

مطالعه اثر عصاره هیدروالکلی میوه عناب (*Zizyphus jujube* L.) در موش‌های صحرایی مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک

ناصر میرازی^۱، سمیرا شامخی رجب پور^۱، زهرا ایزدی^۲گروه زیست‌شناسی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران، ^۲گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشگاه نهاوند، نهاوند، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۳/۲۱

تاریخ وصول: ۱۳۹۷/۱۲/۱۹

چکیده

زمینه و هدف: سندرم تخمدان پلی‌کیستیک یکی از مهم‌ترین اختلالات آندوکرینی است که حدود ۱۰-۵ درصد از بانوان را در سنین تولید مثل تحت تأثیر قرار می‌دهد. برخی گیاهان دارویی قادر هستند. از بروز و یا پیشرفت این سندرم جلوگیری نمایند. هدف از این مطالعه تعیین و اثر عصاره هیدروالکلی میوه عناب (*Zizyphus jujube* L.) در موش‌های صحرایی مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک می‌باشد.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، تعداد ۴۲ سر موش صحرایی ماده نژاد ویستار نابالغ با سن ۳-۴ هفته در محدوده وزنی ۷۰-۵۰ گرم از مرکز پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی همدان تهیه گردید، موش‌ها به صورت تصادفی به هفت گروه مساوی؛ کنترل، شاهد، شم، درمان شده با متفورمین و تیمار ۱، ۲ و ۳ به طور تصادفی تقسیم شدند. گروه کنترل روزانه به مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر سالیین نرمال به صورت تزریق داخل صفاقی دریافت کردند. گروه شاهد مقدار ۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تستوسترون انانتات حل شده در روغن کنجد به صورت تزریق زیر جلدی در ناحیه پشت گردن دریافت نمودند. گروه شم، ۰/۵ میلی‌لیتر روغن کنجد به صورت تزریق زیر جلدی دریافت کردند. گروه درمان شده با متفورمین، تستوسترون انانتات ۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم زیر جلدی پشت گردن همراه متفورمین، ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت گاواژ دریافت کردند. گروه‌های تیمار ۱ و ۲ به مدت یک ماه به طور هم‌زمان ۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تستوسترون انانتات و عصاره هیدروالکلی عناب به ترتیب با دوزهای ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت تزریق درون صفاقی دریافت نمودند. گروه تیمار ۳ به مدت ۴ هفته تستوسترون انانتات دریافت نمودند و بعد از گذشت ۴ هفته، به مدت یک هفته عصاره عناب با دوز ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت تزریق درون صفاقی دریافت کردند. در پایان آزمایش‌ها حیوانات ابتدا با اتر بیهوش شده و نمونه‌های بافتی تخمدان جهت بررسی‌های بافت‌شناسی تهیه و رنگ‌آمیزی H&E صورت گرفت. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از آزمون‌های آنالیز واریانس یک طرفه، کروسکال-والیس، کولموگروف-اسمیرنوف و تست تعقیبی توکی تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: نتایج این مطالعه نشان داد که تستوسترون سبب ایجاد کیست‌های فولیکولی در تخمدان می‌شود. گروه‌های تیمار ۲ و ۳ نسبت به گروه شاهد به طور معنی‌داری کیست‌های فولیکولی کمتری را نشان دادند ($p < 0/001$)، بررسی بافت‌شناسی نشان می‌دهد که عصاره عناب با دوزهای بالا سبب کاهش کیست‌های فولیکولی و همچنین بلوغ فولیکول‌ها می‌گردد.

نتیجه‌گیری: عناب به دلیل دارا بودن مواد شیمیایی خاصی و ترکیباتی نظیر: آسکوربیک اسید، فلاونونوئیدها، ویتامین‌های A و C و کلسیم احتمال بهبود بر روی سندرم تخمدان پلی‌کیستیک را دارد.

واژه‌های کلیدی: گیاه عناب، تستوسترون انانتات، تخمدان پلی‌کیستیک، موش صحرایی

نویسنده مسئول: ناصر میرازی، همدان، دانشگاه بوعلی سینا، گروه زیست‌شناسی

Email: mirazi205@gmail.com

مقدمه

سندرم تخمدان پلی کیستیک (PCOS)، شایع‌ترین اختلال هورمونی در میان زنان در سنین باروری است. نام‌گذاری این سندرم به دلیل وجود تخمدان‌های بزرگ محتوی تعداد زیادی کیست کوچک است که در لایه بیرونی هر تخمدان قرار گرفته است. این سندرم، یکی از شایع‌ترین اختلالات آندوکرینی می‌باشد. سندرم تخمدان پلی کیستیک یکی از مهم‌ترین اختلالات آندوکرینی است که حدود ۱۰-۵ درصد از بانوان را در سنین تولید مثل تحت تأثیر قرار می‌دهد، یکی از مهم‌ترین دلایل ناباروری ناشی از عدم تخم‌گذاری می‌باشد (۱).

قابل قبول‌ترین مشخصه آندوکرینی این بیماری، ترشح بیش از حد آندروژن‌ها از تخمدان پلی کیستیک می‌باشد (۲). سندرم تخمدان پلی کیستیک می‌تواند زمانی ایجاد شود که بدن هورمون‌های گونادوتروپینی کافی برای رشد فولیکول‌های تخمدان جهت آزاد کردن تخمک تولید نمی‌کند، در نتیجه ایجاد کیست فولیکولیک در تخمدان صورت می‌گیرد (۳).

مهم‌ترین مشخصه این بیماری، افزایش تعداد فولیکول‌ها در مقایسه با تخمدان‌های طبیعی است (۴). احتمالاً افزایش سطح آندروژن داخل فولیکول، شروع رشد فولیکول را تحریک می‌کند (۵). این سندرم با افزایش وزن بدن در ارتباط است، به طوری که دختران چاق دارای تخمدان‌های پلی کیستیک، رحم‌های بزرگتر و تخمدان‌های حجیم‌تر می‌باشند (۶). در خصوص ژنتیکی بودن ایجاد سندرم تخمدان پلی کیستیک برخی

بر این باورند که نوعی ژن مسئول ایجاد چنین ناهنجاری می‌باشد. ژن منشعب کننده زنجیره جانبی کلاسترول (CYP11a) (۷) و ژن دخیل در رشد فولیکول تخمدان (که به ژن فولیستاتین مشهور می‌باشد) (۸)، از ژن‌های احتمالی دخیل در سندرم تخمدان پلی کیستیک می‌باشند.

تقریباً در ۶۰ درصد زنانی که تخمدان پلی کیستیک دارند، هورمون LH به میزان بیش از حد ترشح می‌شود که خطر نازایی را در این گروه از بیماران افزایش می‌دهد. دلایلی از جمله: افزایش فرکانس ضربان ترشح هورمون آزاد کننده گنادوتروپین، تغییر حساسیت هیپوفیز نسبت به GnRH، تحریک غده هیپوفیز به واسطه هیپرانسولینمی می‌تواند سبب افزایش LH شود (۹). ترشح LH در زنان مبتلا به PCOS، منجر به افزایش ترشح آندروژن در سلول‌های تکای داخلی می‌شود (۱۰).

چاقی تنها به عنوان یک فاکتور اضافی عمل می‌کند، به نظر می‌رسد چاقی با کاهش گیرنده‌های انسولین در بافت‌های هدف، موجب بروز مقاومت به انسولین و در نهایت هیپرانسولینمی می‌شود (۱۱). به نظر می‌رسد در برخی از زنان چاق مبتلا به PCOS، ترشح بیش از حد لپتین سبب ترشح زیاد LH می‌گردد. بافت چربی هورمون لپتین، که یک سیتوکین حلقوی از گروه TNF- α است را ترشح می‌کند. لپتین در داخل هیپوتالاموس سنتز و ترشح نوروپپتید Y را که مهارکننده ضربانات GnRH است مهار می‌کند (۱۲). افزایش سطح آندروژن‌های خون از عوامل مستعد

می‌تواند سبب کاهش استرس اکسیداتیو در بافت تخمدان شود و تعداد فولیکول‌های کیستیک را در مبتلایان به تخمدان پلی‌کیستیک را به طور معنی‌داری کاهش دهد (۱۹). شیرین بیان احتمالاً به دلیل دارا بودن گلیسرین، با مهار متابولیسم گلوکوکورتیکوئید، سبب کاهش سطح قندخون در سندرم تخمدان پلی‌کیستیک می‌شود (۲۰). گیاه آلوئه‌ورا احتمالاً به دلیل داشتن ترکیبات فیتواستروژنی و پلی‌فنل از ترکیبات فلاونوئیدی، باعث کاهش کلسترول تام و تری‌گلیسرید در سندرم تخمدان پلی‌کیستیک می‌شود (۲۱).

رادیکال‌های آزاد در خون به علت توانایی در ایجاد واکنش‌های شیمیایی، با اکسیداسیون لیپیدها، اسیدهای نوکلئیک پروتئین‌ها و قندها سبب ایجاد صدمات بافتی در بیماران می‌شود (۲۲). آنتی‌اکسیدان‌ها مانع عمل رادیکال‌های آزاد شده و از اثرات تخریبی و ویرانگری آنها جلوگیری نموده و آنها را خنثی می‌کنند. استفاده از داروهای گیاهی به دلیل در دسترس بودن و عوارض جانبی کمتر بسیار با ارزش هستند (۲۳). در میان گیاهان دارویی، گیاهان غنی از ترکیبات پلی‌فنولی و فلاونوئیدها با دارا بودن خاصیت آنتی‌اکسیدانی و خاصیت فیتواستروژنی وجود دارند که با کاهش فولیکول‌های کیستیک و افزایش فولیکول‌های رسیده و جسم زرد، سبب بهبود سندرم تخمدان پلی‌کیستیک شوند (۲۴).

عُناَب گیاهی است از خانواده *Rhamaceae* که در کتب فارسی و در طب سنتی به نام عُناَب، شیلاَنه،

کننده به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک محسوب می‌گردد. داروهای که سطح انسولین را با افزایش حساسیت انسولین، کاهش می‌دهد، به واسطه کاهش انسولین و افزایش پروتئین متصل شونده IGF-1، باعث کاهش IGF-1 و در نتیجه سبب کاهش سنتز آندروژن می‌گردد (۱۳).

یکی از داروهای که سبب افزایش آندروژن می‌شود و می‌تواند سندرم تخمدان پلی‌کیستیک را القا نماید، تستوسترون اناثانت (TE) می‌باشد. این ترکیب یک آندروژن درون‌زاد است که گیرنده‌های موجود در اعضا و بافت‌های پاسخ دهنده به آندروژن را تحریک می‌نماید (۱۴). پژوهش‌های متعدد استفاده از گیاهان دارویی در طول زمان‌های طولانی، نشان داده است که آنها دارای اثرات بارز در پیشگیری و یا درمان برخی بیماری‌های مختلف می‌باشند (۱۵). گیاه پنچ انگشت در درمان بیماری تخمدان پلی‌کیستیک مؤثر بوده و دارای اثرات بهبود دهنده در سیکل‌های ماهیانه و درمان اختلال تخمدان پلی‌کیستیک می‌باشد (۱۶). چنین به نظر می‌رسد که گیاه پنچ انگشت با تعدیل گنادوتروپین‌ها سبب بهبود هورمون‌های تخمدانی و فولیکول‌های موجود بر روی آن می‌شود. فیتواستروژن‌ها از جمله ترکیبات این گیاه می‌باشد که به علت شباهت ساختمانی به استروژن‌ها، به گیرنده‌های آنها متصل شده و انواع اثرات استروژنی را اعمال می‌نمایند (۱۷). شیرین بیان بر میزان هورمون‌های جنسی در موش‌های مبتلا به PCOS مؤثر است (۱۸). ترکیبات فلاونوئیدی با خاصیت آنتی‌اکسیدانی در شیرین بیان،

می‌باشند. همچنین از دیگر ترکیبات فلاونوئیدی می‌توان به کامپفرول و پرو پیانیدین اشاره کرد (۲۸). از آنجایی که تاکنون در مورد خاصیت محافظت تخمدانی این گیاه در سندرم تخمدان پلی کیستیک تحقیقی صورت نگرفته است، در این بررسی اثرات محافظت کننده بافتی عصاره هیدروالکلی میوه عناب بر روی مدل حیوانی (موش‌های صحرایی ماده) مورد هدف و بررسی قرار گرفت.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی، ۴۲ سرموش صحرایی ماده نابالغ نژاد ویستار در محدوده وزنی ۷۰-۵۰ گرم که از دانشگاه علوم پزشکی همدان خریداری شده بودند استفاده شد. حیوانات پس از خریداری به اتاق حیوانات منتقل شده و به مدت یک هفته جهت عادت به محیط جدید نگهداری شدند. حیوانات به طور تصادفی به ۷ گروه؛ کنترل، شاهد، شام، درمان شده با متفورمین و تیمار ۱، ۲، ۳ گروه بندی شدند و در شرایط دمایی 23 ± 2 درجه سانتی‌گراد و شرایط نور ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی با دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند.

پس از شناسایی علمی گیاه مورد نظر به وسیله متخصص گیاه شناس جهاد کشاورزی استان همدان، مقدار سه کیلوگرم از گیاه از جهاد کشاورزی همدان خریداری شد. سپس با دستگاه آسیاب کاملاً خرد گردیده و به صورت پودر تهیه شد. پودر حاصله در یک استوانه حاوی الکل ۸۰ درصد (الکل ۹۶ درصد به مقدار ۸۰ میلی‌لیتر به همراه ۱۶ میلی‌لیتر آب مقطر)

در گیلان (اون ناف دار)، سیب کوهی، سنجد گرگان و صغیرا شناخته می‌شود. رویش آنها بیشتر در مناطق استوایی و معتدله است. برگ‌های متناوب و میوه آنها شفت و محتوی یک دانه می‌باشد. در بین آنها نمونه‌هایی با میوه خوراکی مانند درخت عناب و یا انواع دارویی مانند کنار و یا انواع زینتی نیز یافت می‌شود. در طب سنتی نیز مصرف جوشانده عناب برای درمان سرفه، سرماخوردگی و آنفلوانزا و انواع گلودرد بسیار توصیه شده است. عناب به دلیل داشتن لعاب زیاد، نرم کننده سینه و ضد سرفه است. جوشانده عناب گرفتگی صدا را برطرف می‌کند. به علاوه آسم و تنگی نفس را بر طرف می‌کند. عصاره آن موجب مهار اثر رادیکال‌های آزاد به عنوان عامل افزایش التهاب می‌گردد (۲۵).

عناب دارای فلاونوئیدهای متنوع، لعاب فراوان و حدود ۵ درصد مواد پروتئینی و ۴ درصد مواد قندی و مقدار زیادی ویتامین C و املاح می‌باشد. روغن آن دارای لاکتیک اسید، لینولئیک اسید، پالمیتیک اسید و فیتوسترول است (۲۶). در عصاره آبی چوب آن یک ماده متبلور به نام زیزیفیک اسید مشخص شده است. عناب دارای مقدار زیادی موسیلاژ، مالیک اسید، پلی‌فنل، فلاونوئید و آلکالوئید می‌باشد. در میان ترکیبات فعال زیستی عناب، اسیدهای Triterponin و پلی‌ساکاریدها دارای اثرات ضدتکثیری و ضدسرطانی به ویژه سرطان رحم و سینه گزارش شده است (۲۷). کاتچین، اپی کاتچین، کوئرستین و روتین، به عنوان مهم ترین ترکیبات فلاونوئیدی گوشت میوه عناب

عصاره ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به مدت ۴ هفته به طور هم زمان ۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تستوسترون انانتانت را به صورت تزریق زیر جلدی و عصاره هیدروالکی گیاه عناب را با دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت تزریق درون صفاقی، روزانه دریافت کردند، گروه تیمار ۲ (بیمار + دوز عصاره ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به مدت ۴ هفته به طور هم‌زمان ۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تستوسترون انانتانت را به صورت تزریق زیر جلدی و عصاره هیدروالکی گیاه عناب را دوز ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت تزریق درون صفاقی، روزانه دریافت کردند و گروه تیمار ۳ (بیمار + دوز عصاره ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به مدت ۴ هفته به طور هم‌زمان ۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تستوسترون انانتانت را به صورت تزریق زیر جلدی و عصاره هیدروالکی گیاه عناب را دوز ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت تزریق درون صفاقی، روزانه دریافت کردند.

تمامی محلول‌ها و مواد مورد استفاده استریل می‌باشند. حیوانات پس از هر نوبت تزریق روزانه، از نظر میزان آب، غذای مصرفی، سلامت، نحوه اثر عصاره و میزان مرگ و میر مورد ارزیابی قرار گرفتند. پس از انجام مراحل تزریق و قبل از انجام بافت‌گیری وزن همه حیوانات در همه گروه‌ها صورت گرفت.

