

## اثر حفاظتی روغن جوانه گندم بر اختلالات هورمون‌های جنسی و مورفولوژی بافت رحم به دنبال درمان با کاربامازپین در موش‌های ماده صرعی شده با پنتیلین تترازول

الهام احمدی<sup>۱\*</sup>، وحید نجاتی<sup>۱</sup>، غلامرضا نجفی<sup>۲</sup>، شیوا خضری<sup>۱</sup>

۱- گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

۲- گروه آناتومی و جنین‌شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۳/۱۱/۰۷

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۳/۰۸/۱۱

### چکیده

**زمینه و هدف:** صرع یکی از شایع‌ترین اختلالات نورولوژیکی است و کاربامازپین یک داروی ضدصرع می‌باشد که در درازمدت باعث ایجاد استرس اکسیداتیو و اختلال در سیستم اندوکرینی و تولیدمثلی می‌شود. هدف از این مطالعه بررسی اثر روغن جوانه گندم به عنوان منبع غنی از آنتی‌اکسیدان‌ها بر هورمون‌های جنسی و بافت رحم موش‌های صرعی تحت درمان با کاربامازپین می‌باشد.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه ۴۸ موش ماده بالغ به طور تصادفی به ۶ گروه ۸تایی تقسیم شدند. ۱- کنترل سالم. ۲- دریافت‌کننده پنتیلین تترازول با دوز ۴۰ (کنترل صرعی). ۳- پنتیلین تترازول + کاربامازپین با دوز ۳۰. ۴- پنتیلین تترازول + کاربامازپین با دوز ۱۸۰. ۵- پنتیلین تترازول + کاربامازپین با دوز ۳۰ + روغن جوانه گندم با دوز ۵۰۰. ۶- پنتیلین تترازول + کاربامازپین با دوز ۱۸۰ + روغن جوانه گندم با دوز ۵۰۰. (واحد دوزها به صورت گرم بر کیلوگرم وزن بدن می‌باشد). در پایان دوره تیمار میزان استروژن، پروژسترون و تستوسترون سرم با استفاده از روش الایزا اندازه‌گیری شد. همچنین مطالعات بافتی بر روی رحم نیز انجام شد. داده‌ها با آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون توکی در نرم افزار SPSS20 تحلیل شدند.

**نتایج:** کاربامازپین سطوح استروژن، پروژسترون، تستوسترون، میانگین غدد رحمی و ضخامت لایه‌های رحمی به جز میومتر را به طور معنی‌دار کاهش داد. در گروه‌های روغن جوانه گندم + کاربامازپین (۳۰ و ۱۸۰)، سطوح فاکتورهای مذکور به صورت معنی‌دار نزدیک به نرمال تغییر یافتند.

**نتیجه‌گیری:** نتایج نشان داد که روغن جوانه گندم باعث بهبود عملکرد سیستم تولیدمثلی شده و باعث کاهش عوارض کاربامازپین می‌شود.

**کلمات کلیدی:** رحم، هورمون‌های جنسی، روغن جوانه گندم، کاربامازپین، صرع

### مقدمه

صرع بیماری مزمن، ناتوان‌کننده و دومین اختلال عصبی پس از سکته مغزی است. این بیماری گریبانگیر حدود یک درصد از مردم جهان می‌باشد و حدود ۲۵ میلیون زن در سراسر جهان به این بیماری مبتلا هستند. بنابراین در ارتباط با این بیماری نگرانی‌های ویژه‌ای برای بسیاری از این زنان وجود دارد (۱). زنان مبتلا به صرع دچار نوعی از تغییرات هورمونی می‌شوند که مرتبط با تشنج آن‌ها است و در مجموع باعث ایجاد بی‌نظمی‌های قاعدگی و ناباروری می‌گردد (۲). در زنان مصروع احتمال سندرم پلی کیستیک تخمدان افزایش می‌یابد و در چرخه قاعدگی بی‌نظمی به وجود می‌آید. مطالعات همچنین کاهش میزان باروری را در میان مردان و زنان مصروع نشان می‌دهد. زنان مصروع در معرض تخریب سیستم تولید مثلی هستند، آن‌ها همچنین میزان زاد و ولد کمتری دارند (۳). در بیماران صرعی هم خود تشنج و هم داروهای ضد تشنج می‌توانند سیستم تولیدمثلی فرد را تخریب کنند. برای مثال تشنج می‌تواند آزاد شدن هورمون‌ها را از هیپوتالاموس و هیپوفیز تغییر دهند همین‌طور بعضی داروهای

صرع بیماری مزمن، ناتوان‌کننده و دومین اختلال عصبی پس از سکته مغزی است. این بیماری گریبانگیر حدود یک درصد از مردم جهان می‌باشد و حدود ۲۵ میلیون زن در سراسر جهان به این بیماری مبتلا هستند. بنابراین در ارتباط با این بیماری نگرانی‌های ویژه‌ای برای بسیاری از این زنان وجود دارد (۱). زنان مبتلا به صرع دچار نوعی از تغییرات هورمونی می‌شوند که مرتبط با تشنج آن‌ها است و در مجموع باعث ایجاد بی‌نظمی‌های قاعدگی

\* نویسنده مسئول: الهام احمدی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران  
تلفن: ۴۱۳۷۲۳۰۸۵۸  
Email: e.ahmadi9921@yahoo.com



روغن جوانه گندم از ۴۲-۵۹٪ لینولئیک اسید، ۲۸-۱۲٪ اولئیک اسید، ۱۹-۱۱٪ پالمیتیک اسید، ۱۱-۲٪  $\alpha$ -لینولئیک اسید و ۱٪ استیریک است. این اسیدهای چرب نقش اصلی در متابولیسم ارگانیس‌ها دارند و نمی‌توانند در بدن ساخته شوند (۱۳). از این اسیدهای چرب،  $\alpha$ -لینولئیک اسید موجب اثرات غیر التهابی و کاهش در تولید  $O_2^-$  و فعالیت NADPH اکسیداز می‌شود بنابراین یک فعالیت آنتی‌اکسیدانی دارد (۱۴). روغن جوانه گندم همچنین دارای فلاونوئیدها نیز می‌باشد که ثابت شده فلاونوئیدها اثر حفاظتی در برابر آسیب‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد دارند. ترکیبات فنلی از جمله فلاونوئیدها از طریق مهار سیستم سیتوکروم P450 باعث کاهش رادیکال‌های آزاد می‌شود (۱۵). Santhrani و همکاران در سال ۲۰۱۳ نشان دادند که ویتامین C استرس اکسیداتیو ایجاد شده به وسیله CBZ را کاهش می‌دهد (۹). همچنین در مطالعات قبلی گزارش شده بود که ویتامین C استرس اکسیداتیو ایجاد شده به وسیله دیگر داروهای ضدصرع از جمله فنی‌توئین را نیز از بین می‌برد (۱۶). در مطالعه Afshar و همکاران نیز نقش حفاظتی ویتامین B6 بر پیشرفت سم CBZ در طی ارگانوژنر موش سوری به اثبات رسیده است (۱۷). از آنجایی که این آنتی‌اکسیدان‌ها استرس‌اکسیداتیو ایجاد شده به وسیله کاربامازپین را از بین می‌برند، این مطالعه باهدف اثر مهارری روغن جوانه گندم به‌عنوان منبع غنی از ویتامین E بر هورمون‌های جنسی و بافت رحم تحت درمان با کاربامازپین انجام شد.

### مواد و روش‌ها

**حیوانات و شرایط آزمایش:** ۴۸ رأس موش سوری ماده بالغ نژاد NMRI با وزن ۲۵-۳۲ g از مرکز پرورش و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشکده علوم دانشگاه ارومیه تهیه شد. رژیم استاندارد آزمایشگاهی و آب بدون محدودیت در نظر گرفته شد. شرایط اتاق ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی در دمای ۲۵-۲۰ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۳۰-۲۵٪ بود. نگهداری و رفتار با حیوانات آزمایشگاهی در تمامی مراحل آزمایش مطابق با راهنمای انستیتوی ملی سلامت انجام شده است.

