

اثر عصاره هیدروالکلی میوه تمشک بر فولیکول‌های بافت تخمدانی و ویژگی‌های سرمی در سندرم تخمدان پلی‌کیستیک القایی در موش صحرایی

محمد نبیونی^{۱*}، سیده رضوان پناهنده^۲، سولماز دوستی خواه^۳، لطیفه کریم‌زاده باردئی^۴

^۱ گروه سلولی و مولکولی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی (تربیت معلم)، تهران، ایران ^۲ گروه علوم جانوری، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی (تربیت معلم)، تهران، ایران، ^۳ مرکز تکثیر و پرورش حیوانات آزمایشگاهی و آزمایشگاه تحقیقاتی سلولی تکوینی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی (تربیت معلم)، تهران، ایران

تاریخ وصول: ۱۳۹۳/۵/۱۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۰/۱۳

چکیده:

زمینه و هدف: سندرم تخمدان پلی‌کیستیک نارسایی آندوکرینی است که مانع تخمک‌گذاری شده و دارای جنبه‌های التهابی می‌باشد. عصاره تمشک با دارابودن ترکیب‌های فعال زیستی از جمله آنتوسیانین‌ها و پلی‌فنول‌ها دارای خواص ضدالتهابی می‌باشد. هدف از این مطالعه بررسی اثرات ضد التهابی عصاره تمشک بر روند تکوین فولیکول‌های تخمدانی و سطح هورمون‌های هیپوفیزی، تخمدانی و کبدی در موش‌های مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک بود.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی ۱۲۰ سر موش ویستار ماده بالغ به سه گروه، کنترل، سندرم تخمدان پلی‌کیستیک و تیمار شده با تمشک تقسیم شدند. القای سندرم به واسطه تزریق تک مرحله‌ای و زیرپوستی ۲ میلی‌گرم استرادیول ولرات صورت گرفت. پس از ۶۰ روز، عصاره تمشک به میزان ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به صورت درون صفاقی تزریق گردید. گروه کنترل هیچ تزریقی دریافت نکرد. پس از ده روز تزریق، موش‌ها کشته و سرم و تخمدان نمونه‌ها به منظور بررسی تغییرات هیستولوژیک و سرولوژیک جمع‌آوری شد. داده‌های به دست آمده با استفاده از آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: کاهش معنی‌داری در میزان هورمون‌های تستوسترون، استرایول، LH و CRP در همه گروه‌های تیمار شده با عصاره میوه تمشک در مقایسه با گروه سندرم تخمدان پلی‌کیستیک دیده شد ($p < 0.05$)، در حالی که افزایش معنی‌داری در میزان سرمی پروژسترون و FSH مشاهده شد ($p < 0.05$). همچنین تعداد جسم زرد و ضخامت لایه گرانولوزا در گروه تیمار شده با عصاره تمشک افزایش معنی‌داری را نسبت به گروه سندرم تخمدان پلی‌کیستیک نشان داد ($p < 0.05$).

نتیجه‌گیری: عصاره تمشک با اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی خود احتمالاً می‌تواند در تعدیل سطح سرمی هورمون‌ها و CRP و بهبود کیست‌ها مؤثر واقع شده و باعث آغاز تخمک‌گذاری گردد.

واژه‌های کلیدی: سندرم تخمدان پلی‌کیستیک، تمشک، استرادیول ولرات، جسم زرد.

* نویسنده مسئول: محمد نبیونی، دانشگاه خوارزمی، دانشکده علوم زیستی، گروه سلولی مولکولی

Email: devbiokharazmi@gmail.com

مقدمه

آندروژن ها را افزایش می دهند. در زنان مبتلا به سندرم تخمدان پلی کیستیک میزان انسولین و فاکتورهای شبیه انسولینی^(۶) افزایش می یابد که موجب افزایش سنتز آندروژن در سلول های تک و در نتیجه تقویت عملکرد LH می شود(۵).

ترکیب C-reactive protein(CRP) یکی از پروتئین های مهم مرحله حاد است که در واکنش به افزایش سطوح سایتوکین ها التهابی مانند اینترلوکین ۱ و ۶^(۷) به وسیله کبد ترشح می شود(۶). افزایش سطح CRP به عنوان شاخص التهاب می تواند افراد را در خطر ابتلا به بیماری عروق کرونر قلب و دیابت تیپ ۲ قرار دهد. از آنجایی که این علائم از مهم ترین عارضه های سندرم تخمدان پلی کیستیک می باشند تغییرات میزان این پروتئین می تواند معیار مناسبی برای پیشرفت علائم دیگر این سندرم باشد(۷).

میوه تمشک حاوی طیف گسترده ای از ترکیب های فعال زیستی از جمله ویتامین C و فنول ها (فلاونوئیدها^(۸)، آنتوسیانین ها^(۹) و الاژیتانین ها^(۱۰)) می باشد. فلاونوئیدها و آنتی سیانین ها رنگ دانه هایی هستند که رنگ مشخصه تمشک از آنها می باشد. خواص ضد التهابی، ضد اکسیدانی و ضد سرطانی این گیاه به محتوای پلی فنول های آن باز می گردد (۱۱-۸).

سندرم تخمدان پلی کیستیک^(۱) برای اولین بار در سال ۱۹۳۵ به وسیله اشتین^(۲) و لونتال^(۳) توصیف شد(۱). سندرم تخمدان پلی کیستیک شایع ترین اختلال آندوکروینی در زنان و علت ناباروری به دلیل عدم تخمک گذاری است(۲و۳). ۵ تا ۱۰ درصد زنان در سنین قبل از یائسگی به آن مبتلا می شوند(۴). این بیماری ناهمگون در یک سر طیف با تظاهرات مورفولوژی تخمدان پلی کیستیک در سونوگرافی لگنی مشخص می گردد و در انتهای دیگر طیف علایمی چون چاقی، هیپر آندروژنیسم^(۴)، اختلال سیکل قاعدگی و ناباروری به طور منفرد یا توأم بروز می نماید. اختلالات متابولیکی از جمله افزایش سطح تستوسترون، انسولین و LH^(۵) سرمی هورمون های پرولاکتین در این بیماری شایع است و سلامت زنان را در طولانی مدت تحت تأثیر عمیق سندرم تخمدان پلی کیستیک مبتلا به خود قرار می دهد. تظاهرات این سندرم در هنگام بلوغ بروز نموده و تصور می شود که با افزایش وزن در هنگام بلوغ در ارتباط باشد(۳). مطالعه ها نشان داده است که در حداقل ۵۰ درصد از زنان مبتلا به سندرم تخمدان پلی کیستیک و بدون ارتباط به چاقی آنها و مقاومت به انسولین وجود دارد(۴).

