Medical Journal of Tabriz University of Medical Sciences and Health Services
Vol. 35, No. 1, Apr. – May. 2013, Pages: 46-51

Paraxonase-3 Enzyme and the Ratio of Antioxidant/oxidant within the Follicular Fluid of Infertial and Fertial Women

Jalal Isa Khajeh[1], Mohammad Reza Rashidi[2], Laya Farzadi[1], Alea Gasemzadeh[1], Vahideh Shahnazi[1], Akram Faridi[2], Amir Mansoor Vatankhaah[2], Reza Haji Hoseini Bagdadi[3], Mohammad Nouri[1]

[1]Women's Reproductive Health Research Center, Al-Zahra Hospital, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran
[2]Drug Applied Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran
[3]Department of Biology, School of Science, University of Tehran Payam Noor, Tehran, Iran

Received: 27 May, 2010 Accepted: 2 Jan, 2013

Abstract

Backgrounds and Objectives: Recently, the activity of paraoxonase-3 enzyme has been reported in follicular fluid, where the concentration of this enzyme in follicular fluid is three times higher than serum. However, the rule of this enzyme in the ovarian function is yet unknown. In the present study , the activity of this enzyme and the ratio of antioxidant/peroxidation activity within the follicular fluid of infertile and fertile who underwent reproductive cycles stimulatory will be evaluated and compared and their variation are correspond with to the oocyte number.

Materials and Methods: The follicular fluid obtained from 50 infertile couples who underwent assisted reproductive techniques, follicular fluid paraoxonase-3 enzyme activity was determined by High Performance Liquid Chromatography, high-density lipoprotein was measured by sedimentary, total antioxidant capacity was by ELISA method and levels of malondialdehyde by tiobarbituric acid assay.

Results: From 50 women that present in this study, 20 women were infertile and 30 subjects were fertile. The paraoxnase-3 activity rate in follicular fluid of infertile women were significantly lower in compared with fertile women ($p<0.05$). The average ratio of paraoxonase-3/ malondialdehyde in follicular fluid of infertile women were obtained lower than fertiles. Malondialdehyde concentration in follicular fluid of infertile women were significantly high ($p<0.05$). The level of high-density lipoprotein and total antioxidant capacity in follicular fluid were not significantly.

Conclusion: The result of present study showed that paraoxonase-3 activity and paraoxonase-3/ malondialdehyde rato in follicular fluid of infertile women are lower and while malondialdehyde levels conversly was higher.

Keywords: Paraoxonase-3, Follicular fluid, Lipid peroxidation

*Corresponding author:
E-mail: nourimd@yahoo.com

مقاله پژوهشی

آنزیم پاراکسوناز-۳ ونسبت آنتی اکسیدانت به اکسیدانت در مایع فولیکولی زنان بارور و نا بارور

جلال عیسی خواجه: مرکز تحقیقات سلامت باروری زنان، بیمارستان الزهرا، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
محمد رضا رشیدی: مرکز تحقیقات کاربردی دارویی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
لعیا فرزدی: مرکز تحقیقات سلامت باروری زنان، بیمارستان الزهرا، دانشگاه علوم پزشکی تبریز ، تبریز، ایران
عالیه قاسم زاده: مرکز تحقیقات سلامت باروری زنان، بیمارستان الزهرا، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
وحیده شهنازی: مرکز تحقیقات سلامت باروری زنان، بیمارستان الزهرا، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
اکرم فریدی: مرکز تحقیقات کاربردی دارویی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
امیرمنصور وطن خواه: مرکز تحقیقات کاربردی دارویی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
رضا حاجی حسینی بغدادی: دانشکده ی علوم، بخش زیست شناسی دانشگاه پیام نور تهران
محمد نوری: مرکز تحقیقات سلامت باروری زنان، بیمارستان الزهرا، دانشگاه علوم پزشکی تبریز ، تبریز، ایران، نویسنده رابط:
Email: nourimd@yahoo.com

دریافت: ۸۹/۳/۶ پذیرش: ۹۱/۱۰/۱۳

چکیده

زمینه واهداف: اخیرا فعالیت آنزیم پاراکسوناز-۳ در مایع فولیکولی گزارش شده به طوری که غلظت آن در این مایع سه برابر بیشتر از سرم است. با این حال نقش آنزیم پاراکسوناز-۳ در عملکرد تخمدانها هنوز ناشناخته است. دراین مطالعه میزان فعالیت آنزیم یاد شده و نسبت آنتی اکسیدانت به پرواکسیداسیون در مایع فولیکولی زنان نابارور در مقایسه با زنان بارور در سیکلهای تحریکی کمک باروری مقایسه و تغییرات آنها نسبت به تعداد اووسیت بررسی شده است.

مواد و روش ها: مایع فولیکولی از ۵۰ زوج نابارور که تحت درمان روش های کمک باروری قرار گرفته بودند جدا و میزان فعالیت آنزیم پاراکسوناز-۳ به روش کروماتوگرافی مایع با فشار بالا، میزان لیپوپروتئین با وزن مخصوص بالا به روش رسوبی، ظرفیت آنتی‌اکسیدانت تام به روش الیزا و سطح مالون دی آلدئید بعنوان مارکر پروکسیداسیون لیپیدی به روش اسید تیوباربیتوریک در آن اندازه گیری شدند.

نتایج: از ۵۰ زن مورد مطالعه ۲۰ نفر نا بارور و ۳۰ نفر سالم بودند. میزان فعالیت پاراکسوناز-۳ در مایع فولیکولی زنان نا بارور در مقایسه با زنان سالم بطور معنی داری ($P<۰/۰۵$)پایین بود. میانگین نسبت پاراکسوناز-۳ به مالون دی آلدئید در مایع فولیکولی زنان نا بارور کمتر از زنان سالم به دست آمد. غلظت مالون دی آلدئید در مایع فولیکولی زنان نازا در مقایسه با زنان سالم بطور معنی داری ($P<۰/۰۵$) بالا بود. غلظت لیپوپروتئین با وزن مخصوص بالا و ظرفیت آنتی اکسیدانت تام مایع فولیکولی در دو گروه مورد مطالعه تفاوت معنی داری نشان نداد.

نتیجه گیری: نتایج مطالعه حاضرنشان داد که میزان فعالیت پاراکسوناز-۳ و نسبت پاراکسوناز-۳ به مالون دی آلدئید در مایع فولیکولی زنان نابارور نسبت به زنان بارور پایین و سطح مالون دی آلدئید بالاتر می باشد. اختلالات تاثیر گذار بر سطح آنتی اکسیدانت و پرواکسیداسیون مایع فولیکولی می تواند باروری را در زنان تحت تاثیر قرار دهد.

کلید واژه ها: پاراکسوناز-۳، مایع فولیکولی، پراکسیداسیون لیپیدی

مقدمه

رادیکالهای آزاد به لیپیدهای غشای سلولی آسیب زده و منجر به اکسیداسیون آنها می شوند (۱). نقش گونه های اکسیژن فعال (Reactive Oxygen Species;ROS) و رادیکالهای اکسیژن در پراکسیداسیون لیپیدها و تداخلً در عملکرد اسپرم و تخمک و تولید مثل انسانی گزارش شده است (۴-۲). در داخل سلول ROS توسط آنتی اکسیدانها خنثی میگردد (۵) و آنزیم پاراکسوناز (Paraoxonase;PON) یکی از آنتی اکسیدانتهای قوی در سرم و مایع فولیکولی (Folicular Fluid ,FF) می باشد (۷و۶).

خانواده‌ی ژنی PON در انسان دارای سه عضو PON1 ، PON2 و PON3 می باشد (۸). هر سه ژن PON در پستانداران کاملا" حفاظت شده اند که این امر دلیل بر نقش فیزیولوژیک مهم آنها است (۸). PON3 سومین عضو خانواده ژنی پاروکسوناز می باشد

که در کبد سنتز شده و متصل به لیپوپروتئین با وزن مخصوص بالا (High Density Lipoprotein HDL;)در خون حمل و از اکسیداسیون لیپوپروتئین با وزن مخصوص پایین (Low Density Lipoprotein LDL;) جلوگیری می‌کند (۹). غلظت PON3 در سرم ۱۰۰ برابر کمتر از PON1 است (۱۰و۱۱). اخیرا فعالیت این آنزیم در مایع فولیکولی گزارش شده (۱۲) به طوری که غلظت آن در FF سه برابر بیشتر از سرم است (۱۳).