انجام کلیه مراحل آزمایش‌ها طبق پروتکل کمیته اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی مصوب دانشگاه بوعلی سینا همدان و با مجوز صادره از کمیته اخلاق پزشکی دانشگاه بوعلی سینا همدان با کد ۲۴۰۴۸۰۴ صورت پذیرفت. در پایان آزمایش‌ها،

قرار داده شد تا کاملاً روی آن پوشیده شود. در ظرف را با ورق پارافیلیم پوشانده و به مدت یک هفته در یخچال نگهداری گردید. بعد از یک هفته محلول به وسیله کاغذ صافی، صاف شد و تفاله باقیمانده دور ریخته شد. طی مراحل دیگری محلول هیدروالکی به دست آمده در ارلن ۵۰۰ سی‌سی ریخته شد و در دستگاه روتاری با قابلیت تبخیر قرار گرفت تا الکل از آن جدا شود. با تنظیم سرعت دستگاه در درجه ۶۰ دور در دقیقه بعد از مدت زمان کافی، عصاره کاملاً از حلال جدا شد. عصاره خالص به دست آمده را داخل پلیت ریخته و در زیر هود آزمایشگاه به مدت ۴۸ ساعت قرار گرفت تا تغلیظ شود. بعد از تغلیظ کامل عصاره در پلیت‌ها بسته و تا زمان مصرف در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید.

قبل از شروع آزمایش وزن تمایبی حیوانات اندازه‌گیری شد؛ گروه کنترل نرمال سالین ۰/۹ درصد تزریقی را به میزان ۰/۵ میلی‌لیتر روزانه به مدت یک هفته و به صورت درون صفاقی دریافت کردند و هیچ گونه تیماری روی آنها صورت نگرفت. گروه شاهد داروی تستوسترون انانتانت را به مقدار ۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم روزانه به صورت تزریق زیر جلدی از ناحیه پشت گردن به مدت یک ماه دریافت کردند، گروه ششم روزانه روغن کنجد را به صورت تزریق زیر جلدی از ناحیه پشت گردن دریافت کردند. گروه درمان شده با متفورمین به مدت یک ماه هم‌زمان تستوسترون انانتانت را به مقدار ۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت تزریق زیر جلدی همراه متفورمین ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت خوراکی و از طریق گاواژ دریافت کردند، گروه تیمار ۱ (بیمار + دوز

تعداد فولیکول‌های پیشین و فولیکول‌های اولیه تغییرات معنی‌داری مشاهده نشد ($p < 0/05$). از طرفی، دریافت متفورمین به همراه تستوسترون انانات تغییرات معنی‌داری در میانگین تعداد فولیکول‌های ابتدایی، فولیکول‌های اولیه ایجاد نمود، اما در میانگین تعداد فولیکول‌های رسیده ($p < 0/01$)، جسم زرد ($p < 0/05$) و کیست‌های تخمدانی ($p < 0/01$) نسبت به گروه کنترل ایجاد نمود. در گروه شم هیچ‌گونه تغییرات معنی‌داری نسبت به گروه کنترل در هیچ کدام از گروه‌های مورد آزمون ایجاد نگردید. در گروه تیمار با عصاره میوه عناب با دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در حیوانات مورد آزمایش نسبت به گروه کنترل منجر به تغییرات معنی‌دار در میانگین فولیکول‌های رسیده ($p < 0/01$)، جسم زرد ($p < 0/05$) و کیست فولیکولی ($p < 0/01$) شده است، اما در میانگین تعداد فولیکول‌های پیشین، فولیکول‌های اولیه و فولیکول‌های ثانویه تغییرات معنی‌داری مشاهده نشده است. علاوه بر این، در گروه تیمار با عصاره میوه عناب با دوز ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اختلاف معنی‌داری در میانگین تعداد فولیکول‌های پیشین، اولیه، فولیکول ثانویه و جسم زرد نسبت به گروه کنترل مشاهده نشد. در حالی که در میانگین تعداد فولیکول‌های رسیده و کیست تخمدانی نسبت به گروه کنترل اختلاف معنی‌داری مشاهده گردید ($p < 0/05$). در گروه تیمار با عصاره عناب با دوز ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در حیوانات مورد آزمون هیچ‌گونه اختلاف معنی‌داری در بین گروه‌های مورد نظر نسبت به گروه کنترل مشاهده نشد ($p > 0/05$). نمودارهای ۱ تا ۳ در بررسی‌های انجام شده مشخص گردید که متفورمین

حیوانات به وسیله قرار گرفتن در ظرف دسیکاتور محتوی پنبه آغشته شده به اتر، بیهوش گردیدند. بعد از آن اقدام به جدا کردن نمونه‌های بافت تخمدان‌های حیوانات شد. تخمدان‌های جدا شده هر گروه به طور جداگانه در ظروف حاوی فرمالین ۱۰ درصد جهت پژوهش‌های بافت‌شناسی قرار داده شد. پس از مراحل مختلف مقطع‌گیری بافت تخمدانی، رنگ‌آمیزی به روش هماتوکسیلین-ائوزین صورت گرفت. از هر نمونه گروه‌های مورد آزمون تعداد ۳ لام به طور تصادفی مورد ارزیابی قرار گرفت. در هر لام تعداد ۱۰ میدان میکروسکوپی مورد مطالعه قرار داده و تعداد فولیکول‌های پیشین، فولیکول‌های اولیه، فولیکول‌های ثانویه، فولیکول‌های رسیده، جسم زرد و کیست‌های تخمدانی شمارش و میانگین آنها محاسبه و با یکدیگر مورد مقایسه واقع گردیدند.

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون‌های آماری آنالیز واریانس یک طرفه، کروسکال-والیس، کولموگروف-اسمیرنوف و تست تعقیبی توکی تجزیه و تحلیل شدند.

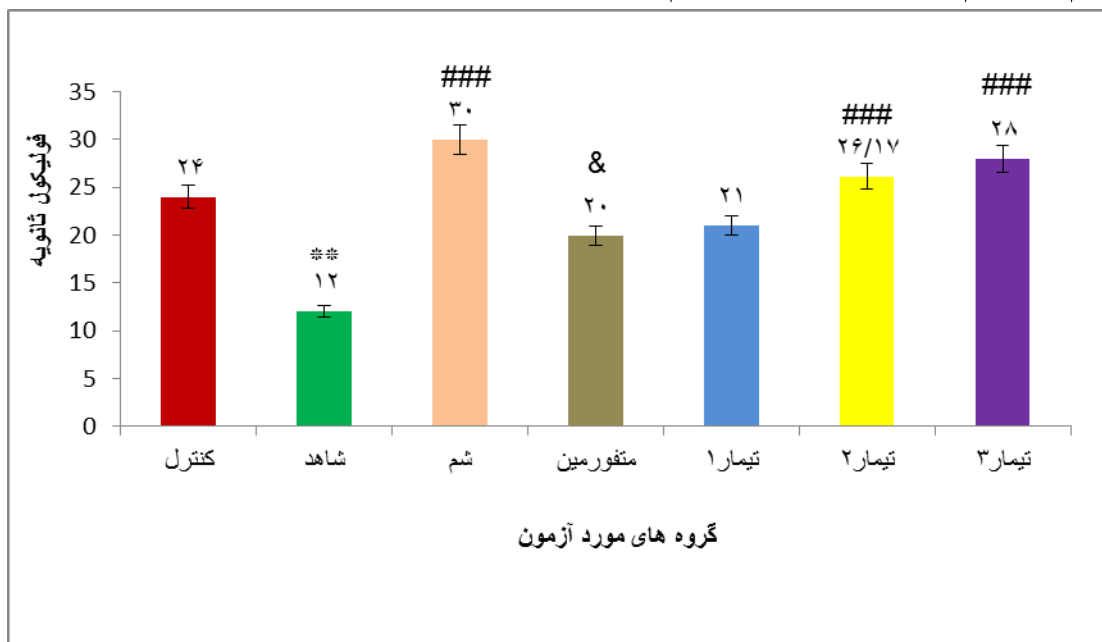
یافته‌ها

با توجه به نتایج به دست آمده در این تحقیق، تجویز تستوسترون انانات در گروه شاهد، موجب کاهش معنی‌داری در میانگین تعداد فولیکول‌های ثانویه ($p < 0/01$)، فولیکول‌های رسیده ($p < 0/001$)، جسم زرد ($p < 0/01$) و کیست فولیکولی ($p < 0/001$) نسبت به گروه کنترل گردید. در حالی که این اثر در میانگین

مورد مطالعه مشاهده نگردید، اما کیست‌هایی فولیکولی نمایان بود (تصویر ۱، B). در گروه درمان شده بامتفورمین تعدادی فولیکول رسیده همراه چندین کیست فولیکولی مشاهده شد که تفاوت چندانی با تعداد کیست‌های موجود در گروه شاهد ندارد (تصویر ۱، C). در گروه تیمار ۱، علاوه بر مشاهده فولیکول‌های رسیده، کیست‌های فولیکولی مشاهده گردید (تصویر ۱، D). در گروه تیمار ۲، تعدادی فولیکول رسیده و جسم زرد مشاهده گردید که نسبت به گروه تیمار ۱ افزایش یافته بود و همچنین کیست‌های فولیکولی نمایان بود که به مراتب از گروه تیمار ۱ کمتر بودند (تصویر ۱، E). در گروه تیمار ۳، فولیکول‌های رسیده همراه با تعداد بسیار اندکی کیست‌های فولیکولی نمایان بود که تعداد فولیکول‌های رسیده به مراتب بیشتر از گروه تیمار ۱ و گروه تیمار ۲ بود (تصویر ۱، F).

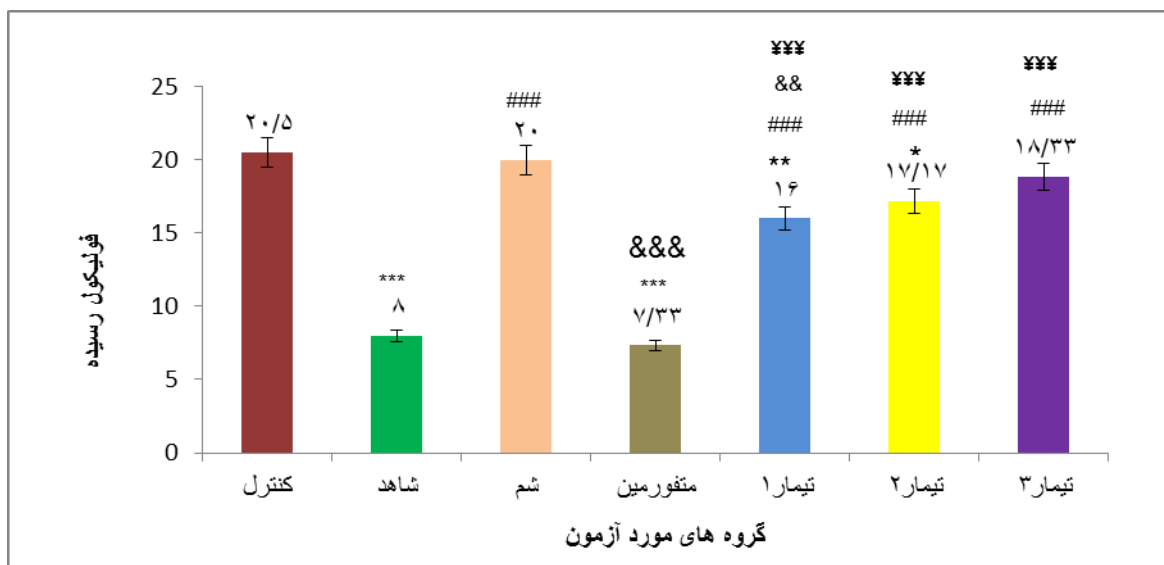
علی‌رغم این که به عنوان داروی انتخابی در درمان تخمدان پلی‌کیستیک مورد استفاده قرار می‌گیرد، ولی تأثیر قابل توجهی در این مطالعه از خود نشان نداد. در حالی که عصاره عناب به مراتب مؤثرتر از آن عمل نموده است.

نمونه‌های بافتی تهیه شده از تخمدان‌های حیوانات مورد آزمون به وسیله میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی 100X مطالعه گردیدند. پژوهش‌های هیستوپاتولوژیک نشان دادند که در گروه کنترل که نرمال سالین ۰/۵ میلی‌لیتر دریافت کرده بودند، بافت تخمدان طبیعی بوده و هیچ‌گونه اثری از شواهد پلی‌کیستیک بودن در تخمدان مشاهده نگردید. همچنین فولیکول‌های رسیده و جسم زرد مشاهده شد (تصویر ۱، A). در گروه شاهد که دریافت کننده تستوسترون انانتات به مقدار ۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود، جسم زرد و فولیکول رسیده در لام‌های



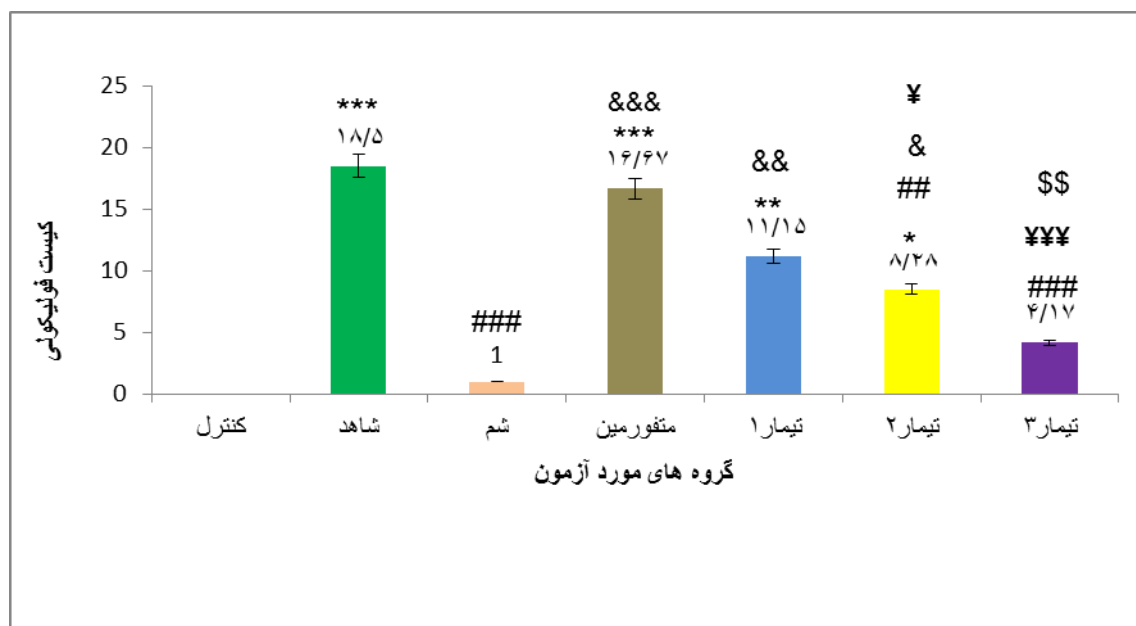
نمودار ۱: مقایسه میانگین فولیکول‌های ثانویه تخمدانی در گروه‌های مختلف مورد آزمون

داده‌ها به صورت Mean±SEM ارائه گردیده‌اند. * بیان گر معنی داری نسبت به گروه کنترل، # بیان گر معنی داری نسبت به گروه شاهد، & بیان گر معنی داری نسبت به گروه شم ($p < 0.01$), (** $p < 0.001$), (### $p < 0.0001$), (& $p < 0.05$).



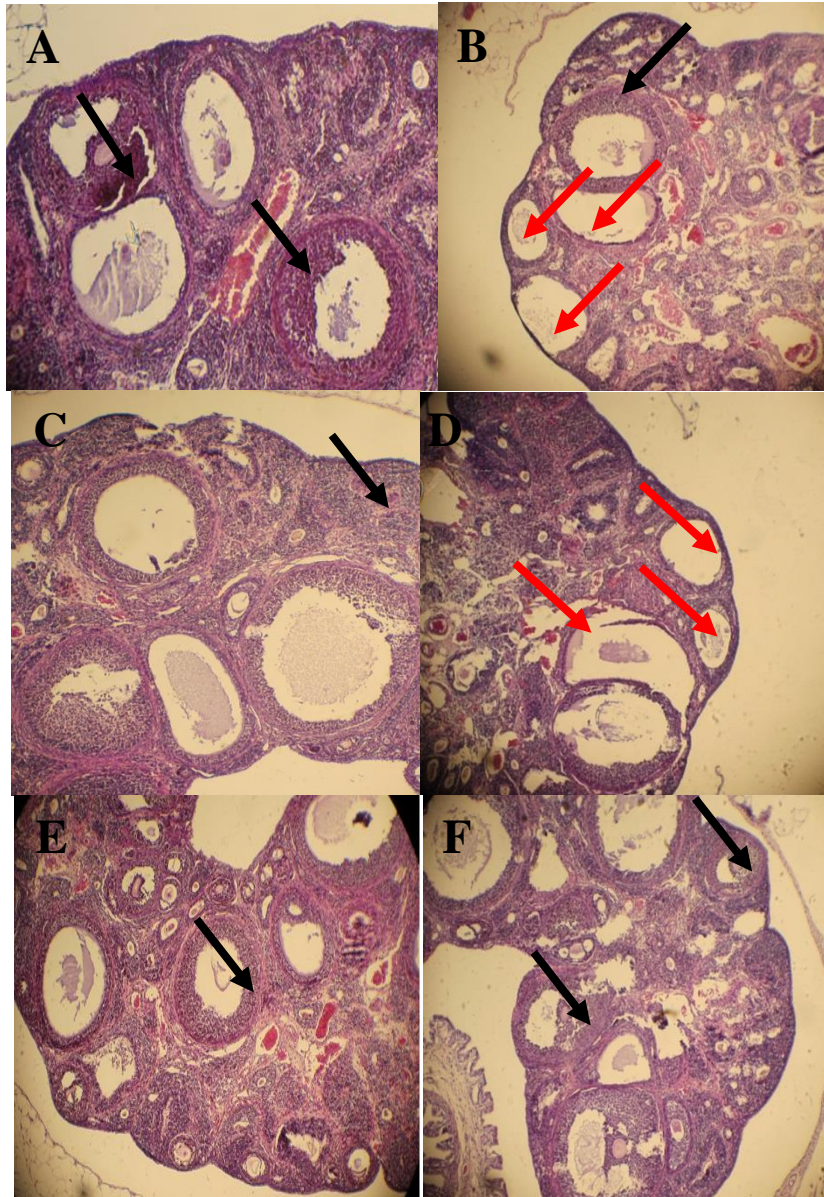
نمودار ۲: مقایسه میانگین فولیکول های رسیده در گروه های مختلف مورد آزمون

داده ها به صورت Mean±SEM ارائه گردیده‌اند. * بیان گر معنی‌داری نسبت به گروه کنترل، # بیان گر معنی‌داری نسبت به گروه شاهد، & بیان گر معنی‌داری نسبت به گروه شم ¥ بیانگر معنی‌داری نسبت به گروه متفورمین (***) (p<0.001)، (**) (p<0.01)، (*) (p<0.05)، (x) (p<0.1)، (y) (p<0.001)، (z) (p<0.001)، (### p<0.001)، (&&& p<0.001)، (&& p<0.01)، (& p<0.05).



نمودار ۳: مقایسه میانگین کیست فولیکولی در گروه های مختلف مورد آزمون

داده‌ها به صورت Mean±SEM ارائه گردیده‌اند. * بیان گر معنی‌داری نسبت به گروه کنترل، # بیان گر معنی‌داری نسبت به گروه شاهد، & بیانگر معنی‌داری نسبت به گروه شم ¥ بیانگر معنی‌داری نسبت به گروه متفورمین، \$ بیانگر معنی‌داری نسبت به گروه تیمار ۱، (***) (p<0.001)، (**) (p<0.01)، (*) (p<0.05)، (x) (p<0.1)، (y) (p<0.001)، (z) (p<0.001)، (### p<0.001)، (&&& p<0.001)، (&& p<0.01)، (& p<0.05)، (\$\$\$ p<0.001)، (\$\$ p<0.01).



تصویر ۱: مقاطع بافت شناسی تهیه شده از تخمدان‌های رت‌های مورد آزمون: A، کنترل: فولیکول‌های رسیده تخمدانی همگی سالم (پیکان‌های سیاه) و بدون کیست می‌باشند. B، شاهد- تخمدان دارای کیست‌های متعدد می‌باشد (پیکان‌های قرمز). C، گروه کنترل مثبت - دریافت کننده متفورمین. بافت تخمدان سالم و بدون کیست هست. D، بیمار ۱- تخمدان دارای کیست می‌باشد (پیکان قرمز). E، بیمار ۲- تخمدان از روند بهبود برخوردار شده و کیست‌ها ناپدید شدند. F، بیمار ۳- کیست‌های تخمدانی از بین رفته و مراحل مختلف تکوین فولیکول‌ها دیده می‌شوند (پیکان سیاه فولیکول‌های ثانویه). رنگ‌آمیزی H&E و بزرگنمایی 100X در نظر گرفته شده است.

بحث

اختلالات آندوکرینی است که حدود ۱۰-۵ درصد از بانوان را در سنین تولید مثل تحت تأثیر قرار می‌دهد و یکی از مهم‌ترین دلایل ناباروری ناشی از عدم تخمک‌گذاری می‌باشد (۱). پژوهش‌های متعدد استفاده

سندرم تخمدان پلی‌کیستیک (PCOS) شایع‌ترین اختلال هورمونی در میان زنان در سنین باروری است. سندرم تخمدان پلی‌کیستیک یکی از مهم‌ترین

موش‌ها می‌شود. در این پژوهش داروی TE منجر به افزایش در مقادیر کیست‌های فولیکولی و فقدان جسم زرد شد، که این نتایج هم‌سو با پژوهش کلهری و همکاران در القای سندرم تخمدان پلی‌کیستیک می‌باشد.

مطالعات اخیر نشان می‌دهند مکانیسمی که تستوسترون موجب ایجاد تخمدان پلی‌کیستیک می‌شود از طریق مهار بیان مولکول‌هایی در اووسیت است که به موجب آن باعث توقف رشد فولیکولی می‌شود. نتایج پژوهش‌ها نشان می‌دهد که تستوسترون با تحریک فسفریلاسیون و حذف هسته‌ای Foxo3a و افزایش فعال‌سازی مسیر PI3-K / Akt سبب تقویت فولیکول‌های اولیه می‌شود و همچنین سبب کاهش بیان GDF9 می‌گردد، در نتیجه مانع پیشرفت فولیکول‌های اولیه به ثانویه می‌شود. این یافته‌ها می‌تواند به پاتورن‌زهیپرپلازی فولیکولار در PCOS کمک کند (۲۳). استفاده از عصاره‌های آبی و الکی گیاهان مختلف می‌تواند اثرات تخمدان پلی‌کیستیک تخمدان را کاهش داده و باعث بهبود بافت تخمدان شوند. گیاهان دارای ترکیبات ضدالتهابی، اثرات سوء دیابتی و خواص آنتی‌اکسیدانی می‌توانند از طریق فعالیت آنتی‌اکسیدانی خود باعث حفظ رشد و پایداری بافت‌های تخمدانی شود. نتایج پژوهش‌ها نشان می‌دهد داروهای گیاهی با خواص آنتی‌اکسیدانی نقش نوید بخش در درمان PCOS دارند، اثرات آنها ثابت و پایدار است، ایمنی بدن را افزایش می‌دهند و چرخه قاعدگی را بدون نوسان و تغییر هورمون‌ها تنظیم می‌کنند (۳۴). از جمله گیاهان با

از گیاهان دارویی در طول زمان‌های طولانی، نشان داده است که آنها دارای اثرات بارز در پیشگیری و یا درمان برخی بیماری‌های مختلف می‌باشند (۱۵). از جمله گیاهان دارویی که امروزه به دلیل خواص بی‌شمارش توجه بسیاری از محققان و پژوهشگران را به خود جلب کرده، عناب می‌باشد که بیشتر از میوه آن جهت درمان برخی از بیماری‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد. هدف از این مطالعه تعیین و اثر عصاره هیدروالکی میوه عناب (*Zizyphus jujube* L.) در موش‌های صحرایی مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک می‌باشد.

برای القای فنوتیپ تخمدان پلی‌کیستیک (PCOS) از روش‌های هورمونی و غیرهورمونی متنوعی از قبیل؛ لتروزول، دهیدرواپی آندروسترون، استرادیول والرات و تستوسترون پروپیونات می‌توان استفاده نمود (۲۹). در پژوهش‌هایی از تستوسترون پروپیونات برای القاء PCOS در موش‌های صحرایی استفاده گردید. آنالیز بافت‌شناسی برش‌های تخمدانی نمونه‌های تیمار شده به وضوح وجود فولیکول‌های کیستیک را نشان داده است (۳۰ و ۳۱). لتروزول یک مهار کننده آروماتاز غیراستروئیدی است که توانایی زیادی در مهار آنزیم آروماتاز دارد، کاهش آنزیم آروماتاز سبب اختلال در سنتز استروژن‌ها در بافت تخمدان شده و در نهایت سبب القای تخمدان پلی‌کیستیک می‌گردد (۳۲).

نتایج پژوهش حاضر نشان داد تستوسترون انانتانت (TE)، منجر به بروز کیست‌های فولیکولی در

قوی و ضد التهابی آن می‌باشد (۴۰ و ۲۷). میوه عناب می‌تواند از طریق مهار بیان نیتریک اکساید در کاهش التهاب حاد و مزمن موثر باشد (۴۱). شواهد نشان می‌دهد آسکوربیک اسید موجود در عصاره گیاه فراسیون سفید، فعالیت آروماتاز را در میکروزومی جفت انسان کاهش می‌دهد و احتمالاً از این طریق سبب کاهش غلظت استرادیول در مبتلایان PCOS می‌شوند (۲۳). چنین انتظار می‌رود عصاره عناب به دلیل دارا بودن آسکوربیک اسید از طریق همین مکانیسم سبب کاهش استرادیول و در نتیجه تخفیف سندرم تخمدان پلی‌کیستیک بشود. یافته‌ها نشان می‌دهد کروسین موجود در زعفران دارای خواص آنتی‌اکسیدانی می‌باشد که با مهار استرس اکسیداتیو سبب کاهش فولیکول‌های کیستیک و افزایش فولیکول‌های سالم و جسم زرد در نتیجه کاهش بیان TNF- α می‌شود (۴۲). احتمالاً کروسین با داشتن اثراتی شبیه هورمون‌های استروئیدی از طریق اتصال به گیرنده‌های آنها بر میزان هورمون‌های جنسی اثر گذاشته و با این مکانیسم باعث بهبود وضعیت فولیکول‌های تخمدان شده است (۲۴). با توجه به این که ساختار شیمیایی کروسین، هسته مرکزی کروسین را تشکیل می‌دهد و عصاره عناب دارای کروسین می‌باشد، انتظار می‌رود عصاره عناب با چنین مکانیسمی سبب بهبود وضعیت فولیکول تخمدانی در PCOS شود. کروسین و کروسین دارای خواص آنتی‌اکسیدانی هستند و قابلیت از بین بردن رادیکال‌های آزاد را دارند و می‌توانند منجر به کاهش قابل ملاحظه

خواص دارویی گیاه عناب می‌باشد. از قدیم‌الایام از میوه این گیاه جهت درمان برخی بیماری‌ها استفاده می‌شده است. ترکیبات منحصر به فرد موجود در میوه عناب شامل؛ فلاونوئیدها، استروئیدها، ترکیبات فنلی، تریپنوئیدها، اپی کاتچین، اسیدهای چرب، ویتامین C، A و سیکلوپیتیدها هستند که اثرات ضد درد و ضد التهابی آن‌ها در محیط آزمایشگاه ثابت شده است (۳۵). اطلاعات نشان می‌دهد Zizyphus Jujube دارای فعالیت سیتوتوکسیک در سطوح مختلف سلول‌های توموری است و دارای اثرات مهار بر خطوط سلولی HeLa، Hep-2 و Jurkat می‌باشد (۳۶). همچنین این میوه، توانایی ایجاد آپوپتوز در سلول‌های کارسینومی T انسان را دارد (۳۷).

ویتامین C، E، A، کاروتنوئیدها و مواد معدنی خاص مانند روی و سلنیوم موجود در میوه عناب دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشند که با خنثی کردن اثرات رادیکال‌های آزاد در روند کاهش التهاب و درد نقش دارند (۳۸). پژوهش‌ها نشان می‌دهد عصاره عناب با دارا بودن اسیدهای چرب باعث افزایش سنتز کلاژن می‌شوند و با افزایش سطح اینترلوکین - ۶، بهبود زخم را در سوختگی تسریع می‌بخشد، در نتیجه می‌تواند دارای خاصیت ضد التهابی باشد (۳۹).

در مطالعه حاضر، عصاره عناب سبب کاهش کیست‌های فولیکولی در رت‌های مبتلا به PCOS شد. آسکوربیک اسید و فلاونوئیدها از جمله مهم‌ترین ترکیب‌های اسانس عناب می‌باشند. وجود این ترکیب‌ها در اسانس عناب، دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی بسیار

با خاصیت آنتی‌اکسیدانی در شیرین بیان، می‌تواند سبب کاهش استرس اکسیداتیو در بافت تخمدان شود و تعداد فولیکول‌های کیستیک را در مبتلایان به تخمدان پلی‌کیستیک را به طور معنی‌داری کاهش دهد (۱۹). با توجه به وجود ترکیبات فلاونوئیدی از جمله؛ کاتچین و کورستین در عصاره عناب و بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی آن در استرس اکسیداتیو کبد و کلیه، چنین انتظار می‌رود که عصاره عناب می‌تواند سبب کاهش کیست‌های فولیکولی در PCOS شود. به نظر می‌رسد که کاهش استرس اکسیداتیو با تجویز آنتی - اکسیدان‌ها می‌تواند سبب کاهش اثرات بالقوه مخرب رادیکال‌های آزاد اکسیژن و در نتیجه افزایش تعداد و کیفیت اووسیت‌ها و فولیکول‌ها و همچنین مهار آپوپتوز فولیکول‌های تخمدان در این افراد شود (۴۶).

در مطالعه‌ای که روی گیاه رازیانه انجام شد نتایج نشان داد که اسید پالمیتیک و β -سیسترون موجود در این گیاه دارای خاصیت آنتی‌آندروژنیک است (۴۷). احتمالاً این دو ترکیب نیز خاصیت آنتی‌آندروژنیک خود را از طریق مهار تشکیل کمپلکس گیرنده - دی‌هیدروتستوسترون اعمال کنند و باعث کاهش هورمون تستوسترون گردند (۴۸). این انتظار می‌رود که عصاره عناب به دلیل دارا بودن اسید پالمیتیک، می‌تواند اثر ضدآندروژنی اعمال کند و سبب بهبود وضعیت فولیکول‌های تخمدانی در PCOS شود. یافته‌ها حاکی از آن است که ویتامین C اولین آنتی‌اکسیدان محلول در آب موجود در بدن انسان است که رادیکال‌های آزاد را از بین می‌برد و از آسیب‌های

آسیب‌های اکسیداتیو در بافت‌های ایسکمیک شوند (۴۲). مطالعات نشان می‌دهد که گیاه گلپر به دلیل داشتن فیتوسترول باعث کاهش حساسیت بافت‌ها به آندروژن و کاهش فعالیت آندروژن‌ها به خصوص از طریق مهار آنزیم‌های آروماتاز و ۵ - آلفا‌ردوکتاز می‌شوند. همچنین فیتوسترول‌ها از طریق کاهش کلسترول باعث کاهش پیش‌سازهای تستوسترون می‌شوند (۴۳). با توجه به وجود فیتوسترول در عصاره عناب، می‌توان بخشی از دلایل کاهش کیست فولیکولی را به این ترکیب نسبت داد. فیتواسترول‌ها موادی هستند که به طور طبیعی در گیاهان وجود دارند، ترکیباتی مشابه کلسترول هستند که می‌توانند در جذب کلسترول اختلال ایجاد کنند و میزان کلسترول بد خون و تری‌گلیسریدها را کاهش دهند و همچنین در کاهش سنتز هورمون‌های آندروژن و به ویژه تستوسترون نقش داشته باشند و اثر آنتی‌آندروژنی اعمال نمایند (۴۴). در بررسی‌ها مشخص گردید که عصاره شوید دارای ترکیبات فلاونوئیدی همچون کامپفرول است. پژوهش‌ها نشان داده‌اند که کامپفرول خاصیت فیتواسترورژنی داشته و می‌تواند فعالیت استروژنیک را تحت تأثیر قرار دهد. ترکیبات فیتواسترورژنی موجود در عصاره شوید سبب کاهش استروژن و افزایش غیرمعنی‌دار پروژسترون می‌شود (۴۵). با استناد به این که میوه عناب دارای مقادیری از کامپفرول می‌باشد (۲۸)، چنین انتظار می‌رود که عصاره عناب از این مکانیسم سبب بهبود سندرم تخمدان پلی‌کیستیک شود. ترکیبات فلاونوئیدی

بررسی قرار گیرد. علاوه بر آن، پیشنهاد می‌گردد که اثرات پیشگیری کننده عصاره عناب نیز مورد نظر قرار داده گیرد.

نتیجه‌گیری

مشاهدات تحقیق حاضر، نشان دهنده آن است که عصاره هیدرو الکلی میوه عناب در القای سندرم تخمدان پلی‌کیستیک ناشی از TE نقش محافظتی دارد و به صورت معنی‌داری شاخص‌های آسیب بافتی را بهبود می‌بخشد. عصاره میوه عناب به دلیل ترکیبات شیمیایی خاص و احتمالاً با توجه به بالا بودن فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن و با مهار بر هم‌کنش‌های شیمیایی رادیکال‌های آزاد و خاصیت ضدآندروژنی، می‌تواند اثر حفاظت‌کنندگی خود را در تخمدان اعمال نماید. عصاره عناب در حالت درمان نسبت به عمل پیشگیری بیشترین اثر را می‌تواند بر روی بهبود سندرم پلی‌کیستیک داشته باشد.

تقدیر و تشکر

این مقاله حاصل پایان نامه دانشجویی مقطع کارشناسی ارشد رشته فیزیولوژی جانوری با کد اخلاق ۲۴۰۴۸۰۴ دانشگاه بوعلی سینا می‌باشد، که با حمایت مالی این دانشگاه انجام شد، همچنین از معصومه مستقیمی کارشناس آزمایشگاه پاتولوژی و بافت‌شناسی بیمارستان تأمین اجتماعی همدان بابت تهیه لام‌های میکروسکوپی صمیمانه تشکر و قدردانی نمایم.

