

اثر کاتچین بر میزان سرمی سایتوکین‌های التهابی، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و آسیب اکسیداتیو DNA بافت تخمدان در موش‌های صحرایی مدل سندرم تخمدان پلی‌کیستیک

نویسندگان:

راهله رهباریان^۱، سید دامون صدوقی^{۲*}

۱- گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران
 ۲- باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران

Pars Journal of Medical Sciences, Vol.15, No.1, Spring 2017

چکیده:

مقدمه: اختلالات هورمونی، استرس اکسیداتیو و التهاب بافت تخمدان موجب توقف تخمک‌گذاری در زنان مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک (PCOS) می‌شود. کاتچین از مهم‌ترین فلاونوئیدهای چای سبز (*Camellia sinensis*) دارای خواص آنتی‌اکسیدانی است. هدف از این مطالعه، تعیین اثر کاتچین بر میزان سرمی سایتوکین‌های التهابی، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و آسیب اکسیداتیو DNA بافت تخمدان در موش‌های صحرایی مدل سندرم تخمدان پلی‌کیستیک است.

روش کار: در این مطالعه تجربی، تعداد ۲۴ سر موش صحرایی ماده از نژاد ویستار به چهار گروه مساوی (n=۶) شامل گروه‌های شاهد (محلول سالین، ۲۴ روز، تزریق داخل صفاقی)، PCOS تیمار نشده (محلول سالین، ۲۴ روز، تزریق داخل صفاقی) و PCOS تحت تیمار با کاتچین (۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، ۲۴ روز، تزریق داخل صفاقی) تقسیم شدند. سندرم تخمدان پلی‌کیستیک با یک‌بار تزریق عضلانی استرادیول والرات به میزان ۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم القاء شد. در پایان دوره درمان، میزان سرمی TNF- α ، IL-1 β و IL-6، همچنین مقدار آنزیم‌های CAT، SOD، GPX و میزان MDA و HOdG-8 در بافت تخمدان با روش الیزا اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: در مقایسه با گروه PCOS تیمار نشده، در گروه‌های تیمار شده با غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کاتچین، میزان سرمی TNF- α ، IL-1 β و IL-6 و همچنین میزان MDA و HOdG-8 وابسته به دوز تزریقی به‌طور معناداری کاهش ($p < 0.05$) و میزان آنزیم‌های CAT، SOD، GPX و بافت تخمدان وابسته به دوز تزریقی به‌طور معناداری افزایش یافت ($p < 0.05$).

نتیجه‌گیری: کاتچین موجب کاهش میزان سرمی سایتوکین‌ها، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و آسیب اکسیداتیو DNA بافت تخمدان در موش‌های صحرایی مدل سندرم تخمدان پلی‌کیستیک می‌شود.

واژگان کلیدی: سندرم تخمدان پلی‌کیستیک، کاتچین، سایتوکین، استرس اکسیداتیو، موش صحرایی

Pars J Med Sci 2017;15(1):23-35

مقدمه:

سندرم تخمدان پلی‌کیستیک در نتیجه اختلال سیستم اندوکرین ایجاد می‌شود. در این بیماری، میزان ترشح هورمون لوتئینه‌کننده (LH) در مقایسه با هورمون محرک فولیکولی (FSH) افزایش می‌یابد. افزایش هورمون لوتئینه‌کننده، سلول‌های فولیکولی تخمدان را تحریک کرده و موجب افزایش سنتز و ترشح آندروژن‌ها می‌شود. همچنین میزان پیش‌سازهای استروژن یعنی

تستوسترون و آندروستندیون افزایش می‌یابد. مقاومت به انسولین، اختلال در متابولیسم قندها، اختلالات لیپیدی و افزایش فشارخون و نیز چاقی در این بیماران شایع است [۱]. افزایش آندروژن‌ها بر شکل‌گیری و آزادسازی تخمک در دوره تخمک‌گذاری مؤثر بوده و موجب تکوین تعداد زیادی فولیکول می‌شود. با توجه توقف رشد فولیکول‌ها در مرحله انتخاب فولیکول غالب در مبتلایان به

نویسنده مسئول، نشانی: باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران
 تلفن تماس: ۰۹۱۵۳۰۲۶۳۱۳ پست الکترونیک: damoon.sadoughi@mshdiau.ac.ir

پذیرش: ۹۶/۳/۱۶

اصلاح: ۹۶/۱/۲۹

دریافت: ۱۳۹۵/۹/۲۳

را نشان می‌دهد، اندازه‌گیری آن در ارزیابی آسیب DNA حائز اهمیت است [۱۰].

امروزه اقدامات دارویی به‌منظور درمان توقف تخمک‌گذاری در مبتلایان به تخمدان پلی‌کیستیک، استفاده از داروهای متنوعی نظیر متفورمین، کلومیفن و لتروزول است که بدبختانه هرکدام سازوکار اثر متفاوت و عوارض جانبی زیادی را به دنبال دارند [۱۱، ۱۲]. از آنجایی که استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپیدی ایجادشده در بیماران مبتلا به تخمدان پلی‌کیستیک می‌تواند دلیل بسیاری از مشکلات این بیماران باشد [۸]، یافتن ترکیباتی که بتواند باعث کاهش این عوارض شود ارزشمند خواهد بود.

چای سبز جزء شاخه (Angiosperm)، رده (Dialypetalae)، راسته (Parital)، خانواده (Teaceae) و جنس (Camellia) است که با نام علمی *Camellia sinensis* شناخته می‌شود [۱۳]. سه گروه عمده پلی‌فنل شامل کاتچین‌ها، تئوفلاوین‌ها و تئوروبیژن‌ها در چای سبز وجود دارند. کاتچین‌ها نوعی آنتی‌اکسیدان و از مهم‌ترین فلاونوئیدها به شمار می‌روند و ۲۵ تا ۳۵ درصد از وزن خشک چای سبز را شامل می‌شوند [۱۳]. کاتچین‌های چای سبز شامل اپی‌کاتچین، اپی‌کاتچین گالات، اپی‌گالوکاتچین و اپی‌گالوکاتچین ۳-گالات هستند. فراوان‌ترین و فعال‌ترین کاتچین از نظر فعالیت آنتی‌اکسیدانی اپی‌گالوکاتچین گالات است [۱۴]. مطالعات مختلف نشان داده است که چای سبز به خاطر دارا بودن خواص آنتی‌اکسیدانی موجب تسریع روند التیام زخم‌های سوختگی و جراحی در موش‌های صحرایی می‌شود [۱۵]. بر اساس نتایج پژوهش‌های انجام‌شده، تجویز عصاره چای سبز می‌تواند قابلیت تحرک، مورفولوژی طبیعی اسپرم و همچنین قطر لوله‌های اسپرم‌ساز، قطر لومن و ضخامت اپی‌تلیوم زایا را در موش‌های صحرایی مصرف‌کننده سدیم آرسنیت تا حدود زیادی بهبود بخشد. مشخص شده است عصاره چای سبز به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی با مهار استرس اکسیداتیو ناشی از سدیم آرسنیت، پراکسیداسیون لیپیدی را در اسپرم کاهش داده و بدین ترتیب از مرگ اسپرم‌ها جلوگیری می‌کند [۱۶]. مصرف چای سبز احتمالاً در نکرور کبدی ناشی از استامینوفن نقش محافظتی داشته و میزان سرمی آلانین ترانسفراز و آسپاراتات ترانسفراز را در موش‌های صحرایی مدل مسمومیت حاد کبدی ناشی از استامینوفن، کاهش می‌دهد [۱۷]. پژوهش‌ها نشان داده است کاتچین دارای خواص مهارکننده رادیکال‌های آزاد بوده و به‌عنوان آنتی‌اکسیدان بیولوژیک عمل می‌کند [۱۸]. همچنین مشخص شده است این ماده می‌تواند رادیکال‌های سوپراکسید و هیدروکسیل را مهار کرده [۱۸] و علاوه بر اثرات آنتی‌اکسیدانی مستقیم، می‌تواند به‌طور غیرمستقیم آنتی‌اکسیدان‌های درون‌سلولی بدن را افزایش

تخمدان پلی‌کیستیک، در زیر کپسول ضخیم تخمدان فولیکول‌های کیستیک ایجاد می‌شوند [۲].

