بررسی اثرات اسید لینولئیک مزدوج بر فاکتورها و هورمون‌های مؤثر در فرایند تخمک‌گذاری در موش‌های آزمایشگاهی

حمیدرضا خدایی (Ph.D. Student)[1]*، محمد چمنی (Ph.D.)[1]، علی‌اصغر صادقی (Ph.D.)[1]، سیدحسین حجازی (Ph.D.)[2]

۱- گروه فیزیولوژی دام، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران

۲- گروه ایمونوپارازیتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی اصفهان، اصفهان، ایران

چکیده

زمینه و هدف: فرآیند تخمک‌گذاری واکنشی فیزیولوژیک- التهابی و وابسته به هماهنگی فعالیت گنادوتروپینها و هورمون‌های استروئیدی است. علاوه بر آن میانجی‌های درگیر در واکنش‌های التهابی همچون سایتوکینها، پروستاگلاندینها، لپتین، نیتریک اکساید و... در آن دخیلند. اسیدلینولئیک مزدوج (CLA) گروهی از اسیدهای چرب غیر اشباع با زنجیره بلند بیش از یک پیوند دوگانه هستند که در محصولات لبنی، گوشت گاو و گوسفند یافت می‌شوند. براساس شواهد موجود، CLA خوراکی بر میانجی‌های درگیر در فرایند تخمک‌گذاری اثر می‌گذارد. هدف از این مطالعه تعیین اثرات دوزهای مختلف CLA در رژیم غذایی بر هورمونها و عوامل سیستمیک و موضعی است که بر تخمک‌گذاری اثر می‌گذارند.

روش بررسی: در این مطالعه ۸۰ سر موش ماده سفید (سوری) با سن ۲±۵۰ روز در چهار گروه به طور تصادفی تقسیم شدند (گروه شاهد C و گروه‌های تیمار T۱، T۲ و T۳). هر گروه واجد ٤ تکرار و در هر تکرار ٥ موش (واحد آزمایشی) قرار داشت (مجموعاً ۲۰ موش در هر گروه). موشها برای مدت ۱۲۰ روز در گروه کنترل دریافت کننده جیره فاقد اسیدلینولئیک مزدوج و در گروه‌های تیمار دریافت کننده جیره ۰/۱*g/kg*، ۰/۳*g/kg* و ۰/٥*g/kg* اسید لینولئیک مزدوج بودند که جایگزین روغن ذرت جیره شده بود. ۱۲۰ روز پس از شروع آزمایش از ده موش در هر گروه که علایم فحلی داشتند بوسیله قطع دم خونگیری شد و غلظت‌های سرمی استرادیول، پروژسترون، LH، FSH، نیتریک اکساید، لپتین و TNFα اندازه‌گیری شدند. همچنین اثر CLA بر تولید پروستاگلاندینها و نیتریک اکساید تخمدانی بررسی شد. داده‌ها توسط نرم افزار SAS با تشکیل جدول ANOVA و آزمون مقایسه بین میانگین‌های دانکن آنالیز شد. احتمال کمتر از ۰/۰٥ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج: اسیدلینولئیک مزدوج به طور معنی‌داری باعث کاهش سطوح سرمی FSH ($p<0/05$)، استرادیول، LH، نیتریک اکساید، لپتین و TNFα گردید ($p<0/01$). همچنین CLA سطح پروژسترون سرم را کاهش داد، اما این کاهش معنی‌دار نبود. اثر منفی CLA بر کاهش میزان PGE_2 و $PGF_2\alpha$ تولیدی تخمدان به طور معنی‌داری دیده شد ($p<0/01$).

نتیجه‌گیری: بر اساس نتایج حاصل می‌توان عنوان کرد CLA دارای اثری معنی‌دار بر تولیدمثل حیوان ماده است. همچنین واجد یک اثر بازدارنده بر هورمون‌های سیستمیک و موضعی مؤثر بر تخمک‌گذاری است. بنابراین ممکن است CLA نقش اثرگذار بر کاهش نرخ تخمک‌گذاری در موش داشته باشد.

کلید واژگان: اسید لینولئیک مزدوج، پروستاگلاندین، تخمدان، تخمک‌گذاری، گنادوتروپینها، نیتریک اکساید، هورمون‌های استروئیدی جنسی.

*** مسئول مکاتبه:** حمیدرضا خدایی، گروه فیزیولوژی دام، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی- واحد علوم و تحقیقات تهران، تهران، ایران.