**گروه‌های مورد مطالعه:** حیوانات به طور تصادفی در ۶ گروه ۸ تایی قرار گرفتند (جدول ۱). جهت ایجاد کیندلینگ شیمیایی، PTZ (سیگمای انگلستان) به مقدار ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن

ضدتشنج غلظت هورمون‌های استروئیدی تولید شده به وسیله تخمدان‌ها و غدد آدرنال را تغییر می‌دهند. در حقیقت محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گناد مشتق شده از کورتکس مغز و آمیگدال‌ها و هیپوکامپ در طول تشنج تغییر پیدا می‌کند (۳). داروهای ضد تشنج نیز این پتانسیل را دارند که تعادل هورمون‌های تولید مثل را در بدن بر هم بزنند (۲). داروهای ضدصرع مختلفی برای درمان بیماران مبتلا به این بیماری استفاده می‌شود. کاربامازپین (CBZ) یکی از گسترده‌ترین داروهای ضدصرع مورد استفاده در کلینیک‌ها است که در درمان تشنج پارشیال، صرع تونیک-کلونیک ژنرالیزه، نورالژی عصب سه قلو و همچنین بیماری‌های روحی کاربرد دارد (۴، ۵). از لحاظ شیمیایی CBZ خنثی و محلول در چربی است و دارای ترکیبی است که می‌تواند به راحتی از سد خونی مغزی و دیگر غشاهای سلول‌های بدن عبور کند. این دارو دارای اثربخشی زیادی در مقایسه با دیگر داروهای ضدتشنج می‌باشد و به عنوان داروی نسبتاً امن در طول حاملگی استفاده می‌شود (۸-۶). افزایش دوز کاربامازپین باعث استرس-اکسیداتیو می‌شود که از فعالیت همه آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی جلوگیری می‌کند. در دراز مدت کاربامازپین موجب عدم تعادل بین اکسیدان‌ها و آنتی‌اکسیدان‌های بدن می‌شود که منجر به یک افزایش معنادار استرس‌اکسیداتیو می‌شود. این زمانی به وجود می‌آید که سطح گونه‌های اکسیژن فعال فراتر از ظرفیت دفاع آنتی‌اکسیدانی سلولی می‌شود (۹). سلول‌ها راه‌های مختلفی برای کاهش اثرات زیان‌بار استرس‌اکسیداتیو دارند، سلول‌ها یا آسیب را تعمیر می‌کنند یا به طور مستقیم وضعیت پرو اکسیداتیو را از طریق آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی (پرواکسید دیسموتاز، گلوکاتایون پراکسیداز و کاتالاز) و غیر آنزیمی (ویتامین E، C، فلاونوئیدها و غیره) کاهش می‌دهند. آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیر آنزیمی رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) را پاک‌سازی می‌کنند (۱۰).

روغن جوانه گندم (WGO) منبع غنی از توکوفرول استخراج شده از جوانه گندم است. این روغن محتوی همه سه توکوفرول آلفا، بتا و گاما است. روغن جوانه گندم همچنین محتوی آلفا و گاما توکوترینول‌ها است (۱۱). روغن جوانه گندم محتوی کارتنوئیدهای محلول در چربی نیز هست که اثرات آنتی‌اکسیدانی دارند (لوتئین، زگسانتین و بتا کاروتن) (۱۲). ترکیب اسید چرب

جدول ۱: گروه‌ها و تیمارهای استفاده شده در مطالعه

| گروه | تیمار   |
|------|---|
| ۱    | کنترل دریافت کننده سالین، (PO)  |
| ۲    | صرعی دریافت کننده پنتیلین تترازول (PTZ) با دوز ۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن، (IP)   |
| ۳    | صرعی شده با PTZ + کاربامازین با دوز ۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن، (PO)  |
| ۴    | صرعی شده با PTZ + کاربامازین با دوز ۱۸۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن، (PO)   |
| ۵    | صرعی شده با PTZ + کاربامازین (PO) با دوز ۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن به همراه روغن جوانه گندم (PO) با دوز ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن  |
| ۶    | صرعی شده با PTZ + کاربامازین (PO) با دوز ۱۸۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن به همراه روغن جوانه گندم (PO) با دوز ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن |

سلول‌های اپی‌تلیال تعیین شدند، بدین ترتیب که در مرحله استروس، غالبیت با سلول‌های شاخی بدون هسته می‌باشد (۲۱). موش‌هایی که در فاز استروس سیکل جنسی بودند با استفاده از دی‌اتیل اتر بی‌هوش شدند. جهت تعیین سطوح سرمی هورمون‌های جنسی (استروژن، پروژسترون و تستوسترون) خون‌گیری از قلب موش‌ها صورت گرفت. پس از لخته شدن خون در دمای آزمایشگاه نمونه‌ها با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ و از آن‌ها سرم تهیه شد. از نمونه‌های سرم هورمون‌های استروژن، پروژسترون و تستوسترون به روش الیزا با استفاده از کیت Monobind مورد سنجش قرار گرفتند. سپس حیوانات تشریح و رحم آن‌ها خارج شد و در محلول فرمالین ۱۰٪ نگه داری شد و سپس به دنبال آن مراحل آب‌گیری، شفاف‌سازی، آغستگی و قالب‌گیری با پارافین انجام شد. سپس مقاطع عرضی به ضخامت ۷ میکرون تهیه شد و به روش هماتوکسیلین-انئوزین رنگ‌آمیزی شدند سپس از هر گروه ۵ لام و از هر لام ۴ میدان دید انتخاب شد و سپس با استفاده از عدسی مدرج ضخامت (اپی‌تلیوم و هم بند) آندومتر و میومتر رحم اندازه‌گیری شد. همچنین در هر میدان دید تعداد غدد مخاطی با استفاده از عدسی مشبک نیز شمارش شد.

**آنالیز آماری داده‌ها:** داده‌های به دست آمده با استفاده از آزمون واریانس یک‌طرفه و تست توکی و با کمک نرم‌افزار SPSS20 مورد تجزیه تحلیل آماری قرار گرفت. سطح معنی‌داری ( $P < 0.05$ ) در نظر گرفته شد. داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف

بدن در نرمال سالین حل شده و به روش تزریق داخل صفاقی (IP)، هر ۴۸ ساعت یکبار و در ۱۳ نوبت به موش‌ها تزریق شد و پاسخ تشنجی حیوان به مدت ۲۰ دقیقه مشاهده و رفتار تشنجی حاصل از تزریق بر اساس معیارهای ذیل طبقه‌بندی شد.

مرحله صفر: بدون پاسخ، مرحله یک: انقباض عضلات صورت و گوش‌ها، مرحله دو: انتشار موج انقباضی به سر تا سر بدن، مرحله سه: پرش‌های میوکلونیک و ایستادن روی دپا، مرحله چهار: حملات تونیک - کلونیک و افتادن به پهلو و مرحله پنج: افتادن به پشت و حملات تونیک-کلونیک عمومی (۱۸). در این مطالعه فقط از حیوانات کیندلینگ کامل (Full kindle) که در سه تزریق متوالی مراحل چهار و پنج رانشان دادند، استفاده شد (۱۹). جهت کنترل و درمان صرع از CBZ استفاده شد. قبلاً ۳ دوز از CBZ (نوارتیس سوئیس) در موش مطالعه شده بود (۳، ۹ و ۱۸ برابر دوز انسانی (۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن) (۲۰). بدین صورت حداقل (۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم) و حداکثر دوز (۱۸۰ میلی گرم بر کیلوگرم) برای CBZ در موش‌ها انتخاب شد و سپس مقدار دوز برآورد شده در نرمال سالین حل شده و به صورت گاوژ معدی (PO) به موش‌ها داده شد. برای جبران عوارض CBZ از روغن جوانه گندم (گیاه اسانس ایران) استفاده شد که به همراه کاربامازین به صورت گاوژ معدی به موش‌ها داده شد.