بر طبق مطالعات انجام‌شده، افزایش میزان سایتوکین‌ها همچون عامل تومور نکروزیس آلفا، اینترلوکین-۱ بتا نشان‌دهنده وجود التهاب سیستمیک و موضعی در بدن است. همچنین شواهدی مبنی بر وجود رابطه مستقیم و نزدیک بین التهاب سیستمیک و موضعی با تخمدان پلی‌کیستیک وجود دارد [۳]. عامل تومور نکروزیس آلفا در تنظیم فعالیت طبیعی تخمدان در مرحله رشد فولیکولی نقش بسزایی دارد، ولی افزایش آن با القاء آپوپتوز در سلول‌های گرانولوزای فولیکول‌های تخمدان سبب ایجاد فولیکول‌های کیستیک می‌شود [۴]. اینترلوکین‌ها، گروهی از سایتوکین‌ها هستند که در تنظیم پاسخ‌های ایمنی و واکنش‌های التهابی نقش دارند [۵]. مشخص شده است مقدار اینترلوکین‌ها به‌ویژه اینترلوکین ۱ آلفا و اینترلوکین-۱ بتا در مبتلایان به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک افزایش می‌یابد. افزایش میزان سرمی سایتوکین‌ها موجب تحریک هیپوتالاموس و افزایش ترشح آزادکننده‌های هیپوتالاموس شده که نتیجه آن افزایش فعالیت محور هیپوفیز-تخمدان است [۶].

پژوهش‌ها نشان داده است استرس اکسیداتیو نوعی عدم تعادل میان تولید و مهار رادیکال‌های آزاد توسط سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی بدن است. استرس اکسیداتیو در افزایش تولید آندروژن‌ها، اختلال در مراحل تکوین فولیکول‌های تخمدانی و آسیب بافت تخمدان در مبتلایان به تخمدان پلی‌کیستیک مؤثر است. همچنین گزارش شده است اختلال در سنتز استروئیدهای تخمدانی یکی از دلایل استرس اکسیداتیو ایجادشده در این بیماران است [۷]. مطالعات نشان می‌دهد میزان سرمی شاخص‌های استرس اکسیداتیو از جمله گونه‌های واکنشگر اکسیژن (ROS) در مبتلایان به تخمدان پلی‌کیستیک افزایش و ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی (TAC) خون کاهش می‌یابد [۸].

از سوی دیگر افزایش غیرطبیعی پراکسیداسیون لیپیدی موجب آسیب غشا و اندامک‌های سلولی می‌شود. مالون دی‌آلدئید (MDA) محصول نهایی پراکسیداسیون اسیدهای چرب است و سنجش مقدار آن به‌عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی در تعیین میزان رادیکال‌های آزاد از اهمیت بالینی ویژه‌ای برخوردار است [۹]. پژوهش‌ها نشان داده است از میان بازهای پورینی و پیریمیدینی، گوانین برای اکسیداسیون استعداد بیشتری دارد. به‌طوری‌که در نتیجه حمله رادیکال‌های هیدروکسیل به موقعیت هشتم مولکول گوانین، ترکیبی با عنوان ۸-هیدروکسی داکسی گوانوزین (8-OHdG) تولید می‌شود. با توجه به این‌که ترکیب تعادل دینامیکی بین آسیب اکسیداتیو DNA و سرعت ترمیم آن

برای انجام این تحقیق، موش‌هایی انتخاب شدند که دارای ۲ الی ۳ دوره استروس منظم در طی ۱۲ الی ۱۴ روز مشاهده اسمیر واژینال بودند. به منظور بررسی منظم بودن سیکل استروس از اسمیر واژینال استفاده شد. برای این کار ابتدا ۰/۳ میلی لیتر سرم فیزیولوژی توسط سمپلر مدل Transferpette®S (Germany) به آرامی در واژن حیوان تزریق شد. سپس یک تا دو قطره از مایع فوق برداشته و اسمیر تهیه شد. نمونه‌ها توسط میکروسکوپ نوری مدل CX21FS1 (Olympus, Japan) با بزرگ‌نمایی ۴۰۰ برابر بررسی شدند. موش‌هایی که در مرحله استروس سیکل تولیدمثلی قرار داشتند برای مراحل بعدی مطالعه انتخاب شدند. اسمیر واژن در مرحله استروس دارای سلول‌های شاخی بیشتر در مقایسه با سلول‌های اپی‌تلیال بوده و فاقد لوکوسیت است [۲۱].

تخمندان پلی‌کیستیک توسط یک‌بار تزریق داخل عضلانی استرادیول والرات (داروسازی ابوریحان، ایران) به میزان ۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم القاء شد. مدت‌زمان لازم برای ایجاد مدل تخمدان پلی‌کیستیک حدود ۶۰ روز پس از تزریق استرادیول والرات است [۲۲]. وجود سلول‌های شاخی به میزان زیاد در اسمیر واژینال از علائم وجود کیست‌های فولیکولی تخمدان است. همچنین از هر گروه یک موش به صورت تصادفی انتخاب و پس از قربانی شدن با دوز کشنده دی‌اتیل اتر (Merck, Germany)، تخمدان‌ها خارج شدند. به دنبال مراحل پردازش بافتی و رنگ‌آمیزی تخمدان، کیست‌های تخمدانی توسط میکروسکوپ نوری با بزرگ‌نمایی ۴۰ برابر مشاهده و القاء تخمدان پلی‌کیستیک مورد تأیید قرار گرفت.

در پایان دوره درمان دارویی، موش‌های صحرایی توسط دی‌اتیل اتر بی‌هوش شدند. سپس پوست ناحیه قفسه سینه، جناغ و دنده‌ها برش داده شد و با کنار کشیدن جناغ و دنده‌ها از بطن چپ قلب توسط سرنگ ۲ میلی‌لیتر خون‌گیری انجام شد. خون گرفته شده بدون ماده ضد انعقاد درون لوله‌آزمایش ریخته و به مدت ۱۲ دقیقه در انکوباتور مدل INB400 (Membert, Germany) در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. بعد از انعقاد، لوله‌ها در دستگاه سانتریفیوژ مدل EBA280 (Hettich, Germany) به مدت ۱۲ دقیقه با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه قرار داده شدند. سپس سرم خون روی بخش لخته شده توسط سمپلر جدا و به لوله آزمایش دیگری منتقل و در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد [۲۳]. با دستگاه الیزابدر مدل 2100 (Stat Fax, USA) و کیت‌های شرکت فاین تست (Finetest, China) میزان سرمی عامل‌های تومور نکروزیس آلفا با حساسیت $46/875$ پیکوگرم بر میلی‌لیتر و محدوده ۵۰۰۰-۷۸/۱۲۵ پیکوگرم بر میلی‌لیتر، اینترلوکین-۱ بتا با حساسیت $18/75$ پیکوگرم بر میلی‌لیتر و

مقدار آنتی‌اکسیدان‌های درونی از جمله گلوکاتینون پراکسیداز، ردوکتاز، سوپراکسید دسموتاز و کاتالاز در موش‌های دریافت‌کننده کاتچین افزایش داشته است [۱۹]. پژوهش‌ها نشان داده است کاتچین موجود در چای سبز از طریق مهار رادیکال‌های آزاد و کاهش آسیب اکسیداتیو DNA از القاء آپوپتوز در سلول‌های آسیب‌دیده جلوگیری می‌کند [۲۰]. با توجه به اثرات درمانی و کاربردهای متنوع چای سبز و ترکیبات مؤثر آن در طب سنتی و همچنین خواص آنتی‌اکسیدانی کاتچین، مطالعه حاضر با هدف تعیین اثر کاتچین بر میزان سرمی سایتوکین‌های التهابی، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و آسیب اکسیداتیو DNA بافت تخمدان در موش‌های صحرایی مدل سندرم تخمدان پلی‌کیستیک انجام شد.

