Histological effects of chronic multiple stress on rat ovary

L. Karimi-Kashef* SA. Farzam** F. Rajaei***

*M.Sc. in Anatomy, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran.
**Assistant Professor of Pathology, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran
***Professor of Histology and Embryology, Cellular and Molecular Research Center, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

Abstract

Background: Investigating effects of stress in animal models may suggest clinical treatments or prevention protocols for effects of stress in humans.

Objective: The aim of this study was to determine the histological effects of chronic multiple stress on rat ovary.

Methods: This experimental study was conducted in 18 adult female Wistar rats that were randomly divided into two equal groups in Qazvin University of Medical Sciences during 2014. The mice were exposed to different stress including food deprivation, water deprivation, immobility at 4^{o}c, forced swimming, and isolation for 10 days in the under stress group while the mice in the control group were kept in their cages without any intervention. After the intervention period, the mice were anesthesized, the ovary of the animals were removed and weighed, and the ovary samples were prepared for light microscopic study. The number and diameter of corpus luteum, and the number of antral and preantral follicles were determined using Image Tool software. Data were analyzed using T-test.

Findings: The mean number and diameter of corpus luteum significantly reduced in the under stress group compared to the control group. The mean number of antral and preantral follicles significantly reduced in the under stress group compared to the control group.

Conclusion: With regards to the results, it seems that chronic multiple stress can have negative effects on rat ovary by reducing the diameter and number of corpus luteum and the number of antral and preantral follicles.

Keywords: Food Deprivation, Rats, Corpus Luteum, Ovarian Follicle

Citation: Karimi-Kashef L, Farzam SA, Rajaei F. Histological effects of chronic multiple stress on rat ovary. J Qazvin Univ Med Sci. 2015; 19 (5): 10-16.

Corresponding Address: Farzad Rajaei, Cellcular and Molecular Research Centre, Qazvin University of Medical Sciences, Bahonar Blvd., Qazvin, Iran
Email: farzadraj@yahoo.co.uk
Tel: +98-281-33324970
Received: 14 Mar 2015
Accepted: 11 Jul 2015

اثرات بافت شناختی تنش مزمن چندگانه بر روی تخمدان موش صحرایی

لیلا کریمی کاشف* دکتر سید امیر فرزام** دکتر فرزاد رجایی***

* کارشناس ارشد علوم تشریحی دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران
** استادیار آسیب‌شناسی دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران
*** استاد بافت‌شناسی و جنین‌شناسی مرکز تحقیقات سلولی و ملکولی دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران

آدرس نویسنده مسؤول: قزوین، بلوار شهید باهنر، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، مرکز تحقیقات سلولی و ملکولی، تلفن ۳۳۳۲۴۹۷۰- ۰۲۸
Email: farzadraj@yahoo.co.uk
تاریخ دریافت: ۹۳/۱۲/۲۳ تاریخ پذیرش: ۹۴/۴/۲۰

چکیده

زمینه: بررسی اثرات تنش در مدل‌های حیوانی ممکن است بتواند راهی برای درمان های بالینی یا جلوگیری از اثرات تنش در انسان پیشنهاد کند.

هدف: مطالعه به منظور تعیین اثرات تنش مزمن چندگانه بر روی تخمدان موش صحرایی انجام شد.

روش بررسی: این مطالعه تجربی در سال ۱۳۹۳ در دانشگاه علوم پزشکی قزوین بر روی ۱۸ سر موش صحرایی ماده و بالغ از نژاد ویستار انجام شد که به صورت تصادفی به ۲ گروه مساوی تقسیم شدند. گروه تنش به مدت ۱۰ روز در معرض تنش‌های مختلف به صورت محرومیت غذایی، محرومیت آب، بی‌حرکتی در دمای ۴ درجه، شنای اجباری و منزوی شدن قرار گرفتند، در حالی که موش‌های گروه شاهد بدون هیچ اختلالی در قفس‌های خود نگه‌داری شدند. پس از مدت مورد نظر، موش‌ها بی‌هوش، تخمدان آن‌ها جدا و وزن و نمونه‌هایی از تخمدان پس از رنگ‌آمیزی برای مطالعه با میکروسکوپ نوری آماده شد. تعداد و قطر جسم زرد، تعداد فولیکول‌های حفره ای و پیش حفره ای با برنامه نرم‌افزاری Image Tool تعیین و داده‌ها با آزمون تی تحلیل شدند.

یافته‌ها: میانگین تعداد و قطر جسم زرد کاهش معنی‌داری را در گروه‌های تحت تنش نسبت به شاهد نشان داد ($P<۰/۰۰۱$ و $P<۰/۰۱۵$). میانگین تعداد فولیکول‌های حفره ای و پیش حفره ای تخمدان نیز در گروه‌های تحت تنش در مقایسه با گروه شاهد کاهش معنی‌داری را نشان داد ($P<۰/۰۰۱$ و $P<۰/۰۰۱$).

نتیجه‌گیری: با توجه به یافته‌ها، به نظر می‌رسد تنش مزمن چندگانه با کاهش تعداد و قطر جسم زرد و تعداد فولیکول‌های حفره ای و پیش حفره ای می‌تواند اثرات منفی بر تخمدان موش صحرایی داشته باشد.

کلیدواژه‌ها: محرومیت غذایی، موش‌های صحرایی، جسم زرد، فولیکول تخمدانی

مقدمه:

تنش به عنوان آشفتگی روحی یا عاطفی و یا دگرگونی تعریف می شود که در پاسخ به اثرات عوامل زیان‌آور خارجی و همچنین محرک یا موقعیت ایجادکننده آن، رخ می‌دهد.[۱] تنش ترکیبی در دوران بارداری می‌تواند باعث اختلال در یادگیری حرکتی و تغییر پاسخ به درد در فرزندان شود.[۲و۳] آشفتگی فیزیولوژیک اووسیت در دوره طولانی تکامل فولیکولی پستانداران، به تولید اووسیتی با کاهش توان لقاح و پشتیبانی مراحل بعدی تکامل منجر می‌شود.[۴و۵] این که زنان تا چه اندازه در معرض خطر عوامل تنش‌زا هستند بی‌شک به عواملی از قبیل میزان، تناوب و طول مدت قرارگیری در معرض تنش بستگی خواهد داشت و شاید به مراحل بحرانی تکامل مانند قبل از تولد و قبل از بلوغ نیز وابسته باشد.

تنش‌های مزمن می‌توانند تا حدی در به هم خوردن عملکرد چرخه طبیعی تخمدان مداخله کنند و عملکرد غده فوق کلیه را تغییر دهند.[۶] عوامل تنش‌زا با توجه به مرحله بلوغ، می‌توانند باعث شتاب دادن یا به تأخیر انداختن تولید مثل شوند. زمان حوادثی از قبیل بلوغ،

تحلیل، رشد تخمک‌ها و تخمک‌گذاری تحت تأثیر پاسخ‌های متغیر فیزیولوژیکی به عوامل تنش‌زا قرار می‌گیرند.[۷] برهم‌زننده‌های غدد داخلی دسته‌ای از عوامل محیطی هستند که می‌توانند از طریق تغییر در تکامل و عملکرد تخمدان به ویژه اثرات استروژنی، ضد استروژنی، آندروژنی و ضد آندروژنی بر باروری زنان مؤثر باشند.[۸]

تنش حاد ممکن است در زنانی که سطح سرمی استرادیول آن‌ها مناسب است و یک یا چند فولیکول بزرگ دارند، تخمک‌گذاری را تحریک کند.[۹] عملکردهای تولید مثلی از قبیل ترشح هورمون لوتینزه‌کننده (LH) و رفتار جنسی می‌توانند تحت تأثیر تجربه‌های پُر تنش قرار گیرند که به اثرات مهاری بر فیزیولوژی و رفتار تولید مثلی زنان منجر می‌شود. اعتقاد بر این است که اثر مهاری تنش بر محور هیپوتالاموس- هیپوفیز- غدد تولید مثلی به خصوص در تنش مزمن به طور عمده از افزایش میزان هورمون آزادکننده کورتیکوتروپین و گلوکوکورتیکوئیدها ناشی شود. ورزش زیاد که به عنوان تنش فیزیولوژیکی است، بسیاری از مشکلات تولید مثلی نظیر تأخیر در شروع اولین قاعدگی، قطع کامل قاعدگی و ناباروری را به همراه دارد.[۱۰] از آنجا که مطالعه‌ای یافت نشد که اثرات تنش مزمن متنوع را بر روی بافت تخمدان موش یا انسان نشان دهد، مطالعه حاضر به منظور تعیین اثرات تنش مزمن چندگانه بر روی تخمدان موش صحرایی انجام شد.

