



Research Article

Compared the Effect of Red and Infrared Low-Level Lasers on Folliculogenesis Cycle with the Effect of Clomiphene Drug in Rat's Ovarian Tissue

Paria Naseri ^{1,2} , Aliraza Alihemati ^{2,3} , Hamid Taifi Nasrabadi ^{2,3} , Seyed Hosein Rasta ^{1,2,4,*} 

¹ Department of Medical Physics, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

² Stem Cell Research Centre, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

³ Department of Anatomical Sciences, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

⁴ School of Medical Sciences, University of Aberdeen, Aberdeen, UK

* **Corresponding author:** Seyed Hosein Rasta, Department of Medical Physics, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran. E-mail: s.h.rasta@abdn.ac.uk

DOI: [10.52547/nkums.13.3.102](https://doi.org/10.52547/nkums.13.3.102)

How to Cite this Article:

Naseri P, Alihemati A, Taifi Nasrabadi H, Rasta SH. Compared the Effect of Red and Infrared Low-Level Lasers on Folliculogenesis Cycle with the Effect of Clomiphene Drug in Rat's Ovarian Tissue. *J North Khorasan Univ Med Sci.* 2021;**13**(3):102-112. DOI: 10.29252/nkjms-130313

Received: 16 Aug 2020

Accepted: 20 Jan 2021

Keywords:

Low Level Laser, Ovary,
Folliculogenesis Cycle, Hormone

Abstract

Introduction: Folliculogenesis is a cycle that any disruption in this cycle leads to disease. Treatment include Surgery, drugs and low-power lasers have been used as complementary. This study investigated photo-bio-stimulation effect of lasers (power<250 mW) on folliculogenesis cycle in rats' ovarian tissue in two wavelength 630 and 810 nm autonomously.

Methods: Twenty-eight female Wistar rats in weights between 150-250g at the age of 9 weeks divided into four groups: control (CT), Drug(D), Red Laser (RL) and Near Infrared Laser (NIRL). For this, two diode lasers with an output 33 ± 2 mw/cm² for RL and 212 ± 2 mw/cm² for NIRL have been used. In the first 2 days of estrous cycle the laser groups were irradiated (5j/cm² dose). The rats in D group received clomiphene (1µg/Kg). After the experiments, the rats were anesthetized and sacrificed and their ovarian tissues were removed.

Results: The number of different follicles and the levels of effective hormones were evaluated. The results showed a change in follicles and hormones compared with D and CT groups. This change was significant in the NIRL group compared with other groups, while it was not significant in the RL group. The results in D group was less than laser groups and was significant only compared with CT group.

Conclusions: Low-power laser therapy at 810 nm can increase the activity of ovarian tissue in the production of follicles independently. Therefore, this study was able to introduce 810 nm laser as a new independent treatment for ovarian hypoglycemia that can be used in future studies.



مقایسه اثر لیزر کم توان قرمز و مادون قرمز نزدیک با داروی کلومیفن بر فرایند فولیکولوژنیزاسیون در بافت تخمدان در موش صحرایی

پریا ناصری^{۱،۲}، علیرضا علی همتی^{۲،۳}، حمید طایفی^{۲،۳}، سیدحسین راستا^{۱،۲،۴} *
 * نویسنده مسئول: سیدحسین راستا، دانشگاه آبردين، انگلستان. ایمیل: mph586@gmail.com

DOI: 10.52547/nkums.13.3.102

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۲/۰۹	چکیده
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۶/۰۲	مقدمه: فولیکولوژنیزاسیون فرایندی است که هرگونه اختلال در آن منجر به بیماری های تخمدانی می شود. درمان های آن شامل جراحی، انواع داروها و لیزر به صورت مکمل می باشد. بنابراین این مطالعه به بررسی اثر تحریک زیستی لیزر کم توان (توان > ۲۵۰ میلی وات) بر فرایند فولیکولوژنیزاسیون در بافت تخمدان کوش صحرایی به صورت مستقل در دو طول موج ۶۳۰ و ۸۱۰ نانومتر پرداخته است.
واژگان کلیدی: لیزر کم توان، تخمدان، فرایند فولیکولوژنیزاسیون، هورمون	روش کار: ۲۸ رت ماده از نژاد ویستار با وزن بین ۱۵۰ تا ۲۵۰ گرم در سن ۹ هفته به چهار گروه کنترل (CT)، دارو (D)، لیزر قرمز (RL)، لیزر مادون قرمز نزدیک (NIRL) تقسیم شدند. برای این کار از دو لیزر دایود با شدت $2 \pm 33 \text{ mw/cm}^2$ برای RL و شدت $2 \pm 12 \text{ mw/cm}^2$ برای NIRL استفاده شد. در دو روز اول سیکل استروس گروه های لیزر تحت تابش (5 j/cm^2) قرار گرفتند. موش های گروه D کلومیفن (۱ میکروگرم بر کیلوگرم) دریافت کردند. پس از انجام آزمایش ها، موش ها بیهوش و قربانی شدند و بافت تخمدان آنها برداشته شد.
	یافته ها: تعداد انواع فولیکول ها و سطح هورمون های مؤثر مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج نشان دهنده تغییر در تعداد انواع فولیکول ها و هورمون ها در مقایسه با گروه های D و CT بود. این تغییر در گروه NIRL در مقایسه با سایر گروه ها معنی دار بود، در حالی که در گروه RL معنی دار نبود. این نتایج در گروه D کمتر از گروه لیزر بود و تنها در مقایسه با گروه CT معنی دار بود.
	نتیجه گیری: لیزر کم توان درمانی در طول موج ۸۱۰ نانومتر می تواند به طور مستقل فعالیت بافت تخمدان را در تولید انواع فولیکول ها افزایش دهد. بنابراین، این مطالعه توانست لیزر ۸۱۰ نانومتر را به عنوان درمانی مستقل و جدید در تنبلی تخمدان معرفی کند که می تواند در مطالعات بعدی مورد استفاده قرار گیرد.

مقدمه

باروری به این بیماری مبتلا هستند که ۷۵ درصد آنها دچار ناباروری ناشی از سندروم می شوند (۵). از علائم این بیماری چاقی مفرط (۴۰ درصد بیماران مبتلا)، پر مویی، آکنه و ریزش مو و در نهایت نازایی را نام برد. همچنین بیماران مبتلا به این بیماری در خطر ابتلا به سرطان آندومتر، پستان، هیپرتانسیون، بیماری های قلبی و عروقی و دیابت می باشند. این بیماری که شایع ترین علل ناباروری زنان در دنیای امروز است، روش های درمانی متفاوتی را به خود اختصاص داده است و به غیر از درمان های دارویی برای ارتقا سطح هورمون های جنسی مؤثر، از رو جراحی استفاده می شود (۵). مطالعات قبلی حاکی از تأثیر هورمون های جنسی بر فرایند فولیکولوژنیزاسیون تا تولید تخمک بالغ را نشان می دهند (۲، ۶، ۷) که از تأثیر دارو ها بر این هورمون ها برای درمان موقت این نوع از ناباروری استفاده می شود (۸). مشکل این نوع

فولیکولوژنیزاسیون فرایند رشد فولیکول های تخمدان و تولید تخمک بالغ است. این فرایند از بدو تولد تا زمان بلوغ در حالت سکون قرار دارد و بعد از بلوغ دوران قاعدگی را شامل می شود (۱). فولیکول ها بر اساس مرحله رشد به نام های بدوی، اولیه، اولیه چند لایه، ثانویه و بالغ تقسیم می شوند. قرار گرفتن در هر مرحله رشد ملزم به تکمیل مرحله قبل است و ایجاد مشکل در هر مرحله باعث اختلال در تولید تخمک بالغ می گردد (۲). در طی مراحل رشد هورمون های جنسی پروژسترون، استروژن، FSH و LH از عوامل کنترل کننده فرایند هستند (۳، ۴). هرگونه اختلال در فرایند فولیکولوژنیزاسیون باعث بیماری های مختلف در زنان می شود. از جمله مهم ترین آنها سندروم پلی کیستیک تخمدان (PCOS) یا به زبان عامیانه تنبلی تخمدان است که در حد پیشرفته خود منجر به ناباروری می شود. تقریباً ۶ تا ۱۰ درصد زنان در سن

استفاده شده است که لیزر به عنوان مکمل دارو مورد پژوهش قرار گرفته است و تا حد امکان عوارض ناشی از دارو را کاهش داده است (۲۲). همچنین مطالعات گذشته که بر سایر بافت ها انجام شده است نشان داده است که لیزر های کم توان درمانی می توانند به تنهایی اثر تحریکی بر بافت های زنده بدون ایجاد عوارض جانبی داشته باشند (۶، ۲۳-۲۵)، اما تا کنون لیزر به عنوان درمانی مجزا از روشهای دارویی و جراحی به دور از عوارض جانبی ناشی از آنها بر فرایند فولیکولی بافت تخمدان در تولید تخمک بالغ با قابلیت باروری مورد مطالعه قرار نگرفته است (۲۶، ۲۷). بنابراین، این مطالعه به بررسی پتانسیل نوری فولیکول های تخمدان به منظور ارتقا فرایند فولیکولونیزیس و افزایش سطح هورمون های موثر در تعداد فولیکول های تخمدان با استفاده از لیزرهای کم توان در تحریک سلولی پرداخته است.