**نمونه برداری و مطالعات بافت شناسی:** پس از گذشت ۹ هفته برای هر موش مراحل دوره استروس با بررسی اسمیر واژینال تعیین شد. مراحل دوره استروس با توجه به نسبت‌ها و مرفولوژی

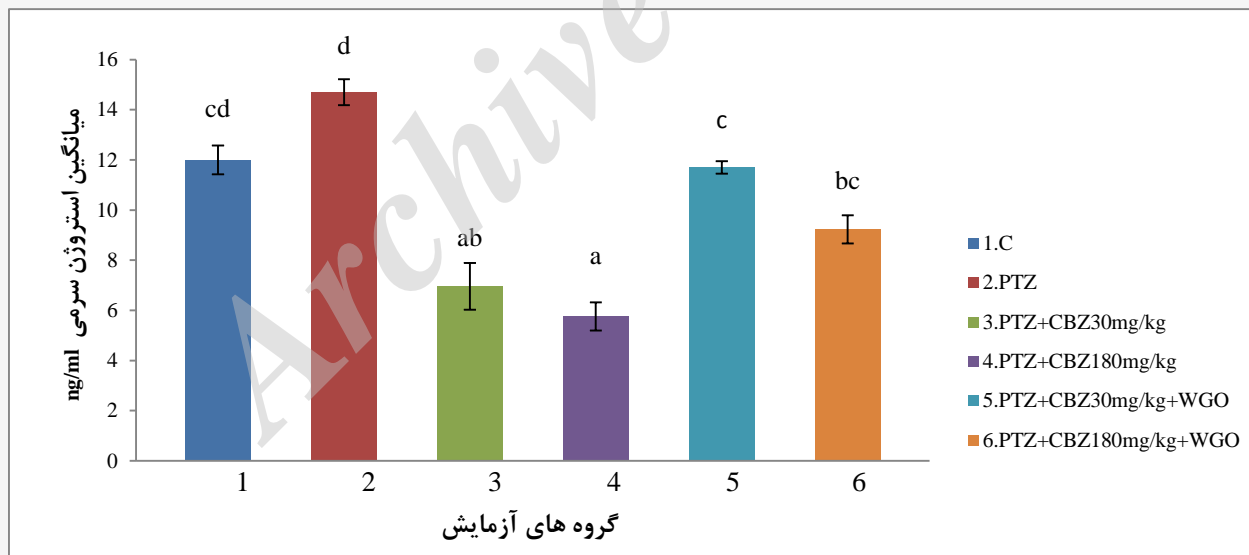
کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل سالم  $1/77 \pm$  (۱۹/۹۰) داشت اما فقط در دوز بالای کاربامازپین  $0/90 \pm$  (۴۰/۸۳) کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل صرعی  $2/21 \pm$  (۱۹/۹۰) مشاهده شد. همچنین این کاهش معنی‌دار در گروه کنترل صرعی نسبت به گروه کنترل سالم نیز مشاهده شد. به علاوه میزان این هورمون در گروه صرعی دریافت کننده دوز  $30 \text{ mg/kg}$  کاربامازپین به همراه روغن جوانه گندم  $1/01 \pm$  (۳۵/۴۲) به گروه کنترل سالم نزدیک بود و نسبت به گروه‌های صرعی دریافت کننده کاربامازپین افزایش معنی‌داری داشت ( $P < 0.05$ )، (نمودار ۲).

میزان هورمون تستوسترون همانند هورمون‌های استروژن و پروژسترون در گروه‌های ۳ و ۴ صرعی دریافت کننده کاربامازپین به ترتیب  $1/83 \pm 0/20$  و  $1/6 \pm 0/28$  کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل سالم  $2/93 \pm 0/21$  و گروه کنترل صرعی  $4/1 \pm 0/17$  داشت ولی این میزان در گروه کنترل صرعی نسبت

معیار بیان و جداول و نمودارها نیز در نرم افزار Excel 2007 رسم شد.

## نتایج

میزان هورمون استروژن در گروه‌های ۳ و ۴ صرعی دریافت کننده کاربامازپین به ترتیب  $6/96 \pm 0/93$  و  $5/76 \pm 0/56$  کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل سالم  $12 \pm 0/57$  و گروه کنترل صرعی  $14/7 \pm 0/52$  داشته است ولی این میزان در گروه کنترل صرعی نسبت به گروه کنترل سالم افزایش داشت که این افزایش معنی‌دار نبود. همچنین میزان هورمون استروژن در گروه‌های ۵ و ۶ صرعی دریافت کننده کاربامازپین به همراه روغن جوانه گندم به ترتیب  $11/7 \pm 0/25$  و  $9/23 \pm 0/56$  افزایش معنی‌داری نسبت به گروه‌های دریافت کننده کاربامازپین دارد به طوری که نزدیک به گروه کنترل سالم می‌باشد ( $P < 0.05$ )، (نمودار ۱).



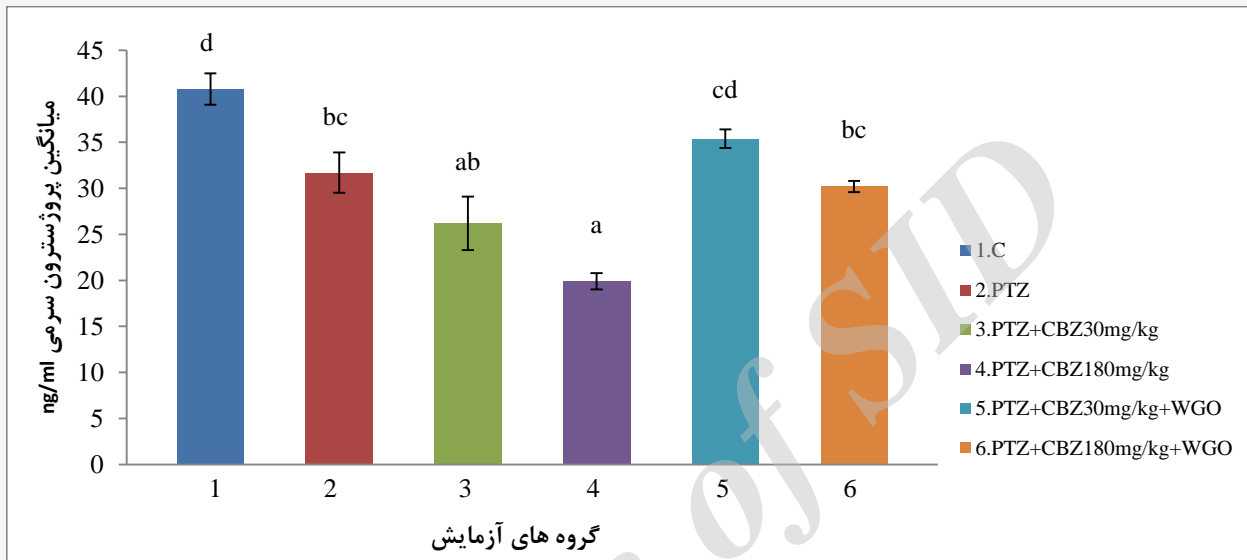
نمودار ۱: میانگین تغییرات سرمی هورمون استروژن در گروه‌های مختلف آزمایشی و گروه کنترل (حروف غیر یکسان در هر ردیف دارای اختلاف آماری معنی‌دار در سطح  $P < 0.05$  می‌باشند). داده‌ها بر حسب  $Mean \pm SD$  نشان داده شده‌اند. C: کنترل سالم. PTZ: پنتیلین تترازول (کنترل صرع). CBZ: کاربامازپین. WGO: روغن جوانه گندم.

به گروه کنترل سالم افزایش یافته بود به علاوه میزان هورمون تستوسترون در گروه صرعی دریافت کننده دوز  $30 \text{ mg/kg}$