❋مواد و روش‌ها:

در این مطالعه تجربی که در سال ۱۳۹۳ در دانشگاه علوم پزشکی قزوین انجام شد، تعداد ۱۸ سر موش صحرایی ماده نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۰۰ تا ۳۰۰ گرم به صورت تصادفی به دو گروه مساوی تنش و شاهد تقسیم شدند. گروه شاهد بدون هیچ اختلالی در قفس‌های خود در طول ۱۰ روز درمان شدند. در حالی که موش‌های گروه تنش به مدت ۱۰ روز در معرض انواع مختلف تنش قرار گرفتند (جدول شماره ۱).

جدول ۱- عوامل تنش‌زای چندگانه ترتیبی به کار رفته در مطالعه

روزها	موارد استفاده شده	دوره
۱	شنای اجباری	۱۰ دقیقه
۲	محدودیت	۳ ساعت
۳	محرومیت آب در دمای ۳ درجه	۲۴ ساعت
۴	بی‌حرکتی در دمای ۴ درجه	۱/۵ ساعت
۵	انزوا	۲۴ ساعت
۶	محرومیت غذا	۲۴ ساعت
۷	محرومیت آب	۲۴ ساعت
۸	بی‌حرکتی در دمای ۴ درجه	۲ ساعت
۹	محدودیت غذا	۲۴ ساعت
۱۰	شنای اجباری	۱۰ دقیقه

به منظور به حداقل رساندن قابلیت پیش‌بینی تنش‌ها، در زمان‌های مختلفی از روز از آن‌ها استفاده شد. بی‌حرکتی با قرارگیری در محفظه پلاستیکی لوله‌ای شکلی به ابعاد ۶×۲۱ سانتی‌متر انجام شد؛ به طوری که حیوان‌ها قادر به حرکت نبودند. شنای اجباری با قرار دادن حیوان در مخزن شیشه‌ای با اندازه‌های ۴۴×۳۳×۳۰ سانتی‌متر و با عمق ۲۲ سانتی‌متر آب در دمای۲±۲۳ درجه سانتی‌گراد انجام شد. غذای مناسب و آب کافی در اختیار حیوان‌های هر دو گروه قرار گرفت.

پس از پایان ۱۰ روز موش‌های هر دو گروه با تزریق کتامین (۶۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) و زایلازین (۶ میلی‌گرم در کیلوگرم) بی‌هوش شدند پس از ثابت کردن به وسیله قیچی و گیره، با استفاده از تیغ بیستوری و قیچی یک شکاف طولی در امتداد خط میانی بدن ایجاد شد. سپس با دقت فراوان و سریع تخمدان جدا و به قطعه‌های کوچک تقسیم و به مدت ۷۲ ساعت جهت ثابت شدن در پارافرمالدئید ۱۰ درصد (PH=۷/۲) قرار داده شد. مراحل پاساژ بافتی توسط دستگاه پردازش بافتی شامل ثابت کردن، آب‌گیری، شفاف‌سازی و آغشتگی انجام شد. سپس از نمونه‌ها توسط دستگاه میکروتوم دوار برش‌های پی در پی میکرونی مقطع‌گیری شد. در نهایت از هر نمونه ۵

برش (۱،۳،۵،۷،۹) به منظور جلوگیری از تکرار شمارش متغیرهای مورد مطالعه انتخاب و جهت مشاهده بافت‌شناختی با میکروسکوپ نوری توسط هماتوکسیلین و ائوزین رنگ‌آمیزی شدند. سپس با دوربین نیکون از برش‌های انتخاب شده عکس‌برداری شد و تعداد فولیکول‌های حفره‌ای و پیش حفره‌ای، جسم زرد و قطر جسم زرد با برنامه نرم‌افزار Image Tool تعیین شد. داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار ارایه و با نرم‌افزار آماری SPSS ۱۶ و آزمون تی تحلیل شدند. P<۰/۰۵ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

❋یافته‌ها:

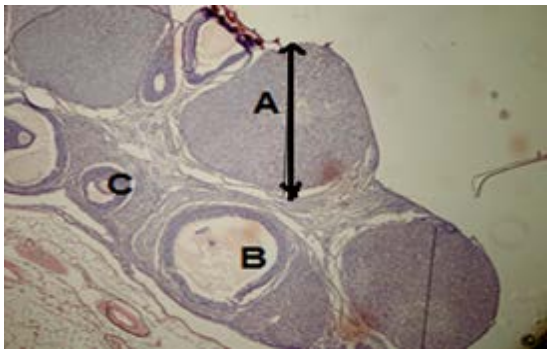
میانگین وزن تخمدان و قطر جسم زرد برحسب میکرون (فاصله قاعده یک سلول تا قاعده سلول روبه‌روی آن در مقطع عرضی) در گروه تنش در مقایسه با گروه شاهد تفاوت معنی‌داری را نشان داد (P<۰/۰۱۵) (جدول شماره ۲).

جدول ۲- مقایسه میانگین قطر و تعداد جسم زرد، تعداد فولیکول حفره‌ای و پیش حفره‌ای و وزن تخمدان دو گروه

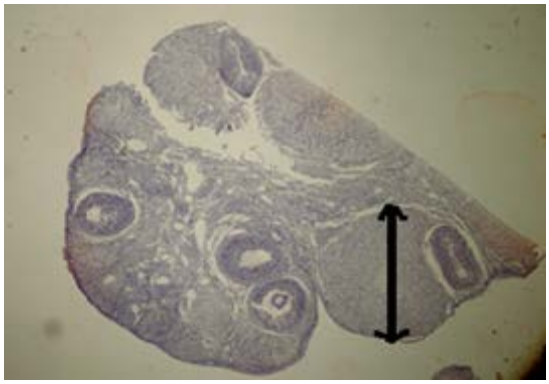
گروه / متغیر	تنش	شاهد	سطح معنی‌داری
قطر جسم زرد (میکرون)	۴۹۴/۵۱±۲۵۶	۴۱۸/۸۸±۲۵۵	<۰/۰۱۵
تعداد جسم زرد	۲/۸۲±۱/۳۵	۲±.۸۴	<۰/۰۰۱
تعداد فولیکول حفره‌ای	۲/۶۱±۱/۵	۱/۶۹±۰/۷۷	<۰/۰۰۱
تعداد فولیکول پیش حفره‌ای	۲۳/۳۵±۷/۰۷	۱۴/۴۲±۴/۹۱	<۰/۰۰۱
وزن تخمدان	۰/۰۵۵±۰/۰۳	۰/۰۲۳±۰/۰۱	<۰/۰۱۵

همچنین تفاوت معنی‌داری در میانگین تعداد فولیکول‌های حفره‌ای و پیش حفره‌ای و تعداد جسم زرد بین گروه‌های تنش و شاهد وجود داشت (P<۰/۰۰۱) (شکل شماره ۱).

الف



ب



شکل ۱- نمای میکروسکوپی تخمدان موش سوری رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین و بزرگ‌نمایی×۴۰

الف) گروه شاهد ب) گروه تنش A: جسم زرد B: فولیکول حفره‌ای C: فولیکول پیش حفره‌ای

❋بحث و نتیجه‌گیری:

این مطالعه تفاوت معنی‌داری را در میانگین تعداد فولیکول‌های حفره‌ای و پیش حفره‌ای و جسم زرد بین گروه‌های تحت تنش و شاهد نشان داد، به طوری که تنش باعث کاهش قطر و تعداد جسم زرد و کاهش تعداد فولیکول‌ها شد. نتایج مطالعه حاضر با بررسی‌های ساندرز و بروس همسو نبود؛ آن‌ها نشان دادند که ارتباط معنی‌داری بین حالت‌های خلقی و هورمون‌های تنش (آدرنالین، نورآدرنالین و کورتیزول) و طول مرحله فولیکولار و تنش در زنان غیرحامله وجود ندارد.[۱۱] این در حالیست که گارسیا و همکاران نشان دادند تنش‌های محیطی در نوعی میمون ماده باعث تغییراتی در طول چرخه قاعدگی شد که این تغییرات بیش‌تر در طول مرحله

فولیکولار نسبت به مرحله زرده‌ای بود.[۱۲] اما کاجانتی و همکاران نشان دادند که استفاده از دستور کار استاندارد تنش در زنان موجب افزایش پاسخ مرحله زرده‌ای می‌شود.[۱۳] در یک مطالعه تنش اجتماعی به مدت ۵ هفته در همستر باعث افزایش میزان پروژسترون خون در مقایسه با گروهی شد که به تنهایی در قفس بودند. تعداد و اندازه اجسام زرد در شرایط ازدحام افزایش یافت که به نظر می‌رسد در پاسخ به افزایش میزان پروژسترون در این حیوان‌ها باشد. همچنین آن‌ها در بررسی سایر مطالعه‌ها نشان دادند که تنش اجتماعی در موش‌ها موجب افزایش فعالیت غدد آدرنال، کاهش میزان گونادوتروپین‌های پلاسما و توقف فعالیت چرخه تخمدان می‌شود؛ همچنین در موش‌های ماده‌ای که تنها بودند و به گروه‌های ۸ تایی منتقل شدند، باعث افزایش میزان پروژسترون شد.[۱۴]

در مطالعه حاضر تعداد فولیکول‌های حفره‌ای و پیش حفره‌ای و جسم زرد و قطر آن کاهش یافت که علت آن می‌تواند تفاوت در نوع تنش یا نوع موش باشد؛ به طوری که در مطالعه حاضر تنش به صورت چندگانه مزمن و موش از نژاد صحرایی ویستار بود، ولی در مطالعه فریتزچ و همکاران تنش به صورت اجتماعی و حیوان همستر بود.[۱۴] بررسی‌های مارچلویسکا و همکاران نشان داد که در موش‌های ماده، اندازه جسم زرد و میزان پروژسترون پلاسما در شرایط ازدحام در مقایسه با حیوان‌های تحت شوک الکتریکی پا بیش‌تر بود.[۱۵] در یک مطالعه نیز تزریق هورمون ادنوکورتیکوتروپیک (ACTH) در خوک در طول پرواستروس موجب طولانی‌تر کردن مرحله استروس شد و به رشد فولیکولی و تخمک‌گذاری آسیب زد؛ همچنین در مرحله استروس باعث افزایش میزان کورتیزول و پروژسترون شد و بر زمان تخمک‌گذاری یا تکامل رویان تأثیری نداشت. تعداد تخمک‌ها و رویان‌ها در مقایسه با گروه شاهد به طور معنی‌داری کم‌تر بود.[۱۶] براندت و همکاران نشان دادند که تزریق هورمون ادنوکورتیکوتروپیک در خوک تفاوتی در زمان شروع ورود چرخه تنش به تخمک‌گذاری ایجاد نکرد. فاصله بین حداکثر مقدار استرادیول و هورمون لوتینزه‌کننده (LH) را تا تخمک‌گذاری در مقایسه با گروه شاهد طولانی کرد و با کاهش زودتر در استرادیول همراه بود. همچنین غلظت کورتیزول و پروژسترون به طور معنی‌داری بالاتر بود.[۱۷] چاپمن و همکاران در سال ۲۰۰۰ نشان دادند که تنش اجتماعی در موش‌های ماده با افزایش میزان استروژن و کورتیکواسترون می‌تواند باعث نقص در لوتئولیز طبیعی تخمدان به صورت لوتئولیز ناقص و طولانی مدت شود و علت آن ممکن است سرکوب سلول‌های ایمنی باشد که در لوتئولیز طبیعی نقش دارند.[۱۸و۱۹] نشان داده شده است که شکل تخمدان به ارتباط بین جسم سلولی پره گانگلیون سیستم سمپاتیک تخمدان و سیستم اتونوم بستگی دارد.[۲۰و۲۱] همچنین تنش مزمن به واسطه سلول‌های لوکوس سرلئوس باعث افزایش ضخامت لایه تکای ثانویه و همچنین افزایش تعداد فولیکول‌های کیستیک و افزایش ضخامت لایه گرانولوزای فولیکول اولیه می‌شود.[۲۲و۲۳] تنش به عنوان عامل قوی در رهایی هورمون آزادکننده کورتیکوتروپین (CRH) از هیپوتالاموس است.[۲۴] گیرنده‌های CRH روی سلول‌های گرانولوزا و تکا دیده می‌شوند و ساخت استروئیدها را کاهش می‌دهند.[۲۵و۲۶] CRH ممکن است باعث ایجاد مشکلاتی در عملکرد تخمدان شود به خصوص در خانم‌هایی که تحت تنش‌های فیزیولوژیک هستند.[۲۷] در حالت طبیعی گونه‌های اکسیژن واکنشی (Reactive Oxygen Species) و آنتی اکسیدان در تعادل هستند، ولی در زمان تنش این تعادل به هم می‌خورد و تنش اکسیداتیو (OS) ایجاد می‌شود.[۲۸و۲۹] استروژن اثرات آنتی‌اکسیدانی دارد که کمبود آن در طول تنش باعث افزایش تولید تنش اکسیداتیو و به دنبال آن مشکلاتی در تقسیم سلولی جنین و لانه گزینی می‌شود و احتمال سقط افزایش می‌یابد.[۳۰و۳۱] به طور کلی به نظر می‌رسد تنش مزمن چندگانه با کاهش تعداد و قطر جسم زرد، تعداد فولیکول‌های حفره‌ای و پیش حفره‌ای می‌تواند اثرات منفی بر تخمدان موش صحرایی داشته باشد.