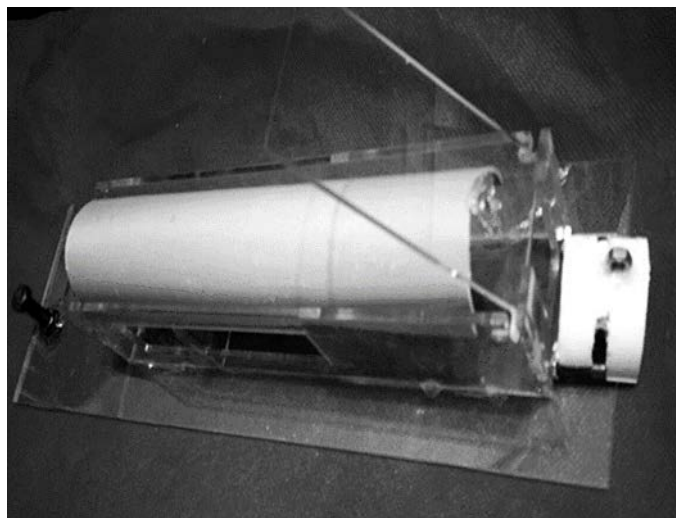
روش کار

رت ها مطالعه

از میان ۴۰ رت ماده موجود در حیوان خانه دانشگاه علوم پزشکی تبریز ۳۲ رت از نژاد ویستار در محدوده وزنی ۱۵۰-۲۵۰ گرم (به منظور قرار داشتن در شرایط یکسان) و میانگین سنی نه هفته قرار داشتند، به واسطه تست استروس در سیکل قاعدگی همفاز شدند (۲۸). پس از تأیید سلامت عمومی رت ها ۲۸ رت به طور تصادفی ساده انتخاب شدند (۲۹). رت های انتخاب شده به طور تصادفی ساده (رندوم) ، به ۴ گروه مساوی هفت تایی (گروه کنترل (CT)، گروه دارو (D)، گروه لیزر قرمز (RL) و گروه لیزر مادون قرمز نزدیک (NIRL) تقسیم شدند و هر گروه به طور جداگانه در قفس نگهداری شدند. محدوده تابش لیزر بر بدن رت ها بر اساس آناتومی بدن آنها تعیین گردید و از مو زائیده و به کمک مواد ضد عفونی و بتادین شست و شو شد. محل دقیق لیزر به کمک مائیک روی پوست آنها علامت گذاری شد. رت ها به مدت یک هفته در قفس جدید در شرایط آزمایشگاه برای عادت کردن به محیط با قی ماندند و پس از آن مداخلات بر روی آنها صورت گرفت. در طول دوران آزمایش رت های هر گروه در قفس خود قرار داشتند. از نظر خوراک و تهویه و همچنین بهداشت قفس ها در سطح بالای زندگی قرار داده شدند و فقط به منظور حفظ بهداشت قفس ها از قفس خود خارج میشدند. در طول دوران انجام مطالعه، به منظور ایجاد شرایط یکسان زندگی بین گروه ها، رت ها در شرایط طبیعی ۱۲ ساعت روشنایی ۱۲ ساعت تاریکی با میزان آب و خوراک آزاد و کافی و در دمای ۲۵-۲۷ درجه سانتی گراد نگهداری شدند (۲۲). یکی از مهم ترین موارد ثابت نگه داشتن رت ها در روند مطالعه و انجام مداخلات است. بدین منظور نگهدارنده رت متناسب با شرایط این مطالعه، که علاوه بر باز بودن درب ناحیه تابش، رت ها ثابت و بدون حرکت بمانند طراحی و از پلکسی گلاس ساخته شد (شکل ۱).

درمان ها استفاده از داروهای کنترلی بر این هورمون ها است که ورود این داروها به بدن باعث تغییرات چشمگیری در تعادل کلیه هورمون های وابسته و اندام های تحت تأثیر آنها میشود و نه تنها طول درمان طولانی مدت، بلکه عوارضی چون سردرد، سرگیجه، ایجاد مشکلات عصبی و روانی و ... را در بدن به جا می گذارد (۸) که از جمله مشکلات استفاده از دارو می باشند. این درحالی است که پاسخ مثبت بدن بیمار به داروی مورد استفاده بر می گردد در غیر این صورت درمانی ناموفق خواهد بود (۹). تا کنون درمانی قطعی برای مقابله با این نوع از ناباروری یافت نشده است (۵). بنابراین هرگونه پژوهش در باب پیدا کردن راهی برای درمان قطعی کم کاری تخمدان و پیدا کردن روند درمانی آسان و بدون عوارض جانبی به منظور جلوگیری از ناباروری از الزامات پزشکی زنان در دنیای امروز است. بر این اساس مطالعه حاضر که برای اولین بار در دنیا صورت گرفته است طبق روند مطالعات انجام شده در دیگر بافت ها و همچنین مطالعات بررسی لیزر به شکل های دیگر بر بافت تخمدان طراحی و صورت گرفته است (۱۰-۱۶).

لیزر به معنای تقویت نور گسیل شده به شیوه القایی است (۱۷). آنچه که نور لیزر را از دیگر امواج الکترومغناطیس مجزا می کند خواص ویژه آن است که شامل مونوانرژی، همدوسی با حداقل میزان واگرایی و شدت بالای آن است. بسته به اینکه لیزر در چه طیفی از امواج الکترومغناطیس قرار داشته باشد به سه دسته مادون قرمز، مرئی و فرابنفش تقسیم می شوند (۵، ۱۸-۲۰). لیزرها همچنین بر اساس توان، اثر بر بافت های زنده و مواد سازنده آنها تقسیم بندی می شوند. تقسیم بندی بر اساس توان پرکاربردترین تقسیم بندی در پزشکی است که به سه دسته کم توان (اثرات الکترومغناطیسی بر بافت زنده دارند) توان متوسط (علاوه بر اثرات الکترومغناطیسی، اثرات حرارتی بر بافت زنده دارند) و لیزرهای با توان بالا (اثرات حرارتی بر بافت زنده دارند) تقسیم می شوند. از آنجا که بافت های زنده بر اساس پیام های الکترومغناطیسی فعالیت می کنند، لیزرها بر بافت های زنده موثر واقع می شوند. لیزرهای کم توان درمانی (لیزرهای سرد) پرکاربردترین در علم پزشکی می باشند (۲، ۸، ۱۷). به دلیل نداشتن عوارض جانبی، لیزر در پزشکی زنان به منظور درمان بیماری هایی همچون سرطان، ناباروری و سایر بیماری ها (۷، ۲۱) مورد استفاده و پژوهش بسیار قرار گرفته است. همچنین لیزر نقش مهمی در تحریک و فعال سازی تخمدان منجمد پس از پیوند در بدن افراد مبتلا به سرطان ناحیه شکمی که تحت پرتودرمانی شدید قرار دارند مورد استفاده قرار می گیرد که نشان دهنده مفید بودن لیزر در این زمینه می باشد (۵، ۱۸، ۲۰). استفاده از لیزر در پزشکی زنان برای درمان بیماری های مختلفی چون درد های مزمن لگنی، عفونت و زخم واژینال، کیست بارتولن، سردی جنسی، دردهای شدید ماهانه، آندومتریوزیس، نازایی لوله ای، بر طرف کردن اسکار جراحی، ماستیت و التهاب غدد شیری، کاهش ادم لنفاوی بعد از سرطان پستان کاربرد دارد (۷، ۲۱). در مطالعات پیشین از لیزر به عنوان فعال کننده لئروزال در درمان تنبلی تخمدان



شکل ۱. نگهدارنده رت: این نگهدارنده از دو قسمت مهم برای نگهداری سر و دم رت تشکیل شده است به گونه ای که پس از ثابت شدن رت ها محل تابش لیزر بر بدن رت ها آزاد است و لیزر بدون مانع به بدن رت ها می تابد.

اثرگذارترین طول موج ها با شدت ۵ میلی وات بر سانتی متر مربع به عنوان موثرترین شدت در تحریک سلولی انتخاب شدند (۱، ۱۸، ۳۰).

دریافت دارو

به هفت رت گروه D، داروی کلومیفن به عنوان یکی از رایج ترین و مؤثرترین داروها در درمان تنبلی تخمدان در تولید تخمک بالغ با عوارض جانبی کمتر نسبت به سایر داروها، انتخاب شده است (۲۵)، را به صورت داخل صفاقی (گاواژ) ۰/۵ میکروگرم بر کیلوگرم محلول در ۱cc آب داده شد. مقدار مورد استفاده به منظور تأثیر بر پیشرفت فرایند فولیکولوژنیزس بر اساس مطالعات قبلی تعیین شده است (۲۰). رت ها گروه D همانند رت های گروه های لیزری دارو را در شروع سیکل قاعدگی دوبار در هر سیکل دریافت کردند. میزان این دارو بر اساس مطالعات قبلی تعیین شده است (۳۰). به منظور ایجاد استرس یکسان به گروه های تحت آزمایش دو گروه دارو و کنترل با زمانی برابر میانگین زمانی تابش دو لیزر قرمز و مادون قرمز (۸۵/۱ ثانیه) به وسیله نازل خاموش در شرایط یکسان تحریک شدند. همچنین رت های گروه لیزر نیز به طور همزمان گاواژ آب را دریافت کردند. بدین ترتیب میزان استرس ایجاد شده به رت های مورد مطالعه یکسان بوده است.

نمونه گیری و اندازه گیری

پس از انجام مداخلات در زمان تعیین شده به رت ها ۲ روز کامل استراحت داده شد و در روز سوم یعنی اولین روز سیکل قاعدگی بعدی رت ها به وسیله ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم کتامین و ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم گزیلول از طریق تنفس بیهوش و قربانی شدند و به کمک جراحی، در انتهای سیکل قاعدگی رت ها (انتهای فرایند فولیکولوژنیزس) بافت تخمدان به منظور شمردن تعداد انواع فولیکول ها، خارج و نمونه گیری شد. همچنین نمونه خون از آئورت رت ها برای اندازه گیری سطح هورمون های جنسی مؤثر بر روند فعالیت فولیکولوژنیزس گرفته شده است. پس از اندازه گیری نمونه ها بافتی نتایج به دست آمده به کمک برنامه آماری SPSS-ANOVA مورد بررسی قرار گرفتند.

لیزر درمانی

لیزرهای کم توان درمانی در طول موج های مرئی و مادون قرمز می توانند اثرات تحریکی و ترمیمی بر سلول های بافت زنده (۸، ۳۰، ۳۱) و اثرات مخربی چون آپوپتوز بر سلول های سرطانی داشته باشند (۲۲، ۲۵، ۳۲). اساس روند تأثیرگذاری لیزر بر بافت زنده تا امروز به طور دقیق مشخص نشده است اما طبق مطالعات انجام شده فرض بر آن است، نور لیزر جذب میتوکندری سلول می شود و با افزایش انرژی و آنتروپی بیشتر منجر به تولید بیشتر آدنوزین تری فسفات (ATP) و پروتئین ها می شود که این اثر در دوز 5 j/cm^2 بیشترین افزایش فعالیت سلولی و تغییر در عملکرد سلول را به دنبال دارد (۳۰).

دو لیزر کم توان ۶۳۰ نانومتر و ۸۱۰ نانومتر به دلیل اثر بخشی تحریکی بدون آثار جانبی مضر بر پایه مطالعات قبلی انتخاب شدند (۳۲). بدین منظور از دو لیزر دایود (Moscow, Mustang 2000+, Russia) با توان خروجی خروجی $2 \pm 33 \text{ mw/cm}^2$ برای RL و $2 \pm 12 \text{ mw/cm}^2$ برای NIRL استفاده شده است. قطر نازل مورد استفاده برای این لیزرها مشابه و برابر ۱۰ میلیمتر و سطح تابش $41/77$ میلی وات بر سانتی متر مربع و زمان تابش $142/2$ ثانیه برای لیزر قرمز و شدت $268/35$ میلی وات بر سانتی متر مربع و زمان تابش ۲۸ ثانیه برای لیزر مادون قرمز نزدیک است تا رت های هر دو گروه لیزری در پایان مطالعه دوز یکسانی از لیزر را دریافت کرده باشند (۲). رت های دو گروه لیزر در ۲ روز اول سیکل استروس هر ۶ روز یک بار در مدت ۴۸ روز تحت تابش لیزر به صورت پالس مداوم با دوز 5 j/cm^2 قرار گرفتند. روند آزمایش طی ۸ هفته با تکرار ۱۶ مرتبه بر اساس سیکل قاعدگی در زمان مشخص ۱۰ صبح انجام شده است.

انتخاب طول موج مناسب

با انجام آزمایشات اولیه بر ۵ رت ماده و مطالعات قبلی بر بافت های مختلف بدن، دو طول موج ۶۳۰ نانومتر و ۸۱۰ نانومتر به عنوان

آنالیز آماری

برای تجزیه و تحلیل آماری از برنامه SPSS-19 استفاده شده است. در تجزیه و تحلیل پارامترهای التهابی و هیستولوژیکی از آزمون آماری واریانس یک طرفه (one way ANOVA) و در صورت معنی دار بودن اختلاف میانگین ها، از آزمون Tucky به عنوان post hoc استفاده شده است. در صورتی که $p < 0.05$ باشد اختلاف بین نتایج معنی دار در نظر گرفته شده است. نتایج به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار در جداول و نمودارها نشان داده شده اند.

ملاحظات اخلاقی

این مطالعه پایه به عنوان مطالعه یک مطالعه اندازه گیری تکرار شونده (Repeated measures) بر روی رت ها در حالی انجام شده است که رت های مورد آزمایش به عنوان یک حیوان مورد احترام قرار گرفته اند و هیچ گونه آزار و اذیت به آنها وارد نشده است. به گونه ای که هیچ گونه آسیب بدنی به رت ها وارد نشده است. از نظر خوراک، تهویه و همچنین بهداشت قفس ها در سطح بالایی زندگی قرار داده شدند. هنگام انجام آزمایش بدون استرس وارد نگهدارنده شدند. نگهدارنده طراحی شده، مکان راحتی برای رت ها در هنگام انجام مداخلات ایجاد کرد. به گونه ای که در هر بار انجام مداخلات رت ها بدون استرس وارد نگهدارنده شدند. در نهایت، به هنگام نمونه گیری رت ها به کمک داروی بیهوشی (کتامین، گزبلول) بیهوش و قربانی شدند. انجام روند و نگهداری حیوانات بدون هیچ گونه آسیب رسانی به رت ها صورت پذیرفت و تحت نظر کمیته نظارت بر حقوق حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی تبریز با کد TBZMED.REC.1394.238 تأیید و انجام شده است.

یافته ها

نتایج بافت شناسی: تعداد فولیکول های اولیه، اولیه چند لایه، ثانویه و گراف در هر گروه با استفاده از روش رنگ آمیزی هماتوکسیلین-انوزین (E&S) در تمامی لایه های نمونه برداری شده، شمارش و به صورت داده های آماری سنجیده شد. همچنین سطح هورمون های مؤثر بر فرایند فولیکولوژنیزس چون پروژسترون، استروژن، FSH و LH در سرم خونی رت ها با استفاده از کیت های آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج به دست آمده از دو گروه لیزر و دارو با گروه CT (گروه بدون مداخله) مقایسه شدند.

نتایج شمارش فولیکول های اولیه (PF)

فراوانی فولیکول های اولیه در دو گروه لیزر RL و NIRL در مقایسه با گروه D و گروه CT افزایش داشته است. این درحالی است که در گروه D این فراوانی PF نسبت به گروه CT نیز افزایش داشته است. **شکل ۲** اگر چه در مقایسه با دو گروه مداخله لیزر افزایش آن کمتر است اما نشان دهنده افزایش PF با مداخله دارو نیز می باشد. این افزایش در دو گروه RL و NIRL با یکدیگر برابر بوده است و نسبت به گروه CT رابطه معناداری را نشان می دهد. ($p = 0.024$) و همچنین فراوانی PF در گروه های مداخله با لیزر با درصد برابر نسبت به گروه D افزایش داشته اما این افزایش رابطه معناداری را نشان نمی دهد. همچنین این افزایش در اثر مداخله داروی کلومیفن در مقایسه با گروه CT نیز قابل توجه و معنا دار نیست. **جدول ۱** بنابراین دو لیزر با طول موج ۶۳۰ نانومتر و ۸۱۰ نانومتر اثر یکسان و معناداری بر تعداد فولیکول های اولیه داشته و هیچ یک نسبت به دیگری در این باب برتری پیدا نکرده است. **شکل ۱-۳**.

جدول ۱. میانگین فراوانی فولیکول ها در تمامی لایه های نمونه برداری شده از تخمدان: گروه کنترل (CT)، گروه مداخله با دارو (D)، مداخله با لیزر قرمز (RL) و گروه مداخله با لیزر مادون قرمز نزدیک (NIRL).

Parameters	NIRL	RL	D	CT
PFs	$2/60 \pm 0/600^{***}$	$2/60 \pm 0/245^{***}$	$1/29 \pm 0/286$	$0/47 \pm 0/250$
PFM	$3/50 \pm 0/289^{***}$	$3/20 \pm 0/200^{***}$	$2/40 \pm 0/400$	$1/33 \pm 0/667$
SF	$3/00 \pm 0/408^{***}$	$2/17 \pm 0/307^{***}$	$1/43 \pm 0/202$	$0/50 \pm 0/500$
GF	$5/00 \pm 0/548^{***}$	$2/57 \pm 0/202^{***}$	$2/00 \pm 0/447$	$0/67 \pm 0/333$

* فولیکول اولیه PF، فولیکول اولیه چند لایه PFM، فولیکول ثانویه SF، فولیکول گراف GF

** داده ها بر اساس میانگین $\pm$ خطای استاندارد بیان شده اند

*** $p < 0.05$ در مقایسه با گروه CT

**** $p < 0.05$ در مقایسه با گروه D

***** $p < 0.05$ در مقایسه با گروه RL

نتایج شمارش فولیکول های اولیه چند لایه (PFM)

فولیکول های اولیه پس از رشد به چند لایه فولیکول با مشخصات فولیکول اولیه را تولید می کنند که به آن فولیکول اولیه چند لایه می گویند. در بررسی تعداد فولیکول های اولیه چند لایه، می توان گفت نتایج به دست آمده با تفاوتی جزئی مشابه نتایج حاصل از PF است. این افزایش در گروه NIRL نسبت به CT ($p = 0.013$) و در گروه RL نسبت به CT ($p = 0.025$) ارتباط معنادار داشته. اگرچه میزان فراوانی PFM در گروه D نیز افزایش داشته نسبت به سایر گروه ها ارتباط معناداری را نشان نمی دهد. **جدول ۱**

طبق نتایج حاصل، فراوانی PFM در هر سه گروه تحت مداخله نسبت به گروه کنترل افزایش داشته است اگرچه تفاوت چندانی بین گروه ها دیده نمی شود اما بیشترین افزایش در گروه NIRL دیده می شود. **شکل ۲-۳** بنابراین لیزر مادون قرمز نزدیک در تولید PFM موفق تر از سایر مداخلات بوده است. **شکل ۲**

نتایج شمارش فولیکول های ثانویه (SF)

پس از رشد کامل فولیکول های اولیه چند لایه فولیکول های ثانویه تولید می شوند. شمارش این نوع فولیکول نشان داد که مداخلات از نوع لیزر و دارو منجر به افزایش SF در این گروه ها می شود. از نظر

($p=0/000$) نسبت به گروه CT افزایش معناداری دیده شده است. افزایش GF در این گروه ها نسبت به گروه دارو نیز وجود داشته است در حالی که فقط بین گروه های NIRL و D افزایش معناداری دیده نشده است. بررسی فراوانی GF نشان داده است که این نوع از فولیکول در گروه D نیز نسبت به گروه CT افزایش داشته است اما نسبت به دو گروه لیزری کمتر بوده و رابطه ای معنادار و چشمگیری بین گروه دارو و سایر گروه ها دیده نمی شود. جدول ۱

با توجه به نتایج افزایش GF در گروه ها تقریباً روند صعودی داشته و به طور کلی گروه NIRL بیشترین مقدار و CT کمترین مقدار را شامل می شوند. شکل ۳-۴.

