

## مطالعه اثر عصاره هیدروالکلی ریشه گیاه شیرین بیان بر ساختار بافت‌شناسی شاخ رحم و میزان هورمون تستوسترون سرمی در موش‌های سوری مبتلا به هایپراندروژنیسم ناشی از سندروم تخمدان پلی‌سیستیک تجربی

عباس احمدی<sup>\*</sup>، مصطفی مصطفوی<sup>۲</sup>

تاریخ دریافت 1394/04/23 تاریخ پذیرش 1394/06/25

### چکیده

**پیش‌زمینه و هدف:** سندروم تخمدان پلی‌سیستیک (PCOS) شایع‌ترین ناهنجاری آندوکرینی با علتی ناشناخته است که ۵ الی ۱۰ درصد زنان را در سنین باروری مبتلا می‌سازد. قابل‌استنادترین نشانه برای وجود تخمدان پلی‌سیستیک، افزایش آندروژن‌های خونی (هایپراندروژنیسم) می‌باشد که باعث ایجاد عوارضی مانند قاعدگی نامنظم، پرمویی، عدم تخمک‌گذاری، نقص در لانه‌گزینی و غیره می‌شود هدف از این مطالعه بررسی اثر شیرین بیان بر عوارض بافتی و هورمونی هایپراندروژنیسم ایجاد شده توسط PCOS تجربی می‌باشد.

**مواد و روش کار:** ۶۰ قطعه موش سوری به ۶ گروه تقسیم شدند: گروه‌های کنترل، هایپراندروژن، تیمار ۱ (۱۵۰ mg/kg)، تیمار ۲ (۳۰۰ mg/kg)، تیمار ۳ (۴۵۰ mg/kg) و تجویز شیرین بیان تنها با دوز ۴۵۰ mg/kg صورت گرفت. گروه‌های هایپراندروژن و تیمار ۲۱ روز متوالی لتروزول با دوز ۲ mg/kg از طریق خوراکی دریافت کردند. گروه‌های تیماری دو ساعت بعد عصاره را از طریق خوراکی دریافت کردند. بعد از پایان دوره درمان بعد از بی‌هوشی از حیوانات خون‌گیری و نمونه‌های سرمی جهت مطالعات هورمونی تهیه شد. بعد از آسان‌کنشی نمونه‌های شاخ رحم جهت مطالعات بافتی در نظر گرفته شد.

**یافته‌ها:** مقایسه نتایج گروه‌های مختلف نشان داد که در گروه هایپراندروژن پارامترهای بافت‌شناسی شاخ رحم شامل قطر، ضخامت دیواره، اپیتلیوم و آندومتر رحم به‌شدت افت کرده بود. همچنین نتایج حاصل از بررسی آزمایشات هورمونی نیز نشان‌دهنده افزایش میزان هورمون تستوسترون در گروه‌های دریافت‌کننده لتروزول بود. عصاره شیرین بیان توانسته بود اثرات محافظتی نسبی داشته باشد ( $P < 0/05$ ).

**بحث و نتیجه‌گیری:** به‌طور کلی می‌توان نتیجه گرفت که تجویز عصاره هیدروالکلی شیرین بیان در دوز مناسب، به دلیل مواد مؤثره مختلف از جمله خاصیت آنتی‌اکسیدانتی خود اثرات سوء هایپراندروژنیسم بر دستگاه تناسلی موش ماده را بهبود بخشیده است.

**واژگان کلیدی:** سندرم تخمدان سیستیک، هایپراندروژنیسم، رحم، لتروزول، شیرین بیان

مجله پزشکی ارومیه، دوره بیست و ششم، شماره هفتم، ص 581-571، مهر 1394

آدرس مکاتبه: ارومیه، دانشگاه ارومیه، دانشکده دامپزشکی، گروه علوم پایه، تلفن: شماره تماس: ۰۹۱۴۱۴۹۸۵۲۴

Email: abbasahmadi60@yahoo.com

### مقدمه

آندوکرینی با علت ناشناخته است که ۵ الی ۱۰ درصد زنان را در سنین باروری مبتلا می‌سازد. این سندرم به دلایل مختلفی ایجاد می‌شود و عوارض متابولیکی، آندوکرینی و جنسیتی ایجاد می‌کند و از اصلی‌ترین و قابل‌استنادترین نشانه برای وجود تخمدان پلی‌سیستیک افزایش آندروژن‌های خونی می‌باشد اگرچه تصویر سونوگرافی از تخمدان و یا عوارض ظاهری ایجاد شده نیز در تخمدان پلی‌کیستیک دیده می‌شود.

بیماری‌های دستگاه تناسلی و یا سایر بیماری‌هایی که به نحوی بر روی عملکرد این دستگاه تأثیر می‌گذارند می‌توانند منجر به بروز ناباروری‌های موقتی یا دائمی گردند. امروزه بسیاری از مکانیسم‌هایی که باعث بروز اختلال در عملکرد طبیعی دستگاه تناسلی می‌گردند شناسایی شده‌اند. سندروم تخمدان پلی‌سیستیک<sup>۱</sup> (PCOS) شایع‌ترین ناهنجاری

<sup>۱</sup> استادیار، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران (نویسنده مسئول)

<sup>۲</sup> دانشجوی دکتری دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

<sup>۳</sup> Polycystic ovary syndrome

می‌کند. فعالیت ضد باکتریایی گلابریدین بر روی هلیکوباکتر پیلوری در شرایط آزمایشگاهی ثابت شده است. همچنین عصاره هیدروالکلی شیرین بیان اثر ضد باکتریایی خود را روی پنج باکتری از جمله *E.coli* نشان داده است. اثرات ضدویروسی گلیسیرینیک اسید هم مشخص شده است. اثر ضد توموری عصاره الکی ریشه شیرین بیان روی سلول‌های سرطانی سینه در انسان با جلوگیری از تقسیم سلولی در مرحله GI می‌باشد و نیز گلیسیرینیک اسید می‌تواند باعث شروع آپتوز سلول‌های توموری از طریق آسیب به میتوکندری گردد. عصاره آبی آن در موش سوری اثر ضدافسردگی دارد. مرکز ملی سرطان ریشه شیرین بیان را به‌عنوان ماده پیشگیری‌کننده از سرطان معرفی کرده است. اثر ضد تشنجی عصاره الکی آن نیز ثابت شده است (۵). ریشه شیرین بیان باعث کاهش تستسترون در زنان و مردان سالم می‌شود (۶،۷،۸). اما نتوانسته تستوسترون بزاقی را به‌طور معنی‌داری کاهش دهد. همچنین تخمک‌گذاری منظم و بارداری را در زنان نابارور با آندروژن بالا ایجاد کرده است (۹). گلابریدین و گلابرن که فیتواسترون می‌باشند با افزایش مصرف انرژی، افزایش حساسیت به انسولین و خاصیت آنتی‌اکسیدان باعث کاهش وزن می‌شوند (۱۰). گلابرن بیشتر از گلابریدین به گیرنده‌های استروژن انسانی می‌چسبد به همین دلیل ایزوفلاونوئیدها به‌عنوان استروژن‌های طبیعی در جلوگیری از بیماری‌های کمبود استروژن مؤثر است (۱۱). در طب چینی قدیم ریشه شیرین بیان برای درمان علائم مربوط به یائسگی استفاده می‌شد ولی هیچ‌گونه مدرک علمی برای آن ثابت نشده است. علاوه بر آن فعالیت ۱۱-بتاهیدروکسیژناز ۲ به‌صورت داخل و خارج آزمایشگاهی توسط گلیسیرینیک اسید با دو مکانیسم رقابتی مستقیم و جلوگیری از ترجمه این آنزیم بلاک می‌شود (۱۲). شیرین بیان در متابولیسم آستروئیدها با مکانیسم‌های مختلفی عمل می‌کند. مصرف عصاره شیرین بیان و گلیسیرینیک اسید با جلوگیری از فعالیت ۱۱-بتاهیدروکسیژناز یک می‌تواند باعث کاهش چربی در انسان شود. در رابطه با خواص آنتی‌اکسیدانی شیرین بیان قابل ذکر است که اجزاء اصلی آنتی‌اکسیدانی شیرین بیان *A, B, C, D licochalcone* و *echinatin* در پروکسیداسیون میکروزمال چربی القاشده توسط *Fe(III)-AOP/NADPH* مؤثر بوده و *licochalcone B, D* فعالیت شدید آنتی‌اکسیدانی و ضدعفونی سوپراکسید را نشان دادند. از طرفی مشتقات ایزوفلاونی شیرین بیان مانند گلابریدین از پروکسیداسیون چربی در میکروزوم‌های کبدی رت جلوگیری کردند و عملکردهای میتوکندریال را از استرس‌های اکسیداتیو محافظت نمودند. به‌ویژه *Hispaglabridin A* فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی را در مقابل پروکسیداسیون القاء شدن توسط

در هر صورت وجود دو مورد از سه مورد ذکر شده برای اثبات وجود PCOS در یک فرد یا حیوان لازم است. در افراد PCOS قاعدگی نامنظم، پرمویی، عدم تخمک‌گذاری، نقص در لانه‌گزینی و سقط جنین، هایپرپلازی و سرطان آندومتر رحم دیده می‌شود. داروهای غیراستروئیدی نسل سوم مهارکننده آروماتاز، مانند داروی لتروزول<sup>۱</sup>، در درمان بسیاری از بیماری‌ها مانند اختلالات دوران یائسگی در زنان و یا القای تخمک‌گذاری در زنان با استروژن بالا استفاده می‌شوند. لتروزول توسط مکانیسم رقابتی اتصال به گروه هم آنزیم از تبدیل شدن آندروژن‌ها به استروژن جلوگیری می‌کند. از این دارو جهت تقویت آندومتر بافت رحم به هنگام لانه‌گزینی در لقاح آزمایشگاهی نیز استفاده می‌شود (۱). از آنجایی که تجویز لتروزول سبب افزایش آندروژن سرمی می‌شود، در تحقیق حاضر از این دارو به‌عنوان عاملی مناسب جهت شبیه‌سازی شرایط PCOS در بدن استفاده شد. از اثرات جانبی درمان با این دارو می‌توان به کاهش تراکم استخوانی و افزایش HDL و LDL (۲) اشاره کرد. همچنین در مطالعه‌ای نشان داده شده است که اثرات مخرب بر ارگانوژن جنین جوندگان داشته است (۳).

پیدایش استفاده از گیاهان به‌منظور درمان بیماری‌ها، با تاریخ زندگی بشر هم‌زمان است. گونه‌های شیرین بیان از اولین گیاهان دارویی بومی مورداستفاده در منطقه مدیترانه، مرکز تا جنوب روسیه و آسیا بخصوص در ایران بوده است، به‌طوری‌که هم‌اکنون در سرتاسر جهان گسترش یافته است. سابقه تاریخی ۲۵۰۰ ساله استفاده از شیرین بیان آن را به "پدر بزرگ گیاهان دارویی" معروف کرده است. گونه‌های شیرین بیان استفاده تاریخی و جهانی داشته‌اند به‌ویژه گونه *glabra* با واریته *violacea* که در ایران و ترکیه مورداستفاده قرار می‌گیرد. در ایتالیا و روسیه نیز دو واریته دیگر از این گونه استفاده می‌شود. مواد فعال آن شامل ساپونین‌ها، فلاونوئیدها و ایزوفلاونوئیدها، کومارین‌ها، استیل بنوئیدها و سایر ترکیبات چون اسیدهای چرب، فنول‌ها، اسپارژین، گلوکز، ساکاروز و استرون می‌باشند. اصلی‌ترین مؤثر آن، *glycyrrhizinic acid* (جزء ساپونین‌ها) و *glabridin* (جزء ایزوفلاونوئیدها) *Isoliquiritigenin* (جزء فلاونوئیدها) می‌باشند. در قدیم برای زخم معده، یبوست، سرفه، درمان زخم، دیابت، دل‌درد، سنگ کلیه، بهبود صدا و حتی در جوامع مسلمان برای رفع تشنگی در ماه رمضان مورداستفاده قرار می‌گرفت. فعالیت ضدالتهابی بتاگلیسیرینیک اسید که با جلوگیری از متابولیسم گلوکو کورتیکوئیدها در پوست و ریه بعد از درمان تجربی با آن نشان داده شده است. همچنین از تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن جلوگیری

<sup>1</sup>tetrozole

این تحقیق، ۸۴ قطعه موش سوری ماده در ۶ گروه مختلف تقسیم‌بندی شدند که این گروه‌ها عبارت بودند از:

گروه کنترل: این گروه شامل موش‌هایی بود که به آن‌ها ۰/۲ میلی‌لیتر آب مقطر و بعد از دو ساعت ۰/۴ میلی‌لیتر آب به صورت خوراکی با سوند گاواژ به مدت ۲۱ روز تجویز شد.

گروه هایپراندرژنیسم: موش‌های این گروه توسط داروی لتروزول با دوز ۲mg/kg، حل شده در ۰/۲ میلی‌لیتر آب مقطر و به مدت ۲۱ روز گاواژ شدند.

گروه هایپراندرژنیسم و درمان شده توسط عصاره هیدروالکلی ریشه شیرین‌بیان با دوز ۱۵۰mg/kg: موش‌های این گروه به همراه هایپراندرژنیسم ایجاد شده، به مدت ۲۱ روز از طریق گاواژ تحت درمان روزانه عصاره ریشه گیاه شیرین‌بیان با دوز ۱۵۰mg/kg حل شده در ۰/۴ میلی‌لیتر آب قرار گرفتند.

گروه هایپراندرژنیسم و درمان شده توسط عصاره هیدروالکلی ریشه شیرین‌بیان با دوز ۳۰۰mg/kg: موش‌های این گروه به همراه هایپراندرژنیسم، به مدت ۲۱ روز از طریق گاواژ تحت درمان روزانه عصاره ریشه گیاه شیرین‌بیان با دوز ۳۰۰mg/kg حل شده در ۰/۴ میلی‌لیتر آب قرار گرفتند.

گروه هایپراندرژنیسم و درمان شده توسط عصاره هیدروالکلی ریشه شیرین‌بیان با دوز ۴۵۰mg/kg: موش‌های این گروه به همراه هایپراندرژنیسم، به مدت ۲۱ روز از طریق گاواژ تحت درمان روزانه عصاره ریشه گیاه شیرین‌بیان با دوز ۴۵۰mg/kg حل شده در ۰/۴ میلی‌لیتر آب قرار گرفتند.

گروه درمان شده با دوز ۴۵۰mg/kg عصاره هیدروالکلی ریشه شیرین‌بیان: این گروه فقط تحت تجویز خوراکی با دوز یاد شده عصاره، حل شده در ۰/۴ میلی‌لیتر آب قرار گرفتند.

برای عصاره شیرین‌بیان، عصاره هیدروالکلی ریشه گیاه شیرین‌بیان گونه *Glycyrrhiza glabra violacea* تهیه شد.

در این تحقیق، برای ایجاد هایپراندرژنیسم تجربی در موش‌های سوری ماده ۶-۸ هفته‌ای، با گاواژ روزانه ۲ mg/kg لتروزول (ساخت شرکت داروسازی سپا) حل شده در ۰/۲ میلی‌لیتر به مدت بیست و یک روز استفاده شد. این دارو به صورت پودر بوده و هر چهار روز یکبار میزان داروی لازم در آب مقطر کافی با دستگاه سونیکاتور<sup>۱</sup> حل شده و در یخچال نگهداری می‌شد. یک ساعت پس از گاواژ، غذا در اختیار قرار گرفت. در ابتدای دوره برای حصول اطمینان از سالم و منظم بودن سیکل جنسی با توجه به سیکل جنسی موش رات که ۳-۵ روز می‌باشد اسمیر واژینال به مدت چهار روز تهیه و با میکروسکوپ بررسی شده و در صورت

Fe-ascorbate نشان داد. علاوه بر آن گلابریدین که یک ایزوفلاون مشتق از شیرین‌بیان است، به عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی در مقابل اکسیداسیون LDL در مطالعات داخل آزمایشگاهی و خارج آزمایشگاهی بود. مصرف شیرین‌بیان یا گلابریدین توسط موش‌های آترواسکروتیک با نقص آپولیپوپروتئین ای به طور قابل توجهی اکسیداسیون LDL و پیشرفت ضایعات آترواسکروتیک را کاهش داد. به نظر می‌رسد که گلابریدین به علت دو مکانیسم دارای این خاصیت است: اول اینکه به LDL باند می‌شود و از اکسیداسیون آن محافظت می‌کند. گروه‌های هیدروکسیل روی حلقه B گلابریدین موثرترین اجزاء در خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن می‌باشند. دوم اینکه در سلول‌هایی مانند ماکروفاژها تجمع می‌یابد و از طریق کاهش فعالیت NADPH اکسیداز و افزایش گلوکوتایون سلولی (GSH)، باعث کاهش استرس اکسیداتیو سلولی می‌شود. عصاره شیرین‌بیان در تجویز موضعی خاصیت آنتی‌اکسیدان و از بین بردن رادیکال‌های آزاد را نشان داد و ممکن است در تجویز موضعی برای محافظت پوست در برابر رادیکال‌های آزاد و انواع اکسیژن غیرفعال به کار رود (۵).

از سایر عصاره‌ها یا اسانس‌ها هم برای درمان این سندرم استفاده شده است. مثلاً رضوانفر و همکاران از ترکیب سه عصاره گیاهی و سلنیوم روی همین مدل هایپراندرژنیسم اثرات درمانی موفقی به دست آورده‌اند (۱۹). استفاده از موم زنبور اثر در سندرم القاشده با استرادیول والرات در رت باعث کاهش چربی خون ناشی از افزایش آندروژن‌ها بوده است (۲۱).

همچنین استفاده از داروهای سنتی چینی در زنان مبتلا به سندرم با مکانیسم‌های مختلفی علائم مربوط را بهبود بخشیده است (۲۲). حتی در برخی موارد محققان و پزشکان چینی و کره‌ای استفاده از طب سوزنی را به همراه درمان‌های گیاهی جایگزین جراحی‌های درمانی معمول کرده‌اند (۲۳،۲۴). در این مطالعه نیز اثرات درمانی عصاره ریشه شیرین‌بیان در سندرم نخمدانی پلی‌کیستیک ایجاد شده توسط لترازول استفاده شد

## مواد و روش کار

در این تحقیق از موش‌های سوری ماده بالغ ۶-۴ هفته‌ای با وزن ۱۸-۲۰ گرم جهت ایجاد هایپراندرژنیسم تجربی استفاده شده است. این حیوانات تحت شرایط ۱۴ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت تاریکی و درجه حرارت ۲۲±۲ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. موش‌ها هر روز توسط غذای مخصوص تغذیه می‌شدند و آب به میزان نیاز در دسترس آن‌ها قرار می‌گرفت. تمامی حیوانات پس از گروه‌بندی به مدت ۲ هفته به منظور حذف عامل استرس و عادت کردن به شرایط، در شرایط استاندارد نگهداری شدند. برای انجام

<sup>۱</sup>sonycator

مقایسه میانگین قطر ضخامت دیواره رحم در گروه‌های مختلف:

ضخامت دیواره رحم در گروه تیمار ۲ افزایش معنی‌داری نسبت به گروه لئروزول داشت. در گروه عصاره تنها قطر دیواره رحم نسبت به همه گروه‌ها - به جز گروه کنترل - افزایش معنی‌داری دارد. سایر گروه‌ها فاقد اختلاف معنی‌دار با یکدیگر بودند. ( $p < 0.05$ ) (جدول ۱)

مقایسه میانگین قطر ضخامت اپی‌تلیوم رحم در گروه‌های مختلف:

این مقایسه نشان داد که قطر ضخامت اپی‌تلیوم فقط در گروه عصاره تنها نسبت به ۵ گروه قبلی افزایش معنی‌داری داشت ( $p < 0.05$ ) (جدول ۱). و در مقایسه سایر گروه‌ها با یکدیگر اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد.

مقایسه میانگین قطر ضخامت میومتر رحم در گروه‌های مختلف:

در گروه‌های دریافت‌کننده لئروزول و تیمار ۱ کاهش قطر معنی‌داری نسبت به گروه کنترل دیده شد. در گروه‌های تیمار ۳ و عصاره تنها افزایش قطر معنی‌داری نسبت به گروه لئروزول وجود داشت. در گروه عصاره تنها قطر میومتر نسبت به همه گروه‌ها افزایش معنی‌داری دارد ( $p < 0.05$ ) (جدول ۱).

مقایسه میانگین ضخامت آندومتر رحم در گروه‌های مختلف: در گروه دریافت‌کننده لئروزول کاهش ضخامت معنی‌داری نسبت به گروه کنترل دیده شد. گروه‌های تیمار ۱ و ۲ افزایش قطر معنی‌داری نسبت به گروه لئروزول دارند. درحالی که در گروه تیمار ۳ نسبت به گروه‌های قبلی کاهش ضخامت معنی‌داری وجود دارد. در گروه عصاره تنها قطر ضخامت آندومتر نسبت به همه گروه‌ها افزایش معنی‌داری دارد ( $p < 0.05$ ) (جدول ۱).

مقایسه میانگین تعداد انشعابات غدد آندومتر رحم در گروه‌های مختلف:

این مقایسه نشان داد که تعداد انشعابات غدد آندومتر رحم فقط در گروه عصاره تنها نسبت به ۴ گروه قبلی افزایش معنی‌داری دارد، اما این افزایش نسبت به گروه تیمار ۲ معنی‌دار نیست ( $p < 0.05$ ) (جدول ۱). سایر گروه‌ها فاقد اختلاف معنی‌دار با یکدیگر بودند.

سالم بودن به صورت تصادفی در گروه‌ها قرار گرفتند. پس از طی مدت زمان ۲۱ روز، موش‌ها جهت مراحل بافتی آماده شدند. بدین منظور، موش‌های ماده با توجه به PCOS بودن تا حد امکان در مرحله مشابهی از از سیکل جنسی بعد از بی‌هوشی، نمونه‌های خونی از طریق خون‌گیری از قلب اخذ و پس از سانتریفیوژ (۳۰۰۰ درو به مدت ۱۰ دقیقه) و جدا سازی سرم‌ها، نمونه‌های سرمی به وسیله سمپلر به میکروتیوپ‌های استریل منتقل شده و در برودت ۲۰- درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. در نهایت، میزان هورمون تستوسترون به روش الکتروکمیولومینسنس (ECL) اندازه‌گیری شد. سپس حیوانات با استفاده از روش جابه‌جایی گردن کشته شدند و پس از باز نمودن محوطه شکمی رحم آن‌ها جدا شد و برای بررسی هیستولوژی داخل محلول فیکساتیو بوئن قرار گرفتند. جهت بررسی لام‌های مربوط به شاخ‌های رحم نیز فاکتورهای: قطر شاخ رحم، ضخامت دیواره شاخ رحم، ضخامت آندومتر شاخ رحم، ضخامت پری‌متر، میومتر و اپی‌تلیوم توسط عدسی مدرج و تعداد انشعابات غدد آندومتر رحم توسط عدسی مشبک اندازه‌گیری و مقایسه شد. (لازم به ذکر است جهت اطمینان از ایجاد PCOS توسط لئروزول بررسی وضعیت تخمدان صورت گرفت).

نهایتاً نتایج بدست آمده شامل اندازه‌گیری ضخامت بخش‌های مختلف رحم، مقایسه نتایج ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و میزان هورمون تستوسترون توسط نسخه ۱۸ نرم‌افزار SPSS (IBM CO. USA) و روش آماری One way ANOVA و تست تعقیبی Tukey با ضریب اطمینان  $P < 0.05$  انجام شده و میانگین و انحراف معیار آن‌ها بدست آمد. نمودارها و جداول با نرم افزار Microsoft Office Ecell, 2010 تنظیم شدند.

## یافته‌ها

بررسی مورفولوژی شاخ رحم: در بررسی شاخ رحم در گروه‌های مختلف؛ قطر کلی رحم، ضخامت میومتر، ضخامت آندومتر، ضخامت اپی‌تلیوم و تعداد انشعابات غدد آندومتر اندازه‌گیری شد ( $p < 0.05$ ) (جدول ۱).

مقایسه میانگین قطر کلی رحم در گروه‌های مختلف:

در گروه دریافت‌کننده لئروزول کاهش قطر معنی‌داری نسبت به گروه کنترل دیده شده است. قطر کلی رحم در گروه‌های تیمار ۱ و ۲ افزایش معنی‌داری نسبت به گروه لئروزول داشته است. در گروه عصاره تنها، قطر کلی رحم نسبت به همه گروه‌ها افزایش معنی‌داری دارد ( $p < 0.05$ ) (جدول ۱).

<sup>1</sup>Electrochemiluminescence

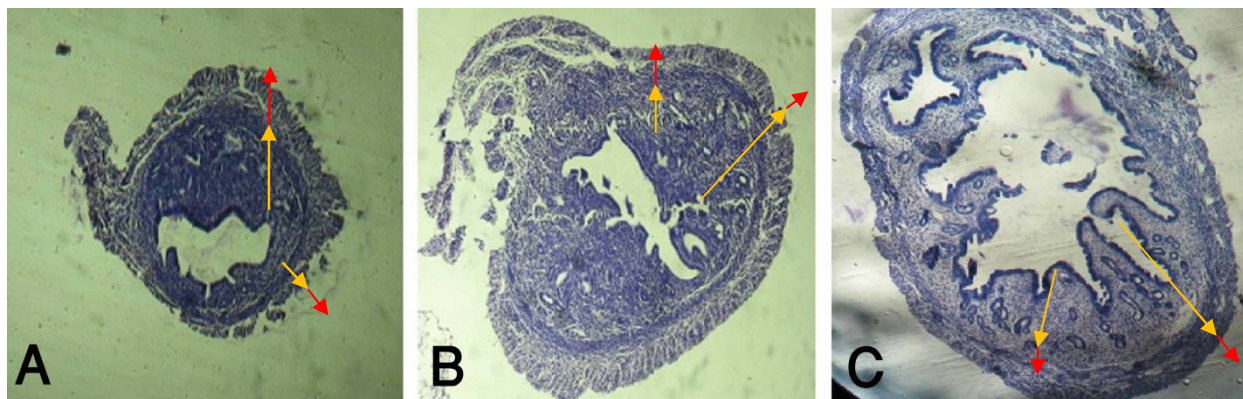
**جدول (۱):** میانگین قطر بخش‌های مختلف شاخ رحم و تعداد انشعابات غدد آندومتر.

گروه	قطر کلی رحم μm	ضخامت دیواره μm	ضخامت اپی تلیوم μm	ضخامت میومتر μm	ضخامت آندومتر μm	تعداد انشعابات غدد آندومتر
کنترل	1013/45 ± 13/36	603/99 ± 9/8	16/25 ± 0/25	141/40 ± 3/46	286/94 ± 49/45	8/5 ± 0/65
لتروزول	891/22 <sup>a</sup> ± 2/28	317/91 <sup>a</sup> ± 7/53	13/99 ± 0/43	102/45 <sup>a</sup> ± 4/49	200/79 <sup>a</sup> ± 11/03	8/5 ± 0/65
لتروزول + ۱۵۰ شیرین بیان	999/885 <sup>b</sup> ± 43/29	333/65 <sup>a</sup> ± 6/59	17/00 ± 0/26	115/13 <sup>a</sup> ± 1/97	261/84 <sup>b</sup> ± 9/85	8/25 ± 0/48
لتروزول + ۳۰۰ شیرین بیان	1128/75 <sup>abc</sup> ± 21/83	432/35 <sup>abc</sup> ± 26/91	16/32 ± 0/07	131/66 <sup>b</sup> ± 6/91	302/13 <sup>cb</sup> ± 11/71	11 ± 0/41
لتروزول + ۴۵۰ شیرین بیان	888/32 <sup>acd</sup> ± 5/42	315/18 <sup>ad</sup> ± 6/7	16/03 ± 0/24	121/66 <sup>b</sup> ± 1/55	189/85 <sup>acd</sup> ± 10/67	10/5 ± 0/65
۴۵۰ mg/kg شیرین بیان	1643/98 <sup>abcde</sup> ± 27/71	653/49 <sup>bode</sup> ± 1/56	40/69 <sup>abcde</sup> ± 2/12	186/25 <sup>abcde</sup> ± 2/28	391/78 <sup>abcde</sup> ± 9/04	13/75 <sup>abcde</sup> ± 0/85

a: معنی دار بودن گروه مورد نظر نسبت به گروه کنترل / b: معنی دار بودن گروه مورد نظر نسبت به گروه لتروزول

c: معنی دار بودن گروه مورد نظر نسبت به گروه تیمار ۱ / d: معنی دار بودن گروه مورد نظر نسبت به گروه تیمار ۲

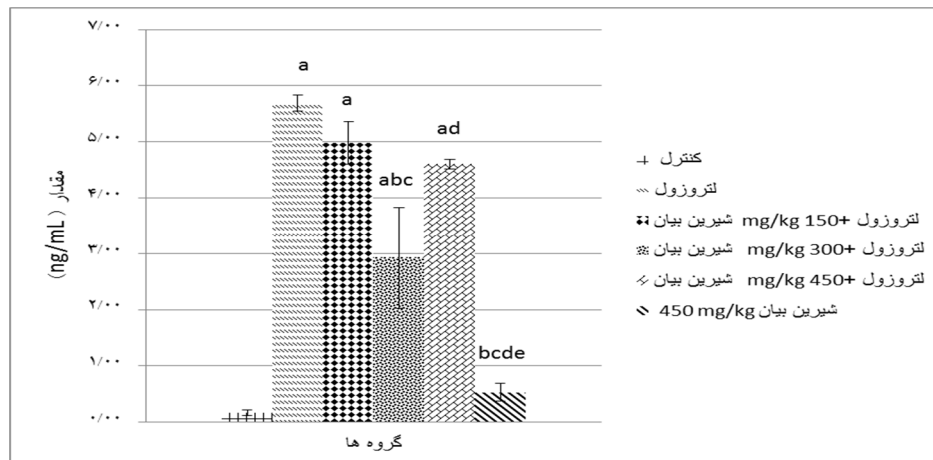
e: معنی دار بودن گروه مورد نظر نسبت به گروه تیمار ۳

**تصویر (۱):**

مورفولوژی رحم گروه‌های لتروزول (A)، تیمار ۲ (B) و عصاره تنها (C). که نشان دهنده تغییرات مورفولوژی رحم از نظر قطر کلی، ضخامت دیواره، آندومتر (→) و میومتر (→) در گروه‌های مختلف، رنگ آمیزی H&E، بزرگنمایی ۴۰ ×

نتایج بررسی هورمون تستوسترون:  
همه گروه‌های دریافت کننده لتروزول (لتروزول و تیماری)، افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل داشته‌اند. گروه عصاره تنها هم افزایش جزئی نسبت به گروه کنترل داشته است. گروه تیمار ۲ توانسته بهترین کاهش میزان تستوسترون را حتی نسبت به گروه ۳ تیمار داشته‌باشد (p<0.05، نمودار ۱).

نتایج بررسی هورمون تستوسترون:  
همه گروه‌های دریافت کننده لتروزول (لتروزول و تیماری)، افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل داشته‌اند. گروه عصاره تنها هم افزایش جزئی نسبت به گروه کنترل داشته است. گروه تیمار ۲ توانسته بهترین کاهش میزان تستوسترون را حتی نسبت به گروه ۳ تیمار داشته‌باشد (p<0.05، نمودار ۱).



نمودار (1): میزان تستوسترون در گروه‌های مختلف

a: معنی دار بودن گروه مورد نظر نسبت به گروه کنترل، b: معنی دار بودن گروه مورد نظر نسبت به گروه لوتروزول، c: معنی دار بودن گروه مورد نظر نسبت به گروه تیمار ۱، d: معنی دار بودن گروه مورد نظر نسبت به گروه تیمار ۲، e: معنی دار بودن گروه مورد نظر نسبت به گروه تیمار ۳.

درمان سندرم تخمدان پلی‌سیستیک به علت اتیولوژی ناشناخته و بروز سایر علائم کلینیکی، کار مشکلی است. گاهی فقط به درمان علائم ثانویه چون پرمویی بسنده می‌شود اما برای درمان آن شناخت کامل فاکتورهای مختلف مؤثر در بیماری مهم است تا علائم بیشتری بهبود یابند. درمان متداول با داروهای شیمیایی صورت می‌پذیرد، اما داروهای شیمیایی صرفاً با یک مکانیسم به مقابله با سندرمی چنین پروسعت می‌پردازند لذا به نظر می‌رسد استفاده از داروهای گیاهی که حاوی چندین ماده مؤثره هستند، در دوز مناسب نتیجه بهتری در پی داشته باشد (۱۷). البته در تحقیقات بالینی استفاده همزمان دو داروی شیمیایی و گیاهی هم کاربرد دارد که بیشتر برای کاهش عوارض جانبی داروی شیمیایی و گاهی اثر سینرژیستی آن دو است (۱۸).

از سایر عصاره‌ها یا اسانس‌ها هم برای درمان این سندرم استفاده شده است. مثلاً رضوانفر و همکاران از ترکیب سه عصاره گیاهی و سلنیوم روی همین مدل هایپراندریژنیسم اثرات درمانی موفق‌تری به دست آورده‌اند (۱۹). استفاده از سایر داروهای گیاهی برای کاهش عوارض متابولیک سندرم، مفید گزارش شده است. مثلاً استفاده از گیاه *Labisiapumila* اثر مفیدی روی سندرم القاشده با دی‌هیدروتستوسترون در رت داشته است (۲۰). استفاده از موم زنبور اثر در سندرم القاشده با استرادیول والرات در رت باعث کاهش چربی خون ناشی از افزایش آندروژن‌ها بوده است (۲۱).

همچنین استفاده از داروهای سنتی چینی در زنان مبتلا به سندرم با مکانیسم‌های مختلفی علائم مربوط را بهبود بخشیده

## بحث و نتیجه‌گیری

سندرم تخمدان پلی‌سیستیک (PCOS) به‌عنوان یکی از عوامل ناباروری در سطح جامعه است که ۱۰-۱۵٪ زنان در سن تولید مثل را درگیر می‌کند. اهمیت این سندرم از چندین جهت قابل توجه است: مهم‌ترین اختلال هورمونی است که زنان را درگیر می‌کند، به‌عنوان یک سندرم، علل متفاوت و ناشناخته‌ای در بروز آن نقش دارند، علائم بالینی و شدت آن در بیماران مختلف متفاوت است. البته مطالعات زیادی برای یافتن علل آن صورت پذیرفته است اما همچنان چهره غامض خویش را حفظ کرده است (۱۳).

در ۶۰-۸۰ درصد بیماران مبتلا به این سندرم افزایش آندروژن خونی دیده می‌شود. البته باید یادآور شد که علت این افزایش دقیقاً مشخص نیست؛ محققان و پزشکان بالینی هم هنوز کاملاً مطمئن نیستند با اندازه‌گیری کدام یک از خانواده آندروژن‌ها یا استفاده از کدام تکنیک اندازه‌گیری، افزایش آندروژن خون را تأیید کنند (۱۴). اما در حال حاضر اصلی‌ترین مورد، اندازه‌گیری تستوسترون آزاد خون است چرا که در زنان PCOS اکثراً مقادیر این عضو خانواده آندروژن‌ها بالاست (۱۵).

لذا در مطالعه حاضر سعی شده برای ایجاد سندرم افزایش آندروژن خون با مکانیسمی شناخته شده ایجاد شود و درمان آن نیز بر اساس مطالعات و تحقیقات گذشته با داروی گیاهی صورت گیرد که علاوه بر سابقه استفاده چهار هزار ساله در ناباروری زنان، نحوه اثرات آن بر باروری همچنان مورد تحقیق است (۱۶).

است (۲۲). حتی در برخی موارد محققان و پزشکان چینی و کره‌ای استفاده از طب سوزنی را به همراه درمان‌های گیاهی جایگزین جراحی‌های درمانی معمول کرده‌اند (۲۳، ۲۴).

عصاره شیرین‌بیان در آمریکا به‌عنوان مکمل مطمئن توسط FDA<sup>۱</sup> برای محصولات مختلف غذایی، دارویی و غیره تأیید شده است (۲۵). اما تحقیقات و مطالعات اخیر نسبت به مصرف مزمن آن هشدار می‌دهند. سیمونز و همکاران خاصیت آنتاگونیستی گلابریدین و گلابرن موجود در عصاره شیرین‌بیان را روی گیرنده‌های استروژن در محیط داخل آزمایشگاهی نشان داده‌اند (۲۶). همچنین عمر و همکاران با بررسی مصرف شربت ریشه شیرین‌بیان در ماه رمضان توسط مصری‌ها نسبت به استفاده مکرر و زیاد از آن به علت عوارض روی غده فوق کلیه هشدار داده‌اند (۲۷).

افزایش تستوسترون باعث کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و نیز غیرآنزیمی می‌گردد. الکتان و همکاران در مطالعه بالینی در زنان PCOS با تستوسترون بالا نشان داده‌اند که میزان آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی بخصوص ویتامین‌های A, C, E کاهش می‌یابد (۲۸). در زنان با تستوسترون بالا، استرس اکسیداتیو افزایش یافته است (۲۹). بلگوروسکی و همکاران کاهش فعالیت SOD را در تخمدان و سرم موش‌های سوری‌هایپراندرژن را نشان داده‌اند ولی تغییری در مقادیر GSH مشاهده نکرده‌اند (۳۰). میزان رادیکال‌های آزاد اکسیژن که بر اثر افزایش آندرژن در تخمدان زنان مبتلا بالا رفته است می‌تواند انتشار یابد و از غشای سلولی عبور نماید و انواع زیادی از ملکول‌های سلول از جمله لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک را تغییر دهد. اثرات آن متعدد بوده و شامل آسیب‌های میتوکندریایی، بلاک سلولی جنین، نقصان ATP و آپوپتوزیس می‌شود (۳۱).

اثرات تخریبی رادیکال‌های آزاد توسط سیستم درون سلولی مانند GSH، ویتامین C و آنزیم‌هایی مانند سوپراکسید دیسموتاز مهار می‌گردد. در این سندرم به علت افزایش LH و کاهش FSH و به‌طور کلی عدم تعادل هورمونی، محور هیپو تالاموسی-هیپوفیزی-تخمدانی دچار مشکل شده و با وجود تحریک به تخمک‌گذاری توسط PMSG و یا hCG در روند IVF بسیاری از موش‌ها تخمک‌گذاری نمی‌کنند. در این مطالعه میزان تستوسترون سرم گروه‌هایپراندرژن افزایش معنی‌داری نسبت به سایر گروه‌ها داشته است. گرچه در گروه‌های تیماری هم میزان آن در سرم افزایش یافته اما نسبت به گروه دریافت‌کننده لئوروزول کاهش داشته است.

لئوروزول بدون تأثیر بر فعالیت گیرنده‌های انسولین (بر خلاف سایر مدل‌های سندرم) گلوکز خون را افزایش نمی‌دهد یا مقاومت به گلوکز ایجاد نمی‌کند (۲۰). اما علاوه بر تأثیر لئوروزول در جلوگیری از عملکرد آروماتاز، آندرژن نیز باعث افزایش میزان چربی داخل صفاقی در موش‌های اخته، شده است. گرچه خود تستوسترون چنین تاثیری ندارد و سایر اعضای این خانواده باعث افزایش چربی می‌شوند (۳۲). در مقابل عصاره شیرین‌بیان با فلاوونوئیدهای خود باعث کاهش چربی شکم و چربی احشایی می‌گردد (۳۳).

انسولین فعالیت آنزیم ۱۷-آلفا هیدروکسیلاز را که عهده‌دار مرحله‌ای از تولید آندرستندیون از پروژسترون در سلول‌های تک است را افزایش می‌دهد. همچنین تولید آندرژن به واسطه LH و IGF1 را فعال می‌کند و تستوسترون آزاد، تولید SHBG و پروتئین متصل شونده به IGF1 را کاهش می‌دهد. همچنین شیرین‌بیان با تحریک فعالیت آنزیم آروماتاز و داشتن ترکیبی همانند عملکرد آروماتاز، تبدیل دی هیدرواپی آندرستندیون به استرادیول را تسهیل می‌کند (۳۴).

همچنین گلیسرینیک اسید (GA) فعال‌ترین جزء شیرین‌بیان اثر شبه مینرالوکورتیکوئید دارد که این عمل را با بلوکه کردن عمل تیپ ۲ آنزیم بتا هیدروکسی استروئید دهیدروژناز انجام می‌دهد. این آنزیم در کلیه و سایر بافت‌های پوششی هدف آلدسترون، کورتیزون را به کورتیزول تبدیل می‌کند. همچنین این ماده در دستگاه گوارش فعال تر شده می‌تواند به رسپتورهای مینراکورتیکوئیدی به‌عنوان آگونیست کورتیزون‌ها نشسته و با مینرالوکورتیکوئیدهای داخل بدن رقابت کند (۳۵، ۶).

شیرین‌بیان با راهکارهای دیگری هم باعث بهبود عملکرد دستگاه تناسلی می‌گردد. از جمله با مهار فعالیت ۱۷ هیدروکسی استروئید دهیدروژناز و ۱۷ و ۲۰ لیاز که همگی در سنتز خانواده آندرژن از پروژسترون نقش دارند (۳۶).

همچنین اجزای مؤثره شیرین‌بیان با تأثیر در آنزیم‌های دهیدروژناز، دهیدروژناز و آنزیم‌های لیاز در تبدیل خانواده آندرژن‌ها به یکدیگر مؤثر است. به همین دلیل است که سابقه ۴۰۰۰ ساله شیرین‌بیان در دنیا در درمان نازایی غیر قابل انکار است (۱۶). به‌طور عمده GA از فعالیت آنزیم‌های خانواده هیدروکسی استروئید دهیدروژناز که در تولید مینرالوکورتیکوئیدها و آندرژن‌ها دخیل‌اند، جلوگیری می‌کند.

همچنین گلابریدین و گلابرن موجود در شیرین‌بیان به‌عنوان فیتواستروژن عمل کرده و با رقابتی عمل کردن بر روی گیرنده‌های استروژنی برای رفع قاعدگی موثرند (۱۱).

<sup>۱</sup> Food and Drug Administration

استفاده از شربت شیرین بیان که باعث اختلال فعالیت غده فوق کلیه شده است، مطابقت بیشتری دارد (۲۷).

گرچه لتروزول در دوزهای پایین باعث افزایش قطر رحم و آندومتر و لانه‌گزینی بهتر جنین در رحم زنان می‌شود (۳۸)، اما در این مطالعه به علت سمی بودن دوز استفاده شده لتروزول و ایجاد هایپراندریسم قطر رحم و تعداد انشعابات غدد آندومتر نسبت به گروه کنترل کاهش یافته است. آنزیم آروماتاز در آندومتر رحم نیز حضور دارد و با جلوگیری از فعالیت آن استروژن تولیدی کاهش یافته و قطر قسمت‌های مختلف رحم نیز کاهش می‌یابد. شیرین بیان با خواص یاد شده علاوه بر عمل شبه آروماتازی و افزایش تولید استروژن‌ها، خود دارای ترکیبات فیتواستروژنی است که باعث افزایش قطر رحم می‌شوند. در گروه‌های تیماری، گروه تیمار ۲ در افزایش قطر رحم، هم نتایج بهتری از سایر گروه‌های تیماری داشته‌است. گروه تجویز عصاره تنها نیز به دلایل مذکور افزایش قطر زیادی حتی نسبت به گروه کنترل دارد. به‌طور کلی می‌توان نتیجه گرفت که تجویز عصاره هیدروالکلی شیرین بیان در دوز مناسب، به دلیل مواد مؤثره آنتی‌اکسیدانتی خود اثرات سوء هایپراندریسم بر دستگاه تناسلی موش ماده را بهبود بخشیده است.

به‌طور کلی می‌توان نتیجه گرفت که تجویز عصاره هیدروالکلی شیرین بیان در دوز مناسب، به دلیل مواد مؤثره مختلف آن توانسته اثرات سوء هایپراندریسم بر دستگاه تناسلی موش ماده را بهبود ببخشد.

البته هنوز اثر سینرژیستی گلابریدین و GA در شیرین بیان به‌صورت جداگانه بررسی نشده‌است تا معلوم شود کدام یک مؤثرتر از دیگری در بهبود باروری هستند. غیر از اثرات هورمونی و اندوکرینی شیرین بیان خاصیت آنتی‌اکسیدانتی آن نیز در درمان هایپراندریسم به کمک تخمدان، رحم و بدن می‌آید. اثرات درمانی شیرین بیان بر هایپراندریسم به اینجا ختم نمی‌شوند. همانطوری که قبلاً اشاره شده هایپراندریسم تخمدانی و به طبع آن هایپراندریسمی باعث از کار افتادن SOD و سایر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی بدن چون کاتالاز می‌شود اما برفعالیت گلوکوتائون اثر چندانی ندارد. شیرین بیان با مواد مؤثره آنتی‌اکسیدانتی خود به مقابله با تغییرات ذکر شده می‌پردازد و اجزای اصلی آن یعنی گلابرن و گلیسیرینیک اسید یا سایر ترکیبات آنتی‌اکسیدانتی آن هستند که به مقابله با رادیکال‌های آزاد اکسیژن چون  $O_2$  و  $H_2O_2$  می‌پردازند (۳۷).

در تحقیق حاضر با استفاده از دوزهای مختلف عصاره شیرین بیان در درمان هایپراندریسم ناشی از سندرم تخمدان پلی‌سیستیک ایجاد شده با لتروزول نتایج مختلفی بدست آمد. به نظر می‌رسد در گروه تیمار ۲، اثرات محافظتی عصاره با کاهش تستسترون آزاد سرم نسبت به گروه‌های تیماری دیگر و دریافت کننده لتروزول، بهبود در قطر پارامترهای شاخ رحم نمود بیشتری داشته است. عصاره شیرین بیان تنها با وجود تاثیرات مثبت مختلف افزایش کمی روی تستسترون آزاد سرم داشته است و با مطالعه آرمانی و همکاران مبنی بر کاهش تستوسترون سرم مردان و زنان سالم همخوانی ندارد و شاید با مطالعه عمر و همکاران روی

## References:

1. Miller PB, Parnell BA, Bushnell G, Tallman N, Forstein DA, Higdon HL, et al. Endometrial receptivity defects during IVF cycles with and without letrozole. *Hum Reprod* 2012;27(3):881–8.
2. Elisaf MS, Bairaktari ET, Nicolaides C, Kakaidi B, Tzallas CS, Katsaraki A, et al. Effect of letrozole on the lipid profile in postmenopausal women with breast cancer. *Eur J Cancer* 2001;37(12):1510–3.
3. Tiboni GM, Marotta F, Rossi C, Giampietro F. Effects of the aromatase inhibitor letrozole on in utero development in rats. *Hum Reprod* 2008;23(8):1719–23.
4. Armanini D, Karbowski I, Funder J. Affinity of liquorice derivatives for mineralocorticoid and glucocorticoid receptors. *Clin Endocrinol* 1983; 19(5):609-12.
5. Asl MN, Hosseinzadeh H. Review of pharmacological effects of *Glycyrrhiza* sp. and its bioactive compounds. *Phytother Res* 2008;22(6):709–24.
6. Armanini D, Bonanni G., Palermo M. Reduction of serum testosterone in men by licorice. *New England J Med* 1999; 341(15):1158.
7. Armanini D, Fiore C, Mattarello MJ, Bielenberg J, Palermo M. History of the endocrine effects of licorice. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2002;110(6):257–61.



8. Armanini D, Mattarello MJ, Fiore C, Bonanni G, Scaroni C, Sartorato P, et al. Licorice reduces serum testosterone in healthy women. *Steroids* 2004;69(11-12):763-6.
9. Yaginuma T, Izumi R, Yasui H, Arai T, Kawabata M. Effect of traditional herbal medicine on serum testosterone levels and its induction of regular ovulation in hyperandrogenic and oligomenorrheic women (author's transl). *Nippon Sanka Fujinka Gakkai Zasshi* 1982;34(7):939-44.
10. Jungbauer A, Medjakovic S. Phytoestrogens and the metabolic syndrome. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2013; 68(2):222-31.
11. Tamir S, Eizenberg M, Somjen D, Izrael S, Vaya J. Estrogen-like activity of glabrene and other constituents isolated from licorice root. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2001; 78(3):291-8.
12. Ferrari L, Bajetta E, Martinetti A, Celio L, Longarini R, La Torre I, et al. Could exemestane affect insulin-like growth factors, interleukin 6 and bone metabolism in postmenopausal advanced breast cancer patients after failure on aminoglutethimide, anastrozole or letrozole? *Int J Oncol* 2003;22(5):1081-9.
13. Ledger WL. Clinical utility of measurement of anti-Müllerian hormone in reproductive endocrinology. *J Clin Endocrinol Metab* 2010; 95(12):5144-54.
14. Barth JH, Field HP, Yasmin E, Balen AH. Defining hyperandrogenism in polycystic ovary syndrome: measurement of testosterone and androstenedione by liquid chromatography-tandem mass spectrometry and analysis by receiver operator characteristic plots. *Eur J Endocrinol* 2010;162(3):611-5.
15. Teede H, Deeks A, Moran L. Polycystic ovary syndrome: a complex conditions with psychological, reproductive and metabolic manifestations that impacts on health across the lifespan. *BMC Med* 2010; 8(1):41-55.
16. Coates PM, Paul MC, Blackman M, Blackman MR, Cragg GM, Levine M, et al. *Encyclopedia of Dietary Supplements (Print)*. CRC Press; 2004.
17. Wang CC, Li L, Tang LY, Leung PC. Safety evaluation of commonly used Chinese herbal medicines during pregnancy in mice. *Hum Reprod* 2012;27(8):2448-56.
18. Armanini D, Castello R, Scaroni C, Bonanni G, Faccini G, Pellati D, et al. Treatment of polycystic ovary syndrome with spironolactone plus licorice. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2007; 131(1):61-7.
19. Rezvanfar M, Ahmadi A, Shojaei-Saadi H, Baeri M, Abdollahi M. Molecular mechanisms of a novel selenium-based complementary medicine which confers protection against hyperandrogenism-induced polycystic ovary. *Theriogenol* 2012; 78(3):620-31.
20. Mannerås L, Lystig T, Holmäng A, Ottosson-Lönn M, Stener-Victorin E. Continuous administration of dihydrotestosterone or letrozole to immature female rats results in polycystic ovary syndrome characteristics at adult age. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2007; 281(5):488-501.
21. Nabiuni M, Nasri S, Poyanmanesh F, Karimzadeh L. Honey Bee Venom Modulates Hyperglycemia in Response to Hyperandrogenism in Polycystic Ovarian Syndrome-Induced Rats#. *J Int Environ Application Sci* 2012;7(5):949.
22. Ried K, Stuart K. Efficacy of Traditional Chinese Herbal Medicine in the management of female infertility: a systematic review. *Complement Ther Med* 2011; 19(6): 319-26.
23. Ma R-J, Zhou J, Fang J-Q, Yang D-H, Qu F. Combination of acupuncture and chinese medicinal herbs in treating model rats with polycystic ovary syndrome. *Afr J Tradit Complement Altern Med* 2011;8(4):353-61.

24. Yu L, Liao Y, Wu H, Zhao J, Wu L, Shi Y, et al. Effects of electroacupuncture and Chinese kidney-nourishing medicine on polycystic ovary syndrome in obese patients. *J Tradit Chin Med* 2013;33(3):287-93.
25. Isbrucker RA, Burdock GA. Risk and safety assessment on the consumption of Licorice root (*Glycyrrhiza* sp.), its extract and powder as a food ingredient, with emphasis on the pharmacology and toxicology of glycyrrhizin. *Regul Toxicol Pharmacol* 2006;46(3):167-92.
26. Simons R, Vincken J-P, Mol LAM, The SAM, Bovee TFH, Luijendijk TJC, et al. Agonistic and antagonistic estrogens in licorice root (*Glycyrrhiza glabra*). *Anal Bioanal Chem* 2011;401(1):305-13.
27. Omar HR, Komarova I, El-Ghonemi M, Fathy A, Rashad R, Abdelmalak HD, et al. Licorice abuse: time to send a warning message. *Ther Adv Endocrinol Metab* 2012;3(4):125-38.
28. 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.
29. Hilali N, Vural M, Camuzcuoglu H, Camuzcuoglu A, Aksoy N. Increased prolidase activity and oxidativestress in PCOS. *Clin Endocrinol* 2013; 15(3): 28-39.
30. Belgorosky D, Sander VA, Yorio MPD, Faletti AG, Motta AB. Hyperandrogenism alters intraovarian parameters during early folliculogenesis in mice. *Reprod Biomed Online* 2010; 20(6):797-807.
31. Guerin Pel, Mouatassim S, Menezo Y. Oxidative stress and protection against reactive oxygen species in the pre-implantation embryo and its surroundings. *Hum Reproduc Update* 2001; 7(2):175-89.
32. Movérare-Skrtic S, Venken K, Andersson N, Lindberg MK, Svensson J, Swanson C, et al. Dihydrotestosterone treatment results in obesity and altered lipid metabolism in orchidectomized mice. *Obesity (Silver Spring)* 2006;14(4):662-72.
33. Nakagawa K, Kishida H, Arai N, Nishiyama T, Mae T. Licorice flavonoids suppress abdominal fat accumulation and increase in blood glucose level in obese diabetic KK-A(y) mice. *Biol Pharm Bull* 2004;27(11):1775-8.
34. Sakamoto K, Wakabayashi K. Inhibitory effect of glycyrrhetic acid on testosterone production in rat gonads. *Endocrinol Jpn* 1988;35(2):333-42.
35. Armanini D, Kuhnle U, Strasser T, Dorr H, Butenandt I, Weber PC, et al. Aldosterone-receptor deficiency in pseudohypoaldosteronism. *N Engl J Med* 1985;313(19):1178-81.
36. Armanini D, Kuhnle U, Strasser T, Dorr H, Butenandt I, Weber PC, et al. Aldosterone-receptor deficiency in pseudohypoaldosteronism. *N Engl J Med* 1985;313(19):1178-81.
37. Agarwal A, Makker K, Sharma R. Clinical relevance of oxidative stress in male factor infertility: an update. *Am J Reprod Immunol* 2008;59(1):2-11.
38. Miller W, Dixon J, Macfarlane L, Cameron D, Anderson T. Pathological features of breast cancer response following neoadjuvant treatment with either letrozole or tamoxifen. *Eur J Cancer* 2003; 39(4):462-8.

## STUDY ON THE EFFECTS OF LICORICE ROOT HYDROALCOHOLIC LICORICE EXTRACT ON MICE UTERUS HISTOLOGICAL STRUCTURE AND LEVEL OF TESTOSTERONE IMPROVEMENT WITH HYPERANDROGENISM FOLLOWING EXPERIMENTAL POLYCYSTIC OVARY SYNDROME

Abbas Ahmadi<sup>1\*</sup>, Mostafa Mostafavi<sup>2</sup>

Received: 14 Jul, 2015; Accepted: 16 Sep, 2015

### Abstract

**Background & Aims:** Polycystic ovary syndrome (PCOS) is the most common endocrine disorder of unknown cause that affects 5 to 10 percent of women in childbearing age. The most reliable indicator for the presence of PCOS is increasing blood androgen (hyperandrogenism) which causes symptoms such as menstrual irregularities, hirsutism, anovulatory, implantation failure and so on. This study aimed to investigate how hyperandrogenism-induced polycystic ovary syndrome (PCOS) affects histological and hormonal parameters.

**Materials & Methods:** Sixty mice were divided into six groups of control and experimental. Hyperandrogenism (HA) was induced by oral administration of 2mg/kg letrozole and protective effects of licorice root were studied in three doses: 150, 300, 450 mg/kg by gavage for 21 consecutive days. The sixth one was administered by 450 mg/kg licorice extract alone (Each group had 10 mice). After 21 days animals were anesthetized and blood sample was taken for hormonal assay. Also histological samples of uterine horn were fixed. Histological and histomorphometrical studies were done by hematoxylin and eosin staining. The level of testosterone was measured in serum.

**Results:** Comparing the results of different groups showed that histological parameters including diameter, wall, epithelial and endometrium thickness in hyperandrogen uterine horn greatly reduced. The results of the study also indicated an increase in the hormone testosterone in the group receiving letrozole. Also licorice root extract was able to have a protective effect relatively.

**Conclusions:** Finally, it can be concluded that administration of appropriate doses of licorice root extract has improved antioxidant ingredients so that HA and its adverse effect on female reproductive system was reduced.

**Keywords:** Polycystic ovary syndrome, Hyper androgenism, Uterus, Letrozole, Licorice root

Address: Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary, Urmia University, Urmia, Iran

Email: abbasahmadi60@yahoo.com

Tel: +98 9141498524

SOURCE: URMIA MED J 2015; 26(7): 581 ISSN: 1027-3727

<sup>1</sup> Assistant Professor, Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran (Corresponding Author)

<sup>2</sup> Veterinary Student, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran