

اثر لوپئول و فلوتامید بر بیبود هایپرفیبروز رحمی ناشی از تجویز دهیدرواپی آندروسترون (DHEA) در موش سفید کوچک آزمایشگاهی

علی رضائی گل میشه^۱, رجبعلی صدرخانلو^۲, حسن ملکی‌ثزاد^۳, عباس احمدی^۴

تاریخ دریافت ۱۳۹۵/۰۶/۲۸ تاریخ پذیرش ۱۳۹۵/۰۸/۳۰

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: سندرم تخمدان پلی کیستیک (PCOS) شایع‌ترین اختلال اندوکرین زنان می‌باشد و هایپرپلازی آندومتر و متعاقب آن کاهش باروری و عدم موفقیت بارداری، افزایش موارد ابتلا به فیبروز بافت رحم و سلطان رحم از عوارض رایج آن است. بروز هایپرآندروژنی دارای نقش محوری در پاتوفیزیولوژی این سندرم بوده و ایجاد هایپرآندروژنی تحریبی از روش‌های متداول القای PCOS تحریبی می‌باشد. داروهای آنتی آندروژن مانند فلوتامید در رژیم درمانی این سندرم عموماً هستند. با توجه به شواهد موجود در مورد اثرات آنتی آندروژن رسپتوری لوپئول، اثربخشی آن در کاهش عوارض رحمی سندرم PCOS در مقایسه با فلوتامید موردمطالعه قرار گرفت.

مواد و روش کار: در این مطالعه تحریبی تعداد ۴۰ سر موش سفید کوچک آزمایشگاهی ماده نابلغ، به چهار گروه کنترل (C)، گروه PCOS (P)، گروه PCOS + لوپئول (L) و گروه PCOS + فلوتامید (F) تقسیم شدند. از تزریق روزانه DHEA ۶۰ mg/kg به مدت ۲۰ روز جهت القای این سندرم در سه گروه به‌غیراز گروه کنترل استفاده شد. پس از ۲۰ روز، درمان در سه گروه با حامل دارو یا لوپئول یا فلوتامید به مدت ۱۵ روز انجام گرفت. در طول دوره تیمار تغییرات وزن حیوانات به‌دققت اندازه‌گیری و ثبت گردید. در پایان تیمار نمونه‌های رحمی بررسی‌های هیستوپاتولوژیک تهیه شده و مقاطع میکروسکوپی جهت ارزیابی‌های هیستومورفومتریک، کلارن بافتی و شمارش ماست سل‌ها با متدهای AZAN، H&E و تولوئیدن بلورنگ‌آمیزی و بررسی شدند.

یافته‌ها: نتایج این مطالعه نشان‌دهنده افزایش معنی‌دار وزن متوسط (گرم) در گروه P (۲۸/۰/۹ ± ۱/۵۸) و کاهش معنی‌دار آن در گروه‌های L (۰/۸۶ ± ۰/۰۲) و F (۰/۸۲ ± ۱/۹۲) نسبت به گروه C (۲۸/۰/۹ ± ۱/۷۱) و گروه P در پایان دوره تیمار بود ($P < 0.05$). همچنین افزایش معنی‌دار ضخامت متوسط آندومتر (میکرومتر)، میانگین درصد کلارن بافتی (%) و تعداد متوسط ماست سل (n) در واحد سطح مقطع بافت رحم در گروه P (به ترتیب $63/8 \pm 1/65$ ، $331/6 \pm 63/8$)، $14/60 \pm 1/65$ ، $225/3 \pm 28/1$ و کاهش معنی‌دار این شاخص‌ها در گروه L ($51/3 \pm 0/90$ ، $199/8 \pm 40/7$ ، $40/7 \pm 0/90$) نسبت به گروه C (۰/۰۲ ± ۰/۸۹) مشاهده شدند.

بحث و نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که لوپئول همانند فلوتامید می‌تواند عوارض رحمی ناشی از تجویز DHEA در سندرم تخمدان پلی کیستیک تحریبی شامل هایپرپلازی، هایپرفیبروز و افزایش تعداد ماست سل‌ها را تخفیف دهد. این یافته می‌تواند در تأیید اثرات آنتی آندروژن رسپتوری لوپئول باشد. لوپئول می‌تواند به عنوان یک ترکیب درمانی برای مطالعات تكمیلی مدنظر قرار گیرد.

کلیدواژه‌ها: لوپئول، فلوتامید، هایپرفیبروز رحمی، دهیدرواپی آندروسترون

مجله پزشکی ارومیه، دوره بیست و هفتم، شماره دهم، ص ۹۳۴-۹۲۳، دی ۱۳۹۵

آدرس مکاتبه: ارومیه، کیلومتر یازده جاده سرو، پردیس نازلو دانشگاه ارومیه، دانشکده دامپزشکی. تلفن: ۰۴۴-۳۲۷۷۰۵۰۸

Email: a_rezaei82@yahoo.com

سندرم تخمدان پلی کیستیک (PCOS) شایع‌ترین اختلال اندوکرین زنان است که در سنین فعالیت

مقدمه

^۱ دانشجوی دکترای بافت شناسی مقایسه‌ای، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه (نویسنده مسئول)

^۲ استاد بافت شناسی و جنین شناسی گروه بافت شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه

^۳ استاد فارماکولوژی گروه فارماکولوژی و توکسیکولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه

^۴ استادیار علوم تشریح گروه کالبد شناسی و جنین شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه

شده است (۱۹، ۲۰). بر اساس نتایج مطالعات تجربی قرارگیری در معرض اندروژن اضافی می‌تواند منجر به فنتویپ شبه PCOS در پستانداران بالغ گردد (۲۱، ۲۲). نقش DHEA در ایجاد فیبروز وابسته به TGF β در بافت تخمدان و رحم مدل تجربی PCOS در رت نشان داده شده است (۲۳).

لوپیول فیتوسترولی طبیعی از خانواده تریترین‌های پنتاکیلیک و از ترکیبات مؤثر برخی گیاهان دارویی است (۲۴). لوپیول در شرایط *in vivo* و *in vitro* اثرات فارماکولوژیک متعدد از جمله آنتی‌اکسیدانی قوی، اثرات مفید بر ضد التهاب، سرطان و آرتربیت از خود نشان داده است (۲۵، ۲۶). بر اساس گزارشات اخیر در مورد تشابه ساختاری لوپیول با آندروژن‌ها و مداخله آن در مکانیسم سیگنالینگ گیرنده آندروژن (AR)، شواهد بسیار خوبی در زمینه فعالیت آنتی آندروژن رسپتوری و مهار گیرنده آندروژن با مکانیسم آنتاگونوئیسم رقابتی آن، در سلول‌های سرطانی پروستات ارائه شده است (۲۷، ۲۸).

با توجه به اثرات تأییدشده لوپیول در مهار گیرنده آندروژن و نیز اثرات ضدالتهابی آن از یک سو و نقش اساسی آندروژن‌ها در پاتوفیزیولوژی PCOS از سویی دیگر، هدف این مطالعه برسی اثرات لوپیول بر بهبود هایپرفیبروز رحمی در PCOS تجربی در موش‌های سفید کوچک آزمایشگاهی در مقایسه با اثرات داروی فلوتامید به عنوان یک آنتی آندروژن غیراستروئیدی خالص بود.