پست الکترونیک: khodaei@khuisf.ac.ir

دریافت: ۸۸/۲/٦ **پذیرش:** ۸۸/٤/٦

Downloaded from http://www.jri.ir

زمینه و هدف

سالهاست مشخص شده است اوج[1] LH در میانه سیکل جنسی و اثر افزایشی آن بر استرادیول و همچنین افزایش غلظت آنزیم‌های تبدیل کننده پلاسمینوژن به پلاسمین در مایع فولیکول گراف موجب سست و ضعیف شدن دیواره فولیکول شده و تخمک‌گذاری رخ می‌دهد (۱). در سال ۱۹۸۰، Epsey و همکاران از تخمک‌گذاری به عنوان پدیده‌ای التهابی و ایمونولوژی نام بردند (۲). التهاب روند پیچیده‌ای است که عوامل داخلی نظیر فاکتور نکروز دهنده تومور TNFα و اگزوژن در آن دخیلند و پروستاگلاندینها نیز از متغیرهای موثر در ایجاد التهاب هستند (۳). پس از اوج LH، cAMP در سلول‌های گرانولوزا و تیکای فولیکول افزایش می‌یابد که منجر به تولید پروستاگلاندینها می‌شود. پروستاگلاندینها به طور کاملاً معنی‌داری میزان و نرخ تخمک‌گذاری را در پستانداران افزایش می‌دهند (٤). داروهای ضد التهاب غیراستروئیدی که بیوسنتز پروستاگلاندینها را مهار می‌کنند، فرآیند تخمک‌گذاری را مختل می‌کنند (٥). ایندومتاسین در میمون، خوکچه هندی، موش صحرایی و خرگوش تخمک‌گذاری را مهار کرده است (٦،٧). سایتوکین‌های التهابی همانند TNFα و IL-1 و ایکوزانوئیدها مانند پروستاگلاندینها و لکوترائینها میانجی‌های مهم التهابی هستند که تولید و مقدار آنها متأثر از اسیدهای چرب غیراشباع دارای بلند زنجیره (PUFA)[2] موجود در رژیم غذایی است (۸). تحقیقات نشان می‌دهد برخی از ترکیبات مغذی همانند اسیدهای چرب بر فرآیندهای فیزیولوژی تخمدان و از جمله فرآیند تخمک‌گذاری اثر می‌گذارند (۹).

اسید لینولئیک مزدوج (CLA)[3]، مخلوطی از ۲۸ ایزومر اسید لینولئیک (C18:2) است که خود یکی از اسیدهای چرب ضروری است (۱۰). از میان انواع ایزومرهای آن، ایزومر سیس ۹، ترانس ۱۱ (CLA c_9, t_{11}) و ترانس ۱۰، سیس۱۲ (CLA t_{10}, c_{12}) از نظر بیولوژی بسیار فعالند (۱۱). مهمترین راه شکل‌گیری CLA به وجود باکتری Butyrovibrio fibrosolvens وابسته است که تنها در دستگاه گوارش (شکمبه) نشخوارکنندگانی همچون گاو یافت می‌شود (۱۲). سلول‌های بافت پستانی هم به کمک آنزیم دلتا ۹ دساچوراز[4] قادر به تولید CLA هستند (۱۳). بنابراین فرآورده‌های گوشتی و لبنی (بخصوص شیر) از منابع عمده CLA هستند (۱۳،۱٤). نشان داده شده CLA دارای آثار مثبت و متعدد فیزیولوژی و محافظ سلامت است. تاکنون بر اثرات ضد سرطانی، ضد تصلب شرایین، ضد پوکی استخوان، ضد چاقی، ضد دیابت، کاهش فشار خون، حفظ غشای سلول و افزایش عملکرد سیستم ایمنی تاکید شده است (۱٥،۱٦). به نظر می‌رسد CLA بر تولید پروستاگلاندینها اثر می‌گذارد. در بررسی پاسخ پوکی استخوان به درمان با CLA مشخص شد CLA، تولید پروستاگلندین E_2 (PGE_2) را کاهش می دهد (۱۷). ضمن اینکه بررسی دیگری ثابت کرد CLA توانایی مهار سنتز پروستاگلندین $F_{2}\alpha$ ($PGF_2\alpha$) را نیز دارد (۱۸). نکته جالب توجه این است که پروستاگلاندینها بر تخمک‌گذاری اثر می‌گذارند. تحقیقات پایه روی خرگوش نشان می‌دهد که غلظت پروستاگلاندین‌های E_2 و $F_{2}\alpha$ در فرآیند تخمک‌گذاری افزایش می‌یابد و از ترکیبات مؤثر بر تخمک‌گذاری هستند (۷). تعدادی از محققان بر این باورند که اسیدهای چرب موجود در رژیم‌های غذایی بر هورمون تنظیم کننده هموستازی وزن بدن و تعادل انرژی (لپتین) اثر می‌گذارد (۱۹،۲۰). لپتین تنظیم کننده مهمی در عملکرد تولید مثل است و اثر افزایش

1- Surge
2- Poly Unsaturated Fatty Asid
3- Conjugated Linoleic Acid
4- Delta-9-desaturase enzyme

Downloaded from http://www.jri.ir

دهنده آن در ترشح هورمون آزاد کننده گنادوتروپینی از هیپوتالاموس با میانجیگری نوروترانسمیتر نیتریک اکساید (NO) به اثبات رسیده است (۱).

براساس مطالب فوق CLA توانایی اثر گذاری بر متغیرهای مداخله‌گر در امر تخمک‌گذاری دارد. این درحالی است که به دلیل منشاء CLA که در شکمبه نشخوارکنندگان تولید می‌شود، معدود مطالعات انجام شده به بررسی اثر CLA بر فرآیند تولیدمثل در نشخوارکنندگان پرداخته است و اثر اختصاصی CLA بر متغیرهای موثر بر تخمک‌گذاری (به خصوص موش) به صورت جداگانه بررسی نشده است. همچنین پارامترهای اندوکرین و پاراکرین موثر بر تخمک‌گذاری، بررسی نشده اند؛ لذا مطالعه حاضر به بررسی اثر غلظت‌های مختلف CLA افزوده شده به خوراک، بر متغیرهای هورمونی سیستمیک و موضعی موثر بر فرایند تخمک‌گذاری در موش آزمایشگاهی پرداخته است.

روش بررسی

الف) تعداد ۸۰ سر موش سفید آزمایشگاهی (سوری) ماده Balb/C، با سن ۲±۵۰ روز از انستیتو پاستور تهران تهیه شد. موشها در حیوان خانه دانشگاه علوم پزشکی اصفهان تحت شرایط استاندارد دمایی ۲±۲۴ ℃ و دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری و به مدت ۲ هفته به شرایط موجود عادت پذیر شدند. سپس بر اساس طراحی آزمایش موشها به طور تصادفی در چهار گروه (یک گروه شاهد و سه گروه تیمار) تقسیم شدند؛ به نحویکه در هر گروه ٤ تکرار (دریافت کننده تیمار مشابه) و در هر تکرار ٥ واحد آزمایشی (موش) قرار گرفت. بنابراین در هر گروه ۲۰ سر موش وجود داشت.

ب) تیمارها و جیره غذایی: رژیم غذایی با استفاده از مواد اولیه مرغوب در حیوانخانه دانشگاه علوم پزشکی اصفهان توسط تکنسین مرتبط و با نظارت مجری طرح انجام شد. توزین مواد غذایی توسط ترازوی با دقت ۰/۰۱ انجام شد و پس ازآن پلت‌های[1] مناسب غذایی بر اساس تیمارهای طراحی شده ساخته شد. نظارت مداوم به صورت روزانه جهت دریافت کامل غذا انجام گرفت و تیمارها به صورت زیر اعمال شد:

۱- گروه شاهد (C): دریافت‌کننده g/kg_{diet} ۵۰روغن ذرت نسبت به کل جیره

۲- گروه تیمار اول (T۱): دریافت کننده $g/kg_{cornoil}$ ۰/۱ CLA (۱۰٪ جایگزین روغن ذرت جیره)

۳- گروه تیماردوم (T۳): دریافت کننده $g/kg_{cornoil}$ ۰/۳ CLA (۳۰٪ جایگزین روغن ذرت جیره)

٤- گروه تیمارسوم (T٤): دریافت کننده $g/kg_{cornoil}$ ۰/٥ CLA (۵۰٪ جایگزین روغن ذرت جیره)

CLA استفاده شده، (Sigma, Germany) خلوص آن ۹۹/٦٪ برای ایزومر c_9,t_{11} و ۹٦/۷٪ برای ایزومر t_{10},c_{12} و نسبت این دو ایزومر به هم ۵۰:۵۰ بود.

ج) متغیرهای اندازه گیری شده: جهت اندازه‌گیری غلظت سرمی LH، FSH، استرادیول (E_2)، پروژسترون (P_4)، نیتریک اکساید (NO)، لپتین و عامل نکروز دهنده توموری (TNFα)[2]؛ ۱۲۰ روز پس از آغاز آزمایش به طور تصادفی از هر گروه ۱۰ موش (مجموعاً ٤۰ موش) که علایم فحلی[3] را داشتند انتخاب و پس از قطع دم خونگیری انجام شد. سرم خون پس از سانتریفیوژ جدا گردید و تا زمان انجام آزمایش در دمای ۲۲- ℃ نگهداری شد.

استرادیول و پروژسترون به روش الایزا (Raidim, Italy) و LH و FSH، لپتین و TNFα موشی نیز به روش ELISA (DRG, Germany) اندازه‌گیری شدند.

1- Pellet
2- Tumor Necrosis Factor α
3- Estrus

Downloaded from http://www.jri.ir

سنجش نیتریک اکساید نیز براساس واکنش بهبود یافته گریس انجام شد (۲۱).

جهت سنجش غلظت PGE_2، $PGF_2\alpha$ و نیتریک اکساید در بافت تخمدان، نمونه بافت براساس روش هاریس و همکاران آماده شد (۱۸). بر این اساس پس از روز ۱۲۰ پس از انجام آزمایش تعداد ۱۰ موش باقیمانده از هرگروه بوسیله بیهوشی با هالوتان کشته شدند و تخمدان آنها به سرعت از بدن خارج گردید. $200mg$ نمونه از تخمدانها تهیه شد و نمونه‌ها ۱۰ ثانیه در $2/7ml$ بافر فسفات سدیم $50mM$ با pH=۷/٤ هموژنیزه و پس از آن به مدت ۱۰ دقیقه در دمای $37^{\circ}C$ انکوباسیون شدند. پیشرفت واکنشها در مرحله انکوباسیون توسط اضافه نمودن محلول آسپرین $42mM$ تهیه شده در بافر هموژنیزه کننده نمونه‌ها، متوقف و سپس با سرعت بالا ($18000g$) نمونه‌ها سانتریفیوژ شدند. محلول رویی نمونه‌ها جدا شد و تا قبل از انجام سنجش، در دمای $-80^{\circ}C$ نگهداری شدند. غلظت PGE_2، $PGF_2\alpha$ به روش رادیوایمونواسی (RIA) و بوسیله گاماکانتر (Wallac, USA) انجام گرفت (۱۸).

د) آنالیز آماری: طراحی آزمایش به صورت طرح کاملا تصادفی بود. داده‌های حاصل بوسیله بسته نرم افزاری SAS 96 آنالیز شد (۲۲). جدول ANOVA برای هریک از پارامترهای اندازه‌گیری شده تشکیل گردید و تفاوت میانگین‌های گروه‌های شاهد و تیمار توسط آزمون چنددامنه‌ای دانکن بررسی شد. حد خطای ($p<0/05$) به عنوان اختلاف معنی‌دار پذیرفته شد.

نتایج

الف: اثر CLA بر هورمون‌های هیپوفیزی و تخمدانی: نتایج آنالیز واریانس آزمایش حاضر نشان داد، اثر CLA بر غلظت FSH معنی‌دار است ($p<0/05$) و نسبت به گروه شاهد، موجب کاهش غلظت آن شد. همچنین مقایسه بین میانگینها نشان داد (جدول ۱) کمترین سطح سرمی FSH در تیمار دوم ایجاد می‌شود. غلظت سرمی LH نسبت به گروه شاهد کاهش یافت. این کاهش در تیمار سوم نسبت به سایر گروهها کاملاً معنی‌دار بود ($p<0/01$). اثر CLA بر استرادیول سرم نیز در تیمار سوم معنی‌دار به دست آمد و آن را کاهش داد ($p<0/05$). پاسخ غلظت سرمی پروژسترون نسبت به تیمار CLA روند نزولی داشت (جدول ۱)؛ اما این کاهش از نظر آماری معنی‌دار نبود.

ب: اثر CLA بر فاکتورهای پاراکرین: با افزایش غلظت CLA در تیمارها، تمامی متغیرهای اندازه‌گیری شده سرمی که دارای اثر موضعی هستند به طور معنی‌داری نسبت به گروه شاهد کاهش یافتند ($p<0/05$). نیتریک اکساید سرمی، لپتین سرمی و TNFα سرمی در تیمار سوم در کمترین غلظت خود قرار داشتند (جدول ۱).

ج: اثر CLA بر متغیرهای اندازه گیری شده در بافت تخمدان: غلظت نیتریک اکساید در بافت تخمدان در گروه‌های تیمار نسبت به گروه شاهد کاهش یافت؛

جدول ۱- بررسی اثر تیمارهای مختلف CLA بر فاکتورهای سیستمیک و موضعی اثر گذار بر تخمک‌گذاری

متغیرها	گروه‌ها (M±SD)				نتیجه آزمون
	کنترل	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳	
LH (*mIU/ml*)	۱۷/۷۰±۲/۸۷^{a}	۱۷/۵۰±۲/۹۱^{a}	۱٦/۲٥±۲/۷۳^{a}	۱۳/۷٥±۲/۰۳^{b}	۰/۰۱
FSH (*mIU/ml*)	٦/۸۱±۱/۰۱^{a}	٦/۱٤±۰/۹٦^{ab}	٥/۹۱±۰/۹۱^{b}	٦/۷۰±۰/۹۹^{a}	۰/۰٥
E2 (*nmol/L*)	٤٥/٥٥±٥/۲۳^{a}	٤۳/۱۷±٥/۷۲^{a}	٤۲/٥۸±٦/۰۱^{a}	۳۷/۳۰±٥/۱۸^{b}	۰/۰۱
P4 (*nmol/L*)	۱/٦٥±۰/۰۹^{a}	۱/٦۳±۰/۱۱^{a}	۱/٦۲±۰/۰۸^{a}	۱/٦۰±۰/۰۹^{a}	۰/۱
NO (*nmol/L*)	۲/٥٤±۰/۱۷^{a}	۲/٤۷±۰/۲۳^{ab}	۲/٤٤±۰/۱۸^{ab}	۱/۹۲±۰/۱۹^{b}	۰/۰٥
Leptin (*ng/ml*)	٦/۳٤±۰/۹۱^{a}	٦/۲۷±۰/۸۲^{ab}	٦/۲۹±۰/۹۰^{ab}	٥/۹۲±۰/۸۷^{b}	۰/۰٥
TNFα (*pg/ml*)	٤/۰٥±۰/۳۷^{a}	۳/۹۲±۰/٤۱^{ab}	۳/٥۰±۰/۳٦^{bc}	۳/۳۰±۰/٤۲^{c}	۰/۰٥

حروف مشترک در هر سطر نشان دهنده عدم تفاوت معنی‌دار است.

Downloaded from http://www.jri.ir

جدول ۲- بررسی اثر تیمارهای مختلف CLA برمیزان پروستاگلاندین و نیتریک اکساید تخمدانی

متغیرها	گروه‌ها (M±SD)				نتیجه آزمون
	کنترل	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳	
NO (*nmol/L*)	٤/٦٦±٠/١١^{a}	٤/٥٣±٠/١١^{a}	٤/٣٩±٠/١٢^{a}	٤/١٩±٠/١٣^{a}	٠/٠٩
PGE_2 (*pg/mg*)	٨٠/٤٢±٩/٩٢^{a}	٧٨/٣٤±٨/٦٣^{ab}	٧٥/٢٩±٧/٩١^{ab}	٦٩/٩٢±٧/٧٧^{b}	٠/٠١
$PGF_2\alpha$ (*pg/mg*)	٤٤/٩١±٥/٣٢^{a}	٤١/٧٢±٥/١١^{ab}	٤٠/٤٦±٥/٨٨^{bc}	٣٦/٨٩±٦/٦٦^{c}	٠/٠١

حروف مشترک در هر سطر نشان دهنده عدم تفاوت معنی‌دار است.

هرچند کاهش از نظر آماری معنی‌دار نبود (جدول ۲). تولید هر دو نوع پرستاگلاندین اندازه‌گیری شده نسبت به گروه شاهد کاهش یافت. کاهش تولید پروستاگلاندینها در تیمار سوم با سایر تیمارها دارای تفاوت کاملاً معنی‌داری بود ($p<٠/٠١$).

بحث

روند تخمک‌گذاری وابسته به عملکرد هماهنگ محور هیپوتالاموس – هیپوفیز – تخمدان است. فاکتورهای موضعی و در بعضی فاکتورهای ایمونولوژیک نیز دارای اهمیت فوق العاده‌ای در این خصوص هستند. تغذیه از جمله عوامل اثر گذار بر این هورمونها و فاکتورها است. از آنجایی که CLA در رژیم روزانه وجود دارد ممکن است بر متغیرهای تولیدمثلی تاثیر گذارد. تاکنون تحقیقی در خصوص اثر CLA بر متغیرهای موثر بر تخمک‌گذاری غیرنشخوار کنندگان انجام نشده است و این مطالعه سعی در رفع چنین نقصی دارد. مطالعه حاضر روی موش، نشان داد اثر تیمار، با افزایش غلظت CLA در رژیم غذایی بر غلظت فاکتورهای اندازه‌گیری شده بیشتر می‌شود. هورمون‌های اصلی در فرایند تخمک گذاری LH و E_2 به طور معنی‌داری تحت تاثیر CLA رژیم غذایی قرار گرفتند و از غلظت سرمی آنها کاسته شد.

اثر کاهنده CLA بر LH ممکن است مرتبط به اثر CLA بر نیتریک اکساید و لپتین باشد؛ چرا که پژوهش‌های گذشته نشان می‌دهد لپتین و نیتریک اکساید کنترل کننده‌های مهمی در آزاد سازی LH هستند (۱،۲۳). ثابت شده است نورون‌های تولید کننده نیتریک اکساید با ترشح نیتریک اکساید اثر مستقیم در آزاد سازی GnRH دارند (۲٤). این مطالعه نشان داد نیتریک اکساید سرمی توسط تیمارهای CLA به طور معنی‌داری کاهش یافت. نکته شایان توجه ارتباط قطعی و کاملاً معنی‌دار لپتین و نیتریک اکساید در آزاد سازی LH از هیپوفیز است. در این مطالعه کاهش غلظت سرمی لپتین گزارش شد که این مهم توسط تحقیقات پیشین نیز تایید می‌شود (۲۰). لپتین اثر خود را در آزادسازی LH از طریق افزایش دادن نیتریک اکساید در هیپوفیز و هیپوتالاموس اعمال می‌کند (۱). احتمالاً دلیل کاهش یافتن لپتین مرتبط به لیگاند اصلی CLA است. لیگاند طبیعی CLA، Peroxisome Proliferators-activated receptors (PPARs) موجود در سلولها است (۲۵). مطالعات نشان می‌دهد فعال شدن PPAR، به طور کاملاً معنی‌داری بیان ژن لپتین را کاهش می‌دهد (۱۸،۲٦)، همچنین نشان داده شده ادغام CLA با فسفولیپیدهای غشای سلولی تولید لپتین را تغییر می‌دهد (۲۰). بنابراین کم شدن تولید لپتین توجیه کننده احتمالی کاهش تولید نیتریک اکساید مغزی است؛ چراکه ثابت شده است لپتین بر نورون‌های تولید کننده نیتریک اکساید اثر کاملاً تحریکی و معنی‌دار دارد (۱). CLA همچنین به طور معنی‌داری از غلظت استرادیول سرم کاست. کم شدن میزان LH ممکن است یک توجیه کننده قوی در این خصوص باشد. احتمال ضعیفتر مربوط به کاهش تولید نیتریک اکساید توسط تخمدان است. نیتریک اکساید بسیاری از فعالیت‌هایش را توسط اتصال به متالوآنزیمها انجام می‌دهد. در نتیجه موجب افزایش یافتن cGMP سلول می‌شود (۲٤)؛ از طرفی آنزیم‌هایی که در ساخت

Downloaded from http://www.jri.ir

هورمون‌های استروئیدی تخمدانی موثرند، همانند سیتوکروم $P450_{scc}$، دارای یک هم مرکزی هستند (۱) و نیتریک اکساید توانایی مهار آنها را دارد (۲۷). به هر حال تحقیقات نشان می‌دهد که نیتریک اکساید تنها در غلظت‌های خاص توانایی مهار استروئیدسازی تخمدانی را دارد (۲٤) که در این مطالعه بررسی نشده است.

غلظت نیتریک اکساید تخمدانی با افزایش غلظت CLA کاهش غیر معنی‌داری داشت. مطالعات پیرامون اثر CLA بر آنزیم‌های سازنده نیتریک اکساید (نیتریک اکساید سینتتاز) متناقض است. گزارش شده CLA توانایی مهار آنزیم iNOS را دارد (۲۸). اما اخیراً گزارش شده در بزغاله CLA دارای اثر افزایشی بر آنزیم‌های سازنده نیتریک اکساید دارد (۲۹). کاهش تولید پروستاگلاندین‌های بافت تخمدان که در این مطالعه دیده شد نیز ممکن است مربوط به اثر CLA بر PPARs باشد. تحقیقاتی وجود دارد که به جستجوی سازوکار احتمالی تاثیر CLA بر تولید پروستاگلاندینها پرداخته است. تحقیقات ابتدایی مشخص نمود برخی از مکمل‌های اسیدهای چرب بلند زنجیره امگا۳ طول مدت آبستنی را در انسان و حیوان افزایش می‌دهد (۳۰). دکوزاهگزاانوئیک اسید (DHA) به همراه CLA، تاخیر در موعد زایمان را در بره زایی القاء شده توسط بتامتازون، ایجاد کرد و روغن ماهی در انسان نیز تا ٤ روز بارداری را بیشتر می‌کند (۱۸،۳۰). از آنجایی که افزایش غلظت پروستاگلاندینها به عنوان محرک آغاز زایش مطرح هستند، افزایش طول مدت آبستنی ممکن است به اثر مهاری CLA بر تولید پروستاگلاندینها مربوط باشد. تحقیقات اخیر اثر مهاری CLA بر پروستاگلاندین را قطعی و مرتبط با فعال شدن PPAR می‌دانند، چرا که PPAR پس از فعال شدن موجب مهار فعالیت عامل نسخه‌بردار هسته‌ای (NFκB) می‌شود (۲٦). این عامل، تنظیم کننده مثبت سایکلواکسیژناز- ۲ (آنزیم سازنده پروستاگلاندینها) است (۳۱). بنابراین نبود این عامل عدم تولید سایکلواکسیژناز- ۲ را به دنبال دارد. از طرفی افزایش تولید پروستاگلاندینها طی زایمان به طور انحصار وابسته به فعالیت سایکلواکسیژناز- ۲ است (۳۲). در آزمایش حاضر تولید PGE_2 و $PGF_2\alpha$ تخمدانی که از متغیرهای بسیار اثرگذار در فرایند تخمک‌گذاری هستند، به طور کاملاً معنی‌داری کاهش یافت. ساز و کار دیگری هم در مورد تاثیر مهاری CLA بر پروستاگلاندینها مطرح است که ارتباط مستقیمی با PPAR ندارد و مربوط به TNFα است. غلظت TNFα در این آزمایش کاهش یافت. TNFα از جمله آغاز کننده‌های پاسخ ایمنی است، که از طریق فعال کردن فسفو لیپاز A_2 موجب آزاد کردن PUFA از فسفولیپیدهای غشای سلول و شکل‌گیری ایکوزانوئیدهایی مانند پروستاگلاندینها می‌شود (۳۰،۳۲). بنابراین کاهش TNFα ممکن است منجر به کاهش تولید پروستاگلاندینها شود. لذا به نظر می‌رسد CLA با ساز و کارهای گوناگون از تولید پروستاگلاندین‌های تخمدانی می‌کاهد.

نتیجه گیری

براساس نتایج این مطالعه اسید لینولئیک مزدوج نه تنها اثر تحریکی بر نرخ تخمک‌گذاری در موش نداشت؛ بلکه تولید و غلظت متغیرهای موثر بر آن را نیز کاهش داد. هرچند مطالعات گوناگون نشان می‌دهد که CLA راندمان آبستنی مجدد را پس از زایمان در گاو بهبود می‌بخشد (۳۳،۳٤)؛ اما در خصوص موش بهبودی در متغیرهای اثر گذار بر تخمک‌گذاری مشاهده نشد (تفاوت در یک پستاندار غیرنشخوارکننده و یک پستاندار نشخوارکننده).

با توجه به وجود CLA در فرآورده‌های دامی و به‌خصوص شیر، پیشنهاد می‌شود:

Downloaded from http://www.jri.ir

۱ـ تحقیقی به بررسی اثر مصرف گوشت و شیر بر تخمک‌گذاری در انسان و حیوانات بپردازد.
۲ـ تحقیقی انجام گیرد که به بررسی اثر CLA بر پروستاسایکلین (PGI_2) که اثر مستقیم بر تخمک‌گذاری دارد، بپردازد.

تشکر و قدردانی

گروه تحقیق بر خود لازم می‌داند از همکاری دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران و گلپایگان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، آزمایشگاه بیمارستان نور اصفهان و آزمایشگاه دکتر جلایر اصفهان که در انجام تحقیق، تهیه لوازم و امکانات مالی همراهی بی‌شائبه‌ای نمودند، قدردانی و تشکر می‌نماید. این تحقیق بخشی از رساله دکترای تخصصی مسئول مکاتبه است.

References

1- Squires EJ. Applied animal endocrinology.1st ed. Cambridge: CABI; 2003. 233 p.

2- Espey LL. Ovulation as an inflammatory reaction--a hypothesis. Biol Reprod. 1980;22(1):73-106. Review.

3- Espey LL. Current status of the hypothesis that mammalian ovulation is comparable to an inflammatory reaction. Biol Reprod. 1994;50(2):233-8.

4- Tokuyama O, Nakamura Y, Muso A, Honda K, Ishiko O, Ogita S. Expression and distribution of cyclooxygenase-2 in human periovulatory ovary. Int J Mol Med. 2001;8(6):603-6.

5- Staud R. Comparing COX-2 inhibitors with traditional NSAIDs. Emerg Med. 2000;23:1-6.

6- Wu YL, Wiltbank MC. Transcriptional regulation of cyclooxygenase-2 gene in ovine large luteal cells. Biol Reprod. 2001;65(5):1565-72.

7- Espey LL. Comparison of the effect of nonsteroidal and steroidal antiinflammatory agents on prostaglandin production during ovulation in the rabbit. Prostaglandins. 1983;26(1):71-8.

8- Nagao K, Yanagita T. Bioactive lipids in metabolic syndrome. Prog Lipid Res.2008;47(2):127-46. Review.

9- Ferguson EM, Leese HJ. Triglyceride content of bovine oocytes and early embryos. J Reprod Fertil. 1999;116(2):373-8.

10- Aydin R. Conjugated linoleic acid: chemical structure, sources andbiological properties. Turk J Vet Anim Sci. 2005;29:189-95.

11- Pariza MW, Park Y, Cook ME. The biologically active isomers of conjugated linoleic acid. Prog Lipid Res. 2001;40(4):283-98. Review.

12- Fritsche S, Fritsche J. Occurrence of CLA isomers in beef. J Am Oil Chem Soc. 1998;75:1449–51.

13- Collomb M, Schmid A, Sieber R, Wechsler D, Ryhänen E. Conjugated linoleic acids in milk fat: Variation and physiological effects. Inter Dairy J. 2006;16(11):1347-61.

14- Schmid A, Collomb M, Sieber R, Bee G. Conjugated linoleic acid in meat and meat products: A review. Meat Sci. 2006;73(1):29-41.

15- Nagao K, Yanagita T. Conjugated fatty acids in food and their health benefits. J Biosci Bioeng. 2005;100(2): 152-7.

16- Bhattacharya A, Banu J, Rahman M, Causey J, Fernandes G. Biological effects of conjugated linoleic acids in health and disease. J Nutr Biochem. 2006;17 (12):789-810. Review.

17- Rahman MM, Bhattacharya A, Banu J, Fernandes G. Conjugated linoleic acid protects against age-associated bone loss in C57BL/6 female mice. J Nutr Biochem. 2007;18(7):467-74.

18- Harris MA, Hansen RA, Vidsudhiphan P, Koslo JL, Thomas JB, Watkins BA, et al. Effects of conjugated linoleic acids and docosahexaenoic acid on rat liver and reproductive tissue fatty acids, prostaglandins and matrix metalloproteinase production. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids. 2001;65(1):23-9.

19- Akahoshi A, Koba K, Ohkura-Kaku S, Kaneda N, Goto C, Sano H, et al. Metabolic effects of dietary conjugated linoleic acid (CLA) isomers in rats. Nutr Res. 2003;23(12):1691-701.

20- Yamasaki M, Ikeda A, Oji M, Tanaka Y, Hirao A, Kasai M, et al. Modulation of body fat and serum leptin levels by dietary conjugated linoleic acid in Sprague-Dawley rats fed various fat-level diets. Nutrition. 2003;19(1):30-5.

21- Khodaei HR, Ghoreishi SM, Hejazi SH. [The relationship between size of normal and cystic bovine ovarian follicles with follicular fluid levels of nitric oxide and estradiol]. J Reprod Infertil. 2007;8(1):17-22. Persian.

22- SAS Institute. SAS/STAT Software: Changes and Enhancements for Release 6.12. New York: SAS Institute Inc; 1997. 158 p.

23- Chatterjee S, Collins TJ, Yallampalli C. Inhibition of nitric oxide facilitates LH release from rat pituitaries. Life Sci. 1997;61(1):45-50.

Downloaded from http://www.jri.ir

Santos NR, Gilbert RO, Butler WR, et al. Evaluation of the mechanism of action of conjugated linoleic acid isomers on reproduction in dairy cows. J Dairy Sci. 2007;90(9):4253-64.

31- Pereira RM, Marques CC, Baptista MC, Vasques MI, Horta AEM. Influence of supplementation of arachidonic acid and cyclooxygenase/lipoxygenase inhibition on the development of early bovine embryos. Rev Bras Zool. 2006;35:1-6.

32- Parent J, Villeneuve C, Fortier MA. Evaluation of the contribution of cyclooxygenase 1 and cyclooxygenase 2 to the production of PGE2 and PGF2 alpha in epithelial cells from bovine endometrium. Reproduction. 2003;126(4):539-47.

33- Fuentes MC, Calsamiglia S, Sánchez C, González A, Newbold JR, Santos JEP, et al. Effect of extruded linseed on productive and reproductive performance of lactating dairy cows. Livest Sci. 2008;113(2-3):144-54.

34- Castañeda-Gutiérrez E, Pelton SH, Gilbert RO, Butler WR. Effect of peripartum dietary energy supplementation of dairy cows on metabolites, liver function and reproductive variables. Anim Reprod Sci. 2009;112(3-4):301-15.

24- Tamanini C, Basini G, Grasselli F, Tirelli M. Nitric oxide and the ovary. J Anim Sci. 2003;81(E. Suppl. 2):E1–E7.

25- Flint AP, Sheldrick EL, Fisher PA. Ligand-independent activation of steroid receptors. Domest Anim Endocrinol. 2002;23(1-2):13-24.

26- Derecka K, Sheldrick EL, Wathes DC, Abayasekara DR, Flint AP. A PPAR-independent pathway to PUFA-induced COX-2 expression. Mol Cell Endocrinol. 2008;287(1-2):65-71.

27- Estévez A, Motta AB, Fernández de Gimeno M. [Role of nitric oxide in the synthesis of prostaglandin F2 alpha and progesterone during luteolysis in the rat]. Medicina (B Aires). 1999;59(5 Pt 1):463-5. Spanish.

28- Luongo D, Bergamo P, Rossi M. Effects of conjugated linoleic acid on growth and cytokine expression in Jurkat T cells. Immunol Lett. 2003;90(2-3):195-201.

29- Castro N, Acosta F, Capote J, Argüello A. Effect of dietary conjugated linoleic acid on serum levels of N2O5 and l-citrulline in goat kids. Small Rumin Res. 2007;68(3):233-42.

30- Castañeda-Gutiérrez E, Benefield BC, de Veth MJ,

Downloaded from http://www.jri.ir