مجله دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی – درمانی شهید صدوقی یزد
دوره چهاردهم ، شماره سوم ، پاییز ۱۳۸۵، صفحات ٦١-٥٦

فعالیت فسفاتازهای مایع فولیکولی و همبستگی آن ها با سطح سرمی هورمون های استروئیدی و گنادوتروپینها

دکتر مژده صالح نیا*[1]، دکتراشرف آل یاسین[2]، دکترمرضیه آقا حسینی[3]، دکترلیلی صفدریان[4]، دکترافسانه خادمی[5]، دکترحجت ا...سعیدی سعید آبادی[6]، زهرا رضائیان[7]، شهرام بیرانوند[8]

چکیده

مقدمه: با توجه به اینکه فیزیولوژی تخمدان با تغییرات هورمونی و بیوشیمیایی مایع فولیکلولی مرتبط است هدف از این بررسی ارتباط فاکتور سن و تعداد فولیکول و نیز سطوح هورمونهای LH و FSH سرمی با میزان فعالیت آنزیم های اسید (ACP) و آلکالین فسفاتاز(ALP) مایع فولیکولی در زنان تحت درمان پروتکل تحریک تخمک گذاری می باشد .

روش بررسی: پس از جمع آوری نمونه های مایع فولیکولی در ۱۹ خانم تحت درمان نازایی و محاسبه تعداد فولیکولها به منظور محاسبه فعالیت مخصوص آنزیم های آلکالین و اسید فسفاتاز ابتدا مقدار پروتئین کل مایع سنجیده شد و سپس میزان فعالیت آنزیم محاسبه و بعد نسبت فعالیت بر مقدار پروتئین به عنوان شاخص فعالیت آنزیم در نظر گرفته شد. به منظور بررسی هورمونهای پروژسترون، استرادیول،LH و FSH در صبح روز puncture نمونه های سرمی افراد تهیه شد و مقادیر هورمونها تعیین شد. با استفاده از آنالیز نا پارامتری ارتباط بین فاکتورهای مختلف با سطح فعالیت آنزیم های ACP وALP بررسی شد.

نتایج: نتایج این تحقیق نشان داد که ALP فقط با سطح هورمونهای پروژسترون ارتباط دارد (P=0.001) و با دیگر فاکتورها ارتباط ندارد اماACP هم با تعداد فولیکولها(P=0.01) و هم با سطح هورمونهای استرادیول و پروژسترون ارتباط دارد (P=0.05) اما با سن بیمار و نیز سطوح هورمونهای دیگر ارتباط ندارد.

نتیجه گیری: آنزیمACP مایع فولیکولی بیشتر متأثر از هورمونهای تخمدانی است و تغییرات این آنزیم احتمالا می تواند باعث تغییر در ریز محیط فولیکولی و بالتبع تکوین تخمک ها بشود.

واژه های کلیدی: آلکالین فسفاتاز، اسید فسفاتاز، مایع فولیکولی ، استرادیول، پروژسترون، گنادوتروپین

مقدمه

تاکنون مکانیسم ملکولی تکوین فولیکول کشف نشده است، با این حال، آنزیم‌های فسفاتاز در رشد و آترزی فولیکول نقش دارند[1،2].

آلکالین فسفاتاز (ALP) گلیکو پروتئین سطح سلول است که در هیدرولیز استرهای خارج سلولی نقش داشته و به طور گسترده ای در تمام بافتهای مهره داران از جمله ارگانهای تناسلی نظیر رحم و تخمدان پراکنده است[3،4]. وجود ALP در سلولهای تکا و اندوتلیال موجود در فولیکولها و نیز مایع فولیکولی پستانداران می تواند اهمیت این آنزیم در انتقال فعال مواد را نشان بدهد[2].