(۲۹)

مواد و روش کار

مواد و آماده‌سازی داروهای:

دیدروپاپی آندروسترون (D4000) و لوپیول (L5632) محصول شرکت Sigma, USA و فلوتامید (Flutan) محصول شرکت Medochemie, Cyprus خردباری شد. روغن کنجد خوارکی، از انواع رایج موجود در بازار تهیه گردید. کیت‌های رنگ‌آمیزی مقاطع بافتی H&E، AZAN و تولوئیدن بلو، از شرکت شیمی پژوهش آسیا، ایران، خریداری شد. آماده‌سازی داروها به صورت تازه و روزانه انجام شد.

گروه‌بندی حیوانات و تیمار:

در این مطالعه موش‌های سفید کوچک آزمایشگاهی نژاد NMRI ماده نبالغ از مرکز پرورش و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه تهیه شدند. از نوزادان متولد و نگهداری شده در شرایط نرمال، در چرخه روشنایی: تاریکی ۱۴:۱۰ ساعت و دسترسی آزاد به آب و غذای کافی، در سن ۲۰ روزگی و پس از گرفته شدن از شیر، تعداد ۴۰ سر موش ماده نبالغ به وزن تقریبی ۱۴-۱۷ گرم جداسده و پس از توزین به صورت تصادفی در

تولیدمثلی را در جوامع مختلف تحت تأثیر قرار می‌دهد (۱، ۲). این سندروم فراوان ترین علت ناباروری ناشی از عدم تخمک‌گذاری و هایپرآندروژنیسم در زنان جوان می‌باشد (۳). اگرچه فاکتور آغازگر PCOS به طورقطع مشخص نشده اما هایپرپلازی سلول‌های تکا، به عنوان یکی از علل اساسی و عامل محرك ایجاد هایپرآندروژنی و تخمک‌های پلی کیستیک پیشنهاد شده است (۴). یافته‌های اخیر حاکی از آن است که آندروژن‌ها با اتصال به گیرنده آندروژن در هیپوتابالموس و مهار بیان گیرنده پروژسترون (۵) می‌توانند ترشح ضربانی GnRH و به دنبال آن ترشح LH را افزایش دهند (۶). این تغییر در ترشح گنادوتropین‌ها می‌تواند منجر به اختلال تشکیل فولیکول و تخمک‌گذاری شده و فولیکول‌های متوقف (arrest) شده با تشکیل ساختارهای کیستی منجر به از دست دادن باروری در بیماران PCOS می‌گردد (۴). عدم تخمک‌گذاری مزمن، عامل اصلی ناباروری در سندروم تخمکان پلی کیستیک می‌باشد، اما یافته‌های دیگر حاکی از آن است که کیفیت پایین تخمک، عدم موفقیت لانه گزینی و میزان بالای سقط جنین، سبب پیچیدگی بیشتر در موفقیت حاملگی می‌گردد (۷-۹). مبتلایان به PCOS در معرض ریسک بسیار بالاتر ابتلاء به هایپرپلازی آندومتر رحم و سرطان آندومتر قرار دارند (۱۰) چنانکه بیش از ۳۵ درصد از زنان مبتلا به PCOS دارای هایپرپلازی آندومتر می‌باشند (۱۱) و بیماران PCOS نسبت به زنان سالم ۶۵ درصد بیشتر در معرض خطر ابتلاء به لیومیومای رحمی هستند (۱۲). لیومیومای رحمی رایج ترین تومور ناحیه لگنی در زنان بوده (۱۳) و حاوی مقادیر بسیار زیاد ماتریکس خارج سلولی مانند کلاژن نوع I و III و فیبرونکتین (۱۴) و تعداد فراوان ماست سل‌ها (۱۵) می‌باشد که نشان می‌دهد فرآیند فیبروز می‌تواند تا حدودی مسئول رشد و بزرگ شدن تومور باشد (۱۳). شواهدی وجود دارد مبنی بر اینکه عدم موفقیت لانه گزینی، سقط جنین، هایپرپلازی و سرطان آندومتر در زنان مبتلا به PCOS می‌تواند با ترشح مزمن استروژن بدون پروژسترون، هایپرآندروژنی، هایپرأنسولینی و اثرات اعضاي خانواده فاکتورهای رشد شبه انسولینی (IGF) مرتبط باشد (۱۶). رشد و تمایز آندومتر در زنان مبتلا به PCOS تحت تأثیر آندروژن‌ها، انسولین و استروژن بدون پروژسترون قرار می‌گیرد. در غیاب تخمک‌گذاری و فقدان اثرات تنظیمی پروژسترون، آندومتر دستخوش تعییرات ترشحی نشده و به صورت مداوم در معرض اثرات تحریکی و میتوژنیک استروژن قرار می‌گیرد که می‌تواند به رشد بیش از حد آندومتر، هایپرپلازی و سرطان منجر گردد (۱۱، ۱۷). فیبروز معمولاً در بی التهاب مزمن به وجود می‌آید و وجود TGF β در مزمن فرآیند PCOS و افزایش سطح سرمی به عنوان فاکتور کلیدی و اصلی در پاتوژن فیبروز (۱۸) نشان داده

آمده‌سازی نمونه، فشردگی جانبی نمونه شاخ رحم می‌تواند سبب تغییر نسبت قطر طولی و عرضی سطح مقطع گردد اما مساحت سطح مقطع تحت تأثیر قرار نمی‌گیرد، لذا تغییرات مساحت سطح مقطع به عنوان اندیسی مطمئن‌تر در زمینه تغییرات موروفومتریک شاخ رحم در گروه‌های مختلف مورد ارزیابی و مقایسه قرار گرفت.

رنگ آمیزی آزوکارمین- آنیلین بلو (AZAN):

بررسی کیفی تغییرات کلائز در مقاطع میکروسکوپی با رنگ آمیزی آزوکارمین- آنیلین بلو (Mallory-AZAN) (۳۳) انجام و نواحی آبی رنگ به عنوان نقاط رسوب کلائز در نظر گرفته شد. اندازه‌گیری کمی فیبروز و کلائز بافتی با استفاده از آنالیز تصاویر به وسیله نرم‌افزار Matlab (V.8.1.0) در بیش از ۴۰ تصویر میکروسکوپی تهیه شده از هر گروه، صورت پذیرفت. میانگین نسبت نقاط تصویر (پیکسل‌ها) آبی رنگ به کل نقاط تصویر، به عنوان درصد متوسط کلائز بافتی (۳۴) تعیین شد.

ارزیابی میزان نفوذ ماست سل‌ها:

جهت بررسی تغییرات تعداد ماست سل‌ها در واحد سطح میومتر، از رنگ آمیزی متاکروماتیک تولوئیدن بلو استفاده شد. شمارش ماست سل‌ها با بزرگنمایی $\times 100$ میکروسکوپ نوری و در بیش از ۵۰ میدان دید میکروسکوپی در هر گروه انجام شد و میانگین تعداد ماست سل در یک میدان دید (به عنوان واحد سطح) در هر گروه محاسبه و به صورت کمی مقایسه گردید.

بررسی آماری:

نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ جهت انجام تمامی محاسبات آماری به کار گرفته شد. داده‌ها به صورت میانگین \pm انحراف استاندارد نشان داده شدند و برای مقایسه میانگین داده‌ها بین گروه‌ها از آزمون ANOVA یک طرفه و تست تعقیبی Tukey استفاده شد. سطح معنی‌داری در تمامی موارد $P < 0.05$ فرض گردید.