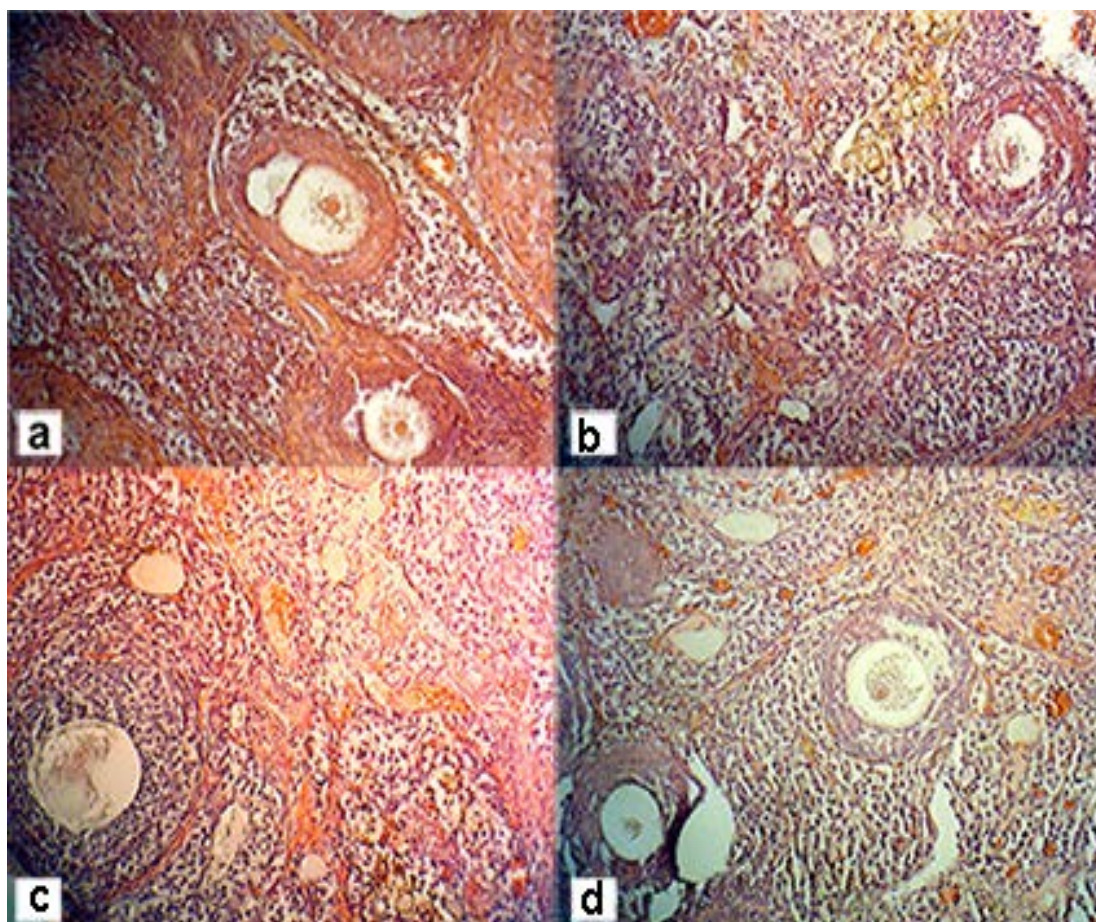
به طور کلی می توان بیان کرد اگرچه انواع مداخلات آزمایش در هر سه گروه لیزری و دارو منجر به افزایش انواع فولیکول ها نسبت به گروه کنترل شده است اما لیزر مادون قرمز نزدیک در تولید انواع فولیکول ها و پیشبرد فرایند فولیکولوژنیزس که در نهایت منجر به تولید تخمک بالغ می شود اثربخشی بیشتری نسبت به دارو و لیزر قرمز داشته است. شکل ۲ از نظر دیگر بررسی سطح هورمون های مؤثر بر فرایند می تواند این نتیجه را با اطمینان بیشتر بیان کند. اهمیت سنجش هورمون ها به دلیل تأثیر آنها به تحریک فرایند فولیکولوژنیزس به فعالیت و پیشرفت در روند تا تولید تخمک بالغ با توانایی باروری می باشد.

آماري این افزایش در دو گروه RL ($p=0/042$) و NIRL ($p=0/004$) نسبت به گروه CT معنادار است. همچنین این افزایش نسبت به گروه D در دو گروه لیزر، نیز دیده می شود که در NIRL ($p=0/048$) معنادار است این درحالی است که افزایش SF در گروه RL نسبت به گروه D رابطه معناداری دیده نمی شود. این نوع از فولیکول ها در گروه D نسبت به گروه CT نیز افزایش داشته است که این افزایش معنادار نبوده است. جدول ۱

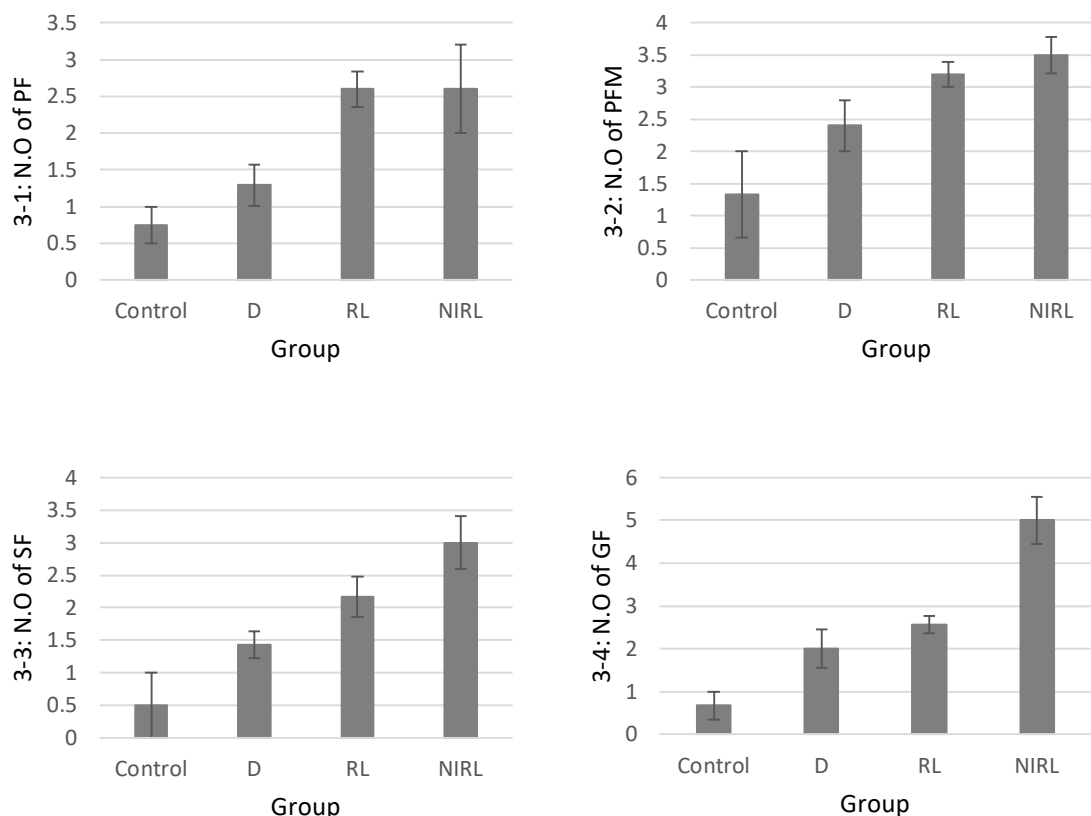
این نتایج نشان می دهد که اگرچه لیزرها باعث افزایش تعداد فولیکول های ثانویه شدند اما در مقایسه با یکدیگر لیزر در طول موج مادون قرمز نزدیک اثربخشی بیشتری در تولید SF داشته است. شکل ۳. این نتیجه بدان معناست که لیزر با طول موج مادون قرمز نزدیک در مقایسه با لیزر قرمز و دارو در پیشبرد فرایند فولیکولوژنیزس تا تولید SF موفق تر بوده است. شکل ۲

نتایج شمارش فولیکول های گراف (GF)

فولیکول های گراف نوع بالغ فولیکول هاست که نهایتاً منجر به تولید تخمک بالغ با توانایی باروری می شود. تعداد این فولیکول ها در فرایند فولیکولوژنیزس و در نتیجه در باروری حائز اهمیت است. با بررسی تعداد GF در نمونه های هر گروه نتایج متفاوتی به دست آمده است. بر اساس این نتایج تعداد GF در گروه های RL ($p=0/029$) و NIRL



شکل ۲. برش بافتی تخمدان از انواع فولیکول های رت : رت ها در گروه کنترل (CT)، در گروه مداخله با دارو (D)، مداخله با لیزر قرمز (RL) و گروه مداخله با لیزر مادون قرمز نزدیک (NIRL) هستند. این شکل نشان دهنده نمونه های رنگ آمیزی شده از تغییرات بافتی در هر گروه است. به طوری که قسمت a مربوط به CT، قسمت b مربوط به D، قسمت c مربوط به RL و قسمت d مربوط به گروه NIRL می باشد. همانطور که از شکل برمی آید تعداد فولیکول های رنگ آمیزی شده از هر نوع در گروه NIRL نسبت به سایر گروه ها افزایش داشته است.



شکل ۳. نمودار ستونی میانگین فراوانی فولیکول ها: گروه کنترل (CT)، گروه مداخله با دارو (D)، مداخله با لیزر قرمز (RL) و گروه مداخله با لیزر مادون قرمز نزدیک (NIRL). قسمت ۱-۳ نشان دهنده افزایش فولیکول های PF در دو گروه لیزری به نسبت مساوی در مقایسه با دو گروه D و CT است. قسمت ۲-۳ نشان دهنده افزایش فراوانی PFM در دو گروه لیزری در مقایسه با دو گروه D و CT است. این افزایش در گروه NIRL نسبت به RL بیشتر است. قسمت ۳-۳ نشان دهنده افزایش مقدار SF در گروه های مداخله می باشد. این افزایش به طور تقریبی روندی صعودی را رو نمودار نشان می دهد و بیشترین مقدار مربوط به گروه NIRL و کمترین مقدار مربوط به گروه D می باشد. قسمت ۳-۴ نشان دهنده فراوانی GF در گروه های تحت مداخله می باشد. با توجه به نمودار فولیکول های گراف در NIRL به طور چشم گیری افزایش داشته است. اگرچه این نوع از فولیکولدر هر دو گروه لیزری در مقایسه با گروه دارو و کنترل افزایش داشته است.

بیشترین مقدار افزایش مربوط به گروه RL و کمترین آن مربوط به گروه NIRL بوده است. جدول ۲ آنچه که از نتایج حاصل می شود، میزان LH در گروه لیزر قرمز بیشتر از دارو و مادون قرمز نزدیک می باشد و از آنجا که سطح این هورمون در پایان فرایند کاهش میابد نشان دهنده اثرگذاری بیشتر لیزر مادون قرمز نزدیک است. شکل ۴-۲.

نتایج سنجش هورمون استروژن E_2

بررسی میزان این هورمون در نمونه ها نشان داده است که میزان آن در گروه های تحت مداخله نسبت به گروه کنترل افزایش داشته است که بیشترین افزایش مربوط به گروه D و کمترین آن مربوط به گروه RL می باشد. این افزایش در گروه دارو نسبت به سایر گروه ها معنادار نبوده است در حالی که در نرخ تغییرات سطح E_2 در مقایسه با گروه CT در سه گروه D و RL و NIRL تفاوت چندانی دیده نمی شود. جدول ۲. بنابراین لیزر مادون قرمز نزدیک در تولید استروژن در مقایسه با لیزر قرمز موفق تر عمل کرده است. شکل ۴-۳.

نتایج سنجش هورمون پروژسترون Pro

میزان سطح هورمون پروژسترون بر خلاف سایر هورمون ها در نمونه های تحت مداخله کاهش پیدا کرده است. این کاهش نسبت به گروه

نتایج سنجش هورمون تحریک کننده فولیکول ها FSH

بررسی میزان سطح FSH در همه گروه ها نشان دهنده افزایش این هورمون در همه گروه های تحت مداخله است. این افزایش در دو گروه لیزری نسبت به گروه دارو بیشتر بوده است که در هر دو گروه RL و NIRL ($p=0/000$) نسبت به گروه CT معنادار بوده و همچنین نسبت به گروه D در دو گروه RL ($p=0/009$) و NIRL ($p=0/000$) افزایش معناداری داشته اند. جدول ۲. با توجه به نتایج، میزان FSH در گروه NIRL بیشترین افزایش را به طور معنادار داشته است اگرچه افزایش در گروه RL نیز معنادار بوده است اما نسبت به گروه NIRL افزایش کمتری داشته است. شکل ۴-۱.

نتایج سنجش هورمون لیتوئینی LH

با توجه به سطح LH در نمونه ها می توان بیان کرد که این هورمون در هر سه گروه تحت مداخله افزایش داشته است. این افزایش در مقایسه با گروه CT در دو گروه D ($p=0/015$) و RL ($p=0/000$) معنادار بوده است. این در حالی است که در گروه NIRL افزایش در مقایسه با گروه CT معنادار نبوده است. با این وجود گروه NIRL با دو گروه D ($p=0/016$) و RL ($p=0/000$) رابطه معنادار داشته است.

متفاوت تر عمل کرده است به طوری که میزان آن در گروه RL بیشتر از سایر گروه های تحت مداخله بوده است که نشان دهنده آن است که لیزر قرمز در تولید این هورمون نسبت به لیزر مادون قرمز نزدیک مؤثرتر عمل کرده است. شکل ۴-۴.

در هر سه گروه D ($p=0/018$)، RL ($p=0/047$) و NIRL ($p=0/002$) معنادار بوده است. بیشترین کاهش مربوط به گروه NIRL و کمترین کاهش مربوط به گروه RL می باشد. این در حالی است که گروه های تحت مداخله با یکدیگر رابطه معناداری ندارند. جدول ۲. بنابراین میزان سطح هورمون پروژسترون در دو گروه لیزری کمی

جدول ۲. میانگین سطح هورمون ها در بافت تخمدان رت : گروه کنترل (CT)، گروه مداخله با دارو (D)، مداخله با لیزر قرمز (RL) و گروه مداخله با لیزر مادون قرمز نزدیک (NIRL).

Parameters	NIRL	RL	D	CT
FSH(IU/L)	$3/8773 \pm 0/77148^{***}$	$1/42025 \pm 0/125126^{***}$	$1/5329 \pm 0/052185$	$0/16875 \pm 0/025174$
LH(IU/L)	$0/09457 \pm 0/018313^{***}$	$0/60867 \pm 0/077197^{***}$	$0/40557 \pm 0/098978^{***}$	$0/03725 \pm 0/011898$
E ₂ (pg/mL) ^f	$18/086 \pm 0/6588^{***}$	$17/120 \pm 0/8120^{***}$	$18/917 \pm 1/1453^{***}$	$11/900 \pm 0/000$
Pro(ng/mL) ^g	$13/176 \pm 0/41589^{***}$	$19/1267 \pm 2/64739^{***}$	$17/305 \pm 1/56769^{***}$	$29/630 \pm 1/57000$

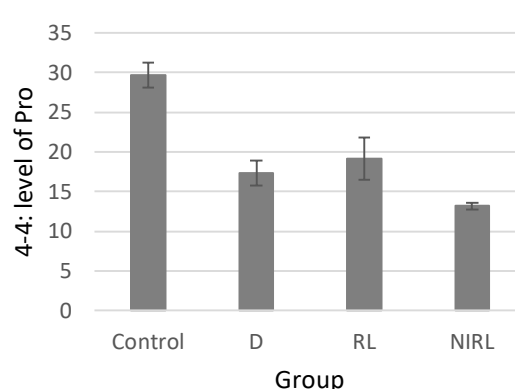
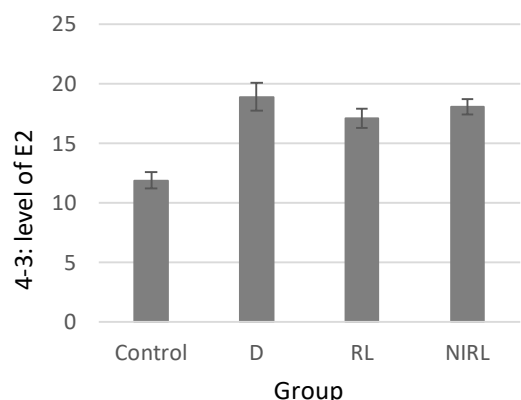
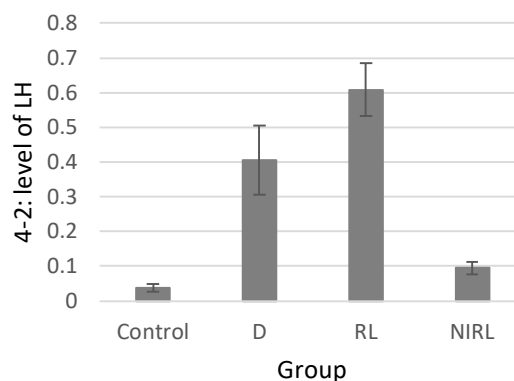
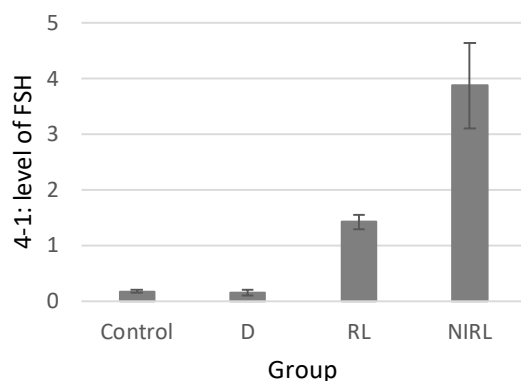
* هورمون تحریک کننده FSH، هورمون لیتوتینی LH، هورمون استروژن E₂، هورمون پروژسترون Pro.

** داده ها بر اساس میانگین $\pm$ خطای استاندارد بیان شده اند

*** $p < 0/05$ در مقایسه با گروه CT

**** $p < 0/05$ در مقایسه با گروه D

***** $p < 0/05$ در مقایسه با گروه RL



شکل ۴. نمودار ستونی میانگین هورمون های مؤثر : گروه کنترل (CT)، گروه مداخله با دارو (D)، مداخله با لیزر قرمز (RL) و گروه مداخله با لیزر مادون قرمز نزدیک (NIRL). قسمت ۱-۴ نشان دهنده افزایش سطح هورمون FSH (IU/L) در دو گروه لیزری در مقایسه با دو گروه D و CT است. این افزایش در گروه NIRL به طور چشم گیری قابل مشاهده است. قسمت ۲-۴ نشان دهنده افزایش سطح هورمون LH (IU/L) در دو گروه RL و D در مقایسه با دو گروه CT و NIRL است. این افزایش در گروه RL نسبت به سایر گروه ها بیشتر است. قسمت ۳-۴ نشان دهنده افزایش مقدار E₂ (pg/mL)^f در گروه های مداخله می باشد. اگرچه این افزایش تفاوت چندانی با گروه کنترل ندارد اما در گروه D بیشترین مقدار افزایش را نشان می دهد. قسمت ۴-۴ نشان دهنده سطح هورمون Pro(ng/mL)^g در گروه های تحت مداخله می باشد. با توجه به نمودار سطح این هورمون در این گروه ها نسبت به گروه کنترل کاهش یافته است. بیشترین کاهش در گروه NIRL و کمترین کاهش در گروه RL نسبت به گروه CT دیده می شود.

بحث

با توجه به اینکه استفاده از لیزر کم توان درمانی در پزشکی زنان به صورت تکمیلی مورد استفاده قرار گرفته است و تا کنون مورد مشابهی در درمان به صورت مستقل استفاده نشده است، در این پژوهش که برای اولین مرتبه در دنیا مورد بررسی قرار گرفته طراحی نحوه استفاده از لیزر به طور مستقل از مطالعات قبلی بر بافت های دیگر کمک گرفته شده است. نتایج به دست آمده ازین مطالعه نشان داد که اثر تحریکی لیزر کم توان بر بافت تخمدان به صورت مستقل و بدون استفاده از دارو باعث افزایش تعداد انواع فولیکول های تخمدان و تغییر سطح هورمون های جنسی مؤثر بر فرایند تولید انواع فولیکول ها و در نتیجه افزایش روند فولیکولوژنیز در تولید تخمک بالغ در بافت تخمدان رت شده است.

با توجه به این مورد که مطالعه در این زمینه برای اولین بار انجام شده است هر دو طول موج مؤثر در مطالعات پیشین مورد مطالعه قرار گرفته اند و نتایج به دست آمده از نمونه های مورد بررسی در پژوهش حاضر ، به طور کلی بیان می کند: لیزر های کم توان درمانی در طول موج های قرمز با طول موج ۶۳۰ نانومتر و مادون قرمز با طول موج ۸۱۰ نانومتر منجر به افزایش تعداد انواع فولیکول های بافت تخمدان در طی روند فولیکولی می گردد. آنچه لیزر مادون قرمز را نسبت به لیزر قرمز برتری می بخشد معنا دار بودن آماری نتایج حاصل از آن می باشد، که نشان دهنده افزایش فعالیت بافت تخمدان در تولید تخمک بالغ در تحریک با لیزر ۸۱۰ نانومتر با توجه به مطالعات انجام شده بر عملکرد بافت تخمدان در تولید تخمک بالغ طی روند فولیکولی است (۳۲-۳۴). همچنین طبق مطالعات انجام شده افزایش میزان سطح هورمون های FSH و E₂ و تا حدی قابل قیاس با دارو Pro و کاهش سطح هورمون LH در ابتدای سیکل نشان دهنده تحریک بیشتر برای فعال سازی فولیکول های بدوی می باشد (۳۵، ۳۶). طبق مطالعات پیشین دلیل استفاده از داروهای هورمونی در درمان بیماری های تنبلی تخمدان تغییر سطح مؤثر هورمون های جنسی است (۳۷-۳۹). که با توجه به آنچه که از سنجش هورمون ها در انتهای آزمایش به دست آمده است می توان بیان کرد که لیزر ۸۱۰ نانومتر علاوه بر افزایش سطح هورمون های FSH و E₂ و Pro تا حد قابل مقایسه با دارو در ابتدای فرایند فولیکولوژنیز و همچنین کاهش سطح هورمون LH در ابتدای سیکل توانسته است تخمدان را در تولید تخمک بالغ بیشتر یاری کند. بنابراین لیزر مادون قرمز با طول موج ۸۱۰ نانومتر افزایش چشمگیر و معناداری در مقایسه با گروه کنترل و داروی کلومیفن در تولید انواع فولیکول ها تا تخمک بالغ را در فرایند فولیکولوژنیز داشته است که طبق نتایج به دست آمده از مطالعات گذشته نشان دهنده افزایش روند فولیکولی در بافت تخمدان بوده است (۴۰-۴۵).

در سال ۲۰۱۱ آلبرت و همکارانش با بررسی اثر لیزر مادون قرمز نزدیک با دوز ۵ J/cm² بر سلول های شنوایی میزان آستانه تحریک آنها را بررسی کرد که منجر به افزایش تولید بیشتر آکسون های عصبی شد (۸) که نتایج آن همگام با نتایج تحریکی این لیزر بر تولید بیشتر تعداد فولیکول های تخمدان است. همچنین در سال ۲۰۰۶ لیبرت و

همکارانش اثر تحریکی لیزر ۸۱۰ نانومتر را بر سیستم عصبی پا در دوز مشابه بررسی کردند که نتایج حاصل منجر به تحریک سلول ها سیستم اعصاب حرکتی با تغییر در سطح هورمون های مؤثر بر آنها شد (۳۰) که نتایج آن همگام با نتایج تحریکی این لیزر بر سطح هورمون های جنسی تخمدان است. در سال ۲۰۱۳ مطالعه بر لیزر کم توان در دوزی مشابه بر سلول های مغز استخوان انجام شد که منجر به ایجاد تحریک و در نتیجه حرکت عضلات آسیب دیده به کمک اثر گذاری بر سیستم گردش خون و تغییر سطح هورمون ها صورت گرفت (۱۵). بررسی اثر لیزر بر بافت ها مختلف به گونه های متفاوت در طی زمان به طور گسترده ای انجام شده است. در زمینه پزشکی زنان، در سال ۲۰۱۴ اثر تحریکی لیزر دایود بر داروی کلومیفن به عنوان مکمل دارو در درمان این سندروم مورد پژوهش قرار گرفته است (۱۳). همچنین در سال ۱۹۸۹ اثر لیزر هلیوم-نئون بر تحریک بافت تخمدان منجمد در زمینه پزشکی زنان مورد بررسی قرار گرفت (۴۶). اما در این مطالعات لیزر به صورت درمان مکمل استفاده شد که مطالعه حاضر ثابت کرد لیزر می تواند به تنهایی مؤثر واقع شود.

اگرچه نتایج به دست آمده با آنچه که انتظار می رفت متفاوت بود و فقط لیزر با طول موج ۸۱۰ نانومتر روابط معناداری را شامل میشد اما این مطالعه نشان داد لیزر NIR به طور قطع می تواند منجر به افزایش فعالیت تخمدان در تولید تخمک بالغ با قابلیت باروری طی فرایند فولیکولی شود که به طور قطع می تواند در آینده نزدیک برای پیدا کردن درمانی قطعی و ساده تر در درمان سندروم پلی کیستیک تخمدان مورد توجه قرار گیرد. این سندروم در نوع پیشرفته خود منجر به ناباروری می شود که تا کنون درمانی قطعی نداشته است (۴۱).

باید خاطر نشان کرد این مطالعه دارای محدودیت هایی می باشد که امید بر آن است در مطالعات آتی مورد توجه قرار گیرند. از جمله رت های این آزمایش در بلوغ کامل و سلامت عمومی کامل بوده اند و این بررسی بر روی تخمدان بیمار تنبل در تولید تخمک بالغ انجام نشده است. اما با توجه به افزایش فعالیت تخمدان می تواند بر درمان تنبلی تخمدان مفید واقع شود. همچنین این مطالعه به بررسی اثر تحریکی لیزر در شرایط in vivo در محیط آزمایشگاهی پرداخته با این حال بسیاری از مسیر بالقوه نوری مورد ارزیابی قرار نگرفته اند. این موانع عواملی مانند رژیم غذایی، فشار خون و سایر اندام های موجود در مسیر لیزر از پوست تا تخمدان مانند رگ های خونی و... می باشند که در این مطالعه مورد بررسی قرار نگرفتند. همچنین در مواجهه با لیزر برای هر رت نتایج ممکن است به دلایل فردی هر کدام مانند میزان چربی متفاوت باشد که همچون موارد قبلی مورد بررسی قرار نگرفته است. همچنین این مطالعه به بررسی اثر مستقیم لیزر از روی پوست بدون توجه به اختلال در فرایند فولیکولی پرداخته است. باید خاطر نشان کرد که مطالعه میتواند محدودیت های دیگری داشته باشد که از چشم نویسندگان مطالعه دور مانده باشند. با وجود همه محدودیت های موجود، نتایج به دست آمده از این مطالعه به عنوان یک مطالعه بنیادی و داشتن حجم نمونه کافی می تواند سهم مهمی در درمان کم کاری تخمدان در روند فولیکولوژنیز و اختلالات و بیماری های ناشی از آن همچون سندروم پلی کیستیک تخمدان (PCOS)، بر خلاف مطالعات

قابلیت باروری نشان دهد. این نتایج با بررسی فراساختاری بافت تخمدان به کمک شمارش انواع فولیکول های تخمدان در روند فولیکولوژنیز با در نظر گرفتن سطح هورمون های مؤثر صورت گرفته است. بنابراین این مطالعه نشان داده که لیزر ۸۱۰ نانومتر به طور قطع می تواند باعث تحریک تخمدان در روند تولید تخمک بالغ گردد که قطعاً می تواند در مطالعات آینده نزدیک برای پیدا کردن درمانی قطعی و ساده در درمان بیماری های ناشی از کمبود تولید تخمک در بافت تخمدان از جمله بیماری PCOS مورد توجه قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

این مطالعه با پشتیبانی دانشگاه علوم پزشکی تبریز با کد کمک هزینه تحصیلی ۱۳۷/۸۹/۵ انجام شده است. همچنین تشکر می شود از آقای عشرت خواه و موسوی دانشجوی دکتری در دانشگاه علوم پزشکی تبریز برای اندازه گیری سطح هورمون ها، آقای عابد الهی از گروه آناتومی دانشگاه علوم پزشکی تبریز برای شناسایی آناتومی رت ها و آقای پدرام حمیدی کارشناس ارشد مهندسی عمران از دانشگاه شاهرود برای طراحی، ساخت نگارنده رت و پردازش نتایج آماری با نرم افزار SPSS.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می دارند که هیچگونه تضاد منافعی ندارند.

قبلی که لیزر به صورت مکمل استفاده شده بود (۶، ۳۲، ۳۴) به صورت مستقل در پیشبرد روند تولید تخمک بالغ استفاده شود.

نتیجه گیری

افزایش تعداد بیشتر انواع فولیکول ها (اولیه، اولیه چند لایه، ثانویه و گراف) در گروه های لیزر با طول موج ۶۳۰ نانومتر و ۸۱۰ نانومتر نسبت به دو گروه دارو و کنترل دیده شده است. که این افزایش برای گروه لیزر مادون قرمز نزدیک با طول موج ۸۱۰ نانومتر نسبت به سایر گروه ها معنادار بوده است. همچنین افزایش در سطح هورمون FSH و E₂ و در حد قابل قیاس با گروه دارو در Pro و همچنین کاهش میزان LH در ابتدای سیکل نشان دهنده تحریک بیشتر در فعال سازی فولیکول های بدوی و شروع فرایند فولیکولوژنیز می باشد. که تغییرات در سطح هورمون های مؤثر جنسی در گروه لیزر مادون قرمز نزدیک با طول موج ۸۱۰ نانومتر نسبت به سایر گروه ها معنا دار بوده است اگرچه این تغییر در گروه لیزر قرمز با طول موج قرمز صورت گرفته اما نسبت به سایر گروه ها معنادار نبوده است.

با توجه به نتایج به دست آمده لیزر ۸۱۰ نانومتر با افزایش بیشتر FSH و E₂ و Pro و کاهش LH، بیشترین اثر تحریکی بر شروع فرایند را نسبت به سایر گروه های مداخله داشته است که می تواند نشان دهنده افزایش فعالیت تخمدان به صورت مستقل در تولید تخمک بالغ با

References

- Erickson GF, Shimasaki S. The physiology of folliculogenesis: the role of novel growth factors. *Fertil Steril*. 2001;76(5):943-949. doi: 10.1016/S0015-0282(01)02859-X
- Banerjee S, Banerjee S, Saraswat G, Bandyopadhyay SA, Kabir SN. Female reproductive aging is master-planned at the level of ovary. *PLoS One*. 2014;9(5):e96210. doi: 10.1371/journal.pone.0096210 pmid: 24788203
- Sengupta P. Metals and male reproduction: The possible mechanisms. *Adv Biomed Res*. 2013;3(4):129. doi: 10.4103/2277-9175.133253 pmid: 24949300
- Sengupta P, Chaudhuri P, Bhattacharya K. Screening obesity by direct and derived anthropometric indices with evaluation of physical efficiency among female college students of kolkata. *Ann Med Health Sci Res*. 2013;3(4):517-522. doi: 10.4103/2141-9248.122066 pmid: 24380001
- Bartusik D, Aebischer D, Ghogare A, Ghosh G, Abramova I, Hasan T, et al. A fiberoptic (photodynamic therapy type) device with a photosensitizer and singlet oxygen delivery probe tip for ovarian cancer cell killing. *Photochem Photobiol*. 2013;89(4):936-941. doi: 10.1111/php.12072 pmid: 23495787
- Gorczyca W, Bedner E, Burfeind P, Darzynkiewicz Z, Melamed M. Analysis of apoptosis in solid tumors by laser-scanning cytometry. *Modern Pathol*. 1998;11(11):1052-1058.
- Littlefield PD, Vujanovic I, Mundi J, Matic AI, Richter CP. Laser stimulation of single auditory nerve fibers. *Laryngoscope*. 2010;120(10):2071-2082. doi: 10.1002/lary.21102 pmid: 20830761
- Albert ES, Bec JM, Desmadryl G, Chekroud K, Travo C, Gaboyard S, et al. TRPV4 channels mediate the infrared laser-evoked response in sensory neurons. *J Neurophysiol*. 2012;107(12):3227-3234. doi: 10.1152/jn.00424.2011 pmid: 22442563
- Filicori M. The role of luteinizing hormone in folliculogenesis and ovulation induction. *Fertil Steril*. 1999;71(3):405-414. doi: 10.1016/S0015-0282(98)00482-8
- Freeman EW, Gracia CR, Sammel MD, Lin H, Lim LC, Strauss JF, 3rd. Association of anti-mullerian hormone levels with obesity in late reproductive-age women. *Fertil Steril*. 2007;87(1):101-106. doi: 10.1016/j.fertnstert.2006.05.074 pmid: 17109858
- Homburg R, Berkowitz D, Levy T, Feldberg D, Ashkenazi J, Ben-Rafael Z. In vitro fertilization and embryo transfer for the treatment of infertility associated with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*. 1993;60(5):858-863. doi: 10.1016/S0015-0282(16)56287-6
- Legro RS, Barnhart HX, Schlaff WD, Carr BR, Diamond MP, Carson SA, et al. Clomiphene, metformin, or both for infertility in the polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med*. 2007;356(6):551-566. doi: 10.1056/NEJMoa063971 pmid: 17287476
- Gacaferrri Lumezi B, Goci A, Lokaj V, Latifi H, Karahoda N, Minci G, et al. Mixed form of hirsutism in an adolescent female and laser therapy. *Iran Red Crescent Med J*. 2014;16(6):e9410. doi: 10.5812/ircmj.9410 pmid: 25068069
- Miller WL, Strauss IJF. Molecular pathology and mechanism of action of the steroidogenic acute regulatory protein, StAR. *Proceedings of Xth International Congress on Hormonal Steroids*, Quebec, Canada, 17-21 June 1998. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 1999;69(1-6):131-141. doi: 10.1016/S0960-0760(98)00153-8
- Shen CC, Yang YC, Chiao MT, Chan SC, Liu BS. Low-level laser stimulation on adipose-tissue-derived stem cell treatments for focal cerebral ischemia in rats. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2013;2013:594906. doi: 10.1155/2013/594906 pmid: 24363769
- Zharov VP, Galitovskaya EN, Johnson C, Kelly T. Synergistic enhancement of selective nanophotothermolysis with gold nanoclusters: potential for cancer therapy. *Lasers Surg Med*. 2005;37(3):219-226. doi: 10.1002/lsm.20223 pmid: 16175635
- Gross AJ, Herrmann TR. History of lasers. *World J Urol*. 2007;25(3):217-220. doi: 10.1007/s00345-007-0173-8 pmid: 17564717
- Moon YS, Duleba AJ, Yun YW, Ho Yuen B. Effects of clomiphene citrate on ovarian function in hypophysectomized rats. *J Reprod Fertil*. 1989;86(2):753-757. doi: 10.1530/jrf.0.0860753 pmid: 2760900
- Wang Q, Guo X, Liu MQ, Wang XY, Zheng YP. Effect of laser acupuncture on disuse osteoarthritis: an ultrasound biomicroscopic study of patellar articular cartilage in rats. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2012;2012:838420. doi: 10.1155/2012/838420 pmid: 22888368

20. Zhu WJ, Li XM, Chen XM, Lin Z, Zhang L. Transvaginal, ultrasound-guided, ovarian, interstitial laser treatment in anovulatory women with clomifene-citrate-resistant polycystic ovary syndrome. *BJOG*. 2006;**113**(7):810-816. doi: [10.1111/j.1471-0528.2006.00975.x](https://doi.org/10.1111/j.1471-0528.2006.00975.x) pmid: 16827765
21. Izzo AD, Richter CP, Jansen ED, Walsh JT, Jr. Laser stimulation of the auditory nerve. *Lasers Surg Med*. 2006;**38**(8):745-753. doi: [10.1002/lsm.20358](https://doi.org/10.1002/lsm.20358) pmid: 16871623
22. Sherein S. Comparative studies on the therapeutic effect of low power laser biostimulation and clomid on the treatment of polycystic ovarian disease. *Egypt J Comparative Pathol Clinic Pathol*. 2009;**22**(1).
23. Al Rashoud AS, Abboud RJ, Wang W, Wigderowitz C. Efficacy of low-level laser therapy applied at acupuncture points in knee osteoarthritis: a randomised double-blind comparative trial. *Physiotherapy*. 2014;**100**(3):242-248. doi: [10.1016/j.physio.2013.09.007](https://doi.org/10.1016/j.physio.2013.09.007) pmid: 24418801
24. Rashid, R. R., Sun S, Wang G, Dargusch M. The effect of laser power on the machinability of the Ti-6Cr-SMo-SV-4Al beta titanium alloy during laser assisted machining. *Int J Machine Tool Manufact*. 2012;**63**:41-43. doi: [10.1016/j.jmachtools.2012.07.006](https://doi.org/10.1016/j.jmachtools.2012.07.006)
25. Zhu W, Li X, Chen X, Lin Z, Zhang L. Ovarian interstitial YAG-laser: an effective new method to manage anovulation in women with polycystic ovary syndrome. *Am J Obstet Gynecol*. 2006;**195**(2):458-463. doi: [10.1016/j.ajog.2006.01.022](https://doi.org/10.1016/j.ajog.2006.01.022) pmid: 16890553
26. Wells J, Kao C, Jansen ED, Konrad P, Mahadevan-Jansen A. Application of infrared light for in vivo neural stimulation. *J Biomed Opt*. 2005;**10**(6):064003. doi: [10.1117/1.2121772](https://doi.org/10.1117/1.2121772) pmid: 16409069
27. Yu Y, Lui L, Tam H, Chung W. Fiber-laser-based wavelength-division multiplexed fiber Bragg grating sensor system. *IEEE Photonic Technol Letter*. 2001;**13**(7):702-704. doi: [10.1109/68.930420](https://doi.org/10.1109/68.930420)
28. Strouse JJ, Spevak M, Mack AK, Arcenci RJ, Small D, Loeb DM. Significant responses to platinum-based chemotherapy in renal medullary carcinoma. *Pediatr Blood Cancer*. 2005;**44**(4):407-411. doi: [10.1002/pbc.20292](https://doi.org/10.1002/pbc.20292) pmid: 15602719
29. Silverstein FE, Faich G, Goldstein JL, Simon LS, Pincus T, Whelton A, et al. Gastrointestinal toxicity with celecoxib vs nonsteroidal anti-inflammatory drugs for osteoarthritis and rheumatoid arthritis: the CLASS study: A randomized controlled trial. Celecoxib Long-term Arthritis Safety Study. *JAMA*. 2000;**284**(10):1247-1255. doi: [10.1001/jama.284.10.1247](https://doi.org/10.1001/jama.284.10.1247) pmid: 10979111
30. Liebert AD, Bicknell BT, Adams RD. Protein conformational modulation by photons: a mechanism for laser treatment effects. *Med Hypotheses*. 2014;**82**(3):275-281. doi: [10.1016/j.mehy.2013.12.009](https://doi.org/10.1016/j.mehy.2013.12.009) pmid: 24424395
31. Sengupta A, Thulasidas S, Natarajan V. Trace level determination of precious metals in aqueous medium, U, Th and Zr based nuclear materials by ICP-AES and EDXRF: a comparative study. *J Radioanal Nuclear Chemistr*. 2015;**303**(3):2421-2429. doi: [10.1007/s10967-014-3679-8](https://doi.org/10.1007/s10967-014-3679-8)
32. Erickson GF, Shimasaki S. The role of the oocyte in folliculogenesis. *Trend Endocrinol Metabol*. 2000;**11**(5):193-198. doi: [10.1016/S1043-2760\(00\)00249-6](https://doi.org/10.1016/S1043-2760(00)00249-6)
33. Gorczyca W, Melamed MR, Darzynkiewicz Z. Analysis of apoptosis by flow cytometry. *Methods Mol Biol*. 1998;**91**:217-238. doi: [10.1385/0-89603-354-6:217](https://doi.org/10.1385/0-89603-354-6:217) pmid: 9664496
34. Zikunlig L, Hecher K, Bregenzner T, Baz E, Hackeloer BJ. Prognostic factors in severe twin-twin transfusion syndrome treated by endoscopic laser surgery. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 1999;**14**(6):380-387. doi: [10.1046/j.1469-0705.1999.14060380.x](https://doi.org/10.1046/j.1469-0705.1999.14060380.x) pmid: 10658275
35. diZerega GS, Hodgen GD. The interovarian progesterone gradient: a spatial and temporal regulator of folliculogenesis in the primate ovarian cycle. *J Clin Endocrinol Metab*. 1982;**54**(3):495-499. doi: [10.1210/jcem-54-3-495](https://doi.org/10.1210/jcem-54-3-495) pmid: 6799537
36. Durnerin CI, Erb K, Fleming R, Hillier H, Hillier SG, Howles CM, et al. Effects of recombinant LH treatment on folliculogenesis and responsiveness to FSH stimulation. *Hum Reprod*. 2008;**23**(2):421-426. doi: [10.1093/humrep/dem388](https://doi.org/10.1093/humrep/dem388) pmid: 18084048
37. Arnault E, Doussau M, Pesty A, Gouget B, Van der Meeren A, Fouchet P, et al. Natural uranium disturbs mouse folliculogenesis in vivo and oocyte meiosis in vitro. *Toxicology*. 2008;**247**(2-3):80-87. doi: [10.1016/j.tox.2008.02.006](https://doi.org/10.1016/j.tox.2008.02.006) pmid: 18407394
38. diZerega GS, Hodgen GD. Folliculogenesis in the primate ovarian cycle. *Endocr Rev*. 1981;**2**(1):27-49. doi: [10.1210/edrv-2-1-27](https://doi.org/10.1210/edrv-2-1-27) pmid: 6795034
39. Ubaldi F, Camus M, Smits J, Bennink HC, Van Steirteghem A, Devroey P. Premature luteinization in in vitro fertilization cycles using gonadotropin-releasing hormone agonist (GnRH-a) and recombinant follicle-stimulating hormone (FSH) and GnRH-a and urinary FSH. *Fertil Steril*. 1996;**66**(2):275-280. doi: [10.1016/S0015-0282\(16\)58453-2](https://doi.org/10.1016/S0015-0282(16)58453-2)
40. Dale PO, Tanbo T, Vaaler S, Åbyholm T. Body weight, hyperinsulinemia, and gonadotropin levels in the polycystic ovarian syndrome: evidence of two distinct populations. *Fertil Steril*. 1992;**58**(3):487-491. doi: [10.1016/S0015-0282\(16\)55249-2](https://doi.org/10.1016/S0015-0282(16)55249-2)
41. Eagleson CA, Gingrich MB, Pastor CL, Arora TK, Burt CM, Evans WS, et al. Polycystic ovarian syndrome: evidence that flutamide restores sensitivity of the gonadotropin-releasing hormone pulse generator to inhibition by estradiol and progesterone. *J Clin Endocrinol Metab*. 2000;**85**(11):4047-4052. doi: [10.1210/jcem.85.11.6992](https://doi.org/10.1210/jcem.85.11.6992) pmid: 11095431
42. Huang X, El-Sayed IH, Qian W, El-Sayed MA. Cancer cell imaging and photothermal therapy in the near-infrared region by using gold nanorods. *J Am Chem Soc*. 2006;**128**(6):2115-2120. doi: [10.1021/ja057254a](https://doi.org/10.1021/ja057254a) pmid: 16464114
43. Kamemoto LE, Misra AK, Sharma SK, Goodman MT, Luk H, Dykes AC, et al. Near-infrared micro-Raman spectroscopy for in vitro detection of cervical cancer. *Appl Spectrosc*. 2010;**64**(3):255-261. doi: [10.1366/000370210790918364](https://doi.org/10.1366/000370210790918364) pmid: 20223058
44. Sheehan KM, Calvert VS, Kay EW, Lu Y, Fishman D, Espina V, et al. Use of reverse phase protein microarrays and reference standard development for molecular network analysis of metastatic ovarian carcinoma. *Mol Cell Proteomics*. 2005;**4**(4):346-355. doi: [10.1074/mcp.T500003-MCP200](https://doi.org/10.1074/mcp.T500003-MCP200) pmid: 15671044
45. Wilhelm O, Schmitt M, Hohl S, Senekowitsch R, Graeff H. Antisense inhibition of urokinase reduces spread of human ovarian cancer in mice. *Clin Exp Metastasis*. 1995;**13**(4):296-302. doi: [10.1007/BF00133485](https://doi.org/10.1007/BF00133485) pmid: 7606892
46. Motta PJ. Functional morphology of the feeding apparatus of ten species of Pacific butterflyfishes (Perciformes, Chaetodontidae): an ecomorphological approach. *Environ Biol Fish*. 1988;**22**(1):39-67. doi: [10.1007/BF00000543](https://doi.org/10.1007/BF00000543)