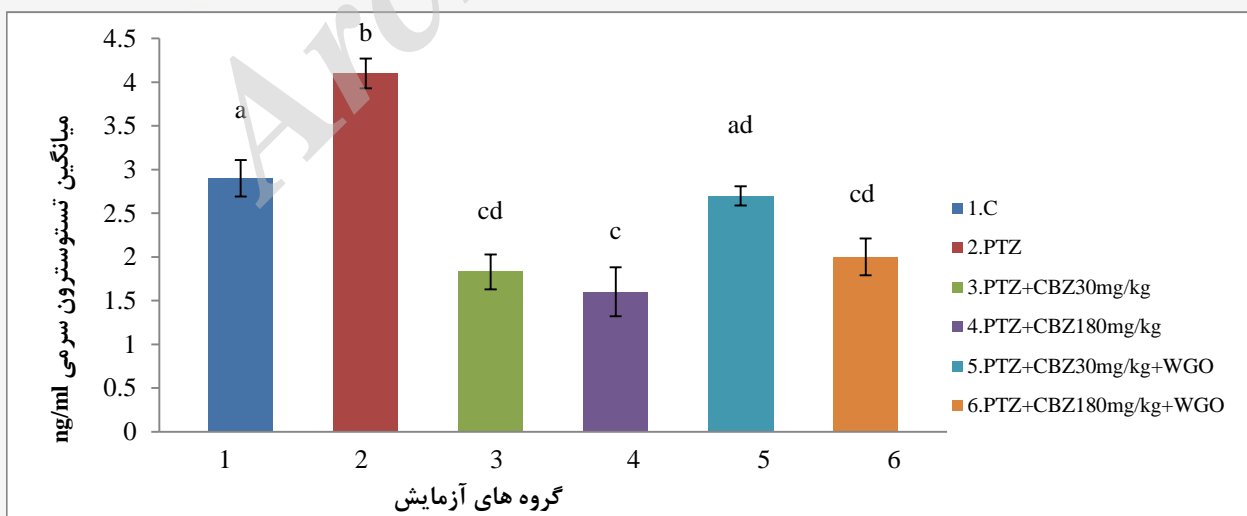
میزان هورمون پروژسترون در گروه‌های ۳ و ۴ صرعی دریافت کننده کاربامازپین به ترتیب  $2/90 \pm 2/90$  و  $2/90 \pm 0/90$

به طور کلی کاربامازپین به ویژه در دوز بالا باعث کاهش میزان هورمون های استروژن، پروژسترون و تستوسترون شده است که

کاربامازپین به همراه روغن جوانه گندم ( $0.11 \pm 2/7$ ) نسبت به گروه صرعی دریافت کننده دوز بالای کاربامازپین افزایش معنی داری داشت ( $P < 0.05$ )، (نمودار ۳).



نمودار ۲: میانگین تغییرات سرمی هورمون پروژسترون در گروه های مختلف آزمایشی و کنترل (حروف غیر یکسان در هر ردیف دارای اختلاف آماری معنی دار در سطح  $P < 0.05$  می باشند). داده ها بر حسب  $Mean \pm SD$  نشان داده شده اند. C: کنترل سالم، PTZ: پنتیلن تترازول (کنترل صرعی)، CBZ: کاربامازپین، WGO: روغن جوانه گندم.



نمودار ۳: میانگین تغییرات سرمی تستوسترون در گروه های مختلف آزمایشی و کنترل (حروف غیر یکسان در هر ردیف دارای اختلاف آماری معنی دار در سطح  $P < 0.05$  می باشند). داده ها بر حسب  $Mean \pm SD$  نشان داده شده اند. C: کنترل سالم، PTZ: پنتیلن تترازول (کنترل صرعی)، CBZ: کاربامازپین، WGO: روغن جوانه گندم.



نتایج حاصل از تغییرات ضخامت بافت هم بند آندومتر رحم در گروه‌های مختلف آزمایشی و کنترل: در مطالعه شاخ رحمی مربوط به بافت هم بند آندومتر، آنالیز آماری نشان داد که میانگین ضخامت بافت هم بند آندومتر در گروه صرعی دریافت کننده دوز بالای کاربامازپین نسبت به گروه کنترل سالم و گروه کنترل صرعی کاهش معنی داری داشت. همچنین این میزان در گروه کنترل صرعی نسبت به گروه کنترل سالم هم کاهش یافت ولی این کاهش معنی دار نبود. به علاوه میانگین ضخامت بافت هم بند در گروه صرعی دریافت کننده دوز پایین کاربامازپین به همراه روغن جوانه گندم نسبت به هم گروه کنترل سالم و هم گروه‌های دریافت کننده کاربامازپین افزایش معنی داری داشته است ( $P < 0.05$ )، جدول ۲.

**بررسی ضخامت میومتر در گروه‌های مختلف آزمایشی و کنترل:** در مطالعه شاخ رحمی مربوط به بافت میومتر، آنالیز آماری نشان داد که میانگین ضخامت بافت میومتر در گروه‌های

روغن جوانه گندم باعث بهبود و افزایش این مقادیر شده که تقریباً نزدیک به مقادیر گروه کنترل سالم می‌باشد.

**بررسی تغییرات مورفومتریکی لایه‌های مختلف رحم:**

**نتایج حاصل از تغییرات ضخامت بافت پوششی آندومتر رحم در گروه‌های مختلف آزمایشی و کنترل:** در مطالعه شاخ رحمی مربوط به بافت پوششی آندومتر، آنالیز آماری نشان داد که میانگین ارتفاع سلول‌های پوششی آندومتر در گروه‌های صرعی دریافت کننده کاربامازپین در مقایسه با گروه کنترل سالم و گروه کنترل صرعی کاهش معنی داری داشت. ولی این میزان در گروه کنترل صرعی نسبت به گروه کنترل سالم افزایش داشت ولی این افزایش معنی دار نبود. یافته‌های این بررسی نشان داد که استفاده از روغن جوانه گندم باعث افزایش در میانگین ضخامت بافت پوششی آندومتر رحم در مقایسه با گروه صرعی دریافت کننده دوز بالای کاربامازپین شده است که این افزایش معنی دار بود ( $P < 0.05$ )، جدول ۲.

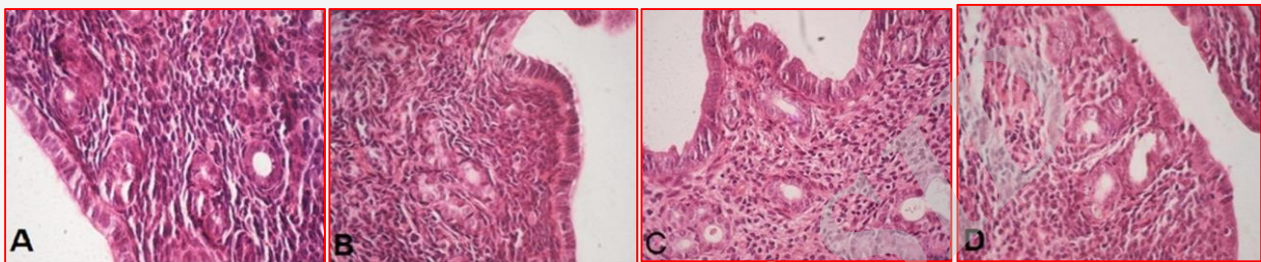
جدول ۲: بررسی تغییرات مورفومتریکی لایه‌های مختلف رحم در گروه‌های مختلف آزمایشی و کنترل

| گروه                               | کنترل سالم         | کنترل صرعی (PTZ) | صرعی درمان با دوز ۳۰ CBZ | صرعی درمان با دوز ۱۸۰ CBZ | صرعی درمان با دوز ۳۰ CBZ + WGO | صرعی درمان با دوز ۱۸۰ WGO + CBZ |
|------------------------------------|--------------------|------------------|--------------------------|---------------------------|--------------------------------|---------------------------------|
| ضخامت اپی تلیوم ( $\mu\text{m}$ )  | $223.39 \pm 3.42$  | $211.4 \pm 2.29$ | $195.5 \pm 3.23$         | $81.04 \pm 0.14$          | $237.78 \pm 3.66$              | $160.6 \pm 0.90$                |
| ضخامت بافت همبند ( $\mu\text{m}$ ) | $235.10 \pm 21.8$  | $194.71 \pm 6.9$ | $182.16 \pm 6.1$         | $107.01 \pm 8.9$          | $340 \pm 20.8$                 | $236.5 \pm 23.68$               |
| ضخامت میومتر ( $\mu\text{m}$ )     | $216.66 \pm 18.55$ | $266 \pm 25.26$  | $197.6 \pm 21.34$        | $202.1 \pm 11.61$         | $354.5 \pm 13.74$              | $326.7 \pm 9.36$                |
| تعداد غدد                          | $27 \pm 1$         | $28.33 \pm 2.72$ | $25.33 \pm 3.71$         | $5.33 \pm 0.88$           | $48.66 \pm 4.37$               | $38.33 \pm 6$                   |

اعداد با حروف غیر یکسان در هر ردیف دارای اختلاف آماری معنی دار در سطح  $P < 0.05$  می‌باشند. داده‌ها بر حسب  $\text{Mean} \pm \text{SD}$  نشان داده شده‌اند. PTZ: پنتیلین ترازول. CBZ: کاربامازپین. WGO: روغن جوانه گندم. واحد دوز کاربامازپین به صورت میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن می‌باشد.

رحم گروه کنترل صرعی می‌باشد که نسبت به تصویر B، هم پراکندگی غدد بیشتری دارد و هم ضخامت آندومتر بیشتر است ولی در مقایسه با تصویر C، پراکندگی غدد و ضخامت بافت هم بند کمتر می‌باشد (شکل ۱).

صرعی دریافت کننده کاربامازپین هیچ تفاوت معنی‌داری نسبت به گروه کنترل سالم و گروه کنترل صرعی نداشت ولی گروه‌های صرعی دریافت کننده کاربامازپین به همراه روغن جوانه گندم نسبت به گروه کنترل سالم افزایش معنی‌داری داشت ( $P < 0.05$ )، (جدول ۲).



شکل ۱- نمای ریزبینی از رحم موش‌های سوری مورد آزمایش (هماتوکسیلین-ائوزین، بزرگنمایی  $40 \times$ ). A: گروه کنترل سالم (ضخامت لایه‌ها و پراکندگی غدد در حد نرمال). B: گروه دریافت کننده CBZ ۱۸۰ (کاهش پراکندگی غدد و ضخامت اپی تلیوم نسبت به گروه کنترل). C: گروه دریافت کننده دوز ۳۰ WGO+CBZ (پراکندگی غدد زیاد و افزایش آندومتر نسبت به تصاویر A و B). D: گروه کنترل صرعی (افزایش پراکندگی غدد و ضخامت آندومتر نسبت به تصویر B). واحد دوز CBZ به صورت میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن می‌باشد.

### بحث

در مطالعه حاضر نشان داده شده که درمان با کاربامازپین به ویژه در دوز بالا موجب کاهش سطح هورمون‌های استروژن، پروژسترون و تستوسترون می‌شود. نتایج پژوهش حاضر با یافته‌های Leskiewicz و همکاران در سال ۲۰۰۸ مطابقت دارد به طوری که نشان داد هم تشنج و هم داروهای ضد تشنج ممکن است اختلالاتی را در سیستم هورمونی القا کنند. اکثریت داروهای ضد تشنج کانال‌های کلسیم و سدیم وابسته به ولتاژ را بلاک می‌کنند و رسپتورهای آنتاگونیست گلوتامات و انتقالات گابا $\text{B}$  را تقویت می‌کنند. یک احتمال ممکن برای این اختلالات این است که مکانیسم‌های نوروشیمیایی مشابهی در برهم کنش‌های این داروها با سنتز نوروهورمون‌های هیپوتالاموس مثل هورمون آزاد کننده گنادوتروپین، هورمون آزاد کننده تیروتروپین، هورمون آزاد کننده کورتیکوتروپین و هورمون آزاد کننده هورمون رشد به کار گرفته می‌شود. با این وجود بعضی از داروهای ضد تشنج ممکن است بر متابولیسم هورمون‌ها از طریق مهار یا تحریک ایزوآنزیم سیتوکروم P450 تاثیر بگذارند (۲۲). همچنین Eeva Lofgren و همکاران در بررسی که بر روی تاثیر کاربامازپین بر عملکرد

نتایج حاصل از میانگین غدد: آنالیز آماری نشان داد که میانگین تعداد غدد در گروه صرعی دریافت کننده دوز بالای کاربامازپین در مقایسه با همه گروه‌ها کاهش معنی‌داری داشت. استفاده از روغن جوانه گندم باعث افزایش در میانگین تعداد غدد به ویژه در گروه صرعی دریافت کننده دوز پایین کاربامازپین به همراه روغن جوانه گندم به‌طور معنی‌دار نسبت به گروه کنترل سالم و گروه کنترل صرعی شد ( $P < 0.05$ )، (جدول ۲).

**بررسی تغییرات هیستولوژیکی رحم:** در تصویر A، رحم گروه کنترل سالم نشان داده شده است که ضخامت لایه‌ها و پراکندگی غدد در حد نرمال می‌باشد. تصویر B، رحم گروه دریافت کننده دوز بالای کاربامازپین نشان داده شده است. همان طور که در شکل مشاهده می‌شود در این گروه میزان پراکندگی غدد کم می‌باشد و ضخامت اپی تلیوم هم نسبت به گروه کنترل سالم کاهش یافته است. تصویر C، رحم گروه صرعی دریافت کننده دوز پایین کاربامازپین به همراه روغن جوانه گندم نشان داده شده است که در این گروه افزایش غدد رحمی و همین‌طور افزایش آندومتر رحم نسبت به گروه کنترل سالم و گروه‌های صرعی دریافت کننده کاربامازپین مشاهده می‌شود. تصویر D، نشانگر



توسط PTZ را تقویت می‌کند (۲۹). در موش‌های ماده تشنج آمیگدال‌ها می‌تواند موجب عدم تخمک‌گذاری و بالا رفتن سطح استرادیول و تجمع فولیکول‌های کیستیک تخمدانی می‌شود و در موش‌های نر تشنج باعث افزایش سطح تستوسترون و استرادیول می‌شود (۲۶). تاثیر تحریکی استروژن‌ها ناشی از تقویت نوروترنسمیتر تحریکی گیرنده گلوتامات (۳۰) و کاهش مهار گاما آمینو بوتیریک اسید است (۳۱). همچنین یافته‌های ما حاکی از آن است که در موش‌های صرعی پروژسترون کاهش و تستوسترون افزایش می‌یابد. نتایج یافته‌های ما مطابق با مطالعات قبلی است. اولین گزارش بر اثر ضد تشنجی پروژسترون در تست PTZ به وسیله Hans Selye در سال ۱۹۴۲ (۳۲) منتشر شد. بیشتر گزارشات به تدریج بر اثر ضد تشنجی پروژسترون هم در انسان و هم در حیوان منتشر شد (۳۳). پروژسترون پاسخ‌دهی گلوتامات را کاهش می‌دهند و در درمان صرع بسیار مفید می‌باشد (۳۴). اثر آندروژن‌ها بر تشنج بسیار پیچیده است در حالی که تستوسترون آستانه تشنج را کاهش می‌دهد ولی تشنج ناشی از PTZ را افزایش می‌دهد و تشنج ناشی از کیندل آمیگدال‌ها را تقویت می‌کند (۲۶). تستوسترون از طریق چند مکانیسم بر رفتار تشنجی اثر می‌گذارد به عنوان مثال: با واسطه  $\alpha$ -۳ آندروسترون و ۱۷بتا استرادیول باعث تعدیل فرآیند صرع می‌شود (۲۷). آندروژن‌ها همچنین یک اثر ضد تشنجی هم دارند (۲۶). اما استفاده از روغن جوانه گندم همراه با کاربامازپین موجب یک افزایش معنی‌دار در سطح سرمی هورمون‌های استروژن، پروژسترون و تستوسترون نسبت به گروه-های دریافت کننده کاربامازپین شده که این مقادیر نزدیک به مقادیر گروه کنترل سالم می‌باشد. این می‌تواند به این علت باشد که روغن جوانه گندم علاوه بر ویتامین E محتوی موادی از جمله فیتو استرول‌ها است که فعالیت استروژنیکی داشته و می‌تواند متابولیسم کلسترول را یا تغییر بدهند و یا مهار کنند (۳۵). همچنین ویتامین E موجود در روغن جوانه گندم با اثر بر روی لب قدامی هیپوفیز باعث افزایش تحریک ترشح هورمون‌های تخمدانی می‌شود (۳۶). توکوفرول‌های موجود در روغن جوانه گندم به عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی در نظر گرفته می‌شوند (۳۷). به میزان کمتری از توکوفرول‌ها، کارتنوئیدها در ترکیب روغن جوانه گندم یافت می‌شوند که در فعالیت آنتی‌اکسیدانی شرکت می‌کند. همچنین ترکیب فنولیک نیز در روغن یا عصاره

تولیدمثلی زنان صرعی انجام دادند گزارش کردند که سطح گلوبولین متصل شونده به هورمون‌های جنسی (SHBG) در زنان دریافت کننده کاربامازپین افزایش می‌یابد. افزایش در غلظت SHBG منجر به کاهش سطح سرمی استرادیول فعال (E2) و تستوسترون و شاخص آندروژن آزاد (FAIs) می‌شود. CBZ درمانی همچنین موجب کاهش سطح سرمی دهیدرواپی-آندروسترون سولفات (DHEAS) می‌شود. این تغییرات در عملکرد اندوکرینی تولیدمثلی، احتمالاً ناشی از القا سیستم آنزیمی سیتوکروم P450 کبدی توسط CBZ است که باعث تسریع متابولیسم این داروها می‌شود (۲۳). Martha در سال ۲۰۰۳ گزارش کرد که کاربامازپین، فنی توئین و فنوباریتال آنزیم‌های سیتوکروم P450 کبدی را القا می‌کنند و باعث کاهش استروژن، آدرنال و آندروژن‌های تخمدان می‌شود که منجر به کاهش در فعالیت بیولوژیکی هورمون‌های جنسی می‌شود. همچنین بعضی داروهای ضدصرع سطح فیزیولوژیکی هورمون‌های جنسی استروئیدی تخمدان را کاهش می‌دهند و باعث کاهش تاثیر استروئیدهای پیش‌گیری از بارداری می‌شود (۲۴). همچنین سطح سرمی تستوسترون، SHBG، FAI (آندروژن‌های آزاد) در زنان دریافت کننده CBZ نسبت به گروه کنترل سالم به ترتیب کاهش، افزایش و کاهش را نشان می‌دهد (۲۳). در مطالعه‌ای که اثرات lamotrigine, levetiracetam and carbamazepine بر عملکرد اندوکرینی تولید مثل بررسی شده، نشان داده شد که سطح گلوبولین متصل به هورمون جنسی افزایش و سطح پروژسترون در زنان دریافت کننده کاربامازپین کاهش یافته بود (۲۵) که پژوهش حاضر هم مطابق با یافته‌های قبلی می‌باشد. خود صرع می‌تواند بر عملکرد اندوکرینی تولید مثل اثر بگذارد. هم در حیوان و هم در انسان مطالعات نشان داده که سطح هورمون‌ها و عملکرد تولید مثل بعد از تشنج تمپرو لیمبیک تغییر می‌کند (۲۶). صرع ناشی از PTZ با تغییر سطح هورمون‌های جنسی می‌تواند بر فرآیند تولید مثل اثر منفی بگذارد (۲۷). یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که صرع (PTZ) باعث افزایش استروژن می‌شود. در تایید این یافته‌ها مطالعات انجام شده نشان می‌دهد که استفاده استروژن به طور مستقیم در قشر مخ موجب اثر سریع و قوی اپی‌لپتوتونیک می‌شود (۲۸). استرادیول کیندلینگ را در حیوانات راه اندازی می‌کند (۲۶) و همچنین تشنج القا شده





گرفت که استروژن باعث رشد و تکثیر در رحم می‌شود. علی‌رغم این که استروژن موجب تکثیر سلولی مضاعف در آندومتر می‌شود، پروژسترون موجب تورم قابل ملاحظه و بروز فاز ترشحاتی در آندومتر می‌شود به طوری که ضخامت آندومتر در مرحله ترشحاتی (زمان افزایش پروژسترون) در انسان تقریباً دو برابر می‌شود که با توجه به کاهش استروژن و پروژسترون در گروه‌های دریافت کننده کاربامازپین کاهش ضخامت لایه‌های رحمی قابل توجیه است. میانگین سطح سرمی پروژسترون نیز در گروه کنترل صرعی کاهش یافته بود و با وجود افزایش سطح سرمی استرادیول به دلیل کاهش پروژسترون نسبت به سایر گروه‌ها، کاهش ضخامت بافت هم بند رحم نیز قابل توجیه می‌باشد. از آنجایی که آنتی اکسیدان‌ها باعث تحریک انتشار گنادوتروپین‌ها از آندوهیپوفیز می‌شوند و از این طریق بر رشد رحم و انشعابات غدد رحمی تاثیر مثبتی می‌گذارند (۴۴). در بررسی حاضر افزایش غدد رحمی و رشد آندومتر رحم در گروه‌های درمان با روغن جوانه گندم با توجه به خاصیت آنتی اکسیدانی ویتامین E موجود در روغن جوانه گندم قابل توجیه است. همچنین به دلیل اثر ویتامین E بر روی لب قدامی هیپوفیز و ترشح بالای استروژن و پروژسترون (۳۶) ضخامت لایه‌های رحمی نیز افزایش می‌یابد. در بسیاری از مطالعات اثر روغن جوانه گندم بر سیستم تولیدمثلی مربوط به ویتامین E موجود در روغن بوده است. در زمینه انسانی Tow و Watson گزارش کردند که روغن جوانه گندم به عنوان یک عامل درمانی با ارزش در کاهش بروز عوارض بارداری موثر است (۴۵). به دلیل این که روغن جوانه گندم استرس اکسیداتیو را کاهش می‌دهد (۴۶) و متابولیسم لیپیدها را بهبود می‌بخشد (۴۷)، در نتیجه می‌تواند عوارض ناشی از کاربامازپین را که بر سطح هورمون‌ها و رحم اثر می‌گذارند را تاحدی بهبود بخشد، همان طور که Abdel Fattah و همکاران نشان دادند استفاده ترکیبی از روغن جوانه گندم و گیاه جینسینگ به موش‌های در معرض اشعه رادیواکتیو، به طور قابل توجهی استرس اکسیداتیو ناشی از این اشعه را کاهش می‌دهند که این کاهش به ماهیت آنتی اکسیدانی ویتامین E موجود در روغن جوانه گندم و جینسینگ نسبت داده شده است (۴۸). عملکرد و فعالیت اصلی ویتامین E محافظت از زنجیره اسیدهای چرب غیراشباع با چندین پیوند دوگانه در فسفولیپیدهای غشاهای بیولوژیک و در لیپوپروتئین‌های پلاسما

جوانه گندم وجود دارد که فعالیت آنتی اکسیدانی دارد (۳۸). در مطالعات انجام شده بر روی فلاونوئیدها مشخص گردید که فلاونوئیدها با افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی (گلوکاسیون، گلوکاسیون ردوکتاز، گلوکاسیون پراکسیداز و کاتالاز) باعث احیای سلول‌های آسیب دیده و حفاظت از این سلول‌ها می‌شود (۳۹). Soleimani Mehranjani و همکاران نشان دادند که استفاده از روغن جوانه گندم به همراه p-Nonylphenol استرس اکسیداتیو ایجاد شده توسط این ماده را کاهش داده و باعث تغییراتی در سیستم اندوکرینی می‌شود (۳۵). در رابطه با اثر کاربامازپین بر روی بافت رحم یافته‌های ما نشان داد که کاربامازپین بویژه در دوز بالا باعث کاهش معنی‌داری در ضخامت اپیتلیوم، ضخامت بافت هم بند و میانگین غدد رحمی می‌شود اما بر روی بافت میومتر رحم تاثیری نداشت. احتمال اول برای این کاهش ضخامت لایه‌های رحمی می‌تواند ناشی از تولید رادیکال‌های آزاد و ایجاد استرس اکسیداتیو ناشی از استفاده از کاربامازپین (۹) به وجود آید. اخیراً مطالعات نشان داده‌اند که داروهای ضدتشنج اثرات مختلفی بر روی سیستم آنتی اکسیدانی دارند این داروها مخصوصاً کاربامازپین و والپروات ممکن است صدمات بافتی وابسته به اکسیژن را به وسیله چندین مکانیسم راه اندازی کنند (۴۰). تغییرات چرخه‌ای در اندومتریم همراه با تغییرات در بیان آنتی اکسیدان‌های گوناگون در اندومتریم هستند. آنزیم‌هایی مثل تیوردوکسین بیان بالایی در ابتدای فاز ترشحاتی دارند و این برای لانه‌گزینی مهم می‌باشد (۴۱). جالب توجه است که تخریب ژن تیوردوکسین در موش سوری در ارتباط با تاثیر کشنده بر جنین اولیه می‌باشد (۴۲). احتمال دوم این است که استرادیول باعث تکثیر بافت پوششی آندومتر رحم می‌شوند گیرنده‌های استروژن بر روی اپیتلیوم، استروما و میومتر رحمی وجود دارند در نتیجه استرادیول از طریق تاثیر بر روی این گیرنده‌ها که در بافت پوششی و یا گیرنده‌های استروما است باعث تکثیر بافت پوششی می‌گردد (۴۳). در مقایسه با گروه کنترل سالم، ارتفاع سلول‌های پوششی در گروه کنترل صرعی با افزایش میزان استروژن به طور معنی‌داری افزایش یافته بود. در حالی که در موش‌های صرعی تیمار شده با کاربامازپین با کاهش میزان استروژن سرمی، ارتفاع سلول‌های اپی تلیالی کاهش معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل صرعی داشت. بنابراین می‌توان نتیجه



### نتیجه گیری

نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که روغن جوانه گندم به طور معنی دار اثرات سمی کاربامازپین را به وسیله تغییر در فعالیت هورمون‌های سرمی کاهش می‌دهد و آن‌ها را به مقادیر گروه کنترل سالم نزدیک می‌نماید. بنابراین روغن جوانه گندم به عنوان یک آنتی‌اکسیدان می‌تواند از تغییرات اندوکرینی خاصی که عملکرد سیستم تولیدمثلی را بهم می‌زند جلوگیری نماید.

### تشکر و قدردانی

بدین وسیله از سرکار خانم ویدا رحیم پور به دلیل همکاری در این مطالعه قدردانی می‌شود.

### تعارض منافع

نویسندگان هیچ گونه تعارض منافی را اعلام نکرده اند.

است. در سطح سلول به نظر می‌رسد ویتامین E از طریق جمع کردن رادیکال‌های آزاد که دارای اکسیژن هستند، غشاهای سلولی و زیرمجموعه‌های سلولی را از تخریب محافظت می‌کند (۴۹). همانند ویتامین E، ویتامین B6 نیز طی تحقیقات Afshar و همکاران استرس اکسیداتیو ایجاد شده توسط CBZ را بخصوص در طی بارداری کاهش می‌دهد و جنین را از ناهنجاری‌های مادرزادی حفظ می‌کند. نقش ویتامین B6 به عنوان آنتی‌اکسیدان و توانایی آن برای پایین آوردن صدمات ناشی از استرس اکسیداتیو و حفاظت در برابر بیماری‌های تخریب نورونی پیشنهاد شده است (۱۷). همچنین نقش اسیدفولیک نیز در کاهش برخی ناهنجاری‌های مادرزادی نظیر نقایص لوله عصبی، ناهنجاری‌های قلبی و عروقی، شکاف لب و کام و تاخیر رشد داخل رحمی ناشی از مصرف CBZ، در جنین موش‌های کوچک آزمایشگاهی به اثبات رسیده است (۵۰).

### References

1. Harden CL, Pennell PB and Koppel BS. Management issues for women with epilepsy focus on pregnancy. *Epilepsia*. 2009;50(5):1247-1255.
2. Richen A. Safety of Lamotrigine. *Epilepsia*. 1994;35(5):37-40.
3. Andrew G. Herzog. Disorders of reproduction in patients with epilepsy: Primary neurological mechanisms. *Seizure*. 2008;17(2):101—110.
4. Ornoy A. Neuroteratogens in man: an overview with special emphasis on the teratogenicity of antiepileptic drugs in pregnancy. *Reprod Toxicol*. 2006; 22(2):214-226.
5. Hiremath GK, Kotagal P, Bingaman W, Hovinga C, Wyllie E, Morris H, et al. Risk factors for carbamazepine elevation and toxicity following epilepsy surgery. *Seizure*. 2005; 14(5):312-317.
6. Perez Martin JM, Fernández Freire P, Labrador V, Hazen MJ. Carbamazepine induces mitotic arrest in mammalian Vero cells. *Mutat Res*. 2008; 637(1):124-133.
7. Christensen HD, Rayburn WF, Parker KM, Gonzalez CL, Gold KP. Chronic prenatal exposure to

- carbamazepine and perinatal outcomes of C3H/He mice. *Am J Obstet Gynecol*. 2004; 190(1):259-263.
8. Matalon S, Schechtman S, Goldzweig G, Ornoy A. The teratogenic effect of carbamazepine: a meta-analysis of 1255 exposures. *Reprod Toxicol*. 2002; 16(1): 9-17.
9. Santhrani T, Maheswari E, Saraswathy GR. Carbamazepine provoked hepatotoxicity: attenuation by vitamin C. *Oxid Antioxid Med Sci*. 2013; 2(1):37-43.
10. El-Hameed AMA, Soliman HA, El-Reheem ESA. Protective Role of Wheat Germ Oil in Clozapine-Induced Oxidative Stress and Biochemical Alterations in Liver of male albino rats. *J Am Sci*. 2013;9(1):268-274.
11. Leenhardt F, Fardet A, Lyan B, Gueux E, Rock E, Mazur A, et al. Wheat germ supplementation of a low vitamin E diet in rats affords effective antioxidant protection in tissues. *J. Am. Coll. Nutr*. 2008; 27(2):222–228.
12. Panfili G, Cinquanta L, Fratianni A, Cubadda R. Extraction of wheat germ oil by supercritical CO<sub>2</sub>: Oil and defatted cake characterization. *J. Am. Oil. Chem. Soc*. 2003;80(2):157–161.



13. Zacchi P, Daghero J, Jaeger P, Eggers R. Extraction/fractionation and deacidification of wheat germ oil using supercritical carbon dioxide. *Braz. J. Chem. Eng.* 2006;23(1):105-110.
14. Alessandri JM, Extier A, Al-Gubory KH, Harbey E, Lallemand MS, Linard A, et al. Influence of gender on DHA synthesis: The response of rat liver to low dietary  $\alpha$ -linolenic acid evidences higher  $\omega$ 3 D4-desaturation index in females. *Eur. J. Nutr.* 2012;51:199-209.
15. Cordova CA, Siqueira IR, Netto CA, Yunes RA. Protective properties of butanolic extract of the *Calendula officinalis* L. (marigold) against lipid peroxidation of rat liver microsomes and action as free radical scavenger. *Redox Rep.* 2002;7(2):95-102.
16. Saraswathy GR, Maheswari E, Santhrani T. Effect of vitamin C supplementation on phenytoin induced hepatotoxicity. *Global J Pharmacol.* 2010; 4(3):127-35.
17. Afshar M, Moallem SA, Baharara J, Takjo T, Golalipour MJ. Preventive effect of vitamin B6 on developmental toxicity of carbamazepine in mice. *Iran J Basic Med Sci.* 2011; 14(2): 99-106.
18. Racine RJ. Modification of seizure activity by electrical stimulation: II Motor seizure. *Electroenceph. Clin Neurophysiol.* 1972; 32(3): 281-94.
19. Mehrabi Nasab E, Khazaei M, Khazaei S. The effect of pentylentetrazol kindling induced epilepsy on hypogonad hormones and sperm parameters of rats. *AMUJ.* 2010; 12(4): 105-112. [In Persian]
20. Sullivan FM, McElhatton PR. A comparison of the teratogenic activity of the antiepileptic drugs carbamazepine, clonazepam, ethosuximide, phenobarbital, phenytoin, and primidone in mice. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1977; 40(2): 365-378.
21. Hubscher CH, Brooks DL, Johnson JRA. Quantitative method for assessing stages of the estrous cycle. *Biotech Histochem.* 2005; 80(2): 79-87.
22. Leskiewicz M, Budziszewska B, Lasoń W. Endocrine effects of antiepileptic drugs. *Przegl Lek.* 2008;65(11):795-8.
23. Lofgren E, Tapanainen JS, Koivunen R, Pakarinen A, Isojarvi JI. Effects of Carbamazepine and Oxcarbazepine on the Reproductive Endocrine Function in Women with Epilepsy. *Epilepsia.* 2006; 47(9):1441-1446.
24. Morrell Mj. Reproductive and Metabolic Disorders in Women with Epilepsy. *Epilepsia.* 2003; 44(Supple4):11-20.
25. Svalheim S, Tauboll E, Luef G, Lossius A, Rauchenzauner M, Sandvand F, et al. Differential effects of levetiracetam, carbamazepine, and lamotrigine on reproductive endocrine function in adults. *Epilepsy Behav.* 2009;16(2): 281-287.
26. Edwards HE, Burnham WM, Mendonca A, Bowlby DA, MacLusky NJ. Steroid hormones affect limbic after discharge thresholds and kindling rates in adult female rats. *Brain Res.* 1999;838(1):136-50.
27. Reddy DS. Testosterone modulation of seizure susceptibility is mediated by neurosteroid 3  $\alpha$ -androstenediol and 17- $\beta$ -estradiol. *Neuroscience.* 2004; 129(1):195-207.
28. Hardy RW. Unit activity in premarin-induced cortical epileptogenic foci. *Epilepsia.* 1970;11(2):179-86.
29. Woolley CS. Estradiol facilitates kainic acid-induced, but not flurothyl-induced, behavioral seizure activity in adult female rats. *Epilepsia.* 2000;41(5):510-5.
30. Smith SS, Waterhouse BD, Woodward DJ. Sex steroid effects on extrahypothalamic CNS. I. Estrogen augments neuronal responsiveness to iontophoretically applied glutamate in the cerebellum. *Brain Res.* 1987;422(1):40-51.
31. Murphy DD, Cole NB, Greenberger V, Segal M. Estradiol increases dendritic spine density by reducing GABA neurotransmission in hippocampal neurons. *J Neurosci.* 1998;18(7):2550-9.
32. Selye H. The antagonism between anesthetic steroid hormones and pentamethylenetetrazol (metrazol). *J Lab. Clin. Med.* 1942;27(1051):3.
33. Craig CR, Deason JR. Anticonvulsant activity of steroids, specificity of structure. *Arch Int Pharmacodyn Ther.* 1968;172(2):366-72.
34. Mattson RH, Cramer JA, Caldwell BV, Siconolfi BC. Treatment of seizures with medroxyprogesterone acetate: preliminary report. *Neurology.* 1984;34(9):1255-8.
35. Soleimani Mehranjani M, Abnosi MH, Naderi A, Mahmodi M. Preventing Effects of Wheat Germ Oil on Sex Hormones, Liver Enzymes, Lipids and Proteins in Rat Serum Following Treatment with p-Nonylphenol. *J. Biol. Sci.* 2007;7(8):1406-1411.
36. Shariatzadeh SMA, Soleimanimehranjani M, Hamta A, Ghandzadehdezfuli M. The stereological study of the effect of vitamin E on the structure of ovary and its number of follicles during ovary development in rats treated with sodium arsenite. *AMUJ.* 2012; 15(61): 54-64. [In Persian].
37. Liu D, Shi J, Ibarra AC, Kakuda Y, Xue SJ. The scavenging capacity and synergistic effects of lycopene, vitamin E, vitamin C, and  $\beta$ -carotene mixtures on the DPPH free radical. *LWT Food Sci. Technol.* 2008; 41(7):1344-1349.
38. Niu LY, Jiang ST, Pan LJ. Preparation and evaluation of antioxidant activities of peptides obtained from defatted wheat germ by fermentation. *J Food Sci Technol.* 2013;50(1): 53-61.
39. Bahrami-Karkevandi M, Moshtaghian SJ, Madani SH, Mahzoni P, Adibi SH, Kazemi S. The effect of hydroalcoholic extract of *Artemisia Aucheri* on bleomycin induced pulmonary fibrosis in rats.



