Archive of SID

آسیب‌شناسی درمانگاهی دامپزشکی دوره ۱۴، شماره ۲، پیاپی ۵۴، تابستان ۱۳۹۹، صفحات: ۱۱۳-۱۰۱

"مقاله پژوهشی" DOI: 10.30495/JVCP.2020.1881036.1245

مطالعه اثر عصاره فلفل کوهی (*Vitagnus castus*) بر بلوغ و لقاح آزمایشگاهی اووسیت موش‌های سوری مبتلاشده به سندروم تخمدان پلی‌کیستیک

توحید قربانی[۱]، امیر کریمی[۲*]، غلامرضا نجفی[۳]، مقصود بشارتی[۲]، محسن شرفی[٤]

۱- دانشجوی فیزیولوژی دام، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی اهر، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.

۲- استادیار گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی اهر، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.

۳- دانشیار گروه علوم آناتومی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

٤- استادیار گروه علوم طیور، دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.

*نویسنده مسئول مکاتبات: pekarimi@tabrizu.ac.ir

(دریافت مقاله: ۹۸/۸/۱۸ پذیرش نهایی: ۹۹/۵/۲۷)

چکیده

عدم کاهش کلاژن دیواره فولیکولی منجر به تجمع فولیکول‌ها و بروز سندرم تخمدان پلی‌کیستیک و کاهش کیفیت اووسیت‌ها می‌گردد. هدف از مطالعه حاضر بررسی اثر عصاره گیاه فلفل‌کوهی (*Vitagnus castus*) بر بلوغ و توان باروری آزمایشگاهی اووسیت‌ها در موش‌های سوری مبتلاشده به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک (polycystic ovarian syndrome; PCO) بود. بدین منظور تعداد ۳۲ سر موش سوری ماده NMRI (Naval Medical Research Institute) ماده نابالغ ۲۵ روزه با میانگین وزنی ۲۵ گرم تهیه‌شده از دانشگاه تبریز، به‌طور تصادفی به ٤ گروه آزمایشی به شرح زیر تقسیم شدند: گروه شاهد بدون دریافت عصاره، گروه کنترل PCO بدون دریافت عصاره، گروه PCO دریافت‌کننده ۳٦۵ میلی‌گرم عصاره فلفل‌کوهی و گروه PCO دریافت‌کننده ۷۳۰ میلی‌گرم عصاره فلفل‌کوهی. برای تهیه اووسیت، موش‌های آزمایشی توسط تزریق درون صفاتی هورمون PMSG (pregnant mare serum gonadotropin) تیمار شدند و بعد از آسان‌کشی، از فولیکول‌های تخمدانی تخمک‌گیری به‌عمل آمده و برای ارزیابی بلوغ و لقاح آزمایشگاهی مورد استفاده قرار گرفتند. نتایج نشان داد که مقادیر هورمون‌های تستوسترون و استروژن در گروه‌های PCO تیمارشده با عصاره فلفل‌کوهی نسبت به گروه PCO دریافت‌کننده استرادیول والرات به طور معنی‌داری پایین‌تر بود ($p<۰/۰۵$). همچنین تعداد اووسیت‌های نابالغی که به مرحله متافازII رسیدند در گروه PCO دریافت‌کننده ۷۳۰ میلی‌گرم عصاره فلفل‌کوهی نسبت به گروه PCO دریافت‌کننده استرادیول‌والرات به طور معنی‌داری بالاتر بود ($p<۰/۰۵$). اما درصد اووسیت‌های لقاح یافته و نیز بلاستوسیست‌های تولیدی بین گروه‌های آزمایشی تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند ($p>۰/۰۵$). از طرف دیگر درصد رویان‌های هچ‌شده در گروه PCO دریافت کننده ۳٦۵ میلی‌گرم عصاره فلفل‌کوهی به طور معنی‌داری بالاتر از گروه PCO دریافت‌کننده استرادیول‌والرات بود ($p<۰/۰۵$). یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که عصاره گیاه فلفل کوهی باعث تکامل بیشتر اووسیت‌ها جهت لقاح و نیز افزایش تکامل رویان های حاصل از لقاح آزمایشگاهی در حیوانات درگیر با سندرم تخمدان پلی‌کیستیک می‌شود.

کلیدواژه‌ها: سندروم تخمدان پلی‌کیستیک، فلفل‌کوهی، بلوغ آزمایشگاهی، لقاح آزمایشگاهی.

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

تخمک به عنوان گامت ماده طی فرآیند تخمک‌گذاری در طول چرخه تناسلی از گناد فرد ماده آزاد می‌شود. کاهش کلاژن در دیوارهٔ فولیکولی در زمان تخمک‌گذاری برای آزاد کردن تخمک لازم است. در این فرآیند متالوپروتئینازهای ماتریکس افزایش یافته و باعث تجزیه کلاژن می‌شوند و از طرفی دیگر فعالیت آنزیم لیزیل اکسیداز که یک آنزیم پیوند دهنده بین ساختارهای کلاژن و الاستین می‌باشد، کاهش پیدا می‌کند (Henmi *et al*., 2001). اما در برخی موجودات مانند موش سوری در شرایطی مانند سندرم تخمدان پلی‌کیستیک، اتفاقات یادشده به درستی انجام نشده و باعث بقای فولیکول‌ها بر روی تخمدان‌ها شده و منجر به تجمع فولیکول‌ها و در نهایت سندرم تخمدان پلی‌کیستیک می‌گردد. در این حالت مقدار هورمون LH در افراد مذکور افزایش می‌یابد که این امر به دلیل افزایش در میزان و تناوب ترشح این هورمون می‌باشد (Nabiuni *et al*., 2015). زمانی که غلظت هورمون LH (luteinizing hormone) نسبت به FSH (follicle-stimulating hormone) افزایش یابد، تخمدان‌ها سنتز آندروژن را افزایش می‌دهند. البته میزان انسولین و فاکتورهای رشد انسولین نیز در این افراد افزایش یافته و موجب افزایش سنتز آندروژن‌ها در سلول‌های تکا و در نتیجه تقویت عملکرد هورمون LH خواهد شد (Marx and Mehta, 2003). در افراد مبتلا به سندروم تخمدان پلی‌کیستیک، انسولین سنتز شده و ترشح کبدی گلوبولین متصل شونده به هورمون‌های جنسی را کاهش می‌دهد. شایان ذکر است که گلوبولین متصل‌شونده به هورمون‌های جنسی از جمله تستوسترون نیز قابلیت اتصال دارد و با کاهش گلوبولین اتصالی به تستوسترون، غلظت هورمون آزاد افزایش یافته و باعث بروز نرینگی در این افراد می‌گردد (Tsilchorozidou *et al*., 2001). مشابه این بیماری در گونه‌های مختلف حیوانات مانند موش سوری (van Houten *et al*., 2014)، موش صحرائی (Shafiee *et al*., 2015) و گوسفند (Robinson *et al*., 1999) هم مورد بررسی و مطالعه قرار گرفته است. به‌ویژه در گوسفند مطالعه تاثیر آندروژن‌ها در دوران قبل از تولد و بروز ناهنجاری‌های تخمدان در دوران بلوغ مورد توجه قرار گرفته است. در این رابطه جوندگان مدل مفیدی برای فراهم کردن زمینه ژنتیکی پایدار و ایجاد شرایط محیطی کنترل‌شده می‌باشند. به علاوه سیکل کوتاه زندگی آن‌ها برای مطالعه اثرات تولیدمثلی و متابولیکی از جمله دیگر مزایای کارهای پژوهشی روی این حیوانات می‌باشد (Franks, 2009).

داروهای گیاهی به علت عدم وجود اثرات جانبی، اهمیت بیشتری در پیشگیری از انواع ناهنجاری‌ها دارند و مطالعات زیادی درخصوص اثرات محافظتی ترکیبات طبیعی مانند عصاره‌های گیاهی در مقابل شرایط مخرب مانند انجماد سلول‌ها (Daghigh Kia *et al*., 2017) و یا حتی در ابعاد سلولی در جهت تنظیم بقای سلول (آپوپتوزیس) (Mostahsan and Mortazavi, 2019) در مدل‌های حیوانی انجام شده است که عمده این اثرات مربوط به ترکیبات آنتی‌اکسیدانی گیاهان مذکور می‌باشد، اما برخی گیاهان با داشتن متابولیت‌های فعال شبه‌هورمونی می‌توانند اثرات خاصی نیز داشته باشند. گیاه فلفل کوهی یا ویتکس (*Vitagnus castus*)، گیاهی از خانواده شاه‌پسند با قدمت درمانی ۲۰۰۰ ساله

www.SID.ir

Archive of SID

می‌باشد که توسط دمکوریتوس به منظور کاهش میل جنسی تجویز می‌شد (Borrione *et al.*, 2008). از ترکیبات عمده عصاره این گیاه می‌توان به مشتقات آلکالوئیدی مانند ویتکسین، ترکیباتی از فلاونول‌ها نظیر کمپفرول و کوئرستاژتین اشاره نمود. البته در عصاره گیاه مذکور، ویتکسین و ایزوویتکسین از جمله فلاوونول‌های اصلی محسوب می‌شوند (Rani and Sharma, 2013). بر اساس این مطالعات عصاره گیاه مذکور با تغییر میزان هورمون‌های جنسی تا برطرف شدن عدم تعادل آنها، نقش خود را اعمال می‌کند. همچنین مطالعات فارماکولوژیک و کلینیکی نشان داده که وجود ترکیبات شبه دوپامینی در عصاره گیاه فلفل کوهی از طریق اتصال به گیرنده‌های D_2 دوپامین در هیپوتالاموس و هیپوفیز قدامی باعث مهار آزادسازی LH و FSH و کاهش این هورمون‌ها می‌شود (Daniele *et al.*, 2005) که در نهایت موجب بهبود وضعیت این هورمون‌ها در افراد درگیر با سندرم تخمدان پلی‌کیستیک می‌گردد (Jelodar and Askari, 2012). همچنین در مطالعه‌ای دیگر تاثیر مثبت عصارهٔ گیاه فلفل کوهی بر بافت تخمدان موش صحرائی هم گزارش شده است (Jelodar and Karami, 2017). اما در مطالعات اندک انجام‌شده علی‌رغم بیان تاثیرات مثبت گیاه مذکور در درمان ناهنجاری، در مورد کیفیت اووسیت‌های تولیدی نتایجی وجود ندارد، درحالی‌که برخی از مطالعات بر اهمیت وضعیت سلامت بدن مادر بر کیفیت اووسیت‌های تولیدی و در نهایت سلامت جنین اذعان دارند (Mohammadzadeh *et al.*, 2018).

با توجه به مطالب یاد شده و تاثیر مثبت عصاره گیاه مذکور بر درمان برخی ناهنجاری‌ها و این‌که در مورد اووسیت‌های تولیدی اطلاعاتی وجود ندارد، هدف از انجام مطالعه حاضر بررسی تاثیر عصاره گیاه فلفل کوهی بر بلوغ و توان باروری آزمایشگاهی اووسیت‌ها در موش سوری القا شده با سندرم تخمدان پلی‌کیستیک بود.

مواد و روش‌ها

-حیوانات مورد آزمایش: مطالعه حاضر در تابستان سال ۱۳۹۷ در دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه انجام شد. برای انجام مطالعه حاضر از تعداد ۳۲ سر موش سوری NMRI (Naval Medical Research Institute) ماده نابالغ ۲۵ روزه با میانگین وزنی ۲۵ گرم و نیز ۱۰ سر موش سوری نر ۱۰ هفته‌ای که از دانشکده دامپزشکی دانشگاه تبریز تامین شده بودند، استفاده شد. همه موش‌های ماده باکره بوده و حدود ۳۰ روز قبل از آزمایش نیز از جمعیت نرها دور نگه داشته شده بودند. شرایط نگه‌داری حیوانات کاملاً یکسان و شامل ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی در حرارت ۲۵-۲۲ درجه سلسیوس با دسترسی آزاد به آب و غذا بود. ۳۲ سر موش سوری ماده مورد مطالعه به مدت ١٤ روز تحت نظر بوده و با تهیه اسمیر واژنی سیکل تناسلی آن‌ها مورد بررسی قرار گرفت. بعد از تعیین سیکل تناسلی و اطمینان از یکسان بودن چرخه‌های تناسلی در همه آن‌ها، موش‌های مذکور به‌طور تصادفی، به ٤ گروه آزمایشی تقسیم شدند که شامل گروه‌های زیر بودند: ۱) گروه شاهد شامل موش‌هائی بود که عصاره مصرف نکردند، ۲) گروه کنترل مثبت شامل موش‌هائی بود که فقط سندروم تخمدان پلی کیستیک در آن‌ها القاء شده بود، ۳) گروه تیمار، شامل موش‌های القاءشده با

www.SID.ir

Archive of SID

سندروم تخمدان پلی‌کیستیک همراه با دریافت ۳٦۵ میلی‌گرم عصاره فلفل کوهی از طریق گاواژ دهانی به مدت ۳۰ روز و ٤) گروه تیمار، شامل موش‌های القاءشده با سندرم تخمدان پلی‌کیستیک همراه با دریافت ۷۳۰ میلی‌گرم عصاره فلفل کوهی از طریق گاواژ دهانی به مدت ۳۰ روز (Shamsi *et al*., 2015).

لازم به ذکر است که برای القاء سندروم تخمدان پلی‌کیستیک از روش تزریق استرادیول والرات (شرکت ابوریحان–ایران) به میزان ٤ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، استفاده شد.

-**تهیه عصاره گیاه فلفل کوهی**: گیاه فلفل کوهی مورد نیاز از دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه تهیه گردید. برای تهیه عصاره گیاه فلفل کوهی، میوه‌های این گیاه تحت شرایط استاندارد و در سایه خشک و توسط آسیاب برقی (MF10, IKA, Germany) پودر شدند. ۵۰۰ گرم از پودر میوه گیاه با ۱ لیتر الکل ۷۰ درصد (Merck, Germany) مخلوط گردید و پس از ٤۸ ساعت محلول صاف‌شده توسط کاغذ صافی واتمن، به بالن دستگاه روتاری منتقل گردید. در ادامه حلال (الکل) با استفاده از دستگاه روتاری (Rotavapor® R-100, UK) با دمای ۷۰ درجه سلسیوس و دور متوسط خارج گردیده و عصاره حاصله در دمای ۵۰ درجه سلسیوس آون خشک شد (Jelodar and Karami, 2017).

-**تهیه و بلوغ اووسیست**: برای تهیه اووسیت، موش‌های مورد آزمایش توسط تزریق درون صفاتی ۷/۵ واحد بین المللی هورمون PMSG (pregnant mare serum gonadotropin) (شرکت فولیگون هلند) تیمار شدند و ٤۸ ساعت بعد حیوانات با تزریق کتامین (Arevipharma GmbH, Germany) و زایلازین (Phoenix, New Zealand) داخل صفاقی بیهوش و سپس با جابجایی مهره گردنی آسان‌کشی شد (Ahangarpour *et al*., 2016) و از فولیکول‌های تخمدانی آن‌ها تخمک‌گیری به عمل آمد. در ادامه تخمک‌های اخذشده به داخل محیط کشت α-MEM (minimum essential medium) حاوی ۵ درصد سرم جنین گوساله (Sigma, Germany) انتقال داده شد. بافت‌های تخمدانی به قطرات نیم میلی‌لیتری منتقل و با سرنگ‌های انسولین تشریح شد و تخمک‌های نارس حاوی وزیکول ژرمینال همراه با سلول‌های گرانولوزای اطراف آن برداشته شد. برای بلوغ آزمایشگاهی اووسیت‌ها از محیط کشت TCM199 (tissue culture medium 199) و HPES (4-(2-hydroxyethyl-1-piperazine ethane sulfonate) معروف به HTCM199 (شرکت Gibco, UK) استفاده شد. همچنین تغییرات مورفولوژیک صورت‌گرفته در تخمک‌های کشت داده‌شده در محیط کشت‌های مذکور، توسط میکروسکوپ وارونه (Olympus, Japan) مستقردر دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه، مورد بررسی قرار گرفت و آزاد شدن اولین جسم قطبی (متافاز II) به عنوان نشانه بلوغ در نظر گرفته شده و از این تخمک‌ها برای لقاح در ارزیابی بخش IVF (*in vitro* fertilization) آزمایش استفاده شد. بدین منظور تخمک‌های بلوغ‌یافته در محیط کشت لقاح شستشو شده و همراه با اسپرم موش‌های نر ۱۰ هفته‌ای انکوبه شدند. برای تهیه اسپرم جهت لقاح، موش‌های نر مورد آزمایش با تزریق داخل صفاقی کتامین (۸۰ mg) و زایلازین (۵ mg) بیهوش و آسان‌کشی شده و سپس با

www.SID.ir

Archive of SID

فشار از دم اپیدیدیم، اسپرم‌ها تخلیه و در درون محیط کشت HTF (human tubal fluid medium) (Sigma, Germany) مخلوط‌شده با آلبومین سرم گاوی، داخل گرمخانه CO_2 (Culture Safe PRECISION, LEEC, England) قرار داده شدند. پس از یک ساعت گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۷ درجه سلسیوس، اسپرم‌های ظرفیت‌دارشده نیز به مدت ٦-٤ ساعت در مجاورت اوسیت‌های بالغ در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری شدند. تعداد اوسیت‌های نابالغ GV (germinal vesicle) که به مرحله متافاز II (بلوغ) رسیدند، درصد اوسیت‌های لقاح‌یافته، تعداد جنین‌های دو سلولی، درصد بلاستوسیت‌ها و بلاستوسیت‌های هچ‌شده بررسی شدند. همچنین تعداد فولیکول‌های کمتر از ۷۰ میکرومتر، ۱۱۰-۷۰، ۲۰۰-۱۱۰ و بزرگ‌تر از ۲۰۰ میکرومتر در روی تخمدان‌های هرگروه آزمایشی نیز شمارش شدند. برای این منظور تخمدان‌های مذکور تحت فرآیند مراحل مختلف آماده‌سازی بافتی پس از قالب‌گیری و به‌صورت سریالی با ضخامت ٦-٥ میکرومتر برش داده شده و سپس جهت انجام مطالعات بافت‌شناسی با رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین رنگ شده و در نهایت با بزرگنمایی ×٤۰۰ و با استفاده از میکروسکوپ نوری، گروه‌های مختلف فولیکولی بررسی شدند (Jelodar and Karami, 2013).

- **سنجش هورمون‌های استروژن و پروژسترون:** جهت سنجش هورمون‌های استروژن و پروژسترون نیز در هنگام آسان‌کشی موش‌ها در مرحله قبل، همزمان از قلب حیوانات مذکور نیز خون‌گیری به‌عمل آمده و عمل سنجش هورمون‌های مذکور توسط کیت‌های الایزا شرکت دیاپلاس (Diaplus Ltd, USA) وتوسط دستگاه خوانشگر الایزا (Sunrise, TECAN, Switzerland) در مرکز تحقیقات علوم پزشکی تبریز انجام گردید.

-**تحلیل آماری داده‌ها:** آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS نسخه ۹/۱ تحت رویه GLM انجام و برای بررسی تفاوت گروه‌های آزمایشی از روش مقایسه میانگین توکی (Tukey) در سطح معنی‌داری ۵ درصد استفاده شد.

یافته‌ها

جدول ۱ غلظت هورمون‌های استروژن و تستوسترون در گروه‌های آزمایشی را نشان می‌دهد. آنالیز آماری بین تیمارهای آزمایشی حاکی از آن بود که مقدار هورمون تستوسترون در موش‌های گروه PCO تیمارشده با عصاره فلفل کوهی نسبت به مقدار هورمون مذکور در موش‌های گروه PCO که این عصاره را دریافت نکردند به طور معنی‌داری پایین‌تر بود ($p<۰/۰۵$)، اما بین گروه‌های آزمایشی مذکور و شاهد، از این نظر تفاوت آماری مشخص و معنی‌داری مشاهده نشد ($p>۰/۰۵$). همچنین به طور مشابه با توجه به جدول مذکور مشخص شد که مقدار هورمون استروژن نیز در موش‌های گروه PCO تیمارشده با عصاره فلفل کوهی نسبت به مقدار هورمون مذکور در موش‌های گروه PCO که این عصاره را دریافت نکردند، به طور معنی‌داری پایین‌تر بود ($p<۰/۰۵$) در حالی‌که در مقدار هورمون مذکور بین گروه‌های آزمایشی و شاهد تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده نشد ($p>۰/۰۵$).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱- غلظت هورمون‌های جنسی در خون موش‌های گروه‌های مختلف مبتلا شده به سندروم تخمدان پلی‌کیستیک (PCO)

نام گروه / هورمون سنجش‌شده	شاهد	PCO بدون تیمار با عصاره فلفل کوهی	PCO تیمارشده با مقدار ۳٦٥ میلی‌گرم عصاره فلفل کوهی	PCO تیمارشده با مقدار ۷۳۰میلی‌گرم عصاره فلفل کوهی	خطای استاندارد	سطح معنی‌داری
استروژن	۹/۹٤^{b}	۱٤/٦٨^{a}	۸/۹^{b}	۷/۹۷^{b}	۱/۰٥	۰/۰۰۹
تستوسترون	۱/۳ ^{b}	۳/۰٥ ^{a}	۱/۲۷ ^{b}	۱/۲۸ ^{b}	۰/۱۳	۰/۰۰٤

a,b...: وجود علائم مختلف در هر ردیف نمایانگر اختلافات آماری معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشد.

* شاهد: موش‌های گروه بدون درمان دارویی و یا مصرف عصاره فلفل کوهی.

** PCO: گروه موش‌های مبتلا به سندروم تخمدان پلی‌کیستیک القا شده با تزریق استرادیول والرات.

بررسی اووسیت‌ها در مراحل مختلف، مطابق جدول ۲ نشان داد که تعداد اووسیت‌های نابالغی که به مرحله متافازII رسیدند در موش‌های گروه مبتلا شده به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک دریافت‌کننده ۷۳۰ میلی‌گرم از عصاره فلفل کوهی نسبت به تعداد آن در موش‌های گروه PCO که این عصاره را دریافت نکردند به طور معنی‌داری بالاتر بود ($p<۰/۰۵$). همچنین جدول مذکور نشان می‌دهد که درصد اووسیت‌های لقاح‌یافته در بین موش‌های گروه‌های آزمایشی تفاوت آماری معنی‌داری با هم نداشتند ($p>۰/۰۵$). به‌طور مشابهی نیز تفاوت آماری معنی‌داری در بین موش‌های گروه‌های آزمایشی در مورد رویان‌های دو سلولی مشاهده نشد ($p>۰/۰۵$). همچنین درصد بلاستوسیست‌ها در موش‌های گروه PCO که عصاره گیاه فلفل کوهی را دریافت نکردند نسبت به موش‌های گروه شاهد به طور معنی‌داری پایین‌تر بود ($p<۰/۰۵$) و به طور مشابه بین موش‌های گروه دریافت کننده ۳٦٥ میلی‌گرم از عصاره مذکور و موش‌های گروه PCO که عصاره گیاه فلفل کوهی را دریافت نکردند، تفاوت مشخص آماری مشاهده شد ($p<۰/۰۵$). همچنین به طور مشابه مشخص شد که بین موش‌های گروه شاهد و موش‌های برخی از گروه‌های آزمایشی تفاوت آماری معنی‌دار در تعداد رویان‌های تفریخ شده مشاهده می‌شود ($p<۰/۰۵$) به گونه‌ای که درصد رویان‌های هچ‌شده در مورد موش‌های گروه PCO که عصاره گیاه فلفل کوهی را دریافت نکردند و موش‌های گروه PCO دریافت‌کننده ۷۳۰ میلی‌گرم عصاره نسبت به درصد مذکور در موش‌های گروه شاهد پایین‌تر می‌باشد ($p<۰/۰۵$) و در همین رابطه تعداد رویان‌های هچ‌شده در موش‌های گروه PCO مصرف‌کننده ۳٦٥ میلی‌گرم عصاره به طور معنی‌داری بالاتر از گروه PCO که عصاره گیاه فلفل کوهی را دریافت نکردند، بود ($p<۰/۰۵$).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲- درصد انواع اووسیت در گامه‌های مختلف رویانی در موش‌های گروه‌های مختلف مبتلاشده به سندروم تخمدان پلی‌کیستیک (PCO)

نام گروه / گامه بررسی‌شده	شاهد	PCO بدون تیمار با عصاره فلفل کوهی	PCO تیمارشده با مقدار ۳۶۵ میلی‌گرم عصاره فلفل کوهی	PCO تیمارشده با مقدار ۷۳۰ میلی‌گرم عصاره فلفل کوهی	خطای استاندارد	سطح معنی‌داری
مرحله GV	۲۴	۱۸	۱۹/۶۷	۲۱	۱/۰۶	۰/۲۴
متافاز II	۸۲/۳[a]	۵۸/۸[b]	۵۵/۵[b]	۷۲/۸[a]	۱/۸۳	۰/۰۴۸
مرحله زیگوت	۸۴/۷	۸۴/۲	۸۱/۵	۸۵/۰۶	۱/۵۸	۰/۹
دوسلولی	۶۶/۲	۶۱/۵	۵۴/۶	۵۳/۹	۱/۶	۰/۲۷
بلاستوسیست	۴۶/۶[a]	۲۸/۴[c]	۳۰/۶[ab]	۲۵/۱[bc]	۱/۳۴	۰/۰۰۸
جنین‌های تفریخ‌شده	۳۵/۸۹[a]	۱۵/۲۸[c]	۲۱/۲[ab]	۱۵/۹[bc]	۱/۲۱	۰/۰۰۱

a,b,...: وجود علائم مختلف در هر ردیف نمایانگر اختلافات آماری معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشد.

* شاهد: موش‌های گروه بدون درمان دارویی و یا مصرف عصاره فلفل کوهی.

** PCO: گروه موش‌های مبتلا به سندروم تخمدان پلی‌کیستیک القاشده با تزریق استرادیول والرات.

جدول ۳ هم تعداد فولیکول‌های تخمدانی با اندازه‌های مختلف را در گروه‌های آزمایشی نشان می‌دهد که براساس اطلاعات ثبت‌شده در این جدول مشخص گردید، تعداد فولیکول‌های با قطر کمتر از ۷۰ میکرومتر در موش‌های گروه شاهد نسبت به موش‌های گروه PCO که عصاره گیاه فلفل کوهی را دریافت نکردند و موش‌های گروه PCO دریافت کننده ۷۳۰ میلی‌گرم از عصاره مذکور به طور معنی‌داری بیشتر بود ($p<۰/۰۵$) اما در تعداد فولیکول‌های مذکور بین موش‌های گروه PCO دریافت‌کننده ۳۶۵ میلی‌گرم عصاره و گروه شاهد تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($p>۰/۰۵$) اگرچه از این نظر بین موش‌های گروه مذکور با موش‌های گروه PCO که عصاره گیاه فلفل کوهی را دریافت نکردند نیز تفاوت مشخص آماری وجود داشت ($p<۰/۰۵$). همچنین به‌طور مشابه تعداد فولیکول‌های تخمدانی با قطر ۷۰ تا ۱۱۰ میکرومتر نیز در موش‌های گروه شاهد نسبت به موش‌های گروه‌های PCO که عصاره گیاه فلفل کوهی را دریافت نکردند و موش‌های گروه PCO دریافت‌کننده ۷۳۰ میلی‌گرم عصاره، بالاتر بود ($p<۰/۰۵$). از طرف دیگر بررسی‌های آماری نشان داد که تعداد فولیکول‌های کیستی در موش‌های گروه شاهد و موش‌های گروه PCO دریافت‌کننده ۷۳۰ میلی‌گرم عصاره نسبت به موش‌های گروه PCO که عصاره گیاه فلفل کوهی را دریافت نکردند، به طور معنی‌داری کمتر بود ($p<۰/۰۵$) و در عین حال از این نظر تفاوت آماری معنی‌داری با موش‌های گروه PCO دریافت‌کننده ۳۶۵ میلی‌گرم از عصاره گیاه فلفل کوهی مشاهده نشد ($p>۰/۰۵$).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۳- درصد انواع فولیکول‌های تخمدانی در اندازه‌های مختلف در موش‌های گروه‌های مختلف مبتلا شده به سندروم تخمدان پلی‌کیستیک (PCO)

نام گروه / نوع فولیکول بررسی‌شده	شاهد	PCO بدون تیمار با عصاره فلفل کوهی	PCO تیمارشده با مقدار ۳۶۵ میلی‌گرم عصاره فلفل کوهی	PCO تیمارشده با مقدار ۷۳۰ میلی‌گرم عصاره فلفل کوهی	خطای استاندارد	سطح معنی‌داری
با اندازه کوچکتر از ۷۰ میکرون	۱۵۳/۱^{a}	۱۲۶/۶^{c}	۱۴۱/۷^{ab}	۱۳۵/۷^{bc}	۱/۲۴	۰/۰۰۰۶
با اندازه ۱۱۰-۷۰ میکرون	۵۷^{a}	۴۲^{c}	۵۱^{ab}	۴۲/۶^{bc}	۱/۰۵	۰/۰۰۱۲
با اندازه ۲۰۰-۱۱۰ میکرون	۳۱^{a}	۲۰/۶^{b}	۲۷/۶۷^{ab}	۲۴/۷^{ab}	۱/۱۲	۰/۰۴۴
با اندازه بزرگتر از ۲۰۰ میکرون	۲۴^{a}	۱۲/۶^{b}	۱۹/۳^{a}	۱۳/۷^{b}	۰/۸۹	۰/۰۰۰۸
فولیکول کیستی	۲/۶^{c}	۷/۶^{a}	۴^{bc}	۶^{ab}	۰/۷	۰/۰۰۵۵

...a,b: وجود علائم مختلف در هر ردیف نمایانگر اختلافات آماری معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشد.

*شاهد: موش‌های گروه بدون درمان دارویی و یا مصرف عصاره فلفل کوهی.

** PCO: گروه موش‌های مبتلا به سندروم تخمدان پلی‌کیستیک القا شده با تزریق استرادیول والرات.

بحث و نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج ثبت‌شده در جدول ۱ می‌توان بیان کرد که افزایش معنی‌دار مقادیر هورمون‌های تستوسترون و استروژن سرم خون در موش‌های گروه‌های PCO در مقایسه با گروه شاهد، حاکی از تاثیر استفاده از استرادیول والرات جهت ایجاد سندرم تخمدان پلی-کیستیک می‌باشد. در این ارتباط اعلام شده که یکی از مهم‌ترین ویژگی‌های سندرم تخمدان پلی‌کیستیک افزایش مقدار هورمون تستوسترون می‌باشد و علت این پدیده تولید مقادیر زیاد هورمون آندروستندیون در سلول‌های تکای داخلی می‌باشد که با تبدیل آن به تستوسترون، سطح این هورمون را در داخل خون افزایش می‌دهد (Dumesic *et al*., 2008). اگرچه برخی از منابع بیان کرده‌اند که منشا این هورمون می‌تواند غدهٔ آدرنال نیز باشد (Altonen *et al*., 1999). همچنین در عارضه سندروم تخمدان پلی‌کیستیک غلظت هورمون استروژن نیز افزایش چشمگیری دارد و در این ارتباط هم بیان کرده‌اند که علت این افزایش غلظت هورمون استروژن مربوط به تبدیل خارج گنادی هورمون تستوسترون به استروژن می‌باشد و این در حالی است که سلول‌های گرانولوزای فولیکولی در افراد مبتلا به PCO نسبت به افراد سالم استروژن کمتری تولید می‌کنند (Stadtmauer *et al*., 2001). این اختلالات هورمونی نهایتاً باعث عدم تخمک‌گذاری و کیست‌های تخمدانی می‌گردد که این موضوع در تحقیق حاضر با افزایش تعداد فولیکول‌های کیستیک در حیوانات مبتلاشده به PCO در مقایسه با گروه شاهد نشان داده شد (جدول ۳). یافته مذکور با نتایج مطالعه هاندا و همکاران در سال ۲۰۰۸ مطابقت دارد که بیان کرده‌اند عدم تعادل برخی هورمون‌ها با افزایش تعداد فولیکول‌های تخمدانی در افراد درگیر با سندروم تخمدان پلی‌کیستیت مرتبط می‌باشد، به‌طوری‌که افزایش هورمون‌های استروژن و تستوسترون باعث افزایش LH

www.SID.ir

Archive of SID

و نهایتاً افزایش تعداد فولیکول‌های مقاوم در مبتلایان به PCO می‌گردد (Hunda *et al*., 2008).

در عین حال یافته‌های تحقیق حاضر نشان داد که مصرف عصاره فلفل کوهی مقادیر هورمون‌های استروژن و پروژسترون را در سرم موش‌های مبتلا شده به PCO کاهش می‌دهد (جدول ۱). در این خصوص اعلام شده که عصاره گیاه فلفل کوهی دارای ترکیباتی با خواص آنتی‌اکسیدانی می‌باشد که مشابهت‌های ساختاری این ترکیبات با هورمون استروژن ممکن است که آن‌ها را قادر سازد به گیرنده‌های استروژن متصل شده و اثرات استروژنی را اعمال کنند. در این رابطه مهم‌ترین بافت‌های دارای گیرنده‌های استروژنی تخمدان و رحم می‌باشند (Palep-Singh *et al*., 2008). در مطالعه حاضر هم به نظر می‌رسد که ترکیبات مذکور باعث تغییر در هورمون‌های جنسی در موش‌های مبتلا به PCO شده و غلظت هورمون‌های استروژن و تستوسترون را کاهش داده باشد (Jelodar and Askari, 2012). از طرف دیگر کاهش سطح هورمون‌های استروژن، تستوسترون و LH می‌تواند به کاهش بروز فولیکول‌های مقاوم منجر گردد. بر همین اساس در تحقیق حاضر نیز تعداد انواع فولیکول‌های مرحله قبل تخمک‌گذاری (با اندازه کوچکتر از ۲۰۰ میکرومتر) از تعداد فولیکول‌های مشابه در موش‌های گروه PCO بیشتر می‌باشد، درحالی‌که تعداد فولیکول‌های کیستی در گروه‌های دریافت‌کننده عصاره نسبت به گروه PCO کمتر بوده و این مقدار در موش‌های گروه مصرف‌کننده ۳۶۵ میلی‌گرم عصاره نسبت به گروه PCO دارای اختلاف آماری معنی‌دار می‌باشد (p=۰/۰۰۵۵). در این ارتباط نتایج پژوهش حاضر با یافته‌های مطالعه صورت-پذیرفته توسط نصری و همکاران در سال ۲۰۰۵ مطابقت دارد که با تزریق داخلی صفاقی عصاره گیاه فلفل کوهی کاهش هورمون‌های LH، FSH و تستوسترون را گزارش کرده بودند. به نظر می‌رسد که این گیاه می‌تواند با تعدیل گنادوتروپین‌ها سبب بهبود استروژن گردد و در ادامه با کاهش هورمون‌های استروژن و تستوسترون باعث افزایش انواع فولیکول‌های تخمدانی و کاهش کیست‌های فولیکولی گردد (Nasri *et al*., 2005). البته در مطالعه‌ای دیگر گونزالز و همکاران در سال ۱۹۹۹ بیان کردند که در افراد درگیر با سندرم تخمدان پلی‌کیستیک مقادیر رادیکال‌های آزاد بسیار بیشتر از افراد سالم می‌باشد که این موضوع نیز می‌تواند باعث عدم موفقیت در تخمک‌گذاری و کیست تخمدانی گردد (Gonzalez *et al*., 1999). همان‌گونه که ذکر شد استفاده از عصاره گیاه فلفل کوهی باعث کاهش تعداد فولیکول‌های کیستی در حیوانات دریافت کننده استرادیول والرات شد (موش‌های مبتلاشده به PCO) تا حدی که از این نظر بین موش‌های گروه مصرف‌کننده ۳۶۵ میلی‌گرم عصاره فلفل کوهی و موش‌های گروه شاهد تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده نشد. به نظرمی‌رسد که این موضوع نشان‌دهنده آن است که استفاده از این عصاره گیاهی شاید بتواند باعث تخمک‌گذاری فولیکول‌ها و جلوگیری از کیستی شدن آن‌ها شود. در واقع این یافته می‌تواند به عنوان یک جنبه مثبت در استفاده از این عصاره گیاهی نسبت به سایر درمان‌های مبتنی بر استفاده از داروهای شیمیایی مانند گنادوتروپین‌ها و کلومیفن برای درمان افراد مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک باشد (Brock *et al*., 2005). همچنین یافته‌های مطالعه حاضر با نتایج

www.SID.ir

Archive of SID

جلودار و همکاران در سال ۲۰۱۵ مطابقت دارد چرا که این محققین نیز نشان دادند که مصرف ۳۶۵ میلی‌گرم عصاره گیاه فلفل کوهی در موش‌های مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک باعث کاهش فولیکول‌های مقاوم به تخمک‌گذاری می‌گردد و از طرفی دیگر باعث افزایش سایر انواع فولیکول‌ها نیز می‌گردد تا حدی که از این لحاظ (تعداد انواع فولیکول‌ها) عدم تفاوت آماری معنی‌دار نسبت به گروه شاهد مشاهده شد (Jelodar *et al*., 2015).

از طرف دیگر تحقیق حاضر نسبت به پژوهش‌های مشابه انجام‌گرفته، گام خود را یک مرحله فراتر نهاده و فرآیند لقاح آزمایشگاهی اووسیت‌های حیوانات مورد آزمایش را نیز مورد مطالعه قرار داد. بر این اساس یافته‌های تحقیق حاضر نشان داد که درصد اووسیت‌های نابالغی که تحت تاثیر مصرف عصاره گیاهی به مرحله متافاز II رسیدند در موش‌های گروه دریافت‌کننده ۷۳۰ میلی‌گرم به مراتب بالاتر از درصد آن در موش‌های گروه PCO که هیچ مقدار از عصاره مذکور را دریافت نکردند، بود درحالی که نتایج حاکی از تاثیر مثبت این عصاره بر روند بلوغ اووسیت‌ها دارد (جدول ۲). لازم به ذکر است که میزان بالای تستوسترون باعث تاثیر منفی بر بلوغ آزمایشگاهی اووسیت‌ها می‌گردد (Dumesic *et al*., 2008). لذا به نظر می‌رسد همان‌گونه که پیش‌تر بیان شد عصاره فلفل کوهی با غلظت ۷۳۰ میلی‌گرم، با کاهش غلظت تستوسترون بر روند بلوغ آزمایشگاهی تاثیر مثبت گذاشته باشد. همچنین اگرچه مطابق نتایج ثبت‌شده در جدول ۲، بین فراوانی اووسیت‌های لقاح‌یافته (زیگوت) و رویان‌های دو سلولی، تفاوت آماری معنی‌داری بین گروه‌های آزمایشی مشاهده نشد، اما تعداد بلاستوسیت‌ها و رویان‌های تفریخ‌شده در موش‌های گروه دریافت‌کننده ۳۶۵ میلی‌گرم عصاره گیاه فلفل کوهی نسبت به تعداد آن‌ها در موش‌های گروه PCO بالاتر بود. در مطالعه‌ای مشابه دومسیک و همکاران در سال ۲۰۱۵ نیز بیان کردند که کاهش هورمون تستوسترون در افراد دارای سندرم تخمدان پلی‌کیستیک باعث افزایش تکامل رویانی و افزایش رویان‌های تفریخ شده می‌گردد (Dumesic *et al*., 2015). در تحقیقی دیگر هم بیان شده است، در افرادی که دارای عارضه کاهش فعالیت تخمدانی POA (premature ovarian aging) می‌باشند، کیفیت اووسیت‌های تولیدی در بدن مادر پایین‌تر می‌باشد که این موضوع می‌تواند به کاهش باروری و یا تولید جنین حتی در دو روز اول زندگی رویانی منجر گردد. محققین پژوهش مذکور نشان دادند که با استفاده از عصاره گیاه فلفل کوهی می‌توان عوارض منفی POA را کاهش داده و در نهایت راندمان آبستنی را افزایش داد. البته در مطالعه مذکور از تکنیک لقاح آزمایشگاهی جهت بررسی کیفیت اووسیت‌ها استفاده نشده و موارد مذکور براساس آزمایشات بالینی گزارش شده است (Rashidi and Nemati, 2017). در مطالعه حاضر نیز تاثیر عصاره گیاه فلفل کوهی بر اووسیت‌های تولیدی و لقاح آزمایشگاهی آن‌ها، با نتایج پژوهش یاد شده مطابقت داشته (جدول ۲) و نشان‌دهنده تاثیر مثبت این گیاه می‌باشد.

به‌طور کلی با توجه به نتایج تحقیق حاضر به نظر می‌رسد می‌توان ادعا کرد که عصاره گیاه فلفل کوهی باعث تکامل بیشتر اووسیت‌های آماده لقاح و نیز افزایش تکامل رویان‌های حاصله از لقاح آزمایشگاهی

www.SID.ir

Archive of SID

در موش‌های مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک می‌شود و بنابراین احتمالاً بتوان از عصاره این گیاه جهت درمان اختلالات تخمدانی از جمله سندرم تخمدان پلی‌کیستیک استفاده کرد، هرچند در این مورد نیاز به تحقیقات وسیع‌تر بالینی می‌باشد.

سپاسگزاری

نویسندگان از معاونت پژوهشی دانشگاه تبریز و پرسنل محترم دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی اهر که در این پژوهش همکاری نمودند، تشکر و قدردانی می‌نمایند.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضاد منافعی ندارند.

منابع

- Altonen, J., Laitinen, M.P., Voujolainen, K., Jaatinen, R., Horelli-Kuitunen, N. and Seppä, L. (1999). Human growth differentiation factor 9 (GDF-9) and its novel homolog GDF-9B are expressed in oocytes during early folliculogenesis. The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism, 84(8): 2744-2750.
- Borrione, P., Di Luigi, L., Maffulli, N. and Pigozzi, F. (2008). Herbal supplements: cause for concern? Journal of Sport Science and Medicine, 7(4): 562-564.
- Brock, B., Smidt, K., Ovesen, P., Schmitz, O. and Rungby, J. (2005). Is metformin therapy for Polycystic Ovary Syndrome safe during pregnancy? Basic & Clinical Pharmacology and Toxicology, 96(6): 410-412.
- Daghigh Kia, H., Sadeghi Sadegh Abad, F., Ebrahimi, M. and Samadian, F. (2017). Comparative effect of different concentrations of hydro-ethanolic extract of chamomile on freeze-thawn semen quality of rams. Veterinary Clinical Pathology, 11(41): 13-23. [In Persian]
- Daniele, C., Thopson, C.J., Pittler, M.H. and Ernest, E. (2005). *Vitex agnus-castus* a systemathic review of adverse event. Drug Safety, 28(4): 319-322.
- Dumesic, D.A., Meldrum, D.R., Katz-Jaffe, M.G., Krisher, R.L. and Schoolcraft, W.B. (2015). Oocyte environment: follicular fluid and cumulus cells are critical for oocyte health. Fertility and Sterility, 103(2): 303-316.
- Dumesic, D.A, Padmanabhan, V. and Abbott, D.H. (2008). Polycystic ovary syndrome and oocyte developmental competence. Obstetrics and Gynecology, 63(1): 39-48.
- Franks, S. (2009). Do Animal Models of Polycystic Ovary Syndrome Help to Understand Its Pathogenesis and Management? Yes, but Their Limitations should be Recognized. Endocrinology, 150(9): 3983-3985.
- Gonzalez, F., Thusu, K., Abdel-Rahman, E., Prabhala, A., Tomani, M. and Dandona, P. (1999). Elevated serum levels of tumor necrosis factor alpha in normal-weight women with polycystic ovary syndrome. Metabolism, 48(4): 437-441.

www.SID.ir

Archive of SID

- Henmi, H., Endo, T., Nagasawa, K., Hayashi, T., Chida, M. and Akutagawa, N. (2001). Lysyl oxidase and MMP-2 expression in dehydroepiandrosterone induced polycystic ovary in rats. Biology of Reproduction, 64(1): 157-162.
- Hossain Rashidi, B. and Nemati, M. (2017). Effects of Vitex agnus-castus extract on the secretory function of pituitary-gonadal axis and pregnancy rate in patients with premature ovarian aging (POA). Journal of Herbal Medicine, 10: 24-30.
- Handa, R.J., Pak, T.R., Kudwa, A.E., Lund, T.D. and Hinds, L. (2008) An alternate pathway for androgen regulation of brain function: activation of estrogen receptor beta by the metabolite of dihydrotestosterone, 5alpha-androstane-3beta,17 beta-diol. Hormones and Behavior, 53(5): 741-752.
- Jelodar, G.A. and Askari, K. (2012). Effect of Vitex agnus castus fruits hydroalcoholic extract on sex hormones in rat with induced polycystic ovary syndrome (PCOS). Journal of Physiology and Pharmacology, 16(1): 62-69. [In Persian]
- Jelodar, G.A. and Askari, K. (2017). Effect of hydroalcoholic extract of *Vitex agnus-castus* fruit on fertility and estrous cycle in letrozole-induced polycystic ovary syndrome in rat. Razi Journal of Medical Sciences, 24(156): 42-48. [In Persian]
- Marx, T.L. and Mehta, A.E. (2003). Polycystic ovary syndrome: pathogenesis and treatment over the short and long term. Cleveland Clinic Journal of Medicine, 70(1): 31-45.
- Mohammadzadeh, H., Delashoub, M. and Khakpour, M. (2018). Effect of vitamin E in prevention of lipopolysaccharide induced fetal injuries in the rat. Veterinary Clinical Pathology, 11(44): 367-377. [In Persian]
- Mostahsan, Z. and Mortazavi, P. (2019). The effects of Tilia (*Tilia plathyphyllos*) extract on gene expression of caspase3 and caspase9 in canine mammary gland cancer cell line (CF41.Mg). Veterinary Clinical Pathology, 13(49): 2-14. [In Persian]
- Nabiuni, M., Mohammadi, S., Kayedpoor, P. and Karimzadeh, L., (2015). The effect of curcumin on the estradiol valerate-induced polycystic ovary in rats. Kashan University of Medical Sciences Journal (FEYZ), 18(6): 515-523. [In Persian]
- Nasri, S., Oryan, S.h., HaeriRohani, A., Amin, G.H. and Taghizadeh, M. (2005). The effects of Vitexagnuscastus L. extract and interaction with bromocriptine on luteinizing hormone and testosterone in male mice. Medical Journal of Hormozgan University, 9(2): 113-118. [In Persian]
- Noorafshan, A., Ahmadi, M., Mesbah, S. and Karbalay-Doust, S. (2013). Stereological study of the effect of letrozole and estradiol valerate treatment on the ovary of rats. Clinical and Experimental Reproductive Medicine, 40(3): 115-121.
- Palep-Singh, M., Picton, H.M., Yates, Z.R., Barth, J.H. and Balen, A.H. (2008). Plasma homocysteine concentrations and the single nucleotide polymorphisms in the methionine synthase gene (MTR 2756A>G): Associations with the polycystic ovary syndrome an observational study. The European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology, 138(2): 180-186.
- Rani, A. and Sharma, A. (2013). The genus Vitex: A review. Pharmacognosy Reviews, 7(14): 188–198.
- Robinson, J.E., Forsdike, R.A. and Taylor, J.A. (1999). In utero exposure of female lambs to testosterone reduces the sensitivity of the GnRH neuronal network to inhibition by progesterone. Endocrinology, 140(12): 5797-5805.
- Shafiee, M.N., Malik, D.A., Yunos, R.I.M., Atiomo, W., Omar, M.H., Ghani, N.A.A. *et al.* (2015). The effect of Metformin on endometrial tumor-regulatory genes and systemic metabolic parameters in polycystic ovarian syndrome–a proof-of-concept study. Gynecological Endocrinology, 31(4): 286-290.
- Shamsi, M., Nejati, V. and Najafi, G. (2015). Therapeutic Effects of Licorice Extract on In vitro Maturation and In vitro Fertilization in Mice Model of Polycystic Ovary Syndrome. Journal of Mazandaran University of Medical Science, 25(132): 113-121. [In Persian]
- Stadtmauer, L.A., Toma, S.K., Riehl, R.M. and Talbert, L.M. (2001). Metformin treatment of patients with polycystic ovary syndrome undergoing in vitro fertilization improves outcomes and is associated with modulation of the insulin-like growth factor. Fertility and Sterility, 75(3): 505-509.

www.SID.ir

Archive of SID

- Tsilchorozidou, T., Overton, C. and Conway, G.S. (2004). The pathophysiology of polycystic ovary syndrome. Clinical Endocrinology, 60(1): 1-17.
- van Houten, E.L. and Visser, J.A. (2014). Mouse models to study polycystic ovary syndrome: a possible link between metabolism and ovarian function? Reproductive Biology, 14(1): 32-43.

www.SID.ir

Archive of SID

Veterinary Clinical Pathology, Vol.14, No. 54, Summer 2020

"Research article" DOI: 10.30495/JVCP.2020.1881036.1245

Therapeutic effects of Vitex (*Vitagnus castus*) extract on in vitro maturation and fertilization of oocytes in mice affected by polycystic ovary syndrome

Ghorbani, T.[1], Karimi, A.[2*], Najafi, Gh.[3], Besharati, M.[2], Sharafi, M.[4]

1- MSc Student, Department of Animal Science, Faculty of Ahar Agriculture and Natural Resources, University of Tabriz, Tabriz, Iran.
2- Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Ahar Agriculture and Natural Resources, University of Tabriz, Tabriz, Iran.
3- Associated Professor, Department of Anatomy, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran.
4- Assistant Professor, Department of Poultry Sciences, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modarres University, Tehran, Iran.
[*]Corresponding author's email: pekarimi@tabrizu.ac.ir
(Received: 2019/11/9 Accepted: 2020/8/17)

Abstract

Polycystic ovary syndrome results from lack of follicular wall collagen reduction leading to accumulation of follicles and decreased oocyte quality. This study aimed to evaluate the effect of vitex extract on in vitro maturation and fertilization of oocytes in mice exposed to polycystic ovary syndrome (PCOs). A total of 32 immature Naval Medical Research Institute (NMRI) 25 day old female mice with a mean body weight of 25 gr were randomly allocated into four experimental groups including: 1) Control group (Con) which did not receive extract, 2) PCO: polycystic ovary syndrome group which also did not receive any extract, and groups 3 and 4 in which PCO was induced and received vitex extract at 365 and 730 mg/kg/day respectively for 30 days. The mice received intraperitoneal injection of pregnant mare serum gonadotropin (PMSG) and subsequently sacrificed in order to collect oocytes from ovarian follicles for in vitro analysis of maturation and fertilization. The amounts of serum testosterone and estradiol substantially decreased in extract treated groups in comparison with PCO mice (p<0.05). Use of vitex extract decreased testosterone whether in groups PCO+365 mg of extract or PCO+730 mg of extract versus PCO (p<0.05). The number of mature oocytes (MII) in PCO+730 mg of extract was significantly higher than PCO (p<0.05). Also there were no significant differences in percentage of fertilized oocytes and Two-cell embryos between experimental groups (p>0.05). On the other hand, the percentage of produced blastocyst and hatched embryos in PCO+365 mg of extract was higher than PCO (p<0.05). The results showed vitex extract consumption can induce more oocytes for fertilization and consequently, production of embryos in animals with PCO syndrome.

Conflict of interest: None declared.

Keywords: PCOS, Vitex, *in vitro* Maturation, *in vitro* Fertilization.

www.SID.ir