❋سپاس‌گزاری:

از شورای پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی قزوین برای تأمین هزینه انجام این طرح پژوهشی تقدیر می‌شود.

❋مراجع:

1. Selye H. Forty years of stress research: principal remaining problems and misconceptions. Can Med Assoc J 1976 Jul; 115 (1): 53-6.

2. Sofiabadi M, Rajaei F, Azhdari-Zarmehri H, Atashgar E, Ghadimi F. The effects of separate and combined stress during pregnancy on motor learning of offspring of rats. J Kerman Univ Med Sci 2014; 21 (6): 532-9. [In Persian]

3. Sofiabadi M, Haghdoost Yazdi H, Abbasnezhad AA, Amoli N, Ghadimi F. Effect of prenatal stresses on the response to pain in rats. Horizone of Medical Sciences, 2014; 20 (1): 53-7.

4. Yildiz A, Hayirli A, Okumus Z, Kaynar O, Kisa F. Physiological profile of juvenile rats: effects of cage size and cage density. Lab Anim (NY) 2007 Feb; 36 (2): 28-38.

5. Monteiro F, Abraham ME, Sahakari SD, Mascarenhas JF. Effect of immobilization stress on food intake, body weight and weights of various organs in rat. Indian J Physiol Pharmacol 1989 Jul-Sep; 33 (3): 186-90.

6. Armstrong DT. Environmental stress and ovarian function. Biol Reprod 1986 Feb; 34 (1): 29-39.

7. Schreck CB, Contreras-Sanchez W, Fitzpatrick MS. Effects of stress on fish reproduction, gamete quality, and progeny. Aquaculture 2001 Jun; 197 (1): 3-24.

8. Uzumcu M, Zachow R: Developmental exposure to environmental endocrine disruptors: consequences within the ovary and on female reproductive function. Reprod Toxicol 2007 Apr-May; 23 (3): 337-52.

9. Tarín JJ, Hamatani T, Cano A. Acute stress may induce ovulation in women. Reprod Biol Endocrinol 2010 May 26; 8: 53.

10. Miyashita T, Yamaguchi T, Motoyama K, Unno K, Nakano Y, Shimoi K. Social stress increases biopyrrins, oxidative metabolites of bilirubin, in mouse urine. Biochem Biophys Res Commun 2006 Oct 20; 349 (2): 775-80.

11. Sanders KA, Bruce NW. Psychosocial stress and the menstrual cycle. J Biosoc Sci 1999 Jul; 31 (3): 393-402.

12. Garcia C, Lee PC, Rosetta L. Impact of social environment on variation in menstrual cycle length in captive female olive baboons (Papio anubis). Reproduction 2008 Jan; 135 (1): 89-97.

13. Kajantie E, Phillips DI. The effects of sex and hormonal status on the physiological response to acute psychosocial stress. Psychoneuroendocrinology 2006; 31 (2): 151-78.

14. Fritzsche P, Riek M, Gattermann R. Effects of social stress on behavior and corpus luteum in female golden hamsters (Mesocricetus auratus). Physiol Behav 2000 Mar; 68 (5): 625-30.