میزان هورمون LH به طور ویژه در زنان مبتلا به سندرم تخمدان پلی کیستیک افزایش می یابد که به دلیل افزایش در میزان و تناوب ترشح این هورمون است. زمانی که غلظت هورمون LH نسبت به FSH افزایش می یابد، تخمدان به طور ترجیحی سنتز

- 1-Poly Cystic Ovarian Syndrome (PCOS)
- 2- Stein
- 3-Leventhal
- 4-Hyperandrogenism
- 5-Luteinizing hormone
- 6-Insulin-Like Growth Factors
- 7-Interleukin
- 8-Flavonoids
- 9-Anthocyanins
- 10-Ellagitannins

ضدالتهابی و ضد رگ‌زایی آن نشان داده شده است (۱۸). آنتوسیانین‌های تمشک سبب انعقاد پلاکت خون، ممانعت از تشکیل لخته‌های خونی دخیل در سکتة مغزی، آمبولی ریوی، بیماری‌های عروق محیطی و حمله قلبی و افزایش سطح کلسترول با دانسیته بالا^(۵) می‌شود. ترکیب‌های فنلی، بدن را در برابر بیماری‌های قلبی - عروقی، سرطان، التهاب‌ها، چاقی و دیگر بیماری‌های متابولیکی حفاظت می‌کند (۲۰ و ۱۹).
درمان سندرم شامل؛ رژیم غذایی کم کالری، ورزش، جراحی و درمان‌های دارویی از جمله استفاده از اسپیرونولاکتون^(۶)، گلیتازون‌ها^(۷)، کلومیفن سیترات^(۸) و متفورمین^(۹) است. هدف از درمان سندرم برگرداندن تخمک‌گذاری طبیعی و در نهایت باروری بی‌خطر است.

داروهای خوراکی درمان دیابت به عنوان روش بهبود بارداری در زنان سندرم تخمدان پلی‌کیستیک که علایم مقاومت به انسولین را نشان می‌دهند مورد استفاده قرار می‌گیرند. از میان این داروها تنها متفورمین در دوران بارداری ایجاد عوارض جنینی و مادری نمی‌کند به عبارتی این دارو به عنوان تنها داروی خوراکی ضد دیابت غیرتراتوژن

خاصیت آنتی‌اکسیدانی تمشک به ویتامین C، آنتوسیانین‌ها و الاژیتانین‌ها نسبت داده شده است به طوری که ویتامین C حدود ۲۰ درصد از کل ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، آنتی‌سیانین‌ها ۲۵ درصد و بیشترین سهم ظرفیت آنتی‌اکسیدانی به وسیله الاژیتانین‌ها است که بیش از ۵۰ درصد می‌باشد (۱۲ و ۱۳).

عصاره این گیاه از قرن شانزدهم در اروپا و شمال شرقی آمریکا به عنوان یک داروی ضد التهابی در برابر عفونت‌های دهانی و چشمی استفاده می‌شد. تمشک قرمز با مهارکردن آنزیم‌های حرفه‌ای اکسیدان مانند؛ لپوکسیژناز، سیکلواکسیژناز و اکسیدازانتین^(۱) C به عنوان آنتی‌اکسیدان قوی معرفی می‌شود. ترکیب‌های فنلی تمشک، از اکسیداسیون LDL^(۲) و لیپوزوم در بدن جلوگیری می‌کنند (۱۴).
هم‌چنین به صورت قابل ملاحظه‌ای ظرفیت بالای را در از بین بردن رادیکال‌های آزاد نشان داده‌اند و یا به عنوان دهنده هیدروژن ایفای نقش می‌کنند (۱۵).
سیانیدین ۲-۰- گلوکوزیداز که ۸۸ درصد کل محتوای آنتی‌سیانینی تمشک را به خود اختصاص داده است سنتز واسطه‌های التهابی دخیل در پاتوژنز بیماری‌های التهابی مزمن را مهار می‌کند. عصاره تمشک اثرات ضد تکثیر سلولی، ضد رگ‌زایی و القای اپوپتوز را از طریق تعامل با چندین مسیر سیگنالینگ متعدد نشان می‌دهد (۱۶ و ۱۷). مولکول‌های هدف عصاره تمشک شامل فاکتورهای رونویسی مسیر NF-KB^(۳) و JAK-STAT^(۴)، فاکتورهای رشد و سیتوکین‌ها می‌باشد. اثرات ضد سرطانی تمشک عمدتاً از طریق اثرات

1-Xanthine Oxidase
2-Low-Density Lipoprotein (LDL)
3-NF-KB (Nuclear Factor Kappa-Light-Chain-Enhancer Of Activated B Cells
4-Janus Kinase (Jak) and Signal Transducer and Activator of Transcription (STAT)
5- High-Density Lipoprotein (HDL)
6-Spironolactone
7-Glitazones
8-Clomifene Citrate
9-Metformin

شناخته شده است. این دارو از دسته بی گوانیدها^(۱) است که معمولاً به خوبی به وسیله بیمار تحمل می‌شود، اگرچه گاهی اختلالات گوارشی بروز می‌کند و موجب کاهش موقت مصرف دارو می‌شود. سایر عوارض این دارو اسیدوز لاکتیک^(۲) و قندخون می‌باشد. از سوی دیگر بیماران مبتلا به سندرم اختلالات زیاد فیزیولوژیکی از قبیل چاق یا لاغر بودن و احتمالاً تفاوت‌های ژنتیکی نیز با یکدیگر دارند. متفورمین در موارد مقاومت به انسولین در برخی از نژادهای خاص از جمله زنان ونزوئلا و فنلاند مؤثر می‌باشد، ولی تأثیری بر روی جمعیت مورد مطالعه در زنان ترکیه و آمریکا نداشته است. بیماران ممکن است مقاومت به انسولین داشته یا نداشته باشند. از این رو امروزه استفاده از فرآورده‌های طبیعی که به دلیل دارابودن خواص آنتی‌اکسیدانی سبب مهار سمیت حاصل از داروهای شیمیایی نیز می‌شوند مورد توجه قرار گرفته است^(۲۱).

با توجه به وابستگی علایم متابولیکی و تولید مثلی سندرم تخمدان پلی‌کیستیک و نیز با تکیه بر خواص ضدالتهابی و ضداکسیدانی عصاره میوه تمشک^(۳)، در این مطالعه اثرات میوه این گیاه در کاهش علایم التهابی سندرم تخمدان پلی‌کیستیک و شروع تخمک گذاری موش‌های مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک بررسی گردید.