یافته‌ها

تغییرات وزن:

نتایج تغییرات وزن حیوانات در طول دوره تیمار در نمودار شماره (۱) نشان داده شده است. در روز نخست دوره تیمار تفاوت معنی‌داری در میانگین وزن گروه‌ها وجود نداشت. در پایان هفته سوم میانگین وزن در گروه‌های P, L, F نسبت به گروه C افزایش یافته بود که این افزایش در گروه P و F معنی‌دار بود و در بین گروه‌های P, L, F تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. در پایان هفته پنجم، میانگین وزن گروه P در مقایسه با گروه C افزایش معنی‌داری داشت و گروه‌های L و F نسبت به گروه P کاهش معنی‌دار وزن گیری را نشان دادند ($P < 0.05$).

۴ گروه ۱۰ تایی تقسیم‌بندی شدند. گروه‌ها به ترتیب زیر نام‌گذاری گردید و پس از تطابق حیوانات با شرایط محیطی، در سن ۲۵ روزگی تحت تیمار قرار گرفتند. جهت القای PCOS از DHEA و از روغن کنجد به عنوان حامل دارو استفاده شد. تجویز کلیه داروها به روش داخل صفاقی انجام گرفت:

- گروه کنترل (C): روزانه ۰/۱ ml روغن کنجد به مدت ۳۵ روز سه گروه دیگر ابتدا به مدت ۲۰ روز تحت تیمار روزانه DHEA ۶۰ mg/kg در ۰/۱ ml روغن کنجد (۴، ۳۰) قرار گرفته و سپس هر کدام به مدت ۱۵ روز به ترتیب زیر تیمار شدن:
- گروه PCOS (P): روزانه ۰/۱ ml روغن کنجد
- گروه لوپیول (L): روزانه ۴۰ mg/kg لوپیول در ۰/۱ ml روغن کنجد (۳۱)
- گروه فلوتامید (F): روزانه ۰/۱ mg/kg فلوتامید در ۰/۱ ml روغن کنجد (۳۲)

نمونه‌برداری:

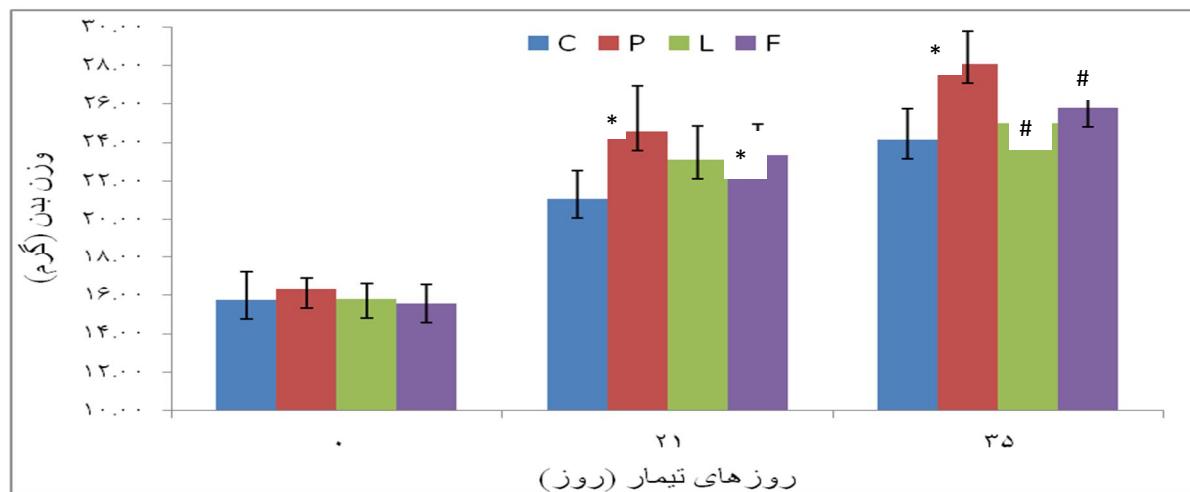
در پایان هر هفته میزان وزن حیوانات به دقت اندازه‌گیری و ثبت شد و میانگین وزن گروه‌ها در انتهای هفته سوم (پایان دوره تیمار DHEA) و انتهای هفته پنجم (پایان دوره تیمار) مقایسه گردید. در انتهای دوره تیمار حیوانات متعاقب بیهوشی اشتنشاقی با اتر، به طریقه انسانی آسان کشی شدند و نمونه‌های موردنیاز از بخش‌های مختلف استحصال گردید. از هر حیوان شاخ راست رحم جهت انجام مطالعات بافت شناختی در محلول شوتی فرمالین ۱۰ درصد قرار گرفت و شاخ چپ به منظور بررسی‌های بیوشیمیایی به سرعت در ازت مایع فریز و سپس در -۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

تپیه مقاطع بافتی:

۴۸ ساعت پس از ثبوت بافت رحم در محلول فرمالین، مراحل آبگیری، شفافسازی و آغشته سازی به روش متداول انجام گرفت و درنهایت نمونه‌ها در پارافین قالب‌گیری شده و مقاطع عرضی شاخ رحم به ضخامت $5 \mu\text{m}$ تهیه شد.

رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین (H&E):

جهت انجام بررسی‌های هیستومورفومتریک رحم، رنگ آمیزی H&E به روش روتین انجام شد و به وسیله میکروسکوپ نوری مجهز به لنز دیجیتال Dino-Eye متصصل به رایانه و با استفاده از نرم‌افزار DinoCapture 2.0 (V.1.4.3)، از کلیه مقاطع میکروسکوپی تصاویر مناسب با بزرگنمایی $\times 100$ تهیه شد. قطر متوسط شاخ رحم در مقاطع عرضی و ضخامت آندومتر در قسمت‌های مختلف اندازه‌گیری و بر اساس آن ضخامت متوسط آندومتر محاسبه و تحلیل شد. از آنجایی که در فرآیندهای

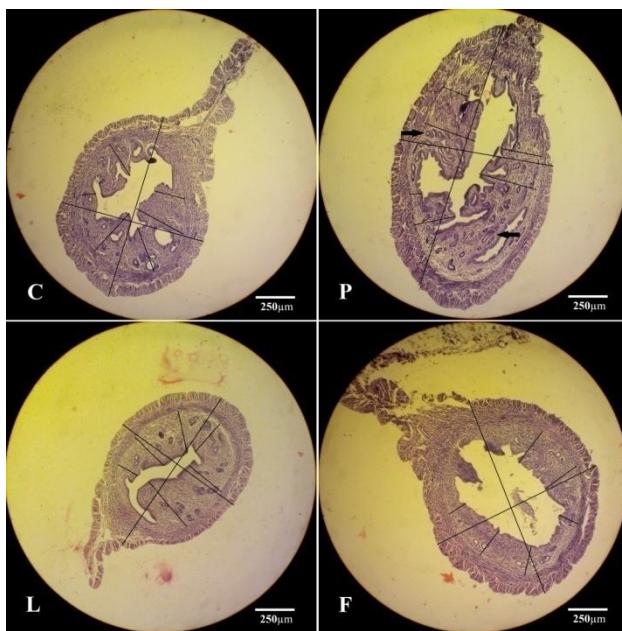


نمودار شماره (۱): مقایسه وزن گروههای کنترل (C)، PCOS (P)، لوپیول (L) و فلوتامید (F) در روزهای ۰، ۲۱ و ۳۵ تیمار.*: تفاوت معنی دار نسبت به گروه C و #: تفاوت معنی دار نسبت به گروه P ($P<0.05$).

