بررسی اثر عصاره کالیگونوم کوموسوم (Calligonum Comosum) بر بافت تخمدان موش مدل تخمدان پلی‌کیستیک

لیلا امینی[۱]، نجمه تهرانیان[۲*]، منصوره موحدین[۳]، فهیمه رمضانی تهرانی[۴]

۱. دانشجوی دکتری، گروه مامایی و بهداشت باروری، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
۲. استادیار، گروه مامایی و بهداشت باروری، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
۳. استاد، گروه علوم تشریح، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
۴. استاد، مرکز تحقیقات اندوکرینولوژی تولید مثل، پژوهشکده علوم غدد درون‌ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

*آدرس مکاتبه: تهران، بزرگراه جلال آل آحمد، دانشگاه تربیت مدرس، صندوق‌پستی: ۱۴۱۱۵ - ۱۱۱
تلفن: ۸۲۸۸۳۵۸۹ (۰۲۱)
پست الکترونیک: tehranian@modares.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۳/۱۲/۱۱ **تاریخ تصویب:** ۹۴/۳/۱۰

چکیده

مقدمه: سندرم تخمدان پلی‌کیستیک یکی از وضعیت‌هایی است که سبب افزایش استرس اکسیداتیو در بیماران می‌شود. این وضعیت سبب شده که درمان‌های آنتی‌اکسیدانی در این بیماران مورد توجه قرار گیرند. گیاه کالیگونوم کوموسوم (Calligonum Comosum) از جمله گیاهان دارای خواص آنتی‌اکسیدانی می‌باشد.

هدف: این مطالعه با هدف بررسی تأثیر عصاره گیاه کالیگونوم کوموسوم بر مورفولوژی تخمدان موش مدل تخمدان پلی‌کیستیک (PCO) انجام شد.

روش بررسی: در این مطالعه ۳۲ سر موش سوری ماده نژاد NMRI با سن ۸ هفته و وزن تقریبی ۳۰ - ۲۵ گرم مورد مطالعه قرار گرفتند. موش‌ها به شکل تصادفی در دو گروه مداخله و شاهد قرار گرفتند. برای مدل‌سازی از تزریق عضلانی تک دوز استرادیول والرات به میزان ۴۰ میلی‌گرم در کیلوگرم استفاده شد. ۸ هفته بعد و پس از اثبات مدل شدن موش‌ها، ۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره گیاه کالیگونوم هفتگی به شکل داخل صفاقی به مدت ۴ هفته تزریق شد. گروه شم تنها حلال DMSO را دریافت کردند. در پایان هفته چهارم، تخمدان موش‌های دو گروه جهت مطالعات بافت‌شناسی خارج و همچنین نمونه خونی آنها از جهت بررسی‌های هورمونی (LH, FSH, AMH) مورد مطالعه قرار گرفتند.

نتایج: نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که تجویز دوز ۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم کالیگونوم تأثیری در اصلاح وضعیت بافتی تخمدان موش‌های مدل تخمدان پلی‌کیستیک نداشته و موجب کاهش معنی‌دار فولیکول‌های آترتیک و یا افزایش معنی‌دار فولیکول‌های پره اوولیتوری و جسم زرد نمی‌شود.

نتیجه‌گیری: عدم تأثیر دوز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کالیگونوم بر بهبود نمای تخمدان پلی‌کیستیک موش ماده، لزوم بررسی تأثیرات دوزهای دیگر گیاه و یا آثار سوء احتمالی این گیاه بر وضعیت باروری را ایجاب می‌نماید.

گل‌واژگان: کالیگونوم، اسکنبیل، سندرم تخمدان پلی‌کیستیک، مدل حیوانی تخمدان پلی‌کیستیک

مقدمه

سندرم تخمدان پلی‌کیستیک (PCOS) یکی از شایع‌ترین اختلالات آندوکرینی زنان بوده [۱] و از جمله موارد پیچیده‌ای است که علی‌رغم پیشرفت سریعی که در تحقیقات پیرامون آن وجود داشته است، هنوز هم به عنوان یکی از چالش‌های مهم محققین، پزشکان، مراقبت‌دهندگان بهداشتی و سیاستگذاران امر سلامت مطرح است [۲]. شیوع این سندرم در سراسر جهان متفاوت و از ۴ تا ۲۶ درصد و در ایران نیز از ۱۵/۲ – ۱۴/۸ درصد در بین بزرگسالان متفاوت گزارش شده است [۴، ۳]. مبتلایان به PCOS عموماً دارای تخمدان‌های بزرگ با استرومای هایپرتروفیک می‌باشند. این افراد به علت اختلال در روند رشد و نمو و آترزی فولیکول‌ها، علی‌رغم دارا بودن تعداد زیاد فولیکول، تخمک‌گذاری ندارند [۵]. به هر حال مدارک مستدلی هست که نشان می‌دهد که شدت بروز علایم در PCOS تحت تأثیر تعداد فولیکول‌های کوچک موجود در تخمدان‌ها بوده و بنابراین شاید بتوان گفت که نمای تخمدان پلی‌کیستیک (PCOM) نه تنها یک واریاسیون طبیعی تخمدانی نیست، بلکه به عنوان پیش‌زمینه و منادی ایجاد PCOS محسوب می‌شود [۶]. تظاهرات بالینی این بیماری متنوع و شامل اختلالات قاعدگی، علایم بالینی افزایش آندروژن‌ها، چاقی و ناباروری بوده [۷] و چاقی، ناباروری، پرمویی، آکنه، مقاومت به انسولین و در نتیجه دیابت نوع II، اختلال لیپیدی، التهاب سیستمیک و استرس اکسیداتیو از عواقب طولانی مدت این سندرم می‌باشند [۹، ۸]. اگرچه شواهد موجود نشان می‌دهند که سطوح بالای استرس اکسیداتیو سبب ایجاد فرایندهای پاتولوژیکی مانند آندومتریوز، ناباروری با عامل ناشناخته، پره‌اکلامپسی، سقط مکرر و PCOS شده و احتمالاً در افزایش تولید آندروژن‌های تخمدانی و انسولین نیز دخالت دارد؛ ولیکن استرس اکسیداتیو در سطوح کنترل شده سبب تسهیل عملکردهای فیزیولوژیک باروری زنان در زمینه‌های بلوغ اووسیت‌ها، فولیکولوژنز، تولید تخمدانی استروئیدها، لوتئولیز، تخمک‌گذاری، تغییرات دوره‌ای آندومتر و قاعدگی خواهد شد [۱۱–۹]. مدارک غیرقابل انکاری وجود دارد که نشان می‌دهد وضعیت کلی آنتی‌اکسیدان‌ها در بیماران مبتلا به PCOS با سطوح افزایش یافته LH، DHEAS و آندروژن‌ها ارتباط تنگاتنگ و بیشتری دارند [۱۲]، ولیکن افزایش اکسیدان‌ها و استرس اکسیداتیو این بیماران علاوه بر فزونی آندروژن‌ها با عوامل دیگری نظیر سن، چاقی مرکزی، افزایش انسولین و مقاوت به انسولین، اختلالات لیپیدی، قند خون و فشارخون (حتی در محدوده طبیعی) نیز مرتبط می‌باشد [۱۳]. به نظر می‌رسد که کاهش استرس اکسیداتیو با تجویز آنتی‌اکسیدان‌ها 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 [۱۴]. اگرچه برخی مطالعات نیز نشان‌دهنده تأثیرات منفی سطوح بالای این مواد بر عملکرد باروری و سلامت فرد، ایجاد آمنوره، کاهش باروری، افزایش احتمال سقط، آسیب جنینی و ناهنجاری‌زایی [۱۵]، افزایش روند پراکسیداسیون چربی [۱۶]، اختلال عملکردی و ساختاری فرایندهای ساخت استروئیدها، تخمک‌گذاری و حجم تخمدان بوده‌اند [۱۵]، با این وجود برخی عقیده دارند که درمان بیماران مبتلا به PCOS بایستی بر اساس استراتژی‌هایی در جهت افزایش آنتی‌اکسیدان‌ها باشد. هرچند که در مورد ایمنی و اثربخشی این درمان‌های خوراکی که طیف وسیعی نیز دارند، هنوز اختلاف نظر وجود دارد و این مساله قطعاً نیاز به مطالعات بیشتری خواهد داشت [۱۰]. امروزه آنتی‌اکسیدان‌های گیاهی بسیار مورد توجه می‌باشند [۱۷]. در این میان گیاه اسکنبیل (Scanbil) یا کالیگونوم کوموسوم که در اغلب شن‌زارهای مرکزی ایران رشد می‌کند و از خانواده علف هفت‌بند است سرشار از کاتچین (Catechin)، اپی‌گالاکتوکاتچین گالات (Epigallocatechin gallate)، کرستین (Quercetin)، کامفرول (Kaempferol)، آلکالوئیدها، فنولیک‌ها و فلاونوئیدها می‌باشد. تاکنون مطالعات متعددی به بررسی آثار آنتی‌اکسیدانی، ضدتوموری، ضدمیکروبی، ضداولسروژنیک، ضدالتهابی، ضدپرفشاری خون، ضدسرفه و کاهندگی قند خون گیاه کالیگونوم پرداخته‌اند [۲۱ – ۱۸]. نقش آنتی‌اکسیدانی قوی کالیگونوم سبب شده تا تأثیرات این گیاه بر وضعیت باروری مردان مورد توجه قرار

گیرد [۱۹ – ۱۸]، ولی تاکنون اثرات این دارو بر باروری زنان و بویژه در وضعیت‌هایی نظیر سندرم تخمدان پلی‌کیستیک بررسی نشده است. لذا مطالعه حاضر به بررسی تأثیر عصاره گیاه کالیگونوم (اسکنبیل) بر مورفولوژی تخمدان موش مدل تخمدان پلی‌کیستیک (PCO) پرداخت.

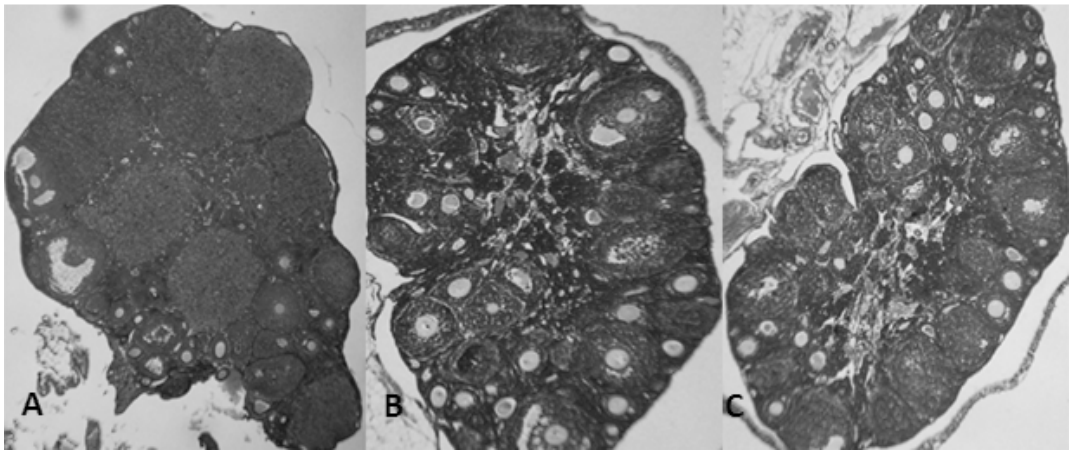
مواد و روش‌ها

در این مطالعه ۳۲ سر موش سوری ماده نژاد NMRI با سن ۸ هفته و وزن تقریبی ۳۰ – ۲۵ گرم به طور تصادفی در دو گروه (۸ سر در گروه کنترل و ۲۴ سر در گروه مدل) قرار گرفتند. برای موش‌های گروه مدل، تک دوز استرادیول والرات (شرکت ابوریحان، ایران) به میزان ۴ میلی‌گرم در کیلوگرم به شکل داخل عضلانی تزریق شد [۲۲]. موش‌ها در حیوانخانه دانشگاه تربیت مدرس در اتاقی که از نظر دما و رطوبت کنترل شده بود و در شرایط ۱۲:۱۲ ساعت تاریکی و روشنایی و با شرایط مناسب آب و غذایی طبق قوانین کار با حیوانات آزمایشگاهی نگهداری شدند. پس از ۸ هفته، ۸ سر از موش‌های هر گروه جهت اثبات مدل و آزمایش‌های هورمونی، مورد مطالعه قرار گرفتند. پس از اثبات مدل با شمارش فولیکول‌ها و بررسی بافت‌شناسی تخمدان، جهت بررسی تأثیرات عصاره کالیگونوم، تعداد ۸ سر از موش‌های مدل شده، عصاره گیاه کالیگونوم با دوز ۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم که با روش Simpe Log جهت دوزیابی به عنوان دوز مناسب تعیین شده بود را هفتگی به شکل داخل صفاقی به مدت ۴ هفته دریافت نموده و تعداد ۸ سر موش مدل شده نیز تنها حلال را با همان روش گروه مداخله، به عنوان گروه شم دریافت کردند. در این تحقیق از عصاره‌ی اتانولی گیاه کالیگونوم استفاده شد و محلول دی‌متیل سولفوکسید (Dimethyl Sulfoxide= DMSO) به عنوان حلال مناسب این عصاره در نظر گرفته شد [۱۹]. در پایان هفته چهارم و اتمام مداخله، نمونه بافتی و سرم خونی تمامی این موش‌ها جهت انجام مطالعات هورمونی (LH, FSH, AMH) و بافت‌شناسی آماده شدند. جهت این کار ابتدا موش‌ها با محلول کتامین – زایلازین بیهوش و سپس نمونه‌های خون از قلب موش‌ها گرفته شده و سرم نمونه‌ها پس از جداسازی در میکروتیوب‌های جداگانه‌ای برای انجام مطالعات هورمونی، در دمای منهای ۸۰ درجه منجمد و نگاهداری شده و سپس از نظر هورمون‌های FSH و LH و آنتی‌مولرین هورمون (AMH) با استفاده از کیت‌های اختصاصی الایزای موشی (شرکت CUSABIO BIOTECH، ژاپن) مورد بررسی قرار گرفتند. تخمدان‌ها از طریق انسزیون شکمی خارج و پس از پاک‌سازی از بافت‌های چربی و همبند اضافی در محلول فرمالدئید ۱۰ درصد حداقل به مدت ۲۴ ساعت ثابت شدند. سپس مراحل آماده‌سازی بافتی بر طبق پروتکل‌های استاندارد انجام و نمونه‌ها در پارافین قالب‌گیری شده و سپس برش‌های سریال به ضخامت ۵ میکرومتر داده شد. پس از آن نمونه‌ها با رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین – ائوزین رنگ‌آمیزی شدند. بررسی‌های بافتی و شمارش فولیکولی با استفاده از میکروسکوپ نوری انجام شده و فولیکول‌های اولیه، پره‌آنترال، آنترال، پره‌اوولیتوری، کیستیک، آترتیک و همچنین تعداد جسم زرد در ۹ برش با فاصله حداقل ۲۵ میکرومتر شمارش شدند. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS-16 و با آزمون‌های آماری ANOVA و آزمون ناپارامتری کروسکال والیس تجزیه و تحلیل شدند. جهت مقایسه دو به دوی گروه‌ها از آزمون من ویتنی (Mann whitney u test) با تصحیح بونفرونی استفاده شد. $p< ۰/۰۵$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج حاصل از بررسی‌های بافت‌شناسی نشان‌دهنده ایجاد تغییرات مورفولوژی تخمدان پلی‌کیستیک به شکل افزایش فولیکول‌های آترتیک و کاهش فولیکول‌های پره‌اوولیتوری و جسم زرد در موش‌های تیمار شده با استرادیول والرات بود (شکل شماره ۱ و جدول شماره ۱). همان‌طور که جدول شماره ۱ نشان می‌دهد میانگین درصد فولیکول‌های پرایمری، آنترال، پره‌اوولیتوری و همچنین درصد جسم زرد در گروه کنترل نسبت به گروه مدل به طور معنی‌داری بالاتر و درصد فولیکول‌های آترتیک به طور معنی‌داری پایین‌تر بود ($P <۰/۰۰۱$).

همچنین مقایسه میانگین درصد فولیکول‌ها در بین گروه‌های مورد مطالعه نشان داد که تجویز دوز ۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم کالیگونوم تأثیری در اصلاح وضعیت تخمدان پلی‌کیستیک نداشته و گروه‌های مدل، حلال و کالیگونوم از نظر درصد فولیکول‌های پره‌اوولیتوری و آترتیک دارای تفاوت معنی‌داری نمی‌باشند. این در حالی است که درصد جسم زرد در گروه تیمار شده با کالیگونوم از سایر گروه‌ها به طور معنی‌داری پایین‌تر است (جدول شماره ۱). همچنین مقایسه میانگین سطوح سرمی هورمون‌های AMH، FSH و LH در بین گروه‌های مورد مطالعه نشان داد که گروه‌های کنترل، مدل، حلال و کالیگونوم از نظر هورمون‌های تفاوت معنی‌داری ندارند (جدول شماره ۲).



شکل شماره ۱- مقطع بافت تخمدان موش گروه کنترل که حاوی اجسام زرد متعدد می‌باشد (A)، گروه تیمار شده با کالیگونوم (B) و گروه مدل (C) که حاوی فولیکول‌های آترتیک فراوان و تقریباً عاری از جسم زرد می‌باشند.

جدول شماره ۱- میانگین و انحراف معیار درصد انواع فولیکول و جسم زرد در هر تخمدان در گروه‌های مورد مطالعه

گروه / انواع فولیکول	کنترل M±SD	مدل M±SD	حلال M±SD	کالیگونوم M±SD
پرایمری	۳۰/۶۵ ± ۱۲/۷۴[abc]	۱۹/۷۰ ± ۱۱/۴۹	۱۴/۷۰ ± ۶/۹۷	۱۷/۲۰ ± ۱۰/۰۴
پره‌آنترال	۷/۲۶ ± ۸/۸۵[b]	۳/۸۶ ± ۲/۹۹[de]	۸/۲۹ ± ۴/۷۰	۹/۶۴ ± ۵/۹۴
آنترال	۲۴/۲۸ ± ۱۳/۷۵[abc]	۱۲/۹۷ ± ۱۲/۷۴	۱۱/۴۱ ± ۵/۲۱	۱۳/۷۷ ± ۷/۵۰
پره‌اوولیتوری	۹/۶۴ ± ۵/۵۱[abc]	۲/۶۰ ± ۲/۶۹	۲/۲۸ ± ۲/۵۸	۲/۷۱ ± ۲/۷۳
جسم زرد (CL)	۲۸/۱۸ ± ۱۵/۶۶[abc]	۵/۵۶ ± ۶/۰۱[e]	۷/۲۶ ± ۷/۳۲[f]	۲/۴۳ ± ۴/۱۵
آترتیک (A)	۲۸/۱۵ ± ۱۳/۵۱[abc]	۶۰/۸۵ ± ۱۹/۲۷	۶۳/۳۰ ± ۱۱/۴۴	۵۶/۶۵ ± ۱۴/۸۴

a. اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های کنترل و مدل (p<۰/۰۰۰۱)، b. اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های کنترل و حلال (p<۰/۰۰۰۱)

c. اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های کنترل و کالیگونوم (p<۰/۰۰۰۱)، d. اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های گروه‌های مدل و حلال (p<۰/۰۰۰۱)

e. اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های مدل و کالیگونوم (p<۰/۰۰۰۱)، f. اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های حلال و کالیگونوم (p<۰/۰۰۰۱)

جدول شماره ۲- میانگین و انحراف معیار هورمون‌های گروه‌های مورد مطالعه

گروه / هورمون	کنترل N= ۸ M±SD	مدل N= ۸ M±SD	حلال N= ۷ M±SD	کالیگونوم N= ۸ M±SD	P-Value
AMH (mIU/ml)	۴/۰۰ ± ۴/۷۶	۲/۴۳ ± ۱/۰۱	۲/۷۰ ± ۲/۱۰	۴/۱۶ ± ۴/۲۰	۰/۶۹۵
LH (ng/ml)	۰/۲۷ ± ۰/۲۱	۰/۱۵ ± ۰/۱۹	۰/۵۶ ± ۰/۸۸	۰/۶۲ ± ۱/۱۳	۰/۷۶۶
FSH (ng/ml)	۵/۸۰ ± ۶/۸۷	۳/۴۶ ± ۲/۰۱	۵/۲۰ ± ۳/۳۷	۶/۱۱ ± ۵/۲۴	۰/۴۲۲

بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان‌دهنده افزایش فولیکول‌های آترتیک و کاهش فولیکول‌های پره‌اوولیتوری و همچنین جسم زرد در موش‌های تیمار شده با استرادیول والرات نسبت به موش‌های گروه کنترل بود که این مسأله می‌تواند نشانه مهار و یا کاهش تخمک‌گذاری در تخمدان موش‌های مدل شده باشد.

سندرم تخمدان پلی‌کیستیک به عنوان یکی از مهم‌ترین شرایطی که در آن آترزی و توقف رشد فولیکولی دیده می‌شود، شناخته شده و اصولاً ناشی از اختلال نسبت بقای فولیکول‌ها به آپوپتوز آنها می‌باشد [۲۵-۲۳]. مدارک مستدلی وجود دارد که نشان می‌دهد که شدت بروز علایم در PCOS تحت تأثیر تعداد فولیکول‌های موجود در تخمدان‌ها بوده و به همین دلیل شاید بتوان گفت که نمای تخمدان پلی‌کیستیک نه تنها یک واریاسیون طبیعی تخمدانی نیست، بلکه به عنوان پیش‌زمینه و منادی ایجاد سندرم تخمدان پلی‌کیستیک محسوب می‌شود [۶]. از طرفی، از آنجا که برخی نمودهای PCOS نظیر چاقی و بویژه چاقی شکمی، ازدیاد آندروژن‌ها و مقاومت به انسولین می‌توانند سبب ایجاد استرس اکسیداتیو شوند، تاکنون مطالعات متعددی در جهت تعیین تأثیر مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی در روند بهبود سندرم تخمدان پلی‌کیستیک و عوارض ناشی از آن انجام شده است [۲۸]. مطالعه حاضر نیز به بررسی تأثیر تجویز هفتگی عصاره تغلیظ شده کالیگونوم، به عنوان یک آنتی‌اکسیدان گیاهی بومی ایران، با دوز ۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم به مدت ۴ هفته بر نمای تخمدان موش مدل تخمدان پلی‌کیستیک پرداخت. علیرغم آنکه مطالعه طهماسبی و همکاران (۱۳۹۳) در بررسی آثار پیشگیرنده کالیگونوم در ایجاد تخمدان‌های پلی‌کیستیک در موش ماده نشان‌دهنده آن بود که عصاره گیاه کالیگونوم با دوز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سبب افزایش معنی‌دار غلظت آنتی‌اکسیدان‌ها و درصد دوسلولی‌های حاصل از لقاح آزمایشگاهی در موش‌های دریافت‌کننده توأم استرادیول والرات و عصاره کالیگونوم نسبت به گروه دریافت کننده استرادیول والرات تنها می‌شود [۲۷]، نتایج حاصل از مطالعه حاضر تأثیر این گیاه بر بهبود وضعیت بافتی تخمدان پلی‌کیستیک را تأیید ننموده و نشان داد که علیرغم خاصیت آنتی‌اکسیدانی این گیاه، تجویز دوز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کالیگونوم بر بهبود نمای تخمدان پلی‌کیستیک تأثیری ندارد. مطالعه عسگری جهرمی و همکاران (۱۳۹۲) نیز در بررسی تأثیر عصاره این گیاه بر پارامترهای اسپرمی موش نر نشان‌دهنده آن بود که استفاده از دوزهای مختلف این گیاه روی تعداد اسپرم‌ها تأثیر چندانی نداشته و دوز ۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم آن حتی منجر به کاهش غیرمعنی‌دار تعداد، میزان بقا و تحرک اسپرم‌ها نیز می‌شود، ولی دوز ۳۰ میلی‌گرمی آن می‌تواند سبب افزایش مورفولوژی طبیعی، تحرک و میزان بقا اسپرم و کاهش روند مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده یا آپوپتوز در سلول‌های اسپرماتوگونیای بافت بیضه شود [۱۹]. مطالعه نوری و همکاران (۱۳۹۲) نیز نشان داد که تجویز دوز ۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره کالیگونوم اگرچه حاوی بعضی آنتی‌اکسیدان‌های مهم نظیر کاتچین و کرستین بوده و می‌تواند سبب بهبود پارامترهای اسپرم و میزان تشکیل آزمایشگاهی بلاستوسیست در موش نر مسن شود، ولی نمی‌تواند عدم

توازن بین تولید ROS و آنتی‌اکسیدان‌های محلول در سلول‌های اسپرم را از بین ببرد [۲۸].

این طور به نظر می‌رسد که در مبتلایان به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک اگرچه استرس اکسیداتیو موجود می‌تواند نقش اصلی را در تحریک پرولیفراسیون و در نتیجه هایپرپلازی مزانشیم تخمدان‌ها و اختلال عملکرد انسولین بازی کند [۲۹]، ولی سطوح کنترل شده این عناصر نیز جهت تسهیل عملکردهای فیزیولوژیک باروری زنان لازم بوده [۱۰] و شواهد موجود نشان می‌دهند که رادیکال‌های اکسیژن یک مدولاتور مهم در امر لقاح و باروری در زنان و بخصوص در مواردی نظیر بلوغ اووسیت، آترزی فیزیولوژیک فولیکول‌ها، تحلیل جسم زرد و تشکیل جسم زرد حاملگی، برنامه‌ریزی مرگ سلولی در طی فرایند فولیکولوژنز، تخمک‌گذاری محسوب می‌شوند [۲۸، ۱۱، ۱۰]. برخی مطالعات دیگر نیز نشان‌دهنده تأثیرات منفی سطوح بالای آنتی‌اکسیدان‌ها بر عملکرد باروری و سلامت فرد، ایجاد آمنوره، کاهش باروری، افزایش احتمال سقط، آسیب جنینی و ناهنجاری‌های جنینی [۱۵]، افزایش روند پراکسیداسیون چربی [۱۶]، اختلال عملکردی و ساختاری فرایندهای ساخت استروئیدها، تخمک‌گذاری و حجم تخمدان بوده‌اند [۱۵]. به علاوه، این عقیده وجود دارد که آنتی‌اکسیدان‌ها دارای یک اثر مهاری بر پاسخ فولیکول‌های تخمدانی به اثرات القائی هورمون LH در فرایندهای مولکولی تخمک‌گذاری بوده و همچنین می‌توانند سبب کاهش تولید پروژسترون از جسم زرد شوند [۳۱]. برخی مطالعات نیز نشان داده‌اند که در زنان مبتلا به PCOS، سطوح ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی (TAC) به شکل معنی‌داری بالاتر بوده و این سطوح می‌توانند منجر به ایجاد آثار مخربی شوند [۳۲]. از طرفی شاید بتوان گفت که فلاونوئیدهای موجود در کالیگونوم که جزو گروهی از فیتواستروژن‌ها می‌باشند [۳۳] نیز بر شدت هایپراستروژنمی موجود بیافزایند چرا که استروژن‌های گیاهی اگرچه در زمان ازدیاد استرادیول سبب می‌شوند تا گیرنده‌های استرادیول دور از دسترس استرادیول قرار گیرد، ولی میزان فعالیت یکسانی به وسیله ایزوفلاون‌ها و استرادیول به هنگام استفاده از غلظت زیاد آنها مشاهده شده و این نشان می‌دهد که کمپلکس‌های گیرنده استروژنی تشکیل شده به وسیله استرادیول و ایزوفلاونوئیدها معادل هم می‌باشند [۳۴].

از آنجا که مدل القا شده با استرادیول، معرف تمامی جنبه‌های مورفولوژیک، هورمونی و متابولیک سندرم تخمدان پلی‌کیستیک نمی‌باشد. لذا عدم امکان بررسی تأثیرات کالیگونوم بر دیگر جنبه‌های این سندرم، از جمله محدودیت‌های این مطالعه بود. به نظر می‌رسد که مطالعه حاضر اولین و تنها مطالعه در سطح دنیا بوده که بررسی تأثیر عصاره گیاه کالیگونوم (اسکنبیل) بر تغییرات بافتی تخمدان از طریق مطالعه بافت تخمدان موش مدل تخمدان پلی‌کیستیک پرداخته است.

نتیجه‌گیری

اگرچه نتیجه مطالعه حاضر نشان دهنده عدم تأثیر دوز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کالیگونوم بر بهبود نمای تخمدان پلی‌کیستیک موش ماده بود ولیکن به نظر می‌رسد که بررسی تأثیرات دوزهای دیگر گیاه و همچنین بررسی آثار سوء احتمالی این گیاه بر وضعیت باروری نیاز به بررسی‌های بیشتری دارد.

تشکر و قدردانی

پژوهش حاضر به عنوان بخشی از رساله دکتری بهداشت باروری دانشکده پزشکی دانشگاه تربیت مدرس بوده که با تصویب و حمایت مالی دانشگاه تربیت مدرس انجام شده است.

منابع

1. Sorensen AE, Wissing ML, Salö S, Mikkelsen Englund AL and Dalgaard LT. MicroRNAs Related to Polycystic Ovary Syndrome (PCOS). *Genes* 2014; 5: 684 - 708.

2. Teede H, Deeks A and Moran L. Polycystic ovary syndrome: a complex conditions with psychological, reproductive and metabolic manifestations that impact on health across the lifespan. *BMC Medicine* 2010; 8: 41.

3. Khani B, Mehrabian F. The prevalence of polycystic ovary syndrome in Iranian women based on different diagnostic criteria. *Iranian Journal of Reproductive Medicine* 2014; 12: S73.

4. Hosseinpanah F, Barzin M, Keihani S, Ramezani Tehrani F and Azizi F. Metabolic aspects of different phenotypes of polycystic ovary syndrome: Iranian PCOS Prevalence Study. *Clinical Endocrinol.* 2014; 81 (1): 93 – 9.

5. Holm LM. Polycystic ovary syndrome, Studies of metabolic and ovarian disturbances and effects of physical exercise and electro-acupuncture. PhD thesis, University of Gothenburg, Department of Physiology/Endocrinology, Institute of Neuroscience and Physiology, Sweden, 2010.

6. Homburg R, Ray A, Bhide P, Gudi A, Shah A, Timms P and Grayson K. The relationship of serum anti-Mullerian hormone with polycystic ovarian morphology and polycystic ovary syndrome: a prospective cohort study. *Human Reproduction* 2013; 28(4):1077-83.

7. Sirmans S, Pate KA. Epidemiology, diagnosis, and management of polycystic ovary syndrome. *Clinical Epidemiol.* 2014; 6: 1 - 13.

8. Banaszewska B, Duleba A and Spaczynski R. Lipid in polycystic ovary syndrome: role of hyperinsulinemia and effects of metformin. *American Journal of Obstetrics and Gyneocology* 2006; 194: 1266 - 72.

9. Duleba AJ. Medical management of metabolic dysfunction in PCOS *Steroids* 2012; 77 (4): 306 - 11.

10. Sekhon LH, Gupta S, Kim Y and Agarwal A. Female infertility and antioxidants. *Curr. Womens Health Rev.* 2010; 6: 84 - 95.

11. Ruder EH, Hartman TJ, Blumberg J and Goldman M. Oxidative stress and antioxidants: exposure and impact on female fertility. *Hum Reprod Update* 2008; 14 (4): 345 - 57.

12. Verit FF and Erel O. Oxidative stress in nonobese women with polycystic ovary syndrome: correlations with endocrine and screening parameters. *Gynecol Obstet Invest* 2008; 65 (4): 233 - 9.

13. Sabuncu T, Vural H, Harma M, Harma M. Oxidative stress in polycystic ovary syndrome and its contribution to the risk of cardiovascular disease. *Clinical Biochem.* 2001; 34: 407 – 13.

14. 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.

15. Verit FF, Erel O, Kocyigit A. Association of increased total antioxidant capacity and anovulation in nonobese infertile patients with clomiphene citrate–resistant polycystic ovary syndrome. *Fertil. Steril.* 2007; 88: 418 – 24.

16. Aziz N, Saleh RA, Sharma RK, Lewis-Jones I, Esfandiari N, Thomas AJ Jr and Agarwal A. Novel association between sperm reactive oxygen species production, sperm morphological defects, and the sperm deformity index. *Fertil. Steril.* 2004; 81 (2): 349 - 54.

17. Azimzadeh M. Genetic assessment of Iranian Bunium persicum Boiss using ITS. Tehran: University of Tehran 2009, 81 (Persian).

18. Abdallah HMI, Asaad GF, Arbid MS and Abdel-Sattar EA. Anti-inflammatory, antinociceptive, antipyretic and gastroprotective effects of

Calligonum comosum in rats and mice. *International Journal of Toxicological and Pharmacological Res.* 2014; 6 (2): 26 - 33.

19. Askari Jahrom M, Movahedin M, Mazaheri Z, Amanlu M, Mowla SJ and Batooli H. Evaluating the effects of Escanbil (Calligonum) extract on the expression level of Catsper gene variants and sperm motility in aging male mice. *Iran. J. Reprod. Med.* 2014; 12 (7): 459 - 66.

20. Riadh H, Imen F, Abdelmajid Z and Sinda F. detection and extraction of anti-listerial compounds from calligonum comosum, a medicinal plant from arid regions of Tunisia. *Afr. J. Tradit. Complement. Altern. Med.* 2011; 8 (3): 322 - 7.

21. Kenji S and Kou S. Oxidative stress induced by doxorubicin and protective effects of Green tea extract in conjunction with higher telomerase activity in mice. *J. Assist. Reprod.* 2010; 27: 501 - 8.

22. Noorafshan A, Ahmadi M, Mesbah S and Karbalay-Doust S. Stereological study of the effects of letrozole and estradiol valerate treatment on the ovary of rats. *Clin. Exp. Reprod. Med*. 2013; 40 (3): 115 - 21.

23. Brawer JR, Munoz M and Farookhi R. Development of the polycystic ovarian condition (PCO) in the estradiol valerate-treated rat. *Biol. Reprod*. 1986; 35: 647 - 55.

24. Stener-Victorin E, Ploj K, Larsson BM and Holmäng A. Rats with steroid-induced polycystic ovaries develops hypertension and increased sympathetic nervous system activity. *Reproductive Biology and Endocrinol*. 2005; 3: 44.

25. Townson DH and Combelles CMH. Ovarian Follicular Atresia. Darwish A (Ed.). Basic Gynecology – Some Related Issues 2012; ISBN: 978-953-51-0166-6, InTech, Available from: http://www.intechopen.com/books/basic-gynecology-some-related-issues/ovarian-follicular-atresia.

26. Amini L, Tehranian N, Movahedin M, Ramezani Tehrani F and Ziaei S. Antioxidants and management of polycystic ovary syndrome in Iran: A systematic review of clinical trials. *Iran. J. Reprod. Med*. 2015; 13 (1): 1 - 8.

27. Tahmasebi F, Movahedin M and Mazaheri Z. Preventive effects of Calligonum Comosum on polycystic ovary model mouse. MSc thesis 2015; Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

28. Nouri S, Movahedin M and Mazaheri Z. Effects of mouse paternal age on sperm parameters, reactive oxygen spices level, intraspermic antioxidants and in vitro fertilization results. MSc thesis 2014; Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

29. Rzepczynska IJ, Foyouzi N, Piotrowski PC, Celik-Ozenci C, Cress A and Duleba AJ. Antioxidants Induce Apoptosis of Rat Ovarian Theca-Interstitial Cells. *Biology of Reproduction* 2011; 84: 162 - 6.

30. Gupta S, Ghulmiyyah J, Sharma R, Halabi J and Agarwal A. Power of proteomics in linking oxidative stress and female infertility. *BioMed Research International* 2014; Article ID 916212.

31. Shkolnika K, Tadmora A, Ben-Dorb S, Nevoa N, Galiania D and Dekela N. Reactive oxygen species are indispensable in ovulation. *P.N.A.S.* 2011; 108 (4): 1462 - 7.

32. Yeon Lee J, Baw CK, Gupta S, Aziz N and Agarwal A. Role of Oxidative Stress in Polycystic Ovary Syndrome. *Current Women's Health Reviews* 2010; 6: 96 - 107.

33. Zafari Zangeneh F, Minaee, B, Amirzargar A, Ahangarpour A and Mousavizadeh, K. Effects of Chamomile Extract on Biochemical and Clinical Parameters in a Rat Model of Polycystic Ovary Syndrome. *J. Reprod. Infertil.* 2010; 11 (3): 169 - 74.

34. Azadbakht M. Phytoestrogens. *J. Medicinal Planets* 2007; 6 (21): 1 - 10. (Persian)