Shahrekord Univ Med Sci Journal. 2011;12(4):33-40.[In Persian]

40. Cengiz M, Yuksel A, Seven M. The effects of carbamazepine and valproic acid on the erythrocyte glutathione, glutathione peroxidase, superoxide dismutase and serum lipid peroxidation in epileptic children. *Pharmacological Research*. 2000; 41(4), 423-425.

41. Maruyama T, Kitaoka Y, Sachi Y, Nakano K, Hirota K, Shiozawa T, et al. Thioredoxin expression in the human endometrium during the menstrual cycle. *Mol Hum Reprod*. 1997; 3(11):989-993.

42. Matsui M, Oshima M, Oshima H, Takaku K, Maruyama T, Yodoi J, et al. Early embryonic lethality caused by targeted disruption of the mouse thioredoxin gene. *Dev Biol*. 1996; 178(1): 179-185.

43. Wang ET, Calderon-Margalit R, Cedars MI, Daviglus ML, Merkin SS, Schreiner PJ, et al. Polycystic Ovary Syndrome and Risk for Long-Term Diabetes and Dyslipidemia. *Obstet Gynecol*. 2011; 117(1): 6-13.

44. Karanth S, Yu WH, Mastronardi CA, Mccann SM. Vitamin E stimulates luteinizing hormone releasing hormone and ascorbic acid release from medial basal hypothalamus of adult male rat. *Exp Biol Med* Maywood.

2003;228(7):779-785.

45. Watson EM, Tew WP. Wheat Germ Oil Therapy in Obstetric. *Am. J. Obstet. Gynecol*. 1936; 31(2): 352

46. Alessandri C, Pignatelli P, Loffredo L, Lenti L, Del Ben M, Carnevale R, et al. Alpha-linolenic acid-rich wheat germ oil decreases oxidative stress and CD40 ligand in patients with mild hypercholesterolemia. *Arterioscler thromb Vas Biol*. 2006; 26(11):2577-2588.

47. Singh DK, Li L, Porter TD. Policosanol inhibits cholesterol synthesis in hepatoma cells by activation of AMP-kinase. *J. Pharmacol. Exp. Ther*. 2006; 318(3): 1020.

48. Abdel Fattah SM, Fahim TH, El-Fatih NM. Prophylactic role of combined treatment with wheat germ oil and ginseng against radiation injury in male rats. *Egyptian Journal of Hospital Medicine*. 2011;45:403-415.

49. Combs GF. *Vitamins*. In: Mahan LK, Escott-stump S. *Krauses Food, Nutrition, and Diet therapy*. Philadelphia: Saunders Company. 2000; 79-81.

50. Afshar M, Moallem SA, Baharara J, Takjo T, Golalipour MJ. The protective role of folic acid on teratogenic effect of Carbamazepine in Balb/c mice. *J Gorgan Uni Med Sci*. 2010;12(3):1-9 [Article in Persian].



Original Article

## Protective Effect of Wheat Germ Oil on Sex Hormones Disorders and Uterine Tissue Disorders Morphology Following Treatment with Carbamazepine in Epileptic Female Mice with Pentylentetrazol

Ahmadi E<sup>1\*</sup>, Nejati V<sup>1</sup>, Najafi Gh<sup>2</sup>, Khezri Sh<sup>1</sup>

1- Department of Biology, Faculty of Science, Urmia University, Urmia, Iran.

2- Department of Anatomy and Embryology, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran.

Received: 02 Nov 2014

Accepted: 27 Jan 2015

### Abstract

**Background & Objective:** Epilepsy is one of the common neurological diseases and carbamazepine is an antiepileptic drug that causes oxidative stress, endocrine and the reproductive system long term disorders. The aim of this study is to evaluate the effect of wheat germ oil, as a rich source of antioxidants on sex hormones and uterine tissue in epileptic mice treated with carbamazepine.

**Materials & Methods:** In this study 48 adult female mice were randomly divided into 6 groups (n=8). Including: 1- control. 2- received pentylentetrazol at dose of 40 (seizure control). 3- received pentylentetrazol + carbamazepine at dose of 30. 4- received pentylentetrazol + carbamazepine at dose of 180. 5- received pentylentetrazol + carbamazepine at dose of 30 + wheat germ oil receiver at dose of 500. 6- received pentylentetrazol + carbamazepine at dose of 180 + wheat germ oil at dose of 500.(units of doses are as grams/kilogram of body weight). At the end of the treatment period, ELISA method was used to measure estrogen, progesterone and testosterone levels. In addition, histological studies were performed on the uterus. Data were analyzed using ANOVA and Tukey's test in SPSS20 software.

**Results:** Carbamazepine levels of estrogen, progesterone, testosterone, and except of myometrium, the uterine thickness and average uterine glands decreased significantly. In the group with wheat germ oil + carbamazepine (30, 180), levels of mentioned factors changed near-normal significantly.

**Conclusion:** Results showed that the wheat germ oil improves reproductive system performance and reduces the complication of carbamazepine.

**Keywords:** Uterine, Sex hormones, Wheat germ oil, Carbamazepine, Epilepsy

\*Corresponding author: Elham Ahmadi, Department of Biology, Faculty of Science, Urmia University, Urmia, Iran

E-mail: e.ahmadi9921@yahoo.com

Tel: +984137230858