اسید فسفاتاز (ACP) یکی از آنزیم های لیزوزومی است که در فعالیتهای تخمدانی مانند از سرگیری مجدد تقسیم میوز، شکستن

* ۱- نویسنده مسئول: دانشیار گروه علوم تشریح، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، ص پ ۱٤۱۱۵-۱۱۱ تلفن: ۸۸۰۱۱۰۰۱ (داخلی ۳۵٦۲-۳۸۷۱)
نمابر :٤٤٠٦٥٠٠٨٨ Email: mogdeh@ dr.com
۲،۳،٤،٥،٦- دانشیار مرکز ناباروری بیمارستان شریعتی- تهران
۷- کارشناس مرکز ناباروری بیمارستان شریعتی - تهران
۸- کارشناس گروه علوم تشریح، دانشگاه تربیت مدرس- تهران
تاریخ دریافت : ۱۳۸٤/۹/۱۰ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۵/٦/۲۳

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2025-07-15]

ژرمینال وزیکول و لوتئولیز شرکت دارد[۵]. اما از نظر اهمیت و همچنین تغییرات این آنزیم در مراحل مختلف فعالیت تخمدانی نظرات متفاوتی ارایه شده است [۷،۶] به عنوان مثال دیده شده که در فولیکولهای تخمدانی موجود در محیط کشت، لیزوزومها در اطراف ژرمینال وزیکول تجمع یافته که این افزایش در زمان افزایش LH ، مشخص‌تر بوده و فعالیت لیزوزوم قبل از شکسته شدن ژرمینال وزیکول را به عنوان پاسخی به فاکتورهای محیطی در از سرگیری میوز در فولیکولها دانسته اند. همچنین نشان داده شده که آنزیمهای لیزوزومی به خصوص ACP با فعالیت اتوفاژی و هتروفاژی باعث هضم جسم زرد و تخریب سلولهای گرانولوزا در فولیکول آترتیک می‌شوند[۵].

Henderson و همکارانش در گزارش سال ۱۹۹۰ خود به طور متفاوتی اعلام داشتند که مقادیر بالای فعالیت آنزیمهای فسفاتاز مایع فولیکولی نمی تواند یک مارکر مناسبی از آترزی فولیکولها باشد اما می تواند به عنوان یکی از ویژگیهای فولیکولهای آنترال سالم باشد[۶]. اما بر خلاف او Rosules-Torres در سال ۲۰۰۰ مقدار فعالیت آنزیمهای لیزوزومی به خصوص ALP در مایع فولیکولی را به عنوان یک مارکر مرگ سلولی از نوع نکروز مطرح کردند[۱].

تحقیقات نشان داده است که بروز آنزیم‌ها از جمله آلکالین فسفاتاز تحت کنترل هورمونهای تخمدانی است و تغییرات فعالیت ALP در واکنش نسبت به هورمونهای تخمدانی استروژن و پروژسترون است[۸،۹].

Good و همکارانش ثابت کردند که بین فعالیت ALP و تولید استروئیدها در تخمدان رابطه‌ای است، آنها اظهار داشتند که فعالیت ALP باعث غیرفعال شدن گیرنده استروئیدها می‌شود و فعالیت ALP با پروژسترون، Androstendione ، Dehydroepiandrosterone و Testosterone رابطه فیدبکی مثبتی داشته اما با استرادیول ندارد[۱۰].

در زمینه تأثیر تحریک تخمک‌گذاری بر ساختار بیوشیمیایی تخمدان هنوز اطلاعات کافی در دسترس نمی‌باشد ولی آنچه مسلم است این است که این روش می‌تواند بر محیط بیوشیمیایی تخمدان تأثیرگذار باشد [۱۱،۱۲].

تحقیقات دیگر نشان داده که فعالیت ALP در مایع فولیکولار تخمدان موش بعد از به کارگیری گنادوتروپین‌های اگزوژنوس‌های به کار برده شده نظیر hCG یا LH افزایش می‌یابد[۱۳،۱۴]. همچنین Van kampen ثابت کرد که فعالیت ALP در مایع فولیکولار گاو تحریک تخمک‌گذاری شده با hCG نسبت به گروه کنترل افزایش یافت و مشخص شد که غلظت بالای گنادوتروپین‌ها ممکن است باعث افزایش فعالیت ALP فولیکولی شود[۱۵]. در سال ۱۹۸۷ ، Kleinman و همکارانش با استفاده از بررسی‌های بیوشیمیایی مایع فولیکولی ۵۲ زن، مشخص کردند که آنزیم ACP در بلوغ تخمک و همچنین پدیده تخمک‌گذاری نقش مهمی دارد بدین صورت که میزان فعالیت اسید فسفاتاز در مایع فولیکولار تخمدانهایی که تخمک‌گذاری در آنها انجام نشده بود، به نسبت گروه کنترل در سطح پایینی قرار داشت[۱۱] و نتیجه گرفتند که مقادیر اسید فسفاتاز مایع فولیکولی می تواند نشانگر بلوغ تخمکها باشد و زمان مناسب puncture فولیکولها را در ارتباط با تزریق گنادوتوپین ها نشان بدهد.

در سال ۱۹۹۶ ، Banos و همکارانش با استفاده از بررسی‌های بیوشیمیایی، تأثیر تحریک تخمک‌گذاری را بر فعالیت اسیدفسفاتاز فولیکولهای Pre-ovulatory رت بررسی کردند. نتایج تحقیق نشان داد که فعالیت ACP در واکنش‌هایی نظیر رشد و بلوغ فولیکول، آترزی فولیکول و حتی تغذیه تخمک بارور شده نقش مهمی دارد به‌طوری که فعالیت زیاد ACP در فولیکولهای Pre-ovulatory و به ویژه سلولهای تکای فولیکول نشانگر نقش این آنزیم در زمینه تخمک‌گذاری است. همچنین فعالیت ACP هم در سلولهای تکا و هم در سلولهای گرانولوزای تخمدان پس از تحریک تخمک‌گذاری افزایش می‌یابد[۱۶]. نتایج تحقیقات دیگر نیز نشان داده است که تحریک تخمک گذاری باعث افزایش فعالیت آنزیم اسید فسفاتاز تخمدان شده و غلظت بالای گنادوتروپین ها احتمالاً فعالیت آلکالین فسفاتاز فولیکولی را افزایش می دهد و می تواند باعث تغییرات متابولیکی تخمدان و نقایص بیوسنتزی تخمک و افزایش میزان مرگ و میر فولیکولهای پره آنترال شود و بر روند حاملگی نیز تأثیر منفی

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2025-07-15]

داشته باشد و حتی منجر به شکست حاملگی شود. بنابراین به نظر می رسد با توجه به تحقیقات انجام شده در این زمینه ارتباط نزدیکی بین سطوح هورمونهای استروئیدی تخمدان و گنادوتروپینهای موجود در سرم که خود متأثر از پروتکل تحریک تخمک گذاری است و سطح ALP و ACP باشد لذا در این تحقیق سعی می شود که به بررسی این ارتباط پرداخته شود.

روش بررسی

نمونه های مایع فولیکولی ۱۹ خانم تحت درمان پروتکل تحریک تخمک گذاری با دامنه سنی بین ۲۰ تا ۳۶ سال پس از Puncture جمع آوری و شمارش شدند و ملاک تعداد فولیکولها تعدادی بود که جمع آوری شده بود نه تعداد سونوگرافی. تمام بیماران از جهت تخمک گذاری از داروی Gonadotropin (HMG) Human Menoposal ساخت شرکت Serono استفاده شد و در صبح روز Puncture پس از خون گیری از افراد مذکور نمونه های سرمی از آنها تهیه شد تا مقادیر هورمون های تخمدانی و گنادوتروپین آنها بررسی شود.

محاسبه فعالیت ویژه آنزیمهای فسفاتاز

ابتدا با توجه به حجم متفاوت نمونه های افراد لازم بود که معیار مناسبی جهت فعالیت آنزیم در نظرگرفته شود بدین منظور فعالیت آنزیم بر مقادیر پروتئین کل که به عنوان "فعالیت مخصوص" مطرح است در نظر گرفته شد.

ابتدا مقدار پروتئین کل نمونه های مایع فولیکولی با استفاده از کیت بیوشیمیایی پروتئین کل مربوط به شرکت شیم آنزیم محاسبه شد. و سپس با استفاده از کیت های اسید و آلکالین فسفاتاز مربوط به همان شرکت با به کارگیری سوبسترای پارانیتروفنیل فسفات، فعالیت آنزیم ها(u/l) محاسبه شد. با به دست آوردن نسبت فعالیت هر آنزیم بر مقدار پروتئین فعالیت ویژه یا مخصوص آنزیم محاسبه شد.

محاسبه مقادیر هورمونهای تخمدانی و گنادوتروپین

سطوح هورمونهای سرم افراد با به کارگیری کیت های استرادیول و پروژسترون مربوط به شرکت Immunotech با استفاده از روش رادیوایمنو اسی محاسبه شد همچنین مقادیر هورمونهای FSH و LH نیز با به کارگیری کیتهای مربوط از شرکت کاوشیار ایران که براساس روش رادیو ایمنواسی بود محاسبه شد. پس از جمع آوری اطلاعات مربوط به هر یک از فاکتورها، با استفاده از نرم افزار SPSS و آزمون های نا پارامتری Spearman's rho ارتباط و همبستگی بین آنزیم های آلکالین فسفاتاز و اسید فسفاتاز با سن فرد، تعداد فولیکولها، سطح هورمونهای استرادیول، پروژسترون FSH و LH بررسی شد.

نتایج

پس از تهیه نمونه های سرم از افراد، سطح هورمونهای استروژن، پروژسترون LH و FSH آنها محاسبه شد که اطلاعات مربوط به این بخش در جدول (۱)آورده شده است.

پس از اندازه گیری سطح پروتئین مایع فولیکولی بر اساس میلی گرم بر دسی لیتر(mg/dl) و همچنین محاسبه فعالیت آنزیم های اسید و آلکالین فسفاتاز بر اساس واحد بر میلی لیتر(u/ml) مقادیر فعالیت مخصوص آنزیم که نشانگر فعالیت ویژه آنزیم بر میلی گرم پروتئین است محاسبه شد(u/mg). اطلاعات مربوط به فعالیت مخصوص آنزیم های فسفاتاز در جدول (۲) درج شده است. میانگین و انحراف معیار فعالیت مخصوص آنزیم آلکالین و اسید فسفاتاز در ۱۹ بیمار تحت درمان پروتکل تحریک تخمک گذاری به ترتیب شامل: ۰/۴۷۶ ± ۰/۴۰۳۱و ۱/۲۱۶ ±۱/۵۶ بود. همانگونه که مشخص است میزان فعالیت اسید فسفاتاز بیشتر از آلکالین فسفاتاز است. متوسط سن افراد ۳/۹۳ ± ۲۷/۶۳ و همچنین میانگین تعداد فولیکولهای به دست آمده از هر فرد ۳/۹۳± ۶/۹۴ بود.

پس از بررسی همبستگی بین فعالیت آنزیمهای فسفاتاز مایع فولیکولی با سطوح هورمونهای استروئیدی مشخص شد که ارتباط معنی داری بین فعالیت آلکالین فسفاتاز با سطح هورمون پروژسترون وجود دارد ($P<0.001$) اما با استروژن LH و FSH وجود ندارد و این در حالی است که فعالیت اسید فسفاتاز با دو هورمون استروژن و پروژسترون همبستگی داشته($P<0.05$) اما با دو هورمون دیگر ارتباط ندارد (جدول ۳). بررسی همبستگی بین سن و تعداد فولیکولها با فعالیت آنزیمها نشان داد که فقط اسید فسفاتاز با تعداد فولیکولها ارتباط دارد ($P<0.01$).

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2025-07-15]

جدول ۲: فعالیت مخصوص آنزیمهای فسفاتاز مایع فولیکولی افراد نابارور پس از نمونه گیری

متغیر	میانگین	انحراف معیار	تعداد
تعداد فولیکول	۶/۹۵	±۳/۹۴	۱۹
فعالیت مخصوص آلکالین فسفاتاز	۰/۴۰۳	±۰/۴۷۷	۱۹
فعالیت مخصوص اسید فسفاتاز	۱/۵۶	±۱/۲۲	۱۹

جدول ۱: میانگین سطح هورمونهای استروئیدی سرمی افراد نابارور در روز نمونه گیری

متغیر	میانگین	انحراف معیار	تعداد بیمار
استرادیول(pg/ml)	۵۳۳۲/۹۵	±۷۱۲۴/۷۹	۱۹
پروژسترون(ng/ml)	۲/۴۴	±۳/۰۲	۱۷
(mIu/ml) FSH	۱۰/۲۸	±۵/۴۳	۱۹
(mIU/ml) LH	۲/۰۲	±۱/۳۵	۱۹

جدول ۳: همبستگی فعالیت آنزیمهای فسفاتاز مایع فولیکولی با سطح هورمونهای استروئیدی

	استرادیول	پروژسترون	FSH	LH	تعداد فولیکول
آلکالین فسفاتاز	P=0.800(NS)	P=0	P=0.895(NS)	P=0.368(NS)	P= 0.407(NS)
اسید فسفاتاز	P=0.04	P=0.02	P= 0.447(NS)	P=o.480(NS)	P=0.01

*** NS اختلاف معنی دار مشاهده نشد.**

بحث

آنزیم های فسفاتاز از طریق هیدرولیز باندهای فسفومنواستری باعث آزاد سازی و انتقال گروه فسفات می شوند. این آنزیم ها در بیشتر سلولها دیده می شوند به خصوص سلولهای در حال رشد و ترمیم و نیز سلولهای ترشح کننده پروتئین، گرچه نسبت فعالیت اسید فسفاتاز به آلکالین فسفاتاز در سلولهای مختلف فرق می کند[۳،۴].

در تحقیقات انجام شده قبلی نشان داده شده است که فعالیت بسیاری از آنزیم ها به خصوص فسفاتازها تحت کنترل هورمونها هستند[۸،۹] بنابراین با تغییر سطح هورمونهای گنادوتروپینی و تخمدانی پس از پروتکل تحریک تخمک گذاری احتمالا میزان فعالیت آنزیم ها تغییر می کند و یک ارتباط بین این تغییرات وجود خواهد داشت. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که این ارتباط و همبستگی بین سطح هورمونهای تخمدانی با میزان فعالیت آلکالین و اسید فسفاتاز متفاوت بود. به عبارتی فعالیت هر دو آنزیم نسبت به سطح هورمون پروژسترون وابستگی معنی داری دارد اما فقط اسید فسفاتاز با سطح هورمونهای استروژن وابستگی دارد. همچنین در بخش دیگر نتایج نشان داده شد که فعالیت هیچکدام از آنزیمها با سطح هورمونهای گنادوتروپین سرم ارتباط معنی داری ندارد. به نظر می آید نتایج به دست آمده از تحقیق حاضر بیشتر مؤید این است که فسفاتازهای تخمدانی هر دو تحت تأثیر پروژسترون هستند و این هورمون در نیمه دوم سیکل افزایش قابل توجهی را هم از نظر سنتز و هم ترشح در خون دارد. بنابراین طبیعی است که در افراد تحت درمان نازایی که نمونه های مایع فولیکولی آنها در روز Puncture به دست می آید سطح هورمون پروژسترون آنها بیشتر باشد. نتایج مشابهی از تحقیقات صورت گرفته در خصوص بافت اندومتر نیز گزارش کرده اند[۹،۱۷]، به عنوان مثال Bucci و همکارانش اظهار داشتند که فعالیت آنزیم های آندومتر متأثر از هورمونهای استروئیدی تخمدان است. این هورمون می تواند سبب تغییر در الگوی فعالیت آنزیم ALP طی ابتدای حاملگی و نیز زمان لانه گزینی شوند[۹].

نظر به اینکه یافته های هیستوشیمیایی نشان داده اند که محل اصلی فعالیت ALP در تخمدان عمدتاً سلولهای تکای فولیکولها هستند[۶] و همزمان با روند تکوین فولیکولها طی یک سیکل تخمدانی تعداد و نیز فعالیت این سلولها افزایش می یابد و این سلولها نیز در فرایند استروئیدسازی نیاز به سوبستراهای اولیه دارند، احتمالا آلکالین فسفاتاز با جدا کردن و انتقال گروههای فسفات ترکیبات، می تواند در فرایند استروئید سازی سلولهای تک کمک کند[۶] و از مهمترین هورمونهای استروئیدی مترشحه از سلولهای تک به خصوص حوالی لانه گزینی هورمون پروژسترون است. بنابر این به نظر می آید که ارتباط دو طرفه ای

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2025-07-15]

بین فعالیت آنزیم های آلکالین فسفاتاز تخمدان که عمداً در مایع فولیکولی منعکس می شود با سطح هورمون پروژسترون وجود داشته باشد.

از طرف دیگر آنزیم ACP یک آنزیم لیزوزومی است و با توجه به سوابق ارایه شده به نظر می آید که در بافت تخمدان بیشتر مرتبط با رشد و تکوین فولیکولها باشد و همچنین در فرآیند آترزی و تحلیل فولیکولها نیز نقش داشته باشد[۵]. این آنزیم نیز مشابه با آلکالین فسفاتاز توسط هورمونهای استروئیدی کنترل می شود و نتایج تحقیق حاضر نیز مؤید ارتباط دو طرفه این آنزیم با سطح هورمونهای استروئیدی تخمدان بود.

References

1- Rosales – Torres AM, Avalos _Rodri Guez A. A, Vegara-Onofre M, Hernandez-Perez O, Ballesteros LM, Macedo GR & et al. ***Multiparametric study of atresia in ewe antral follicles: histology, flow cytometry, internucleosomal DNA fragmentation, and lysosomal enzyme activities in granulose cells and follicular flouid***. Mol Reprod Dev 2000, 55; 270-81.

2- Gonzalez Diddi M, Garcia Luna A, Navay Lara E, Rosendo Becerra J, Gomez Arzapalo E. ***Changes in follicular acid phosphatase levels in relation to oocyte maturity in humans.*** Gynecol Obstet Mex 1989, 57; 37-40.

3- Krajnicakova M, Lenhardt L, Valocky I, Cigankova V, Kostecky M, Maracek I. ***Activity of alkaline and scidic phosphatase and non- specific estrase in the endometrium and oviduct of postpartum does.*** Small Ruminant Resaerch 2004, 53; 47-51.

4- Pollard JW, Jahan M, Butterworth PJ. ***Characterization and expression of uterine and placental alkaline phosphatase in the mouse.*** J Reprod Fert 1990, 89; 735-742.

5- Wang I, fraser I, Lysosomes: ***An important mediator in the female reproductive tract.*** Obstet Gynecol 1989, 45(1); 18-33.

6- Henderson KA, Cupps PT. ***Acid and alkaline phosphatase in bovine antral follicles.*** J Anim Sci 1990, 68; 1363-1369.

7- Wise I. ***Biochemical analysis of bovine follicular fluid: albumin, total protein, lysosomal enzymes, ions, steroid and ascorbic acid content in relation to follicular size, rank, atresia classification and day of estrous cycle.*** J Anim Sci 1987, 64(4); 1153-69.

8- Suzuki M, Kuramoto H, Hamano M, Shirane H, Watanabe K. ***Effects of oestradiol and progesterone on the alkaline phosphatase activity of human endometrial cancer cell line.*** Acta Endocrinilogica 1980, 93; 108-113.

9- Bucci M, Murphy C. ***Hormonal control of enzyme activity during the plasma membrane transformation of uterine epithelial cells.*** Cell Biol Int 2001, 25; 859-871.

10- Good L, Warnick A, Wallace HD***. Alkaline and acid phosphatase in the endometrium and ovary of swine.*** J Anim Sci 1965, 121; 531-40.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2025-07-15]

11- Kleiman D, Insler V, Leiberman JR, Glezerman M, Albotiano S, Potashnik G & et al. ***I Acid phosphatase levels in follicular fluids following induction of ovulation in in vitro fertilization patients.*** J In vitro Fert Embryo Transfer 1987, 4; 181-4.

12- Eissa HM. ***Concentration s of stroids and biochemical constituents in follicular fluid of buffalo cows during different stages of the oestrous cycle.*** Br. Vet. J. 1996, 152; 573-81.

13- Dhanju CK, Sangha GK, Sekhon PK. ***Biochemical status of ovaries after induction of superovulation on different days of estrus cycle in mice.*** Indian J Exp Biol 2001, 39; 777-80.

14- Cheema RS, Dhanju CK, Matharoo JS**.** ***Reponse related enzymatic changes in ovaries of superovulated mice.*** Indian Exp Biol 2003, 41; 171-3.

15- Van Kampen H. ***Activity of selected enzymes in bovine follicular fluid.*** M.Sc. Thesis. University of California, Davis.

16- Banos ME, Rosales AM, Ballesteros LM, Hernandez-Perez O, Rosado A**.** ***Changes in lysosomal enzyme activities in pre-ovulatory follicles and endometrium of PMSG superovulated rats.*** Arch Med Res 1996, 27; 49-55.

17- Bugalia NS, Sharma RD. ***Endometrial glycogen, protein, nucleic acids and phosphates during oestrous cycle in buffaloes.*** Br Vet J 1990, 146; 552-62.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2025-07-15]