با توجه به خاصیت آنتی اکسیدانتی قوی PON3 و بالا بودن غلظت آن در FF به نظر می رسد فعالیت این آنزیم در اووژنز، کیفیت تخمک ها و روند باروری نقش ایفا نماید. در این مطالعه میزان فعالیت PON3 و نسبت آنتی اکسیدانت به پروکسیداسیون در FF زنان بارور و نابارور بعد از تحریک تخمدانی مقایسه و تغییرات آنها نسبت به تعداد اووسیتها آنالیز آماری شده است.

مواد وروش ها

تعداد ۵۰ زوج نابارور که جهت درمان باروشهای کمک باروری (Assisted Reproductive Technique;ART)به بیمارستان مراجعه کرده بودند در فاصله زمانی سه ماه انتخاب گردید. شصت درصد از بیماران انتخاب شده عامل مردانه و ۴۰ درصد عامل زنانه داشتند. در افراد مورد مطالعه بعد از بررسی‌های اولیه، تعیین علت نازایی و تعیین پروتکل درمانی با دریافت دارو تحریک تخمک‌گذاری در آنها صورت گرفت. روز ۱۴ سیکل فولیکولها پانکچر و مایع فولیکولی از آنها اسپیره شده و بعد از جدا کردن اووسیت‌ها مابقی جهت ته‌نشین کردن سلول‌های گرانولوزا و گلبول‌های قرمز سانتریفوژ گردید. سپس مایع رویی جدا و در ویال‌های یک میلی‌لیتری در دمای ۸۶ـ درجه سانتیگراد تا زمان انجام آزمایش فریز شدند.

اندازه گیری فعالیت سیمواستاتیناز PON3: PON3 تنها عضو خانواده PON است که سوبستراهای دارویی مثل لواستاتین و سیمواستاتین را متابولیزه می کند (۱۴). لذا در این مطالعه از متد Suchocka و همکاران (۱۵) استفاده شد. فعالیت PON3 توسط دستگاه RP_HPLC از تبدیل سیمواستاتین(SV) به β-δ-دی‌هیدروکسی اسید سیمو استاتین (SVA) در طی انکوباسیون با مایع فولیکولی تعیین شد. آنالیز SV و SVA در HPLC با استفاده از کروماتوگراف سری Shimadzu شامل یک پمپ Lc-10AD Vp، دتکتور SPD-10AV Vp و دستگاه تزریق خود کار صورت گرفت. جداسازی SV و SVA در یک ستون کار phenosphere_LUNA18(2), 5um, 250mmx4.60mm در دمای اتاق (۲۵-۲۲ درجه سانتیگراد) انجام شد. پیک های حاصله در طول موج λ=nm۲۳۹ شناسایی و اندازه گیری شدند. تامپون مورد استفاده برای اندازه گیری فعالیت آنزیم فوق بافر-k-فسفات(۰/۰۳mol/l) با PH=۵/۴ می باشد. غلظت سوبسترای SV(۱۲۰µM) می باشد که بعد از تهیه مخلوط آزمایش واکنش به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد در حمام آب گرم صورت گرفت. محلول استاندارد SVA با هیدرولیز قلیایی محلول SV توسط سدیم هیدروکسید ۰/۰۲M در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد به مدت ۱۵ دقیقه و خنثی سازی آن با ۰/۰۲M،Hcl تهیه گردید.

تعیین سطوح MDA مایع فولیکولی: اساس روش اندازه‌گیری مالون دی آلدئید(Malondialdehyed,MDA)فولیکولی بر اساس واکنش با تیوباربیتوریک اسید(TBA)، استخراج با بوتانول نرمال، اندازه‌گیری جذب با روش اسپکتروفتومتری در طول موج ۵۳۲nm و مقایسه جذب با منحنی استاندارد می‌باشد (۱۶).

تعیین سطوح HDL: اساس روش اندازه گیری HDL استخراج لیپوپروتئین ها توسط معرف فسفوتنگستیک و رسوب دهی با سانتریفوژ می باشد. دراین روش HDL در محلول رویی مانده و کلسترول آن با روش آنزیمی در طول موج ۵۰۰ nm سنجش می شود.

اندازه گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدانت تام: ظرفیت آنتی‌اکسیدانت تام در FF (**Total Antioxidant Capacity;TAC**) با استفاده از کیت تجاری (CatNO.NX2332, UK,Randox Laboratories Ltd) اندازه‌گیری شد (۱۷). در این روش مایع فولیکولی با ماده di_(3_ethylbenzthiazoline),2_Azino_ABTS Sulphonate، یک پراکسیداز (مت هموگلوبین) و H2O2 انکوبه می‌شود تا یک رادیکال کاتیونی تولید شود. محصول بدست آمده، رنگ سبز- آبی نسبتاً پایداری دارد و در طول موج ۶۰۰nm سنجیده می‌شود. آنتی‌اکسیدانت‌های موجود در نمونه میزان رنگ سبز- آبی را کاهش می‌دهند که این کاهش با غلظت آنتی‌اکسیدانت‌های موجود درنمونه متناسب خواهد بود.

آنالیز آماری: تمامی داده ها در برنامه SPSS/۱۶ ثبت شده و ضمن محاسبه میانگین ± SE آنها جهت بررسی اختلاف میانگین بین دو گروه از تست t و برای بررسی اختلاف میانگین بین چند گروه از روش ANOVA استفاده گردید. p<0.05معنی دار تلقی شده است.

یافته ها

مشخصات عمومی بیماران مورد مطالعه در جدول ۱ نشان داده شده است. از ۵۰ بیمار مورد مطالعه ۳۰ نفر زن سالم بودند (گروه کنترل) که به علت subfertility مرد دچار مشکل ناباروری بودند و ۲۰ نفر زن (گروه آزمایش) نابارور بودند. در گروه آزمایش ۶۸٪ افراد تخمدان نرمال، ۱۸٪ تخمدان پلی کیستیک (pco)و ۱۴٪ تخمدان غیرطبیعی (تخمدان کوچک، عمل شده و عدم تخمک گذاری) داشتند. ۴٪ افراد دارای رحم غیر نرمال (اندومتریوزیس و رحم کوچک) و ۲۰٪ باقاعدگی غیر طبیعی بودند.

با توجه به جدول-۲ میزان فعالیت آنزیم PON3 درFF زنان سالم ۴/۷±۰/۷۷ IU/ml و در زنان نابارور ۳/۸±۰/۷۳ IU/ml می باشد که بر اساس آزمون t مستقل اختلاف بین میانگین فعالیت PON3 در زنان نابارور در مقایسه با زنان سالم بطور معنی داری کمتر است (P <۰/۰۰۱). میانگین غلظت MDA بعنوان مارکر پراکسیداسیون لیپیدی در FF زنان سالم ۱/۴±۳/۱ µm/l، و در زنان نابارور µm/l

۴/۲±۱/۷ که از نظر آماری MDA در زنان نابارور بیشتر از زنان سالم می باشد (P =۰/۰۲۴). سطوح HDL در FF زنان سالم۲۱/۶±۱۱/۴mg/dl و در زنان نابارور ۲۰±۶/۱mg/dl است. اختلاف معنی داری در سطوح HDLو TAC در FF زنان سالم در مقایسه با زنان نابارور مشاهده نگردید. بررسی آماری اختلاف معنی داری بین میانگین نسبت آنتی اکسیدانت به پرواکسیداسیون (PON3/MDA) در دو گروه نشان داد (P =۰/۰۰۲). همچنین بین میانگین نسبت PON3/TAC بین دو گروه اختلاف معنی داری مشاهده گردید (P =۰/۰۱۳).

فاکتورهای بیوشیمیایی مایع فولیکولی بر حسب تعداد اووسیت های بدست آمده مقایسه و نتایج حاصله در جدول ۳ نشان داده شده است. اختلاف معنی داری بین سطح مایع فولیکولی فاکتورهای مورد مطالعه نسبت به تعداد اووسیت ها بدست نیامد.

جدول ۱: مشخصات عمومی زنان مورد مطالعه تحت درمان با ART (تعداد=۵۰ نفر).

متغیرها	تعداد	درصد
علّت نازایی:		
مردانه	**۳۰**	**٪۶۰**
زنانه	**۲۰**	**٪۴۰**
تخمدان:		
نرمال	**۳۴**	**٪۶۸**
pco	**۹**	**٪۱۸**
غیر نرمال	**۷**	**٪۱۴**
رحم:		
نرمال	**۴۸**	**٪۹۶**
غیر نرمال	**۲**	**٪۴**
قاعدگی:		
نرمال	**۴۰**	**٪۸۰**
غیر نرمال	**۱۰**	**٪۲۰**

جدول ۲: میانگین و انحراف معیار فاکتورهای بیوشیمیایی مایع فولیکولی در بیماران مورد مطالعه بر حسب باروری و ناباروری.

فاکتورهای بیوشیمیایی	زنان سالم	زنان نابارور	p
PON3(IU/ml)	۴/۷±۰/۷۷	۳/۸±۰/۷۳	۰/۰۰۰
HDL(mg/dl)	۲۱/۶±۱۱/۴	۲۰±۶/۱	۰/۵۵۶
TAC(mmol/l)	۱/۶±۰/۲۵	۱/۵۸±۰/۲۱	۰/۴۶۵
MDA(µm/l)	۳/۱±۱/۴	۴/۲±۱/۷	۰/۰۲۴
PON3.MDA	۱/۸±۰/۹	۱±۰/۵۷	۰/۰۰۲
PON3.HDL	۰/۴±۰/۵۴	۰/۲±۰/۰۷	۰/۰۹۷
HDL.MDA	۷/۱±۴/۰۲	۶/۵±۴/۷	۰/۶۳۳
PON3.TAC	۳±۰/۷	۲/۵±۰/۵۴	۰/۰۱۳

جدول ۳: میانگین و انحراف معیار فاکتورهای بیوشیمیایی مایع فولیکولی بر حسب تعداد اووسیت در زنان بارور و نابارور (تعداد ۵۰ نفر)

فاکتورهای بیوشیمیایی	تعداد اووسیت			P
	۱-۵	۶-۱۰	>۱۰	
PON3(IU/ml)	۴/۱±۱/۲	۴/۳±۰/۹	۴/۵±۰/۷۷	۰/۵۵۰
HDL(mg/dl)	۱۸/۳۷±۳/۶	۲۰/۰۴±۱۰/۲	۲۳/۵±۱۰/۲	۰/۳۷۹
TAC(mmol/l)	۱/۵۴±۰/۹	۱/۶±۰/۲۴	۱/۶۵±۰/۲۳	۰/۵۱۵
MDA(µm/l)	۳/۱±۰/۹	۳/۸±۱/۹	۳/۵±۱/۶	۰/۵۶۶
PON3.MDA	۱/۴±۰/۴۳	۱/۵±۱/۰۴	۱/۶±۰/۸۸	۰/۸۴۰
PON3.HDL	۰/۲۲±۰/۰۹	۰/۲۳±۰/۱۴	۰/۴±۰/۶	۰/۳۵۶
HDL.MDA	۷/۲±۳/۷	۷/۵±۵/۲	۶/۴±۳/۸	۰/۶۸۱
PON3.TAC	۲/۶±۰/۸۵	۲/۷±۰/۶۳	۲/۸±۰/۷۷	۰/۷۹۱

