مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی بابل
دوره نوزدهم، شماره ۷، تیر ۱۳۹۶، صفحه ۵۶-۵۰

مقاله تحقیقی

اثر عصاره آبی درمنه بر هورمون‌های جنسی، سایتوکین‌های التهابی و شاخص‌های استرس‌اکسیداتیو بافت تخمدان در موش صحرایی مدل سندرم تخمدان پلی‌کیستیک

سید دامون صدوقی (PhD)[۱*]، راهله رهباریان (PhD)[۲]، نگین جهانی (BSc)[۲]، سید ابوالفضل شازده (BSc)[۲]، سنا حسین‌زاده سلجوقی (BSc)[۲]، محبوبه دائی (BSc)[۲]

۱-باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی
۲-گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه پیام نور تهران

دریافت: ۹۶/۱/۱۳، اصلاح: ۹۶/۲/۲۰، پذیرش: ۹۶/۳/۳۰

خلاصه

سابقه و هدف: اختلالات هورمونی به‌همراه استرس‌اکسیداتیو و التهاب در بافت تخمدان موجب عدم تخمک‌گذاری در مبتلایان به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک (PCOS) می‌شود. با توجه به خواص آنتی‌اکسیدانی درمنه، این مطالعه به‌منظور تعیین اثر عصاره آبی درمنه بر سطح سرمی هورمون‌های جنسی، سایتوکین‌های التهابی و شاخص‌های استرس‌اکسیداتیو بافت تخمدان در موش صحرایی مدل سندرم تخمدان پلی‌کیستیک انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، تعداد ۳۲ سر موش صحرایی ماده نژاد ویستار به ۴ گروه مساوی گروه‌های شاهد، شاهد PCOS و دو گروه مبتلا به PCOS تحت تیمار با عصاره آبی درمنه (غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) تقسیم شدند. PCOS با یک‌بار تزریق عضلانی استرادیول والرات (۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم) القاء شد. عصاره آبی درمنه به‌صورت داخل صفاقی به گروه‌های PCOS تحت تیمار به مدت ۲۴ روز تزریق شد. در پایان دوره درمان، سطوح سرمی LH، FSH، استرادیول، تستوسترون، TNF-α، IL-1β و IL-6 و نیز سطوح آنزیم‌های SOD، CAT، GPX و میزان MDA در بافت تخمدان به روش الایزا اندازه گیری شد.

یافته‌ها: در مقایسه با گروه شاهد PCOS (LH: ۲/۵۲±۱۴/۳۰، FSH: ۰/۲۸±۲/۳۵، استرادیول: ۲/۴۴±۱۷/۶۱، تستوسترون: ۱/۵۶±۱۰/۲۹، TNF-α: ۴/۳۵±۱۷۸/۶۵، IL-1β: ۵/۱۷±۱۲۱/۵۲، IL-6: ۵/۸۳±۱۶۲/۲۸، SOD: ۱/۸۴±۲۰/۵۱، CAT: ۳/۷۰±۶۴/۴۲، GPX: ۲/۸۸±۳۵/۱۵ و MDA: ۳/۴۰±۸۷/۳۲) سطح بافتی MDA (۴/۷۳±۵۵/۴۶)، سطوح سرمی هورمون‌های LH (۱/۳۶±۸/۲۶)، استرادیول (۱/۵۵±۷/۷۶)، تستوسترون (۱/۰۴±۶/۴۰) و سایتوکین‌های TNF-α (۵/۸۳±۱۱۵/۳۵)، IL-1β (۵/۷۴±۷۰/۲۵) و IL-6 (۴/۵۲±۸۹/۱۵) در گروه تحت تیمار با غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره آبی درمنه به‌طور معنی‌داری کاهش (p=۰/۰۰۸) و سطح سرمی هورمون FSH (۱/۲۱±۷/۵۲) و نیز میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی SOD (۵/۱۹±۷۱/۵۸)، CAT (۵/۱۱±۱۲۸/۳۰)، GPX (۵/۵۱±۸۸/۲۱) بافت تخمدان به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (p=۰/۰۰۵).

نتیجه‌گیری: عصاره آبی درمنه با کاهش سطح سرمی سایتوکین‌های التهابی و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بافت تخمدان اثر مطلوبی بر بهبود پارامترهای هورمونی در موش‌های صحرایی مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک دارد.

واژه‌های کلیدی: سندرم تخمدان پلی‌کیستیک، درمنه، استرس‌اکسیداتیو، سایتوکین‌ها، موش‌های صحرایی.

مقدمه

سندرم تخمدان پلی‌کیستیک (Polycystic Ovary Syndrome; PCOS) از بیماری‌های شایع زنان در سنین باروری می‌باشد (۱). تحقیقات نشان داده که این بیماری سبب اختلال در محور هیپوفیز- گناد و اختلال در عملکرد تخمدان می‌شود (۲). از مشخصه اصلی آن کاهش بلوغ فولیکول‌ها، کاهش تخمک‌گذاری و افزایش سطح آندروژن‌ها در گردش خون می‌باشد که در نهایت سبب ناباروری می‌شود (۳). طبق مطالعات انجام شده افزایش میزان سایتوکین‌ها مانند فاکتور تومور نکروزیس آلفا (Tumor Necrosis Factor-α; TNF-α)، اینترلوکین-۱بتا (Interleukin-1β; IL-1β) و اینترلوکین-۶ (Interleukin-6; IL-6) نشان دهنده التهاب سیستمیک و موضعی بدن می‌باشد. همچنین شواهدی مبنی بر رابطه مستقیم و نزدیک بین التهاب سیستمیک و موضعی با تخمدان پلی‌کیستیک وجود دارد (۴). تحقیقات نشان داده که عدم تعادل میان تولید رادیکال‌های آزاد و سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی موجب آسیب اجزای سلولی مانند پروتئین‌ها، لیپیدها، اسیدهای نوکلئیک و کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی داخل سلولی می‌شود (۵). همچنین استرس‌اکسیداتیو در افزایش تولید آندروژن‌ها، اختلال در مراحل تکوین فولیکول‌های تخمدانی و آسیب بافت تخمدان در مبتلایان به تخمدان پلی‌کیستیک موثر است. از سوی دیگر افزایش غیر طبیعی پراکسیداسیون لیپیدی موجب آسیب غشا و اندامک‌های سلولی می‌شود (۶). روش‌های درمانی متعددی جهت درمان این سندرم مطرح شده است که در حال حاضر مهم‌ترین روش درمانی استفاده از داروهایی مانند کلومیفن-سیترات، متفورمین و گنادوتروپین‌ها است (۷). با توجه به عوارض جانبی این

*مسئول مقاله: دکتر سید دامون صدوقی
آدرس: مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان. تلفن: ۳۵۲۵۱۳۱۷-۰۵۱
E-mail: damoon.sadoughi@mshdiau.ac.ir

[DOR: 20.1001.1.15614107.1396.19.7.7.0]
[DOI: 10.22088/jbums.19.7.7]

داروها، شناسایی و تهیه داروهای جایگزین و موثر اهمیت فراوانی دارد. نظر به این‌که گیاهان از منابع مهم آنتی‌اکسیدان محسوب می‌شوند، بررسی‌ها در این زمینه رو به افزایش است. گیاه درمنه (Artemisia absinthium) متعلق به شاخه Magnoliophyta، رده Magnoliopsida، راسته Asterales و خانواده Asteraceae می‌باشد (۸).

تحقیقات اخیر نشان داده که ترکیبات موجود در گیاه درمنه دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی و اثر مهار کننده رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌باشد (۹). همچنین میزان بالای ترکیبات فنولی و فلاونوئیدهای موجود در این گیاه خاصیت آنتی-اکسیدانی چشمگیری را موجب می‌شود. از جمله اثرات آنتی‌اکسیدانی این گیاه می‌توان به محافظت سلول‌ها در برابر آسیب اکسیداتیو اشاره کرد. به‌علاوه تحقیقات نشان داده است عصاره متانولی گیاه درمنه موجب ایجاد تعادل در سطح سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز می‌شود و با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و مهار گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن سبب کاهش التهاب سیستمیک می‌شود (۱۰و۹).

همچنین مشخص شده که ترکیبات گیاه درمنه دارای فعالیت ضد التهابی هستند و می‌توانند سبب کاهش سایتوکین‌های پیش التهابی نظیر IL-6, TNF-α و IL-1-β شوند (۱۱). با توجه به این‌که تاکنون گزارشی مبنی بر اثر گیاه درمنه بر عوارض مبتلایان به تخمدان پلی‌کیستیک ارائه نشده است، هدف از پژوهش حاضر تعیین اثر عصاره آبی درمنه بر سطح سرمی گنادوتروپین‌ها، استرادیول، تستوسترون، سایتوکین‌های التهابی و شاخص‌های استرس‌اکسیداتیو بافت تخمدان در موش صحرایی مدل سندرم تخمدان پلی‌کیستیک می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی ۳۲ سر موش‌های صحرایی ماده بالغ نژاد ویستار با محدوده وزنی ۸±۱۷۰ گرم و سن تقریبی ۵±۹۵ روز از مرکز تکثیر و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه پیام نور مرکز مشهد تهیه شد. حیوانات در دمای محیطی ۳±۲۴ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۴±۳۵ درصد و دوره روشنایی تاریکی ۱۲ ساعته نگهداری شدند. این پژوهش در آزمایشگاه تحقیقات جانوری دانشگاه پیام نور مرکز مشهد پس از تصویب در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی نیشابور با کد IR.NUMS.REC.۱۳۹۵.۴۷ انجام شد. عصاره آبی گیاه درمنه با استفاده از دستگاه سوکسله (Electrothermal, UK) تهیه شد (۱۲). قبل از شروع پژوهش LD50 و ED50 عصاره آبی برگ گیاه درمنه مورد بررسی قرار گرفت و مشخص شد غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم LD50 و محدوده بین ۳۰۰ـ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ED50 می‌باشد. موش‌های صحرایی به‌صورت تصادفی به ۴ گروه ۸تایی تقسیم شدند.

گروه ۱: موش‌های صحرایی گروه شاهد به مدت ۲۴ روز و به‌صورت داخل صفاقی ۰/۵ میلی‌لیتر محلول سالین به‌عنوان حلال دارو دریافت کردند.

گروه ۲: موش‌های صحرایی گروه شاهد مبتلا به تخمدان پلی‌کیستیک به مدت ۲۴ روز و به‌صورت داخل صفاقی ۰/۵ میلی‌لیتر محلول سالین به‌عنوان حلال دارو دریافت کردند.

گروه ۳: موش‌های صحرایی گروه مبتلا به تخمدان پلی‌کیستیک تحت تیمار، به مدت ۲۴ روز و به‌صورت داخل صفاقی ۰/۵ میلی‌لیتر عصاره آبی درمنه با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دریافت کردند.

گروه ۴: موش‌های صحرایی گروه مبتلا به تخمدان پلی‌کیستیک تحت تیمار، به مدت ۲۴ روز و به‌صورت داخل صفاقی ۰/۵ میلی‌لیتر عصاره آبی درمنه با غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دریافت کردند.

برای اجرای این تحقیق، در ابتدا موش‌هایی انتخاب شدند که دارای ۲ الی ۳ دوره استروس منظم در طی ۱۲ الی ۱۴ روز مشاهده اسمیر واژینال، بودند. موش-هایی که در مرحله استروس سیکل تولید مثلی قرار داشتند جهت مراحل بعدی مطالعه انتخاب شدند. اسمیر واژن در مرحله استروس دارای سلول‌های شاخی بیشتر در مقایسه با سلول‌های اپی‌تلیال بوده و فاقد لوکوسیت است (۱۳).

تخمدان پلی‌کیستیک توسط یک‌بار تزریق داخل عضلانی استرادیول والرات (داروسازی ابوریحان، ایران) به میزان ۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم القاء شد. مدت زمان لازم جهت القاء مدل تخمدان پلی‌کیستیک حدود ۶۰ روز پس از تزریق استرادیول والرات بود. اسمیر واژینال و مطالعات بافتی القاء تخمدان پلی‌کیستیک را مورد تائید قرار داد (۱۳). در پایان دوره درمان دارویی، موش‌های صحرایی توسط دی‌اتیل اتر بی‌هوش شدند. سپس پوست ناحیه قفسه سینه، جناغ و دنده‌ها برش داده شد و با کنار کشیدن جناغ و دنده‌ها از بطن چپ قلب توسط سرنگ ۲ میلی-لیتر خون‌گیری انجام شد (۱۳). سطح سرمی LH، FSH، استرادیول، تستوسترون، فاکتور تومور نکروزیس آلفا، اینترلوکین-۱بتا و اینترلوکین-۶ توسط روش ELISA، دستگاه الایزاریدر مدل 2100 (Stat Fax, USA) و کیت-های شرکت فاین تست (Finetest, China) سنجش شد.

در ادامه بافت تخمدان از بدن موش‌های صحرایی خارج شد. پس از شستشو با محلول سالین به همراه بافر تریس (Sigma-Aldrich, Germany) به مدت ۵ دقیقه با دستگاه هموژنایزر مدل T25 digital ULTRA-TURRAX (IKA, Germany) با ۵۰۰۰ دور در دقیقه هموژنیزه شد. محلول هموژنیزه شده توسط دستگاه سانتریفوژ یخچال‌دار مدل Z366 (Hermle, Germany) سانتریفوژ شد. جهت جلوگیری از تخریب آنزیم‌ها و پروتئین‌ها، تمامی مراحل در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد (سانتریفوژ یخچال‌دار) انجام شد و از محلول ۰/۵ میلی‌مولار فنیل متیل سولفونیل فلورايد (Sigma-Aldrich, Germany) به‌عنوان مهارکننده پروتئازها استفاده شد (۱۴). پس از انجام سانتریفوژ، محلول رویی شفاف از بخش زیرین رسوب کرده تفکیک و جهت سنجش استفاده شد. سطح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز و نیز میزان مالون در بافت تخمدان توسط روش ELISA و کیت‌های شرکت فاین تست سنجش شد. اطلاعات به‌دست آمده توسط نرم افزار آماری SPSS ویرایش۲۰ توسط آزمون کلوموگروف اسمیرنوف، آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی تجزیه و تحلیل شد و $p<۰/۰۵$ معنی دارد در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

براساس نتایج به‌دست آمده سطح سرمی هورمون‌های LH، استرادیول و تستوسترون در گروه شاهد مبتلا به تخمدان پلی‌کیستیک در مقایسه با گروه شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش و سطح سرمی هورمون FSH به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ($p<۰/۰۵$). تجویز داخل صفاقی عصاره آبی درمنه با غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به موش‌های صحرایی مبتلا به تخمدان پلی‌کیستیک در مقایسه با گروه شاهد مبتلا به تخمدان پلی‌کیستیک، موجب کاهش معنی‌دار در سطح سرمی

[DOR: 20.1001.1.15614107.1396.19.7.7.0]
[DOI: 10.22088/jbums.19.7.7]

هورمون‌های LH، استرادیول و تستوسترون و نیز افزایش معنی‌دار در سطح سرمی هورمون FSH شد (p<۰/۰۵) (جدول ۱). سطح سرمی سایتوکین‌های فاکتور تومور نکروزیس آلفا، اینترلوکین-۱بتا و اینترلوکین-۶ در گروه شاهد مبتلا به تخمدان پلی‌کیستیک در مقایسه با گروه شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (p<۰/۰۵). در مقایسه با گروه شاهد مبتلا به تخمدان پلی‌کیستیک، سطح سرمی سایتوکین‌های فاکتور تومور نکروزیس آلفا، اینترلوکین-۱بتا و اینترلوکین-۶ در گروه مبتلا به تخمدان پلی‌کیستیک تیمار شده با غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره آبی درمنه به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (p<۰/۰۵) (جدول ۲). فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسیددیسموتاز، کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز بافت تخمدان در گروه شاهد مبتلا به تخمدان پلی‌کیستیک در مقایسه با گروه شاهد به‌طور معنی‌داری کاهش و میزان مالون دی‌آلدئید به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (p<۰/۰۵). در مقایسه با گروه شاهد مبتلا به تخمدان پلی‌کیستیک، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز بافت تخمدان در گروه مبتلا به تخمدان پلی‌کیستیک تیمار شده با غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره آبی درمنه به‌طور معنی‌داری افزایش و میزان مالون دی‌آلدئید به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (p<۰/۰۵). (جدول ۳)

جدول ۱. مقایسه میانگین سطح سرمی هورمون‌های LH، FSH، استرادیول و تستوسترون به تفکیک گروه‌های مورد مطالعه

متغیر / گروه	LH(mIU/ml) Mean±SD	FSH(mIU/ml) Mean±SD	استرادیول(ng/ml) Mean±SD	تستوسترون(ng/ml) Mean±SD
شاهد	a۶/۳۵±۰/۴۳	a۱۰/۰۸±۱/۴۷	a۵/۱۵±۰/۸۴	a۴/۶۴±۰/۴۷
شاهد PCOS	b۱۴/۳۰±۲/۵۲	b۲/۳۵±۰/۲۸	b۱۷/۶۱±۲/۴۴	b۱۰/۲۹±۱/۵۶
PCOS تحت تیمار با ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره درمنه	b۱۲/۸۸±۱/۸۵	b۳/۱۸±۰/۵۳	b۱۵/۸۳±۲/۷۴	b۹/۸۷±۲/۱۴
PCOS تحت تیمار با ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره درمنه	a۸/۲۶±۱/۳۶	a۷/۵۲±۱/۲۱	a۷/۷۶±۱/۵۵	a۶/۴۰±۱/۰۴
P-value (آنالیز واریانس یک‌طرفه)	۰/۰۱۴	۰/۰۰۸	۰/۰۱۱	۰/۰۱۹

حروف غیر مشابه در یک ستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار و حروف مشابه نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار است (p<۰/۰۵)

جدول ۲. مقایسه میانگین سطح سرمی سایتوکین‌های التهابی به تفکیک گروه

متغیر / گروه	TNF-α(pg/ml) Mean±SD	IL-1β(pg/ml) Mean±SD	IL-6(pg/ml) Mean±SD
شاهد	a۸۵/۴۰±۵/۲۳	a۴۸/۱۲±۳/۲۳	a۷۱/۴۲±۶/۰۸
شاهد PCOS	b۱۷۸/۶۵±۴/۳۵	b۱۲۱/۵۲±۵/۱۷	b۱۶۲/۲۸±۵/۸۳
PCOS تحت تیمار با ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره درمنه	b۱۶۹/۱۴±۶/۵۲	b۱۰۴/۰۷±۶/۶۲	b۱۵۷/۴۲±۸/۷۰
PCOS تحت تیمار با ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره درمنه	a۱۱۵/۳۵±۵/۸۳	a۷۰/۲۵±۵/۷۴	a۸۹/۱۵±۴/۵۲
P-value (آنالیز واریانس یک‌طرفه)	۰/۰۱۶	۰/۰۰۷	۰/۰۱۱

حروف غیر مشابه در یک ستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار و حروف مشابه نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار است (p<۰/۰۵)

جدول ۳. میانگین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و میزان MDA بافت تخمدان به تفکیک گروه

متغیر / گروه	SOD(pg/ml) Mean±SD	CAT(mIU/ml) Mean±SD	GPX(pg/ml) Mean±SD	MDA(ng/ml) Mean±SD
شاهد	a۸۰/۱۴±۳/۷۱	a۱۴۵/۲۶±۷/۵۶	a۱۰۷/۱۴±۸/۴۶	a۴۰/۲۸±۵/۱۱
شاهد PCOS	b۲۰/۵۱±۱/۸۴	b۶۴/۴۲±۳/۷۰	b۳۵/۱۵±۲/۸۸	b۸۷/۳۲±۳/۴۰
PCOS تحت تیمار با ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره درمنه	b۲۶/۷۰±۲/۱۴	b۷۵/۴۷±۵/۰۶	b۴۲/۷۵±۴/۲۵	b۸۱/۵۰±۶/۰۲
PCOS تحت تیمار با ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره درمنه	a۷۱/۵۸±۵/۱۹	a۱۲۸/۳۰±۵/۱۱	a۸۸/۲۱±۵/۵۱	a۵۵/۴۶±۴/۷۳
گروه/ پارامتر	۰/۰۰۱	۰/۰۰۶	۰/۰۰۲	۰/۰۲۱

حروف غیر مشابه در یک ستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار و حروف مشابه نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار است (p<۰/۰۵)

بحث و نتیجه گیری

در این مطالعه تخمدان پلی‌کیستیک در موش‌های صحرایی حدود ۶۰ روز پس از یک‌بار تزریق داخل عضلانی استرادیول والرات به میزان ۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم القاء شد. Alizadeh و همکاران در پژوهشی مشابه به‌منظور القاء فنوتیپ سندرم تخمدان پلی‌کیستیک از روش القاء هورمونی توسط تزریق داخل عضلانی استرادیول والرات استفاده کرده‌اند (۱۵). در این پژوهش سطح سرمی هورمون‌های LH، استرادیول و تستوسترون در گروه شاهد مبتلا به تخمدان پلی-

[DOR: 20.1001.1.15614107.1396.19.7.7.0]
[DOI: 10.22088/jbums.19.7.7]

کیستیک در مقایسه با گروه شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش و سطح سرمی هورمون FSH به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. مشخص شده است که سندرم تخمدان پلی‌کیستیک در نتیجه ایجاد اختلالات اندوکرینی موجب افزایش سطح سرمی تستوسترون و بتا استرادیول می‌شود و این امر زمینه‌ساز بروز اختلال در تخمک‌گذاری و ناباروری است (۱۶). Nabiuni و همکاران در مطالعه خود گزارش کردند که در موش‌های صحرایی مبتلا به تخمدان پلی‌کیستیک تغییرات سرولوژیک به‌صورت کاهش FSH، پروژسترون و افزایش LH، استرادیول و تستوسترون می‌باشد (۱۷).

پژوهشی دیگر نشان داد تغییرات هورمون‌های جنسی در موش‌های صحرایی مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک به‌صورت افزایش معنی‌دار LH، استرادیول و تستوسترون می‌باشد (۱۵). براساس نتایج پژوهش حاضر سطح سرمی سایتوکین‌های فاکتور تومور نکروزیس آلفا، اینترلوکین-۱بتا و اینترلوکین-۶ در موش‌های صحرایی شاهد مبتلا به تخمدان پلی‌کیستیک در مقایسه با گروه شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. همسو با نتایج به‌دست آمده مطالعه‌ای به بررسی سایتوکاین‌های فاکتور تومور نکروزیس آلفا، اینترلوکین یک آلفا و اینترلوکین یک بتا در سرم خون بیماران مبتلا به تخمدان پلی‌کیستیک پرداخت و مشخص شد سطح سرمی اینترلوکین یک آلفا و بتا در مبتلایان به تخمدان پلی‌کیستیک افزایش می‌یابد ولی فاکتور تومور نکروزیس آلفا تغییر معنی‌داری نداشت. همچنین عنوان شده است پلی‌کیستیک شدن تخمدان‌ها می‌تواند یک بیماری التهابی مزمن خفیف باشد چرا که سایتوکاین‌های التهابی به‌ویژه اینترلوکین‌ها به‌شدت در این بیماران افزایش می‌یابد (۱۸). طی مطالعه‌ای Yaghmaei و همکاران به بررسی میزان التهاب در مبتلایان به تخمدان پلی‌کیستیک پرداختند و مشخص شد سطح سرمی سایتوکین‌های التهابی، سطح سرمی پروتئین واکنشگر C و سرعت رسوب گلبول‌های قرمز به عنوان شاخص‌های تشخیصی التهاب، در خانم‌های مبتلا به تخمدان پلی‌کیستیک افزایش می‌یابد (۱۹).

در این مطالعه مشخص شد میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در بافت تخمدان موش‌های صحرایی مبتلا به تخمدان پلی‌کیستیک کاهش و میزان پراکسیداسیون لیپیدی افزایش می‌یابد.گزارش شده است افزایش استرس‌اکسیداتیو در مبتلایان به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک با افزایش فشار خون، دیابت و کاهش تخمک‌گذاری رابطه مستقیم دارد (۲۰).

Fenkci و همکاران همسو با نتایج پژوهش حاضر گزارش کرده‌اند در بافت تخمدان مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک پراکسیداسیون لیپیدی افزایش و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی کاهش می‌یابد (۲۱). که با نتایج پژوهش حاضر همسو می‌باشد. نتایج پژوهش حاضر نشان داد تجویز داخل صفاقی عصاره آبی درمنه با غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت ۲۴ روز به موش‌های صحرایی مبتلا به تخمدان پلی‌کیستیک موجب بهبود اختلالات هورمونی، کاهش سطح سرمی سایتوکین‌های التهابی، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و کاهش پراکسیداسون لیپیدی بافت تخمدان می‌شود. Wan و همکاران گزارش کرده‌اند ترکیبات موجود در گیاه درمنه با اثر بر سیستم‌های سنتز آنتی‌اکسیدانی درونی می‌توانند در تولید و حفاظت آنتی‌اکسیدان‌های داخل سلولی موثر باشند و در نهایت سبب حذف رادیکال‌های آزاد شوند.

همچنین مشخص شده است ترکیبات پلی‌فنلی و فلاونوئیدی عصاره درمنه می‌تواند با کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی-اکسیدانی گلوتاتیون، گلوتاتیون ردوکتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز سلول‌ها را در برابر آسیب‌های اکسیداتیو محافظت کند (۲۲). پژوهشی با هدف تعیین ظرفیت حفاظتی گیاه درمنه به‌عنوان یک محافظ آنتی‌اکسیدان قوی در برابر آسیب رادیکال‌های آزاد انجام شد و مشخص شد که عصاره درمنه پراکسیداسیون لیپیدی و همولیز گلبول‌های قرمز را به‌طور قابل ملاحظه‌ای مهار می‌کند. همچنین می-تواند فعالیت رادیکال‌های هیدروکسیل، نیتریک اکسید و پراکسید هیدروژن را کاهش دهد و موجب افزایش فعالیت آنزیمهای آنتی‌اکسیدانی درون سلولی شود (۲۳). در پژوهش دیگری Aggarwal و همکاران گزارش کرده‌اند عصاره درمنه می‌تواند با کاهش سنتز سایتوکین پیش التهابی اینترلوکین-۶ سبب کاهش التهاب سیستمیک در افراد دیابتی شود. همچنین با کاهش التهاب در بافت پانکراس موجب افزایش ترشح انسولین از سلول‌های بتا پانکراس می‌شود (۲۴).

تحقیقات نشان داده است عصاره درمنه بدلیل داشتن فیتواسترول‌ها دارای اثر مهاری بر فعالیت آنزیم ۵-آلفا ردوکتاز می‌باشد. کاهش این آنزیم سبب کاهش غلظت پلاسمایی هورمون دی‌هیدروتستوسترون می‌شود (۲۵). علاوه بر این فیتواسترولها باعث کاهش حساسیت بافت‌ها به آندروژن‌ها و کاهش فعالیت آندروژن‌ها از جمله تستوسترون از طریق مهار آنزیم‌های آروماتاز و ۵-آلفا ردوکتاز می‌شود. همچنین مشخص شده است فیتواسترول‌ها از طریق کاهش کلسترول سبب کاهش پیش سازهای سنتز تستوسترون می‌شود (۲۵).

با توجه به نتایج به‌دست آمده می‌توان نتیجه گرفت عصاره آبی گیاه درمنه با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بافت تخمدان و کاهش سطح سرمی سایتوکین‌های التهابی توانسته است سبب تغییرات معنی‌دار در سطح سرمی هورمون‌های محور هیپوفیز- تخمدان در موش‌های صحرایی مبتلا به تخمدان پلی‌کیستیک شود. همچنین با توجه به بازگشت تقریبی سطح سرمی هورمون‌های LH، استرادیول و تستوسترون به آستانه طبیعی، می‌توان احتمال داد فرآیند تخمک‌گذاری و رشد طبیعی فولیکول‌ها از سرگرفته شود، که افزایش سطح سرمی FSH می‌تواند دلیلی بر این ادعا باشد. از این‌رو می‌توان از ترکیبات موجود در گیاه درمنه به‌عنوان فرآورده طبیعی در کاهش بخشی از علائم سندرم تخمدان پلی‌کیستیک استفاده کرد.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد جهت حمایت مالی از این تحقیق، تشکر و قدردانی می گردد.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1396.19.7.7.0]
[DOI: 10.22088/jbums.19.7.7]

Effect of Aqueous Extract of Artemisia absinthium L. on Sex Hormones, Inflammatory Cytokines and Oxidative Stress Indices of Ovarian Tissue in Polycystic Ovary Syndrome Rat Model

S.D. Sadoughi (PhD)*[1], R. Rahbarian (PhD)[2], N. Jahani (BSc)[2], S.A. Shazdeh (BSc)[2], S. Hossein Zadeh Saljoughi (BSc)[2], M. Daee (BSc)[2]

1.Young and Elite Research Club, Mashhad Unit, Islamic Azad University, Mashhad, I.R.Iran
2.Department of Biology, Faculty of Science, Payame Noor University of Tehran, Tehran, I.R.Iran

J Babol Univ Med Sci; 19(7); Jul 2017; PP: 50-6
Received: Apr 2th 2017, Revised: May 10th 2017, Accepted: Jun 20th 2017.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Hormonal disorders along with oxidative stress and inflammation in ovarian tissue lead to anovulation in polycystic ovary syndrome (PCOS) patients. Considering antioxidant effect of Artemisia absinthium, purpose of this study is to determine the effect of aqueous extract of Artemisia absinthium on serum levels of sex hormones, inflammatory cytokines and oxidative stress indices of ovarian tissue in polycystic ovary syndrome rat model.

METHODS: In this study, 32 female Wistar rats were divided into 4 equal groups: groups of control, PCOS control and two groups with PCOS which are under treatment through aqueous extract of Artemisia absinthium (100 and 200 mg/kg). Polycystic ovarian syndrome was induced by single intramuscular injection of estradiol valerate (4mg/kg). Aqueous extract of Artemisia absinthium was intraperitoneal injection to PCOS treated groups, for 24 days. At the end of treatment period, serum levels of LH, FSH, Estradiol, Testosterone, TNF-α, IL-1β and IL-6 and levels of SOD, CAT, GPX enzymes and level of MDA in ovarian tissue were measured through ELISA method.

FINDINGS: Compared to PCOS control group (LH: 14.30±2.52, FSH: 2.35±0.28, Estradiol: 17.61±2.44, Testosterone: 10.29±1.56, TNF-α: 178.65±4.35, IL-1β: 121.52±5.17, IL-6: 162.28±5.83, SOD: 20.51±1.84, CAT: 64.42±3.70, GPX: 35.15±2.88, MDA: 87.32±3.40), MDA tissue level (55.46±4.73), serum levels of LH (8.26±1.36), Estradiol (7.76±1.55), Testosterone (6.40±1.04) and TNF-α (115.35±5.83), IL-1β (70.25±5.74) and IL-6 (89.15±4.52) cytokines in group under treatment with 200 mg/kg aqueous extract of Artemisia absinthium significantly decreased (p=0.008) and serum level of FSH (7.52±1.21) and levels of SOD (71.58±5.19), CAT (128.30±5.11) and GPX (88.21±5.51) antioxidant enzymes of ovarian tissue significantly increased (p=0.005).

CONCLUSION: Aqueous extract of Artemisia absinthium by decreasing the serum levels of inflammatory cytokines and increasing the activity of the ovary tissue antioxidant enzymes has a favorable effect on the improvement of hormonal parameters in rats with polycystic ovary syndrome.

KEY WORDS: *Polycystic Ovarian Syndrome, Artemisia absinthium, Oxidative stress, Cytokines, Rats*.

Please cite this article as follows:

Sadoughi SD, Rahbarian R, Jahani N, Shazdeh SA, Hossein Zadeh Saljoughi S, Daee M. Effect of Aqueous Extract of Artemisia absinthium L. on Sex Hormones, Inflammatory Cytokines and Oxidative Stress Indices of Ovarian Tissue in Polycystic Ovary Syndrome Rat Model. J Babol Univ Med Sci. 2017;19(7):50-6.

* **Corresponding author: S.D.Sadoughi (PhD)**
Address: Young Researchers and Elite Club, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, I.R.Iran
Tel: +98 51 35251317
E-mail: damoon.sadoughi@mshdiau.ac.ir

[DOR: 20.1001.1.15614107.1396.19.7.7.0]
[DOI: 10.22088/jbums.19.7.7]

References

1.Spritzer PM. Polycystic ovary syndrome: reviewing diagnosis and management of metabolic disturbances. Arq Bras Endocrinol Metabol. 2014;58(2):182-7.

2.Allahbadia GN, Merchant R. Polycystic ovary syndrome and impact on health. Middle East Fertil Soc J. 2011;16(1):19-37.

3.Indran IR, Lee BH, Yong EL. Cellolar and animal studies: insights into pathophysiology and therapy of PCOS. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol. 2016;37:12-24.

4.Ciaraldi TP, Aroda V, Mudaliar SR, Henry RR. Inflammatory cytokines and chemokines, skeletal muscle and polycystic ovary syndrome: Effects of pioglitazone and metformin treatment. Metabolism. 2013;62(11):1587-96.

5.Dikmen A, Ergenoglu AM, Yeniel AO, Dilsiz OY, Ercan G, Yilmaz H. Evaluation of glycemic and oxidative/antioxidative status in the estradiol valerate-induced PCOS model of rats. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2012;160(1):55-9.

6.Cohen G, Riahi Y, Sunda V, Deplano S, Chatgilialoglu C, Ferreri C, et al. Signaling properties of 4-hydroxyalkenals formed by lipid peroxidation in diabetes. Free Radic Biol Med. 2013;65:978-87.

7.Naderpoor N, Shorakae S, de Courten B, Misso ML, Moran LJ, Teede HJ. Metformin and lifestyle modification in polycystic ovary syndrome: systematic review and meta-analysis. Hum Reprod Update. 2015;21(5):560-74.

8.Julioa LF, Burillob J, Giménezc C, Cabrerac R, Díazd CE, Sanz J, et al. Chemical and biocidal characterization of two cultivated Artemisia absinthium populations with different domestication levels. Ind Crops Prod. 2015;76:787-92.

9.Ghlissi Z, Sayari N, Kallel R, Bougatef A, Sahnoun Z. Antioxidant, antibacterial, anti-inflammatory and wound healing effects of Artemisia campestris aqueous extract in rat. Biomed Pharmacother. 2016;84:115-22.

10.Choi E, Park H, Lee J, Kim G. Anticancer, antiobesity, and anti-inflammatory activity of Artemisia species in vitro. J Tradit Chin Med. 2013;33(1):92-7.

11.Jeong D, Yi YS, Sung GH, Yang WS, Park JG, Yoon K, et al. Anti-inflammatory activities and mechanisms of Artemisia asiatica ethanol extract. J Ethnopharmacol 2014;152(3):487-96.

12.Tafakkor S, Sadoughi SD, Rahbarian R. Effect of aqueous extract of launaea acanthodes on dna oxidative damage and antioxidant enzymes activities in diabetic rats testes tissue. Horizon Med Sci. 2017;23(2):149-55. [In Persian]

13.Sadoughi SD. Investigation the effect of curcumin on the hormones of pituitary-ovarian axis in alloxan-induced diabetic rats. J Ardabil Univ Med Sci. 2016;16(4):441-51. [In Persian].

14.Malek-Mohammadi R, Roghani M, Salami M. The effect of aqueous extracts of Melissa officinalis on the oxidative stress indices in the midbrain tissue. Feyz. 2015;19(1):8-14. [In Persian].

15.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 polcystic ovary syndrome (PCOS). Armaghane-danesh. 2015;20(1):31-42. [In Persian]

16.Rafiei S, Edalatmanesh M A. The effect of exercise training on serum level of β-estradiol, testosterone, and cognitive deficit in rats with letrozole-induced polycystic ovary syndrome. Shefaye Khatam. 2016;4(2):11-18. [In Persian].

17.Nabiuni M, Mohammadi S, Kayedpoor P, Karimzadeh L. The effect of curcumin on the estradiol valerateinduced polycystic ovary in rats. Feyz. 2015;18(6):515-23. [In Persian].

18.Zafari Zangeneh F, Abdollahi A, Naghizadeh MM, Bagheri M. A low-grade chronic inflammation in polycystic ovary syndrome: Role of interleukin-1 alpha, 1 beta, 17A and TNFα. Ijogi. 2015;17(135):9-15. [In Persian].

19.Yaghmaei M, Mokhtari M, Roudbari M, Harati M, Rashidi H, Dabiri S, et al. Comparison of the CRP and ESR levels between women with polycystic ovarian syndrome and control group. J Guilan Univ Med Sci. 2008;17(65):108-16. [In Persian].

[DOR: 20.1001.1.15614107.1396.19.7.7.0]
[DOI: 10.22088/jbums.19.7.7]

20.Sabuncu T, Vural H, Harma M, Harma M. Oxidative stress in polycystic ovary syndrome and its contribution to the risk of cardiovascular disease. Clin Chem. 2001;34(5):407-13.

21.Fenkci V, Fenkci S, Yilmazer M, Serteser M. Decreased total antioxidant status and increased oxidative stress in women with polycystic ovary syndrome may contribute to the risk of cardiovascular disease. Fertil Steril. 2003;80(1):123-7.

22.Wan XL, Niu Y, Zheng XC, Huang Q, Su WP, Zhang JF, et al. Antioxidant capacities of Artemisia annua L. leaves and enzymatically treated Artemisia annua L. in vitro and in broilers. Anim. Feed Sci. 2016;221:27-34.

23.Chukwurah PN, Brisibe EA, Osuagwu AN, Okoko T. Protective capacity of Artemisia annua as a potent antioxidant remedy against free radical damage. Asian Pac J Trop Biomed. 2014;4(1):92-8.

24.Aggarwal S, Shailendra G, Ribnicky DM, Burk D, Karki N, Qingxia Wang MS. An extract of Artemisia dracunculus L. stimulates insulin secretion from β cells, activates AMPK and suppresses inflammation. J Ethnopharmacol. 2015;170:98-105.

25.Opoku-Acheampong A, Penugonda K, Fiorentino N, Lindshield B. Anti-androgenic effect of fatty acids and phytosterols in saw palmetto extract on growth of syrian hamster androgen-sensitive flank organ. Faseb J. 2015;29(1):753-5.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1396.19.7.7.0]
[DOI: 10.22088/jbums.19.7.7]