

## اثر محافظتی رویال ژل بر ناباروری حاصل از متوتروکسات در موش‌های ماده

آتیکه امین‌دوست، مونا فرهادی\*، پروین تراب‌زاده

گروه زیست‌شناسی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران

\*مسئول مکاتبات: mona.farhadi@kiauo.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۱/۱۵

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۶/۳۰

### چکیده

متوتروکسات دارویی است که در درمان اختلالات نئوپلاستیک و حاملگی‌های خارج رحمی مورد استفاده می‌باشد. در مطالعات گذشته، سمیت متوتروکسات بر دستگاه تناسلی گزارش شده است. رویال ژل دارای خواص بهبود ناتوانی جنسی، ضد سرطان و اثر آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. لذا در مطالعه حاضر تاثیر رویال ژل بر تخمدان موش ماده نژاد NMRI تحت تیمار با متوتروکسات مورد بررسی قرار گرفت. در این تحقیق ۷۰ موش ماده در ۷ گروه شامل: کنترل منفی (بدون تزریق)، کنترل مثبت (متوتروکسات به میزان ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) شم و سه گروه تجربی (متوتروکسات به علاوه غلظت‌های ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم رویال ژل) تقسیم شدند. تزریقات به روش درون صفاقی به مدت ۸ روز انجام شد و پس از پردازش بافتی و رنگ‌آمیزی، بافت تخمدان، فولیکول اولیه، ثانویه، گراف، جسم زرد و همچنین تعداد زاده‌ها ارزیابی گردید. نتایج نشان داد که در گروه کنترل مثبت تعداد زاده‌ها کاهش معنی‌داری داشت ولی در تجربی‌ها به حالت اولیه بازگشتند. مدت زمان وقوع باروری در گروه تجربی ۱ و ۳ کاهش معنی‌داری نسبت به کنترل مثبت داشت. نتایج سنجش هورمون استروژن نشان‌دهنده کاهش معنی‌دار گروه کنترل مثبت نسبت به کنترل منفی بود و در تجربی ۱ و ۲ افزایش داشت. تعداد فولیکول‌های اولیه و ثانویه و گراف در تجربی ۲ و ۳ افزایش نشان داد ( $p < 0/001$ ). با توجه به داده‌ها، تحقیق حاضر نشان داد دوز مناسب رویال ژل با تحقیقات بیشتر می‌تواند به عنوان محافظت‌کننده از اثرات جانبی داروی متوتروکسات عمل کرده و موجب بهبود باروری شود.

کلمات کلیدی: متوتروکسات، رویال ژل، تخمدان، موش NMRI

### مقدمه

اصلی ملکه زنبور عسل است که حاصل ترشح غده‌های هیپوفارنژیال زنبور کارگر است و دارای ترکیبات مغذی بسیار مهم مانند پروتئین‌ها، قندها، آمینواسیدهای آزاد، اسیدهای چرب، مواد معدنی و ویتامین‌ها می‌باشد. رویال ژل دارای خواص فیزیکی و شیمیایی شامل خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدتوموری و عملکرد ایمنی است (۱۳). به همین دلیل استفاده از ترکیبات طبیعی مثل رویال ژل برای درمان بیماری‌ها و همچنین کاهش عوارض ناشی از داروهای شیمیایی

امروزه عوارض جانبی ناخواسته در اثر مصرف داروهای شیمیایی برکسی پوشیده نیست. متوتروکسات (Mtx) یک داروی شیمیایی است که در درمان سرطان‌هایی مانند کوریوکارسینوم، لنفوسارکوم، کارسینوم پستان، لوسمی حاد و همچنین آرتریت روماتوئید و پسوریازیس مورد استفاده قرار می‌گیرد (۲). این دارو مانند داروهای شیمیایی دیگر می‌تواند عوارض جانبی داشته باشد از جمله این عوارض تاثیر روی دستگاه تولیدمثل می‌باشد (۴). رویال ژل غذای



افراد توانسته همه پارامترهای بالا را تغییر داده و بهبود بخشد (۱۴).

تاکنکا در سال ۱۹۸۲ ثابت کرده که رویال ژل باعث افزایش در تعداد اسپرم، بلوغ اسپرم، حرکت اسپرم و افزایش سطح تستوسترون پلازما می‌شود. همچنین باعث کاهش آسیب DNA می‌شود و دارای خواص ضد عفونی‌کنندگی، ضد توموری، ضد تورمی، قابلیت تصفیه و کاهش قند خون و بالا بردن سیستم ایمنی بدن است (۱۲).

قنبری و همکاران گزارش دادند که تزریق استرپتوزوتوسین در موش‌های دیابتی باعث کاهش پارامترهای تولیدمثلی مانند وزن بیضه، تعداد اسپرم، حرکت اسپرم و سطح تستوسترون خون می‌شود و به محض تزریق رویال ژل تغییرات عمده‌ای در این پارامترها ایجاد شده یعنی باعث افزایش وزن بیضه، تعداد، حرکت اسپرم و سطح تستوسترون سرم می‌شود (۳).

یانگ و همکاران نشان دادند که رویال ژل دارای فعالیت استروژنیک می‌باشد و باعث تغییرات در فعالیت‌های تولیدمثلی می‌شود و تزریق به اندازه آن تاثیر مثبت بر روی وضعیت تولید مثلی دارد (۱۳).

سانمز و همکاران نشان دادند که پروپولیس قادر است رادیکال‌های آزاد را پاک کرده و فعالیت آنتی‌اکسیدانی را افزایش دهد و باعث محافظت در برابر ناباروری و بهبود بخشیدن تولید اسپرم و تعداد اسپرم و کیفیت آن شود (۱۱).

با توجه به اثر آنتی‌اکسیدانی و خواص درمانی رویال ژل در این تحقیق سعی بر آن شد که با تیمار با رویال ژل اثر محافظتی آن را بر عوارض جانبی سوء متوراکسات بر بافت تخمدان و اووژنز و بهبود باروری بررسی گردد که بر اساس تحقیقات تاکنون بررسی نشده است.

بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند و کشورمان ایران به دلیل داشتن موقعیت جغرافیایی خاص مکان مناسبی برای پرورش زنبور عسل و تولید رویال ژل می‌باشد. ژانت و همکارانش در سال ۲۰۰۹ نشان دادند که Mtx درمانی برای بیماران با حاملگی‌های خارج رحمی می‌باشد و در یافته‌هایشان متوجه کاهش یافتن اووسیت در ۱۸۰ روز بعد از تزریق Mtx شدند. همچنین Mtx می‌تواند باعث یائسگی زودهنگام در بیمارانی که تحت درمان این دارو قرار گرفته‌اند شود (۴).

نوری و همکارانش نشان دادند که تزریق Mtx باعث کاهش آشکار در ضخامت اپیتلیوم سیمنی‌فروس و قطر لوله‌های سیمنی‌فروس می‌شود همچنین آنها روشن ساختند که Mtx باعث کاهش در تعداد و توانایی حرکت اسپرم‌ها و میزان تستوسترون با آسیب لوله‌های سیمنی‌فروس می‌شود (۶).

رایزک و همکاران نشان دادند که درمان با پروپولیس باعث جلوگیری از سمیت سلول‌های حاصل از تزریق دوگروروبیسین می‌شود. به نظر می‌رسد استرس اکسیداتیو نقش بسزایی در علت‌شناسی سمیت و باروری مردان تحت تیمار با Mtx ایفا کند و این امر در تحقیقات در حیوانات و انسان ثابت شده است پس درمان آنتی‌اکسیدانی یک رویکرد مهم برای سمیت Mtx است (۸).

سکزنا و همکاران نشان دادند که درمان با Mtx در دوز بسیار پایین باعث کاهش اندازه لوله‌های سیمنی-فروس - سرتولی- سلول‌های لایدیک و خالی شدن و انحلال توده کروماتین در اسپرماتوسیت می‌شود (۹).

زحمتکش و همکاران نشان دادند افرادی که تحت درمان با اکسی‌متولون که دارویی برای درمان کم‌خونی آپلازی است قرار گرفته‌اند، کاهش تحرک اسپرم، تعداد اسپرم و کاهش سطح تستوسترون در آنها دیده شده است در حالی که تزریق رویال ژل به این

## مواد و روش‌ها

**نگهداری موش و گروه‌های آزمایش:** در تحقیق حاضر ۷۰ سر موش ماده بالغ نژاد NMRI از انستیتو پاستور تهران خریداری شد و در شرایط ۱۲ ساعت نور و تاریکی دما و رطوبت مناسب با دسترسی به آب و غذا نگهداری شدند. موش‌ها در ۷ گروه ۱۰ تایی به گروه‌های کنترل، شم و تجربی تقسیم‌بندی شدند. گروه‌های آزمایشی شامل: کنترل منفی (A) که هیچ تزریقی دریافت نکردند. شم ۱ (B) سرم فیزیولوژی دریافت نمودند. شم ۲ (C) که آب مقطر دریافت نمودند. گروه کنترل مثبت (D) که به مقدار ۰/۵ میلی-گرم بر کیلوگرم متوتروکسات دریافت کردند (۱۱). گروه تجربی ۱، ۲ و ۳ که به ترتیب ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم رویال ژل را به مدت یک هفته بعد ۲۴ ساعت بعد از تزریق متوتروکسات دریافت نمودند.

**تهیه محلول متوتروکسات (Mtx) و رویال ژل:** محلول ۵۰ میلی‌گرم در ۲ میلی‌لیتر متوتروکسات (از شرکت Haupt Pharma Wolftratshausen GmbH آلمان) با سرم فیزیولوژی به حجم رسانده شد و به هریک از موش‌های گروه‌های تجربی و کنترل مثبت به مقدار ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم تزریق شد. سپس ۲۴ ساعت پس از تزریق متوتروکسات مقدار ۶۲۵ میلی‌گرم رویال ژل (کارخانه شهیدینه گل‌ها در اصفهان) در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر کاملاً حل گردید؛ به موش‌های سه گروه تجربی به مقدار ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت یک هفته تزریق شد. تزریق‌ها به صورت درون صفاقی بود. پس از اتمام تزریق‌ها در شرایط بیهوشی با کلروفورم خونگیری از قلب انجام شد و برای سنجش هورمونی استفاده گردید.

**بررسی هورمون‌های استروژن و پروژسترون:** پس از خونگیری خون داخل میکروتیوب‌های ۱/۵ میلی‌لیتر

ریخته شد و به مدت ۱ ساعت در دمای معمولی اتاق برای لخته شدن خون و تهیه سرم قرار داده شد. سپس میکروتیوب‌ها با دور ۳۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد و سرم خون جدا شد، بعد سرم‌ها از سلول‌های خونی جدا شدند. میکروتیوب‌های ۱ میلی-لیتر در فریزر در دمای ۲۰- قرار داده شد غلظت هورمون‌های استروژن و پروژسترون با کیت Monobaind (Dia-Metra) بوسیله الیزا سنجش شدند.

**پردازش بافت تخمدان:** پس از کشته شدن موش‌ها بعد از خون‌گیری از قلب، تخمدان‌ها جدا شدند و با ترازوی دیجیتال وزن شده با فرمالین ۱۰٪ تثبیت شدند و مراحل آبگیری، شفاف کردن و آغشتگی، نمونه‌ها برای قالب‌گیری توسط پارافین و برش‌گیری توسط میکروتوم آماده شدند. بعد از اتمام برش‌گیری نمونه‌ها توسط رنگ ائوزین-هماتوکسیلین مورد رنگ‌آمیزی قرار گرفتند و لام‌ها جهت مطالعه آماده شدند.

**سنجش میزان باروری:** از هر گروه پنج موش برای ارزیابی قدرت باروری در قفسه‌های نگهداری موش قرار داده شد و در هر قفس یک موش نر گذاشته شد تا مدت زمان وقوع بارداری و زایمان و تعداد زاده‌ها مشخص شود. با مشاهده درپوش واژنی، روز صفر حاملگی تعیین گردید.

**بررسی آماری:** کلیه داده‌های حاصل از تست‌های انجام شده به کمک نرم افزار SPSS 17، با روش One Way Anova و تست TuKey با سطح معناداری  $p < 0/05$  و  $p < 0/01$  مورد بررسی قرار گرفتند.

## نتایج

**تغییرات وزن تخمدان:** تغییرات وزن تخمدان نشان داد گروه کنترل مثبت (D) نسبت به کنترل منفی کاهش وزن معنی‌دار داشت ( $p < 0/01$ ) ولی در گروه



تجربی ۲ که دوز متوسط رویال ژل را دریافت نموده بودند وزن تخمدان افزایش معنی دار نسبت به گروه D و سایر گروه‌ها داشته است. گروه تجربی ۳ دارای کاهش وزن معنی دار نسبت به تمامی گروه‌ها بود (نمودار ۱).

**تعداد زاده‌ها و مدت زمان وقوع بارداری:** نتایج بررسی تعداد زاده‌ها در گروه‌های مختلف نشان داد که در گروه D تعداد زاده‌ها کاهش معنی داری داشته است و در همه گروه‌های تجربی تعداد زاده‌ها نسبت به گروه D افزایش معنی دار نشان داد ( $p < 0/01$ ). به غیر از گروه تجربی ۳ یعنی در گروه‌های تجربی تعداد زاده‌ها مشابه گروه کنترل منفی شده بود. با توجه به نمودار ۲ متوتروکسات باعث افزایش مدت زمان وقوع بارداری شده و گروه D نسبت به گروه A از نظر مدت زمان وقوع بارداری افزایش معنی دار نشان داد ولی تمامی گروه‌های تجربی نسبت به گروه D دارای کاهش مدت زمان باروری بودند که این کاهش در گروه تجربی ۱ و ۳ معنی دار بود ( $p < 0/05$ ).

**تغییرات بافتی در تخمدان:** تغییرات بافتی تخمدان با دوز تزریقی ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم رویال ژل (تجربی ۳) در شکل ۱ مشاهده می‌گردد. در گروه کنترل منفی و شم، فولیکول‌های اولیه و ثانویه زیاد است فضای میان‌بافتی دیده نمی‌شود در گروه کنترل مثبت، تعداد فولیکول‌های اولیه و ثانویه نسبت به گروه کنترل منفی بسیار کم شده فضاها و بهم‌ریختگی بافتی مشاهده می‌گردد در گروه تجربی ۳ فولیکول‌ها گراف فولیکول، فولیکول اولیه و ثانویه به تعداد بیشتری نسبت به گروه کنترل مثبت دیده می‌شود، تعداد جسم زرد افزایش یافته است.

**بررسی‌های فولیکول‌ها:** تعداد فولیکول‌های اولیه و ثانویه با توجه به نمودار ۳ در گروه D نسبت به گروه کنترل A کاهش معنی دار داشته است ( $p < 0/01$ ). در گروه‌های تجربی ۱، ۲ و ۳ تعداد فولیکول‌های اولیه

نسبت به گروه کنترل D افزایش نشان داد این افزایش در گروه تجربی ۲ و ۳ معنی دار بود. ولی در گروه تجربی ۱ معنی دار نبود. همچنین گروه تجربی ۲ و ۳ نیز نسبت به هم معنی دار نبودند. تعداد فولیکول‌های در حال رشد با توجه به نمودار ۴، در گروه D دارای کاهش معنی دار نسبت به گروه A بوده است ( $0/01 < p$ ). در گروه‌های تجربی ۱، ۲ و ۳ تعداد فولیکول‌های در حال رشد نسبت به گروه D افزایش داشته است که این افزایش در گروه تجربی ۲ و ۳ معنی دار بود ( $0/05 < p$ ) ولی در گروه تجربی ۱ معنی دار نبود. همچنین گروه تجربی ۳ نسبت به تجربی ۲ نیز افزایش معنی دار نشان داد. با توجه به نمودار تعداد فولیکول‌های گراف در گروه D و گروه تجربی ۲ نسبت به گروه A کاهش معنی دار داشت ( $0/05 < p$ ). ولی گروه‌های تجربی ۱ و ۲ تفاوتی نسبت به گروه D نداشتند و فقط گروه تجربی ۳ دارای افزایش معنی دار نسبت به گروه D و تجربی ۱ و ۲ بود ( $0/05 < p$ ).

**تعداد جسم زرد:** تعداد جسم زرد در گروه‌های تجربی ۱، ۲ و ۳ نسبت به D افزایش داشت که این افزایش در گروه‌های تجربی ۲ و ۳ معنی دار بوده است ( $0/05 < p$ ). گروه تجربی ۲ و ۳ نسبت به هم معنی دار نبود (نمودار ۵).

**سنجش هورمونی:** از آنجا که رشد فولیکول‌ها، رها شدن تخمک و تشکیل جسم زرد ارتباط تنگاتنگی با هورمون‌های جنسی نظیر استرادیول و پروژسترون دارند لذا سنجش هورمون‌های مذکور نیز صورت گرفت. سنجش هورمون استروژن نشان‌دهنده کاهش معنی دار گروه D نسبت به گروه A بود و در گروه‌های تجربی ۱ و ۲ افزایش معنی دار نسبت به گروه D مشاهده شد ولی گروه تجربی ۳ کاهش معنی داری نسبت به گروه D و سایر گروه‌های تجربی نشان داد ( $0/05 < p$ ) (جدول ۱). مقدار پروژسترون در گروه D نسبت به گروه A کاهش معنی دار داشت و در

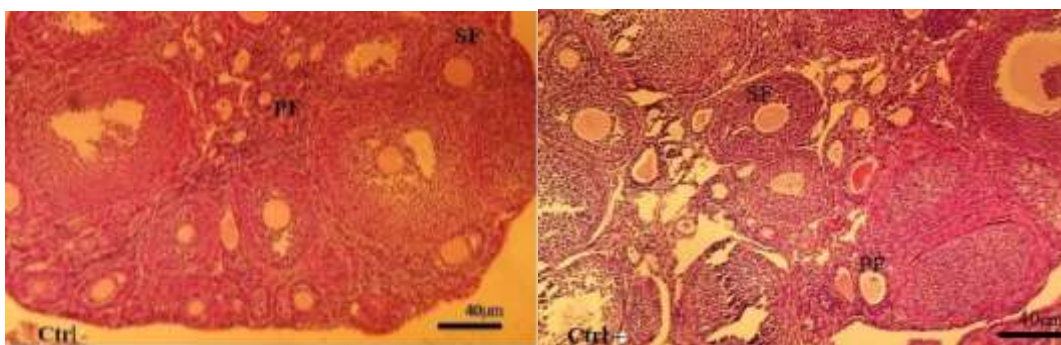
گروه‌های تجربی ۱، ۲ و ۳ افزایش معنی‌دار مقدار پروژسترون نسبت به گروه D نشان داده شده است. این هورمون در گروه‌های تجربی ۲ و ۳ افزایش معنی‌داری را نسبت به تمامی گروه‌ها نشان داد که این تفاوت در گروه تجربی ۳ معنی‌دارتر بود ( $p < 0.01$ ).

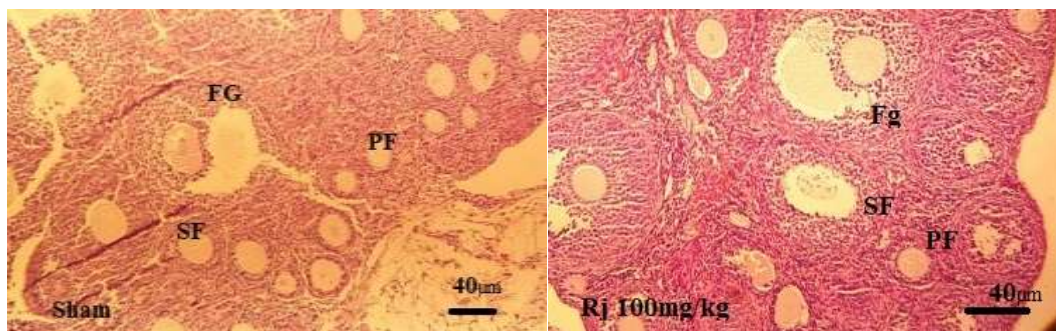
جدول ۱- مقایسه غلظت استرادیول سرم در گروه کنترل، شم و تجربی با دوزهای مختلف

معنی‌دار بودن	میانگین $\pm$ انحراف معیار	گروه‌ها
	۹۲/۶۶ $\pm$ ۹/۷۶	گروه A (بدون تزریق)
	۸۸/۳۳ $\pm$ ۰/۶۶	گروه B (سرم فیزیولوژی)
	۸۷/۱۶ $\pm$ ۵/۴۴	گروه C (آب مقطر)
	۷۴/۷۵ $\pm$ ۴/۱۹	گروه D (متروتروکسات)
$p \leq 0.05$	۸۴/۶۲ $\pm$ ۰/۹۸	گروه T1 (رویال ژل ۲۵ mg/kg)
$p \leq 0.05$	۸۶/۸۷ $\pm$ ۱/۸۵	گروه T2 (رویال ژل ۵۰ mg/kg)
	۶۸/۳۳ $\pm$ ۳/۷۵	گروه T3 (رویال ژل ۱۰۰ mg/kg)

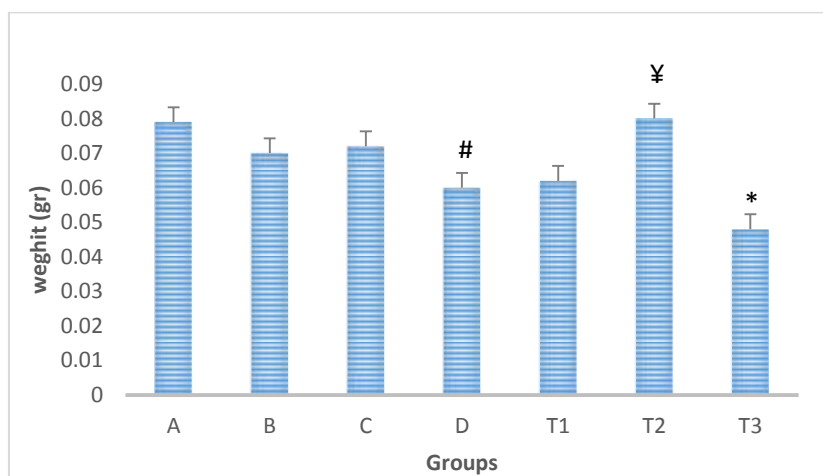
جدول ۲- مقایسه غلظت پروژسترون سرم در گروه کنترل، شم و تجربی با دوزهای مختلف

معنی‌دار بودن	میانگین $\pm$ انحراف معیار	گروه‌ها
	۳/۶۶ $\pm$ ۰/۰۳	گروه A (بدون تزریق)
	۳/۱۳ $\pm$ ۰/۲۶	گروه B (سرم فیزیولوژی)
	۳/۸۰ $\pm$ ۰/۰۵	گروه C (آب مقطر)
	۲/۰۷ $\pm$ ۰/۴۷	گروه D (متروتروکسات)
	۳/۱۲ $\pm$ ۰/۴۹	گروه T1 (رویال ژل ۲۵ mg/kg)
$p \leq 0.05$	۵/۹۰ $\pm$ ۰/۳۵	گروه T2 (رویال ژل ۵۰ mg/kg)
$p \leq 0.05$	۶/۷۰ $\pm$ ۰/۳۲	گروه T3 (رویال ژل ۱۰۰ mg/kg)

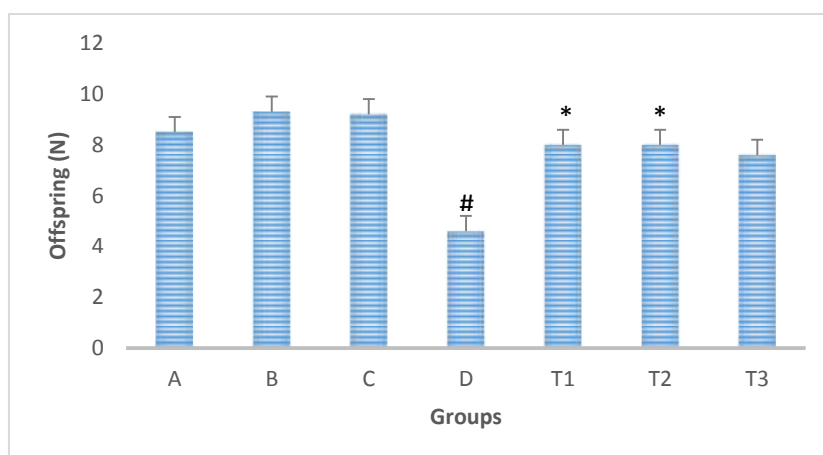


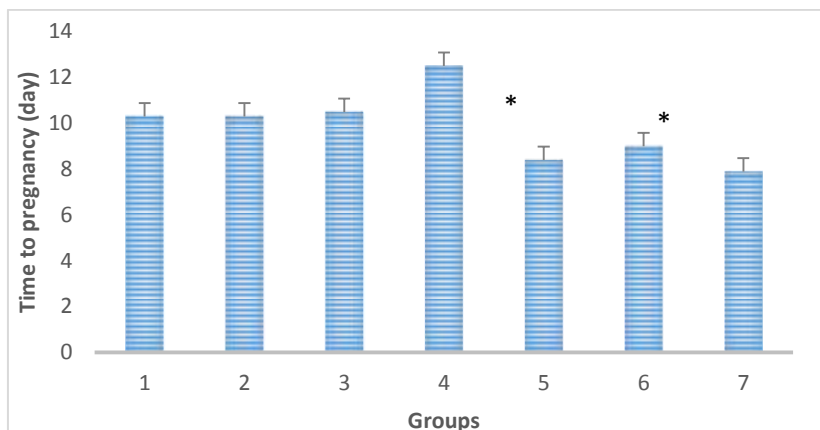


شکل ۱- برش عرضی تخمدان به ترتیب از سمت چپ به راست (بزرگنمایی 40X): گروه کنترل منفی: Ctrl-، کنترل مثبت: Ctrl+، شم: sham، تجربی ۳ (Rj 100mg/kg)، فولیکول اولیه: PF، فولیکول ثانویه: SF، فولیکول گرااف: FG.

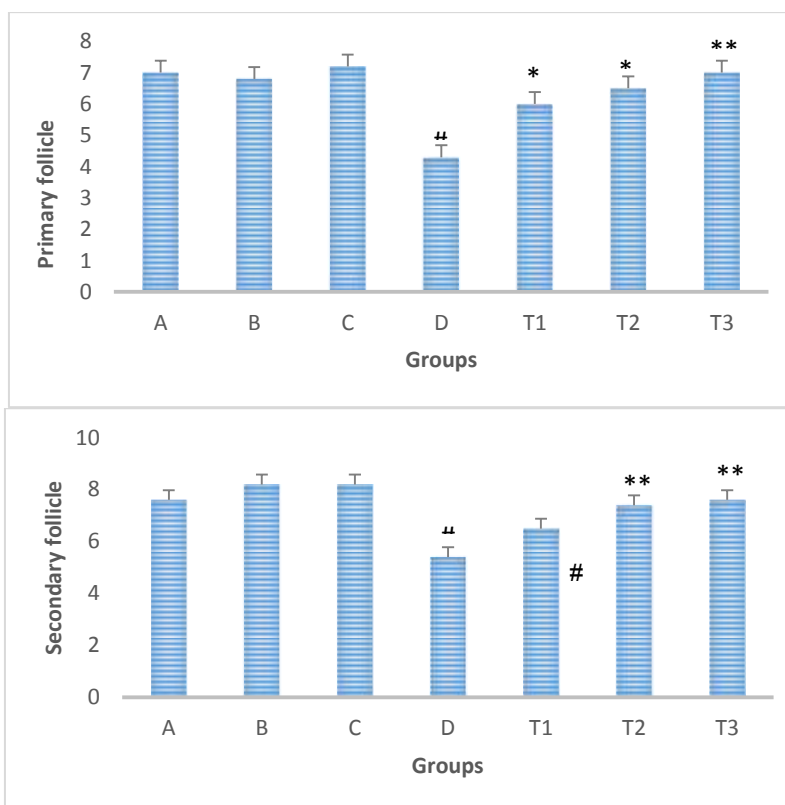


نمودار ۱- مقایسه وزن تخمدان در نمونه‌های کنترل، شم و تجربی با دوزهای مختلف. # تفاوت معنی دار با A. \*\* کاهش معنی دار با گروه D و T1 و T2، ¥ افزایش معنی دار با گروه D.

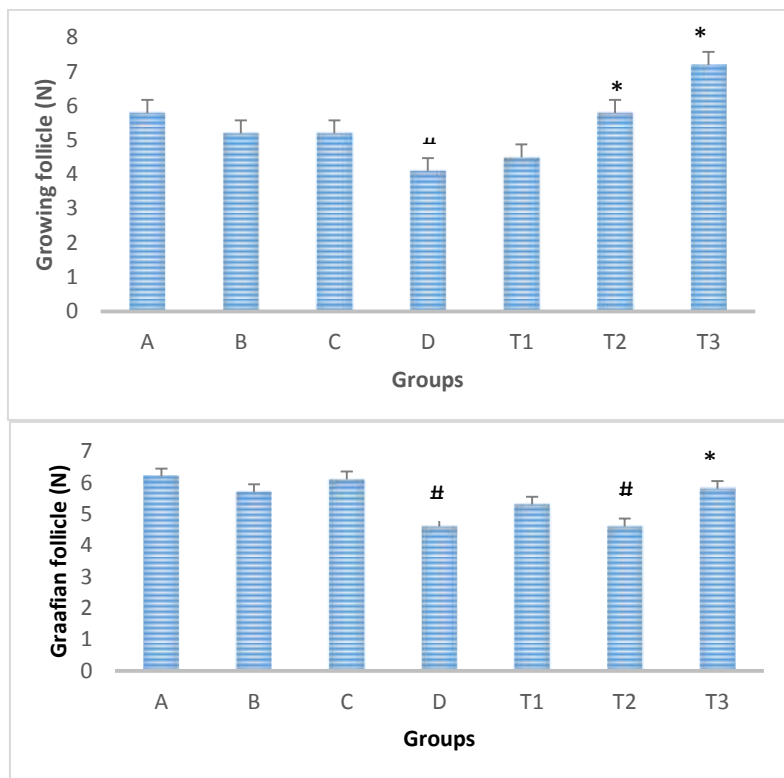




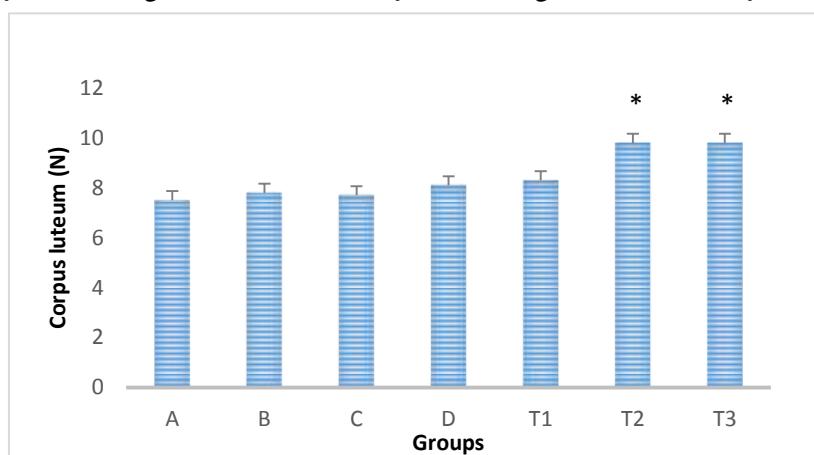
نمودار ۲- مقایسه تعداد زاده‌ها و وقوع بارداری در نمونه‌های کنترل، شم و تجربی با دوزهای مختلف. # کاهش معنی‌دار با A \* افزایش معنی‌دار با گروه D و مقایسه مدت زمان وقوع باروری در گروه کنترل، شم و تجربی با دوزهای مختلف \* کاهش نسبت به گروه D ( $p < 0.05$ ).



نمودار ۳- مقایسه تعداد فولیکول‌های اولیه و ثانویه در گروه کنترل، شم و تجربی با دوزهای مختلف # کاهش معنی‌دار با A، \*\* افزایش معنی‌دار با گروه D ( $p < 0.01$ ).



نمودار ۴- مقایسه تعداد فولیکول‌های در حال رشد و رسیده در گروه کنترل، شم و تجربی با دوزهای مختلف\*: افزایش معنی دار نسبت به گروه D، \*\*: تفاوت معنی دار نسبت به گروه D و T2، # تفاوت معنی دار نسبت به گروه A.



نمودار ۵- مقایسه تعداد جسم زرد در گروه کنترل، شم و تجربی با دوزهای مختلف\*: افزایش معنی دار نسبت به گروه D.

### بحث

رویال ژل یا پوپولیس که به عنوان غذای اصلی ملکه زنبور عسل می‌باشد باعث بزرگتر شدن جثه ملکه و قدرت باروری زیاد آن می‌گردد. با توجه به اینکه این ماده دارای خواصی همچون آنتی‌اکسیدان، ضدتومور و

متوتروکسات دارویی است که در درمان طیف وسیعی از سرطان‌ها و بیماری‌های دیگر مورد استفاده قرار می‌گیرد. این دارو دارای عوارض جانبی بخصوص بر دستگاه تناسلی است (۴، ۹).



حرکت اسپرم و افزایش سطح تستوسترون می‌شود. همچنین به دلیل داشتن موادی مانند پروتئین‌ها، قندها، لیپیدها و ویتامین‌ها باعث کاهش آسیب DNA می‌شود. رویال ژل باعث گشاد شدن عروق و کاهش فشار خون و افزایش رشد می‌شود و دارای خواص ضد عفونی‌کنندگی، ضد توموری، قابلیت تصفیه و کاهش قند خون است آنها همچنین نشان دادند که استرس اکسیداتیو موجب سمیت سلول‌های بیضه و ناباروری مردان در اثر تجویز متوتروکسات می‌گردد (۸، ۱۲).

رایزک و همکارانش نشان دادند که درمان با پروپولیس با جلوگیری از آسیب DNA باعث مهار سمیت سلول‌های بیضه تحت تیمار دوگروهی پوسپین می‌شود (۸).

در تحقیق حاضر نشان داده شد که وزن تخمدان در گروهی که متوتروکسات دریافت کردند، کاهش معنی‌داری داشته است بنابراین متوتروکسات می‌تواند از طریق القاء استرس اکسیداتیو موجب کاهش وزن تخمدان و انسجام بافتی آن شود و رویال ژل با دوز پایین و متوسط توانست از کاهش وزن تخمدان تحت تیمار متوتروکسات جلوگیری کند به علاوه افزایش وزن تخمدان می‌تواند بدلیل افزایش ترشح هورمون پروژسترون باشد که منجر به افزایش عروق خونی و بافت همبندی تخمدان می‌گردد که این نتایج با نتایج حاصل از تحقیق رایزک و همکاران مشابه است. همچنین رویال ژل در هر ۳ دوز پایین، متوسط و بالا توانست موجب کوتاه شدن مدت زمان وقوع باروری نسبت به گروه کنترل مثبت، گردد این درحالیست که با گروه کنترل منفی تفاوت معنی‌دار نداشت که نشان دهنده آن است که رویال ژل با از بین بردن سمیت متوتروکسات از کاهش فولیکول‌ها جلوگیری کرده و با افزایش تعداد فولیکول‌های اولیه، ثانویه و رسیده

بهبود عملکرد ایمنی و توان جنسی در مردان می‌باشد و همچنین به عنوان یک محرک هورمونی و افزایش انرژی برای تمامی سنین مطرح است در این تحقیق سعی بر آن شد تا اثر محافظتی این ماده بر تخمدان موش‌های تحت تیمار با متوتروکسات مورد بررسی قرار گیرد.

پادماناهام و همکاران ثابت کردند که متوتروکسات باعث کاهش تعداد اسپرم و ناهنجاری‌های اسپرم با القاء سمیت در ژرم سل‌ها می‌گردد (۷).

نوری و همکاران نیز در تحقیقاتی که روی موش‌های نر انجام دادند، نشان دادند که متوتروکسات باعث کاهش تعداد و حرکت اسپرم می‌شود (۶).

در تحقیق حاضر نیز مشاهده شد که گروه کنترل مثبت با دریافت متوتروکسات کاهش شدید در تعداد فولیکول‌های اولیه، ثانویه، در حال رشد و وزن تخمدان داشتند. همچنین تعداد فولیکول‌گراف در گروه کنترل مثبت کاهش معنی‌داری داشت ولی تیمار با رویال ژل در گروه‌های تجربی موجب افزایش تعداد فولیکول‌ها نسبت به گروه کنترل مثبت شد ولی نسبت به گروه کنترل منفی کاهش نشان داد با توجه به تحقیقات گذشته احتمالاً متوتروکسات سبب کاهش مایع درون فولیکولی شده که کاهش مایع درون فولیکولی مانع از سازمان‌یابی مناسب سلول‌های فولیکولی گشته، پس مانع از تشکیل فولیکول‌گراف شده است. بنابراین در تخمدان‌هایی که متوتروکسات دریافت نموده‌اند به علت عدم توانایی تخمدان در بلوغ کامل فولیکول‌ها در تعداد فولیکول‌گراف کاهش مشاهده می‌گردد. نتایج بافتی نیز نشان دادند که بافت تخمدان پس از دریافت متوتروکسات کاهش سلول‌های بافت پیوندی و افزایش فضاهای بافتی و بهم ریختگی زیاد داشتند.

تاکناکا و همکارانش در سال ۱۹۸۲ ثابت کردند که رویال ژل باعث افزایش تعداد اسپرم، بلوغ اسپرم،



زحمتکش و همکاران نشان دادند که موش‌هایی که تحت تیمار با داروی اکسی متولون (Oxymetholone) داروی کم خونی آپلازی) قرار گرفته اند، کاهش تحرک و تعداد اسپرم و مقدار تستوسترون داشتند در حالی که رویال ژل موجب بهبود پارامترهای ذکر شده گردید (۱۴).

تحقیق حاضر نشان داد که سمیت متوتروکسات باعث کاهش هورمون استروژن در گروه کنترل مثبت شد ولی در گروه‌های تجربی ۱ و ۲ میزان استروژن افزایش یافت رویال ژل با خاصیت آنتی‌اکسیدانی موجب افزایش مقدار استروژن گردید البته دوز بالای رویال ژل می‌تواند روی تولید استروژن اثر کاهشی داشته باشد که نتیجتاً موجب کاهش وزن تخمدان در دوز بالا نسبت به کنترل مثبت شد. این نتایج مشابه تحقیقات یانگ و همکاران بود که نشان دادند که رویال ژل دارای فعالیت استروژنیک است و باعث افزایش فعالیت‌های تولیدمثلی می‌شود اما تزریق رویال ژل با دوز بالا می‌تواند باعث آسیب رساندن به بافت بیضه شده و کاهش تستوسترون را به همراه دارد.

ژائو و همکاران در سال ۲۰۱۹ نشان دادند که عصاره QingYan formula می‌تواند موجب افزایش ترشح هورمون استروژن گردد و همچنین موجب افزایش بیان رسپتورهای استروژنی گردد این ماده همانند افزایش استروژن موجب ضخیم شدن بافت رحم و افزایش اپیتلیوم آن می‌گردد، بنابراین می‌تواند به عنوان جایگزین هورمون‌تراپی جایگزین مورد استفاده قرار گیرد (۱۵).

#### نتیجه‌گیری

با توجه به داده‌های تحقیق حاضر مشخص شد که دوز مناسب رویال ژل با تحقیقات بیشتر می‌تواند به

توانست موجب بهبود قدرت باروری و افزایش تعداد زاده‌ها گردد.

پاراسکوی و همکاران در سال ۲۰۱۰ نشان دادند که اسیدهای چرب رویال ژل می‌توانند در غیاب استروژن بیان رسپتورهای استروژنیک را در سلول‌های MCF7 میانجیگری نمایند آنها این اثر را در دیگر رده‌های سلولی ارزیابی کردند و نشان دادند که این بیان در هر رده سلولی متفاوت است نتایج تحقیقات آنها نشان داد که اسیدهای چرب مشتق از رویال ژل می‌توانند همانند استروژن بر بیان گیرنده‌های استروژنیک در تمامی رده‌های سلولی اثر بگذارد (۱۰).

سانمز و همکاران نشان دادند که پروپولیس قادر است رادیکال‌های آزاد را پاک کرده و فعالیت آنتی‌اکسیدانی را افزایش دهد و باعث محافظت در برابر ناباروری و بهبود تولید اسپرم و کیفیت آن شود (۱۱).

همچنین تحقیقات گذشته نشان داده است که، رویال ژل باعث تحریکات جنسی و افزایش تولید اسپرم و افزایش هورمون‌ها در جنس نر می‌شود (۱، ۵، ۱۳).

در تحقیق حاضر نیز رویال ژل توانست با تحریک هورمون‌های استروژن و پروژسترون موجب تحریک تخمدان شود و موجب افزایش تعداد فولیکول‌های اولیه در تمام گروه‌ها نسبت به گروه کنترل شد این افزایش در گروه تجربی ۳ بیشتر از بقیه بود و در واقع اثر رویال ژل در تحریک فولیکول‌ها وابسته به دوز بود. بنابراین، همانند تحقیقات سانمز و همکاران و رایزک و همکاران ذکر شده رویال ژل توانسته سمیت متوتروکسات را کم کند و باعث افزایش تعداد فولیکول‌های اولیه در گروه‌های تجربی با دوزهای متفاوت شود که این اثر را از طریق افزایش هورمون استروژن و پروژسترون القا نموده است افزایش تعداد جسم زرد در مقاطع بافتی موید تاثیر این ماده بر میزان پروژسترون بود.

methotrexate in rats. *Andrologia*, 1(2): 105-110.

7. Padmanabhan S., Tripathi D., Vikram A., Ramarao P., Jena G. 2008. Cytotoxic and genotoxic effects of methotrexate in germ cells of male Swiss mice. *Mutation Research- Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 655(1): 59-67.

8. Rizk S.M., Zaki H.F., Mina M.A. 2014. Propolis attenuates doxorubicin-induced testicular toxicity in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 67:176-186.

9. Saxena A., Dhungel S., Bhattacharya S., Jha C., Srivastava A. 2004. Effect of chronic low dose of methotrexate on cellular proliferation during spermatogenesis in rats. *Archives of Andrology*, 50(1): 33-35.

10. Sharif S.N., Darsareh F. 2019. Effect of royal jelly on menopausal symptoms: A randomized placebo-controlled clinical trial. *Complementary Therapies in Clinical Practice*, 37: 47-50.

11. Sönmez M.F., Çilenk K.T., Karabulut D., Ünalmiş S., Deligönül E. 2016. Protective effects of propolis on methotrexate-induced testis injury in rat. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 79: 44-51.

12. Takenaka T. 1982. Chemical composition of royal jelly. *Honeybee Science*, 3: 69-74.

13. Yang A., Zhou M., Zhang L., Xie G., Chen H. 2012. Influence of royal jelly on the reproductive function of puberty male rats. *Food and Chemical Toxicology*, 50(6): 1834-1840.

14. Zahmatkesh E., Najafi G., Nejati V., Heidari R. 2014. Protective effect of royal jelly on the sperm parameters and testosterone level and lipid peroxidation in adult mice treated with oxymetholone. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 4(1): 43.

عنوان محافظت کننده از اثرات جانبی داروی متوتروکسات عمل کرده و موجب بهبود باروری شود.

### تشکر و قدردانی

این تحقیق دارای کد اخلاق Ir.iau.k.rec.1396,75 می‌باشد و نویسندگان مقاله از پرسنل دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج که در تهیه این تحقیق یاری نمودند قدردانی می‌نمایند.

### منابع

1. Asadi N., Kheradmand A., Gholami M., Saidi S.H., Mirhadi S.A. 2019. Effect of royal jelly on testicular antioxidant enzymes activity, MDA level and spermatogenesis in rat experimental Varicocele model. *Tissue and Cell*, 57: 70-77.

2. Asvadi I., Hajipour B., Asvadi A., Asl N., Roshangar L., Khodadadi A. 2011. Protective effect of pentoxifylline in renal toxicity after methotrexate administration. *European Review in Medicine and Pharmacological Sciences*, 15(9): 1003-1009.

3. Ghanbari E., Nejati V., Najafi G., Khazaei M., Babaei M. 2015. Study on the effect of royal jelly on reproductive parameters in streptozotocin-induced diabetic rats. *International Journal of Fertility and Sterility*, 9(1): 113.

4. McLaren J.F., Burney R.O., Milki A.A., Westphal L.M., Dahan M.H., Lathi R.B. 2009. Effect of methotrexate exposure on subsequent fertility in women undergoing controlled ovarian stimulation. *Fertility and Sterility*, 92(2): 515-519.

5. Najafi G., Nejati V., Shalizar Jalali A., Zahmatkesh E. 2014. Protective role of royal jelly in oxymetholone-induced oxidative injury in mouse testis. *Iranian Journal of Toxicology*, 8(25): 1073-1080.

6. Nouri H.S., Azarmi Y., Movahedin M. 2009. Effect of growth hormone on testicular dysfunction induced by



15. Zhao Y., Zheng H.X., Xu Y., Lin N .  
2019. Estrogenic Effect of the Extract of QingYan Formula on Reproductive Tissues in Immature Mice. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2019: 5493714.