بحث

نشان داده شده که غلظت هیدرو پراکسیدهای لیپیدی و مواد فعال تیو باربیتوریک اسید در مایع فولیکولی زنانی که تحت IVF قرار گرفته اند نسبت به سرم پایین است که گویای یک سیستم آنتی اکسیدانتی مناسب در محیط اووسیت قبل از تخمک گذاری می باشد (۱۸). خاصیت آنتی اکسیدانتی آنزیم پاراکسوناز-۳ در سالهای اخیر گزارش شده (۱۰) و غلظت آن در مایع فولیکولی خیلی بیشتر از سرم می باشد (۱۳). ما نیز در این مطالعه فعالیت آنزیم یاد شده را مطابق روشهای انجام شده در مطالعات مشابه (۱۳و۱۵) انجام دادیم و برای شروع واکنش ۲۵۰µl تریس-۲۰mmolHCl (PH =۷/۶)، ۱۰۰µl نئوستیگمن ۴۰µmol و ۱۰۰ µl، ۰/۹ mmolCacl2 را در لوله آزمایش ریخته و به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب گرم در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد قرار دادیم. سپس ۵۰۰ µl محلول کار SV(۲۴۰µM) به عنوان سوبسترا به آن اضافه کردیم. با افزودن ۵۰ µl مایع فولیکولی به عنوان آنزیم واکنش شروع شده که به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد ادامه یافته و بعد از دپروتئینه کردن محلول با استونیتریل سرد و سانتریفوژ، محلول به دستگاه HPLC تزریق گردید. نتایج بدست آمده از این مطالعه نشان می دهد که میزان فعالیت PON3 در زنان نابارور نسبت به گروه بارور بطور معنی دار کمتر (p=0.000) است .با اینکه گزارشی در این مورد در دسترس نیست ولی W.B.Closhey و همکارانش سطح مایع فولیکولی PON3 را در ۱۴ زن نابارور تحت عمل IVF مطالعه و نشان دادند که غلظت این آنزیم در FF نسبت به سرم بالا (p<0.002) و رابطه معنی داری بین PON3 با میزان باروری آزمایشگاهی و حاملگی وجود دارد که نتایج حاصله با مطالعه ما همخوانی دارد (۱۳). این یافته همراه با بالا بودن نسبت PON3/TAC در زنان بارورنقش آ نتی اکسیدانتی قوی PON3 را نسبت به سایر آنتی اکسیدانتها درFF می رساند و به همین ترتیب تاییدی برنقش آن در اووژنزیس می باشد. آنزیم PON3 در کبد سنتز شده و متصل به HDL در مایعات بدن حمل می گردد (۹). نشان داده شده که HDL تنها لیپوپروتئینی است که در FF حضور دارد (۱۹). لذا به نظر می رسد که غلظت HDL در مایع فولیکولی با رشد و بلوغ اووسیت و میزان باروری در IVF رابطه داشته باشد. در این مطالعه سطوح HDL مایع فولیکولی در زنان نازا در مقایسه با زنان سالم اختلاف معنی داری نشان نداد. همچنین بین غلظت HDL و تعداد اووسیت ارتباط معنی داری مشاهده نگردید. بر خلاف نتایج ما Browne و همکارانش نشان داده اند که سطح HDL مایع فولیکولی بر روی کیفیت و فراوانی اووسیت در طی تحریک تخمک گذاری تاثیر دارد (۲۰). در مطالعه دیگری نشان داده اند که با افزایش سن میزان آپوپروتئین های HDL کاهش می یابد که با کاهش تعداد اووسیت های بالغ در زنان همراه است (۲۱). با توجه به اندک بودن گزارشات در این موردبرای تایید نقش HDL در اووژنزیس به مطالعات دیگری نیاز است.

تفاوت معنی داری در غلظت TAC در دوگروه مشاهده نگردید. در مطالعات مشابهی تفاوت معنی داری بین غلظت TAC در زنان نابارور مبتلا به اندومتریوزیس در مقایسه با زنان سالم بدست نیامده است (۲۲و۲۳) که با یافته های ما در این مطالعه همسویی دارد. بالا بودن نسبت PON3/TAC گروه کنترل در مطالعه ما نشان می دهد که PON3نقش اصلی را در مقابله با استرس اکسیداتیو فولیکولی بازی می کند. بالا بودن غلظت MDA در مایع فولیکولی زنان نابارور در این مطالعه نیز گواهی بر این موضوع می باشد. این یافته همسو با یافته های Yildirim و همکارانش (۲۴) می باشد که نشان داده اند پراکسیداسیون لیپیدی در FF زنان نازا با سندرم PCO خیلی بیشتر از زنان بارور می باشد.

نتایج نشان می دهد که میانگین نسبت PON3/MDA در زنان نابارور بطور معنی داری کمتر از زنان بارور (p=۰/۰۰۲) می باشد. می توان ادعا کرد که نسبت آنتی اکسیدانت به پرواکسیداسیون مایع فولیکولی یک فاکتور مناسب برای ارزیابی میزان استرس اکسیداتیو در فولیکولها می‌باشد. نسبت آنتی اکسیدانت به پراکسیداسیون در نمونه های مورد بررسی بر حسب تعداد اووسیت اختلاف معنی داری نشان نداد.

PON3 یک آنتی اکسیدانت قوی در مایع فولیکولی است. Closshey و همکارانش (۱۳) گزارش کرده اند که احتمالاً فعالیت بالای PON3 در داخل فولیکول می تواند به دلیل تولید موضعی آن در فولیکول باشد. متعاقباً Browne و همکارانش (۲۰) ادعا کردند که منشأ آنزیم سلول های گرانولوزا می باشد. ما برای اولین بار نشان دادیم که میزان فعالیت PON3 در مایع فولیکولی زنان نابارور نسبت به زنان سالم پایین است. بنابراین با توجه به این که PON3 از اکسیداسیون LDL جلوگیری کرده (۹) و محصولات اکسیداسیون لیپیدها را به عنوان سوبسترا مصرف کرده و از شدت استرس اکسیداتیو سلول می کاهد (۲۵و۲۶) می توان گفت که در مراحل رشد و بلوغ اووسیت نقش مهمی ایفا می کند. ازطرف دیگر ما بین میزان فعالیت PON3 و تعداد اووسیت رابطه معنی داری نیافتیم. Plachot و همکارانش اظهار کرده اند که میزان باروری اووسیت ها نه تنها به تعداد بلکه به کیفیت اووسیت ها نیز بستگی دارد (۲۷) . به این ترتیب می توان اظهار داشت که فعالیت بالای PON3 در مراحل رشد، بلوغ و کیفیت اووسیت ها نقش مهمی دارد. همچنین ما نشان دادیم که نسبت PON3 /MDA به عنوان شاخص آنتی اکسیدانت به پرواکسیداسیون در مایع فولیکولی زنان نابارور در مقایسه با زنان سالم پایین است. بنابراین وضعیت آنتی اکسیدانت به پرواکسیداسیون در مایع فولیکولی با نازایی زنان مرتبط بوده و در زنان نابارور فعالیت آنتی اکسیدانتی کاهش و میزان پراکسیداسیون لیپیدی افزایش می یابد.

نتیجه گیری

نتایج مطالعه حاضرنشان داد که میزان فعالیت PON3 و نسبت PON3/MDA درFF زنان نابارور نسبت به زنان بارور پایین و سطح MDA بالاتر می باشد. اختلالات تاثیرگذار بر سطح آنتی اکسیدانت و پراکسیداسیون مایع فولیکولی می تواند باروری را در زنان تحت تاثیر قرار دهد.

References

1. Hilliwell B, Gutteridge JMC. *Free radicals in Biology and medicine*. 2nd ed. New York, Oxford university press, 1989; PP: 93-98.
2. Rily JCM, Behrman HR. Oxygen radicals and reactive oxygen species in reproduction. *proc soc Exp siol Med* 1991; **198**: 781-791.
3. Zini A, Delamrande E, Gagnon C. Reactive oxygen species in serum of in fertile patients: level in superoxide dismutase-and catalase-like activities in seminal plasma and sper matozoa. *Int J Androl* 1993; **16**: 183-188.
4. Aitken RJ. Free radicals, lipid peroxidation and sperm furetion. *Reprod Fertil Dev* 1995; **7**: 659-668.
5. Knapen MF, Zusterzeel PL, Peters WH, Steegers EA. Glutathione and glutathione-related enzymes in reproduction: a brief review. *Eur J Obstet Gjnecol Reprod Biol* 1999; **138**: 512-518.
6. Primo-parmo SL, La Du BNM, Aviram S, Bilrecke M, Navah S, Sorenson RC. On the physyologicalrole of the paraoxonases. *Chem Biol Interact* 1999; **120**: 319-388.
7. Draganov D, La Du BNM. Pharmacokinetics of paraoxonases: a brief review. *Naunyn-Schmiedeb evy, Arch pharmacology* 2004; **369**: 78-88.
8. Primo-parmo SL, Sorenson RC, Teihor J, Du BNL. The human Serum Pnraoxonose/Aryls eras Gen (pon1) Is one Mem her of a Multigone family. *Genomics* 1996; **33:** 498-501.
9. Draganov DI, Stetson PL, Watson CE, Billecke SS, La DU BN. Rabbit serum paraoxonase3 (pon3) is a high densrey lipoproteinassociated lactonase and protect low densrey lipoprotein against oxdatin. *J biol chem* 2000; **275**: 33435-33442.
10. Dragarov DI. Human pon3. Effects beyond HDL, clues from human pon3. *Tran's Genic Mice* 2007; **100:** 1104-1105.
11. Reddy ST, Wadleigh DJ, Grijalva V, Ng C, Hama S. Human paraoxonase-3 is an HDl-associated enzyme with biological activity similar to paraoxonase-1 protein but is not regulated y oxidized lipids. *Aterioscler Thrumb Vasc Biol* 2001; 21: 542-547.
12. Angelucci S, Ciavardelli D, Di Giuseppe F, Eleuterio E, Sulpiozio M. Proteome analysis of human follicular fluid. *Biopysy Actaproteins proteomics* 2006; 1764: 1775-1785.
13. Closshey WB, Browne WB, Huddston HG, Sndler JR, Schisterman EF, Fujimoco VY. High activity of paraoxunase3 (pon3) a human potent antioxidant indentified in follicular fluid. *Fertility and Sterility* 2007; 88 Suppl 1: 595.
14. Draganov DI, Tiber JF, Speelman A, Osava Y, Sunahara R, La DU BN. Human paraoxonases (PON1, PON2 and PON3) are lactonase with overlapping and distinct substrate specifies. *J Lipid res* 2005**; 46**: 1239-1244.
15. Suchocka Z, Swotowaka J, Pacheeka J, Suchocki P.RP-HPLC determination of paraoxonase-3 activity in human serum. *J Pharm Biomed Anal* 2006; **42**: 113-119.
16. Arshad MAQ, Bharad S, Cohen RM, Subbiah MTR. Plasma peroxidation potential: a test to evaluate individual susceptibility to peroxidation. *Cline Chem* 1991; **37**: 1756-1759.
17. Miller NJ, Rice-Evans C, Davies MJ. A new method for measuring antioxidant activity. *Biochem Soc Trans* 1993; **21**: 95.
18. Marcin Jowzik, Salwom Wolczynski, Michel Jozwik, Marian Szamatowicz. Oxidative stress markers in preovulatory follicular fluid in human. *Molecular Human Reprod* 1999; **5:** 409-413.
19. Jaspard B, Collet X, Barbaras R, Manent J, Viten C, Manent Y. Biochemical characterization of pre-beta 1 high-density lipoprotein from human ovarian follicular fluid: evidence for the presence of a lipid core. *Biochemistry* 1996; **35**: 1352-1357.
20. Browne WB, Selly MS, Bloom AJ, Ocque JR, Sandler HG. Huddeston and V.Y.Fujimoto. Distribution of high-density lipoprotein particle components in human follicular fluid: evidence for the presence of a lipid core. *Biochemistry* 1996; **35**: 1352-1357.
21. Von Wald T, Monisora Y, Haker MR, Yoo SW, Pensias AS, Reindollar RR. Age-related variations in follicular apolipoproteins may influence human oocyte maturation and fertility potential. *Fertil Steril* 200; **41**: 112-117.
22. Hong-Nerng HO, Ming-Yih WU, Shee-Van Chea, Kuang-Han Chao, Chin-Der Chen, Yu-Shih Yang. Total antioxidant statue and nitric oxide do not increase in pretoneal fluids from women with endometriosis. *Human Reprod* 1997; **12**: 2810-2815.
23. Bedaiwy M, Dashok Agrawal, Tommaso Falcone MD. Role of total antioxidant capacity in the differential growth of human embryos invitro. *Fertility and Sterility* 2001; **86**(2): 304-309.
24. Yildirim B, Demir S, Temur L, Erdemir R, Kaleli B. Lipid peroxidation in follicular fluid of women with polycystic ovary syndrome during assisted reproductive cycles. *J Reprod Med* 2007; **52**(8): 721-726.
25. Chany J, Blazek AF, Kveft. Inhibition OR Platelet and neutrophil phospholipase AZ by hydroxy eicosutetraenoic acids (HETES). *Brochem Pharmacol* 1985; **34**: 1571-1575.
26. Teiber JF, Billeke SS, La Du BN, Draganov DI. Strogen sters as substrates for human paraoxonase. *Arch biochem Biophys* 2007; **461**: 24-29.
27. Plachot M, Belaisch-Allart J, Chouraqui A, Tesquir A, Serkine AM, Agaheyrached F. Oocyte and embryo quality in poly cystic ovary syndrome. *Gynecology Obstet Fertil* 2003; **31**: 350-354.