روش بررسی

این مطالعه تجربی طی سال‌های ۱۳۹۱-۱۳۹۲ در دانشگاه خوارزمی انجام شد. پروتوکل این تحقیق

بر اساس قوانین بین المللی در مورد حیوانات آزمایشگاهی انجام گردید و در کمیته اخلاق دانشگاه به تصویب رسید. در این مطالعه تجربی از ۱۲۰ سر موش آزمایشگاهی بزرگ (موش) نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۰-۱۸۰ گرم استفاده شد که در شرایط محیطی مناسب (دمای ۲۴-۲۰ درجه سانتی‌گراد و سیکل تاریکی و روشنایی منظم ۱۲ ساعته) و دسترسی آزادانه به غذا و آب در مرکز تکثیر حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه خوارزمی نگه‌داری شدند. موش‌ها به صورت تصادفی به ۶ گروه کنترل، شاهد و پلی‌کیستیک تیمار شده با سه غلظت از عصاره تمشک (RFE100, RFE150, RFE200) تقسیم شدند و هر گروه شامل هشت سر موش بود و تمامی مراحل تحقیق سه بار تکرار گردید. از میان انواع روش‌های القای فنوتیپ سندرم تخمدان پلی‌کیستیک در این تحقیق از تزریق تک مرحله‌ای و زیر پوستی ۲ میلی‌گرم استرادیول ولرات (داروسازی ابوریحان - ایران) (۳۲ سر) استفاده شد^(۲۲). گروه کنترل (۸ سر) هیچ تزریقی دریافت نکرد. حیواناتی که پس از تهیه اسمیر واژینال در طول دوازده الی چهارده روز دارای دو الی سه دوره متوالی و منظم سیکل استروس بودند انتخاب شده و در مرحله استروس سیکل تولیدمثلی، تحت تزریق ۲ میلی‌گرم استرادیول ولرات به ازای هر موش به صورت زیر پوستی قرار گرفتند. پس از تزریق نیز تهیه اسمیر واژینال تا مشاهده ی تغییرات سیکل استروس و نامنظم شدن آن و رسیدن به مرحله

1-Biguanides
2-Lactic Acidosis
3-Raspberry Fruit Extract (RFE)

پایان ۱۰ روز تزریق عصاره میوه تمشک، موش‌های هر سه گروه با استفاده از تنفس کلرفرم کشته شد و با استفاده از سرنگ ۵ سی‌سی خون گیری از قلب حیوان انجام گرفت. تخمدان‌ها در فیکساتیو بوئن قرار داده شدند. پس از تثبیت نمونه‌های بافتی به مدت ۱۴ ساعت، نمونه‌ها به وسیله محلول‌های الکل با درجات صعودی ۲۰ تا ۱۰۰ درصد در هر کدام برای ۴۰ دقیقه تا یک ساعت آب‌گیری و سپس در الکل زایلین (۵۰:۵۰) و زایلین (سه بار) شفاف‌سازی و پارافین قالب‌گیری شدند. سپس نمونه‌ها با میکروتوم به قطر ۷ میکرومتر برش‌گیری و برش‌ها بر روی لام‌های پوشیده شده با ژلاتین قرار داده شدند. برش‌های بافتی پس از پارافین زدایی و آب‌دهی به وسیله محلول‌های الکل با درجات نزولی با همتوکسیلین و اتوزین رنگ‌آمیزی شدند و با میکروسکوپ نوری مورد بررسی هیستومورفومتریک قرار گرفتند.

به منظور عدم شمارش مجدد یک فولیکول بزرگ، از هر ۱۰ برش یک برش شمارش شد تا از دو بار شمارش فولیکول آنترال که هسته‌ای تقریباً به قطر ۷۰ میکرون دارد جلوگیری به عمل آید. شمارش تعداد کل فولیکول‌های هر دسته فولیکولی به وسیله فرمول پیشنهادی زیر انجام گرفت؛ $F=(A \times B / C) / D$
F = تعداد کل فولیکولی، A = تعداد فولیکول‌ها در هر برش، B = فاصله ی بین برش‌های شمارش شده، C = قطر اووسیت، D = ضخامت برش‌ها).

اسمیر واژینال شاخی پایدار^(۱) ادامه پیدا کرد. مشاهده این حالت حاکی از القای سندرم می‌باشد که حدوداً در روز ۶۰ پس از تزریق استرادیول ولرات اتفاق می‌افتد.

تهیه و تجویز عصاره گیری تمشک از استان مازندران (بابل) جمع‌آوری گردید. میوه‌های این گیاه بعد از جدا شدن از شاخه با تهویه مناسب در سایه خشک شدند. جهت عصاره‌گیری، مقدار ۵۰۰ گرم از پودر میوه گیاه در یک لیتر اتانول ۷۰ درصد حل گردید. پس از ۴۸ ساعت به وسیله کاغذ صافی محلول صاف شده به بالن منتقل گردید و حلال آن با استفاده از دستگاه روتاری^(۲) در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد با دور متوسط خارج گردید. مایع غلیظ شده حاصل در اون و در دمای ۴۵ درجه به مدت دو روز قرار داده شد که در نتیجه آن تمام حلال الکی محلول‌های غلیظ بخار شد و در نهایت عصاره خشک حاصل گردید. حدود ۵۰ گرم عصاره خشک از مجموع ۵۰۰ گرم پودر میوه گیاه عصاره تمشک به دست آمد. غلظتی از عصاره تمشک باعث مرگ ۵۰ درصد از موش‌ها شد به عنوان LD50 در نظر گرفته شد که در این آزمایش غلظت ۱۵۰۰ میلی‌گرم عصاره تمشک به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به عنوان LD50 انتخاب شد.

زیر گروه‌های تیمار شده با عصاره تمشک روزانه به مدت ۱۰ روز متوالی به مقادیر ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن خود عصاره میوه تمشک محلول در سالیین به صورت تزریق درون صفاقی دریافت نمودند. گروه شاهد حلال عصاره میوه تمشک (سالیین) را دریافت کرد. در

1-Persisten Vaginal Cornification (PVC)
2-Rotatory Evaporator

همچنین آنالیزهای مورفومتریک جهت بررسی تغییرات لایه‌های سلولی گرانولوزا و غلاف فولیکولی در فولیکول‌های انترال با استفاده از اکولر مدرج و ابژکتیو ۱۰ و ۴۰ میکروسکوپ نوری انجام گرفت. اندازه‌گیری این لایه گرانولوزا به منظور یکسان نبودن در محیط یک فولیکول بر اساس پیش فرض پیشنهادی زیر صورت گرفت، اندازه لایه ی گرانولوزا در گروه فولیکولی آنترال^(۱) فاصله اولین لایه سلولی گرانولوزا در مجاورت غلاف فولیکولی تا نزدیک‌ترین لایه به حفره آنتروم تشکیل شده در بخش روبروی کمپلکس اووسیت-کومولوس در نظر گرفته شد.

همچنین با استفاده از سانتیفریوژ ۶ هزار دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه سرم جداسازی شدند؛ آزمایش‌های سرولوژیک به منظور بررسی تغییرات میزان سرمی هورمون‌های تستوسترون، پروژسترون، استرادیول، LH، FSH و تغییرات CRP با روش الایزا انجام گرفت.

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار Excel و آزمون‌های آماری آنالیز واریانس یک طرفه تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

پس از آنالیز آماری به دلیل عدم وجود تفاوت معنی‌دار میان گروه شاهد و کنترل، از داده‌های مربوط به گروه شاهد صرف‌نظر شد. پس از مشاهده مقاطع بافتی تخمدان در گروه‌های کنترل، سندرم تخمدان پلی‌کیستیک و گروه‌های تیمار شده با عصاره میوه تمشک، فولیکول‌ها از نظر مرحله رشد و تکوین و

بر اساس ریخت‌شناسی و قطر فولیکول به شش گروه فولیکول‌های بدوی (PMF)^(۲)، فولیکول‌های اولیه (PF)^(۳)، فولیکول‌های پیش آنترال کم تر از ۶۰۰ میکرون (PAF)^(۴)، فولیکول‌های آنترال ۶۰۰ تا ۱۰۰۰ میکرون (AF)، فولیکول‌های کیستیک (CF)^(۵) و اجسام زرد (CL)^(۶) تقسیم شدند و مورد شمارش و بررسی قرار گرفتند. تا روز ۲۸ پس از تزریق حیوانات دچار بی‌نظمی سیکل و عدم تخمک‌گذاری می‌شوند، ولی هنوز هیچ کیست یا فولیکول در حال کیست شدن مشاهده نمی‌شود. پس از پایان ۶۰ روز کاهش معنی‌داری در تعداد فولیکول‌های اولیه، پیش آنترال و آنترال نسبت به گروه کنترل مشاهده شد. همچنین ظهور فولیکول‌های کیستیک با لایه گرانولوزای نازک در حد دو الی سه لایه سلولی با تفاوت معنی‌داری به میزان $p < 0/001$ نسبت به گروه کنترل مشاهده شد. کاهش تعداد اجسام زرد در گروه سندرم تخمدان پلی‌کیستیک نسبت به گروه کنترل به میزان $p < 0/001$ بود (شکل ۱ و نمودار ۱).

تیمار ده روزه گروه سندرم تخمدان پلی‌کیستیک با عصاره میوه تمشک در سه غلظت مذکور منجر به افزایش معنی‌داری در تعداد جسم زرد و تعداد فولیکول‌ها در گروه‌های فولیکولی و کاهش تعداد کیست‌ها به صورت وابسته به دوز شد (نمودار ۲).

- 1- Antral Follicle (Or Graafian Follicle) (AF)
- 2-Primordial Follicles (PMF)
- 3-Primary Follicles (PF)
- 4-Preantral Follicles (PAF)
- 5-Cystic Follicles (CF)
- 6-Corpus Luteum (CL)

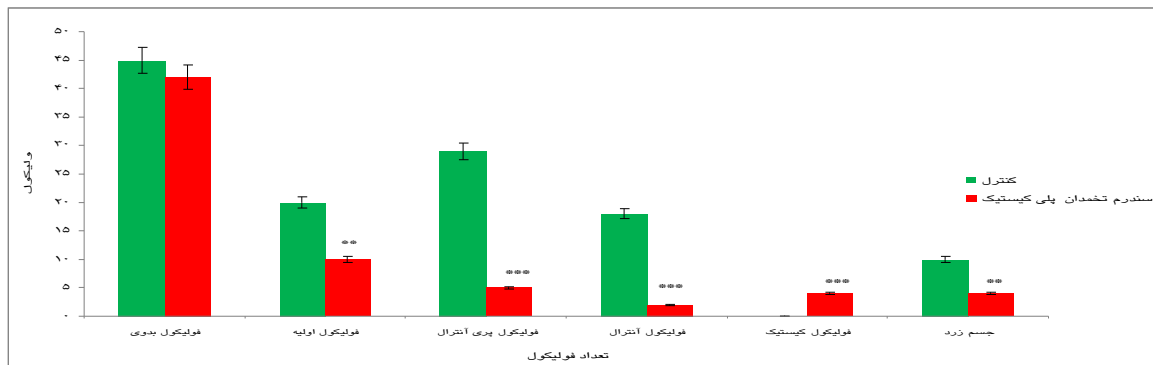
تعداد گروه‌های مختلف فولیکولی و عدم مشاهده جسم زرد حاصل از عدم تخمک‌گذاری بود، در حالی که در گروه تیمار شده با بیشترین غلظت عصاره میوه تمشک در این بررسی (۲۰۰ میلی‌گرم به ازای هرکیلوگرم وزن بدن موش)، تغییرات در ضخامت لایه‌های محصورکننده ی فولیکول‌ها تغییرات معنی‌داری را در جهت بهبود نسبت به گروه سندرم تخمدان پلی‌کیستیک نشان دادند (شکل ۱ و نمودار ۳). نتایج حاصل از بررسی‌های سرولوژیک کاهش معنی‌داری را در سطح هورمون تستوسترون، استرادیول و LH و CRP و همچنین افزایش FSH و روژسترون در هر سه گروه تیمار شده با عصاره میوه تمشک نسبت به گروه سندرم تخمدان پلی‌کیستیک نشان داد ($p < 0.001$).

همچنین آنالیزهای مورفومتریک جهت بررسی تغییرات لایه‌های سلولی گرانولوزا و غلاف فولیکولی در فولیکول‌های انترال با استفاده از اکولر مدرج و ابژکتیو ۱۰ و ۴۰ میکروسکوپ نوری انجام گرفت و نتایج معنی‌داری حاصل گردید.

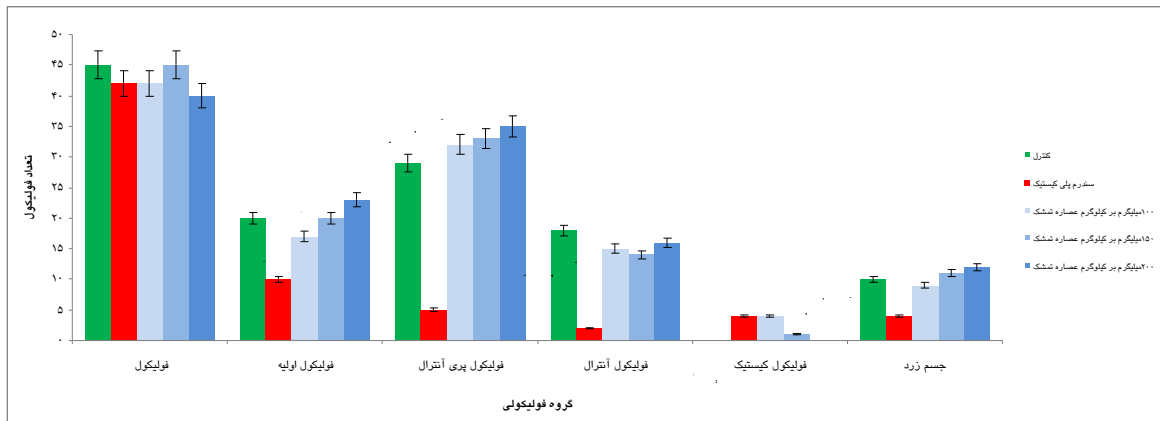
در گروه کنترل فولیکول‌های گراف دارای غلاف نازک فولیکولی و لایه ضخیمی متشکل از سلول‌های گرانولوزا بوده و تعداد قابل توجهی جسم زرد مشاهده شد. در حالی که در گروه سندرم تخمدان پلی‌کیستیک افزایش و کاهش معنی‌داری به تموشیب در ضخامت غلاف فولیکولی و ضخامت لایه گرانولوزا در مقایسه با گروه کنترل دیده شد. نتیجه تزریق استرادیول ولرات به صورت تک مرحله‌ای در طول مدت ۶۰ روز، ایجاد فولیکول‌های کیستی و کاهش