نشان دهنده افزایش قطر شاخ رحم و افزایش ضخامت آندومتر در گروه P نسبت به C و کاهش آن در گروههای L و F نسبت به P است. هایپرپلازی آندومتر و عدد آندومتری در گروه P دیده شد اما در گروههای L و F آندومتر وضعیت نرمال داشت.

تغییرات هیستومورفومتری رحم و وضعیت آندومتر:

شکل (۱) نمایانگر تصاویر میکروسکوپی مقاطع عرضی تهیه شده از شاخ رحم در پایان دوره تیمار گروههای چهارگانه می باشد. مقایسه کیفی تغییرات هیستولوژیک این مقاطع



شکل (۱): تصاویر میکروسکوپی مقاطع شاخ رحم گروههای کنترل (C)، PCOS (P)، لوپیول (L) و فلوتامید (F) همراه با خطوط اندازه گیری مورفومتریک ابعاد بافت. هایپرپلازی آندومتر در گروه P مشهود است. پیکان: عدد هایپرپلاستیک آندومتر. (رنگ آمیزی H&E). بزرگنمایی $\times 100$.

افزایش معنی داری نشان داد و در گروههای L و F نسبت به گروه P کاهش معنی دار این یافته ها مشاهده شد؛ اما تفاوت معنی داری بین گروههای L و F وجود نداشت ($P<0.05$).

بر اساس مقایسه نتایج اندازه گیری های مورفومتریک (جدول شماره ۱)، قطر متوسط شاخ رحم، مساحت سطح مقاطع شاخ رحم و همین طور ضخامت متوسط آندومتر در گروه P نسبت به گروه C

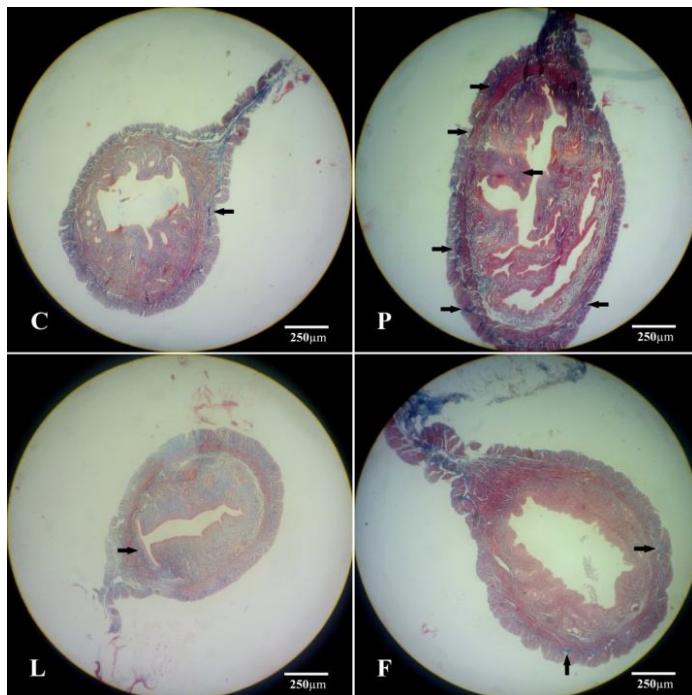
جدول (۱): قطر متوسط شاخ رحم، مساحت سطح مقطع شاخ رحم و ضخامت متوسط آندومتر در گروههای کنترل (C)، (P) PCOS، لوپئول (L) و فلوتامید (F). *: اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه C، #: اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه P ($P < 0.05$).

گروه	قطر متوسط سطح مقطع شاخ رحم (mm ²) Mean±SD (درصد تغییر)	مساحت متوسط سطح مقطع شاخ رحم (mm ²) Mean±SD (درصد تغییر)	ضخامت متوسط آندومتر (μm) Mean ± SEM (درصد تغییر)
C	۱۱۳۵/۴ ± ۱۲۱/۲	۰/۹۶۲ ± ۰/۱۷	۲۳۵/۳ ± ۱۴/۱
P	۱۶۷۱/۱ ± ۲۷۷/۷*	۱/۹۶۶ ± ۰/۴۹* (+۱۰۷/۵%)	۳۳۱/۶ ± ۳۳/۰* (+۴۰/۹%)
L	۸۸۵/۷ ± ۱۰۴/۵#	۰/۶۱۴ ± ۰/۱۴# (-۶۷/۷%)	۱۹۹/۸ ± ۱۵/۷# (-۳۹/۷%)
F	۱۱۳۳/۳ ± ۲۰۴/۷#	۰/۹۸۵ ± ۰/۳۳# (-۴۹/۹%)	۱۸۷/۴ ± ۱۱/۵# (-۴۳/۵%)

میومتر و همین طور در بافت آندومتر مشاهده شد. در گروههای لوپئول و فلوتامید کاهش شدت رنگ آبی و ضخامت رشته‌های کلاژن دیده شد و این کاهش در گروه فلوتامید در قسمت آندومتر بیشتر نمود داشت.

تغییرات کیفی کلاژن بافتی و فیبروز:

Mallory-AZAN رنگ‌آمیزی مقاطع میکروسکوپی به روش (شکل ۲) وجود رشته‌های ظرفی کلاژن در مقطع عرضی رحم حیوانات گروه کنترل را نشان داد. در گروه PCOS افزایش ضخامت و پراکندگی رشته‌های کلاژن به ویژه در بین لایه‌های عضلانی



شکل (۲): تصاویر میکروسکوپی مقاطع عرضی شاخ رحم گروههای کنترل (C)، (P) PCOS، لوپئول (L) و فلوتامید (F). پیکان: رشته‌های ضخیم کلاژن. (رنگ‌آمیزی Mallory-AZAN، بزرگنمایی X100).

نقاط تصویر در جدول شماره (۲) نشان داده شده است. چنانچه مشخص است، درصد کلاژن بافتی در گروه P نسبت به گروه C افزایش معنی‌داری داشت و در گروههای L و F نسبت به گروه P کاهش معنی‌دار (P < 0.05). آن دیده شد. در بین گروه L و F تفاوت معنی‌دار نبود.

