasad 2012). دیس‌لیپیدمی مشاهده شده در زنان دچار سندرم تخمدان پلی‌کیستیک ممکن است با دیس‌لیپیدمی مشاهده شده در وضعیت مقاومت به انسولین هم‌سو باشد (Kim and Choi 2013) زیرا در وضعیت مقاومت به انسولین افزایش LDL-C، کاهش HDL-C، افزایش تری‌گلیسریدها، کاهش آپولیپوپروتئین A-I و افزایش آپولیپوپروتئین B دیده می‌شود (Kim and Choi 2013). همچنین چاقی که در میان بیماران مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک شایع است (Rojas et al. 2014) می‌تواند بر وضعیت الگوی لیپیدهای خون اثر بگذارد (Kim and Choi 2013). چندین مداخله تا کنون برای درمان اختلالات متابولیک همراه با سندرم پلی‌کیستیک تخمدان ارایه شده است که از جمله آن‌ها

گزارش شد که دوز مصرفی بالای رزوراترول موجب کاهش LDL-C و کاهش شاخص تصلب‌زایی LDL-C/HDL-C در موش‌های مورد مطالعه گردید (Chang et al. 2015). با این وجود نتایج درباره‌ی اثرات رزوراترول بر لیپیدها و الگوی لیپیدی متناقض است و برخی مطالعات گزارش کرده‌اند که تیمار با رزوراترول اثری بر الگوی لیپیدی ندارد (Ramprasath and Jones 2010). تا کنون مطالعه‌ای در مورد اثر رزوراترول بر نمایه‌ی لیپیدی در مدل تخمدان پلی‌کیستیک انجام نشده است. بنابراین مطالعه‌ی حاضر طراحی گردید تا اثرات سودمند احتمالی مصرف رزوراترول بر نمایه‌ی لیپیدی و سطح گلوکز خون در موش‌های صحرایی مدل تخمدان پلی‌کیستیک مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روش کار

در این مطالعه‌ی تجربی از پانزده سر موش صحرایی ماده نژاد ویستار ۲۱ روزه استفاده شد. این مطالعه توسط کمیته اخلاق کار با حیوانات دانشگاه رازی کرمانشاه مورد تأیید قرار گرفت (کد: ۳۹۶-۲۰۱۷). در این تحقیق برای القاء فنوتیپ تخمدان پلی‌کیستیک، به موش‌های صحرایی ماده‌ی نابالغ ۲۱ روزه، تستوسترون انانتات حل شده در روغن کنجد با دوز ۱۰ mg/kg و یک بار در روز به صورت زیرجلدی به مدت ۳۵ روز تزریق شد (Beloosesky et al. 2004). حیوانات به سه گروه (۵ موش در هر گروه) تقسیم شدند: ۱) گروه کنترل. این گروه هیچ تیماری را دریافت نکرد؛ ۲) گروه مدل تخمدان پلی‌کیستیک + سالین. در این حیوانات بعد از القاء تخمدان پلی‌کیستیک، به مدت ۲۸ روز نرمال سالین با دوز ۱ میلی‌لیتر به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، یک بار در روز، به صورت داخل صفاقی تزریق گردید؛ ۳) گروه مدل تخمدان پلی‌کیستیک + رزوراترول. به این حیوانات بعد از تزریق تستوسترون، رزوراترول (Sigma-Aldrich) با دوز ۱۰ mg/kg به صورت داخل صفاقی، یک بار در روز، به مدت ۲۸ روز تزریق گردید (Ergenoglu et al. 2015).

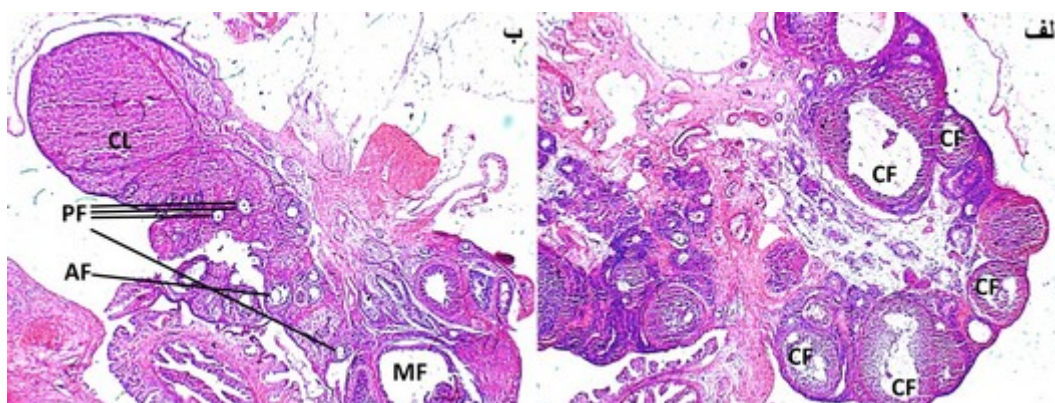
در پایان دوره‌ی تیمارها، پس از بیهوش کردن حیواناتی که از روز قبل ناشتا بودند، از قلب حیوانات خون‌گیری و نمونه‌های سرم تهیه شد و غلظت‌های گلوکز، تری-گلیسریدها با استفاده از کیت‌های تجاری (زیست شیمی، ایران)، کلسترول لیپوپروتئین با چگالی بالا (LDL-C) و کلسترول لیپوپروتئین کم چگالی (LDL-C)، با استفاده از کیت‌های مربوطه (پارس آزمون، ایران) و غلظت هورمون تستوسترون با استفاده از روش رادیوایمونواسی (RIA) اندازه‌گیری شد (Lee et al. 1975). غلظت کلسترول لیپوپروتئین بسیار کم چگالی VLDL-C با استفاده از فرمول Norbert و غلظت کلسترول تام با استفاده از فرمول Friedewald و همکارانش و شاخص تصلب‌زایی (Atherogenic index) با استفاده از فرمول: $\text{index (AI)} = (\text{Total cholesterol} - \text{HDL-C}) / \text{HDL-C}$ محاسبه گردید (Hassan et al. 2011). در این مطالعه، به منظور تأیید این که آیا تیمار با تستوسترون انانتات باعث القاء سندرم تخمدان پلی‌کیستیک در موش‌های صحرایی مورد مطالعه شده بود یا خیر، تغییرات هیستوپاتولوژیکی در برش‌های تخمدان در موش‌های صحرایی گروه مدل تخمدان پلی‌کیستیک + سالین بررسی و با برش‌های تخمدان حیوانات گروه کنترل مقایسه شد. نتایج با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS (نسخه ۱۶) و روش آنالیز واریانس یک طرفه و متعاقب آن تست Tukey، بررسی گردید. داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ متوسط انحراف معیار استاندارد بیان شد و کلیه‌ی مقادیر با $P < 0/05$ معنی‌دار تلقی گردید.