روش کار:

در این مطالعه تجربی از موش‌های صحرایی ماده بالغ نژاد ویستار استفاده شد. تعداد ۲۴ سر موش صحرایی با محدوده وزنی 190 ± 8 گرم و سن تقریبی 85 ± 5 روز از مرکز تکثیر و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه پیام نور مرکز مشهد تهیه شد. حیوانات در دمای محیطی 24 ± 3 درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی 35 ± 4 درصد و دوره روشنایی تاریکی ۱۲ ساعته نگهداری شدند. حیوانات در قفس‌های استاندارد پلی‌کربنات شفاف (رازی راد، ایران) نگهداری و آب به مقدار کافی با بطری پلاستیکی ۵۰۰ میلی‌لیتر در اختیارشان قرار داده شد. همچنین در مدت مطالعه از غذای فشرده مخصوص با فرمول استاندارد (دانه‌داران توس، ایران) تغذیه می‌شدند. به منظور حصول سازش با محیط، آزمایش‌ها پس از گذشت حداقل ۱۰ روز بعد از استقرار حیوانات انجام شد. موش‌های صحرایی به صورت تصادفی به چهار گروه (در هر گروه ۶ سر موش صحرایی) شامل گروه‌های شاهد (تیمار با ۰/۵ میلی‌لیتر محلول سالین به عنوان حلال کاتچین)، مبتلا به تخمدان پلی‌کیستیک تیمار نشده (دریافت‌کننده ۰/۵ میلی‌لیتر محلول سالین به عنوان حلال دارو) و دو گروه مبتلا به تخمدان پلی‌کیستیک تحت تیمار با کاتچین (Sigma-Aldrich, Germany) با غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (۲۴ روز تزریق داخل صفاقی) تقسیم شدند. در این مطالعه کلیه موارد اخلاقی در پژوهش رعایت و تمامی اعمال جراحی و نمونه‌گیری‌ها تحت بی‌هوشی کامل انجام شد. همچنین سعی شد از کمترین تعداد نمونه قابل قبول استفاده شود. لازم به ذکر است ملاحظات اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی توسط کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی زیر نظر باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان واحد مشهد در سال ۱۳۹۵ مورد تصویب قرار گرفت.

بافت تخمدان در گروه مبتلا به تخمدان پلی‌کیستیک تیمار نشده در مقایسه با گروه شاهد به‌طور معناداری کاهش و میزان مالون دی‌آلدئید و ۸-هیدروکسی داکسی گوانوزین به‌طور معناداری افزایش یافته است ($p < 0/05$). در مقایسه با گروه مبتلا به تخمدان پلی‌کیستیک تیمار نشده، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوکاتیون پراکسیداز بافت تخمدان در گروه‌های مبتلا به تخمدان پلی‌کیستیک تیمار شده با غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کاتچین وابسته به میزان دوز تزریقی به‌طور معناداری افزایش و میزان مالون دی‌آلدئید و ۸-هیدروکسی داکسی گوانوزین به‌طور معناداری کاهش داشت ($p < 0/05$). همچنین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوکاتیون پراکسیداز بافت تخمدان در گروه مبتلا به تخمدان پلی‌کیستیک تیمار شده با ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کاتچین در مقایسه با گروه مبتلا به تخمدان پلی‌کیستیک تیمار شده با ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کاتچین به‌طور معناداری افزایش و میزان مالون دی‌آلدئید و ۸-هیدروکسی داکسی گوانوزین به‌طور معناداری کاهش داشت ($p < 0/05$) (نمودار ۵-۱).

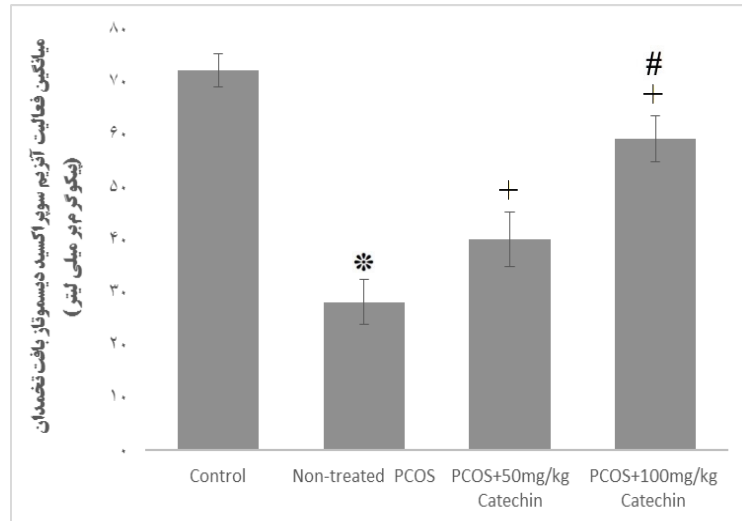
بر اساس نتایج به‌دست‌آمده مقدار سرمی سایتوکین‌های عامل تومور نکروزیس آلفا، اینترلوکین-۱ بتا و اینترلوکین-۶ در گروه مبتلا به تخمدان پلی‌کیستیک تیمار نشده در مقایسه با گروه شاهد به‌طور معناداری افزایش داشته است ($p < 0/05$). در مقایسه با گروه مبتلا به تخمدان پلی‌کیستیک تیمار نشده، مقدار سرمی سایتوکین‌های عامل تومور نکروزیس آلفا، اینترلوکین-۱ بتا و اینترلوکین-۶ در گروه‌های مبتلا به تخمدان پلی‌کیستیک تیمار شده با غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کاتچین به‌طور معناداری با کاهش همراه بوده است ($p < 0/05$). مقدار سرمی سایتوکین‌های عامل تومور نکروزیس آلفا، اینترلوکین-۱ بتا و اینترلوکین-۶ در گروه مبتلا به تخمدان پلی‌کیستیک تیمار شده با ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کاتچین در مقایسه با گروه مبتلا به تخمدان پلی‌کیستیک تیمار شده با ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کاتچین به‌طور معناداری کمتر شده است ($p < 0/05$) (نمودار ۶-۸).

محدوده ۲۰۰۰-۳۱/۲۵ پیکوگرم بر میلی‌لیتر، اینترلوکین-۶ با حساسیت $< 37/5$ پیکوگرم بر میلی‌لیتر و محدوده ۴۰۰۰-۶۲/۵ پیکوگرم بر میلی‌لیتر سنجش شدند.

