

## Effect of *Triticum Sativum* Hydroalcoholic Extract on Sex Hormones in rats

Leila Yousefi, Maryam Tehranipour\*, Saeedeh Zafar Balanezhad

Department of Biology, Mashhad Branch, Islamic Azad University

(Received: 2019/07/25

Accept: 2020/01/18)

### Abstract

**Background:** The importance of fertility and its issues, as the most important factor in changing population size, has led to an increase in fertility studies and related issues. Infertility is an active impotence. Wheat, with the scientific name of *Triticum Sativum* Lam, belongs to the Poaceae family. Wheat germ is one of the largest germs of flowering plants. Considering the high consumption of wheat by Iranians and the fact that infertility is one of the problems affecting the family, the aim of the present study was to evaluate the effect of administration of *Triticum sativum* hydroalcoholic extract on estrogen, progesterone, luteinizing (LH), and follicle stimulating hormones (FSH) in adult female rats.

**Materials and Methods:** An experimental study was performed on 30 female rats within the range of 250-200 mg and approximately 3 months divided into 5 groups of 6, including control, positive control and 100, 50, and 150 mg/kg doses of wheat hydro-alcoholic extract. Prescriptions were taken as gavage for 21 days. At the end of the treatment, after taking blood samples, the levels of estrogen, progesterone, LH, and FSH were measured and the data were analyzed using quantitative data analysis.

**Results:** The results showed that wheat had a significant increase in the levels of progesterone ( $p = 0.03$ ), estrogen ( $p = 0.04$ ), LH ( $p = 0.03$ ), and FSH ( $p = 0.0$ ) compared to those of the control group.

**Conclusion:** It seems that the use of wheat hydroalcoholic extract increased the levels of progesterone, estrogen, LH and FSH. Probably, high levels of LH secretion increase the level of FSH, activation of the apple, and subsequent production of progesterone from granulosa cells in the corpus luteum.

**Keywords:** Hydroalcoholic Extract; *Triticum Sativum*; progesterone; Estrogen

\* Corresponding author: Maryam Tehranipour

E-mail: maryam\_tehranipour@mshdiau.ac

# بررسی اثر عصاره هیدروالکلی گندم (*Triticum sativum*) بر میزان هورمون‌های جنسی در موش صحرایی نژاد ویستار

لیلی یوسفی، مریم طهرانی پور\*، سعیده ظفر بالانژاد

گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۷/۰۵/۰۳ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۸/۱۰/۲۸

## چکیده:

**سابقه و هدف:** اهمیت باروری و مسائل مربوط به آن، به عنوان مهم‌ترین عامل موثر تغییردهنده اندازه جمعیت، سبب شده تا مطالعه‌ها در باره باروری و مسائل ضمیمه آن روز به روز افزایش یابد. ناباروری، ناتوانی جنسی فعال است. گندم با نام علمی *Triticum Sativum Lam* متعلق به خانواده *Poaceae* است. تیره گندم از بزرگ‌ترین تیره‌های گیاهان گلدار است. با توجه به مصرف زیاد گندم توسط ایرانیان و نظر به اینکه، نازایی یکی از مسائلی است که بنیان خانواده را در هم می‌ریزد، هدف از این مطالعه بررسی اثر تجویز عصاره هیدروالکلی گندم (*Triticum sativum*) بر میزان هورمون‌های استروژن، پروژسترون، لوتینی کننده (*LH*) و محرک فولیکول (*FSH*) در موش‌های صحرایی ماده بالغ است.

**روش بررسی:** این مطالعه تجربی روی ۳۰ سر موش ماده در محدوده وزنی  $250-200$  mg و سن تقریبی سه ماه در پنج گروه شش تایی شامل گروه‌های شاهد، کنترل مثبت و دریافت‌کننده دوزهای  $50$ ،  $100$  و  $150$  mg/kg عصاره هیدروالکلی گندم انجام شد. تجویزها به صورت گاوآز به مدت ۲۱ روز انجام شد. در پایان تیمار، پس از خون‌گیری از نمونه‌ها، میزان هورمون‌های استروژن، پروژسترون، *LH* و *FSH* اندازه‌گیری و داده‌ها به وسیله آنالیز داده‌های کمی تجزیه و تحلیل شد. **یافته‌ها:** نتایج نشان داد که در مقایسه با گروه کنترل، گندم سبب افزایش معنادار در میزان هورمون‌های پروژسترون ( $p=0.003$ )، استروژن ( $p=0.004$ )، *LH* ( $p=0.003$ ) و *FSH* ( $p=0.003$ ) در تمام گروه‌های تجربی شد.

**نتیجه‌گیری:** به نظر می‌رسد استفاده از عصاره هیدروالکلی گندم سبب افزایش سطح هورمون پروژسترون، استروژن، *LH* و *FSH* شد. شاید ترشح زیاد هورمون *LH*، سبب افزایش سطح هورمون *FSH*، فعال شدن آپلن و به دنبال آن زنجیره تولید پروژسترون از سلول‌های گرانولوزای جسم زرد شده است.

**واژگان کلیدی:** عصاره هیدروالکلی، گندم، استروژن، پروژسترون

## مقدمه:

اهمیت باروری و مسائل مربوط به آن، به عنوان مهم‌ترین عامل موثر تغییردهنده اندازه جمعیت، سبب شده تا مطالعه‌های در مورد باروری و مسائل ضمیمه آن روز به روز افزایش یابد. بی‌شک خانواده از یکسو، اصلی‌ترین نهاد اجتماعی، بنیادی‌ترین عنصر جامعه و بستر ایجاد و رشد بسیاری از ارزش‌هاست. به گونه‌ای که عموم صاحب‌بنظران بزرگ، خانواده را جزئی از نظام کلی جامعه و در رابطه تنگاتنگ با آن می‌دانند و پیشرفت خانواده را در جهان می‌جویند. (۱) وجود هر گونه مشکلی در ساختار یا عملکرد دستگاه تولید مثلی می‌تواند منجر به نازایی شود (۲). عوامل ایجادکننده نازایی در زن عبارت‌اند از اختلال‌های تخمک‌گذاری و عوامل لوله‌ای (۳،۴). روش‌های درمان نازایی بر حسب عامل نازایی متفاوت هستند و شامل استفاده از داروهای خوراکی، داروها و هورمون‌های خوراکی، داروها و هورمون‌های تزریقی و اعمال

جراحی است (۵). در انسان توانایی تولید گامت از همان دوران جنینی آغاز می‌شود، اما نقش آندوکرینی آن تا هنگام بلوغ ظاهر نمی‌شود. در دوران جنینی هر یک از تخمدان‌ها دارای ۱۰۰۰ تا ۲۰۰۰ سلول جنسی اولیه هستند که پس از تکثیر و زیاد شدن، این تعداد به سه میلیون عدد افزایش می‌یابد. به تدریج این تعداد کاهش یافته و به حدود یک میلیون عدد می‌رسد (۶). در دوره‌ای که فاز فولیکولر نامیده می‌شود، یک تخمک، مانند کیستی که فولیکول گراف نام دارد رشد یافته و بزرگ می‌شود تا زمانی که به سطح تخمدان و محل انتقال برسد. تخمک (اووسیت) به داخل حفره صفاقی می‌شود. این آزاد شدن دوره‌ای تخمک رشد یافته، اوولاسیون نامیده می‌شود. تخمک راه خود را به داخل لوله رحمی (فالوپ) پیدا کرده سپس به رحم انتقال می‌یابد (۷). هیپوتالاموس یک غده عصبی-هورمونی است که طول کف و دیوار جانبی بطن سوم مغز را تشکیل می‌دهد و به خوبی با هیپوفیز ارتباط دارد. سیستم باب

نویسنده مسئول: مریم طهرانی پور

پست الکترونیک: maryam\_tehrani pour@mshdiau.ac

منبع اولیه این هورمون جسم زرد تخمدان است، که بلافاصله پس از تخمک گذاری تشکیل و ترشح این هورمون را شروع می کند. این هورمون برای آماده سازی محیط رحم و افزایش فعالیت ترشحی غدد اندومتریوم نقش اساسی را ایفا می کند. در انسان از هفته شش تا هشت بارداری، مقادیر چشمگیری پروژسترون از جفت ترشح می شود و کم کم وابستگی بارداری به ترشح این هورمون از جسم زرد کاهش می یابد، به طوری که پس از هفته هشتم بارداری حذف جسم زرد یا تخمدان، صدمه ای برای ادامه بارداری ایجاد نمی کند (۱۲).