نتایج

همان گونه که در تصویر ۱- الف نشان داده شده است در برش‌های مربوط به بافت تخمدان در گروه مدل تخمدان پلی‌کیستیک + سالین، فولیکول‌های کیستیک قابل مشاهده بود اما در گروه کنترل (تصویر ۱- ب)، فولیکول‌های کیستیک وجود نداشت و فولیکول‌های در مراحل مختلف رشد مثل فولیکول‌های آغازین، فولیکول‌های

آنترال و جسم زرد قابل مشاهده بود. میانگین غلظت سرمی هورمون تستوسترون در گروه مدل تخمدان پلی-کیستیک + سالین و گروه مدل تخمدان پلی-کیستیک + سالین به طور معنی‌داری بالاتر از گروه کنترل بود ($P=0/000$) و میانگین غلظت سرمی تستوسترون در گروه

مدل تخمدان پلی-کیستیک + رزوراترول با میزان آن در گروه مدل تخمدان پلی-کیستیک + سالین تفاوت معنی‌داری نداشت ($P=0/000$) (شکل ۲- الف). این شواهد نشان دهنده‌ی موفقیت در ایجاد مدل سندرم تخمدان پلی-کیستیک در حیوانات مورد مطالعه بود.



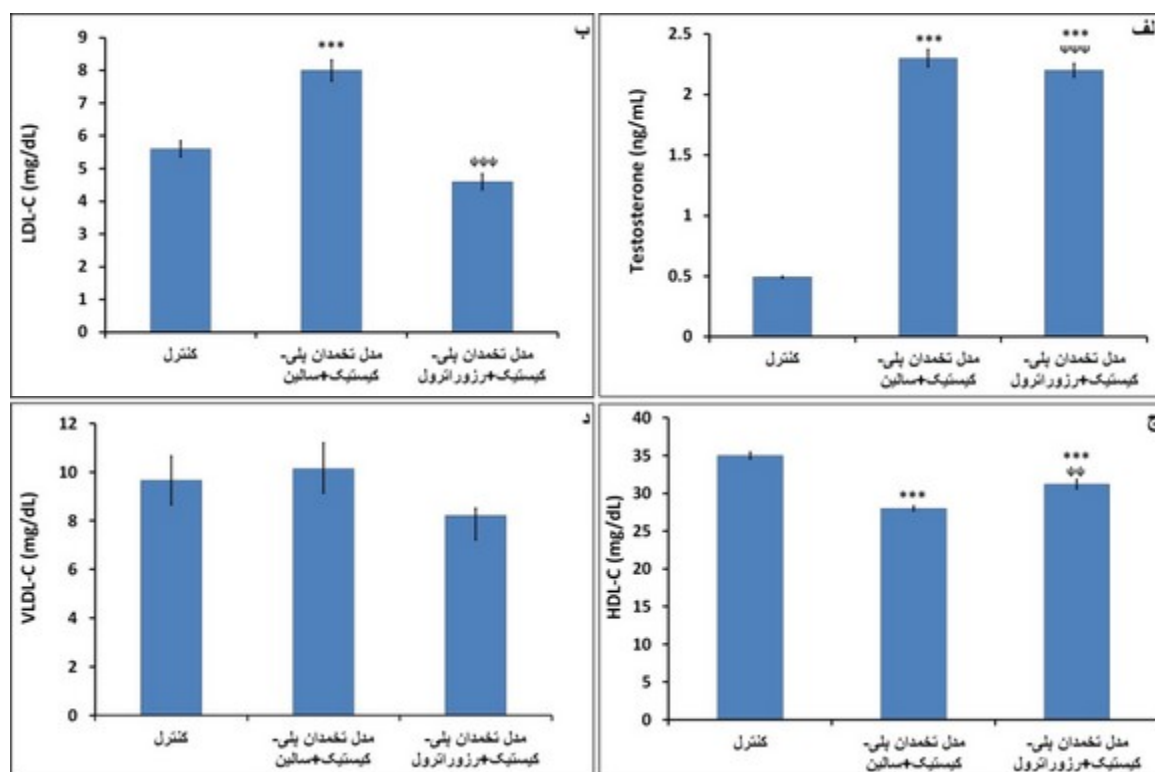
تصویر ۱: مقایسه تغییرات هیستوپاتولوژیک در برش‌های تخمدان گروه مدل تخمدان پلی‌کیستیک + سالین (الف) و گروه کنترل (ب). موش‌های گروه کنترل هیچ تیماری دریافت نکردند. به موش‌های گروه پلی‌کیستیک + سالین تستوسترون انانات با دوز ۱ میلی‌گرم به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدن و به صورت زیر جلدی به مدت ۳۵ روز، یک بار در روز، تزریق شد. سپس به آن‌ها سالین به مدت ۴ هفته به صورت داخل صفاقی تزریق شد. در تخمدان‌های گروه مدل تخمدان پلی‌کیستیک + سالین، فولیکول‌های کیستیک قابل مشاهده است (الف). مورفولوژی تخمدان موش‌های گروه کنترل نرمال بود (ب). (بزرگنمایی $\times 4$: هماتوکسیلین/اُئوزین). اختصاراتها نشان دهنده‌ی موارد زیر است: CL: جسم زرد، AF: فولیکول آنترال، PF: فولیکول آغازین، CF: فولیکول کیستیک