در ادامه بافت تخمدان از بدن موش‌های صحرایی خارج و پس از شستشو با محلول سالین به همراه بافر تریس (Sigma-Aldrich, Germany) به مدت ۵ دقیقه در دستگاه هموژنایزر مدل T25 digital ULTRA-TURRAX (IKA, Germany) با ۵۰۰ دور در دقیقه هموژنیزه و محلول حاصل توسط دستگاه سانتریفوژ یخچال‌دار مدل Z366 (Hermle, Germany) سانتریفوژ شد. به‌منظور جلوگیری از تخریب آنزیم‌ها و پروتئین‌ها، تمامی عملیات در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد (سانتریفوژ یخچال‌دار) انجام و از محلول ۰/۵ میلی‌مولار فینیل متیل سولفونیل فلوراید (Sigma-Aldrich, Germany) به‌عنوان مهارکننده پروتئازها استفاده شد [۲۴]. پس از سانتریفوژ کردن، محلول رویی شفاف از بخش زیرین رسوب‌کرده تفکیک و برای سنجش استفاده شد. به روش الیزا و با استفاده از کیت‌های شرکت فاین تست، مقدار آنزیم‌های سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) با حساسیت $< 9/375$ پیکوگرم بر میلی‌لیتر و محدوده ۱۰۰۰-۱۵/۶ پیکوگرم بر میلی‌لیتر، کاتالاز (CAT) با حساسیت $< 18/75$ میلی واحد بین‌الملل بر میلی‌لیتر و محدوده ۲۰۰۰-۳۱/۲ میلی واحد بین‌الملل بر میلی‌لیتر، گلوکاتیون پراکسیداز (GPX) با حساسیت $< 18/75$ پیکوگرم بر میلی‌لیتر و محدوده ۲۰۰۰-۳۱/۲۵ پیکوگرم بر میلی‌لیتر، ۸-هیدروکسی داکسی گوانوزین با حساسیت $< 0/938$ نانوگرم بر میلی‌لیتر و محدوده ۱۰۰-۱/۵۶۳ نانوگرم بر میلی‌لیتر و مالون دی‌آلدئید با حساسیت $< 18/75$ نانوگرم بر میلی‌لیتر و محدوده ۲۰۰۰-۳۱/۲۵ نانوگرم بر میلی‌لیتر بافت تخمدان سنجش شد. داده‌های به‌دست‌آمده با کمک نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۰ تحلیل شدند. با توجه به تعداد کم نمونه‌ها در هر یک از گروه‌های مورد بررسی ($n=6$)، از تحلیل واریانس ناپارامتری کروسکال وایس و برای مقایسه زوجی گروه‌ها از آزمون تعقیبی دان استفاده شد. نتایج به‌صورت میانگین \pm انحراف استاندارد بیان شده‌اند و سطح معناداری آزمون‌ها ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها:

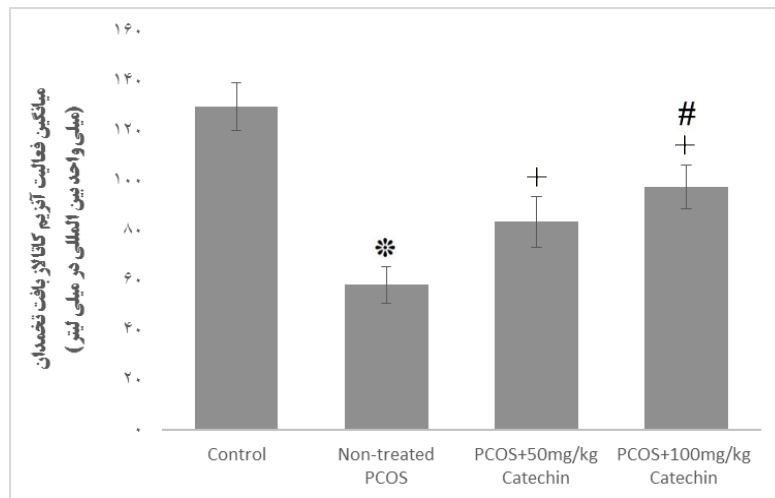
نتایج حاصل از تحلیل داده‌های مطالعه نشان داد فعالیت آنزیم‌های سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوکاتیون پراکسیداز



نمودار ۱: میانگین مقدار آنزیم آنتی‌اکسیدانی سوپر اکسید دیسموتاز بافت تخمدان به تفکیک گروه‌های مورد مطالعه در مقایسه با گروه شاهد $p=0/002^*$

$p=0/007^+$ در مقایسه با گروه مبتلا به تخمدان پلی‌کیستیک تیمار نشده

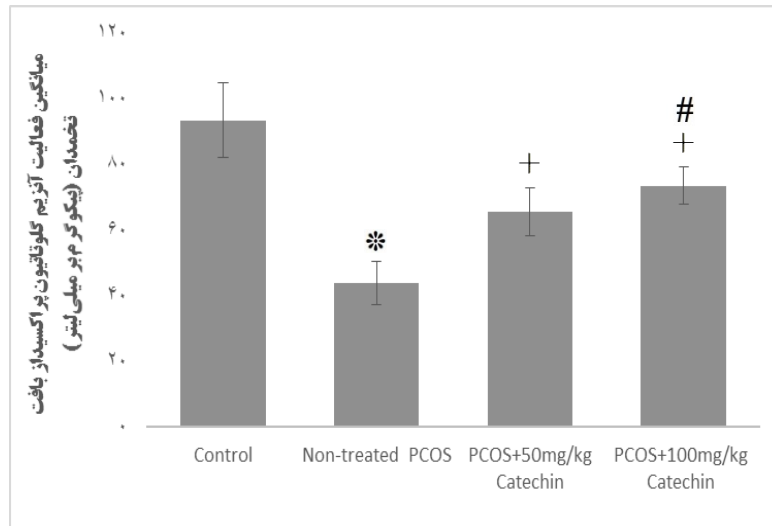
$p=0/012^{\#}$ در مقایسه با گروه مبتلا به تخمدان پلی‌کیستیک تحت تیمار با غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کاتچین



نمودار ۲: میانگین سطح آنزیم کاتالاز بافت تخمدان به تفکیک گروه‌های مورد مطالعه در مقایسه با گروه شاهد (Control) $p<0/05^*$

$p<0/05^+$ در مقایسه با گروه مبتلا به تخمدان پلی‌کیستیک تیمار نشده (Non-treated PCOS)

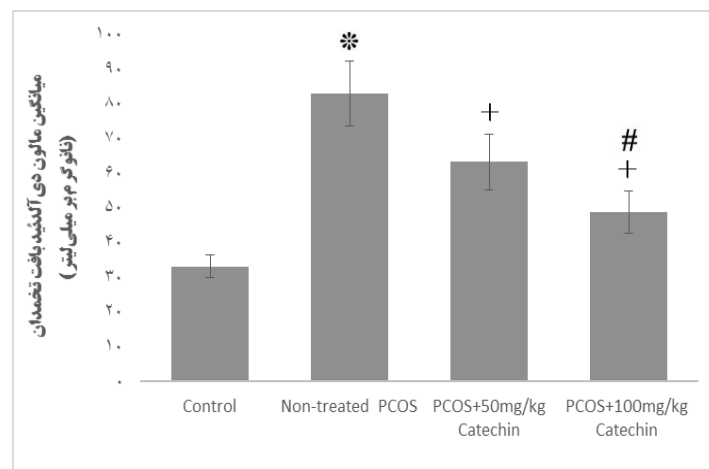
$p<0/05^{\#}$ در مقایسه با گروه مبتلا به تخمدان پلی‌کیستیک تحت تیمار با غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کاتچین (PCOS+50mg/kg Catechin)



نمودار ۳: میانگین مقدار آنزیم آنتی‌اکسیدانی گلوتاتیون پراکسیداز بافت تخمدان به تفکیک گروه‌های مورد مطالعه در مقایسه با گروه شاهد $p=0/003$ *

+ در مقایسه با گروه مبتلا به تخمدان پلی‌کیستیک تیمار نشده $p=0/011$

در مقایسه با گروه مبتلا به تخمدان پلی‌کیستیک تحت تیمار با غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کاتچین $p=0/028$

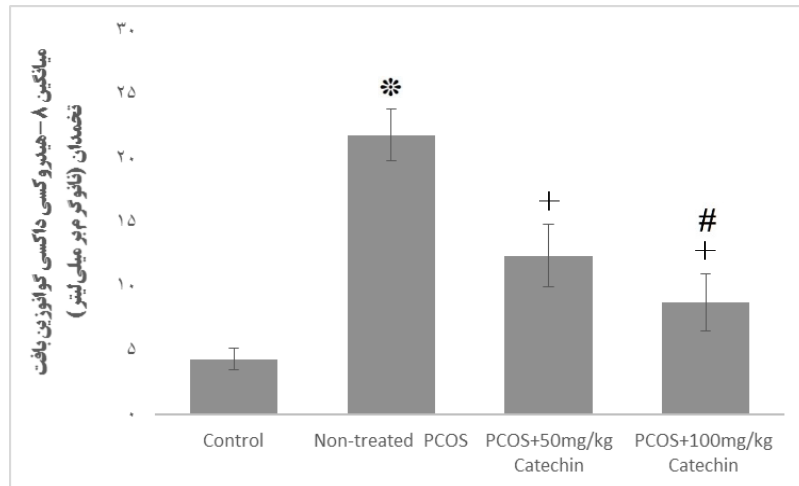


نمودار ۴: میانگین مقدار مالون دی‌آلدئید بافت تخمدان به تفکیک گروه‌های مورد مطالعه