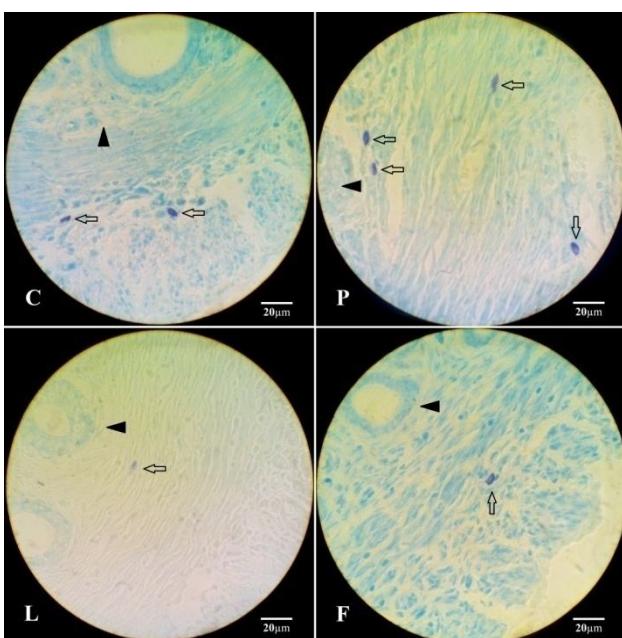
نتایج کمی سازی مقادیر فیبروز رحم به وسیله آنالیز تصاویر:

مقادیر کمی کلاژن بافتی مقاطع میکروسکوپی بر اساس آنالیز تصاویر با نرم‌افزار Matlab به صورت درصد نقاط تصویر آبی به کل

جدول (۲): درصد کلائزن بافتی مقاطع میکروسکوپی بر اساس نتایج آنالیز تصاویر با نرم افزار Matlab، گروههای کنترل (C)، PCOS (P) و لوپیول (L) و فلوتامید (F).^{*}: اختلاف معنی دار نسبت به گروه C، [#]: اختلاف معنی دار نسبت به گروه P ($P < 0.05$).

گروه	درصد کلائزن بافتی (Mean±SEM)
C	۸/۱۰±۱/۴۱
P	۱۴/۶۰±۱/۶۵*
L	۴/۰۷±۰/۹۰#
F	۵/۲۱±۰/۳۹#

آنها نیز سطحی تر و نزدیک به آندومتر بود. در گروههای لوپیول و فلوتامید کاهش فراوانی ماست سلها دیده شد. تعداد متوسط ماست سلها در واحد سطح مقطع رحم (جدول شماره ۳) نشان دهنده افزایش بسیار زیاد و معنی دار در گروه P نسبت به C و کاهش معنی دار در گروههای L و F نسبت به می باشد. در گروه L تعداد ماست سل کمتر از گروه F بود اما این تفاوت معنی دار نبود ($P < 0.05$).



مهارکننده آروماتاز (Letrozole) اشاره کرد (۴). از این میان با توجه به اینکه هایپرآندروژنی یکی از اصلی ترین چهره های این سندرم می باشد، بر اساس نتایج مطالعات مختلف (۳۵، ۳۰) مدل القاء سندرم تخمدان پلی کیستیک به وسیله DHEA به عنوان مدل بهینه مورد استفاده قرار گرفت و اثرات این سندرم بر روی بافت رحم و اثربخشی لوپیول و داروی فلوتامید بر روی تغییرات بافت رحم در طی این سندرم مورد مطالعه قرار گرفت.

تعداد ماست سلها در واحد سطح:

شکل (۳) تصاویر میکروسکوپی مقاطع عرضی شاخ رحم را نشان می دهد که با روش تولوئیدن بلو جهت نشان دادن سلول های ماست سل رنگ آمیزی شده اند. پراکندگی ماست سلها در گروه کنترل در قسمت های عمقی میومتر مشاهده شد. فراوانی ماست سلها در گروه PCOS نسبت به گروه کنترل بیشتر و پراکندگی

جدول (۳): تعداد متوسط ماست سل در واحد سطح مقطع رحم در گروههای کنترل (C)، PCOS (P)، لوپیول (L) و فلوتامید (F).^{*}: اختلاف معنی دار نسبت به گروه C، [#]: اختلاف معنی دار نسبت به گروه P ($P < 0.05$).

گروه	تعداد متوسط ماست سل در واحد سطح (Mean±SD)
C	۱/۴۷ ±۰/۵۵
P	۳/۰۲ ±۰/۸۹*
L	۱/۰۲ ±۰/۶۹#
F	۱/۳۱ ±۰/۶۰#

شکل (۳): تصاویر میکروسکوپی مقاطع عرضی شاخ رحم گروههای کنترل (C)، PCOS (P)، لوپیول (L) و فلوتامید (F). پیکان: سلول ماست سل، سر پیکان: آندومتر (رنگ آمیزی تولوئیدن بلو، بزرگنمایی ۱۰۰۰ X)

بحث و نتیجه گیری

سندرم تخمدان پلی کیستیک تجربی در مطالعات مختلف در جوندگان به روش های بسیار متفاوت و با استفاده از ترکیبات متنوع PCOS و بررسی شده است. از آن جمله می توان به مدل های DHEA، تستوسترون شده به وسیله آندروژن ها (مانند DHT)، پروپیونات (TP) و دی هیدرو تستوسترون (DHT)، استروژن ها (استرادیول والرات و E2)، آنتی پروژسترون (Mifepristone) و

تأکید بر مکانیسم و مسیرهای همکاری گیرنده آندروژن و گیرنده استروژن (ER)، ARA70 به عنوان یک کو-اکتیواتور Co-activator مشترک این دو گیرنده در رونویسی ژنهای مرتبط با چرخه سلولی در آندومتر رحم بیماران مبتلا به PCOS همراه با هایپرپلازی معرفی شده است (۴۶).

در مطالعه حاضر افزایش معنی دار قطر و مساحت سطح مقطع شاخ رحم و ضخامت آندومتر در گروه P نسبت به گروه C و کاهش معنی دار این شاخص‌ها در گروه L و F نسبت به گروه P دیده شد. افزایش ابعاد رحم و هایپرپلازی آندومتر در گروه P می‌تواند از یک سو ناشی از اثرات طولانی مدت استروژن بدون اثر ممانعت کنندگی پروژسترون بر آندومتر و از سوی دیگر به دلیل نقش احتمالی هایپرآندروژنی و افزایش بیان گیرنده‌های آندروژن در آندومتر در بروز اثرات استروژن در رحم باشد. اثر لوپئول به عنوان ترکیبی که عملکرد آنتی آندروژن رسپتوری آن تأیید شده (۲۸) و فلوتامید به عنوان یک آنتی آندروژن خالص در کاهش شاخص‌های ابعاد رحم و ضخامت آندومتر را نیز می‌توان به اثرات آن‌ها در مهار گیرنده آندروژن مرتبط دانست.

بروز شرایط فیبروتیک در اندام‌های مختلف دارای سبب‌شناسی‌های متفاوتی است اما به طور عمومی فیبروز از التهاب مزمن پایدار ناشی می‌شود. وجود التهاب مزمن در فرآیند پاتوفیزیولوژیک PCOS در بیماران مبتلا به این سندرم نشان داده شده است (۱۹). از دیگر سو مشخص شده است که در بیماران PCOS سطح سرمی TGF β که فاکتور کلیدی و اصلی در پاتوزنر فیبروز است (۱۸، ۴۹) نسبت به افراد سالم بالاتر است (۲۰، ۵۰). TGF β موجود در ماست سل‌ها می‌تواند در فرآیندهای فیبروتیک مانند تومورهای لیومیوما یا فیبروئید رحمی دخیل باشد، چراکه در لیومیوما تعداد ماست سل‌ها با میزان سلولاریتی و ماتریکس کلائزی تومور تناسب دارد (۱۵) و با استفاده از داروهای مهارکننده رهاسازی میانجی‌های شیمیایی ماست سل‌ها، مهار رشد سلول‌های لیومیوما در شرایط آزمایشگاهی نیز نشان داده شده است (۱۳). نتایج یک مطالعه بر روی رتهای ماده مبتلا به PCOS نیز نشان می‌دهد که DHEA می‌تواند روند فیبروز در بافت تخمدان و رحم را در فرآیندی وابسته به TGF β افزایش دهد و سبب تغییرات مورفولوژیک گسترده از جمله تجمع میزان بالاتر کلائز در بافت رحم گردد (۲۳).