**استروژن:** این هورمون از نظر طبقه بندی بیوشیمیایی استروئیدی و بافت هدف آن در هیپوتالاموس، کل مجاری تولید مثلی و غده پستانی جنس ماده است (۱۳). تولید استروژن در حاملگی، تحت کنترل جنین قرار دارد و روشی اساسی برای ارسال پیام است که جنین به کمک آن روندهای مهم فیزیولوژیک را که بر سلامت جنین تأثیرگذار هستند، هدایت می کند. استروژن روند تولید پروژسترون، گردش خون رحمی جفتی، تکامل غده پستان و عملکرد غده فوق کلیه جنین را تحت تأثیر قرار می دهد (۱۴). استروژن به میزان کم از جسم زرد تولید می شود، ولی منبع تولید آن پس از هفته اول، جفت است. در زمان بارداری میزان آن در پلاسما در حد چشمگیری افزایش می یابد (۱۲). استروژن سبب افزایش تونیسیت در عضله رحمی شده و حالت سفتی به رحم می دهد. در حالی که پروژسترون سبب کاهش تونیسیت در عضله رحمی و شل شدن رحم می شود. اندومتریوم یا لایه مخاطی رحم، پیچیده تر از سایر بخش های مجاری تولید مثلی است و دارای غدد ساده ای است. استروژن سبب افزایش عروق و ضخامت اندومتریوم و نیز تحریک رشد غدد اندومتریوم می شود (۱۳). در بسیاری از کشورهای در حال توسعه، گیاهان دارویی در درمان بسیاری از بیماری های مزمن کاربرد داشته است. حتی در کشورهایی که داروهای غربی عمده، هستند، بیشتر آن ها مدیون گیاهان دارویی هستند. همچنین بسیاری از مصرف کنندگان داروهای شیمیایی در حال بازگشت به مصرف گیاهان دارویی هستند. به دلیل درک این حقیقت، که داروهای طبیعی ایمن تر از گیاهان سنتتیک هستند. گیاهان مختلفی در طب سنتی وجود دارند که روی تنظیم باروری، حتی تعیین جنسیت نوزاد تأثیر گذارند (۱۵). گندم دانه ای است مغذی که قدمت کشت و زرع آن به بیش از شش هزار سال می رسد. "پولین" گیاه شناس معروف و "فلاطون" از آن سخن به میان آورده است (۱۶، ۱۷). گندم با نام علمی *Triticum Sativum Lam* متعلق به جنس *Triticum* و خانواده *Poaceae* است. تیره گندم از بزرگ ترین تیره های گیاهان گلدار است و دارای ۶۰۰ گونه است که در ۴۵۰ جنس جای دارند و از ویژگی های آن ها این است که در غالب محیطها به صورت اجتماع خاص پراکندگی دارند (۱۸). ترکیب های گندم شامل آب، کربوهیدرات (نشاسته، سلولز، قند)، پروتئین ها (گلیادین، گلوتنن، گلوبولین، آلبومین، پیرولامین)، لیپیدها، مواد معدنی، ویتامین ها (E, B) هستند (۱۳).

**Shewry** و همکاران در سال ۲۰۱۵، گندم را به عنوان یک منبع مهم برای فیبر رژیم غذایی بررسی کردند. غذاهای بر پایه گندم اجزای ضروری و مفید برای رژیم غذایی انسان، از جمله پروتئین، ویتامین B، فیبر رژیم غذایی و فیتوکمیکال یا گیاه مغذی ها را تأمین می کند. علاوه بر این یک منبع اصلی از نشاسته و انرژی است، همچنین مقدار قابل توجهی از مواد ضروری لازم برای سلامت، مانند پروتئین، ویتامین ها (به ویژه ویتامین B) را داراست. گندم فیبر رژیم غذایی و گیاهی را فراهم می کند. رژیم فیبری با کاهش خطر بیماری های قلبی - عروقی، دیابت نوع ۲ و انواع خاصی از سرطان همراه است. اجزای سازنده رژیم فیبری قابلیت توارث پذیری بالا دارد و در نتیجه مقدار آن ها توسط اصلاح نژادی قابل دستکاری است (۱۹).

**Sacco** و همکاران در سال ۲۰۱۵، روی لوسیون جی عصاره گندم که در پیشگیری از آسیب های عروقی مؤثر است، مطالعه کردند. بر اساس این بررسی، مطالعه در شرایط آزمایشگاهی برای انجام تحقیق های بالینی انجام شد. اختلال و آسیب عروقی در پاتونژن بیماری کبد چرب غیر الکلی نقش مهمی بازی می کند. به تازگی به لطف فعالیت آنتی اکسیدانی مشخص شده از عصاره گندم برای تحقیق های بیشتر روی این ترکیب در پیشگیری از کبد چرب غیر الکلی بررسی شد (۲۰).

**Laddomada** و همکاران در سال ۲۰۱۵ در مورد فنل اسیدهای سبوس گندم در

هیپوفیزی، هیپوتالاموس را به هیپوفیز قدامی وصل می کند و به عنوان مسیری است که از راه آن هورمون های هیپوتالاموس به هیپوفیز قدامی می رسند (۸). مهم ترین وظیفه هیپوتالاموس در رابطه با تولیدمثل، ترشح پالسی هورمون رهاکننده گنادوتروپین ها است. هورمون رها کننده گنادوتروپین یک پپتیدی ۱۰ اسید آمینه ای (دکا پپتیدی) است که توسط هسته آرکوات در قاعده هیپوتالاموس تولید شده و توسط نورون هایی از این هسته ها به مویرگ های موجود در ناحیه مدین امینانس ترشح و سپس از راه عروق پرتال به هیپوفیز منتقل می شود. (۹) جفت انسان حاوی تعداد زیادی هورمون مهاری و آزادکننده است؛ هورمون آزادکننده گنادوتروپین، هورمون آزادکننده کورتیکوتروپین، هورمون آزادکننده تیروتروپین، هورمون آزادکننده گنادوتروپین ایمونوراکتیو، در سیتوتروفوبلاست و سن سیتوتروفوبلاست یافت می شود. شواهد نشان می دهد که GnRH جفت، روند استروئید سازی جفت و آزاد شدن پروستاگلندین ها و نیز گنادوتروپین کوریون انسانی را تنظیم می کند (۱۰). هیپوفیز قدامی سه هورمون اولیه تولید مثل تولید می کند، این هورمون ها که ساختمان پروتئینی دارند عبارتند از:

**گنادوتروپین:** در مجموع هورمون مولد جسم زرد یا لوتئینی و هورمون محرکه فولیکول به دلیل تحریک گنادهای گنادوتروپین نامیده می شوند (۱۱). هورمون های گنادوتروپین مترشح از هیپوفیز قدامی پستانداران، به خانواده هورمون های گلیکو پروتئینی متعلق هستند. در جنس مذکر هورمون لوتئینی گاهی به عنوان هورمون محرکه سلول های بینابینی نامیده می شود (۱۲).

هورمون محرکه فولیکولی و هورمون لوتئینی: FSH گلیکو پروتئینی با وزن مولکولی ۳۲۰۰۰ دالتون دارای ۳۰-۱۵ درصد کربوهیدرات متشکل از دو زنجیره آلفا و بتا که توسط اتصال های غیر کووالانسی به هم متصل شده اند و LH گلیکو پروتئینی با وزن مولکولی ۳۰۰۰۰ دالتون است (۱۱). FSH و LH هر دو توسط یک نوع سلول در هیپوفیز قدامی ساخته می شوند (۱۲). FSH و LH، طی هر چرخه جنسی ماهانه به طور متناسب مقدار ترشح آن ها افزایش و کاهش می یابد (۱۱). در حیوانات ماده، FSH سبب تحریک رشد فولیکول و تولید استروژن به وسیله سلول های گرانولوزای فولیکول تخمدانی می شود. تحریک سلول های تکای داخلی فولیکول به وسیله LH سبب تولید آندروژن می شود که این هورمون می تواند از عرض غشای پایه انتشار یافته و در آنجا تحت اثر FSH به وسیله سلول های گرانولوزا به استروژن تبدیل شود. هورمون LH سبب بلوغ اووسیت، تخمک ریزی (پاره شدن فولیکول و آزاد شدن تخمک) و همچنین بقا و تقویت جسم زرد و تولید پروژسترون می شود. ترشح گنادوتروپین های هیپوفیز قدامی به وسیله هورمون های آزاد کننده پپتیدی که از سلول های عصبی - ترشحی هیپوتالاموس ترشح می شوند، کنترل می شود. یکی از این عوامل آزاد کننده، یک هورمون پپتیدی به نام GnRH است که سبب آزاد شدن LH و FSH می شود. زمانی فاکتورهای آزاد کننده مجزا برای LH و FSH برای کنترل ترشح آن ها از هیپوفیز قدامی پیشنهاد می شد (۱۱). در زنان تخمک گذاری، توسط LH القا می شود (۱۳). می دانیم که FSH و LH توسط یک هورمون آزادگر مشترک که از هیپوتالاموس ترشح می شود، آزاد می شوند (۱۲). آزاد شدن LH به دلیل غلظت زیاد استروژن در خون است که دارای اثر تحریکی بر هیپوتالاموس است، این اثر بخشی از یک حلقه فیدبک مثبت محسوب می شود. LH تکوین بعدی جسم زرد را نیز تحریک می کند. این تکوین با افزایش سریع غلظت پروژسترون همراه است. پس از آن میزان پروژسترون کاهش یافته و به سطح اولیه می رسد. این کاهش به دلیل از بین رفتن جسم زرد یا لوتئولیز انجام می گیرد. این پدیده در روزهای آخر چرخه اتفاق می افتد و به معنای از بین رفتن تدریجی ساختار و در نتیجه عملکرد جسم زرد است (۱۱ و ۱۳).

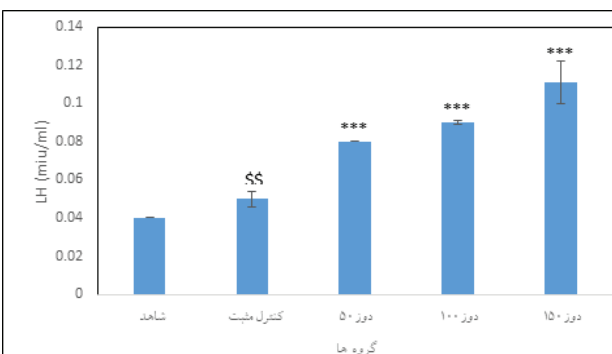
هورمون پرولاکتین: نمونه ای از یک هورمون پروتئینی است که به جای زیر واحد آلفا و بتا دارای یک زنجیره پلی پپتیدی است (۱۰). هورمون پرولاکتین از این نظر با LH اثر هماهنگ دارد که در برخی گونه ها سبب افزایش گیرنده های LH روی جسم زرد می شود. همچنین پرولاکتین اثر تحریکی بر رشد غدد پستانی و تولید شیر دارد (۱۲). **پروژسترون:** پروژسترون استروئیدی است و بافت هدف آن در جنس ماده اندومتریوم رحم، غده پستانی، میومتريوم، هیپوتالاموس است (۱۴). یکی از هورمون هایی که به میزان زیاد در هنگام بارداری افزایش می یابد پروژسترون است.

ضمن هنگام آزمایش عصاره گندم در مقدار معین سرم فیزیولوژی حل شده و سپس از طریق گاواژ (راه خوراکی) به حیوانات تجویز شد (۲۴). دوزهای استفاده شده بر اساس تحقیق حسینی و همکاران روی عصاره گل رازک در سال ۱۳۹۳ انتخاب شد. قبل از انجام کار، سوزن مخصوص گاواژ از شرکت "نوآوران زیستی پارسه" مشهد خریداری شد. گروه شاهد توسط سرم فیزیولوژی گاواژ شدند و بقیه گروه‌ها بر اساس دوز تعیین شده، به مدت ۲۱ روز (مدت براساس مطالعات مشابه تعیین شده) متوالی گاواژ شدند (۲۵). گاواژ به این صورت انجام شد که سوزن مخصوص گاواژ به سرنگ ۲ cc متصل و ۰/۵ cc عصاره وارد سرنگ و سپس پوست پشت گردن رت در فاصله بین دو گوش به وسیله دو انگشت گرفته شد و رت را بلند کرده و از کناره سمت راست دهان رت، سوزن موازی و روی زبان حرکت کرده تا به حلق برسد، سپس سوزن کمی بالا و سمت سر رت حرکت داده شده و وارد مری می‌شود. به این ترتیب عصاره وارد معده جانور می‌شود. پس از تیمار موش‌های صحرایی به مدت ۲۱ روز، در روز بیست و یکم حیوانات با داروی بیهوشی کتامین و زایلازین با نسبت ۶ به ۶۰ بیهوش شده، سپس تخمدان سمت راست از قسمت‌های دیگر با کاتر جدا و برداشته شد. مراحل آماده‌سازی بافت برای مشاهده با میکروسکوپ نوری لازم شامل: ثبوت، آبگیری و شفاف کردن، قالب گیری، برش گیری و چسباندن و رنگ‌آمیزی انجام شد (۲۶). عمل برش برداری توسط دستگاه میکروتوم و به صورت برش‌هایی به ضخامت پنج میکرون انجام شد. برش‌ها به صورت سریالی تهیه شده و با هماتوکسیلین-انوزین رنگ‌آمیزی شد. پس از تشریح، رت تخمدان راست برداشته شد و شمارش فولیکول‌های اولیه، ثانویه، گراف، اجسام زرد با استفاده از میکروسکوپ با عدسی شیئی ۵x انجام شد. تحلیل فاکتورهای خونی و تعداد فولیکول‌ها با آزمون واریانس یک طرفه one-way ANOVA و آزمون تکمیلی Tukey's و با استفاده از نرم‌افزار Mini tab ۱۶ انجام شد. نتایج به صورت  $\text{Mean} \pm \text{SD}$  و سطح معنادار در محدوده اطمینان ۹۵ درصد بیان شد.

#### نتایج:

#### میزان هورمون LH سرم خون:

نتایج به دست آمده طبق نمودار ۱ و آزمون آنالیز واریانس نشان داد که تجویز داروی کلومیفن سیترات به مدت ۲۱ روز به گروه کنترل مثبت سبب افزایش معنادار هورمون LH نسبت به گروه شاهد تجربی شد ( $P=0.003$ ). همچنین تجویز عصاره هیدروالکلی گندم با دوز ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ mg/kg به مدت ۲۱ روز میزان هورمون LH را نسبت به گروه کنترل مثبت افزایش داده که این افزایش معنادار بوده است ( $P_{50}=0$ ), ( $P_{100}=0.001$ ), ( $P_{150}=0$ ). نتیجه این که، عصاره هیدروالکلی گندم سبب افزایش هورمون LH در دوزهای مختلف نسبت به گروه کنترل مثبت شده است.



نمودار (۱) میزان LH در گروه‌های مورد مطالعه

\* معناداری گروه‌های تیمار نسبت به کنترل مثبت، \*\* معرف  $P \leq 0.001$  و \$\$\$ معرف  $P \leq 0.01$

#### میزان هورمون FSH سرم خون:

نتایج به دست آمده طبق نمودار ۲ و آزمون آنالیز واریانس نشان داد که تجویز داروی کلومیفن سیترات به مدت ۲۱ روز سبب افزایش معنادار هورمون FSH نسبت به گروه شاهد تجربی شد ( $P=0$ ). همچنین تجویز عصاره هیدروالکلی گندم به مدت ۲۱ روز

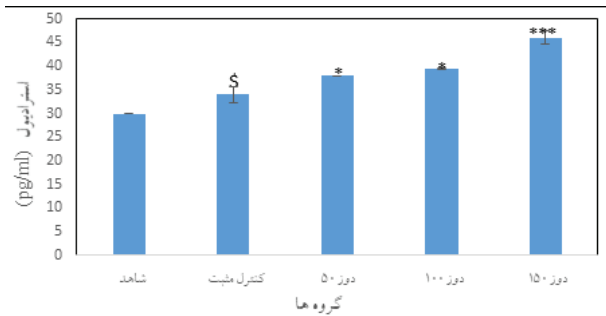
مجموع، مواد غذایی بر پایه گندم را بررسی کردند و چنین گزارش کردند که، سبوس گندم به عنوان یک محصول جانبی از صنعت تولید و پرورش آرد است، اما گندم، یک منبع بزرگ از لیاف، مواد معدنی و آنتی‌اکسیدانی بود که برای سلامت انسان مهم است (۲۱).

Faria و همکاران در سال ۲۰۱۰ تأثیر تغذیه دوران بارداری را بر گیرنده استروژن و آندروژن موش‌های صحرایی بررسی کردند که در نتیجه آن، تعداد فولیکول اولیه و جسم زرد کاهش معناداری پیدا کرد. آن‌ها نتیجه‌گیری کردند که رژیم غذایی حاوی پروتئین مترنال در دوران شیردهی شاید با کاهش تعداد گیرنده‌های استروژن و آندروژن فولیکول نسل بعد همراه است (۲۲). یکی از دلایل نازایی زنان پایین بودن سطح هورمون‌های جنسی و کاهش تعداد فولیکول‌های سالم است. با توجه به مصرف زیاد گندم توسط ایرانیان و نظر به اینکه، نازایی یکی از مسائلی است که بین خانواده را در هم می‌ریزد، این مطالعه با توجه به وجود مواد آنتی‌اکسیدانی موجود در گندم و تأثیر آن بر میزان هورمون‌های جنسی انجام شد. هدف بررسی، اثر تجویز عصاره هیدروالکلی گندم (*Triticum sativum*) بر میزان هورمون‌های استروژن، پروژسترون، لوتئینی کننده (LH) و محرک فولیکول (FSH) در موش‌های صحرایی ماده بالغ، انجام شد.

#### مواد و روش‌ها:

در این مطالعه تجربی از ۳۰ سر موش صحرایی ماده نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم با سن تقریبی سه ماه که در خرداد ماه ۱۳۹۵ در دانشکده علوم پزشکی مشهد تهیه شد، استفاده شد. تمامی حیوانات به حیوانخانه گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد انتقال یافته و تا زمان آزمایش در شرایط استاندارد ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی و دمای ۲۴-۲۰ درجه و رطوبت مناسب در قفس‌های مخصوص با امکان دسترسی به آب و غذای کافی نگهداری شدند. تغذیه رت‌ها توسط غذای استاندارد فشرده از شرکت جوانه خراسان و آب انجام گرفت. در تمام مراحل کار اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت شد. رت‌ها از چند روز قبل از تحقیق در دانشکده علوم دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد نگهداری شدند و سپس به پنج گروه کنترل مثبت، شاهد تجربی و تجربی دوز ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ تقسیم شدند. در هر گروه ۶ رت در نظر گرفته شدند. گندم با نام علمی (*Triticum sativum*) از منطقه جاده سیمان مشهد جمع‌آوری شد. جنس و گونه گیاه در هر باریم دانشگاه آزاد اسلامی مشهد شناسایی و کد هر باریم ۹۷۳۹ به آن اختصاص یافت. دانه گندم به همراه سبوس آن از سایر قسمت‌های گیاه تفکیک و به وسیله آسیاب برقی به طور کامل پودر شد و سپس عصاره‌گیری انجام شد. ۶۰ گرم از پودر داخل کاغذ صافی و داخل فلاسک دستگاه سوکسله قرار گرفت. سپس ۲۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر با ۲۵۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۶ درصد مخلوط شد و مخلوط حاصل در محفظه دستگاه ریخته شد. درجه حرارت دستگاه تنظیم و به مدت حدود شش ساعت عصاره‌گیری انجام شد. اساس کار دستگاه سوکسله به این طریق است که با گرم شدن دستگاه مخلوط آب مقطر و الکل درون مخزن پایینی (بالن) تبخیر شده و بخار حاصله به سمت مخزن بالایی هدایت می‌شود. در این مسیر بخار توسط مبرد سرد شده و دوباره مایع می‌شود. این مایع ترکیب‌های موجود در عصاره پودر شده را در خود حل کرده و دوباره به مخزن اولیه بازگشت می‌کند. این عمل دائم در داخل یک سیکل بسته تکرار می‌شود و بدین ترتیب تا زمانی که رنگ محلول در مخزن بالایی شفاف شود، ادامه می‌یابد. این در حالی است که رنگ محلول در مخزن پایینی به طور کامل تیره می‌شود. با پایان فرآیند دستگاه سوکسله، عصاره هیدروالکلی تهیه شده به پلیت منتقل کرده و در انکوباتور با دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد خشک می‌شود. پس از مدت زمان دو روز عصاره خشک شد. عصاره خشک شده جمع‌آوری و در درون یخچال نگهداری شد (۲۳). بدین ترتیب ۳۰ گرم عصاره خشک به دست آمد. از عصاره برای گاواژ موش‌ها استفاده شد که بر اساس وزن موش‌ها، میلی‌گرم دوز عصاره قابل گاواژ محاسبه شد. تعداد ۳۰ سر موش مورد استفاده در این مطالعه پس از وزن شدن در پنج گروه شش تایی تقسیم شدند. این گروه‌ها عبارتند از: شاهد تجربی (سرم فیزیولوژی)، کنترل مثبت (کلومیفن سیترات به میزان ۱۰۰) و تیمار ۲، ۳، ۴، ۵، ۱۰، ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن که عصاره هیدروالکلی گندم را به صورت گاواژ به مدت ۲۱ روز دریافت کردند. در

نسبت به گروه کنترل مثبت شده است.

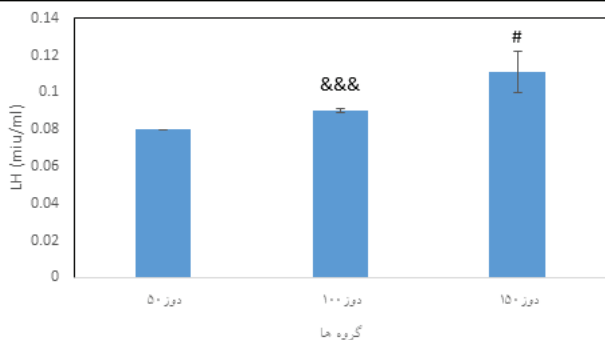


نمودار (۴) میزان استرادیول در گروه‌های مورد مطالعه (\$) معناداری گروه کنترل مثبت نسبت به شاهد و \* معناداری گروه‌های تیمار نسبت به کنترل مثبت، \$ معرف  $P \leq 0.05$ ، \* معرف  $P \leq 0.05$  و \*\*\* معرف  $P \leq 0.001$ .

#### نتایج حاصل از سطح سرمی هورمون‌ها در دوزهای مختلف:

##### میزان هورمون LH سرم خون در دوزهای مختلف:

نتایج به دست آمده طبق نمودار ۵ و آزمون آنالیز واریانس نشان داد که تجویز عصاره هیدروالکلی گندم با دوز ۱۰۰ mg/kg به مدت ۲۱ روز میزان هورمون LH را نسبت به دوز ۵۰ mg/kg افزایش داده که این افزایش معنادار بوده است ( $P=0$ ). همچنین تجویز عصاره هیدروالکلی گندم با دوز ۱۵۰ mg/kg میزان هورمون LH را نسبت به دوز ۵۰ mg/kg افزایش داده که این افزایش معنادار بوده است ( $P=0.02$ ). تجویز عصاره هیدروالکلی گندم با دوز ۱۵۰ mg/kg میزان هورمون LH را نسبت به دوز ۱۰۰ mg/kg افزایش داده که این افزایش معنادار نبوده است ( $P=0.12$ ). نتیجه این که، بیشترین تأثیر مربوط به دوز ۱۵۰ mg/kg بوده است.



نمودار (۵) میزان LH در گروه‌های مورد مطالعه & معناداری گروه تیمار ۱۰۰ نسبت به تیمار ۵۰ و # معناداری گروه تیمار ۱۵۰ نسبت به تیمار ۵۰، &&& معرف  $P \leq 0.001$  و # معرف  $P \leq 0.05$ .

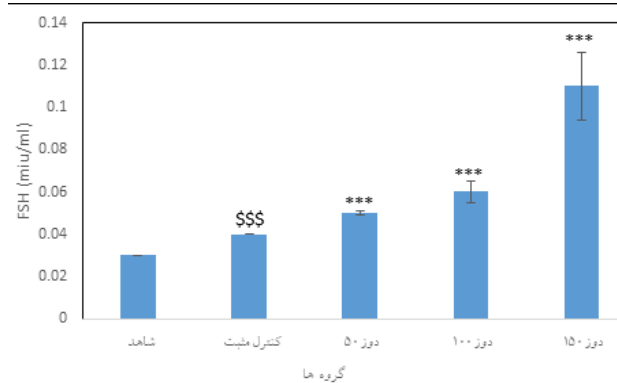
##### میزان هورمون FSH سرم خون در دوزهای مختلف:

نتایج به دست آمده طبق نمودار آزمون آنالیز واریانس نشان داد که تجویز عصاره هیدروالکلی گندم با دوز ۱۰۰ mg/kg به مدت ۲۱ روز میزان هورمون FSH را نسبت به دوز ۵۰ mg/kg افزایش داده که این افزایش معنادار بوده است ( $P=0.01$ ). همچنین تجویز عصاره هیدروالکلی گندم با دوز ۱۵۰ mg/kg میزان هورمون FSH را نسبت به دوز ۵۰ mg/kg افزایش داده که این افزایش معنادار بوده است ( $P=0.003$ ). تجویز عصاره هیدروالکلی گندم با دوز ۱۵۰ mg/kg میزان هورمون FSH را نسبت به دوز ۱۰۰ mg/kg افزایش داده که این افزایش معنادار بوده است ( $P=0.01$ ). نتیجه این که، بیشترین تأثیر مربوط به دوز ۱۵۰ mg/kg بوده است.

##### میزان هورمون پروژسترون سرم خون در دوزهای مختلف:

نتایج به دست آمده طبق نمودار و آزمون آنالیز واریانس نشان داد که تجویز عصاره هیدروالکلی گندم با دوز ۱۰۰ mg/kg به مدت ۲۱ روز میزان هورمون پروژسترون را

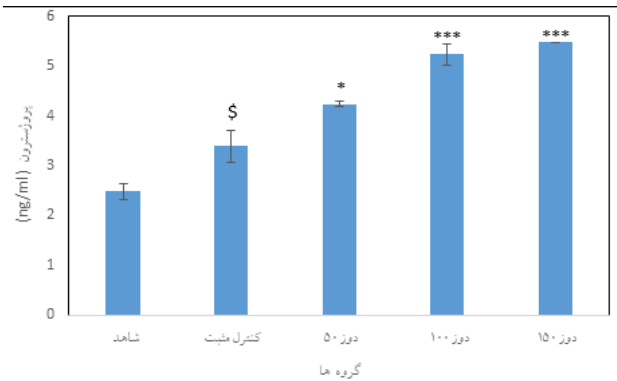
میزان هورمون FSH را در گروه‌های سالم دریافت کننده عصاره با دوزهای mg/kg 150 ( $P_{150}=0.001$ ), 100 ( $P_{100}=0.001$ ), 50 ( $P_{50}=0$ ) نسبت به گروه کنترل مثبت افزایش معناداری داده است. نتیجه این که، مصرف عصاره هیدروالکلی گندم در دوزهای ۱۰۰، ۵۰، ۱۵۰ mg/kg سبب افزایش سطح سرمی FSH نسبت به گروه کنترل مثبت شده است.



نمودار (۲) میزان FSH در گروه‌های مورد مطالعه \$ معناداری گروه کنترل مثبت نسبت به شاهد و \* معناداری گروه‌های تیمار نسبت به کنترل مثبت، \*\*\* معرف  $P \leq 0.001$  و \$\$\$ معرف  $P \leq 0.001$ .

##### میزان هورمون پروژسترون سرم خون:

نتایج به دست آمده نمودار ۳ و آزمون آنالیز واریانس نشان داد که تجویز داروی کلومیفن سترات به مدت ۲۱ روز سبب افزایش معنادار هورمون پروژسترون نسبت به گروه شاهد تجربی شد ( $P=0.03$ ). همچنین تجویز عصاره هیدروالکلی گندم با دوزهای ۱۵۰ ( $P_{150}=0.03$ ), ۱۰۰ ( $P_{100}=0.001$ ), ۵۰ ( $P_{50}=0$ ) mg/kg نسبت به گروه کنترل مثبت افزایش معناداری داده است. می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که استفاده از عصاره هیدروالکلی گندم با روش گاواژ، سبب افزایش سطح سرمی هورمون پروژسترون در دوزهای مختلف نسبت به گروه کنترل مثبت شده است.



نمودار (۳) میزان پروژسترون در گروه‌های مورد مطالعه. (\$) معناداری گروه کنترل مثبت نسبت به شاهد و \* معناداری گروه‌های تیمار نسبت به کنترل مثبت، \$ معرف  $P \leq 0.05$ ، \* معرف  $P \leq 0.05$  و \*\*\* معرف  $P \leq 0.001$ .

##### میزان هورمون استرادیول سرم خون:

نتایج به دست آمده طبق نمودار ۴ و آزمون آنالیز واریانس نشان داد که تجویز داروی کلومیفن سترات به مدت ۲۱ روز سبب افزایش معنادار هورمون استرادیول نسبت به گروه شاهد تجربی شده است ( $p=0.04$ ). همچنین تجویز عصاره هیدروالکلی گندم با دوزهای ۱۵۰ ( $P_{150}=0.04$ ), ۱۰۰ ( $P_{100}=0.01$ ), ۵۰ ( $P_{50}=0$ ) mg/kg نسبت به گروه کنترل مثبت افزایش داشته که این افزایش معنادار بوده است. نتیجه اینکه عصاره هیدروالکلی گندم سبب افزایش سطح سرمی هورمون استرادیول در دوزهای مختلف

در تحقیقی دیگر بیان شده که در حال حاضر طرز تشکیل استروئید به عنوان یک پدیده جهانی در مغز به رسمیت شناخته شده است. اما چگونگی تنظیم آن و ارتباط برای به گردش آوردن استروئید با منشأ محیطی از مسائل پیچیده‌ای است که هنوز پاسخ آن داده نشده است. استروئیدهای عصبی، استروئیدهای منتشر شده در بافت عصبی، طیف وسیعی از کنش‌ها در مغز را دارند، اما به تازگی نقش پروژسترون عصبی ۶ در تنظیم فعالیت‌های عصبی وابسته به ساخت استروئیدها و تنظیم فعالیت‌های مربوط به تولید مثل درک شده است. تصور می‌شد که سنتز استرادیول و پروژسترون در تخمدان و شاید آدرنال در چرخه‌های مربوط به کنترل افزایش LH و رفتارهای جنسی اثر داشته باشند. در حال حاضر آشکار است که استرادیول با منشأ تخمدانی سنتز پروژسترون عصبی را تنظیم می‌کند و پروژسترون عصبی که به صورت محلی تولید شده است، در ابتدا سبب افزایش LH و پس از آن با افزایش LH، تخمک‌گذاری انجام می‌شود که در این مدل، استرادیول سبب رونویسی گیرنده پروژسترون می‌شود و در حالی که تحریک کننده سنتز پروژسترون عصبی است. اگر چه آبشار سیگنالینگ کامل، روشن نشده است ولی بسیاری از ویژگی‌های آن شناخته شده است. سنتز پروژسترون عصبی در درجه اول در آستروسیت رخ می‌دهد و نیاز به تعامل، وجود گیرنده استروژن آلفای غشایی با گیرنده متابوتروپیک ۱A- دارد. این گیرنده پروتئین همراه G، فسفولیپاز C را فعال می‌کند که به نوبه خود سطح اینوزیتول تری فسفات ۷ واسطه انتشار از منابع داخل سلولی کلسیم از طریق آن یک کانال کلسیمی در پیچ‌دار گیرنده تری فسفات ۸ را افزایش می‌دهد. افزایش زیاد در مقدار آزاد کلسیم سیتوپلاسمی سنتز پروژسترون را تحریک می‌کند که پس از آن می‌تواند خارج از آستروسیت پخش و در نورون محلی ایجاد شود که آبشارهای عصبی را برای تولید افزایش LH راه بیندازد (۲۸). این گزارش نتایج مطالعه اخیر را تقویت می‌کند. در مطالعه حاضر شاید با افزایش استرادیول سبب رونویسی گیرنده پروژسترون می‌شود و سنتز پروژسترون عصبی را افزایش می‌دهد که در ابتدا سبب افزایش LH و پس از آن با افزایش LH، تخمک‌گذاری انجام می‌شود. سنتز پروژسترون عصبی نیاز به تعامل، وجود گیرنده استروژن آلفای غشایی با گیرنده متابوتروپیک ۱A- دارد. این گیرنده پروتئین همراه G، فسفولیپاز C را فعال می‌کند که به نوبه خود سطح اینوزیتول تری فسفات واسطه انتشار از منابع داخل سلولی کلسیم از طریق آن یک کانال کلسیمی در پیچ‌دار گیرنده تری فسفات را افزایش می‌دهد. به احتمال با تجویز عصاره هیدروالکلی گندم که دارای کلسیم است با افزایش زیاد در مقدار آزاد کلسیم سیتوپلاسمی سنتز پروژسترون را تحریک می‌کند که پس از آن می‌تواند این هورمون پخش شود و آبشارهای عصبی را برای تولید افزایش LH راه بیندازد.

در تحقیق انجام شده میزان هورمون FSH در گروه کنترل مثبت نسبت به گروه شاهد تجربی افزایش معنادار داشته به طوری که این افزایش در دوزهای ۵۰ mg/kg و ۱۰۰ و ۱۵۰ نسبت به گروه کنترل مثبت معنادار است. می‌توان این گونه بیان کرد که به احتمال مواد مؤثره موجود در گیاه، تأثیر افزایش هورمونی وابسته به دوز را دارد. در بررسی‌ها نشان داده شده که ترکیب  $\alpha$  توکوفرول و FSH می‌تواند درصد زیست پذیری فولیکول‌ها را افزایش، این امر درصد اووسیت‌های زیست‌پذیری که قادر به لقاح در محیط آزمایشگاه هستند را افزایش می‌دهد (۲۹). بر اساس نتایج برخی از مطالعه‌ها، گیاه کالکینوم کوموسوم ۹ از جمله گیاهان دارای خواص آنتی‌اکسیدانی است. به نظر می‌رسد کاهش استرس اکسیداتیو با تجویز آنتی‌اکسیدان‌ها می‌تواند سبب کاهش اثر بالقوه مخرب رادیکال‌های آزاد اکسیژن و در نتیجه افزایش تعداد و کیفیت اووسیت‌ها و فولیکول‌ها و همچنین مهار آپوپتوز فولیکول‌های تخمدان در این افراد شود. همچنین مقایسه میانگین سطوح سرمی آنتی مولرین هورمون ۱۰ در

نسبت به دوز mg/kg ۵۰ افزایش داده که این افزایش معنادار بوده است (P=0.001). همچنین تجویز عصاره هیدروالکلی گندم با دوز mg/kg ۱۵۰ میزان هورمون پروژسترون را نسبت به دوز mg/kg ۵۰ افزایش داده که این افزایش معنادار بوده است (P=0.0). تجویز عصاره هیدروالکلی گندم با دوز mg/kg ۱۵۰ میزان هورمون پروژسترون را نسبت به دوز mg/kg ۱۰۰ افزایش داده که این افزایش معنادار بوده است (P=0.02). نتیجه این که، بیشترین تأثیر مربوط به دوز mg/kg ۱۵۰ بوده است.

### میزان هورمون استرادیول سرم خون در دوزهای مختلف:

نتایج به دست آمده طبق نمودار و آزمون آنالیز واریانس نشان داد که تجویز عصاره هیدروالکلی گندم با دوز mg/kg ۱۰۰ به مدت ۲۱ روز میزان هورمون استرادیول را نسبت به دوز mg/kg ۵۰ افزایش داده که این افزایش معنادار بوده است (P=0) همچنین تجویز عصاره هیدروالکلی گندم با دوز mg/kg ۱۵۰ میزان هورمون استرادیول را نسبت به دوز mg/kg ۵۰ افزایش داده که این افزایش معنادار بوده است (P=0). تجویز عصاره هیدروالکلی گندم با دوز mg/kg ۱۵۰ میزان هورمون استرادیول را نسبت به دوز mg/kg ۱۰۰ افزایش داده که این افزایش معنادار بوده است (P=0.001) نتیجه این که، بیشترین تأثیر مربوط به دوز mg/kg ۱۵۰ بوده است.

### بحث:

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تجویز عصاره هیدروالکلی گندم قادر است میزان هورمون‌های جنسی را در موش‌های صحرایی افزایش دهد. تجویز عصاره هیدروالکلی گندم با دوز mg/kg ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ به مدت ۲۱ روز، میزان هورمون LH نسبت به گروه کنترل مثبت افزایش داشته که این افزایش معنادار است. می‌توان این گونه بیان کرد که شاید مواد مؤثر موجود در گیاه، تأثیر افزایش هورمونی وابسته به دوز را دارد. مواد قندی ۱/۴۵ درصد از گندم را به خود اختصاص داده‌اند (۲۶). اطلاعات عمده به دست آمده از بافت‌های محیطی مانند چربی، عضله و کبد، سیگنال‌های انسولین را از طریق اتصال‌های متنوع مسیرهای داخل سلولی نشان می‌دهد. برخی از نقاط عمده متقاطع به بسترهای گیرنده انسولین ۱، فسفو کیناز ۲ AKT و پروتئین کیناز فعال شده با میتوزن ۳ به عنوان گره‌های مهم قابل بحث شناخته شده‌اند. بسیاری از این مسیرهای وابسته به انسولین که دارای توانایی برای تعامل با یکدیگر و همچنین تعامل با مسیرهای سیگنالینگ هورمون محرک فولیکول (FSH) و هورمون لوتئینی (LH) هستند، انسولین را به اعمال نفوذ و تغییر مستقیم بر عملکرد تخمدان قادر می‌سازد. در پژوهشی به بررسی اقدام‌های درون سلولی انسولین و جذب گلوکز توسط بافت تخمدان مانند گرانولوزا، تکا و تخمک در طول چرخه قاعدگی یا استروس برخی از گونه‌های جوندگان، پستانداران و نشخوارکنندگان پرداخته شده است. سیگنال‌های انسولین از طریق مسیرهای متنوع عمل می‌کنند. یکی از این مسیرها در انواع سلول‌های فولیکولی مانند گرانولوزا، تکا و تخمک هستند. مسیرهای سیگنالینگ برای FSH در سلول‌های گرانولوزا و برای LH در سلول‌های گرانولوزا و تکا وجود دارند. نقش گلوکز و جذب واسطه گلوکز برای انسولین در فولیکول‌ها بحث شده است. گفته می‌شود که قند خون علاوه بر نقش مثبت برای ارائه انرژی، برای عملکرد سلول نیز ممکن است از توابع سیگنالینگ با واسطه انسولین در سلول‌های تخمدان، شامل پروتئین کیناز وابسته به ۴AMP یا هگزور آمین باشد (۲۷). در پژوهش حاضر، کاربرد عصاره هیدروالکلی گندم به گروه‌های تیمار دریافت‌کننده دوزهای مختلف ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم شاید افزایش قند خون می‌تواند با جذب گلوکز توسط بافت تخمدان مانند سلول‌های گرانولوزا، تکا و تخمک، سیگنال‌های انسولین را از طریق مسیرهای سلول‌های فولیکولی وارد عمل کند. با توجه به اینکه مسیرهای سیگنالینگ برای FSH در سلول‌های گرانولوزا و برای LH در سلول‌های گرانولوزا و تکا وجود دارند، گلوکز از این طریق می‌تواند سبب افزایش هورمون FSH و LH شود که این نتایج موافق با گزارش‌های ارائه شده به وسیله Dopund و همکاران در سال ۲۰۱۶ است.

Neurosteroids	5
Neuroprogesterone	6
Trisphosphate (IP3)	7
Ca2 + IP3	8
Calloginum Comosum	9
Anti-Mullerian hormone (AMH)	10

IRSS	1
PI3K	2
MAPKDO	3
AMPK	4

جلوگیری کند (۳۳) با توجه به ناچیز بودن مقدار لیپید در گندم، این نتیجه قابل پیش‌بینی است. احتمال اول این است که عصاره گندم با افزایش فرآیند متابولیک در سلول‌های جسم زرد از طریق تشکیل میتوکندری و افزایش عملکرد دستگاه گلژی، سبب بالا بردن سطح فعالیت ترشحی سلول‌های لوتئینی و ترشح پروژسترون شد. در بررسی‌ها نشان داده شد که آپلن ۱۵ ترشح پروژسترون و بلوغ تخمک را در سلول‌های تخمدان گاو تنظیم می‌کند. آپلن، گیرنده پروتئین جی است که در تخمدان گاو بیان شده است. با این حال نقش آن‌ها در سلول‌های گرانولوزا و تخمک ناشناخته مانده است. در بررسی، بیان آن‌ها در سلول‌های تخمدان گاو مورد مطالعه قرار گرفت و تنظیم آن‌ها در سلول‌های گرانولوزای جسم زرد کشت شده در پاسخ به سوماتومدین C یا فاکتور رشد شبه انسولین ۱ و ۱۶ FSH بررسی شد. در بررسی ذکر شده، اثر و مکانیسم مولکولی آپلن (ایزوفرم ۱۳ و ۱۷) بر ترشح پروژسترون سلول گرانولوزای گاو و در بلوغ تخمک تعیین شد. توسط واکنش زنجیره پلی مرز RT-PCR و آزمایش ایمنو بلات ۱۸، نشان داده شد که، بیان هر دو آپلن و گیرنده آپلن در سلول‌های گرانولوزا و تخمک به طور قابل توجهی با افزایش اندازه تخمدان افزایش پیدا کرد. در حالی که بیان آن در سلول‌های بینابینی تکا مشابه بود. در شرایط آزمایشگاهی، در سلول‌های گرانولوزای جسم زرد گاو غیرتحریکی و در پاسخ به فاکتور رشد شبه انسولین ۱ (۱۰-۸ مول) اما نه به FSH با این غلظت، مشاهده شد که آپلن (ایزومر ۱۷-۱۳) (۱۰-۹ مول) سبب افزایش تولید پروژسترون شد. این، در پاسخ به آنتاگونیست گیرنده آپلن نوع ML۲۲۱ لغو شد. این اثر دومی وابسته به مپ کیناز ارک ۱/۲ بود. علاوه بر این، آپلن با ایزومر ۱۳ و ۱۷ با غلظت (۱۰-۹) مول تکثیر سلول را از طریق سیگنالینگ AKT۲۰ افزایش داد. بنابراین، آپلن می‌تواند در پاسخ به FSH در غلظت‌های بالا، ترشح پروژسترون و تکثیر سلولی در سلول‌های گرانولوزای جسم زرد گاو در شرایط آزمایشگاهی افزایش دهد (۳۴).

مطالعه حاضر نشان داد که تجویز عصاره هیدروالکلی گندم در دوزهای مختلف می‌تواند سبب افزایش هورمون پروژسترون شود که این نتایج موافق با گزارش‌های ارائه شده بوسیله Roche و همکاران در سال ۲۰۱۷ است. به احتمال گندم، بیان قابل توجه آپلن و گیرنده آن را در سلول‌های گرانولوزا و تخمک در پاسخ به FSH در غلظت‌های بیشتر از (۱۰-۸ مول) افزایش داده است، که این افزایش، تکثیر سلولی را از طریق سیگنالینگ AKT بالا برده است. در نتیجه کثرت تکثیر سلولی می‌تواند سبب افزایش تولید پروژسترون از سلول‌های گرانولوزای جسم زرد شود.

با توجه به نتایج به دست آمده در این تحقیق، نشان دهنده افزایش هورمون استرادیول در گروه کنترل مثبت نسبت به گروه شاهد تجربی است و این افزایش معنادار بوده است. همچنین این هورمون با تجویز عصاره هیدروالکلی گندم با دوزهای mg/kg ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ نسبت به گروه کنترل مثبت افزایش داشته که این افزایش معنادار بوده است. نتیجه اینکه عصاره هیدروالکلی گندم سبب افزایش میزان سطح سرمی هورمون استرادیول شده است. می‌توان این گونه بیان کرد که مواد مؤثره موجود در گیاه، اثر افزایش هورمونی وابسته به دوز را دارد.

در تحقیق‌هایی Meng و همکاران در سال ۲۰۱۵ گزارش دادند که سالیین غنی از هیدروژن سطح استروژن و رشد فولیکول‌ها را بالا برده و آسیب به قشر تخمدان را کاهش داده است. در نتیجه با درمان سالیین غنی از هیدروژن عوارض ناشی از استرس اکسیداتیو معکوس می‌شود. علاوه بر این، سالیین غنی از هیدروژن در موش تخمدان آسیب دیده بیان پروتئین NRF۲ را تنظیم می‌کند. سالیین غنی از هیدروژن یک اثر محافظتی در برابر آسیب تخمدان ناشی از سیس پلاتین به وسیله کاهش

بین گروه‌های مطالعه شده نشان داد که گروه‌های کنترل، مدل، حلال و کالگنیوم از نظر هورمون تفاوت معناداری ندارند (۳۰). بر اساس نتایج برخی از مطالعه‌ها، به دنبال شیمی درمانی در بیماران سرطانی که در طول سه ماه اول بارداری در معرض داروهای ضد نئوپلاسم بوده‌اند، سقط خود به خودی و تولد نوزاد ناقص بالاتر از میزان مورد انتظار بوده است (۳۱). این داروها سبب کاهش هورمون‌های گنادوتروپین و کاهش میل جنسی می‌شوند که توجیه‌کننده کاهش میزان FSH و پروژسترون در تحقیق است (۳۰). نشان داده شده که دوکسوروبیسین با قرار گرفتن در میان دو جفت باز DNA و باز کردن رشته‌های آن، ساخت DNA و RNA وابسته به DNA را مهار و از تقسیم سلول‌ها جلوگیری می‌کند (۳۱). دوکسوروبیسین از ساخت پروتئین نیز جلوگیری می‌کند و سبب آپتوز و ایجاد گونه‌های فعال اکسیژن می‌کند (۳۲). در تحقیقی دیگر نشان داده شده که افزایش ویتامین E، کاهش دهنده میزان مرگ اووسیت‌ها و نقصان تخمک‌گذاری آن‌ها در محیط آزمایشگاه است. این یافته‌ها می‌تواند برای به کارگیری آنتی اکسیدان‌ها در مکمل‌های غذایی استفاده شود. آنتی اکسیدان‌ها می‌توانند به عنوان تعدیل‌م‌ موثر برای ممانعت از استرس اکسیداتیو به خصوص آسیب DNA، کروموزوم و میکروتوبول، در فرآیندهای اکسیداسیون باشند (۲۹). به نظر می‌رسد مطالعه حاضر همسو با همه گزارش‌های گفته شده بالا و تأییدکننده آن است. توکوفرول و ویتامین E موجود در گندم با داشتن خاصیت آنتی اکسیدانی می‌تواند سطح هورمون را افزایش دهد. خاصیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد موجود در گندم، با ممانعت از استرس اکسیداتیو مانع آسیب DNA، کروموزوم و میکروتوبول، در فرآیندهای اکسیداسیون می‌شود و این مهار اکسیژن فعال و استرس اکسیداتیو را به دنبال دارد. این خاصیت سبب افزایش هورمون‌های گنادوتروپین و افزایش میل جنسی می‌شوند که توجیه‌کننده افزایش میزان FSH، پروژسترون و تکثیر سلول‌های گرانولوزایی در تحقیق است. با توجه به نتایج به دست آمده در این تحقیق، نشان داد که میزان هورمون پروژسترون بعد از تجویز داروی کلومیفن سترات در گروه کنترل مثبت نسبت به گروه شاهد تجربی افزایش معنادار داشته، به طوری که این افزایش در دوزهای mg/kg ۵۰ و ۱۰۰ و ۱۵۰ نسبت به گروه کنترل مثبت معنادار است. می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که استفاده از عصاره هیدروالکلی گندم با روش گاوآژ، سبب افزایش سطح سرمی هورمون پروژسترون شد. می‌توان این گونه بیان کرد که مواد مؤثره موجود در گیاه، تاثیر افزایش هورمونی وابسته به دوز را دارد.

بر اساس نتایج برخی از مطالعه‌ها، سلول‌های اجسام زرد موش زال از نظر هیستو شیمی ۱۱ پس از تجویز دوزهای بالای پروژسترون در دوره‌های مختلف بارداری و شیردهی بررسی شد. قبل از تولد ۱۲ تزریق پروژسترون به صورت درونی انجام گرفت و این به تأثیر منفی در رشد جنین منجر شد. در دوران بارداری ۱۳ منجر به طولانی شدن دوره بارداری و در روز ۲۵، درصد موارد، به مرگ داخل رحمی جنین انجام شد. اگر افزایش پروژسترون در طول شیردهی انجام شود سبب افزایش عملکرد اسید لاکتیک می‌شود. با تزریق درونی پروژسترون به ارگانیسم، سبب کاهش فعالیت ترشحی سلول‌های لوتئینی و بدون هر گونه تغییر کارکردی در سلول‌های بینابینی همراه شد. وقتی فرآیند متابولیک بدن در سلول‌های لوتئین مختل شد، این قطع فرآیند، منجر به تشکیل نشدن واکوئل ترشحی، کاهش عملکرد دستگاه گلژی و یک کاهش شدید در سنتز چربی شد و در نهایت میتوکندری در معرض فروپاشی قرار گرفت. تجزیه و تحلیل مقایسه‌ای عملکردی و ظاهری ۱۴ سلول‌های جسم زرد در شرایطی که تعادل هورمونی به هم خورده، تغییر در تولید جداگانه‌ای از پروژستین و استروژن از دو نوع سلول‌های ترشحی را تأیید کرد (۳۳). نتایج ما همسو با نتایج Formichev در سال ۱۹۷۷ بود. به این دلیل که افزایش تعداد جسم زرد، افزایش ترشح پروژسترون را به دنبال دارد و به احتمال عکس آن صادق نیست. با وجود اینکه سبوس گندم حاوی ترکیب‌های لیپیدی است و این باید از تشکیل جسم زرد

G-protein coupled receptor APLNR (APLN)	15
IGF1	16
q Polymerase chain reaction RT (RT-qPCR)	17
Immunoblot	18
MAPK ERK1 / 2 Kinase	19
AKT signaling	20

Histochemically	11
prepartum	12
pregnancy	13
Morphofunctional	14

دو گروه حیوانات پیر و گروه دی گالاتاز کاهش یافته است. توسط خرفه تغییر در سطح هورمون‌ها، محتویات مالون دی آلدئید و فعالیت آنتی اکسیدانی به قابل توجهی معکوس شد. خرفه نیز می‌تواند تغییر بافتی مانند آتروفی آندومتر را بهبود بخشد. نتیجه، این یافته‌ها نشان می‌دهد که خرفه می‌تواند تناوب پیری ناشی از دی گالاتوز و پیری را در سیستم تولید مثل زنان تقلیل دهد (۳۶). پژوهش حاضر در راستای دو پژوهش ذکر شده است. به احتمال خاصیت آنتی اکسیدانی گروه توکوفرول‌ها فعالیت‌های سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز که یک اثر محافظتی در برابر آسیب تخمدان دارد را افزایش می‌دهد. با افزایش این آنزیم‌ها آسیب تخمدان ناشی از استرس اکسیداتیو کاهش یافته و در نتیجه سطح هورمون استروژن بالا می‌رود. به دلیل محدودیت‌هایی چون زمان تحقیق و طولانی شدن روند انجام طرح، امید است در آینده مطالعه‌هایی برای مقایسه تعداد فولیکول‌ها با افزایش زمان تیمار عصاره‌های آبی و الکلی گندم انجام شود.

**نتیجه‌گیری:** به نظر می‌رسد استفاده از عصاره هیدروالکلی گندم سبب افزایش معنادار سطح هورمون پروژسترون، استروژن، LH و FSH شد. ترشح زیاد هورمون LH، سبب افزایش سطح هورمون FSH، فعال شدن آپلن و به دنبال آن زنجیره تولید پروژسترون از سلول‌های گرانولوزای جسم زرد شده است.

### تشکر و قدردانی:

این مقاله حاصل پایان نامه برای اخذ درجه کارشناسی ارشد بود. از همه همکاران گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد، مدیریت گروه سرکار خانم دکتر بالاتزاد و ریاست محترم دانشکده علوم آقای دکتر جاویدی برای همکاری‌های بی‌دریغ‌شان تشکر و قدردانی می‌شود.

مالون ۲۱ و افزایش سوپراکسید دیسموتاز ۲۲ و فعالیت کاتالاز ۲۳ دارد. آسیب تخمدان ناشی از شیمی درمانی شامل فعال شدن ژن NRF۲ است (۳۵).

تحقیق حاضر هم راستا با پژوهش Meng و همکاران در سال ۲۰۱۵ است. به این دلیل که مطالعه اخیر نشان داد که عصاره هیدروالکلی گندم به دلیل وجود ترکیب‌های توکوفرول و انواع ویتامین‌ها مانند E دارای خاصیت آنتی اکسیدانی است. به احتمال با مهار رادیکال‌های آزاد بیان پروتئین NRF۲ تنظیم می‌شود. مهار رادیکال‌های آزاد یک اثر محافظتی در برابر آسیب تخمدان به وسیله کاهش مالون و افزایش آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و فعالیت کاتالاز دارد، که این افزایش ترمیم فولیکولی سبب افزایش ترشح هورمون استرادیول شد.

در پژوهش دیگری، اثر عصاره اتانولی خرفه روی سیستم تولید مثل موش ماده پیر بررسی شد. پیری شامل زوال مورفولوژیکی و عملکرد در سیستم‌های بیولوژیکی است. D-گالاتوز ۲۴ تولید رادیکال‌های آزاد و پیری را تسریع می‌کند. خرفه ممکن است اثر محافظتی در برابر استرس اکسیداتیو داشته باشد. اثر عصاره اتانولی خرفه بر شاخص‌های آنتی اکسیدان و هورمون‌های جنسی در پیری موش ماده تحت تأثیر دی گالاتوز قرار گرفته بودند، بررسی شد. سطح استروژن در گروه دریافت کننده دی گالاتوز در مقایسه با گروه کنترل کاهش می‌یابد. محتویات مالون دی آلدئید در تخمدان و رحم در گروه دی گالاتوز و گروه‌های پیر به طور قابل توجهی افزایش یافته است. فعالیت‌های سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز به طور قابل توجهی در هر

MDA	21
SOD	22
CAT	23
D-galactose (D-gal)	24

### منابع:

- Kassiri M. and Alian F. (2015). Analysis of causes and treatment of infertility from the prespective of a muslim doctors. Esfahan university of medical sciences. 4(3). 139-150.
- Azarnia M., Tahmatani, Rajabi M. (1386). An introduction to the production of animals. Jihad Publishing University Teacher Training Unit. First Printing: 135-133.
- Akhondi M. Gamma and embryo donation in the treatment of infertility. (1386). Center for Research and Development of Humanities Jihad University. Avicenna Research Institute Publication No. 1002. No. 2. Seal: 24
- Taheri Panah R., Karimzadeh Meybodi M.H. Platoonians A., Amir Arjmand M.H. (1378). Evaluation of the effect of age of women on the results of sperm injection into oocyte (ICSI) compared with IUF Journal of Reproduction and Infertility Winter period: 30-24.
- Karimi P., Johari H., Protective Shah Jahromi and., Fatahi and. (1395). Effect of glyphosate herbicide on oogenesis and tissue structure of ovary in adult rats. Journal of Physiology and Animal Husbandry. Successive Number 33. Volume 9. Number 2: 23-31.
- Hadley MK (1386). Reproductive hormones. Translation by Dr. Mokhtari M. Kowsar Publishing House. First Printing: 50-45.
- Hinckle J. U (2014). Nursing Internal-Surgical. Translation of m. BehnuPardaz Publications. First Printing: 20-19.
- Sangar F.A (1394). Reproductive Physiology. Translation by Dr. Karram H., Dr. Yousefi A. Tehran Sadeh Publishing House. First Printing.: 25-23.
- Becker K.L. (2001). Principles And Practice Of Endocrinology And Me-

tabolism. US National Library of Medicivr National Instituted of Health. 3rd ed:918-1113.

- Fritz Mark A., Spearf L. (1391). Clinical hormones and methods of family planning. First Printing: 2-1: 73-69.
- Hosseini A., Daliri Z (1394). Effects of Lithium Perinatal Carbonate Administration on the Performance of the Hypothalamic-Pituitary-Gonad Axis of the Adult First-Generation Female Mature Rat. Faculty of Science Shiraz Branch. Islamic Azad university. Journal of Fasa University of Medical Sciences. Fifth year No. 3: 397.
- Azarnia M., Tahamtani Y., Rajabi M. (1386). An introduction to the production of animals. Jihad Publishing University Teacher Training Unit. First Printing: 135-133.
- H., Marathan A. (1392). Sex in the fish. Biology education. (2) 29: 35-34.
- Saroukhani b (1384). Introduction to Family Sociology. Tehran Soroush. Seventh Printing: 30.
- Daryaie M.r. (1390). Whole bread, wholegrain bread, wheat bread and barley with fiber and bran. Ambassador Ardehal. Tehran: 82-79.
- Malik Soleimani M., Abnoosi M. H., Mahmoudi M., Anvari M., Dezofolian A., Davoodzadeh H. (1388). Journal of Kerman University of Medical Sciences. The sixteenth. No. 3: 243-233.
- Zargari A. (1998). Plants medicine. 6nd ed. Tehran university Press. vol 4. pp: 682 - 97.
- Karimi H. (1982). (Wheat, 1nd ed, Markaze Nashre Daneshgahi Press. pp: 1-3 and 505- 12.
- Shewry PR., Hey SJ. (2016). Do you need to worry about eating

- wheat?. University of Reading Berkshire UK. 41(1): 13-16.
20. Sacco R.,Pucci L.,Sivozhelezov V.,Pellegrini L.,Giacomelli L.,Longo V. (2015). Prevention of vascular damage with Lisosan G wheat extract: the in vitro basis for a clinical investigation. Dipartimento di Gastroenterologia, UO Gastroenterologia e Malattie del Ricambio, Azienda Ospedaliero Universitaria Pisana, Cisanello Hospital, Pisa, Italy. r.sacco@ao-pisa.toscana.it. 19(8):1517-9.
21. Letelier C.,Herve M.,Correa J. (2008). Enhancement of ovulatory follicle development in maiden sheep by short-term supplementation with steam-flaked corn. reproduction in domestic animals. 43(2): 222-227.
22. Faria T.,Sampaio F.,Flavia B. (2010). Effects of maternal undernutrition during lactation on estrogen and androgen receptor expressions in rat ovary at puberty. Urogenital research unit. State university of rio de janeiro. 26(10):993-999.
23. Tehrani Pour M , Khayatzaheh J., Mutolzaheh A. (2009). Effect of sativa cannabis extract on neuronal neuronal density of cervical neurons after sciatic nerve compression in rats. Master's thesis of Islamic Azad University, Mashhad
24. Hasanzadeh H., Ramezani M., Afarin Z. (1390). Effect of Ocimum Basilicum Extract on Morphine Exclusion Syndrome in Mice. Quarterly Journal of Medicinal Plants. 11th year (8) 1. 238-227.
25. Hosseini A., Dalili Z. (1394). Effects of Lithium Perinatal Carbonate Administration on the Performance of the Hypothalamic-Pituitary-Gonad Axis of the Adult First-Generation Female Mature Rat. Faculty of Science Shiraz Branch. Islamic Azad university. Journal of Fasa University of Medical Sciences. Fifth year No. 3: 397.
26. Mousavi M., Mazaheri Z., Mohammadi F. (1390). Gartner Comprehensive Histology. Islamic Azad University of Yazd. First Edition. Civilization: 5-1.
27. Dupont J.,Scaramuzzi RJ. (2016). Insulin signalling and glucose transport in the ovary and ovarian function during the ovarian cycle. Biochem J. 1;473(11):1483-501. doi: 10.1042/BCJ20160124.
28. Micevych P.,Sinchak k. (2008). Estradiol regulation of progesterone synthesis in the brain. Mol Cell Endocrinol. 13;290(1-2):44-50. doi: 10.1016/j.mce.2008.04.016. Epub 2008 May 3.
29. Bazgari Firoozabadi F, Javid A., Rezaei Zarchi S. (1389). Study of the effects of  $\alpha$ -tocopherol and follicular stimulatory hormones on the puberty of pre-antelar follicles in immature and oocyte mice. Journal of Iran University of Medical Sciences. Seventeenth. No. 72: 15-7.
30. Bahramikia S.,Yazdanparast R. (2010). Antioxidant efficacy of Nasturtium officinale extracts using various in vitro assay systems. J Acupunct Meridian Stud. 3(4): 283-90. [Farsi]
31. Kim MJ.,Kim SS. (2017). Utilisation of immature wheat flour as an alternative flour with antioxidant activity and consumer perception on its baked product. Food Chem. 1:232:237-244. Doi: 10.1016/j.foodchem.2017.04.007. EPUB 2017 Aor 4.
32. Ichikawa Y.,Ghanefar M.,Bayeva M, Wu R.,Khechaduri A.,Naga Prasad SV.,et al. (2014). Cardiotoxicity of doxorubicin is mediated through mitochondrial iron accumulation. J Clin Invest. 124(2): 617– 30.
33. Tavakoli H., Shariati M., Hosseini SA. (2011). The effect of hydroalcoholic extract of henna flower on sex hormones and ovarian follicles in adult female mice. Animal Physiology and Development (Life Sciences). Volume 7. Number 3. Consecutive 26.:19-13.
34. Roche J.,Rame C.,Reverchon M.,Mellouk N.,Rak A.,Forment P.,Dupont J. (2017). Apelin (APLN) regulates progesterone secretion and oocyte maturation in bovine ovarian cells. US National Library Medicine Institutes of Health.153(5):589-603. doi: 10.1530/REP-16-0677.
35. Meng X.,Chen H.,Wang G.,Yu Y.,Xie k. (2015). Hydrogen-rich saline attenuates chemotherapy-induced ovaecian injury via regulation og oxidative stress. US National Library Medicine Institutes of Health. 10(6):2277-2282.
36. Ahangapour A.,Lmiichi Z.,Fathi Moghaddam H.,Mansouri SM. (2016). Effects of pottulaca oleracea ethanolic extract on reproductive system of againg female mice. US National Library Of Medicine National Institutes Of Healt.Int J Repord Biomed(YAZD). 14(3):205-12