میانگین سطح سرمی LDL-C در گروه مدل تخمدان پلی‌کیستیک + سالین بالاتر از گروه کنترل بود ($P=0/000$). میانگین سطح سرمی LDL-C در گروه مدل تخمدان پلی‌کیستیک + رزوراترول به طور معنی‌داری پایین‌تر از گروه مدل تخمدان پلی‌کیستیک + سالین بود ($P=0/000$) و میانگین غلظت سرمی LDL-C در گروه مدل تخمدان پلی‌کیستیک + رزوراترول با گروه کنترل تفاوت معنی‌داری نداشت ($P=0/055$) (تصویر ۲- ب). میانگین سطح سرمی HDL-C در حیوانات گروه مدل تخمدان پلی‌کیستیک + سالین پایین‌تر از گروه کنترل بود ($P=0/000$). این پارامتر در گروه مدل تخمدان پلی-کیستیک + رزوراترول، بالاتر از گروه مدل تخمدان پلی-کیستیک + سالین ($P=0/001$)، اما از گروه کنترل کم‌تر بود

(تصویر ۲- ج). غلظت سرمی VLDL-C و تری‌گلیسریدها در میان گروه‌های مختلف تفاوت معنی‌داری نداشت ($0/05$) (تصویر ۲- د، جدول ۱). میانگین غلظت کلسترول تام در سرم حیوانات گروه مدل تخمدان پلی‌کیستیک + سالین با میزان این پارامتر در گروه کنترل تفاوت معنی‌داری نداشت ($P=0/050$). این پارامتر در گروه مدل تخمدان پلی‌کیستیک + رزوراترول، کم‌تر از میزان آن در گروه کنترل بود ($P=0/004$) اما با مقدار آن در گروه مدل تخمدان پلی‌کیستیک + سالین ($P=0/385$) تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول ۱). میانگین سطح سرمی گلوکز ناشتا در گروه مدل تخمدان پلی‌کیستیک + سالین بالاتر از گروه کنترل بود ($P=0/008$). میانگین غلظت سرمی در میان گروه مدل تخمدان پلی‌کیستیک +

کیستیک + رزوراترول با گروه کنترل تفاوت معنی‌داری نداشت ($P=0/983$) (جدول ۱).

رزوراترول به طور معنی‌داری پایین‌تر از گروه مدل تخمدان پلی‌کیستیک + سالین بود ($P=0/011$) و میانگین غلظت سرمی گلوکز ناشتا در گروه مدل تخمدان پلی-



تصویر ۲: غلظت‌های سرمی. الف- تستوسترون، ب- کلسترول لیپوپروتئین کم‌چگالی (LDL-C)، ج- کلسترول لیپوپروتئین با چگالی بالا (HDL-C)، د- کلسترول لیپوپروتئین با چگالی بسیار کم (VLDL-C) در گروه‌های کنترل، مدل تخمدان پلی‌کیستیک + سالین، و مدل تخمدان پلی‌کیستیک + رزوراترول. *** اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه کنترل را نشان می‌دهد ($P<0/001$). $\Psi\P\P\P$ اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه مدل تخمدان پلی‌کیستیک + سالین را نشان می‌دهد ($P<0/001$). $\Psi\P\P$ اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه مدل تخمدان پلی‌کیستیک + سالین را نشان می‌دهد ($P<0/01$). داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف استاندارد گزارش شده‌اند.