درون و برون سلولی جلوگیری می‌کند (۴۹). با استناد به این که عصاره عناب غنی از ویتامین C می‌باشد، این انتظار می‌رود که می‌تواند با مهار برهم‌کنش رادیکال‌های آزاد، دارای اثر حفاظتی بر سندرم تخمدان پلی‌کیستیک داشته باشد. در مطالعاتی مشاهده گردید که ژل تهیه شده از برگ گیاه آلوئه‌ورا (۲۱) و عصاره گل گیاه نارگیل (۵۰)، که حاوی ترکیبات فلاونوئیدی هستند، باعث کاهش کلسترول و تری‌گلیسرید در سندرم تخمدان پلی‌کیستیک می‌شوند، عصاره عناب هم به دلیل دارا بودن ترکیبات فلاونوئیدی، می‌تواند باعث کاهش کلسترول و تری‌گلیسرید در PCOS شود.

این مطالعه علمی‌رغم وجود برخی محدودیت‌های تورش (زمانی و به خصوص کمبود اعتبارات مالی که از مهم‌ترین عوامل بازدارندگی تورش بود)، توانست بیانگر این واقعیت باشد که عصاره میوه عناب قادر است با روند پیشرفت تخمدان پلی‌کیستیک در موش‌های ماده که به وسیله دارویی آندروژنیک ایجاد شده است مقابله نموده و تا حدود زیادی از آن جلوگیری نماید. امیدوار هستیم که با رفع موانع یاد شده مطالعه حاضر را در برخی موارد دیگر مرتبط با این سندرم مورد مطالعه و بررسی دقیق‌تر قرار دهیم. در پایان جهت بررسی جامع‌تر در این ناهنجاری پیشنهاد می‌گردد که از دوزهای مختلف عصاره عناب نیز استفاده گردد. همچنین در موش‌های با سنین مختلف (به جز سنی که در این مطالعه انجام شد) نیز که به سندرم پلی‌کیستیک مبتلا شده‌اند مورد

REFERENCES

1. Tavasoli F, Sharifian Attar J. Effects of metformin on ovarian polycystic syndrome. The Iranian Journal of Obstetric, Gynecology and Infertility 2002; 5(11-12): 89-98.
2. Balen AH, Conway GS, Kaltsas G, Techatrasak K, Manning PJ, West C, et al. Polycystic ovarian syndrome: the spectrum of the disorder in 1741 patients. Hum Reprod 1995; 10: 2705-12.
3. Ross E, Fortin C. Ovarian cysts. Cleveland clinic; Center for Continuing Education. USA: Richmond Road, TR204; 2016; OH 44124.
4. Pietro M, Parborella F, Irusta G, Pascuali N, Bas D, Bianchi M, et al. Metformin regulates ovarian angiogenesis and follicular development in a female polycystic ovary syndrome rat model. Endocrinology 2015; 156(4): 1453-63.
5. Hughesden PE. Morphology and morphogenesis of the stein-leventhal ovary and of so-called hyperthecosis. Review Obstet Gynaecol Surv 1982; 37: 59-77.
6. Sampaolo P, Livien C, Montanan L. Precocious signs of polycystic ovaries in obese girls. Ultrasound Obstet Gynaecol 1994; 4: 1-6.
7. Gharani N, Waterworth DM, Batty S. Association of the steroid synthesis gene CYP11a with polycystic ovary syndrome and hyperandrogenism. Hum Mol Genet 1997; 6: 397-402.
8. Urbanek M, Legro RS, Driscoll DA, Azziz R, Ehrmann DA, Norman RJ, et al. Thirty-seven candidate genes for polycystic ovary syndrome: strongest evidence for linkage is with follistatin. Proc Natl Acad Sci USA 1999; 96(15): 8573-8.
9. Homburg R. Polycystic ovary syndrome from gynaecological curiosity to multisystem endocrinopathy. Hum Reprod 1996; 11: 29-39.
10. Marx TL, Mehta AE. Polycystic ovary syndrome: pathogenesis and treatment over the short and long term. Cleveland Clinic Journal of Medicine 2003; 70(1): 31-3.
11. Flier JS, Eastman RC, Minaker KL, Matteson D, Rowe JW. Acanthosis nigricans in obese women with hyperandrogenism: characterization of an insulin-resistant state distinct from the type A and B syndromes. Diabetes 1985; 34(2): 101-7.
12. Stephens TW, Basinski M, Bristow PK, Bue-Valleskey JM, Burgett SG, Craft L, et al. The role of neuropeptide Y in the antiobesity action of the obese gene product. Nature 1995; 377: 530-2.
13. Stamets K, Taylor DS, Kunselman A, Demers LM, Pelkman CL, Legro RS. A randomized trial of the effects of two types of short-term hypocaloric diets on weight loss in women with polycystic ovary syndrome. Fertil Steril 2004; 81: 630-7.
14. Kalhori Z, Azadbakht M, Soleimani Mehranjani M, Shariatzadeh MA. Improvement of the folliculogenesis by transplantation of bone marrow mesenchymal stromal cells in mice with induced polycystic ovary syndrome. Cytotherapy 2018; 20(12): 1445-58.
15. Moattar F. Phytotherapy benefits. Journal of Advanced Medicinal Plants 2019; 3: 8-9.
16. Jelodar GH. Kobra Askari 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 2017; 156(24): 42-8.
17. Jelodar GA, Karami F. Effect of hydroalcoholic extract of *Vitex agnus-castus* fruit on ovarian histologic in rat with induced polycystic ovary syndrome. J Babol Univ Med Sci 2013; 15(3): 96-102.
18. Barazesh F, Mirzaei A, Abbasian Z, Ghavami Zadeh M. The effect of hydroalcoholic extract of glycyrrhizaglabra L. (licorice) root on serum level of glucose, triglyceride and cholesterol in polycystic ovary syndrome induced by letrozole in Rats. Armaghane-danesh, Yasuj University of Original Article Medical Sciences Journal(YUMSJ) 2016; 21(2): 148-59.
19. Yilmaz N, Inal HA, Gorkem U, Sargin Oruc A, Yilmaz S, Turkmani A. Follicular fluid total antioxidant capacity levels in PCOS. J Obstet Gynaecol 2016; 36(5): 654-7.
20. Barazesh F, Mirzaei A, Abbasian Z, Ghavami Zadeh M. The effect of hydroalcoholic extract of glycyrrhizaglabra L. (licorice) root on serum level of glucose, triglyceride and cholesterol in polycystic ovary syndrome induced by letrozole in Rats. Armaghane-danesh 2016; 21(1): 148-59.
21. Desai BN, Maharjan RH, Nampoothiri LP, Aloe barbadensis M. Formulation restores lipid profile to normal in a letrozole-induced polycystic ovarian syndrome rat model. Pharmacognosy Research 2012; 4(2): 109-15.
22. Kalaivanam K, Dharmalingam M, Marcus SR. Lipid peroxidation in type 2 diabetes mellitus. Int J Diab Dev Ctries 2006; 26: 30-2.
23. Mokhtari M, Ebrahimpour MR, Harfsheno S. Effect of *Marrubium Vulgare* L. hydroethanolic extract on hormonal parameters in ovarian polycystic syndrome of adult female rats. Journal of Medical Sciences of Islamic Azad University 2015; 24(2): 74-80.

24. Sadoughi SD. Effects of crocin on ovarian follicle and serum sex hormone in letrozole-induced polycystic ovarian syndrome in rat model. *Journal of Ardabil University of Medical Sciences* 2017; 17(2): 198-210.
25. Daneshmand F. Extraction and purification of new *Ziziphus jujube's* antibacterial peptide. *Cellular and Molecular Journal of Tehran University of Payam –e Noor* 2015; 27(2): 211-23.
26. Wang S, Zhang J, Zhang Z, Gao W, Yan Y, Xia Li, et al. Identification of chemical constituents in the extract and rat serum from *Ziziphus Jujuba* mill by HPLC-PDA-ESI-MSn. *Iran J Pharm Res* 2014; 13(3): 1055–63.
27. Tahergorabi Z, Abedini MR, Mitra M, Hassanpour Fard M, Beydokhti H. *Ziziphus jujuba*: A red fruit with promising anticancer activities. *Pharmacognosy Review* 2015; 9(18): 99-106.
28. Choi CH, Ahn JB, Kozukue N, Levin C. Distribution of Free Amino Acids, Flavonoids, Total Phenolics, and Antioxidative Activities of Jujube (*Ziziphus jujuba*) Fruits and Seeds Harvested from Plants Grown in Korea. *Food Chem* 2011; 59(12): 6594–604.
29. Kalhori Z, Azadbakht M, Bazdar A, Zeinali H. Polycystic ovary induction in mouse by testosterone enanthate. *Journal of Fasa University of Medical Sciences* 2013; 3(4): 387-91.
30. Beloosesky R, Gold R, Almog B, Sasson R, Dantes A, Land-Bracha A, et al. Induction of polycystic ovary by testosterone in immature female rate: Modulation of apoptosis and attenuation of glucose/insulin ratio. *Int J Mol Med* 2004; 14(2): 207-15.
31. Jannesari ladani F, Hossein G, Jarooghi N, Sepehri H, Zeinali B. Immunohistochemical analysis and role of secreted frizzled-related protein-4 in polycystic ovary-induced Rat. *Cell J* 2009; 10(4): 242-9.
32. Elizabeth M, Leslie NS, Critch EA. Managing polycystic ovary syndrome: a cognitive behavioral strategy. *Nursing for Women's Health* 2009;13(4): 292-300.
33. Yang JL, Zhang CP, Li L, Huang L, Ji SY, Lu CL, et al. Testosterone induces redistribution of Forkhead Box-3a and down-regulation of growth and differentiation factor9 messenger ribonucleic acid expression at early stage of mouse folliculogenesis. *Endocrinology* 2010; 151(2): 774–82.
34. Nagarathna PKM, Preethy R, Rajan R. A detailed study on polycystic ovarian syndrome and its treatment with natural products, review article. *International Journal of Toxicological and Pharmacological Research* 2013; 145(4): 109-20.
35. Mahajan RT, Chopda M. Phyto-pharmacology of *Ziziphus jujuba* mill-a plant review. *Pharmacog Rev* 2009; 3(6): 320-9.
36. Vahedi F, Fathi Najafi M, Bozari K. Evaluation of inhibitory effect and apoptosis induction of *Zyzyphus Jujube* on tumor cell lines, an in vitro preliminary study. *Cytotechnology* 2008; 56(2): 105–11.
37. Ogbourne SM, Suhrbier A, Jones B, Cozzi SJ, Boyle GM, Morris M, et al. Antitumor activity of 3-ingenyl angelate: plasma membrane and mitochondrial disruption and necrotic cell death. *Cancer Res* 2004; 64(8): 2833-9.
38. Lopes Lda S, Marques RB, Fernandes HB, Pereira Sda S, Ayres MC, Chaves MH, et al. Mechanisms of the antinociceptive action of epicatechin obtained from the hydroalcoholic fraction of *Combretum leprosum* Mart, Eicin rodents. *J Biomed Sci* 2012; 19: 68.
39. Lima CC, Pereira AP, Silva JR, Oliveira LS, Resck MC, Grechi CO, et al. Ascorbic acid for the healing of skin wounds in rats. *Braz J Biol* 2009; 69(4):1195–201.
40. Sedigheh Asgary S, Rafieian-kopaei M, Goli-malekabadi N. The effects of Jujube Fruit (*Ziziphus vulgaris*) powder in antioxidant capacity elevation and prevent of inflammation detection due to diabetes in Wistar rat. *Journal of Ilam University* 2016; 24(5): 55-64.
41. Goyal R, Sharma PL, Singh M. Possible attenuation of nitric oxide expression in anti-inflammatory effect of *Ziziphus jujuba* in rat. *J Natural Med* 2011; 65; 514-8.
42. Vakili A, Eianali MR, Bandegi AR. The protective effects of Saffron against the oxidative damage in a transient model of focal cerebral ischemia in rats. *Tehran Univ Med J* 2011; 69(7): 405-12.
43. Alizadeh F, Azarnia M, Mirabolghasemi G, Karampoor P. Effect of fruit *Heracleum persicum* extract on changes in serum levels of sex hormones in rats with polycystic ovary syndrome (PCOS). *Armaghane-danesh(YUMSJ)* 2015; 20(1): 31-42.
44. Sugano M, Kamao F, Ikeda I, Morik H. Lipid-Lowering of phytostands in rats. *Atherosclerosis* 1976; 24: 301-39.

45. Monsefi MA, Gerami FR. Check if Anethum graveolens seed aqueous fraction of terminal sugars on membrane structures on fertility and reproductive system of female rats. Journal of Birjand University of Medical Sciences 2011; 19(4): 362-375.
46. Liu J, Liu M, Ye X, Liu K, Huang J, Wang L, et al. Delay in oocyte aging in mice by the antioxidant N-acetyl-L-cysteine (NAC). Human Reproduction 2012; 27(5): 1411– 20.
47. Choi EM, Hwang JK. Antiinflammatory, analgesic and antioxidant activities of the fruit of Foeniculum vulgare. Fitoterapia 2004; 75(6): 557-65.
48. Karampoor P, Azarnia M, Mirabolghasemi G, Alizadeh F. The Effect of hydroalcoholic extract of Fennel (*Foeniculum vulgare*) seed on serum levels of sexual hormones in female Wistar rats with polycystic ovarian syndrome(PCOS). Arak Medical University Journal(AMUJ) 2014; 17(86): 70-8.
49. Yousef MI, Awad TI, Elhag FA, Khaled FA. Study of the protective effect of ascorbic acid against the toxicity of stannous chloride on oxidative damage, antioxidant enzymes and biochemical parameters in rabbits. Toxicology 2007; 235: 194-202.
50. Soumya V, Muzib YI, Venkatesh P, Hariprasath K. GC-MS analysis of Cocus nucifera flower extract and its effects on heterogeneous symptoms of polycystic ovarian disease in female Wistar rats. Chinese Journal of Natural Medicines 2014; 12(9): 677-84.

Effect of Hydroalcoholic Extract of Jujube Fruit (*Zizyphus jujube L.*) in Rats with Polycystic Ovary Syndrome

Mirazi N^{1*}, Shamekhi Rajabpoor S¹, Izadi Z²

¹Department of Biology, Bu-Ali Sina university, Hamedan, Iran, ²Department of Horticulture, University of Nahavand, Nahavand, Iran.

Received: 09 Marc 2019 Accepted: 11 June 2019

Abstract

Background & aim: Polycystic ovary syndrome is one of the most important endocrine disorders affecting about 5-10% of women in reproductive age. Some herbs are able to prevent or inhibit the development of syndrome. The aim of this study was to determine and effect of hydroalcoholic extract *Zizyphus jujube L.* fruit's in rats with polycystic ovary syndrome.

Methods: In the present experimental study, 42 immature female Wistar rats, aged 3-4 weeks, weighing 50-70 g were obtained from the Animal Husbandry Center of Hamadan University of Medical Sciences. The rats were randomly divided into seven equal groups; Treated with metformin and treatment 1, 2 and 3 were randomly divided. Control group received 0.5 ml of normal saline intraperitoneally. The control group received 250 mg / kg testosterone enanthate dissolved in sesame oil in a subcutaneous injection in the back of the neck. The sham group received 0.5 ml of sesame oil in subcutaneous injection. The metformin-treated group received 250 mg / kg subcutaneous testosterone enantate plus metformin 500 mg / kg by gavage. Treatment groups 1 and 2 received 250 mg / kg testosterone enantate and jujube hydroalcoholic extract at doses of 400 and 800 mg / kg, respectively, for one month. Treatment group 3 received testosterone enantate for 4 weeks and after 4 weeks, they received intraperitoneal injection of jujube extract at a dose of 800 mg / kg for one week. At the end of the experiments, the animals were first anesthetized with ether and tissue samples of the ovaries were prepared for histological examination and H&E staining. Collected data were analyzed using one-way ANOVA, Kruskal-Wallis, Kolmogorov-Smirnov and Tukey post hoc tests.

Results: The results of the present study indicated that testosterone enanthate produced polycystic follicle in rat's ovary. A significant decrease was seen in polycystic ovary in treatment groups with ZHE compared with the witness group ($P < 0.001$).

Conclusion: *Zizyphus jujube L.* is likely improved the polycystic ovary syndrome due to its specific chemicals and compounds such as ascorbic acid, flavonoids, vitamins A and C and calcium

Keywords: *Zizyphus jujube*, Testosterone Enanthate, Polycystic Ovary, Rat

Corresponding author: Mirazi N, Department of Biology, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran
Email: mirazi205@gmail.com

Please cite this article as follows:

Mirazi N, Shamekhi Rajabpoor S, Izadi Z. Effect of Hydroalcoholic Extract of Jujube Fruit (*Zizyphus jujube L.*) in Rats with Polycystic Ovary Syndrome. Armaghane-danesh 2020; 24(5): 746-762