تصویر ۱: فتومیکروگراف تخمدان گروه کنترل (A)، پلی‌کیستیک (B) و تیمار شده با ۲۰۰ میلی‌گرم عصاره میوه تمشک به ازای هر کیلوگرم وزن حیوان (C) (۸ سر). لایه ضخیم غلاف فولیکولی در سندرم تخمدان پلی‌کیستیک منجر به عدم تخمک‌گذاری موفق و ایجاد کیست می‌گردد. پیکان‌ها لایه غلاف فولیکولی و نوک پیکان لایه گرانولوزا را در گروه‌های مختلف نشان می‌دهند. رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین (H&E) (بزرگمایی ۴۰X).

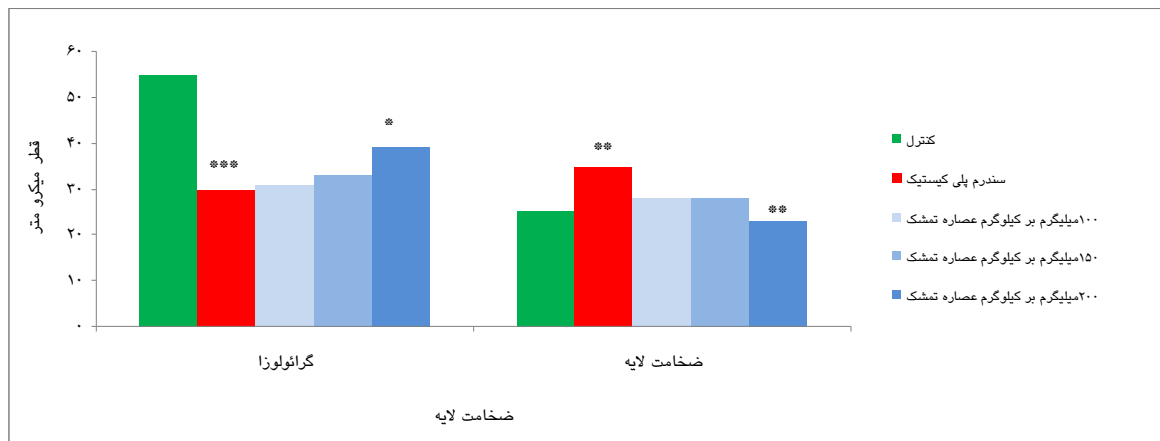


نمودار ۱: مورفومتری گروه‌های مختلف فولیکولی در تخمدان‌های گروه پلی‌کیستیک و گروه کنترل (n=8) در تخمدان‌های گروه پلی‌کیستیک کاهش معنی‌داری در تعداد همه ی دستجات فولیکولی (جز فولیکول‌های بدوی) نسبت به گروه کنترل مشاهده شد. $p < 0.001$ ، $p < 0.0001$.



نمودار ۲: مورفومتری گروه‌های مختلف فولیکولی در تخمدان‌های گروه پلی‌کیستیک و گروه پلی‌کیستیک تیمار شده با عصاره میوه تمشک به میزان ۱۰۰ و ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن حیوان (۸ سر). در تخمدان گروه‌های پلی‌کیستیک تیمار شده با عصاره میوه تمشک افزایش معنی‌داری در تعداد همه دستجات فولیکولی نسبت به گروه پلی‌کیستیک و کاهش معنی‌داری در تعداد کیست‌های تخمدانی مشاهده شد.

* p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001



نمودار ۳: مورفومتری ضخامت لایه گرانولوزا و غلاف فولیکولی در تخمدان‌های کنترل، سندرم تخمدان پلی‌کیستیک و سندرم تخمدان پلی‌کیستیک تیمار شده با عصاره میوه تمشک به میزان ۱۰۰ و ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن حیوان (۸ سر). مقایسه تغییرات ضخامت این لایه‌ها در گروه سندرم تخمدان پلی‌کیستیک نسبت به گروه کنترل و همچنین در گروه سندرم تخمدان پلی‌کیستیک تیمار شده با عصاره میوه تمشک نسبت به گروه سندرم تخمدان پلی‌کیستیک معنی‌دار بود. * p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001

جدول ۱: مقایسه نتایج پروفایل هورمونی و CRP بین گروه‌های مختلف (۸ سر). گروه سندرم تخمدان پلی‌کیستیک تفاوت معنی‌داری به میزان * p < 0.001 نسبت به گروه کنترل در میزان هورمون‌ها و سطح CRP نشان داد. گروه‌های تیمار شده با عصاره تمشک به میزان ۱۰۰ و ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن حیوان تفاوت معنی‌داری را نسبت به گروه سندرم تخمدان پلی‌کیستیک نشان دادند.

گروه	کنترل	سندرم تخمدان پلی‌کیستیک	سندرم تخمدان پلی‌کیستیک عصاره تمشک	سندرم تخمدان پلی‌کیستیک عصاره تمشک	سندرم تخمدان پلی‌کیستیک عصاره تمشک
LH نانوگرم بر میلی‌لیتر	۰/۱۵±۲/۸	۰/۵±۵/۵***	۰/۱۲±۵/۱*	۰/۱۱±۴/۸**	۰/۱۱±۴/۱۵***
FSH نانوگرم بر میلی‌لیتر	۲۱±۱۵۵۰	۱۵±۶۱۵***	۱۵±۸۲۵**	۱۹±۱۰۲۷***	۳۲±۱۲۹۳**
تستوسترون نانوگرم بر میلی‌لیتر	۰/۰۴±۰/۵	۰/۰۲±۱/۱۲***	۰/۰۲±۰/۸۶**	۰/۰۳±۰/۷۲**	۰/۰۴±۰/۶۱***
پروژسترون نانوگرم بر میلی‌لیتر	۲/۵±۱۲۲	۴±۵۵***	۵/۵±۶۹*	۵±۸۶**	۶±۱۰۵***
استرادیول نانوگرم بر میلی‌لیتر	۰/۸۳±۱۸	۱۰/۱۱±۵۰/۳***	۹±۳۲/۰۲**	۸/۵±۲۹**	۱۳±۲۸***
پروتئین واکنش گر حاد نانوگرم بر میلی‌لیتر	۰/۰۲±۰/۱۴۵	۰/۰۵±۰/۲۷۵***	۰/۰۲±۰/۲۲**	۰/۰۶±۰/۲۰***	۰/۰۱±۰/۱۸***

* p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001

بحث

در این تحقیق فنوتیپ سندرم تخمدان پلی‌کیستیک ایجاد و اثر عصاره تمشک بر میزان رشد و نمو فولیکولی بر اساس مشاهدات مورفولوژیکی و مورفومتری بافت تخمدان و بهبود علائم این سندرم بر اساس آنالیز سرم خون جمع‌آوری شده از نمونه‌ها بررسی گردید.