15. Marchlewska-Koj A, Pochron E, Galewicz-Sojecka A, Galas J. Suppression of estrus in female mice by the presence of conspecifics or by foot shock. Physiol Behav 1994 Feb; 55 (2): 317-21.

16. Einarsson S, Brandt Y, Rodriguez-Martinez H, Madej A. Conference lecture: influence of stress on estrus, gametes and early embryo development in the sow. Theriogenology 2008 Nov; 70 (8): 1197-201.

17. Brandt Y, Einarsson S, Ljung A, Lundeheim N, Rodríguez-Martínez H, Madej A. Effects of continuous elevated cortisol

concentrations during oestrus on concentrations and patterns of progesterone, oestradiol and LH in the sow. Anim Reprod Sci 2009 Jan; 110 (1-2): 172-85.
18. Chapman JC, Christian JJ, Pawlikowski MA, Yasukawa N, Michael SD. Female house mice develop a unique ovarian lesion in colonies that are at maximum population density. Proc Soc Exp Biol Med 2000 Oct; 225 (1): 80-90.
19. Cheong AW, Lee YL, Liu WM, Yeung WS, Lee KF. Oviductal microsomal epoxide hydrolase (EPHX1) reduces reactive oxygen species (ROS) level and enhances preimplantation mouse embryo development. Biol Reprod 2009 Jul; 81 (1): 126-32.
20. Gerendai I, Toth IE, Boldogkoi Z, Medveczky I, Halasz B. Neuronal labeling in the rat brain and spinal cord from the ovary using viral transneuronal tracing technique. Neuroendocrinology 1998 Oct; 68 (4): 244-56.
21. Dissen GA, Romero C, Paredes A, Ojeda SR. Neurotrophic control of ovarian development. Microsc Res Tech 2002 Dec 15; 59 (6): 509-15.
22. Greiner M, Paredes A, Araya V, Lara HE. Role of stress and sympathetic innervation in the development of polycystic ovary syndrome. Endocrine 2005 Dec; 28 (3): 319-24.
23. Luza SM, Arancibia S, Venegas M, Lara HE. Thyrotropin-releasing hormone as a mediator of the central autonomic pathway controlling ovarian function. Neuroendocrinology 2003 Apr; 77 (4): 273-81.
24. Passerin AM, Cano G, Rabin BS, Delano BA, Napier JL, Sved AF. Role of locus coeruleus in foot shock-evoked Fos expression in rat brain. Neuroscience 2000; 101 (4): 1071-82.
25. Mastorakos G, Scopa CD, Vryonidou A, Friedman TC, Kattis D, Phenekos C, et al. Presence of immunoreactivecorticotropin-releasing hormone in normal and polycystichumanovaries. J Clin Endocrinol Metab 1994 Oct; 79 (4): 1191-7.
26. Ghizzoni L, Mastorakos G, Vottero A, Barreca A, Furlini M, Cesarone A, et al. Corticotropin-releasing hormone (CRH) inhibits steroid biosynthesis by cultured human granulosa-lutein cells in a CRH and interleukin-1 receptor-mediated fashion. Endocrinology 1997 Nov; 138 (11): 4806-11.
27. Bromberger JT, Matthews KA, Kuller LH, Wing RR, Meilahn EN, Plantinga P. Prospective study of the determinants of age at menopause. Am J Epidemiol 1997 Jan 15; 145 (2): 124-33.
28. Inoue M, Sato EF, Nishikawa M, Park AM, Kira Y, Imada I, et al. Mitochondrial generation of reactive oxygen species and its role in aerobic life. Curr Med Chem 2003 Dec; 10 (23): 2495-505.
29. Agarwal A, Gupta S, Sharma RK. Role of oxidative stress in female reproduction. Reprod Biol Endocrinol 2005 Jul 14; 3: 28.
30. Sugino N, Karube-Harada A, Taketani T, Sakata A, Nakamura Y. Withdrawal of ovarian steroids stim lates prostaglandin F2 alpha production through nuclear factor-kappaB activation via oxygen radicals in human endometrial stromal cells: potential relevance to menstruation. J Reprod Dev 2004 Apr; 50 (2): 215-25.
31. Agarwal A, Gupta S, Sekhon L, Shah R. Redox csider tions in female reproductive function and assisted reproduction: From molecular mechanisms to health im plication. Antioxid Redox Signal 2008 Aug; 10 (8): 1375-403.