در مقایسه با گروه شاهد $p=0/001$

+ در مقایسه با گروه مبتلا به تخمدان پلی‌کیستیک تیمار نشده $p=0/019$

در مقایسه با گروه مبتلا به تخمدان پلی‌کیستیک تحت تیمار با غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کاتچین $p=0/008$

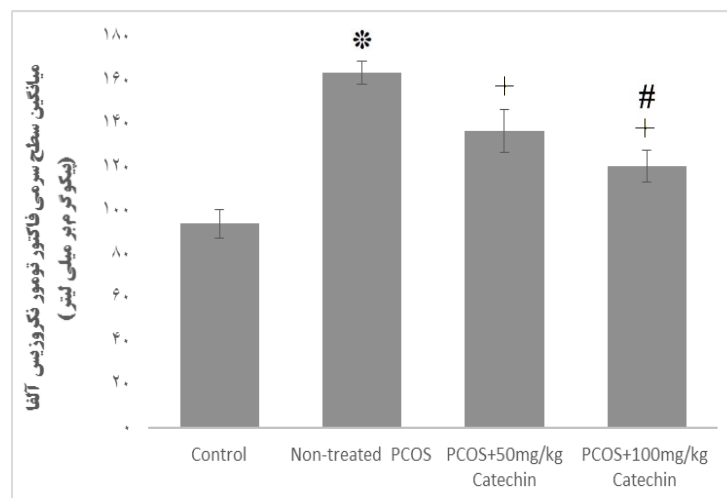


نمودار ۵: میانگین مقدار ۸-هیدروکسی داکسی گوانوزین بافت تخمدان به تفکیک گروه‌های مورد مطالعه

* $p=0/001$ در مقایسه با گروه شاهد

+ $p=0/007$ در مقایسه با گروه مبتلا به تخمدان پلی‌کیستیک تیمار نشده

$p=0/011$ در مقایسه با گروه مبتلا به تخمدان پلی‌کیستیک تحت تیمار با غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کاتچین

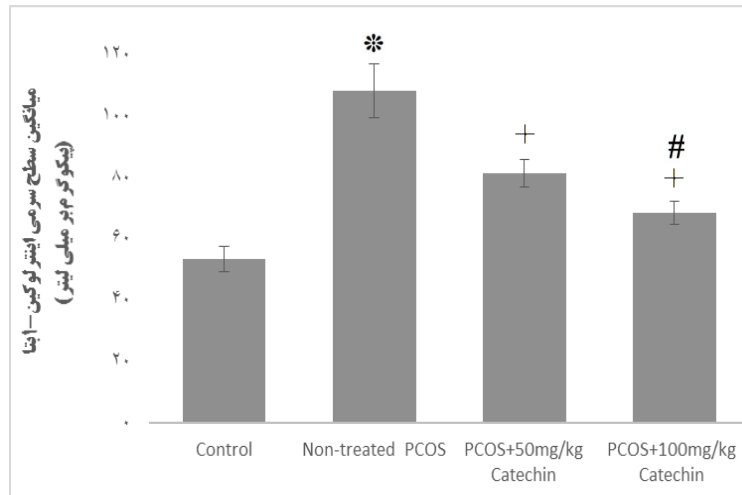


نمودار ۶: میانگین سطح سرمی عامل تومور نکروزس آلفا به تفکیک گروه‌های مورد مطالعه

* $p=0/005$ در مقایسه با گروه شاهد

+ $p=0/022$ در مقایسه با گروه مبتلا به تخمدان پلی‌کیستیک تیمار نشده

$p=0/018$ در مقایسه با گروه مبتلا به تخمدان پلی‌کیستیک تحت تیمار با غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کاتچین

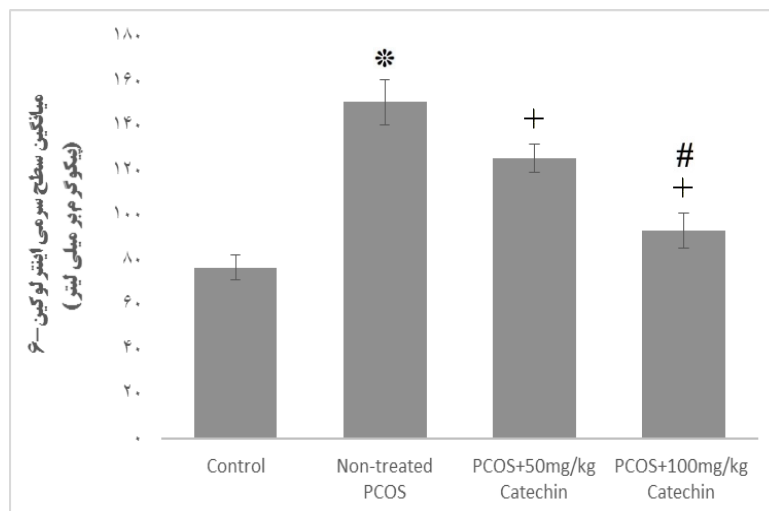


نمودار ۷: میانگین سطح سرمی اینترلوکین-۱ بتا به تفکیک گروه‌های مورد مطالعه

* $p=0/002$ در مقایسه با گروه شاهد

+ $p=0/011$ در مقایسه با گروه مبتلا به تخمدان پلی‌کیستیک بیمار نشده

$p=0/021$ در مقایسه با گروه مبتلا به تخمدان پلی‌کیستیک تحت تیمار با غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کاتچین



نمودار ۸: میانگین سطح سرمی اینترلوکین-۶ به تفکیک گروه‌های مورد مطالعه

* $p=0/003$ در مقایسه با گروه شاهد

+ $p=0/009$ در مقایسه با گروه مبتلا به تخمدان پلی‌کیستیک بیمار نشده

$p=0/013$ در مقایسه با گروه مبتلا به تخمدان پلی‌کیستیک تحت تیمار با غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کاتچین

بحث:

و میزان پراکسیداسیون لیپیدی بافت تخمدان در موش‌های صحرایی مدل سندرم تخمدان پلی‌کیستیک بررسی شد. بررسی بافتی انجام‌شده به‌منظور تأیید مدل تخمدان پلی‌کیستیک در موش‌های صحرایی نشان داد استفاده از این دوز در مدت‌زمان

در این مطالعه اثر کاتچین بر مقدار سرمی سایتوکین‌های عامل تومور نکروزیس آلفا، اینترلوکین-۱ بتا و اینترلوکین-۶ میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلووتاتیون پراکسیداز بافت تخمدان؛ میزان آسیب اکسیداتیو DNA

تقریبی ۶۰ روز می‌تواند کیست‌های تخمدانی با ابعاد متفاوت ایجاد کند. همسو با نتایج به‌دست‌آمده مشخص شد استفاده از استرادیول والرات می‌تواند مدل تخمدان پلی کیستیک را در موش‌های صحرایی ایجاد کند که به دنبال آن فولیکول‌های کیستیک بزرگ در تخمدان ایجاد می‌شود [۲۵]. مطالعه‌ای دیگر نشان داده است که هشت هفته پس از تزریق ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم استرادیول والرات، تعداد کیست‌های تخمدانی و سلول‌های آپوتوتیک گرانولوزا به‌طور قابل‌توجهی افزایش می‌یابد [۲۲].