کیم و همکاران در سال ۲۰۱۳ اثر ضد التهابی و ضدباکتریایی عصاره تمشک را مورد بررسی قرار داده و نشان داد که عصاره میوه تمشک باعث کاهش سطح سایتوکین‌های پیش برنده التهاب (IL-1، IL-6 و IL-10) و پروستاگلاندین‌ها می‌شود (۲۳) و از سوی دیگر جانگ و همکاران در سال ۲۰۱۴ نشان دادند که پروستاگلاندین‌ها ترشح LH و FSH را از طریق هورمون آزادکننده گنادوتروپین‌ها^(۱) تحت تأثیر قرار می‌دهند و تیمار حیوان با پروستاگلاندین‌ها سبب افزایش LH می‌گردد (۲۴). ظفری و همکاران در سال ۲۰۱۰ نشان داد. تأثیر فراورده‌های طبیعی با خاصیت ضد التهابی مانند عصاره بابونه در تخمدان پلی‌کیستیک باعث می‌شود که میزان استرادیول و گنادوتروپین‌های LH و FSH به طور قابل توجهی تغییر یابد (۲۵). بر اساس این تحقیقات و با توجه به نتایج به دست آمده در بررسی حاضر (کاهش میزان هورمون‌های LH و استرادیول و افزایش FSH) به نظر می‌رسد عصاره تمشک با دارا بودن خواص ضد التهابی توانسته است با مهار تولید پروستاگلاندین‌ها

باعث کاهش LH و در نتیجه تعدیل هورمون‌های محور هیپوتالاموس - هیپوفیز - تخمدان شود.

نیونی و همکاران در سال ۲۰۱۰ نشان داد یکی از سایتوکین‌های پیش التهابی به نام اینترلوکین ۶، ترشح CRP را در کبد تنظیم می‌کند (۲۶) و هم‌چنین کلی و همکاران در سال ۲۰۰۱ مشاهده کرد زنان مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک میزان CRP بالاتری نسبت به زنان سالم دارند (۲۷). با استناد به تحقیق کازرونی و همکاران در سال ۲۰۰۳، کاهش CRP با کاهش علائم متابولیکی در نمونه‌های سندرم تخمدان پلی‌کیستیک که با متفورمین درمان شده بودند، همراه بوده است (۲۸). نیونی و همکاران در سال ۲۰۱۳ بیان داشت کاهش میزان سایتوکین‌های سیستمیک به وسیله زهر زنبور عسل موجب سیر علائم تخمدانی سندرم تخمدان پلی‌کیستیک به سمت تخمدان سالم شد (۲۹). با تکیه بر این مطالعه‌ها و ایجاد ارتباط بین آنها می‌توان استنباط کرد هر دارویی مانند متفورمین و زهر زنبور عسل که سبب کاهش میزان سایتوکین‌های پیش‌برنده التهاب از جمله CRP و IL-6 شود می‌تواند در کاهش علائم سندرم تخمدان پلی‌کیستیک مؤثر واقع شود. روسلین و همکاران در سال ۲۰۱۲ با استفاده از عصاره تمشک در درمان سرطان روده نشان داد که عصاره تمشک از طریق اعمال خواص ضد التهابی خود باعث کاهش سایتوکین IL-6 و در نتیجه کاهش CRP می‌شود (۳۰). در بررسی حاضر میزان CRP

1- Gonadotropin-Releasing Hormone (GnRH)

گروه‌های تیمارشده با عصاره تمشک با کاهش معنی‌داری نسبت به گروه سندرم تخمدان پلی‌کیستیک همراه بود که مؤکد خواص ضد التهابی عصاره تمشک و تأثیرات مفید آن در کاهش علائم سندرم تخمدان پلی‌کیستیک بر پایه مطالعه‌های کازرونی و نبیونی است.

استفاده از زهر زنبور عسل و کاهش میزان التهاب سیستمیک و آندروژن‌ها که در مطالعه نویسندگان این مطالعه در سال ۲۰۱۱ صورت گرفت منجر به افزایش تعداد فولیکول بدوی و گراف در تخمدان موش شد (۳۱) مطالعه دیگری که در مصر به وسیله علی و همکاران در سال ۲۰۰۰ صورت گرفت نیز نشان از بهبود علائم التهابی و تولیدمثلی زنان سندرم تخمدان پلی‌کیستیک تیمار شده با زهر زنبور عسل، کاهش معنی‌داری سطح هورمون لوتئینی و تستوسترون و افزایش ظهور جسم زرد تا ۷۰ درصد در مقایسه با گروه کنترل داشت (۳۲). بر اساس نتیجه‌گیری این گروه این علائم از طریق خواص ضدالتهابی و ضد اکسیدانی زهر زنبور عسل و کاهش فعالیت مسیر NF- κ B بروز یافت. بنابراین این مسیر سیگنالینگ در بروز علائم التهابی و استرس اکسیداتیو در سندرم تخمدان پلی‌کیستیک و کاهش فعالیت آن در بهبود علائم تولید مثلی این سندرم دارای اهمیت است؛ گونزالز و همکاران در سال ۲۰۰۶ نشان دادند با افزایش بیان NF- κ B، میزان تستوسترون رو به افزایش می‌گذارد چرا که آنزیم‌های استروئیدوژنیک تخمدانی پاسخگو به ساخت آندروژن‌ها، به وسیله استرس

اکسیداتیو تحریک و فعال شده و با عناصر آنتی‌اکسیدان‌ها مهار می‌گردد (۳۳) با تکیه بر این نکته که آندروژن در سندرم تخمدان پلی‌کیستیک افزایش می‌یابد بنابراین اگر شواهدی مبنی بر اثرات مهارتی تمشک بر مسیرهای تولید یا القای تولید آندروژن وجود داشته باشد می‌توان نتیجه‌گیری کرد که تمشک یکی از موادی است که در بهبود اختلالات هورمونی به ویژه آندروژن‌ها کاربرد بهینه خواهد داشت. چنانچه هووانگ و همکاران اثرات مهارتی عصاره متانولی تمشک را بر روی انتقال پروتئین فعال کننده و NF- κ B القا شده به وسیله سرطان در سلول‌های اپیدرمی موش گزارش دادند. اثرات مهارتی عصاره تمشک روی AP-1 و NF- κ B باعث مهار فعالیت KB و در نتیجه کاهش تکثیر سلولی و التهاب می‌شود (۳۴). در این تحقیق به نظر می‌رسد کاهش میزان هورمون تستوسترون به دلیل مهار مسیر NF- κ B به وسیله عصاره تمشک بوده است.

در سندرم تخمدان پلی‌کیستیک افزایش استرس اکسیداتیو نقش مهمی در افزایش تعداد کیست‌ها از طریق افزایش بیان TNF- α و در نتیجه افزایش میزان رگزایی در تخمدان و افزایش تعداد سلول‌های تشکیل دهنده غلاف فولیکولی و به دام افتادن و عدم آزادی تخمک دارد. از آنجا که سانگیوان و همکاران در سال ۲۰۱۳ نشان دادند که عصاره تمشک خوراکی میزان استرس اکسیداتیو را به منظور کنترل التهاب معده کاهش می‌دهد (۳۵)، بنابراین می‌توان استنباط کرد که در این بررسی مهار

بوده است. بدین وسیله از ریاست محترم دانشکده تقدیر و تشکر به عمل می آید.

استرس اکسیداتیو به وسیله عصاره تمشک باعث کاهش و یا از بین رفتن فولیکول‌های کیستی و افزایش تعداد فولیکول‌های سالم و جسم زرد شده است.

در این تحقیق عصاره میوه تمشک با اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی در موش‌های مبتلا به تخمدان پلی‌کیستیک باعث بهبود علائم بافتی تخمدان‌ها از قبیل افزایش تعداد فولیکول‌های در حال تکوین و ضخامت لایه گرانولوزا و تعداد جسم زرد شد. هم‌چنین سبب تغییرات معنی‌داری در میزان هورمون‌های محور هیپوتالاموس - هیپوفیز - تخمدان شد که این تغییرات در کنار کاهش شاخص التهاب (CRP) نشان از بهبود نسبی علائم سیستیک موش‌های سندرم تخمدان پلی‌کیستیک تحت تیمار با عصاره میوه تمشک داشت. از این رو می‌توان عصاره میوه تمشک را به عنوان فرآورده طبیعی مؤثر در کاهش بخشی از علائم سندرم تخمدان پلی‌کیستیک معرفی کرد. بررسی تأثیر عصاره میوه و بخش‌های دیگر این گیاه بر سایر علائم این سندرم پیچیده از جمله افزایش میزان رگزایی و مشکلات قلبی-عروقی، کبد چرب و مقاومت به انسولین پیشنهاد می‌شود.

تقدیر و تشکر

این تحقیق که از پایان‌نامه کارشناسی ارشد استخراج شده است در مرکز تکثیر و پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه خوارزمی انجام شده و از حمایت دانشکده علوم زیستی این دانشگاه برخوردار

REFERENCES

1. Stein IF, Leventhal ML. Amenorrhea associated with bilateral polycystic ovaries. *Am J Obstet Gynecol* 1935; 29:181-91.
2. MacDougall MJ, Tan SL, Balen SH, Jacobs US. A controlled study comparing patients with and without polycystic ovaries undergoing in vitro fertilization. *Hum Reprod* 1993; 8: 233-7.
3. Balen AH. The pathogenesis of polycystic ovary syndrome: the enigma unravels. *Lancet* 1999; 354: 966-7.
4. Dunaif A. Insulin resistance and the polycystic ovary syndrome: mechanisms and implications for pathogenesis. *Endocr REV* 1997; 18: 774-80.
5. Marx TL, Mehta AE. Polycystic ovary syndrome: pathogenesis and treatment over the short and long term. *Cleveland Clinic J Med* 2003; 70: 31-45.
6. Calabro P, Willerson J, Yeh E. Inflammatory cytokines stimulated C reactive protein production by human coronary artery smooth muscle cells. *Circulation* 2003; 108: 1930-2.
7. Kelly CJ, Lyall H, Petrie JR, Gould GW, Connell MC, Sattar N. Low Grade Chronic Inflammation in Woman with Polycystic Ovarian Syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86(6): 2453-5.
8. Mishra KP, Ganju L, Sairam M, Banerjee PK, Sawhney RC. A review of high throughput technology for the screening of natural products. *Biomedicine and Pharmacotherapy* 2008; 62(2): 94-8.
9. Dawidowicz AL, Wianowska D, Baraniak B. The antioxidant properties of alcoholic extracts from *Sambucus nigra* L. (antioxidant properties of extracts). *LWT*; 39(3): 308-15.
10. Marquina MA, Corao GM, Araujo L, Buitrago D, Sosa M. Hyaluronidase inhibitory activity from the polyphenols in the fruit of blackberry (*Rubus fruticosus* B). *Journal of Fitoterapia* 2002; 73(7-8): 727-9.
11. Moyer RA, Hummer KE, Finn CE, Frei B, Wrolstad RE. Anthocyanins, phenolics, and antioxidant capacity in diverse small fruits: *Vaccinium*, *Rubus*, and *Ribes*. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 2002; 50: 519-25.
12. Boivin D, Blanchette M, Barrette S, Moghrabi A, Beliveau R. Inhibition of cancer cell proliferation and suppression of TNF-induced activation of NFkB by edible berry juice. *Anticancer Research* 2007; 27: 937-48.
13. Wada L, Ou B. Antioxidant activity and phenolic content of Oregon caneberries. *J Agric Food Chem* 2002; 50: 3495-500.
14. Reddy MK, Ruby L, Alexander L, Muraleedharan GN. Relative inhibition of lipid peroxidation, cyclooxygenase enzymes, and human tumor cell proliferation by natural food colors. *J Agric Food Chem* 2005; 53: 9268-73.
15. Wang SY, Jiao H. Scavenging capacity of berry crops on superoxide radicals, hydrogen peroxide, hydroxyl radicals, and singlet oxygen. *J Agric Food Chem* 2000; 48: 5677-84.
16. Olsson ME, Gustavsson KE, Andersson S, Nilsson A, Duan RD. Inhibition of cancer cell proliferation in vitro by fruit and berry extracts and correlations with antioxidant levels. *J Agric Food Chem* 2004; 52: 7264-71.
17. Shih PH, Yeh CT, Yen GC. Anthocyanins induce the activation of phase II enzymes through the antioxidant response element pathway against oxidative stress-induced apoptosis. *J Agric Food Chem* 2007; 55: 9427-35.
18. Duncan FJ, Martin JR, Wulff BC, Stoner GD, Tober KL, Oberyszyn TM, Kusewitt DF, et al. Topical treatment with black raspberry extract reduces cutaneous UVB-induced carcinogenesis and inflammation. *Cancer Prev Res* 2009; 2: 665-72.
19. Zafra-Stone S, Yasmin T, Bagchi M, Chatterjee A, Vinson JA, Bagchi D. Berry anthocyanins as novel antioxidants in human health and disease prevention. *Mol Nutr Food Res* 2007; 51: 675-83.
20. Koca I, Karadeniz B. Antioxidant properties of blackberry and blueberry fruits grown in the Black Sea region of Turkey. *Journal of Scientia Horticulturae* 2009; 121(4): 447-50.
21. Mesbah F, Bahri A, Ghasemi E, Talaei Khozani T, Mirkhani H, Parsanezhad ME. The effects of metformin on ovum implantation and pregnancy outcome in rats with induced PCOS. *Tehran University Medical Journal* 2011; 69(3): 191-7.
22. Walters KA, Allan CM, Handelsman DJ. Rodent models for human polycystic ovary syndrome. *Biol Reprod* 2012; 86(5): 149, 1-12.
23. Kim SK, Kim H, Kim SA, Park HK, Kim W. Anti-Inflammatory and Anti-Super bacterial Activity of Polyphenols Isolated from Black Raspberry. *Korean J Physiol Pharmacol* 2013; 17: 73-9.

24. Li J, Zhang D, Stoner GD, Huang C. Differential effects of black raspberry and strawberry extract on BaPDE-induced activation of transcription factors and their target genes. *Mol Carcinog* 2008; 47(4): 286-94.
25. Zafari Zangeneh F, Minaee B, Amirzargar A, Ahangarpour A, Mousavizadeh K. Effects of chamomile extract on biochemical and clinical parameters in a rat model of polycystic ovary syndrome. *J Reprod Infertil.* ; 2010; 11(3): 169-74.
26. Karimzadeh L, Nabiuni M, Mohseni Kouchesfehiani H, Adham H, Bagheri A, Sheikholeslami A. Effect of bee venom on IL-6, COX-2 and VEGF levels in polycystic ovarian syndrome induced in Wistar rats by estradiol valerate. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases* 2013; 19: 32.
27. Kelly C, Petrie J, Gould G, Connell J, Sattar N. Low grade chronic inflammation in women with polycystic ovarian syndrome. *Clin Endocrin Metab* 2001; 86(6): 2453-5.
28. Kazerooni T, Dehghan-Kooshkyhazi M. Effects of metformin therapy on hyperandrogenism in women with polycystic ovarian syndrome. *Gynecol Endocrinol* 2003; 17(1): 51-96.
29. Karimzadeh L, Nabiuni M, Sheikholeslami A, Irian S. Bee venom treatment reduced C-reactive protein and improved follicle quality in a rat model of estradiol valerate-induced polycystic ovarian syndrome. *J Venom Anim Toxins incl Trop Dis* 2012; 18(4): 384-92.
30. Rocelynn A, Bobe G, Sardo CH, Wang L, Chieh-Ti K, Gary S, et al. Plasma cytokines as potential response indicators to dietary freeze-dried black raspberries in colorectal cancer patients 2012; 6 4(6): 820-825.
31. Nabiuni M, Parivar K, Zynali B, Karimzadeh L, Sheikholeslami A. Changes in the expression of cyclooxygenase-2 in polycystic ovary syndrome in Wistar rats. *Tehran University Medical Journal* 2011; 69(9): 537-46.
32. Ali AFM, Fateen B, Ezzet A, Badawy H, Ramadan A, El-Tobge A. Laparoscopic intraovarian injection of bee venom in treatment of polycystic ovarian disease: a new modality. *Obstet Gynecol* 2000; 95: 252-56.
33. Gonzalez N, Minium J, Kirwan J. Increased activation of nuclear factor- κ B triggers inflammation and insulin resistance in polycystic ovary syndrome. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2006; 91(4): 1508-12.
34. Huang C, Huang Y, Li J, Hu W, Aziz R, Tang MS, et al. Inhibition of benzo(a)pyrene diolepoxide-induced transactivation of activated protein 1 and nuclear factor κ B by black raspberry extracts. *Cancer Res* 2002; 62: 6857-63.
35. Sangiovanni E, Vrhovsek U, Rossoni G, Colombo E, Brunelli C, Brembati L, et al. Ellagitannins from Rubus Berries for the Control of Gastric Inflammation: In Vitro and In Vivo Studies. *PLoS One* 2013; 8(8): 1-12.

The Effects of Hydro-alcoholic Extract of Raspberry Fruit on Ovarian follicles and serum parameters in Poly Cystic Ovary Syndrome-Induced Rat

Nabiuni M^{1*}, Panahandeh SR², Doostikhah S², Karimzadeh Bardei L³

¹Department of Cell and Molecular Biology, Kharazmi University, Tehran, Iran, ² Department of Animal Biology, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran, ³ Animal Center & Cellular And Molecular Research Laboratory, Kharazmi University, Tehran, Iran.

Received: 2 Aug 2014 Accepted: 3 Jan 2014

Abstract

Background & aim: Polycystic Ovary Syndrome is an endocrine disorder leading to lack of ovulation and has inflammatory aspects. Raspberry extract, with possession of bioactive compounds such as Anthocyanins and polyphenols, have anti-inflammatory properties. In this study, the anti-inflammatory effects of raspberry extract on the development process of ovarian follicles and hormones level of pituitary, ovarian, and liver in rats suffering from PCOS were examined.

Methods: In the present experimental study, 120 adult Wistar rats were divided into three groups of control, PCOS, and treated with raspberry. The induction of syndrome was done by 2mg Estradiol valerate. After a period of 60 days, 100, 150 and 200 mg/kg BW raspberry extract was injected intraperitoneally. Control group received no injection. Ten days after the last injection, all groups were anesthetized by chloroform and the serum and ovary of all groups were collected in order to investigate the histological and serologic changes. Data obtained were analyzed by using one-way ANOVA.

Results: Raspberry-treated group showed a significant decrease in the hormones rate of testosterone, estradiol, LH, and CRP compared with PCOS ($p < 0.05$), whereas a significant increase was observed in the serum level of Progesterone and FSH ($p < 0.05$). A significant increase was observed in the number of corpus luteum and granulosa layer thickness in the raspberry-treated group compared with PCOS ($p < 0.05$).

Conclusion: The results demonstrated that the antioxidant and anti-inflammatory effects of raspberry extract was effective on regulating the hormones, CRP and improving of cysts which led to the initiation of ovulation.

Key words: Poly Cystic Ovary Syndrome, Raspberry, Estradiol valerate, Corpus luteums.

Corresponding author: Nabiuni M, Department of Cell and Molecular Biology, Kharazmi University (Tarbiat Moallem University), Karaj, Iran

Email: devbiokharazmi@gmail.com

Please cite this article as follows:

Nabiuni M, Panahandeh SR, Doostikhah S, Karimzadeh Bardei L. The Effects of Hydro-alcoholic Extract of Raspberry Fruit on Ovarian follicles and serum parameters in Poly Cystic Ovary Syndrome-Induced Rat. *Armaghane-danesh* 2015; 19(11): 955-968.