جدول ۱: میانگین و انحراف معیار یا خطای استاندارد غلظت‌های سرمی کلسترول تام، تری‌گلیسیریدها و گلوکز در گروه‌های کنترل،

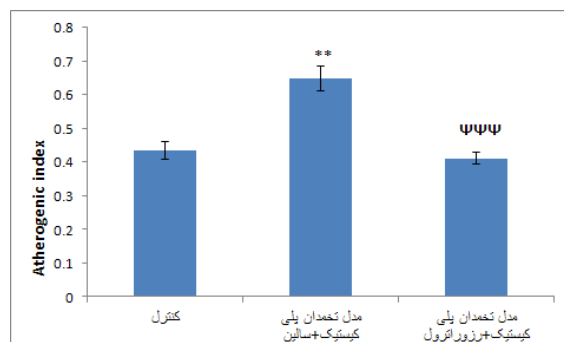
مدل تخمدان پلی‌کیستیک + سالین و مدل تخمدان پلی‌کیستیک + رزوراترول

گروه	کلسترول تام (mg/dl)	تری‌گلیسیریدها (mg/dl)	گلوکز (mg/dl)
کنترل	$50/27 \pm 1/35$	$48/34 \pm 4/92$	$88/07 \pm 4/41$
مدل تخمدان پلی‌کیستیک + سالین	$46/14 \pm 1/15$	$50/71 \pm 5/28$	$130/1 \pm 10/18^{**}$
مدل تخمدان پلی‌کیستیک + رزوراترول	$44/02 \pm 0/66^{**}$	$41/11 \pm 1/42$	$90/06 \pm 8/43^{\Psi}$

** اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه کنترل را نشان می‌دهد ($P<0/01$). Ψ اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه مدل تخمدان پلی‌کیستیک + سالین را نشان می‌دهد ($P<0/05$). داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف استاندارد آورده شده است.

در گروه مدل تخمدان پلی‌کیستیک بیش‌تر و HDL-C کم-تر از گروه کنترل بود اما میزان تری‌گلیسریدها تفاوت معنی‌داری نداشت. برخی مطالعات نشان داده‌اند که در زنان دچار سندرم تخمدان پلی‌کیستیک در مقایسه با افراد کنترل میزان تری‌گلیسریدها افزایش و میزان HDL-C کاهش یافته است (Wild et al. 1985, Legro et al. 2001, Yilmaz et al. 2005). همچنین برخی مطالعات گزارش کرده‌اند که میزان LDL-C در زنان دچار سندرم تخمدان پلی‌کیستیک در مقایسه با افراد کنترل افزایش یافته است (Legro et al. 2001, Valkenburg et al. 2008). دلیل افزایش LDL-C در این بیماران مشخص نیست اما ممکن است با هایپراندرژیسم و بیماری‌های ژنتیکی مرتبط باشد (Recabarren et al. 2008). در مطالعه‌ی حاضر غلظت بالای LDL-C یافت شده در حیوانات مدل تخمدان پلی‌کیستیک ممکن است به دلیل کاهش بیان رسپتورهای LDL-C توسط اسیدهای چرب اشباع در خون باشد زیرا هایپراندرژیسم موجب افزایش بیان لیپاز حساس به هورمون و تحریک رهایش اسیدهای چرب آزاد از بافت چربی می‌شود (Rojas et al. 2014). به خوبی شناخته شده است که افزایش میزان لیپیدهای خون موجب جنبش لیزوزومی و آغاز تجزیه سلول‌ها می‌شود. مهم‌ترین بخش از کلسترول تام، LDL-C است که رابطه‌ی مستقیمی با بیماری عروق کرونری دارد (Brousseau and Schaefer 2000). در هنگام استفاده از داروهای کاهنده‌ی لیپید، مهم‌ترین هدف درمانی کاهش LDL-C است زیرا این نوع کلسترول دارای اثرات تصلب‌زایی زیادی است. HDL-C در پیش‌گیری از بیماری‌های عروق کرونر نقش محافظت کننده دارد و اتصال اندوتلیالی لیزوفسفاتی‌دیل کولین (Lyso-PC) را کاهش می‌دهد (Karimi and Hayatghaibi 2006) و حتی نشان داده شده که HDL-C دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی است و از پراکسیداسیون لیوپروتئین‌های بتا جلوگیری می‌کند زیرا یک رفتگر رادیکال آزاد است (Hassan et al. 2011). نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که تیمار حیوانات

میانگین شاخص تصلب‌زایی در حیوانات گروه مدل تخمدان پلی‌کیستیک + سالین بالاتر از گروه کنترل بود ($P=0/001$). این پارامتر در گروه مدل تخمدان پلی‌کیستیک + رزوراترول، کم‌تر از گروه مدل تخمدان پلی‌کیستیک + سالین ($P=0/000$)، اما با گروه کنترل تفاوت معنی‌داری نداشت ($P=0/829$) (تصویر ۳).



تصویر ۳: شاخص تصلب‌زایی در گروه‌های کنترل، مدل تخمدان پلی‌کیستیک + سالین، و مدل تخمدان پلی‌کیستیک + رزوراترول.

** اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه کنترل را نشان می‌دهد ($P<0/01$).
 ΨΨΨ اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه مدل تخمدان پلی‌کیستیک + سالین را نشان می‌دهد ($P<0/001$). داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف استاندارد گزارش شده‌اند.

بحث

در این مطالعه که روی موش‌های صحرایی مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک القا شده با تستوسترون انانات، انجام شد، هایپراندرژیسم که مهم‌ترین ویژگی کلینیکی در بیماران مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک است به خوبی دیده شد. از این مدل حیوانی در مطالعات دیگر نیز استفاده شده است و مدل مناسبی جهت بررسی اختلالات متابولیکی همراه با سندرم تخمدان پلی‌کیستیک می‌باشد (Beloosesky et al. 2004). همچنین در حیوانات مدل تخمدان پلی‌کیستیکی که با رزوراترول تیمار شدند، میزان تستوسترون همچنان بالاتر از گروه کنترل بود و تیمار با رزوراترول باعث کاهش غلظت این هورمون نشد. در مطالعه‌ی حاضر میزان LDL-C سرمی

مدل سندرم تخمدان پلی‌کیستیک با رزوراترول، با افزایش میزان سرمی HDL-C همراه بود. رزوراترول یک پلی-فنول است. مطالعات نشان داده که مصرف پلی-فنول‌ها باعث کاهش بیماری کرونری قلب در مردم فرانسه شده بود. یک مطالعه‌ی متاآنالیز نشان داده که میزان HDL-C تا 0.3 mol/L افزایش یافته بود. اثرات سودمند مصرف پلی‌فنول‌ها روی HDL-C با افزایش دوره‌ی مصرف (بیش‌تر از سه الی ۲۶ هفته) چشم‌گیرتر بود (Garg et al. 2015). تاکنون مکانیسمی برای این اثر رزوراترول پیشنهاد نشده است و مطالعات بیش‌تری در این زمینه لازم است.