در این مطالعه نتایج رنگ‌آمیزی مقاطع میکروسکوپی رحم با متدهای AZAN که به دو روش بررسی کیفی و کمیت سنجی به وسیله آنالیز تصاویر ارزیابی شدند، نشان‌دهنده افزایش معنی دار مقادیر کلائز بافتی در گروه P نسبت به گروه C و کاهش معنی دار آن در گروه‌های L و F نسبت به گروه P بود. تغییرات تعداد ماست سل‌ها

DHEA یک آستروئید آنابولیک است و به عنوان یک پیش‌ساز ضروری در بافت‌های محیطی به تستوسترون و دی‌هیدروتستوسترون (DHT) تبدیل می‌شود (۳۶) و متعاقباً می‌تواند از طریق اثرات آندروژنیک خود با افزایش فعالیت آنزیم LPL (lipoprotein lipase) احشایی و افزایش انباشتگی چربی احشایی، به چاقی ناحیه شکمی (abdominal obesity) در زنان منجر گردد (۳۷). بنابر گزارشات مختلف بیش از نیمی از زنان مبتلا به PCOS چاق هستند (۳۸).

در این مطالعه نتایج اندازه‌گیری تغییرات وزن حیوانات پس از سه هفته تیمار نشان‌دهنده افزایش قائل ملاحظه وزن در هر سه گروه دریافت کننده DHEA در مقایسه با گروه کنترل است. در گروه P در پایان هفته پنجم تیمار نیز افزایش وزن نسبت به گروه کنترل به صورت کاملاً معنی دار دیده می‌شود. این افزایش وزن را می‌توان با اثرات DHEA به عنوان یک آستروئید آنابولیک توجیه کرد.

لوپئول به عنوان یک فیتوستروول از خانواده تری ترین ها ACAT (acylCoA: cholesterol acyltransferase) می‌تواند علاوه بر اثر آنتی آندروژنی از طریق مهار آنزیم LXR β (Liver X receptor β) و با اتصال به گیرنده‌های لیپوژنیک و ممانعت از انباشتگی چربی در کبد و سلول‌های آدیپوسیت، سبب کاهش وزن یا جلوگیری از چاقی شود (۴۰). کاهش وزن معنی دار در گروه لوپئول نسبت به گروه P می‌تواند به دلیل اثرات فوق باشد؛ اما اثر فلوتامید در کاهش وزن گیری در گروه F نسبت به گروه P را می‌توان به عملکرد آنتی آندروژن رسپتوری آن مرتبط دانست به نحوی که از تاثیر آندروژن‌ها در انباشتگی چربی و افزایش وزن جلوگیری می‌نماید.

در مطالعات متعدد بیان گیرنده آندروژن در آندومتر رحم انسان، میمون (۴۱)، رت (۴۲) و موش (۴۳، ۴۴) و استروما و میومتر رت (۴۵) گزارش شده و افزایش بیان گیرنده آندروژن در آندومتر رحم در بیماران PCOS به ویژه در دوره پرولیفراسیون آندومتر (۴۶) به اثبات رسیده است. با مدل آزمایشگاهی نیز آندومتر (۴۷) به اثبات رسیده است. با این نتایج مطالعات به وسیله پروژسترون گزارش شده است (۴۸). نتایج مختلف حاکی از آن است که بیان گیرنده آندروژن در اپیتلیوم رحم نابلغ رت متعاقب تجویز استروژن افزایش یافته (۴۴، ۴۵) و پرولیفراسیون ناشی از استرادیول سلول‌های اپیتلیوم رحم نابلغ رت، به وسیله فلوتامید به عنوان یک آنتی آندروژن خالص مهار شده است و لذا دخیل بودن آندروژن‌ها در روند بروز اثرات میتوژنیک استرادیول بر روی آندومتر رحم نیز پیشنهاد شده است (۴۵). در

(۲۸، ۲۳) و آنتی آندروژنیک (۵۱) لوپئول باشند. با این حال نتایج ما در این مطالعه تأیید می‌نماید که DHEA می‌تواند سبب بروز هایپرپلازی آندومتر و افزایش کلازن بافتی و فیبروز در بافت رحم موش سفید کوچک آزمایشگاهی شود و این آسیب با افزایش ماست سل‌ها در بافت رحم همراه می‌باشد. لوپئول به عنوان یک فیتوسترون طبیعی با اثرات تأثیرگذار ضدالتهابی و آنتی آندروژن رسپتوری (۲۸، ۲۵) و فلوتامید به عنوان یک آنتی آندروژن رسپتور خالص می‌توانند فرآیند فیبروز پاتولوژیک رحم ناشی از DHEA را تخفیف دهند.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از زحمات دوست عزیز آقای مهندس هاشم کلب خانی، دانشجوی دکتری برق گرایش سیستم دانشگاه ارومیه، بابت انجام آنالیز تصاویر توسط نرمافزار Matlab تشکر و قدردانی می‌نماییم.

در واحد سطح مقطع رحم در گروه‌های مذکور نیز با نتایج فیبروز کاملاً همخوانی داشت. بروز فیبروز در گروه P با نتایج مطالعات اخیر در زمینه سندروم PCOS تجربی ایجادشده به وسیله (DHEA) (۲۳) مطابقت دارد. کاهش مقادیر کلازن در گروه L نسبت به گروه P را می‌توان به اثرات ضدالتهابی لوپئول در تخفیف التهاب مزمن و تعداد ماست سل‌ها و متعاقباً کاهش میزان فیبروز مرتبط دانست. لوپئول به عنوان ترکیبی با اثرات آنتی آندروژن رسپتوری (۲۸)، احتمالاً می‌تواند از طریق مهار گیرنده آندروژن از همراهی این گیرنده در اثرات میتووژنیک استروژن جلوگیری کرده و به طور شایعه در کاهش تولید ماتریکس خارج سلولی بهویژه کلازن نیز مؤثر باشد. فلوتامید نیز احتمالاً با مکانیسمی مشابه آنچه که در تعداد ماست سل و مقادیر کلازن بافتی شده است.

مطالعه حاضر مانند هر مطالعه دیگر دارای محدودیت‌هایی است. اندازه‌گیری مقادیر TGF β و بیان ژن گیرنده آندروژن می‌توانست شواهدی قوی‌تری برای تأیید خاصیت ضد فیبروزی

References:

- Hull M. Epidemiology of infertility and polycystic ovarian disease: endocrinological and demographic studies. *Gynecol Endocrinol* 1987;1(3): 235-45.
- Teede H, Deeks A, Moran L. Polycystic ovary syndrome: a complex condition with psychological, reproductive and metabolic manifestations that impacts on health across the lifespan. *BMC medicine* 2010;8: 41.
- Norman RJ, Dewailly D, Legro RS, Hickey TE. Polycystic ovary syndrome. *Lancet* 2007;370(9588): 685-97.
- Oakley O, Lin P-C, Bridges P, Ko C. Animal models for the study of polycystic ovarian syndrome. *Endocrinol Metab* 2011;26(3): 193-202.
- Ozawa H. Steroid hormones, their receptors and neuroendocrine system. *J Nippon Med Sch* 2005;72(6): 316-25.
- Foecking EM, Szabo M, Schwartz NB, Levine JE. Neuroendocrine consequences of prenatal androgen exposure in the female rat: absence of luteinizing hormone surges, suppression of progesterone receptor gene expression, and acceleration of the gonadotropin-releasing hormone pulse generator. *Biol Reprod* 2005;72(6): 1475-83.
- Okon MA, Laird SM, Tuckerman EM, Li T-C. Serum androgen levels in women who have recurrent miscarriages and their correlation with markers of endometrial function. *Fertil Steril* 1998;69(4): 682-90.
- Fedorcsák P, Storeng R, Dale PO, Tanbo T, Åbyholm T. Obesity is a risk factor for early pregnancy loss after IVF or ICSI. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2000;79(1): 43-8.
- Fedorcsák P, Dale PO, Storeng R, Tanbo T, Åbyholm T. The impact of obesity and insulin resistance on the outcome of IVF or ICSI in women with polycystic ovarian syndrome. *Hum Reprod* 2001;16(6): 1086-91.
- Niwa K, Imai A, Hashimoto M, Yokoyama Y, Mori H, Matsuda Y, et al. A case-control study of uterine endometrial cancer of pre-and

- post-menopausal women. *Oncol Rep* 2000;7(1): 89-182.
11. Cheung AP. Ultrasound and menstrual history in predicting endometrial hyperplasia in polycystic ovary syndrome. *Obstet Gynecol* 2001;98(2): 325-31.
 12. Wise LA, Palmer JR, Stewart EA, Rosenberg L. Polycystic ovary syndrome and risk of uterine leiomyomata. *Fertil Steril* 2007;87(5): 1108-15.
 13. Shime H, Kariya M, Orii A, Momma C, Kanamori T, Fukuhara K, et al. Tranilast inhibits the proliferation of uterine leiomyoma cells in vitro through G1 arrest associated with the induction of p21waf1 and p53. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87(12): 5610-7.
 14. Stewart EA, Friedman AJ, Peck K, Nowak RA. Relative overexpression of collagen type I and collagen type III messenger ribonucleic acids by uterine leiomyomas during the proliferative phase of the menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab* 1994;79(3): 900-6.
 15. Orii A, Mori A, Zhai Y-L, Toki T, Nikaido T, Fujii S. Mast cells in smooth muscle tumors of the uterus. *Int J Gynecol Pathol* 1998;17(4): 336-42.
 16. Giudice LC. Endometrium in PCOS: implantation and predisposition to endocrine CA. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2006;20(2): 235-44.
 17. Elliott JL, Hosford SL, Demopoulos RI, Perloe M, Sills ES. Endometrial adenocarcinoma and polycystic ovary syndrome: risk factors, management, and prognosis. *South Med J* 2001;94(5): 529-31.
 18. Schaafsma D, McNeill KD, Mutawe MM, Ghavami S, Unruh H, Jacques E, et al. Simvastatin inhibits TGF β 1-induced fibronectin in human airway fibroblasts. *Respir Res* 2011;12: 113.
 19. Kelly CC, Lyall H, Petrie JR, Gould GW, Connell JM, Sattar N. Low grade chronic inflammation in women with polycystic ovarian syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86(6): 2453-5.
 20. Hu J, Yang J, Xu W-m, Li M. Study on the changes and clinical significance of serum transforming growth factor-beta, tumour necrosis factor-alpha and interleukin-6 in the patients with polycystic ovary syndrome. *Chin J Birth Health Hered* 2004;12: 107-9.
 21. Xita N, Tsatsoulis A. Fetal programming of polycystic ovary syndrome by androgen excess: evidence from experimental, clinical, and genetic association studies. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91(5): 1660-6.
 22. Dumesic DA, Abbott DH, Padmanabhan V. Polycystic ovary syndrome and its developmental origins. *Rev Endocr Metab Disord* 2007;8(2): 127-41.
 23. Zhang X, Zhang C, Shen S, jie Xia Y, Yi L, Gao Q, et al. Dehydroepiandrosterone induces ovarian and uterine hyperfibrosis in female rats. *Hum Reprod* 2013;28(11): 3074-85.
 24. Erazo S, Rocco G, Zaldivar M, Delporte C, Backhouse N, Castro C, et al. Active metabolites from Dunalia spinosa resinous exudates. *Z Naturforsch C* 2008;63(7-8): 492-6.
 25. Saleem M. Lupeol, a novel anti-inflammatory and anti-cancer dietary triterpene. *Cancer Lett* 2009;285(2): 109-15.
 26. Rezaei-Golmisheh A, Malekinejad H, Asri-Rezaei S, Farshid AA, Akbari P. Hawthorn ethanolic extracts with triterpenoids and flavonoids exert hepatoprotective effects and suppress the hypercholesterolemia-induced

- oxidative stress in rats. *Iran J Basic Med Sci* 2015;18(7): 691-9.
27. Saleem M, Murtaza I, Witkowsky O, Kohl AM, Maddodi N. Lupeol triterpene, a novel diet-based microtubule targeting agent: disrupts survivin/cFLIP activation in prostate cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2009;388(3): 576-82.
 28. Siddique HR, Mishra SK, Karnes RJ, Saleem M. Lupeol, a novel androgen receptor inhibitor: implications in prostate cancer therapy. *Clin Cancer Res* 2011;17(16): 5379-91.
 29. Moghetti P, Tosi F, Tosti A, Negri C, Misciali C, Perrone F, et al. Comparison of Spironolactone, Flutamide, and Finasteride Efficacy in the Treatment of Hirsutism: A Randomized, Double Blind, Placebo-Controlled Trial 1. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85(1): 89-94.
 30. Elia E, Sander V, Luchetti C, Solano M, Di Girolamo G, Gonzalez C, et al. The mechanisms involved in the action of metformin in regulating ovarian function in hyperandrogenized mice. *Mol Hum Reprod* 2006;12(8): 475-81.
 31. Prasad S, Kalra N, Singh M, Shukla Y. Protective effects of lupeol and mango extract against androgen induced oxidative stress in Swiss albino mice. *Asian J Androl* 2008;10(2): 313-8.
 32. Sullivan SD, Moenter SM. Prenatal androgens alter GABAergic drive to gonadotropin-releasing hormone neurons: implications for a common fertility disorder. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004;101(18): 7129-34.
 33. Kondou H, Mushiake S, Etani Y, Miyoshi Y, Michigami T, Ozono K. A blocking peptide for transforming growth factor- β 1 activation prevents hepatic fibrosis in vivo. *J Hepatol* 2003;39(5): 742-8.
 34. Kuwahara F, Kai H, Tokuda K, Kai M, Takeshita A, Egashira K, et al. Transforming growth factor- β function blocking prevents myocardial fibrosis and diastolic dysfunction in pressure-overloaded rats. *Circulation* 2002;106(1): 130-5.
 35. Shi D, Vine DF. Animal models of polycystic ovary syndrome: a focused review of rodent models in relationship to clinical phenotypes and cardiometabolic risk. *Fertil Steril* 2012;98(1): 185-93.
 36. Labrie F, Luu-The V, Martel C, Chernomoretz A, Calvo E, Morissette J, et al. Dehydroepiandrosterone (DHEA) is an anabolic steroid like dihydrotestosterone (DHT), the most potent natural androgen, and tetrahydrogestrinone (THG). *J Steroid Biochem Mol Biol* 2006;100(1): 52-8.
 37. Eberling P, Koivisto V. Physiological importance of dehydroepiandrosterone. *Lancet* 1994;343(8911): 1479-81.
 38. Hoeger KM. Obesity and lifestyle management in polycystic ovary syndrome. *Clin Obstet Gynecol* 2007;50(1): 277-94.
 39. Baek M-Y, Cho J-G, Lee D-Y, Ann E-M, Jeong T-S, Baek N-I. Isolation of triterpenoids from the stem bark of Albizia julibrissin and their inhibition activity on ACAT-1 and ACAT-2. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 2010;53(3): 310-5.
 40. Fan S, Zhang Y, Hu N, Sun Q, Ding X, Li G, et al. Extract of kuding tea prevents high-fat diet-induced metabolic disorders in C57BL/6 mice via liver X receptor (LXR) β antagonism. *PLoS One* 2012;7(12): e51007.
 41. Slayden OD, Nayak NR, Burton KA, Chwalisz K, Cameron ST, Critchley HO, et al. Progesterone Antagonists Increase Androgen

