Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 1:50 +0330 on Saturday September 23rd 2017

مقاله پژوهشی

تأثیر مصرف خوراکی عصاره آبی گیاه سداب بر تعداد و قطر انواع فولیکول‌های تخمدانی در موش سوری

عارف هوشیاری[۱]، غلامرضا نجفی[۲]، رجبعلی صدرخانلو[۳]، لیلا زارعی[۴]

تاریخ دریافت 1394/02/18 تاریخ پذیرش 1394/04/29

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: روتاگراوئولنس (RG) به‌طورمعمول تحت عنوان سداب، از زمان قدیم به‌عنوان یک گیاه دارویی شناخته‌شده است.سداب در طب سنتی به‌عنوان ضدبارداری و گاهی برای سقط جنین در انسان استفاده می‌شود.شناخت کمی در خصوص مکانیسم ضد باروری آن وجود دارد.این مطالعه به‌منظور شناخت خاصیت ضد باروری عصاره آبی سداب با مطالعه هیستومورفومتری انجام گرفت.

مواد و روش‌ها: در مطالعه تجربی حاضر، از ۲۴ موش ماده استفاده شد.حیوانات به ۲ گروه کنترل و RG (سداب) تقسیم شدند.گروه‌های کنترل ۰/۲ میلی‌لیتر نرمال سالین و گروه‌های RG عصاره آبی RG را با دوز 300mg/kg در هر روز به‌صورت خوراکی به مدت ۱۴ روزدریافت کردند.نمونه‌برداری در روزهای ۱۷، ۲۴ و ۳۱ روز از شروع آزمایش انجام گرفت و بعد از تهیه مقاطع سریالی از تخمدان، بررسی هیستومورفومتری با شمارش و اندازه‌گیری انواع فولیکول‌ها انجام گرفت.

یافته‌ها :یافته‌های ما نشان می‌دهد که عصاره آبی سداب باعث کاهش تعداد فولیکول‌های بالغ و افزایش تعداد فولیکول‌های نابالغ می‌شود.همچنین یافته‌های ما نشان می‌دهد عصاره سداب باعث کاهش قطر انواع فولیکول‌های نسبت به گروه کنترل می‌شود.

استنتاج: نتایج این مطالعه نشان داد که مصرف عصاره آبی سداب می‌تواند با تداخل در تکامل فولیکول‌ها، باعث کاهش قدرت باروری در موش ماده گردد.

کلیدواژه‌ها: فولیکول، سداب، موش، ضدباروری

مجله پزشکی ارومیه، دوره بیست و ششم، شماره ششم، ص 512-504، شهریور 1394

آدرس مکاتبه: ارومیه، دانشگاه ارومیه، دانشکده دامپزشکی، تلفن: ۰۴۴-۳۲۷۷۰۵۰۸

Email: A.hoshyari.vet@gmail.com

مقدمه

گیاه سداب از خانواده روتاسهآ است که این خانواده شامل ۱۵۰ جنس و ۱۵۰۰ گونه است که جنس روتا یکی از مهم‌ترین و ارزشمندترین جنس‌های این خانواده است (۱). سداب یا سوزاب از معروف‌ترین اسامی این گیاه می‌باشد. سداب به‌عنوان داروی گیاهی در طب سنتی به‌صورت گسترده استفاده می‌شود؛ که ازنظر پزشکی اهمیت فراوانی دارد. بیش از ۱۲۰ ترکیب طبیعی از قبیل آکریدون آلکالوئیدها، کومارین‌ها، روغن‌های ضروری، فلاونوئیدها و فوروکوئنولین‌ها در ریشه و بخش‌های هوایی این گیاه یافت می‌شود (۲). این گیاه منبع مهم و اصلی فورانوکومارین‌ها از قبیل سورالن، گزانتوتوکسین و برگوپتن است (۴).

سداب در طب سنتی برای پیش انداختن قاعدگی (۵)، ضد فشارخون، درمان هیجان، تسکین علائم سردرد و گوش‌درد، ضدعفونی پوست، دورکننده حشرات (۹, ۱۰)، به‌صورت پماد برای دردهای روماتیسم (۵, ۱۰, ۱۱). بکار می‌رود.

فعالیت ضد آندروژنی سداب در موش رت نر بر روی رفتار جنسی؛ همراه با کاهش در اسپرماتوژنز، حرکت و تراکم اسپرم، تستسترون و FSH بوده است(۱۳).

تحقیقات به‌طور واضح نشان داده‌اند که تجویز خوراکی سداب در موش‌های رت نر باعث کاهش باروری آن‌ها شده است. مشخص شده است که وزن، اندازه و فعالیت ترشحی بیضه‌ها، اپیدیدیم، وزیکول سمینال و پروستات توسط هورمون‌های آندروژن تنظیم می‌شود(۱۶).

[۱] دکتری تخصصی علوم تشریحی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران (نویسنده مسئول)

[۲] استادیار، گروه آناتومی- بافت شناسی و جنین شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

[۳] استاد، گروه بافت شناسی و جنین شناسی، دانشکده دامپزشکی ارومیه، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

[۴] دکتری تخصصی بافت شناسی، استادیار، مرکز تحقیقات سالید تومور، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 1:50 +0330 on Saturday September 23rd 2017

تجویز انواع عصاره‌ها به‌طور قابل‌ملاحظه تعداد جنین‌های جذب‌شده را افزایش داده است.برخی از عصاره‌ها وزن خالص جنین را کاهش داده‌اند و هم‌چنین میزان مرگ‌ومیر را در جنین‌های متولدشده افزایش می‌دهند (۱۰).

مواد مؤثره موجود در برگ سداب سیتوتوکسیک هستند(۳) و در افراد آبستن و شیرده نباید به‌صورت خوراکی مصرف شوند.زیرا دارای مواد فعالی است که برای جنین سمی بوده و می‌تواند باعث اختلال در لانه گزینی و سقط‌جنین شود (۶, ۷) .همچنین در کودکان و افراد سالخورده، بیماران کلیوی و قلبی نباید به‌صورت خوراکی مصرف شود (۸).

مهم‌ترین خواص دارویی ذکرشده برای گیاه سداب شامل فعالیت آنتی‌اکسیدانت، ضدالتهاب، سیتوتوکسیک، آنتی تومور، آنتی آریتمیک، آنتی‌آندروژنیک، ضدبارداری و باروری می‌باشد.این خواص گسترده به دلیل تنوع مواد مؤثره موجود در این گیاه می‌باشد.

عرضه این داروی گیاهی عمدتاً به شکل سنتی است.در اغلب موارد فروشندگان و مصرف‌کنندگان اطلاعات کافی در خصوص عوارض جانبی، دوز مصرفی، شکل مصرف، شرایط جسمی و سلامتی مصرف‌کننده ندارند.

لذا در تحقیق حاضر با انجام هیستومورفومتری به بررسی تعداد و اندازه فولیکول‌ها در گروه‌های سداب و مقایسه آن‌ها با گروه کنترل پرداختیم و برای اثبات اثرات سیتوتوکسیک عصاره گردید.بررسی ابعاد مختلف اثر ضدبارداری عصاره سداب و نحوه تأثیر و مکانیسم ضدبارداری آن بر بافت تخمدان می‌تواند موارد استفاده از این عصاره را روشن نماید.تا بتوانیم به تکمیل دستورالعمل استفاده از عصاره سداب کمک نماییم.افرادی که در طب سنتی از عصاره سداب به هدف ضدبارداری و یا سقط‌جنین استفاده می‌کنند یکی از اهداف مهم دیگر این مطالعه بررسی اثرات سداب در فازهای زمانی مشخص (متعاقب تجویز و قطع تجویز دارو) بود تا بتوانیم دائمی یا موقتی بودن اثرات سداب را نیز مورد ارزیابی قرار دهیم تا از این طریق بتوان در خصوص امکان و زمان بازگشت توان باروری حیوان در سیکل‌های جنسی بعدی، متعاقب قطع مصرف آن، قضاوت نمود.و اینکه آیا با استفاده از این دارو امکان عقیم شدن حیوان ماده وجود دارد یا نه.

مواد و روش‌ها

طرز تهیه عصاره آبی سداب:

گیاه سداب از یکی از فروشگاه‌های داروهای گیاهی شهرستان ارومیه تهیه گردید و توسط اساتید محترم دانشکده کشاورزی مورد شناسایی قرار گرفت.سپس در یک اتاق تاریک با دمای ۲۵ الی ۳۰ درجه خشک‌شده و توسط آسیاب برقی خرد گردید.در ظرف‌های جداگانه مقدار ۱۰۰ گرم از پودر در ۱۰۰۰ میلی‌لیتر نرمال سالین حل و در دمای اتاق روی دستگاه شیکر به مدت ۷۲ ساعت قرار داده شد.سپس محلول موجود چند بار از صافی عبور داده شد و بعدازآن مایع به‌دست‌آمده در RPM 10000 به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد.مایع رویی جمع‌آوری و در دمای اتاق تبخیر گردید.عصاره (به رنگ قهوه‌ای تیره) به‌دست‌آمده در ظرف دربسته‌ای قرار داده و تا زمان مصرف در یخچال نگهداری شد(۱۲).

حیوانات مورد آزمایش:

حیوانات مورد آزمایش در این مطالعه از بخش حیوانات آزمایشگاهی دانشکده دامپزشکی ارومیه تهیه گردید.تمام موش‌ها در شرایط نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی در اتاقی با دمای ۲۰ الی ۲۵ درجه سانتی‌گراد با دسترسی آزاد به مواد غذایی و آب نگهداری شدند.موش‌های ماده مورداستفاده در شروع آزمایش در سن ۶ هفتگی بودند.در هنگام انجام آزمایشات بر روی حیوانات تمامی اصول و موازین اخلاقی و کار با حیوانات رعایت گردید.

گروه‌بندی حیوانات:

در این تحقیق تعداد ۲۴ موش سوری نژاد NMRI ماده نابالغ در دو گروه کنترل و RG به‌صورت تصادفی تقسیم شدند.گروهای کنترل و RG هرکدام به سه گروه (کنترل روز ۱۷، کنترل روز ۲۴، کنترل روز ۳۱ و RG روز ۱۷، RGروز ۲۴ و RG روز ۳۱) تقسیم شدند.

به گروه‌های کنترل روزانه ۰/۲ میلی‌لیتر نرمال سالین به‌صورت خوراکی از طریق گاواژ و برای گروه‌های RG روزانه ۳۰۰ mg/kg عصاره در حجم ۰/۲ میلی‌لیتر به‌صورت خوراکی از طریق گاواژ به مدت دو هفته خورانده شد.

نمونه‌برداری:

نمونه‌برداری از موش‌ها در روز ۱۷، ۲۴ و ۳۱ از شروع تیمار صورت گرفت.بعد از ۱۴ روز گاواژ، مصرف عصاره قطع گردید.سپس مصادف با روز ۱۵، ۲۲ و ۲۹ از شروع آزمایش به هرکدام از موش‌های هر دو گروه ۱۰ واحد بین‌المللی گنادوتروپین سرم مادیان آبستن (PMSG) از طریق داخل صفاقی تزریق گردید.۴۸ ساعت بعد از تزریق هورمون موش‌ها ابتدا توسط گاز CO2 بی‌هوش شده، و سپس توسط جابجایی مهره‌های گردنی آسان کشی شدند و تخمدان‌ها برداشته‌شده و در داخل فیکساتیو فرمالدئید قرار داده شدند(۱۴, ۱۵).

جهت انجام مقاطع بافتی نمونه‌های بافتی بروش معمول مورد پاساژ بافتی و رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین ائوزین قرار گرفتند.در رنگ‌آمیزی H & E انواع فولیکول‌ها ازجمله تعداد و اندازه

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 1:50 +0330 on Saturday September 23rd 2017

فولیکول‌های مقدماتی اولیه، ثانویه، ثالثیه، گراف در گروه‌های مختلف موردبررسی قرار گرفتند.

برای شمارش و اندازه‌گیری فولیکول‌ها، برش‌های سریالی از تخمدان‌ها تهیه گردید و فولیکول‌های حاوی اووسیت با هسته مشخص در کل مقاطع شمارش می‌گردیدند و زمانی که هسته دیده نمی‌شد در مقطع بعدی شمارش انجام می‌شد.

اندازه‌گیری قطر فولیکول‌ها و تخمدان با استفاده از عدسی چشمی مدرج انجام گرفت و سپس عدد حاصله را در ضریب مخصوصی عدسی شیئی ضرب کرده و اندازه نهایی برحسب میکرومتر محاسبه گردید.انواع فولیکول‌های تخمدان با درشت‌نمایی ۴۰ شمارش شدند.انواع فولیکول‌ها بر اساس طبقه‌بندی پدرسن (۱۷) به پنج گروه شامل؛ فولیکول‌های مقدماتی، اولیه، ثانویه، ثالث و گراف تقسیم شدند.زمانی که فولیکول‌ها دارای لایه تکا بودند؛ از دیواره بیرونی آن اندازه‌گیری شدند و فولیکول‌هایی که فاقد لایه تکا بودند از بیرونی‌ترین لایه سلول‌های گرانولوزا اندازه‌گیری انجام می‌شد.

نتایج

۱. مقایسه میانگین تعداد و قطر فولیکول‌های مقدماتی و اولیه:

با شمارش تعداد فولیکول‌های اولیه و مقدماتی و همچنین قطر فولیکول‌های مقدماتی و اولیه و انجام آنالیز آماری در بین گروه‌ها، مشخص گردید؛ در بین گروه‌های سداب روزهای مختلف با گروه‌های کنترل اختلاف معنی‌داری ($P>0.05$) وجود ندارد (جدول ۱).

۲. مقایسه میانگین تعداد فولیکول‌های ثانویه:

با شمارش تعداد فولیکول‌های ثانویه و انجام آنالیز آماری در بین گروه‌ها، مشخص گردید؛ که در روز ۱۷، گروه سداب در مقایسه با گروه‌های کنترل افزایش معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) در میانگین تعداد این فولیکول‌ها وجود دارد.با بررسی و شمارش در بین گروه‌های مذکور در روز ۲۴ مشخص گردید؛ که میانگین فولیکول‌های ثانویه در روز ۲۴، گروه سداب در مقایسه با گروه‌های کنترل افزایش معنی‌داری ($P<0.05$) دارد.همچنین بررسی و شمارش این فولیکول‌ها در روز ۳۱ نشان داد؛ که در این روز بین گروه سداب، کنترل تفاوت معنی‌داری ($P<0.05$) در میانگین تعداد فولیکول‌های ثانویه وجود ندارد.از سوی دیگر مقایسه میانگین تعداد فولیکول‌های ثانویه در بین گروه‌های سداب در سه دوره متوالی نشان می‌دهد؛ که تعداد این فولیکول‌ها در روز ۱۷ تفاوت معنی‌داری با روز ۲۴ و ۳۱ و همچنین بین روز ۲۴ و ۳۱ تفاوت معنی‌داری (($P<0.05$وجود دارد (جدول ۱).

۳.مقایسه میانگین تعداد فولیکول‌های ثالثیه:

با شمارش تعداد فولیکول‌های ثالثیه و انجام آنالیز آماری در بین گروه‌ها، مشخص گردید؛ که در روز ۱۷، گروه سداب، در مقایسه با گروه‌های کنترل افزایش معنی‌داری ($P<0.05$) دارد.با بررسی و شمارش در بین گروه‌های مذکور در روز ۲۴ مشخص گردید؛ بین گروه سداب و گروه‌های کنترل تفاوت معنی‌داری ($P>0.05$)در میانگین تعداد فولیکول‌های ثالثیه ندارند.همچنین بررسی و شمارش این فولیکول‌ها در روز ۳۱ نشان داد؛ که در این روز نیز بین گروه سداب و کنترل تفاوت معنی‌داری ($P<0.05$) در میانگین تعداد فولیکول‌های ثالثیه وجود ندارد.مقایسه میانگین تعداد فولیکول‌های ثالثیه در بین گروه‌های سداب در سه دوره متوالی نشان می‌دهد؛ که تعداد این فولیکول‌ها در روز ۱۷ اول تفاوت معنی‌داری (($P>0.05$با روز ۲۴ و ۳۱ دارد، اما بین روز ۲۴ و ۳۱ تفاوت معنی‌داری وجود ندارد (جدول ۱).

۴. مقایسه میانگین تعداد فولیکول‌های گراف:

با شمارش تعداد فولیکول‌های گراف و انجام آنالیز آماری در بین گروه‌ها، مشخص گردید؛ که در روز ۱۷ گروه سداب، کاهش معنی‌داری ($P<0.05$) در مقایسه با گروه‌های کنترل در میانگین تعداد این فولیکول‌ها دارد.با بررسی و شمارش در بین گروه‌های مذکور در روز ۲۴ مشخص گردید؛ که در گروه سداب میانگین فولیکول‌های گراف کاهش معنی‌داری ($P<0.05$) نسبت به گروه‌های کنترل دارند.همچنین بررسی و شمارش این فولیکول‌ها در روز ۳۱ نشان داد؛ که در این روز نیز گروه سداب در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌داری ($P<0.05$) دارد.مقایسه میانگین تعداد فولیکول‌های گراف در بین گروه‌های سداب در سه دوره متوالی نشان می‌دهد؛ که تعداد این فولیکول‌ها در روز ۱۷ اختلاف معنی‌داری ($P<0.05$) با روز ۲۴ و ۳۱ دارد.بین روز ۲۴ و ۳۱ نیز تفاوت معنی‌دار است.و به سمت روز ۳۱ تعداد این فولیکول‌ها افزایش‌یافته است (جدول ۱).

۵. مقایسه میانگین قطر فولیکول‌های مقدماتی و اولیه (: μm)

با اندازه‌گیری قطر فولیکول‌های مقدماتی و انجام آنالیز آماری در بین گروه‌ها، مشخص گردید؛ در بین گروه‌های سداب روزهای مختلف، با گروه‌های کنترل اختلاف معنی‌داری ($P>0.05$) در میانگین قطر فولیکول‌های مقدماتی و اولیه وجود ندارد.

همچنین مقایسه میانگین قطر فولیکول‌های مذکور در بین گروه‌های سداب دوره‌های متوالی تفاوت معنی‌داری را نشان نداد (جدول ۲).

۶. مقایسه میانگین قطر فولیکول‌های ثانویه(μm) :

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 1:50 +0330 on Saturday September 23rd 2017

با اندازه‌گیری قطر فولیکول‌های ثانویه و انجام آنالیز آماری در بین گروه‌ها، مشخص گردید؛ که در روز ۱۷ در گروه سداب، کاهش معنی‌داری (P<0.05) با کنترل وجود دارد.

اندازه‌گیری قطر فولیکول‌های ثانویه در بین گروه‌های مذکور در روز ۲۴ مشخص گردید که میانگین فولیکول‌های مذکور در روز ۲۴ گروه سداب، تفاوت معنی‌داری (P>0.05) با کنترل ندارد.

همچنین بررسی و شمارش این فولیکول‌ها در روز ۳۱ نشان داد که در این روز در گروه سداب، تغییرات معنی‌داری با کنترل وجود ندارد (P>0.05).

مقایسه میانگین قطر فولیکول‌های ثانویه در بین گروه‌های سداب در سه دوره متوالی نشان می‌دهد که قطر این فولیکول‌ها به‌تدریج افزایش‌یافته به‌طوری‌که قطر آن‌ها در روز ۲۴ و ۳۱ افزایش معنی‌دار (P>0.05) نسبت به روز ۱۷ دارد،و بین روز ۲۴ و ۳۱ افزایش معنی‌دار نیست (جدول ۲).

۷. مقایسه میانگین قطر فولیکول‌های ثالثیه(µm) :

با اندازه‌گیری قطر فولیکول‌های ثالثیه و انجام آنالیز آماری در بین گروه‌ها، مشخص گردید که در روز ۱۷ در گروه سداب، کاهش معنی‌داری (P<0.05) با کنترل وجود دارد.

اندازه‌گیری قطر فولیکول‌های ثالثیه در بین گروه‌های مذکور در روز ۲۴ مشخص گردید که میانگین فولیکول‌های مذکور در روز ۲۴ گروه سداب، تفاوت معنی‌داری (P>0.05) با کنترل ندارد.

همچنین بررسی و شمارش این فولیکول‌ها در روز ۳۱ نشان داد که در این روز در گروه سداب، تغییرات معنی‌داری (P>0.05) با کنترل وجود ندارد.

مقایسه میانگین قطر فولیکول‌های ثالثیه در بین گروه‌های سداب در سه دوره متوالی نشان می‌دهد که قطر این فولیکول‌ها به‌تدریج افزایش‌یافته به‌طوری‌که قطر آن‌ها در روز ۳۱ افزایش معنی‌دار (P<0.05) نسبت به روز ۱۷ و ۲۴ دارد،و بین روز ۱۷ و ۲۴ افزایش معنی‌دار نیست (جدول ۲).

۸. مقایسه میانگین قطر فولیکول‌های گراف(µm) :

با اندازه‌گیری قطر فولیکول‌های گراف و انجام آنالیز آماری در بین گروه‌ها، مشخص گردید؛ که در روز ۱۷ در گروه سداب، کاهش معنی‌داری (P<0.05) با کنترل و کنترل شم وجود دارد.

اندازه‌گیری قطر فولیکول‌های گراف در بین گروه‌های مذکور در روز ۲۴ مشخص گردید؛ که میانگین فولیکول‌های مذکور در روز ۲۴ گروه سداب، تفاوت معنی‌داری (P>0.05) با کنترل ندارد.

همچنین بررسی و شمارش این فولیکول‌ها در روز ۳۱ نشان داد که در این روز در گروه سداب، تغییرات معنی‌داری (P>0.05) با کنترل وجود ندارد.

مقایسه میانگین قطر فولیکول‌های گراف در بین گروه‌های سداب در سه دوره متوالی نشان می‌دهد که قطر این فولیکول‌ها به‌تدریج افزایش‌یافته است ولی افزایش در بین سه دوره معنی‌دار (P>0.05)نیست (جدول ۲).

آنالیز آماری:

جهت انجام مطالعات آماری از برنامه SPSS نسخه ۲۰ استفاده گردید.داده‌های به‌دست‌آمده توسط آزمون‌های Anova و دانکن مورد تحلیل و تجزیه آماری قرار گرفتند.نتایج به‌صورت میانگین و انحراف معیار (Mean ± SEM) نشان داده شد و p<۰/۰۵ به‌عنوان معنی‌دار در نظر گرفته شد.لازم به ذکر است در اندازه‌گیری قطر فولیکول‌ها، اگر تعداد آن‌ها زیر ۵۰ عدد بودند قطر همگی اندازه‌گیری شدند ولی وقتی تعداد آن‌ها بالا بودند قطر ۵۰ عدد از آن‌ها اندازه‌گیری می‌شد.

جدول (1): میانگین تعداد انواع فولیکول‌ها

میانگین تعداد فولیکول‌های دوگراف	میانگین تعداد فولیکول‌های ثالثیه	میانگین تعداد فولیکول‌های ثانویه	میانگین تعداد فولیکول‌های اولیه	میانگین تعداد فولیکول‌های مقدماتی	گروه
۳۸/۰±۱/۱۵ [a]	۱۲/۶±۰/۸۸ [a]	۴۲/۰±۲/۵ [a]	۱۱۹/۶±۵/ ۹۲ [a]	۸۷۶/۶±۹/۵۲ [a]	کنترل روز ۱۷
۱۰/۶۶±۰/۳۳ [b]	۲۲/۳۳±۰/۸۸ [b]	۹۶/۶۶±۱/۴۵ [b]	۱۲۳/۰±۷/۷۶ [a]	۸۵۰/۶۶±۸/۸۳ [a]	سداب روز ۱۷
۳۶/۶±۱/۲ [a]	۱۵/۰±۰/۵۷[a]	۴۷/۰±۲/۳ [a]	۱۱۸/۳±۵/۹۲ [a]	۹۰۴/۳±۱۲/۱۹ [a]	کنترل روز ۲۴
۲۰/۶۶±۰/۶۶ [c]	۱۴/۰±۰/۵۷ [a]	۷۷/۰±۱/۷۳ [c]	۱۲۰/۳±۲/۹۶ [a]	۸۵۹/۰±۱۰/۶۹ [a]	سداب روز ۲۴
۳۶/۶±۱/۲ [a]	۱۲/۶±۰/۳۳ [a]	۴۳/۶±۲/۳ [a]	۱۲۳/۳±۷/۵۷ [a]	۸۹۸/۳±۱۱/۴۶ [a]	کنترل روز ۳۱
۲۸/۳۳±۰/۸۸ [d]	۱۱/۳۳±۱/۲۰ [a]	۵۲/۶۶±۳/۲۸ [a]	۱۱۸/۶±۳/۲۸ [a]	۸۵۶/۰±۱۳/۰۷ [a]	سداب روز ۳۱

در هر پارامتر (ستون): حروف انگلیسی مشابه بین تمام گروه‌های سه دوره متوالی، نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار و حروف انگلیسی غیرمشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در بین آن‌هاست.در بین گروه‌های هر روز حرف a نشان‌دهنده عدم تفاوت

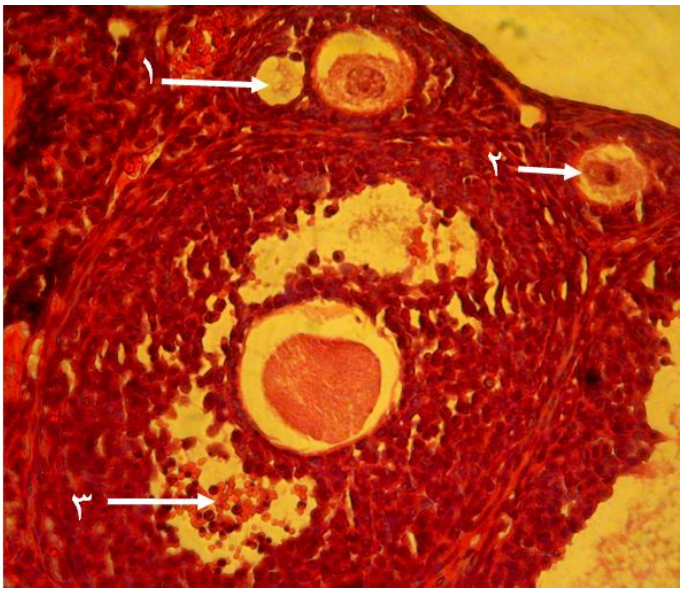
Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 1:50 +0330 on Saturday September 23rd 2017

معنی‌دار بین گروه‌های کنترل و سداب روز مذکور است.حرف b نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های کنترل و سداب روز مذکور و عدم تفاوت با گروه سداب روز دیگر دارای حرف مشابه b است.حرف C: نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین گروه سداب روز ۲۴ با گروهای کنترل همان روز و سداب روزهای دیگر است.d: تفاوت معنی‌دار گروه سداب با گروه‌های کنترل، در روز ۳۱ و تفاوت معنی‌دار با سداب روز ۱۷ و ۲۴.($P<0.05$).

جدول (2): میانگین اندازه قطر انواع فولیکول‌ها

میانگین قطر فولیکول‌های دوگراف µm	میانگین قطر فولیکول‌های ثالثیه µm	میانگین قطر فولیکول‌های ثانویه µm	میانگین قطر فولیکول‌های اولیه µm	میانگین قطر فولیکول‌های مقدماتی µm	گروه
۴۱۲/۹۶±۷/۱۸ [a]	۲۵۵/۴۳±۸/۷۷ [a]	۱۶۲/۰±۴/۴۰ [a]	۴۹/۵۳±۱/۲۵ [a]	۱۴/۶۶±۰/۹۱ [a]	کنترل روز ۱۷
۳۶۱/۰۶±۸/۵۶ [b]	۲۰۴/۰±۵/۹۹ [b]	۱۱۸/۷۶±۲/۳۰ [b]	۵۰/۹۳±۱/۱۹۷ [a]	۱۵/۶۰±۰/۶۰ [a]	سداب روز ۱۷
۴۲۲/۸۳±۷/۸۰ [a]	۲۵۴/۰±۳/۵۵ [a]	۱۷۲/۰۶±۵/۰۳ [a]	۵۰/۱۶±۰/۸۳ [a]	۱۵/۵۳±۰/۲۱ [a]	کنترل روز ۲۴
۳۹۰/۶۰±۱۴/۲۳ [ab]	۲۴۵/۳۰±۱۲/۵۵ [ab]	۱۴۹/۴۶±۴/۶۰ [ac]	۴۹/۶۳±۰/۷۹ [a]	۱۵/۳۶±۰/۴۷ [a]	سداب روز ۲۴
۴۱۸/۳۰±۶/۸۳ [a]	۲۵۹/۹۳±۹/۷۹ [a]	۱۷۳/۳۰±۷/۶۹ [a]	۵۳/۴±۱/۸۴ [a]	۱۵/۹±۰/۶۲ [a]	کنترل روز ۳۱
۴۰۱/۲۳±۸/۹۵ [ab]	۲۵۶/۸۳±۸/۱۰ [ac]	۱۵۲/۲۳±۵/۳۲ [ac]	۵۰/۷۳±۰/۸۹ [a]	۱۵/۳۶±۰/۷۸ [a]	سداب روز ۳۱

در هر پارامتر (ستون)، حروف انگلیسی مشابه بین تمام گروه‌های سه دوره متوالی، نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار و حروف انگلیسی غیرمشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در بین آن‌هاست.در بین گروه‌های هر روز حرف a نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های کنترل، کنترل شم و سداب هفته مذکور است.حرف b نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های کنترل، کنترل شم و سداب روز مذکور و عدم تفاوت با گروه سداب روز دیگر دارای حرف مشابه b است.ac: عدم تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های روز مذکور و تفاوت معنی‌دار با گروه سداب روزهای دیگر.ab عدم تفاوت معنی‌دار گروه‌های کنترل و سداب روز مذکور و تفاوت معنی‌دار با سداب روز ۱۷.($P<0.05$).



تصویر (1): فولیکول سالم و آترتیک.فولیکول ثانویه آترتیک با تشکیل حفره زودرس و فاصله گرفتن اووسیت از پرده شفاف (۱) فولیکول ثانویه تقریباً سالم (۲) فولیکول گراف آترتیک با ریزش سلول‌های گرانولوزا در حفره فولیکولی و عدم یکنواختی سلول‌های توده کومولوسی. رنگ‌آمیزی H&E.گروه سداب هفته سوم. ۴۰۰X

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 1:50 +0330 on Saturday September 23rd 2017

بحث

با شمارش و اندازه‌گیری فولیکول‌های تخمدان، می‌توان اطلاعات مفیدی در خصوص بلوغ، عملکرد تخمدان، وضعیت باروری، پاسخ به هورمون‌ها، ناهنجاری‌ها و ذخایر تخمدانی حیوان ماده به دست آورد.استفاده از روش هیستومورفومتری می‌تواند در بررسی و پیگیری اثرات فاکتورها و عوامل مختلف نیز کمک‌کننده باشد.

تحقیقات نشان می‌دهد که فلاونوئیدها[1]، روتین[2]، کوئرستین[3]، فورانوکومارین‌ها[4] بیشترین ترکیبات شیمیایی موجود در گیاه سداب هستند.روتین و کوئرستین در بین آن‌ها از اهمیت زیادی برخوردار هستند چراکه این دو ترکیب دارای خواص مهمی ازجمله ضدالتهاب و ضد اکسیداتیو هستند.کوئرستین دارای فعالیت ضد تکثیر بوده و پروآپوپتوز است.تکامل فولیکول‌ها شدیداً وابسته به پروسه‌های آنژیوژنز است که کوئرستین اثر مهاری بر تکثیر، مهاجرت و تمایز سلول‌های آندوتلیال در آنژیوژنز دارد.لذا کوئرستین می‌تواند اثرات منفی روی تخمدان داشته باشد(۱۷).و از طرفی فلاونوئیدها دارای اثرات هپاتوتوکسیک و سیتوتوکسیک نیز هستند و می‌توانند با برخی از پروتئین‌های انتقال‌دهنده هورمون بر همکنش نشان داده و همچنین برخی از آنزیم‌ها را غیرفعال کند و این باعث تغییر غلظت بافتی هورمون‌ها از قبیل استروئیدها و پروستاگلندین‌ها می‌شود(۱۸).که در تحقیق حاضر نیز نتایج نشان می‌دهد که کاهش قطر در فولیکول‌ها می‌توان ناشی از ممانعت از تکثیر سلول‌های گرانولوزا باشد.

در تحقیقی که توسط فریناز و همکاران انجام گرفته است، عصاره آبی سداب با دز ۳۱۰ mg/kg در موش ماده به روش داخل صفاقی باعث تغییر در مورفولوژی تخمدان و هورمون‌های جنسی در موش‌های ماده گردیده بود.آن‌ها گزارش کردند که تعداد فولیکول‌های مقدماتی، وزن تخمدان و جسم زرد کاهش می‌یابد و همچنین تعداد فولیکول‌های آترتیک افزایش‌یافته و مقادیر استروژن کاهش می‌یابد.آنان بر اساس یافته‌های خود اعلام کردند که عصاره سداب می‌تواند به‌عنوان ماده ضدبارداری مطرح شود (۱۹). نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان داد که در گروه‌های سداب و کنترل میانگین تعداد فولیکول‌های مقدماتی و اولیه تفاوت معنی‌دار با یکدیگر نداشته‌اند که این نتیجه برخلاف نتایج فریناز و همکارانش می‌باشد.ازآنجاکه یکی از اثرات سداب فعالیت ضد تکثیری می‌باشد حالت استراحت این فولیکول‌ها باعث گردیده که اثرات عصاره بر روی آن‌ها کمتر از سایر فولیکول‌ها مشاهده گردد.لذا این عصاره نتوانسته تأثیری در تعداد فولیکول‌های اولیه و مقدماتی بگذارد.فولیکول‌های اولیه هم به دلیل سرعت رشد کمتر تأثیر عمده‌ای نداشته‌اند.

فولیکول‌های ثانویه که بیشتر از چهار ردیف سلول گرانولوزا دارند تحت تأثیر هورمون PMSG قرار می‌گیرند.نتایج بررسی حاضر نشان می‌دهد میانگین تعداد فولیکول‌های ثانویه در گروه‌های سداب در روزهای ۱۷ و ۲۴ افزایش معنی‌داری نسبت به گروه‌های کنترل دارند که این موضوع می‌تواند به دلیل عدم پاسخ فولیکول‌های ثانویه به تزریق هورمون در گروه‌های سداب باشد که احتمالاً به دلیل آسیب به گیرنده‌های هورمون در این گروه‌ها است به‌عبارت‌دیگر در گروه‌های کنترل در پاسخ به تزریق هورمون فولیکول‌های ثانویه عمدتاً به رشد و تکثیر خود با سرعت بیشتری ادامه داده و وارد مرحله گراف شده‌اند.درحالی‌که در گروه‌های سداب این پاسخ ضعیف بوده و فولیکول‌های ثانویه در این مرحله رشد هستند.که نتایج فولیکول‌های ثالث در گروه‌های مذکور تا حدود زیادی این فرضیه را تأیید می‌کند؛ چراکه برخلاف تعداد بالای فولیکول ثانویه و ثالث در گروه سداب، تعداد فولیکول‌های گراف در گروه سداب نسبت به گروه‌های کنترل کاهش معنی‌داری دارد..با قطع مصرف عصاره نسبت و نوع فولیکول در گروه‌های مختلف به حالت عادی نزدیک می‌شود بطوریکه تعداد فولیکول‌های ثانویه و ثالث در گروه سداب روز ۳۱ تفاوت معنی‌داری با گروه‌های کنترل ندارد.که بیانگر عادی شدن روند رشد فولیکول‌های تخمدانی است.

نتایج به‌دست‌آمده در شمارش فولیکول‌های گراف نشان می‌دهد که باوجود بالا بودن تعداد فولیکول ثانویه و ثالث، تعداد فولیکول‌های گراف در هر سه دوره کاهش معنی‌داری نسبت به گروه‌های کنترل دارد که به دلیل سرعت رشد و تکثیر پایین و آسیب‌های وارده به فولیکول‌ها ادامه رشد و ورود آن‌ها به مرحله گراف با مشکل روبرو گشته است.لذا در گروه‌های سداب میانگین تعداد فولیکول‌های ثانویه و ثالث بیشتر است درحالی‌که در گروه‌های کنترل میانگین تعداد فولیکول‌های گراف بیشتر است.

پرتی و همکار (۲۰) فعالیت ضد توموری عصاره سداب را با سمی بودن آن بر روی DLA، EAC و سلول‌های L929 مشخص کردند. رتی و همکاران (۲۱) نیز ترکیبات آربورینین و فورانوآکریدون‌های جداشده از سداب در شرایط in vitro را بر روی سه نوع سلول سرطانی، MCF-7 و HeLa و A431 انسان بررسی کردند و اعلام کردند که این ترکیبات دارای اثر ضد تکثیری هستند. بر اساس اندازه‌گیری به‌عمل‌آمده میانگین قطر فولیکول‌های مقدماتی و اولیه، به‌مانند میانگین تعداد آن‌ها، در گروه‌های مختلف تفاوت معنی‌داری با همدیگر نداشتند؛ و این

[1] Flavonoids
[2] Rutin
[3] Quercetin
[4] Furanocoumarins

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 1:50 +0330 on Saturday September 23rd 2017

موضوع احتمالاً به دلیل عدم داشتن فعالیت تقسیم سلولی در این نوع از فولیکول‌ها است.میانگین قطر فولیکول‌های ثانویه در گروه سداب روز ۱۷ تفاوت معنی‌داری با گروه‌های کنترل دارد اما در روزهای ۲۴ و ۳۱ تفاوت بین گروه‌های سداب و کنترل معنی‌دار نیست.این الگو در فولیکول‌های ثالث و گراف نیز تکرار گردیده است.نتایج اندازه فولیکول‌ها نشان می‌دهد که در زمان مصرف عصاره ممانعت از رشد و تکثیر سلول‌ها باعث گردیده که تقسیم سلولی در لایه سلول‌های گرانولوزا به‌کندی صورت بگیرد ازاین‌رو به دلیل تعداد لایه‌های کمتر سلولی قطر آن‌ها کمتر از گروه‌های کنترل بوده است درحالی‌که هر چه از قطع مصرف بیشتر می‌گذرد.حداقل ازنظر کمی تقسیمات سلولی بیشتر می‌گردند بطوریکه عمدتاً در روزهای ۲۴ و ۳۱ تفاوت بین گروه‌های سداب و کنترل معنی‌دار نیست.هرچند در مقایسه نتایج بین گروه‌های سداب روزهای مختلف، گروه‌های سداب روز ۱۷ تفاوت معنی‌دار با میانگین روزهای ۲۴ و ۳۱ دارند.نتایج منتشرنشده از بررسی فوق ریزبینی همین گروه‌ها که توسط مؤلفین انجام گرفته است نشان داد؛ واکوئله شدن سلول‌ها و اثرات سیتوتوکسیک شدید عصاره، در گروه‌های سداب باعث شده است که قطر فولیکول‌های ثالث و گراف باوجود تکثیر کمتر سلول‌های گرانولوزا، تفاوت زیادی با گروه کنترل نداشته باشند و به عبارتی کاهش قطر در گروه سداب با انباشت و واکوئله شدن سیتوپلاسم سلول‌ها جبران گردیده بود.در گروه‌های سداب مشهود بود.

نتیجه‌گیری

آنچه از بررسی فولیکول ازنظر تعداد و قطر استنتاج می‌گردد این است که هر چه فولیکول فعال‌تر و نیاز به تکثیر بیشتری داشته است همان اندازه اثرات ممانعت از رشد و منفی عصاره سداب بر روی آن‌ها بیشتر بوده است و برعکس آن، فولیکول‌های دارای فعالیت کمتر یا ساکن اثرپذیری کمتری داشته‌اند که این موضوع دقیقاً همسو با نتایجی است که برای بررسی اثرات تکثیر و سرطانی گیاه سداب بیان شده است.بنابراین عصاره آبی سداب در دز استفاده‌شده باعث تغییرات هیستومورفومتری در تخمدان شده است که می‌تواند باعث کاهش باروری حیوان ماده شود.

پیشنهادات

بررسی اثرات عصاره آبی سداب بر بلوغ و لقاح آزمایشگاهی، استرس اکسیداتیو، فوق ریزبینی و هیستوشیمی تخمدان توسط مؤلفین طی پایان‌نامه دکترای تخصصی انجام شده است که نتایج متعاقباً به چاپ خواهد رسید که نتایج بیانگر اثرات سیتوتوکسیک شدید این عصاره در دز مورداستفاده بوده است که جهت یافتن مکانیسم اصلی عمل آن، اندازه‌گیری هورمون‌ها و ژن‌های دخیل در آپوپتوز و بررسی گیرنده‌های هورمونی توسط محققین و علاقه‌مندان محترم می‌تواند تحقیقات در زمینه این عصاره را تکمیل نماید.

سپاسگزاری

این تحقیق قسمتی از پایان‌نامه دکتری تخصصی علوم تشریح دامپزشکی بوده که هزینه‌های آن از محل اعتبار پایان‌نامه تأمین شده است.از مسئول آزمایشگاه جنین‌شناسی و بافت‌شناسی دانشکده دامپزشکی، آقای علی کریمی به خاطر هماهنگی و کمک به عملیات آزمایشگاهی تحقیق حاضر تقدیر و تشکر می‌گردد.

References:

1. Fredj MBH, Marzouk B, Chraief I, Boukef K, Marzouk Z.Analysis of Tunisian Ruta graveolens L.oils from Jemmel. J Food Agric Environ 2007;5(1):52.
2. Kuzovkina I, Al'terman I, Schneider B. Specific accumulation and revised structures of acridone alkaloid glucosides in the tips of transformed roots of Ruta graveolens. Phytochemistry 2004;65(8):1095–100.
3. Hale AL, Meepagala KM, Oliva A, Aliotta G, Duke SO. Phytotoxins from the leaves of Ruta graveolens. J Agric Food Chem 2004;52(11):3345–9.
4. Milesi S, Massot B, Gontier E, Bourgaud F, Guckert A. Ruta graveolens L.: a promising species for the production of furanocoumarins. Plant Sci 2001;161(1):189–99.
5. Chávez M, Franco I, González M, Tlatenco M.Tradición Herbolaria y Remedios Caseros.México City: Ce-Ácatl, AC 2003:80-1.
6. Muñoz A, Covarrubias S, Delena J, Pacheco U, Sánchez C, others. Efecto de extractos de Ruta graveolens (ruda) sobre la contractilidad de útero de rata y perro, ex vivo. 5ta Jornada de

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 1:50 +0330 on Saturday September 23rd 2017

Investigación México: Universidad Autónoma de Zacateca 2001.

7. Zeichen de Sa R, Rey A, Argañaraz E, Bindstein E.Perinatal toxicology of< i> Ruta chalepensis</i>(Rutaceae) in mice. J Ethnopharmacol 2000;69(2):93-8.
8. Serra BI, Lluís J. Gran enciclopédia de las plantas medicinales: el dioscórides del tercer milenio/por Josep Lluís Berdonces I. Serra. [Internet]. 1998. Available from: http://www.sidalc.net/cgi-bin/wxis.exe/?IsisScript=FITOS.xis&method=post&formato=2&cantidad=1&expresion=mfn=006107
9. Guarrera PM. Traditional antihelmintic, antiparasitic and repellent uses of plants in Central Italy. J Ethnopharmacol 1999;68(1-3):183–92.
10. Ferrara MMG. Plantas medicinales del noreste de México: Grupo Vitro; 1998.
11. Atta A, Alkofahi A. Anti-nociceptive and anti-inflammatory effects of some Jordanian medicinal plant extracts. J Ethnopharmacol 1998;60(2):117-24.
12. Hoshyari A, Najafi G, Sadrkhanlo R, Roshangar L, Student D, Urmia I. Antifertility Effect of Ruta graveolens Aqueous Extract in Female Mice. J Mazandaran Univ Med Sci 2014;24 (117).
13. Khouri NA, El-Akawi Z.Antiandrogenic activity of Ruta graveolens L in male Albino rats with emphasis on sexual and aggressive behavior. Neuroendocrinol letters 2005;26(6):823-9.
14. Kawamura K, Kawamura N, Mulders SM, Sollewijn Gelpke MD, Hsueh AJW. Ovarian brain-derived neurotrophic factor (BDNF) promotes the development of oocytes into preimplantation embryos. Proc Natl Acad Sci USA 2005;102(26):9206–11.
15. Martín-Coello J, González R, Crespo C, Gomendio M, Roldan ERS. Superovulation and in vitro oocyte maturation in three species of mice (Mus musculus, Mus spretus and Mus spicilegus). Theriogenology 2008;70(6):1004–13.
16. Chowdhury AK, Steinberger E. Effect of 5alpha reduced androgens on sex accessory organs, initiation and maintenance of spermatogenesis in the rat. Biol Reprod 1975;12(5):609–17.
17. Pourmorad F, Hosseinimehr S, Shahabimajd N.Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. Afr J Biotechnol 2006;5(11).
18. Parray SA, Bhat J, Ahmad G, Jahan N, Sofi G, IFS M. Ruta graveolens: from traditional system of medicine to modern pharmacology: an overview.Am J Pharm Tech Res 2012;2(2):239-52.
19. Nasirinezhad F, Khoshnevis M, Parivar K, Amin G. Antifertility effect of aqueous extract of airal part of Ruta graveolens on immature female Balb/C mice. Physiol Pharmacol 2009;13(3):279-87.
20. Preethi K, Kuttan G, Kuttan R.Anti-tumour activity of Ruta graveolens extract. Asian Pacific J Cancer Prevention 2006;7(3):43.9
21. Réthy B, Zupkó I, Minorics R, Hohmann J, Ocsovszki I, Falkay G. Investigation of cytotoxic activity on human cancer cell lines of arborinine and furanoacridones isolated from Ruta graveolens. Planta Med 2007;73(1):41–8.

Original Article

EFFECTS OF RUTA GRAVEOLENS (RG) AQUEOUS EXTRACT ON DIAMETRE AND NUMBER OF DIFFERENT OVARIAN FOLLICLES IN MICE

Aref Hoshyari[1], Golamreza Najafi[2], Rajabali Sadrkhanlo[3], Leila Zarei[4]*

Received: 8 May, 2015; Accepted: 20 Jul, 2015

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 1:50 +0330 on Saturday September 23rd 2017

Abstract

Background & Aims: Ruta Graveolens (RG) commonly called sodab has been known as a medicinal herb since ancient times.RG (Sodab) is traditionally used as contraceptive and occasionally for induction of abortion in humans.However, little is known about its anti-fertility property.This work aimed to study the anti-fertility properties of RG aqueous extract using histomorphometry method.

Materials & Methods: The study was performed on 24 female mice that were divided into two groups as control and RG.The control group received normal saline 0.2 ml and the RG group received 300 mg/kg aqueous extract of RG per day, orally for 14 days.On days 17 (week 1), 24 (week 2) and 31 (week 3) after treatment, Histomorphometric studies were conducted on the ovary tissue.The number of follicles and its diameters were measured.

Results: We found that RG extract reduced the number of mature follicles, and increased the number of immature follicles.The findings revealed that RG extract reduced follicle diameter in mice, when compared to the control group.

Conclusion: It was found that the aqueous extract of RG interfere with follicle development and reduced fertilizing ability in female mice.

Keywords: Follicles, Rutagraveolens, Mice, Anti-fertility

Address: Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran
Tel: +98 44 32770508
Email:A.hoshyari.vet@gmail.com

SOURCE: URMIA MED J 2015: 26(6): 512 ISSN: 1027-3727

[1]*Department of Anatomy, Histology and Embryology, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran (Corresponding Author)*
[2]*Assistant Professor, Department of Anatomy, Histology and Embryology, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran*
[3]*Professor, Department of Histology and Embryology, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran*
[4]*Assistant Professor, Solid Tumor Research Center, Department of Histology, Faculty of Medicine, Urmia University, Urmia, Iran*