در مطالعه‌ی حاضر غلظت سرمی گلوکز در حیوانات مدل سندرم تخمدان پلی‌کیستیک بالاتر از گروه کنترل بود و تیمار با رزوراترول موجب کاهش سطح سرمی گلوکز ناشتا گردید. به طور مشابه گزارش شده که در بیماران با دیابت نوع ۲، ترانس رزوراترول مقاومت به انسولین را بهبود داده و سطح گلوکز خون را کم می‌کند (Brasnyó et al. 2011). همچنین گزارش شده که انفوزیون رزوراترول حساسیت به انسولین را در موش‌های صحرایی تغذیه شده با رژیم غذایی پرچربی افزایش داد و تولید گلیکوژن کبدی را کم کرد. فهم مکانیسم‌های دخیل در این اثرات ضد دیابتی مشکل است (Côté et al. 2015). مطالعات نشان داده‌اند که رزوراترول دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی است و موجب کاهش رادیکال‌های آزاد می‌شود (Baur and Sinclair 2006). مطالعات نشان داده که استرس اکسیداتیو و التهاب در ایجاد مقاومت به انسولین نقش دارند و همچنین گزارش شده که در زنان دچار سندرم تخمدان پلی‌کیستیک، بیومارکرهای استرس اکسیداتیو و التهاب افزایش یافته است (Escobar et al. 2014, Morreale et al. 2011, Desai et al. 2014). ممکن است بخشی از اثر رزوراترول در کاهش قند خون و کاهش مقاومت به انسولین به دلیل اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی رزوراترول باشد (Rojas et al. 2014). همان طور که قبلاً اشاره شد، شیوع چاقی و مقاومت به انسولین

در بیماران دچار سندرم تخمدان پلی‌کیستیک بالاست. چاقی و مقاومت به انسولین علاوه بر این که موجب تولید بیش از اندازه VLDL-C کبدی می‌شوند، می‌توانند با درجاتی از کاهش فعالیت لیپوپروتئین لیپاز مرتبط باشند. این ارتباط می‌تواند ناشی از اثرات مقاومت بافتی به انسولین باشد چرا که مقاومت به انسولین به کاهش نسخه‌برداری لیپوپروتئین لیپاز در ماهیچه‌ی اسکلتی و بافت چربی و ایجاد لیپولیز منجر می‌شود و کاهش فعالیت لیپوپروتئین لیپاز موجب افزایش LDL-C و HDL-C می‌گردد (Kasper et al. 2015). در مدل موش صحرایی با تخمدان پلی‌کیستیک مورد استفاده در مطالعه‌ی حاضر تیمار با رزوراترول بر میزان VLDL-C تغییر معنی‌داری ایجاد نکرد. در تحقیق حاضر شاخص تصلب‌زایی در گروه حیوانات مدل تخمدان پلی‌کیستیک در مقایسه با حیوانات گروه کنترل افزایش یافته بود (به میزان 0.49 درصد). این تصلب‌زایی ممکن است به دلیل زیرکلاس لیپوپروتئینی تصلب‌زا باشد که معمولاً با هایپرلیپیدمی همراه است. نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان می‌دهد که شاخص تصلب‌زایی در حیوانات مدل تخمدان پلی‌کیستیک که با رزوراترول تیمار شدند در مقایسه با حیوانات مدل تخمدان پلی‌کیستیک کاهش معنی‌داری داشت (0.36 درصد) که ممکن است به دلیل فعالیت پایین آورنده لیپید رزوراترول باشد زیرا مطالعات دیگر نشان داده‌اند که رزوراترول دارای اثرات کاهنده‌ی لیپید خون می‌باشد. برای مثال یک مطالعه‌ی دیگر نشان داد که تجویز رزوراترول با مقدار 20 میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به مدت 14 روز در موش‌های صحرایی دچار هایپرکلسترومی القا شده با غذای پر کلسترول، میزان LDL-C و تری‌گلیسرید را کم کرد (Penumathsa et al. 2007). به طور مشابه در یک مطالعه‌ی دیگر کاهش معنی‌داری در غلظت تری‌گلیسریدهای پلاسمایی در موش‌های صحرایی دیابتی القا شده با استرپتوزوسین در روز چهارم بعد از تیمار با رزوراترول دیده شد (Su et al. 2006). این نتایج با یافته‌های مطالعه‌ی ما درباره‌ی تری-

1997). نتایج این مطالعات با نتایج مطالعه‌ی حاضر هم-سو نمی‌باشد.

تحقیقات نشان داده که رزوراترول از طریق مهار مهاجرت القا شده توسط MCP-1 مونوسیت‌ها به محل التهاب و کاهش تولید سایتوکاین‌های پیش‌التهابی می‌تواند در تضعیف، پسرفت و آهسته نمودن پیشرفت تصلب شرایین مؤثر باشد (Prasad 2012). در مطالعه‌ی حاضر تغییرات پاتولوژیک بافت عروقی به ویژه آئورت مورد بررسی قرار نگرفت، این در حالی است که برخی مطالعات به اثرات سودمند رزوراترول بر بافت عروق اشاره دارند برای مثال یک مطالعه نشان داد که رزوراترول اندازه، چگالی و مساحت پلاک‌های تصلب‌زا و ضخامت لایه ایتیمیا در خرگوش‌های دارای رژیم غذایی پرکلسترول را کاهش داد و دارای اثرات ضد تصلب‌زایی بود (Wang et al. 2005). پیشنهاد می‌گردد که در مطالعات بعدی تأثیرات رزوراترول بر بافت عروقی مورد مطالعه قرار گیرد.

یافته‌های مطالعه‌ی حاضر حاکی از سودمندی رزوراترول در تخفیف دیس‌لیپیدمی موش‌های مدل سندرم تخمدان پلی‌کیستیک است و این می‌تواند به دلیل اثر رزوراترول در کاهش مقاومت به انسولین در موش‌های مدل تخمدان پلی‌کیستیک باشد. مطالعات بالینی بیش‌تر در این زمینه لازم است. در کل نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که تیمار موش‌های صحرایی مدل تخمدان پلی‌کیستیک با رزوراترول موجب بهبود وضعیت دیس‌لیپیدمی و شاخص تصلب‌زایی شد و نیز غلظت گلوکز خون را کاهش داد و بنابراین می‌تواند به عنوان یک هدف درمانی در مطالعات روی ترکیبات مؤثر در کاهش دیس‌لیپیدمی و خطر ایجاد بیماری‌های قلبی-عروقی در بیماران دچار سندرم تخمدان پلی‌کیستیک در نظر گرفته شود.

گلیسریدها مغایر است زیرا در مطالعه‌ی حاضر تیمار با رزوراترول در میزان تری‌گلیسریدهای سرم تغییر معنی‌داری ایجاد نکرد. یک مطالعه‌ی روی موش‌های صحرایی تغذیه شده با غذای پرچربی، نوشیدن محلول رزوراترول با مقدار ۱ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن میزان LDL-C و کلسترول تام را کاهش داد. نتایج مطالعه‌ی حاضر با نتایج مطالعات آن‌ها هم‌سو می‌باشد (Rocha et al. 2009). در یک مطالعه‌ی دیگر مصرف رزوراترول به مقدار ۰/۰۲۵ درصد رژیم غذایی در همسترهای تغذیه شده با رژیم غذایی پرچرب به مدت ۸ هفته الگوی لیپیدی را به وسیله‌ی کاهش میزان کلسترول و تری-گلیسرید تام، آپولیپوپروتئین B و پروتئین ناقل استر کلسترول بهبود داد (Cho et al. 2008). همچنین در یک مطالعه تجویز رزوراترول در موش‌های آزمایشگاهی کوچک فاقد آپو E، به طور مؤثری میزان HDL-C پلاسما را افزایش و آسیب‌های آترواسکروتنیک و فعالیت HMG-CoA reductase را کاهش داد (Do et al. 2008). تحقیقات نشان داده که رزوراترول می‌تواند با کاهش بیان mRNA آنزیم HMG-CoA reductase در کبد موجب کاهش سنتز کلسترول گردد (Cho et al. 2008). مهار کننده‌های این آنزیم میزان LDL-C را کاهش می‌دهند (Kasper et al. 2015). در مطالعه‌ی حاضر میزان کلسترول تام در گروه تیمار شده با رزوراترول کم‌تر از گروه کنترل بود و ممکن است تیمار با رزوراترول موجب سنتز کلسترول شده باشد. همچنین رزوراترول ممکن است موجب تعدیل بیان ژن‌های دخیل در لیپوزنز و لیپولیز شود (Ahn et al. 2008). با این وجود در برخی مطالعات تیمار با رزوراترول اثری بر الگوی لیپیدی و لیپوپروتئینی نداشت (Wilson et al. 1996, Turrens et al.).

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از همکاری اساتید و پرسنل دانشکده‌ی علوم و فناوری زیستی دانشگاه شهید بهشتی، گروه زیست‌شناسی دانشکده‌ی علوم دانشگاه رازی و دانشکده‌ی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه در زمینه‌ی اجرای این تحقیق قدردانی می‌شود.

منابع

- Ahn, J.; Cho, I.; Kim, S.; Kwon, D. and Ha, T. (2008). Dietary resveratrol alters lipid metabolism-related gene expression of mice on an atherogenic diet. *Journal of Hepatology* 49: 1019-1028.
- Arrick, D.M.; Sun, H.; Patel, K.P. and Mayhan, W.G. (2011). Chronic resveratrol treatment restores vascular responsiveness of cerebral arterioles in type 1 diabetic rats. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 301(3): 696-703.
- Baur, J.A. and Sinclair, D.A. (2006). Therapeutic potential of resveratrol: the in vivo evidence. *Nature Reviews Drug Discovery*, 5: 493-506.
- Beloosesky, R.; Gold, R.; Almog, B.; Sasson, R.; Dantes, A.; Land-Bracha, A. et al. (2004). Induction of polycystic ovary by testosterone in immature female rats: modulation of apoptosis and attenuation of glucose/insulin ratio. *International journal of Molecular Medicine*, 14: 207-215.
- Bilal, M.; Haseeb, A. and Rehman, A. (2018). Relationship of Polycystic Ovarian Syndrome with Cardiovascular Risk Factors. *Diabetes and Metabolic Syndrome*, 12(3): 375-380.
- Brasnyó, P.; Molnár, G.A.; Mohás, M.; Markó, L.; Laczy, B.; Cseh, J. et al. (2011). Resveratrol improves insulin sensitivity, reduces oxidative stress and activates the Akt pathway in type 2 diabetic patients. *British Journal of Nutrition* 106, 383-389.
- Brawer, J.R.; Munoz, M. and Farookhi, R. (1986). Development of the polycystic ovarian condition (PCO) in the estradiol valerate-treated rat. *Biology of Reproduction*, 35: 647-655.
- Brousseau, M.E. and Schaefer, E.J. (2000). Diet and coronary heart disease: clinical trials. *Current Atherosclerosis Reports*, 2: 487-493.
- Burgen, G.A.; Givens, J.R. and Kitabchi, A.E. (1980). Correlation of hyperandrogenism with hyperinsulinism in polycystic ovarian disease. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 50: 113-116.
- Chang, G.R.; Chen, P.L.; Hou, P.H. and Mao, F.C. (2015). Resveratrol protects against diet-induced atherosclerosis by reducing low-density lipoprotein cholesterol and inhibiting inflammation in apolipoprotein E-deficient mice. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 18: 1063.
- Chang, R.J.; Nakamura, R.M.; Judd, H.L. and Kaplan, S.A. (1983). Insulin resistance in nonobese patients with polycystic ovarian disease. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 57: 356-359.
- Cho, I.J.; Ahn, J.Y.; Kim, S.; Choi, M.S. and Ha, T.Y. (2008). Resveratrol attenuates the expression of HMG-CoA reductase mRNA in hamsters. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 367: 190-194.
- Côté, C.D.; Rasmussen, B.A.; Duca, F.A.; Zadeh-Tahmasebi, M.; Baur, J.A.; Daljeet, M. et al. (2015). Resveratrol activates duodenal Sirt1 to reverse insulin resistance in rats through a neuronal network. *Nature Medicine*, 21(5): 498-505.
- Desai, V.; Prasad, N.R.; Manohar, S.M.; Sachan, A.; Narasimha, S.R.P.V.L. and Bitla, A.R.R. (2014). Oxidative stress in non-obese women with polycystic ovarian syndrome. *Journal of Clinical and Diagnostic Research: Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 8(7), CC01.
- Do, G.M.; Kwon, E.Y.; Kim, H.J.; Jeon, S.M.; Ha, T.Y.; Park, T. and Choi, M.S. (2008). Long-term effects of resveratrol supplementation on suppression of atherogenic lesion formation and cholesterol synthesis in apo E-deficient mice. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 374: 55-59.
- Ergenoglu, M.; Yildirim, N.; Yildirim, A.G.S.; Yeniel, O.; Erbas, O.; Yavasoglu, A. et al. (2015). Effects of resveratrol on ovarian morphology, plasma anti-mullerian hormone, IGF-1 levels, and oxidative stress parameters in a rat model of polycystic ovary syndrome. *Reproductive Sciences*, 22: 942-947.
- Escobar-Morreale, H.F.; Luque-Ramírez, M. and González, F. (2011). Circulating inflammatory markers in polycystic ovary syndrome: a systematic review and metaanalysis. *Fertility and Sterility*, 95: 1048-1058. e1042.
- Garg, A. (2015). *Dyslipidemias: Pathophysiology, Evaluation and Management*. Springer, Pp: 371-377.
- Goodarzi, M.O. and Korenman, S.G. (2003). The importance of insulin resistance in polycystic ovary syndrome. *Fertility and Sterility*, 80: 255-258.
- Hassan, S.; El-Twab, S.A.; Hetta, M. and Mahmoud, B. (2011). Improvement of lipid profile and antioxidant of hypercholesterolemic albino rats by polysaccharides extracted from the green alga *Ulva lactuca* Linnaeus. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 18: 333-340.

- Karimi, I. and Hayatghaibi, H. (2006). Effect of Cannabis sativa L. seed (Hempseed) on serum lipid and protein profiles of rat. *Pakistan Journal of Nutrition*, 5: 585-588.
- Kasper, D.; Fauci, A.; Hauser, S.; Longo, D.; Jameson, J.L. and Loscalzo J. (2015). *Harrison's Principles of Internal Medicine*. McGraw-Hill Education Medical., New York, Pp: 2435-2454.
- Kim, J.J. and Choi, Y.M. (2013). Dyslipidemia in women with polycystic ovary syndrome. *Obstetrics and Gynecology Science*, 56: 137-142.
- Lee, V.; De Kretser, D.; Hudson, B. and Wang, C. (1975). Variations in serum FSH, LH and testosterone levels in male rats from birth to sexual maturity. *Journal of Reproduction and Fertility*, 42: 121-126.
- Legro, R.S.; Kunselman, A.R. and Dunaif, A. (2001). Prevalence and predictors of dyslipidemia in women with polycystic ovary syndrome. *The American Journal of Medicine*, 111: 607-613.
- Penumathsa, S.V.; Thirunavukkarasu, M.; Koneru, S.; Juhasz, B.; Zhan, L.; Pant, R. et al. (2007). Statin and resveratrol in combination induces cardioprotection against myocardial infarction in hypercholesterolemic rat. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 42: 508-516.
- Prasad, K. (2012). Resveratrol, wine, and atherosclerosis. *International Journal of Angiology*, 21: 007-018.
- Ramprasath, V. and Jones, P. (2010). Anti-atherogenic effects of resveratrol. *European Journal of Clinical Nutrition*, 64: 660-668.
- Recabarren, S.E.; Smith, R.; Rios, R.; Maliqueo, M.; Echiburú, B.R.; Codner, E. et al. (2008). Metabolic profile in sons of women with polycystic ovary syndrome. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 93: 1820-1826.
- Rocha, K.; Souza, G.; Ebaid, G.X.; Seiva, F.; Cataneo, A. and Novelli, E. (2009). Resveratrol toxicity: effects on risk factors for atherosclerosis and hepatic oxidative stress in standard and high-fat diets. *Food and Chemical Toxicology*, 47: 1362-1367.
- Rojas, J.; Chávez, M.; Olivar, L.; Rojas, M.; Morillo, J.; Mejías, J. et al. (2014). Polycystic ovary syndrome, insulin resistance, and obesity: navigating the pathophysiologic labyrinth. *International Journal of Reproductive Medicine*, Doi: org/10.1155/2014/719050.
- Shang, J.; Chen, L.L. and Xiao, F.X. (2008). Resveratrol improves high-fat induced nonalcoholic fatty liver in rats. *Chinese journal of Hepatology*, 16: 616-619.
- Su, H.C.; Hung, L.M. and Chen, J.K. (2006). Resveratrol, a red wine antioxidant, possesses an insulin-like effect in streptozotocin-induced diabetic rats. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 290, E1339-E1346.
- Turrens, J.F.; Lariccia, J. and Nair, M.G. (1997). Resveratrol has no effect on lipoprotein profile and does not prevent peroxidation of serum lipids in normal rats. *Free Radical Research*, 27: 557-562.
- Valkenburg, O.; Steegers-Theunissen, R.P.; Smedts, H.P.; Dallinga-Thie, G.M.; Fauser, B.C.; Westerveld, E.H. and Laven, J.S. (2008). A more atherogenic serum lipoprotein profile is present in women with polycystic ovary syndrome: a case-control study. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 93: 470-476.
- Wang, Z.; Zou, J.; Cao, K.; Hsieh, T.C.; Huang, Y. and Wu, J.M. (2005). Dealccoholized red wine containing known amounts of resveratrol suppresses atherosclerosis in hypercholesterolemic rabbits without affecting plasma lipid levels. *International Journal of Molecular Medicine*, 16: 533-540.
- Wild, R.A.; Painter, P.; Coulson, P.B.; Carrut, K.B. and Ranney, G. (1985). Lipoprotein lipid concentrations and cardiovascular risk in women with polycystic ovary syndrome. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 61: 946-951.
- Wilson, T.; Knight, T.J.; Beitz, D.C.; Lewis, D.S. and Engen, R.L. (1996). Resveratrol promotes atherosclerosis in hypercholesterolemic rabbits. *Life Sciences*, 59: PL15-PL21.
- Yilmaz, M.; Bi'ri, A.; Bukan, N.; Karakoç, A.; Sancak, B.; Törüner, F. and Paşaoğlu, H. (2005). Levels of lipoprotein and homocysteine in non-obese and obese patients with polycystic ovary syndrome. *Gynecological Endocrinology*, 20: 258-263.

Effect of Resveratrol on Blood Lipids and Atherogenic Index in Rat Model of Polycystic Ovary Syndrome

Ghowasi, M.¹; Khazali, H.² and Sisakhtnezhad, S.³

Received: 28.02.2018

Accepted: 10.11.2018

Abstract

Polycystic ovary syndrome is an endocrine disorder among women in reproduction age that is usually associated with insulin resistance and hyperlipidemia. Resveratrol is a natural polyphenol with antioxidant and cardioprotective effects. This study carried out to evaluate the effect of resveratrol on lipid profile and atherogenic index in a rat model of polycystic ovary syndrome. In this experimental study, 15 female Wistar rats (21 days of age) were divided into 3 groups (n=5): Control, polycystic rats, polycystic rats treated with resveratrol. To induction of polycystic ovary phenotype in the immature female rats, testosterone enanthate 1mg/100 g body weight was injected for 35 days subcutaneously. Then, resveratrol 10 mg/kg were injected intraperitoneally to rats of the polycystic group treated with resveratrol for 28days. Finally, the serum levels of total cholesterol and triglycerides, LDL-C, VLDL-C, HDL-C, glucose, and atherogenic index were measured. Treatment of animals in the polycystic model group with resveratrol significantly decreased the serum levels of LDL-C, atherogenic index and glucose and increased the serum HDL-C level. The results indicated that treatment of polycystic ovarian rats with resveratrol may improve the dyslipidemia status and may reduce the atherogenic index and blood glucose levels and may be an appropriate therapeutic agent for improve ment metabolic disorders associated with polycystic ovary syndrome.

Keywords: Lipid, Polycystic ovary syndrome, Resveratrol, Atherogenic index

1- PhD Student of Animal Physiology, Faculty of Biological Sciences and Technology, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran

2- Associate Professor, Department of Animal Sciences and Biotechnology, Faculty of Biological Sciences and Technology, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran

3- Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of Sciences, Razi University, Kermanshah, Iran

Corresponding Author: Ghowasi, M., E-mail: Ghowasi.Mahnaz@gmail.com