- Receptor Expression in the Rhesus Macaque and Human Endometrium 1. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86(6): 2668-79.
42. Pelletier G. Localization of androgen and estrogen receptors in rat and primate tissues. *Histol Histopathol* 2000;15(4): 1261-70.
43. Takeda H, Chodak G, Mutchnik S, Nakamoto T, Chang C. Immunohistochemical localization of androgen receptors with mono- and polyclonal antibodies to androgen receptor. *J Endocrinol* 1990;126(1): 17-NP.
44. Pelletier G, Li S, Labrie F. Localization and estrogenic regulation of androgen receptor mRNA expression in the mouse uterus and vagina. *J Endocrinol* 2004;180(1): 77-85.
45. Weihua Z, Ekman J, Almkvist Å, Saji S, Wang L, Warner M, et al. Involvement of androgen receptor in 17 β -estradiol-induced cell proliferation in rat uterus. *Biol Reprod* 2002;67(2): 616-23.
46. Villavicencio A, Bacallao K, Avellairá C, Gabler F, Fuentes A, Vega M. Androgen and estrogen receptors and co-regulators levels in endometria from patients with polycystic ovarian syndrome with and without endometrial hyperplasia. *Gynecol Oncol* 2006;103(1): 307-14.
47. Apparao K, Lovely LP, Gui Y, Lininger RA, Lessey BA. Elevated endometrial androgen receptor expression in women with polycystic ovarian syndrome. *Biol Reprod* 2002;66(2): 297-304.
48. Lovely LP, Rao KA, Gui Y, Lessey BA. Characterization of androgen receptors in a well-differentiated endometrial adenocarcinoma cell line (Ishikawa). *J Steroid Biochem Mol Biol* 2000;74(4): 235-41.
49. Schiller M, Javelaud D, Mauviel A. TGF- β -induced SMAD signaling and gene regulation: consequences for extracellular matrix remodeling and wound healing. *J Dermatol Sci* 2004;35(2): 83-92.
50. Bulut G, Kurdoglu Z, Dönmez YB, Kurdoglu M, Erten R. Effects of jnk inhibitor on inflammation and fibrosis in the ovary tissue of a rat model of polycystic ovary syndrome. *Int J Clin Exp Pathol* 2015;8(8): 8774.
51. Vasconcelos JF, Teixeira MM, Barbosa-Filho JM, Lúcio ASSC, Almeida JRGdS, de Queiroz L, et al. The triterpenoid lupeol attenuates allergic airway inflammation in a murine model. *Int Immunopharmacol* 2008;8(9): 1216-21.

THE AMELIORATIVE EFFECTS OF LUPEOL AND FLUTAMIDE ON DEHYDROEPIANDROSTERONE-INDUCED UTERINE HYPERFIBROSIS IN MICE

Ali Rezaei-Golmisheh¹, Rajab-Ali Sadrkhanlou¹, Hassan Malekinejad², Abbas Ahmadi³

Received: 19 Sep, 2016; Accepted: 21 Nov, 2016

Abstract

Background & Aims: Polycystic ovary syndrome (PCOS) is the most common endocrine disorder in women of reproductive ages that may contribute to uterine complications such as endometrial hyperplasia and hyperfibrosis. Hyperandrogenemia is the key factor in the pathophysiology of PCOS. Based on recent finding concerning anti-androgen effects of Lupeol, we aimed to study the effects of this triterpenoid on uterine damages of hyperandrogenemia and compare them with Flutamide.

Materials & Methods: Forty prepubertal female albino mice aged 25 days were randomly assigned to experimental groups. Control group ($n=10$) received 0.1 ml/day sesame oil (IP) for 35 consecutive days. The rest of animals received 60 mg/kg B.W./day DHEA dissolved in 0.1 ml sesame oil for twenty days and afterward for fifteen days each group ($n=10$) was treated either sesame oil [group PCOS(P)], Lupeol 40 mg/kg B.W. (group L) or Flutamide 10 mg/kg B.W. (group F). Weight gains were recorded weekly. At the end of treatment animals were humanely euthanized under deep ether anesthesia and uterine samples were collected. Histological sections were prepared and stained with H&E, AZAN and Toluidine blue methods for histomorphometric, fibrosis and mast cells count analyses. Fibrosis quantification was performed based on image analysis using Matlab software (V. 8.1.0).

Results: At the end of treatment period, group P demonstrated remarkable increase of body weight whereas Lupeol and Flutamide treatment decreased weight gain significantly ($P<0.05$). Endometrium thickness (μm), average percentage of collagen fibers in uterine tissue (%) and average number of mast cells in histological sections (n) in group P (331.6 ± 63.8 , 14.6 ± 1.65 , 3.02 ± 0.89 , respectively) increased significantly compared to group C (235.3 ± 28.1 , 8.10 ± 1.41 , 1.47 ± 0.55) and decreased in L (199.8 ± 51.3 , 4.07 ± 0.90 , 1.02 ± 0.69) and F (194.6 ± 41.4 , 5.21 ± 0.39 , 1.31 ± 0.60) groups significantly compared to group P ($P<0.05$).

Conclusion: We conclude that Lupeol is able to reduce uterine hyperfibrosis and endometrial hyperplasia induced by DHEA in mice and these are similar to effects of Flutamide. These effects of Lupeol could be in part because of its anti-androgen receptor effects.

Keywords: Lupeol, Flutamide, Uterine Hyperfibrosis, Dehydroepiandrosterone

Address: Faculty of Veterinary Medicine, University of Urmia, Nazloo Campus, 11th km Sero Road, Urmia, Iran.

Tel: +989141253936

Email: a_rezaei82@yahoo.com

SOURCE: URMIA MED J 2016; 26(10): 934 ISSN: 1027-3727

¹Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran (Corresponding Author)

²Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran

³Department of Pharmacology & Toxicology, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran

⁴Department of Anatomy & Embryology, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran