

تأثیر فراکسیون اتری عصاره الکلی و آبی بذر گیاه شوید بر هورمون‌های جنسی و تغییرات هیستومورفومتریک دستگاه تناسلی موش صحرایی ماده

الهام حسینی، ملیحه الزمان منصفی*

گروه بیولوژی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۱/۱۷

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۱۱/۸

چکیده

زمینه و هدف: تحقیقات قبلی مؤید تأثیر عصاره تام الکلی و آبی بذر گیاه شوید بر دستگاه تناسلی موش صحرایی ماده بود. هدف این مطالعه بررسی تأثیر فراکسیون اتری عصاره الکلی و آبی بذر گیاه شوید بر هورمون‌های جنسی و تغییرات هیستومورفومتریک دستگاه تناسلی این موش بود.

روش بررسی: این مطالعه تجربی بر روی ۳۵ سر موش صحرایی ماده که در فاز استروس قرار داشتند، انجام شد. حیوانات به ۵ گروه مساوی؛ شاهد، دریافت کننده دوز پایین و بالای فراکسیون اتری عصاره ی آبی ۰/۵ و ۵ گرم بر کیلوگرم و دوز پایین و بالای فراکسیون اتری عصاره الکلی ۰/۰۴۵ و ۰/۴۵ گرم بر کیلوگرم تقسیم شدند. گروه‌های آزمایش روزانه ۱ میلی لیتر از دوزهای مذکور و گروه شاهد ۱ میلی لیتر آب مقطر را به صورت خوراکی به مدت ۱۰ روز دریافت کردند. در پایان آزمایش، موش‌هایی که در فاز استروس قرار داشتند، بیهوش و پس از خون‌گیری از آئورت پشتی تشریح شدند. تخمدان‌ها و رحم خارج شده و مقاطع بافتی تهیه شده با رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین و تری کروم ماسون جهت مورفومتری در سطح میکروسکوپ نوری رنگ‌آمیزی شدند. میزان پروژسترون و استرادیول سرم به روش رادیوایمونواسی و الیزا اندازه‌گیری شدند. داده‌ها با استفاده از آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: سطح سرمی پروژسترون و استرادیول گروه‌های آزمایش با گروه کنترل تفاوت معنی‌داری نداشتند ($p > 0.05$)، اما ضخامت اندومتر و میومتر رحم کاهش معنی‌داری در گروه دوز بالای فراکسیون اتری عصاره آبی نشان داد ($p < 0.05$).

نتیجه‌گیری: تجویز خوراکی فراکسیون اتری عصاره آبی و الکلی بذر گیاه شوید قادر به ایجاد تغییرات هورمونی نبوده، بنابراین در بقیه متغیرهای وابسته به هورمون نیز تغییری صورت نگرفت.

واژه‌های کلیدی: بذر گیاه شوید، استروژن، پروژسترون، فراکسیون اتری، دستگاه تناسلی

* نویسنده مسئول: دکتر ملیحه الزمان منصفی، شیراز، دانشگاه شیراز، دانشکده علوم، گروه بیولوژی

مقدمه

کنترل رشد جمعیت و تنظیم خانواده در جوامع صنعتی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. رشد روزافزون جمعیت باعث اقبال مردم به روش‌های مختلف پیشگیری از بارداری شده است. به دلیل شناخت عوارض داروهای صناعی و هورمون‌های جنسی استفاده از گیاهان دارویی روز به روز از جایگاه ویژه‌ای برخوردار می‌گردد. لذا پژوهشگران با تحقیقات متعدد بر روی گیاهان دارویی مؤثر بر دستگاه تناسلی نقش مؤثری در جایگزینی آنها با داروهای شیمیایی ایفا می‌نمایند. تأثیر عصاره تام آبی و الکی گیاه شوید بر افزایش طول دوران سیکل استروس، افزایش سطح پلاسمایی هورمون پروژسترون، تغییرات فراساختاری سلول‌های گرانولوزای جسم زرد تخمدانی شامل افزایش شبکه اندوپلاسمیک صاف، میتوکندری و تغییر در بیان گلیکوکونژوگیت‌های زوناپلوسیدای اووسیت گزارش شده است (۱ و ۲). فراکسیون کلروفومی عصاره آبی و الکی بذر شوید کاهش در میزان سطح استرادیول خون موش‌های صحرایی را مشخص نمود و فراکسیون آبی عصاره آبی و الکی بذر شوید افزایش طول دوره دی استروس از سیکل استروس را مشخص نمود (۳).

گیاه شوید با نام علمی *Anethum (graveolens L.)* متعلق به خانواده چتریان (Umbeliferae) می‌باشد. شوید در اکثر نقاط ایران کشت می‌شود و به صورت وحشی

در آذربایجان خراسان، بجنورد و تفرش می‌روید (۵ و ۶).

در طب سنتی، شوید به عنوان یک گیاه دارویی اثرات درمانی زیادی داشته، به عنوان تنظیم کننده سیکل قاعدگی، کاهشده انواع چربی بدن، مقوی معده، ضد تشنج، ضد درد، رفع استفراغ، درمان بی‌خوابی و مسکن، مدر و قاعده آور توصیه می‌شود (۶ و ۷). تمام پیکر گیاه محتوی اسانس است. قسمت اعظم اسانس میوه شوید، دکارون (۶۰ - ۵۰ درصد)، لیمونن و آلفا لاندرن است که هر سه حدود ۹۰ درصد اسانس را شامل می‌شوند (۸). اسانس برگ‌های آن شامل؛ *phellandrene, terpinene, limonene, carvone dillapiole* و *isomyristicin* است. آلفا و گاما توکوفرول نیز در برگ‌های شوید وجود دارد. از اسانس‌های دیگر آن می‌توان به کومارین، گزانتون، تری ترپن و فلاونوئید اشاره کرد (۹ و ۱۰).

تحقیقات قبلی اثر عصاره تام آبی و الکی شوید بر هورمون‌های جنسی و سیکل استروس و حجم تخمدان و انواع فولیکول‌های تخمدانی موش‌های صحرایی را گزارش نموده است (۱۱). یکی از راهکارهای مناسب جهت درک مواد مؤثره موجود در عصاره تام یک گیاه تهیه فراکسیون‌های مختلف آن عصاره می‌باشد. در این تحقیق به منظور پی بردن به تأثیر ماده مؤثره عصاره بذر گیاه شوید، فراکسیون اتری عصاره آبی و الکی بذر گیاه شوید جداسازی شده و میزان هورمون استروژن و پروژسترون اندازه‌گیری گردید و اثر عصاره بر مورفومتری رحم

(اندومتر و میومتر) و تخمدان (فولیکول، اووسیت، بافت همبند، اپیتلیوم و سلول گرانولوزای جسم زرد) بررسی شد.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی، تعداد ۲۵ سر موش صحرایی مادهٔ باکره ۴ ماهه از نژاد ویستار با میانگین وزنی 180 ± 20 گرم از بخش حیوانات مؤسسه تحقیقات سرم و واکسن سازی رازی شیراز تهیه شدند. حیوانات به مدت دو هفته جهت هماهنگ شدن سیکل استروس و سازگار شدن با محیط جدید در شرایط کنترل شده از نظر نور، دما و تغذیه به میزان کافی در اتاق حیوانات بخش زیست شناسی دانشکده علوم نگهداری شدند، این شرایط طی آزمایش نیز حفظ شد. با تهیه گستره واژنی به صورت روزانه روند سیکل استروس حیوانات بررسی گردید. موش‌هایی که در فاز استروس از سیکل استروس قرار داشتند انتخاب شده و طبق گروه‌بندی انجام شده به آنها آب مقطر یا فراکسیون اتری عصاره آبی و یا الکی بذر شوید خورانده شد.

گروه آزمایش دریافت کننده دوز بالای عصاره آبی روزانه ۵ گرم بر کیلوگرم فراکسیون اتری عصاره آبی بذر شوید، گروه آزمایش دریافت کننده دوز پایین عصاره آبی روزانه ۰/۵ گرم بر کیلوگرم فراکسیون اتری عصاره آبی بذر شوید، گروه آزمایش دریافت کننده دوز بالای عصاره الکی روزانه ۰/۴۵ گرم بر کیلوگرم فراکسیون اتری عصاره الکی

بذر شوید، گروه آزمایش دریافت کننده دوز پایین عصاره الکی روزانه ۰/۰۴۵ گرم بر کیلوگرم عصاره الکی بذر شوید و گروه شاهد روزانه ۱ میلی‌لیتر آب مقطر را دریافت کردند. دوزهای مذکور مطابق با تحقیقات قبلی بر روی عصاره تام آبی و الکی انتخاب شدند (۲ و ۳). این دوزها در ۱ میلی‌لیتر آب مقطر حل شده و به مدت ۱۰ روز یعنی تقریباً دو دوره سیکل استروس به صورت خوراکی بین ساعات ۸-۹ صبح به موش‌ها خورانده شدند.

بذر شوید از عطاری‌های معتبر در شیراز خریداری شده و پس از حذف هر نوع بذر مجهول همراه بذرهای این گیاه، تعدادی از بذرها در گلخانهٔ دانشکده علوم دانشگاه شیراز کاشته شده و سپس به وسیله گیاه شناس بخش زیست شناسی دانشکده علوم مورد شناسایی قرار گرفت و نمونه‌ای از آن خشک شده و در هرباریوم دانشگاه شیراز تحت شمارهٔ ۴۰۱۱۰ نگهداری شده است. عصاره‌گیری از بذرها در مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی شیراز انجام شد. جهت بررسی اثرات شوید و مادهٔ مؤثرهٔ آن، عصاره آبی و الکی تام از بذر این گیاه تهیه شده و سپس از این عصاره‌ها فراکسیون اتری استخراج گردید.

جهت تهیهٔ عصاره، آبی بذر شوید آسیاب شده و ۳۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به ۱۰۰ گرم پودر بذر شوید افزوده گردیده و به مدت ۲۴ ساعت خیسانده شد و بعد از نیم ساعت قرارگیری روی بن ماری، صاف گردید. حذف حلال اضافی و تغلیظ آن به

ایمونواسی برحسب پیکوگرم در هر میلی‌لیتر در گروه‌های آزمایشی و شاهد اندازه گیری شد. دستگاه تناسلی حیوان خارج شده و بعد از شستشو در سرم فیزیولوژی و جدا نمودن بافت‌های همبند پیرامون آن با استفاده از ترازو با دقت ۰/۰۱ گرم توزین شده و در محلول بافر فسفات فرمالین ۱۰ درصد پایدار گردید. سپس مقاطع بافتی به ضخامت ۵ میکرومتر از تخمدان و یک سوم میانی رحم تهیه و با دو روش هماتوکسیلین و ائوزین و تری کروم ماسون رنگ آمیزی شدند. اندازه‌گیری بخش‌های مختلف تخمدان و رحم با بهره‌گیری از میکرومتر مدرج چشمی کالیبره شده و با میکروسکوپ نوری انجام شد. داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS و آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی شفه تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

میزان غلظت پروژسترون موجود در سرم خون در گروه‌های دوز پایین الکی و دوز بالای آبی افزایش داشته ولی افزایش معنی‌دار نبود ($p > 0.05$). در مورد گروه‌های آزمایشی دیگر نیز اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. هم‌چنین در میزان غلظت استروژن موجود در سرم خون در گروه‌های آزمایشی مصرف کننده دوزهای مختلف فراکسیون اتری عصاره آبی و الکی در مقایسه با گروه کنترل اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($p > 0.05$) (جدول ۱).

وسیله روتاری انجام شد. باقیمانده حلال اضافی به وسیله دیسیکاتور با خلاء قوی گرفته شد. عصاره الکی بذر گیاه شوید نیز به روش خیساندن تهیه گردید، با این تفاوت که در مرحله اول به جای آب مقطر، پودر تخم شوید در اتانول ۸۰ درصد خیسانده شد. سایر مراحل مانند تهیه عصاره آبی انجام گرفت. به منظور پی بردن به ماده مؤثره گیاه شوید از عصاره آبی و الکی گیاه، فراکسیون اتری استخراج شد. جهت تهیه فراکسیون اتری از عصاره آبی مقدار ۲۰ گرم عصاره آبی در دستگاه فراکسیون‌گیری ریخته شده و به آن ۵۰ میلی‌لیتر آب اضافه شد. ستون حاصل سه مرتبه با اتر شستشو داده شد. محلول حاصل پس از سه بار شستشو، جمع‌آوری شده و روی روتاری ۳۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت تا آب اضافی حذف شده و عصاره خشک شود.

در پایان آزمایش، بعد از بی‌هوش کردن حیوانات با کلروفورم نمونه خون از آئورت پشتی تهیه شده و به لوله سانتریفوژ منتقل می‌گردید. نمونه خونی با سرعت ۲۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شده تا سرم آن جدا شود. سرم حاصله به لوله اپندرف منتقل و بعد از نوشتن مشخصات نمونه تا زمان سنجش هورمون‌های مورد نظر در فریزر نگهداری شد.

غلظت هورمون استرادیول موجود در سرم خون با استفاده از روش الیزا و غلظت هورمون پروژسترون موجود در سرم خون با روش رادیو

همچنین نتایج به دست آمده نشان داد که در گروه آزمایشی دریافت کننده دوز بالای عصاره آبی کاهش معنی‌داری در قطر هسته سلول جسم زرد وجود داشت ($p < 0.05$). در بقیه متغیرها تفاوت معنی‌داری در مقایسه با گروه شاهد مشاهده نگردید. در گروه‌های آزمایشی دریافت کننده دوز بالا و پایین الکی در مقایسه با گروه شاهد تفاوت معنی‌داری در متغیرها مشاهده نشد ($p > 0.05$) (جدول ۳).

نتایج بررسی‌های مورفومتری در گروه آزمایشی دریافت کننده دوز بالای عصاره آبی کاهش معنی‌داری در قطر دیواره رحم و قطر اندومتر و میومتر رحم موش‌های صحرایی در مقایسه با گروه شاهد را نشان داد. در گروه‌های آزمایشی دریافت کننده دوز بالا و پایین الکی تفاوت معنی‌داری در متغیرها در مقایسه با گروه شاهد مشاهده نشد ($p > 0.05$) (جدول ۲). ساختار بافتی رحم و تخمدان گروه‌های مختلف آزمایش در مقایسه با گروه کنترل تغییری نداشت (تصاویر ۱ و ۲).

جدول ۱: مقایسه اثرات فراکسیون اتری عصاره آبی و الکی بذر گیاه شوید بر میانگین و انحراف معیار غلظت هورمون‌های استرادیول و پروژسترون سرم خون در گروه‌های مورد بررسی موش‌های صحرایی ماده

متغیر	غلظت هورمون استرادیول (پیکوگرم بر میلی لیتر)	غلظت هورمون پروژسترون (پیکوگرم بر میلی لیتر)	گروه
شاهد	۱۰/۷۴±۵/۴۹	۴۰/۶۱±۱۰/۶۷	
دوز پایین آبی	۱۴/۴۲±۸/۴۲	۳۷/۶۵±۹/۲۰	
دوز پایین الکی	۱۳/۱۲±۲/۵۹	۴۷/۱۳±۹/۱۱	
دوز بالای آبی	۱۱/۵۶±۱/۰۹	۵۵/۹۳±۲/۳۴	
دوز بالای الکی	۱۶/۹۵±۵/۴۵	۳۲/۸۰±۱۷/۶۵	

جدول ۲: مقایسه تأثیر فراکسیون اتری عصاره آبی و الکی بذر گیاه شوید بر میانگین و انحراف معیار مورفومتری رحم (بر حسب میلی‌متر) در موش‌های صحرایی

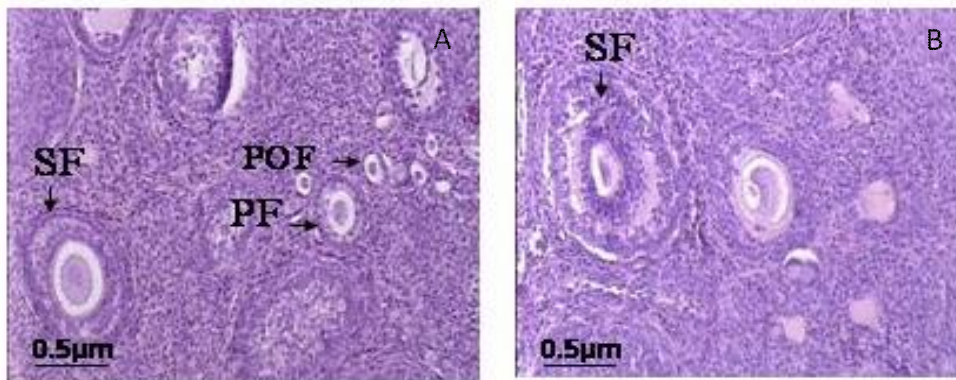
متغیر	قطر رحم	ضخامت دیواره رحم	ضخامت اندومتر	ضخامت میومتر	طول غده رحم	ارتفاع اپیتلیوم	گروه
شاهد	۲/۶۷±۰/۱۶	۱/۲۹±۰/۲۸	۰/۹۱±۰/۲۸	۰/۳۸±۰/۰۶	۰/۲۳±۰/۰۸	۰/۰۲±۰/۰۰	
دوز پایین آبی	۳/۱۷±۰/۷۹	۰/۹۱±۰/۲۸	۰/۸۹±۰/۱۴	۰/۵۸±۰/۳۸	۰/۱۴±۰/۰۲	۰/۰۲±۰/۰۰	
دوز پایین الکی	۳/۱۸±۰/۴۲	۱/۱۶±۰/۱۸	۰/۷۱±۰/۱۶	۰/۴۴±۰/۰۷	۰/۱۹±۰/۰۵	۰/۰۳±۰/۰۰	
دوز بالای آبی	۲/۰۸±۰/۳۱	۰/۷۴±۰/۱۳*	۰/۴۸±۰/۰۵*	۰/۱۵±۰/۰۱*	۰/۱۵±۰/۰۴	۰/۰۲±۰/۰۰	
دوز بالای الکی	۳/۱۳±۰/۳۳	۱/۱۷±۰/۱۹	۰/۷۱±۰/۱۳	۰/۴۶±۰/۰۸	۰/۱۹±۰/۰۳	۰/۰۳±۰/۰۰	

* اختلاف معنی‌دار با گروه شاهد ($p < 0.05$).

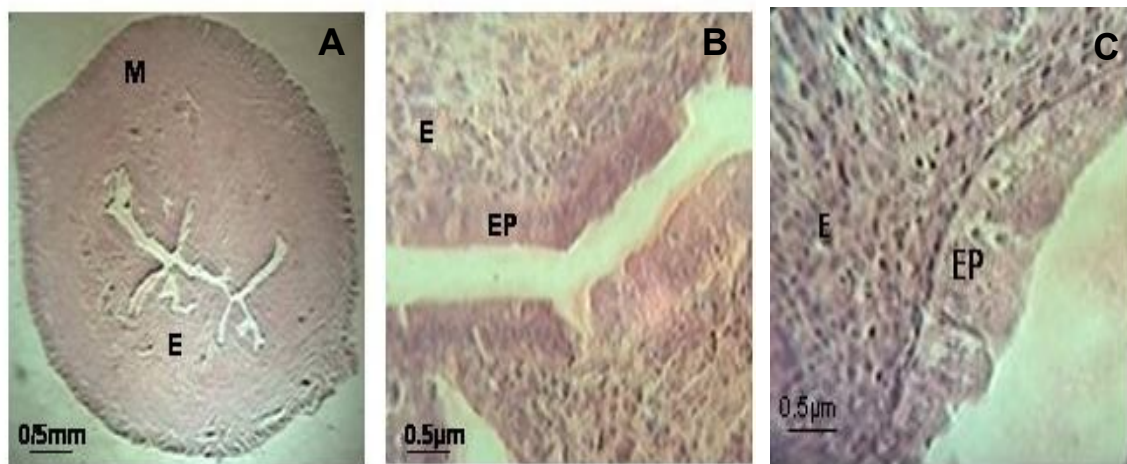
جدول ۳: مقایسه تأثیر فراکسیون اتری عصاره آبی و الکلی بذر گیاه شوید بر میانگین و انحراف معیار تغییرات مورفومتری تخمدان در موش‌های صحرایی

گروه	متغیر	قطر طولی تخمدان (میلی‌متر)	قطر عرضی تخمدان (میلی‌متر)	دو قطر جسم زرد (میلی‌متر)	قطر هسته سلول گرانولوزای جسم زرد (میکرومتر)	قطر سلول گرانولوزای جسم زرد (میکرومتر)	قطر طولی فولیکول (میلی‌متر)	قطر عرضی فولیکول (میلی‌متر)
شاهد		3/58 ± 0/42	2/02 ± 0/10	1/04 ± 0/18	0/76 ± 0/05	1/60 ± 0/10	0/24 ± 0/06	0/19 ± 0/05
دوز پایین آبی		3/17 ± 0/31	2/23 ± 0/62	0/76 ± 0/12	0/64 ± 0/05	1/03 ± 0/15	0/27 ± 0/06	0/21 ± 0/04
دوز پایین الکلی		3/89 ± 0/69	2/54 ± 0/46	0/75 ± 0/14	0/60 ± 0/00	1/12 ± 0/08	0/24 ± 0/07	0/22 ± 0/07
دوز بالای آبی		2/75 ± 0/93	2/00 ± 0/96	0/80 ± 0/14	0/52 ± 0/17*	0/96 ± 0/27	0/31 ± 0/12	0/26 ± 0/09
دوز بالای الکلی		3/44 ± 0/61	2/56 ± 0/24	0/71 ± 0/11	0/58 ± 0/08	1/08 ± 0/12	0/24 ± 0/11	0/18 ± 0/08

* اختلاف معنی‌دار با گروه شاهد ($p < 0/05$).



تصویر ۱: مقطع عرضی تخمدان موش‌های صحرایی. (A) گروه کنترل، (B) گروه تیمار با فراکسیون اتری دوز بالای عصاره آبی. رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین. مقیاس اندازه 0/5 میکرومتر می باشد. فولیکول آغازین (POF)، فولیکول اولیه (PF)، فولیکول ثانویه (SF).



تصویر ۲: مقطع عرضی رحم موش‌های صحرایی. گروه کنترل (A) و (B) دوز بالای آبی (C). رنگ‌آمیزی تری کروم ماسون. میومتر (M)، اندومتر (E)، اپیتلیوم (EP).

بحث

تحقیق در مورد خواص گیاهان دارویی می‌تواند تأییدی بر طب سنتی دیرینه سرزمین ایران باشد. تحقیقات قبلی دال بر افزایش سطح سرمی پروژسترون و تأخیر در بارور شدن موش‌های صحرایی ماده تحت تأثیر عصاره تام آبی و الکی بذر شوید بودند (۱۱). بررسی نوع ترکیبات موجود در عصاره تام که سبب تغییرات مذکور هستند در تحقیق حاضر به مطالعه یکی از فراکسیون‌های این عصاره (فراکسیون اتری) منجر شد.

نتایج حاصله از این تحقیق نشان می‌دهد که غلظت استروژن و پروژسترون موجود در سرم خون همه گروه‌های آزمایشی در مقایسه با گروه کنترل تغییر معنی‌دار نشان نداده است، اما ضخامت دیواره رحم شامل ضخامت اندومتر و میومتر رحم از کاهش معنی‌داری در گروه دوز بالای فراکسیون اتری عصاره آبی برخوردار بوده است. فیتواستروژن‌ها یا فیتواستروژن‌ها (استروژن‌های گیاهی) ترکیبات غیر استروئیدی با منشأ گیاهی هستند که از نظر ساختمان و عمل شبیه ۱۷-بتا استرول می‌باشند و اثراتی شبیه استروژن ایجاد می‌کنند. فیتواستروژن‌ها شامل چندین گروه از ترکیبات می‌باشند که از جمله آنها می‌توان به لیگنان‌ها، ایزوفلانونوئیدها و کومستان‌ها اشاره کرد. فیتواستروژن‌ها با اتصال به رسپتورهای استروژنی (رسپتور استروژنی آلفا و بتا) در بدن می‌توانند هم اثرات آگونیستی استروژن و هم اثرات آنتاگونیستی استروژن داشته باشند (۱۲).

فعالیت فیتواستروژن‌ها در بدن بستگی به عواملی مانند؛ غلظت استروژن موجود در بدن، وضعیت اشباع‌شدگی رسپتورهای استروژن، مدت زمان باند شدن فیتواستروژن به رسپتورهای استروژن و مدت زمانی که طول می‌کشد تا فیتواستروژن تجزیه گردد و وارد گردش خون شود، دارد. هنگامی که غلظت استروژن در خون کم است، فیتواستروژن‌ها اثرات موافق استروژن نشان می‌دهند و برعکس هنگامی که غلظت استروژن در خون زیاد است، آنها اثرات مخالف استروژنی از خود نشان می‌دهند. فیتواستروژن‌ها بر رشد سلول‌های وابسته به استروژن، سیکل جنسی و بلوغ سلول‌های واژینال اثر دارند (۱۳). به علاوه یکی از موادی که در عصاره شوید وجود دارد Trans-anethole است که طبق تحقیق صورت گرفته این ماده در موش‌های صحرایی ماده خاصیت ضد باروری در سطح جلوگیری از لانه‌گزینی و همچنین خاصیت استروژنیک دارد (۱۴ و ۱۵).

نتایج حاصله از این تحقیق نشان داد که غلظت استروژن موجود در سرم خون همه گروه‌های آزمایشی در مقایسه با گروه کنترل افزایش داشته، اما این افزایش معنی‌دار نمی‌باشد. این نتایج با نتایج حاصل از بررسی تجویز عصاره آبی و الکی بذر شوید بر میزان استروژن موجود در سرم خون موش صحرایی ماده مطابقت دارد (۱). لذا احتمال دارد فلاون‌ها که جزء ترکیبات فیتواستروژنی بذر گیاه شوید هستند و نیز دیگر موادی که خاصیت استروژنی در گیاه را به وجود می‌آورند، در

صحرائی ماده شونند(۱۷). با توجه به این که در این تحقیق نتایج به دست آمده از غلظت هورمون پروژسترون موجود در سرم خون موش صحرائی ماده با نتایج به دست آمده از بررسی اثر عصاره آبی و الکی بذر گیاه شوید بر غلظت این هورمون (۱ و ۲) و همچنین با نتایج به دست آمده از تحقیق مالای و یجیتوند و همکاران مطابقت ندارد، می‌توان چنین احتمال داد که ترکیبات موجود در فراکسیون اتری عصاره آبی و الکی این گیاه بر روی ترشح هورمون چه در سطح تخمدان و چه در سطح هیپوفیز اثر نداشته، به این دلیل که مواد مؤثره عصاره در فراکسیون اتری وارد نشده است(۱۷).

طبق نتایج حاصل از مطالعات هیستولوژیک، تجویز فراکسیون اتری عصاره آبی و الکی بذر شوید سبب تغییرات ظاهری، بافتی و یا پاتولوژیک نگردیده است، بنابراین می‌توان نتیجه‌گیری کرد که فراکسیون اتری عصاره آبی و الکی بذر شوید ایمن بوده و مصرف آن سبب ایجاد تغییرات آسیب شناختی در بدن نمی‌شود. نتایج مورفومتری رحم نشان داد در گروه آزمایشی دوز بالای عصاره آبی کاهش معنی‌داری در دیواره رحم و اندومترיום و میومترיום رحم موش‌های صحرائی در مقایسه با گروه شاهد مشاهده گردید. همچنین در گروه‌های آزمایشی دریافت‌کننده دوز بالا و پایین الکی تفاوت معنی‌داری در متغیرها در مقایسه با گروه شاهد مشاهده نگردید. مشخص شده است که ترکیبات فیتواستروژنی با مهار آنزیم تیروزین کیناز، از تکثیر سلول‌های میوبلاست و

فراکسیون اتری عصاره آبی و الکی این گیاه وجود نداشته و این گیاه تأثیری بر میزان هورمون استروژن سرم خون ندارد. با توجه به مطالعات گذشته به نظر می‌رسد که افزایش سطح هورمون پروژسترون سرم خون در فاز دی استروس سیکل جنسی سبب طولانی شدن فاز لوتئال می‌شود(۱۶ و ۲۰۱۱). عصاره بذر گیاه شوید احتمالاً می‌تواند از دو طریق سبب افزایش میزان هورمون پروژسترون و به دنبال آن طولانی شدن فاز دی استروس و سیکل جنسی شود؛ اول، عصاره به طور مستقیم در سطح تخمدان با اثر بر فعالیت جسم زرد و سلول‌های تولیدکننده پروژسترون و تغییر در فعالیت و تعداد ارگانل‌های درون سلولی سبب افزایش این هورمون و در نتیجه افزایش مدت زمان فاز دی استروس سیکل جنسی گردد. دوم، با اثر بر محور هورمونی هیپوتالاموس - هیپوفیز- گناده و با افزایش فعالیت سلول‌های فولیکولی تولیدکننده پروژسترون، سبب افزایش طولانی مدت میزان هورمون پروژسترون و به دنبال آن طولانی شدن فاز دی استروس و سیکل جنسی گردد.

مالای و یجیتوند و همکاران(۲۰۰۴) با تحقیق بر روی اثر گیاه *Pueraria mirifica* به عنوان یکی از گیاهان حاوی فیتواستروژن بر روی ترشح LH و FSH در موش‌های صحرائی نر و ماده به این نتیجه دست یافتند که فیتواستروژن‌های گیاه می‌توانند بر عملکرد هر دو جنس موش اثر گذاشته و سطح سرمی LH و FSH را به طور معنی‌داری افزایش دهند و باعث افزایش فاز دی استروس و وزن رحم در موش‌های

باحتیاط مالی معاونت پژوهشی دانشگاه شیراز انجام شد. نویسندگان از حمایت‌های مرکز تحقیقات شیمی دارویی و گیاهی دانشگاه علوم پزشکی شیراز در تهیه عصاره و فراکسیون کمال سپاسگزاری را دارند.

سنتز پروتئین myotube جلوگیری کرده و در نهایت در تکوین نرمال عضله اختلال ایجاد می‌کنند (۱۸). همچنین طبق تحقیق صورت گرفته به وسیله سامارتینو (۲۰۰۳) فیتواستروژن‌ها قادرند ضخامت اندومترיום را کاهش دهند. در گروه آزمایشی دریافت کننده دوز بالای عصاره آبی کاهش معنی‌داری در قطر هسته سلول جسم زرد وجود دارد. احتمال دارد که کاهش قطر هسته سلول‌های گرانولوزای جسم زرد به خاطر تقسیمات مکرر و فراوان سلول‌ها باشد (۱۹).

نتیجه‌گیری

تجویز خوراکی فراکسیون اتری عصاره آبی و الکی بذر گیاه شوید قادر به ایجاد تغییرات هورمونی نیست. احتمالاً تأثیر بذر گیاه شوید بر سیکل جنسی و هورمون‌ها فقط از طریق عصاره تام که حاوی تمام مواد مؤثره آن می‌باشد صورت می‌پذیرد و ترکیبات موجود در فراکسیون اتری عصاره آبی و الکی این گیاه قادر به ایجاد تغییر در این متغیرها نمی‌باشد. همچنین تجویز فراکسیون اتری عصاره آبی و الکی بذر شوید سبب ایجاد تغییرات هیستولوژیک تخمدان و رحم نشده است. نتایج مورفومتری کاهش قطر دیواره رحم، اندومترיום و میومترיום، قطر هسته و سیتوپلاسم سلول‌های جسم زرد را نشان داد.

تقدیر و تشکر

این مطالعه حاصل پایان‌نامه کارشناسی ارشد (رشته سلولی-تکوینی جانوری) است که

REFERENCES

1. Monsefi M, Ghasemi M, Bahaoddini A. The Effects of *Anethum graveolens* L. On Female Reproductive System of Rats. DARU 2006; 14(3): 131-5.
2. Ghasemi A. Study of ultrastructural and histochemical changes of oocytes, duration of pregnancy and newborns of female rats affected by aqueous extract of dill seed (*Anethum graveolens* L). MSc Thesis, College of Sciences, Shiraz University, 2008.
3. Monsefi M, Masoudi M, Hosseini E, Gramifar F, Miri R. Antifertility effects of different fractions of *Anethum graveolens* L. on extracts on female rats. Afr J Tradit Complement Altern Med 2012; 9(3): 336-41.
4. Zargari A. Medicinal plant. Iran: Tehran University Publication Center; 1990.
5. Mirheydar H. Knowledge of Healing Plants. Iran: Islamic Culture Publication; 1993; 155-9.
6. Mozafarian VA. Plant Systematic. 2nded. Iran: Amir Cabir Publication; 2000; 101-5.
7. Carla CCR, Carvalho D, Manuela R, Fonseca D. Carvone: Why and how should one bother to produce this terpene. Food Chem 2006; 95(3): 413-22.
8. Gahraman A. Iranian chromophytes (plant systematic). Iran: Tehran University Publication Center; 1995.
9. Diego JM, Gómez C, Elena I, Javier R, Coral B. Tocopherol measurement in edible products of vegetable origin. J chromatograph 2004; 1054: 227-33.
10. Simon JE, Chadwick AF, Craker LE. Herbs: An Indexed Bibliography. The scientific literature on selected herbs, and aromatic and medicinal plants of the temperate zone. Archon Books; 1994; 770.
11. Monsefi M, Ghasemi M, Bahaoddini A. The Effects of *Anethum graveolens* L. on Female Reproductive System. Phytother Res 2006; 20: 865-8.
12. Adlercreutz H, Bannwart C, Wahala K, Makela T, Brunow G, Hase T. Inhibition of human aromatase by mammalian lignans and isoflavonoid phytoestrogens. J Steroid Biochem Mol Biol 1993; 44(2): 147-53.
13. Kurzer M, Xiz XU. Dietary Phytoestrogens. Annu Rev Nut 1997; 17: 353-81.
14. Toru I, Masato K, Junichi K. Water-soluble constituents of dill. Chem Pharm Bull 2002; 50: 501-7.
15. Dhar SK. Anti-fertility activity and hormonal profile of trans-anethole in rats. Ind J Physiol Pharmacol 1995; 39(1): 63-7.
16. Berne RM, Levy MN. Principles of Physiology. 3rd ed., USA: Mosby; 2006.
17. Malaivijitnond S, Kiatthaipipat P, Cherdshewasart W, Watanabe G. Different effects of *Pueraria mirifica*, a herb containing phytoestrogens, on LH and FSH secretion in female and male rats. J Pharmacol Sci 2004; 96: 428 – 35.
18. Shaoquan J, Gawain M, Willis G, Steven G, Michael E. Soybean Isoflavones, Genistein and Genistin, Inhibit Rat Myoblast Proliferation, Fusion and Myotube Protein Synthesis. The American Society for Nutritional Sciences 1999; 129(3): 1291-7.
19. Sammartino A, Dicarlo C, Bifulico G. Effects of genistein on the endometrium: ultrasonographic evaluation. Gynecol Endocrin 2003; 17: 45-9.

Effects Of *Anethum graveolens* L. Etheric Fraction Of Ethanol And Aqueous Seeds Extracts On Sex Hormones And Histomorphometrical Changes Of Female Rat Reproductive System

Hosseini E, Monsefi M*

Biology Department, Shiraz University, Shiraz-Iran

Received: 06 Feb 2013

Accepted: 06 Apr 2013

Abstract

Background & aim: Previous research confirmed the effects of ethanol and aqueous seed extracts on female reproductive system. The aim of this study was to evaluate the effect of alcohol extract of ether and aqueous fractions of dill seed histomorphometric changes in sex hormones and the reproductive system of female rats.

Materials & Methods: The present experimental study was conducted on 35 female rats that were in estrus phase. Rats were divided into 5 groups, the control, low dose and high-ether fraction of aqueous extract 0.5 and 5 g/kg and fractions with high and low doses of alcohol 0.045 and 0.45 g/ kg respectively. The experimental group received 1 ml of mentioned dose and the control group received 1 ml distilled water daily for a period of 10 days. At the end of the experiment, the rats in the estrus phase were anesthetized and blood samples were taken from the dorsal aorta for more investigations. Ovaries and uterus tissue sections were prepared and stained with hematoxylin - eosin and Masson tri-chrome for morphometry by light microscopy. Levels of progesterone and estradiol levels were measured by radioimmunoassay and ELISA. Data were analyzed by one-way ANOVA.

Results: Serum levels of progesterone and estradiol groups showed no significant difference between the experimental and the control group ($P>0.05$). In addition, the endometrial and myometrial thickness of uterus statistically decreased in high dose of etheric fraction of the aqueous extract ($P<0.05$).

Conclusion: Oral administration of ether fraction of aqueous and alcoholic extracts of plant seeds will not be able to hormonal changes, as well as the other hormone-related variables.

Key words: Dill seed, Estrogen, Progesterone, Etheric fraction, Reproductive system.

*Corresponding Author: Monsefi M, Biology Department, Shiraz University, Shiraz, Iran
Email: monsefi@susc.ac.ir