بر اساس نتایج پژوهش حاضر، مقدار سرمی سایتوکین‌های عامل تومور نکروزیس آلفا، اینترلوکین-۱ بتا و اینترلوکین-۶ در موش‌های صحرایی مبتلا به تخمدان پلی کیستیک تیمار نشده در مقایسه با گروه شاهد به‌طور معناداری افزایش داشته است. همسو با نتایج به‌دست‌آمده در مطالعه‌ای که به بررسی سایتوکین‌های عامل تومور نکروزیس آلفا، اینترلوکین یک آلفا و اینترلوکین یک بتا در سرم خون بیماران مبتلا به تخمدان پلی کیستیک پرداخته، مشخص شد که مقدار سرمی اینترلوکین یک آلفا و بتا در این‌گونه بیماران افزایش می‌یابد، ولی عامل تومور نکروزیس آلفا تغییر معناداری ندارد. به دلیل این‌که سایتوکین‌های التهابی به‌ویژه اینترلوکین‌ها به‌شدت در این‌گونه بیماران افزایش می‌یابد، در نتیجه پلی کیستیک شدن تخمدان‌ها می‌تواند یک بیماری التهابی مزمن خفیف باشد [۲۶]. همچنین به خاطر این‌که مطالعه‌های مختلف نشان داده‌اند که شیوع بیماری‌های قلبی-عروقی، دیابت، مقاومت به انسولین و سندرم متابولیک در این دسته از بیماران بالا است، پس تخمدان پلی کیستیک می‌تواند یک مرحله پیش التهابی باشد. مشخص شده است عامل تومور نکروزیس آلفا که در التهاب سیستمیک دخالت دارد و موجب تحریک واکنش مرحله حاد التهاب می‌شود، در سرم خون مبتلایان به تخمدان پلی کیستیک افزایش می‌یابد [۲۷]. در مطالعه دیگری مشخص شد که میزان سرمی سایتوکین‌های التهابی و پروتئین واکنشگر C و سرعت رسوب گلبول‌های قرمز به‌عنوان شاخص‌های تشخیصی التهاب، در خانم‌های مبتلا به تخمدان پلی کیستیک افزایش می‌یابد [۲۸].

در این مطالعه مشخص شد فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بافت تخمدان کاهش، میزان پراکسیداسیون لیپیدی و آسیب اکسیداتیو DNA افزایش می‌یابد. در راستای مطالعه حاضر، در پژوهشی که به بررسی شرایط استرس اکسیداتیو در بافت تخمدان موش‌های صحرایی مدل سندرم تخمدان پلی کیستیک پرداخته است گزارش شد که القاء تخمدان پلی کیستیک موجب افزایش استرس اکسیداتیو در بافت تخمدان موش‌های صحرایی می‌شود. همچنین القاء تخمدان پلی کیستیک توسط تزریق استرادیول والرات می‌تواند با افزایش گونه‌های واکنشگر اکسیژن و کاهش فعالیت

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بافت تخمدان در نهایت موجب ایجاد کیست‌های تخمدانی شود [۲۲]. همچنین مشخص شد در مبتلایان به تخمدان پلی کیستیک مقدار سرمی شاخص‌های استرس اکسیداتیو همچون ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل، میزان گونه‌های واکنشگر اکسیژن و رادیکال هیدروکسیل غیرطبیعی است و استرس اکسیداتیو بیش‌ازحد می‌تواند با هیپرپلازی مزانشیم تخمدان و اختلال در عملکرد آن موجب کاهش تخمک‌گذاری شود [۲۹]. شواهد علمی نشان می‌دهد میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بافت تخمدان در مبتلایان به تخمدان پلی کیستیک کاهش می‌یابد و در نتیجه ایجاد شرایط استرس اکسیداتیو، آندروژن‌های تخمدانی افزایش و در فرایند تکوین دسته‌های فولیکولی اختلال ایجاد می‌شود [۳۰]. در پژوهشی مشخص شد مقدار لیپیدهای خون از جمله تری گلیسرید و میزان لیپیدهای اکسیدشده در مبتلایان به سندرم تخمدان پلی کیستیک بالا است. همچنین گزارش شده است در نتیجه تضعیف سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی در این بیماران، لیپیدهای بدن در برابر اکسیداسیون محافظت نمی‌شوند، از این رو با توجه به افزایش غلظت لیپیدهای خون و تضعیف سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی، شانس آسیب اکسیداتیو لیپیدها افزایش یافته و به‌صورت افزایش میزان سرمی مالون دی‌آلدئید نمایان می‌شود [۳۰]. علاوه بر این، مشخص شده است افزایش استرس اکسیداتیو در تخمدان موش‌های صحرایی مدل تخمدان پلی کیستیک با افزایش استرس اکسیداتیو ناشی از گونه‌های واکنشگر اکسیژن موجب آسیب DNA اپیتلیوم تخمدانی و القاء آپوپتوز سلول‌های گرانولوزا می‌شود [۳۱] که با نتایج حاصل از پژوهش حاضر همسو است.

در این مطالعه مشخص شد میزان سرمی سایتوکین‌های التهابی، پراکسیداسیون لیپیدی و آسیب اکسیداتیو DNA بافت تخمدان در موش‌های صحرایی مبتلا به تخمدان پلی کیستیک تیمار شده با کاتچین کاهش و میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بافت تخمدان افزایش می‌یابد. با توجه به این‌که سندرم تخمدان پلی کیستیک یک بیماری التهابی مزمن است و در آن میزان سایتوکین‌های التهابی تخمدان افزایش می‌یابد [۳۲]، همسو با نتایج پژوهش حاضر مشخص شد جای سبز با اثرات ضد التهابی خود موجب کاهش میزان سرمی پروتئین واکنشگر C، عامل تومور نکروزیس آلفا و اینترلوکین-۶ می‌شود و در شرایط التهابی اثرات خود را از طریق کاهش آزادسازی سایتوکین‌های التهابی و مهار کاسپاز ۳ اعمال می‌کند [۳۳]. در مطالعه دیگری مشخص شده است که مصرف خوراکی اپی گالوکاتچین-۳-گالات توسط موش‌های مسن با رژیم غذایی پرچرب موجب کاهش قابل‌توجه پروتئین واکنشگر C و عامل تومور نکروزیس آلفا در مقایسه با

هیدروکسیل با کاهش پراکسیداسون لیپیدی موجب کاهش میزان سرمی مالون دی آلدئید می‌شود [۴۱]. پژوهشی نشان داد اپی کاتچین گالات موجب کاهش آسیب اکسیداتیو DNA بافت کبد می‌شود. همچنین به علت دارا بودن خواص آنتی‌اکسیدانی، موجب محافظت سلول‌های کبدی در برابر ۲- نیتروپروپان می‌شود [۴۲]. علاوه بر این، عنوان شد کاتچین با مهار گونه‌های واکنشگر اکسیژن موجب کاهش استرس اکسیداتیو سلولی و کاهش آسیب DNA می‌شود. همچنین با اثر محافظتی خود به DNA فرصت ترمیم می‌دهد [۴۳]. پژوهشی به بررسی اثر پلی فنول‌های چای سبز بر سطح محصولات پراکسیداسیون لیپیدی و آسیب ساختار DNA در سلول‌های ریه پرداخت و مشخص شد ترکیبات چای سبز با کاهش آسیب اکسیداتیو DNA موجب کاهش جهش و تومور زایی در سلول‌های ریه می‌شوند [۴۴]. یکی از نکات قابل توجه در مبتلایان به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک ایجاد مقاومت به انسولین و افزایش وزن بدن است. انجام نشدن بررسی‌های دوره‌ای وزن بدن، سنجش مقدار سرمی قند خون و هورمون انسولین و نیز بررسی نشدن میزان مقاومت به انسولین از محدودیت‌های این مطالعه است.

نتیجه‌گیری:

می‌توان گفت تجویز کاتچین به صورت وابسته به دوز موجب کاهش میزان سرمی سایتوکین‌های التهابی در موش‌های صحرایی مدل تخمدان پلی‌کیستیک می‌شود. همچنین کاتچین با خواص آنتی‌اکسیدانی خود موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، کاهش آسیب اکسیداتیو DNA و کاهش پراکسیداسیون لیپیدی در بافت تخمدان موش‌های صحرایی مبتلا به تخمدان پلی‌کیستیک می‌شود. با توجه به نتایج مطالعه حاضر می‌توان گفت کاتچین چای سبز برای کاهش برخی عوارض سندرم تخمدان پلی‌کیستیک مفید است.

تشکر و قدردانی:

بدین وسیله نویسندگان مقاله از پشتیبانی مالی باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد و همچنین حمایت‌های دانشگاه پیام نور قدردانی می‌نمایند.

تعارض منافع:

نویسندگان هیچ گونه تعارض منافی را اعلام نکرده‌اند.

گروه شاهد می‌شود. همچنین می‌تواند با افزایش اثرات ضد التهابی روی التهاب سیستمیک خفیف موجب کاهش مقدار اینترلوکین-۶ شود [۳۴]. پژوهش‌های مختلف نشان داده‌اند مصرف چای سبز موجب بهبود عوامل التهابی در زنان مبتلا به دیابت نوع ۲ می‌شود و با جلوگیری از افزایش میزان سایتوکین-های التهابی نقش مثبتی در جلوگیری از التهاب سیستمیک افراد دیابتی دارد [۳۵].

بعلاوه، پژوهش‌ها نشان داده‌اند کاتچین‌های چای سبز به عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی با مهار استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپیدی از تخریب بافتی جلوگیری می‌کند و نیز از طریق تقویت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی موجب محافظت بافتی می‌شوند. همچنین می‌توانند میزان آنتی‌اکسیدان‌های اندوژن و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را افزایش دهند [۳۶]. گزارش شده است کاتچین به عنوان یک آنتی‌اکسیدان طبیعی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی پلاسما را افزایش داده و موجب کاهش تجمع رادیکال‌های آزاد سلولی می‌شود. همچنین با کاهش شرایط استرس اکسیداتیو مانع از اثر عوامل جهش‌زا روی کروموزوم‌ها می‌شود [۳۷]. در مطالعه‌ای خواص آنتی‌اکسیدانی ترکیبات چای سبز در مهار رادیکال‌های آزاد، به ساختار کاتکولی و گروه‌های هیدروکسیل موجود در ساختارشان نسبت داده شد. این ترکیبات با اتصال به رادیکال‌های آزاد موجب غیرفعال شدن آن‌ها می‌شوند. همچنین مشخص شد کاتچین‌ها با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی موجب غیرفعال کردن رادیکال‌های سوپراکسید، هیدروکسیل، نیتریک اکسید و پراکسید هیدروژن می‌شوند [۳۸]. در پژوهشی دیگر نشان داده شد که مصرف چای سبز موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و گلوکاتایون پراکسیداز در گروه‌های دریافت‌کننده تیواستامید می‌شود. افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در موش‌های تحت تیمار با چای سبز نشان دهنده خواص آنتی‌اکسیدانی آن تلقی و این اثر به کاتچین-های چای سبز نسبت داده شد [۳۹]. در پژوهش دیگری فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره چای سبز با اندازه‌گیری میزان مالون دی آلدئید و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بافت کبد مورد ارزیابی قرار گرفت. در این پژوهش مشخص شد تجویز چای سبز به موش‌های هیپرتری گلیسریدی و هیپرکلسترولمی موجب کاهش مقدار سرمی آنزیم‌های کبدی، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و کاهش میزان پراکسیداسیون لیپیدی بافت کبد می‌شود [۴۰]. محققین نشان دادند کاتچین با مهار تجمع رادیکال‌های آزاد از گسترش پراکسیداسیون لیپیدها جلوگیری می‌کند. همچنین مشخص شد اپی کاتچین با کاهش سوپر اکسیدها، رادیکال‌های پراکسی نیتريت و رادیکال‌های

References:

- Alchami A, O'Donovan O, Davies M. PCOS: diagnosis and management of related infertility. *Obstet Gynaecol Reprod Med* 2015; 25(10): 279-82.
- Santbrink EJP, Fauser BCJM. Ovulation induction in normogonadotropic anovulation (PCOS). *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2006; 20(2): 261-70.
- Ciaraldi TP, Aroda V, Mudaliar SR, et al. Inflammatory cytokines and chemokines, skeletal muscle and polycystic ovary syndrome: Effects of pioglitazone and metformin treatment. *Metabolism* 2013; 62(11): 1587-96.
- Wang Y, Zhu W. Evaluation of Adiponectin, Resistin, IL-6, TNF- α in Obese and Non-Obese Women with Polycystic Ovary Syndrome. *Reprod Contracept* 2012; 23(4): 237-44.
- Palomo J, Dietrich D, Martin P, et al. The interleukin (IL)-1 cytokine family - Balance between agonists and antagonists in inflammatory diseases. *Cytokine* 2015; 76(1): 25-37.
- Goodarzi MO, Carmina E, Azziz R. DHEA, DHEAS and PCOS. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2015; 145: 213-25.
- Dikmen A, Ergenoglu AM, Yeniel AO, et al. Evaluation of glycemic and oxidative/antioxidative status in the estradiol valerate-induced PCOS model of rats. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2012; 160(1): 55-9.
- Sabuncu T, Vural H, Harma M, et al. Oxidative stress in polycystic ovary syndrome and its contribution to the risk of cardiovascular disease. *Clin Chem* 2001; 34(5): 407-13.
- Cohen G, Riahi Y, Sunda V, et al. Signaling properties of 4-hydroxyalkenals formed by lipid peroxidation in diabetes. *Free Radic Biol Med* 2013; 65: 978-87.
- Setyaningsih Y, Husodo AH, Astuti I. Detection of Urinary 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) Levels as a Biomarker of Oxidative DNA Damage among Home Industry Workers Exposed to Chromium. *Procedia Environ Sci* 2015; 23: 290-6.
- Naderpoor N, Shorakae S, de Courten B, et al. Metformin and lifestyle modification in polycystic ovary syndrome: systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update* 2015; 21(5): 560-74.
- Goswami PK, Khale A, Ogale S. Natural remedies for polycystic ovarian syndrome (PCOS). A review. *Int J Pharm Phytopharm Res* 2012; 1(6): 396-402.
- Choi SJ, Park SY, Park JS, et al. Contents and compositions of policosanols in green tea (*Camellia sinensis*) leaves. *Food Chem* 2016; 204: 94-101.
- Dalluge JJ, Nelson BC. Determination of tea catechins. *J Chromatogr A* 2000; 881(1-2): 411-24.
- Asadi S, Zamiri A, Ezzati S, et al. Effect of alcoholic extract of green tea (*Camellia sinensis*) on the healing process in surgical and burn wounds in rats. *J Birjand Univ Med Sci* 2011; 18(1): 1-9. (Persian)
- Shariatzadeh MA, Mohammadi M. Protective role of green tea (*Camellia sinensis*) hydroalcoholic extract on sperm parameters and testicular tissue in NMRI mice exposed to sodium arsenite. *J Birjand Univ Med Sci* 2015; 21(4): 432-43. (Persian)
- Sadat Khorsandi L, Javadnia F, Orazizadeh M, et al. Effect of green tea (*Camellia sinensis* L.) extract on acetaminophen induced acute hepatotoxicity in mice. *Iran J Med Aromatic Plants* 2010; 26(1): 22-9. (Persian)
- Gadkari PV, Balaraman M. Catechins: Sources, extraction and encapsulation: A review. *Food Bioprod Process* 2015; 93: 122-38.
- Lambert JD, Elias RJ. The antioxidant and pro-oxidant activities of green tea polyphenols: a role in cancer prevention. *Arch Biochem Biophys* 2010; 501(1): 65-72.
- Ishii T, Mori T, Tanaka T, et al. Covalent modification of proteins by green tea polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate through autoxidation. *Free Radic Biol Med* 2008; 45(10): 1384-94.
- Bekyürek T, Liman N, Bayram G. Diagnosis of sexual cycle by means of vaginal smear method in the chinchilla (*Chinchilla lanigera*). *Lab Anim* 2002; 36(1): 51-60.
- Tahmasebi F, Movahedin M, Mazaheri Z. Poly Cystic Ovary Model as an Elevated Oxidative Stress Factor. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2015; 25(127): 82-91. (Persian)
- Sadoughi SD. Investigation the Effect of Curcumin on the Hormones of Pituitary-Ovarian Axis in Alloxan-induced Diabetic Rats. *J Ardabil Univ Med Sci* 2016; 16(4): 441-51. (Persian)
- Malek-Mohammadi R, Roghani M, Salami M. The effect of aqueous extracts of *Melissa officinalis* on the oxidative stress indices in the midbrain tissue. *FEYZ* 2015; 19(1): 8-14. (Persian)
- Walters KA, Allan CM, Handelsman DJ. Rodent Models for Human Polycystic Ovary Syndrome. *Biol Reprod* 2012; 86(5): 1-12.
- Zafari Zangeneh F, Abdollahi A, Naghizadeh MM, et al. A low-grade chronic inflammation in polycystic ovary syndrome: Role of interleukin-1 alpha, 1 beta, 17A and TNF α . *IJOGI* 2015; 17(135): 9-15. (Persian)
- Pawelczak M, Rosenthal J, Milla S, et al. Evaluation of the Pro-Inflammatory Cytokine Tumor Necrosis Factor- α in Adolescents with Polycystic Ovary Syndrome. *J Pediatr Adolesc Gynecol* 2014; 27(6): 356-9.
- Yaghmaei M, Mokhtari M, Roudbari M, et al. Comparison of the CRP and ESR Levels between Women with Polycystic Ovarian Syndrome and Control Group. *J Guilan Univ Med Sci* 2008; 17(65): 108-16. (Persian)
- Malhotra N, Gongdashetti K, Dada R, et al. Oxidative stress biomarkers in follicular fluid of women with PCOS and tubal factor infertility-is there a correlation with in-vitro-fertilization outcome? *Fertil Steril* 2014; 102(3): 86.
- Duleba AJ. Medical management of metabolic dysfunction in PCOS. *Steroids* 2012; 77(4): 306-11.
- Norouzi T, Ghatreh Samani K, Amini SA, et al. Compare the effects of atorvastatin and omega-3 on index of lipid oxidation in patients with polycystic ovary syndrome. *J Shahrekord Univ Med Sci* 2016; 18(1): 36-44. (Persian)
- Petríkova J, Lazurova I. Ovarian failure and polycystic ovary syndrome. *Autoimmun Rev* 2012; 11(6-7): 471-8.
- Singh R, Akhtar N, Haqqi TM. Green tea polyphenol epigallocatechin 3- gallate: Inflammation and arthritis. *Life Sci* 2010; 86(25-26): 907-18.
- SenthilKumaran VA, Arulmalh K, Kalaiselvi P.

- Attenuation of the inflammatory changes and lipid anomalies by epigallocatechingallate in hypercholesterolemic diet feed aged rats. *Exp Gerontol* 2009; 44(12): 745-51.
35. Banitalebi E, Razavi T, Norian M, et al. The effect of combined aerobic exercise training and green tea extract on serum TNF- α and IL-6 levels in obese women with type 2 diabetes. *Daneshvarmed* 2016; 23(123): 11-20. (Persian)
36. Senanayake SPJN. Green tea extract: Chemistry, antioxidant properties and food applications - A review. *J Funct Foods* 2013; 5(4): 1529-41.
37. Crespy V, Williamson G. A review of the health effects of green tea catechins in in vivo animal models. *J Nutr* 2004; 134(12): 3431-40.
38. Chobot V, Huber CH, Trettenhahn G, et al. Catechin: Chemical Weapon, Antioxidant, or Stress Regulator? *J Chem Ecol* 2009; 35(8): 980-96.
39. Sharifi A, Razmi N, Naghsh N. The Antioxidant Effect of *Camellia Sinesison* on the Liver Damage Induced by Tioacetamide in Male Mice. *MLJGOUMS* 2014; 7(4): 13-18. (Persian)
40. Amouoghli Tabrizi B, Mohajeri D. Preventive Effects of Green Tea Extract from Hepatic Steatosis in the Rats Fed with High Fat Diet. *J Rafsanjan Univ Med Sci* 2014; 13(2): 125-40. (Persian)
41. Azam S, Hadi N, Khan NU, et al. Prooxidantproperty of green tea polyphenols, epicatechin and epicatechin-3-gallate: implications of anticancer properties. *Toxicol in Vitro* 2004; 18(5): 555-61.
42. Hasegawa R, Chujo T, Sai-Kato K, et al. Preventive effects of green tea against liver oxidative DNA damage and hepatotoxicity in rats treated with 2-nitropropane. *Food Chem Toxicol* 1995; 33(11): 961-70.
43. Katiyara S, Elmetza CA, Katiyar SK. Green tea and skin cancer: photoimmunology, angiogenesis and DNA repair. *J Nutr Biochem* 2007; 18(5): 287-96.
44. Leandersona P, Faresjöa AO, Christer Tagesson CH. Green Tea Polyphenols Inhibit Oxidant-Induced DNA Strand Breakage in Cultured Lung Cells. *Free Radic Biol Med* 1997; 23(2): 235-42.

Effect of Catechin on Serum Levels of Inflammatory Cytokines, Antioxidant Enzymes Activity and DNA Oxidative Damage of Ovarian Tissue in Polycystic Ovarian Syndrome Rat Model

Raheleh Rahbarian¹, Seyed Damoon Sadoughi^{*2}

Received: 2016/12/12

Revised: 2017/18/04

Accepted: 2017/6/06

1. Dept of Biology, Faculty of Sciences, Payam-e-Noor University, Tehran, Iran

2. Young Researchers and Elite Club, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran

Pars Journal of Medical Sciences, Vol.15, No.1, Spring 2017

Pars J Med Sci 2017;15(1):23-35

Abstract:

Introduction:

Women with polycystic ovary syndrome (PCOS) suffer anovulation due to hormonal disorders, oxidative stress and ovarian tissue inflammation. Catechin is the most important green tea flavonoids (*Camellia sinensis*) with antioxidant properties. This study aimed to determine the effects of catechin on serum levels of inflammatory cytokines, antioxidant enzymes activity and DNA oxidative damage of ovarian tissue in polycystic ovarian syndrome rat model.

Materials & Methods:

In this experimental study, 24 Wistar female rats were divided into 4 equal groups (n=6) of control (saline solution, 24 days, ip), non-treated PCOS (saline solution, 24 days, ip) and PCOS treated with catechin (50 and 100 mg/kg, 24 days, ip). Polycystic ovarian syndrome was induced by single intramuscular injection of estradiol valerate (4 mg/kg). At the end of treatment period, serum levels of TNF- α , IL-1 β , IL-6, SOD, CAT, GPX and levels of MDA and HOdG-8 in ovarian tissue were measured by ELISA.

Results:

Compared to non-treated PCOS group, in treated groups with 50 and 100 mg/kg of catechin, serum levels of TNF- α , IL-1 β and IL-6 significantly decreased dose-dependently ($p<0.05$), levels of SOD, CAT, GPX in ovarian tissue significantly increased dose-dependently ($p<0.05$) and levels of MDA and HOdG-8 significantly decreased dose-dependently ($p<0.05$).

Conclusion:

Catechin decreases serum levels of cytokines, increases activity of antioxidant enzymes, decreases lipid peroxidation and DNA oxidative damage of ovarian tissue in polycystic ovarian syndrome rat model.

Keywords: Polycystic Ovarian Syndrome, Catechin, Cytokine, Oxidative Stress, Rat

* Corresponding author Email: damoon.sadoughi@mshdiau.ac.ir