مقاله اصیل پژوهشی

تأثیر فراکسیون آبی بذر شوید (*Anethum graveolens L*) بر باروری و قندهای انتهایی موجود بر غشاهای ساختارهای سیستم تناسلی موش صحرایی ماده

ملیحه‌الزمان منصفی[1]، فرناز گرامی‌فر[2]

چکیده

زمینه و هدف: با توجه به گزارش‌های متعدّد در زمینه تأثیر عصاره تام گیاه شوید بر سیستم تناسلی جنس ماده، در تحقیق حاضر به بررسی تأثیر فراکسیون آبی این عصاره، بر سیستم تناسلی و گلیکوکانژوگیت‌های سطح اندومتر و تخمدان موش صحرایی ماده پرداخته شد.

روش تحقیق: در این مطالعه تجربی، موش‌های صحرایی ماده بالغ، به ۵ گروه: کنترل، دریافت‌کننده دوز پایین آبی و الکلی (به ترتیب ۰/۵ و ۰/۰۴۵گرم بر کیلوگرم) و دوز بالای آبی و الکلی (به ترتیب ۵ و ۰/۴۵ گرم بر کیلوگرم) گیاه شوید تقسیم شدند (هر گروه، ۸ حیوان). موش‌ها به مدت ۱۰ روز، هر روز یک میلی‌لیتر از دوزهای مذکور را به صورت خوراکی دریافت کردند. در پایان آزمایش، با خونگیری از آئورت پشتی، میزان هورمون‌های استروژن و پروژسترون سرم اندازه‌گیری شد. تخمدان‌ها و لوله‌های رحمی جدا گردید و تغییرات مورفومتریک مقاطع بافتی تخمدان و رحم اندازه‌گیری شد و شدت واکنش گلیکوکانژوگیت‌های سطح اندومتر و تخمدان، با استفاده از لکتین‌های DBA، PNA، UEA، ConA و SBA بررسی گردید. موش‌های ماده، با موش‌های نر طبیعی جفت‌گیری شده (هر گروه ۴ حیوان) و تعداد نوزادان، وزن و طول سر تا نشیمنگاه آنها اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: طول فاز دی‌استروس، در گروه دوز بالای عصاره آبی در مقایسه با گروه کنترل، به دو برابر افزایش یافت. قطر دیواره رحم، قطر طولی و عرضی تخمدان و قطر سلول‌های گرانولوزای جسم زرد، در مقایسه با گروه کنترل تا دو برابر کاهش نشان دادند. عدم بارداری و تولد نوزاد، در کلیه گروه‌های دریافت‌کننده فراکسیون آبی مشاهده گردید. شدت واکنش رنگ پذیری قندهای α–مانوز، N–استیل گلوکزامین و N–استیل گالاکتوزامین گلیکوکونژوگیت‌های سطح سلول‌های اندومتر رحم و تخمدان بالکتین‌های ConA، DBA و SBA در گروه‌های تیمار با عصاره، تغییرات معنی‌داری را در مقایسه با گروه کنترل نشان داد.

نتیجه‌گیری: تجویز خوراکی فراکسیون آبی عصاره آبی و الکلی بذر گیاه شوید، احتمالاً سبب ایجاد ناباروری در موش‌های صحرایی ماده می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: فراکسیون آبی، شوید، استروژن، پروژسترون، سیکل استروس، لکتین، گلیکوکونژوگیت

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند. ۱۳۹۱؛ ۱۹ (۴): ۳۶۲- ۳۷۵

دریافت: ۱۳۹۱/۰۱/۲۸ پذیرش: ۱۳۹۱/۱۱/۱۸

[1] نویسنده مسؤول، دانشیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شیراز، ایران.

آدرس: شیراز- دانشکده علوم- بخش زیست‌شناسی- کدپستی: ۷۱۴۵۴

تلفن: ۰۷۱۱۶۱۳۷۲۶۸- دورنگار: ۰۷۱۱۲۲۸۰۹۱۶ پست الکترونیکی: monsefi@susc.ac.ir

[2] کارشناس ارشد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شیراز، ایران.

مقدمه

گیاه شوید با نام علمی *Anethum graveolens L*، از خانواده چتریان می‌باشد. بسیاری از میوه‌های گیاهان این خانواده، حاوی اسانس بوده و در داروسازی استفاده می‌شوند. این خانواده، گسترش جهانی داشته و گیاه بومی آسیای غربی و اروپای جنوبی می‌باشد (۱، ۲).

تمام بخش‌های گیاه شوید، حاوی اسانس می‌باشد؛ ولی مقدار آن در نواحی مختلف گیاه متفاوت است (۳). بخش اعظم اسانس میوه شوید را د–کاروون، لیمونن و آلفافلاندرن تشکیل می‌دهند و دیگر ترکیبات میوه شوید عبارتند از: دیلانوزید، کومارین، کامپفرول، میریستیسین و سایر فلاونوئیدها، اسیدهای فنلی و حدود ۱۶ درصد پروتئین و حدود ۱۰–۱۵ درصد چربی (۱). در طب سنتی، از شوید به عنوان ضدّ عفونی‌کننده و ضدّ تشنج و همچنین نیرودهنده، مقوی معده، بادشکن، برطرف‌کننده نفخ، سوء هاضمه، استفراغ و اسپاسم، اشتهاآور، افزاینده شیر، قاعده‌آور، تسکین‌دهنده درد، ملیّن و کاهش‌دهنده چربی خون استفاده می‌شود (۲).

در راستای هدف کنترل جمعیت، روش‌های مختلف پیشگیری از بارداری ارائه شده است؛ لیکن بیشتر این روش‌ها، به دلایلی از قبیل وجود عوارض ناخواسته و هزینه بالا، مورد توجه عموم قرار نمی‌گیرند. استفاده از گیاهان دارویی، به دلیل نداشتن عوارض جانبی، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. در تحقیقات قبلی ما، تجویز خوراکی دوز بالای عصاره آبی و الکلی تخم شوید، سبب افزایش هورمون پروژسترون، فاز دی‌استروس و سیکل استروس موش‌های صحرایی گردید. بررسی فراساختاری سلول‌های گرانولوزای جسم زرد تخمدان این موش‌ها، نشان داد که این سلول‌ها، دارای تغییراتی شامل افزایش سیسترناهای شبکه آندوپلاسمی صاف و مشاهده افزایش هتروکروماتین‌شدن هسته آنها بوده است. این تغییرات، در گروه دریافت‌کننده دوز بالای عصاره آبی و الکلی، آشکارتر بوده است که مؤید افزایش سطح هورمون‌های استروئیدی می‌باشد (۴). هیستومورفومتری تخمدان و اندازه‌گیری حجم تخمدان، فولیکول‌های اولیه تک‌لایه و چندلایه، فولیکول‌های ثانویه و فولیکول‌های گراف به روش استریولوژی، هیچ تفاوتی در بین گروه‌های آزمایشی و کنترل نشان نداد (۵). تجویز خوراکی عصاره آبی تخم شوید، به استثنای کاهش قطر لوله اسپرم‌ساز، تأثیر سویی بر روی سیستم تناسلی موش‌های نر نشان نداد؛ همچنین سطح تستوسترون پلاسما، تعداد اسپرم، بلوغ هسته اسپرم و سیکل اسپرماتوژنزیز در لوله‌های اسپرم‌ساز گروه‌های آزمایشی، در مقایسه با گروه کنترل، تغییرات معنی‌داری نداشت (۶). علی‌رغم عدم تأثیر تخم شوید بر پارامترهای مؤثر بر باروری در موش‌های نر، این موش‌ها قادر به بارورکردن موش‌های ماده طبیعی نبودند که می‌توان به تغییرات معنی‌دار گلیکوکونژوگیت‌های سطح اسپرم در لوله‌های سمینیفروس و اپیدیدیم، به عنوان یکی از دلایل این ناباروری اشاره کرد (۷). با توجه به اثر عصاره آبی و الکلی تخم شوید در ممانعت از بارداری، بر آن شدیم تا به بررسی فراکسیون‌های آبی و الکلی این عصاره گیاهی، بر پارامترهای مؤثر بر باروری موش‌های صحرایی ماده و تغییرات واکنش گلیکوکونژوگیت‌های سطح سلول‌های بخش‌های مختلف رحم و تخمدان بپردازیم.

روش تحقیق

تهیه فراکسیون آبی

بذر گیاه شوید، از یک عطاری در شیراز خریداری شد و سپس هر نوع بذر مجهول از آنها حذف گردید. تعدادی از بذرها، در گلخانه دانشکده علوم کاشته شد و سپس توسط گیاه‌شناس بخش زیست‌شناسی دانشکده علوم دانشگاه شیراز، مورد شناسایی قرار گرفت و با شماره نمونه تیپ ۱۰۱۵، در هرباریوم این دانشگاه ثبت گردید.

۱۰۰ گرم بذر شوید آسیاب‌شده، در ۳۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل شد و به مدت ۰/۵ ساعت روی بن‌ماری و به مدت ۲۴ ساعت در هوای آزمایشگاه گذاشته شد و بعد از صاف‌کردن، توسط دستگاه روتاری، حلال‌های آن گرفته شد

و تغلیظ گردید. عمل خشک‌کردن، توسط دستگاه دسیکاتور انجام شد؛ به‌طوری که به ازای صد گرم بذر شوید، ۸/۰۲ گرم عصاره آبی به دست آمد. برای تهیه عصاره الکلی، به جای آب مقطر، از اتانول استفاده گردید؛ به طوری که به ازای صد گرم بذر شوید، ۴/۵ گرم عصاره الکلی به دست آمد.

۲۰ گرم عصاره آبی، در دستگاه فراکسیون‌گیری ریخته شد و ۴۰ میلی‌لیتر آب به آن اضافه گردید. ستون حاصله، سه‌مرتبه با آب، شستشو داده شد و محلول حاصل، بر روی روتاری ۳۰ درجه سانتی‌گراد، خشک گردید و ۱۵/۵ گرم فراکسیون آبی، به صورت پودر حاصل شد. برای تهیه فراکسیون آبی از عصاره الکلی، ۴۰ گرم عصاره الکلی، در دستگاه فراکسیون‌گیری ریخته شد و ۶۰ میلی‌لیتر آب به آن اضافه گردید و به همان روش تهیه فراکسیون از عصاره آبی، عمل گردید. حاصل عمل، ۴/۵ گرم فراکسیون آبی عصاره الکلی بود. مقادیر دوز بالا و پایین فراکسیون آبی عصاره آبی و الکلی، بر اساس تعیین سمیّت حادّ عصاره آبی و الکلی بذر شوید، به روش دوز کشنده (۸) و با توجه به تحقیق‌های قبلی بر روی عصاره تام بذر شوید (۶، ۷) در نظر گرفته شد.

حیوانات مورد آزمایش

موش‌های صحرایی ماده، از نژاد ویستار با میانگین وزنی ۱۶۰–۲۲۰ گرم، از مؤسسه واکسن و سرم‌سازی رازی شیراز تهیه گردید و به منظور سازگارشدن با شرایط آزمایش، به مدت ۷–۱۰ روز قبل از شروع آزمایش، در شرایط کنترل‌شده از نظر نور (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی)، دما (۲۵–۲۲ درجه سانتی‌گراد) و تغذیه کافی، در اتاق حیوانات بخش زیست‌شناسی دانشکده علوم نگهداری شدند. اصول مراقبت و کار با حیوانات آزمایشگاهی، مطابق با انتشارات مؤسسه ملی سلامت (NIH Publication, No. 85-23 1985 revision) رعایت گردید. با تهیه گسترش واژنی به صورت روزانه، روند سیکل استروس حیوانات بررسی گردید. موش‌هایی که در فاز استروس سیکل جنسی قرار داشتند، انتخاب شدند و به ۴ گروه آزمایشی (هر گروه شامل ۸ سر موش صحرایی): دریافت‌کننده دوز پایین و دوز بالای فراکسیون آبی عصاره آبی بذر گیاه شوید (به ترتیب ۰/۵ و ۵ گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن)، دریافت‌کننده دوز پایین و دوز بالای فراکسیون آبی عصاره الکلی بذر گیاه شوید (به ترتیب ۰/۰۴۵ و ۰/۴۵ گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) و یک گروه کنترل تقسیم گردیدند. دوزهای مذکور، در یک میلی‌لیتر آب مقطر، حل شده و به مدت ۱۰ روز (دو سیکل استروس) در ساعت ۱۰ صبح، به صورت خوراکی به حیوانات خورانیده شد. حیوانات گروه کنترل، روزانه میزان یک میلی‌لیتر آب مقطر، مساوی با حجم مصرف‌شده در گروه‌های آزمایشی را دریافت کردند. برای خوراندن عصاره به موش‌های صحرایی، از سرنگ‌های ۲/۵cc مجهز به feeding needle استفاده شد.

اندازه‌گیری هورمون‌های جنسی

در پایان آزمایش، موش‌هایی که در فاز استروس سیکل جنسی قرار داشتند، با استفاده از اتر، بیهوش شده و از آئورت پشتی آنها خونگیری به عمل آمد. غلظت هورمون پروژسترون موجود در سرم خون، با استفاده از تکنیک رادیو ایمنواسی (R.I.A.) و غلظت هورمون استروژن موجود در سرم خون حیوان، با استفاده از تکنیک الایزا (ELISA)، برحسب پیکوگرم در میلی‌لیتر به وسیله Progesterone Elisa Kit (Abcam, USA) و Estrogen Kit (Abcam, USA) در گروه‌های آزمایشی و گروه کنترل، در بخش هورمون‌شناسی مرکز تحقیقات بیمارستان نمازی شیراز اندازه‌گیری گردید.

مطالعات بافت‌شناسی

تخمدان‌ها و رحم حیوانات بیهوش، بعد از تشریح، خارج شده و در محلول بافر فسفات فرمالین ۱۰٪، پایدار گردید. بافت‌های پایدارشده، توسط محلول‌های الکلی با رقّت‌های ۷۰ تا ۱۰۰ درصد، آب‌گیری شده و به وسیله گزیلول، شفاف‌سازی گردیده و بعد از آغشته‌سازی با پارافین، قالب‌گیری گردیدند. مقاطع بافتی به ضخامت ۷ میکرومتر، توسط میکروتوم دوار (Zeiss آلمان) تهیه شد و به روش هماتوکسیلین، ائوزین و

تری‌کروم ماسون رنگ‌آمیزی گردیدند. از لام‌های تهیه‌شده، تصاویر میکروسکوپی تهیه گردید. قطر بخش‌های مختلف تخمدان و رحم شامل: قطر اندومتریوم و میومتریوم، طول غدد و ارتفاع اپی‌تلیوم، قطر طولی و عرضی تخمدان و قطر طولی و عرضی جسم زرد، هسته و سیتوپلاسم ده سلول از آن، با استفاده از میکرومتر مدرج چشمی (Zeiss آلمان)ودرشت نمایی ۱۰ و ۴۰ میکروسکوپ نوری اندازه‌گیری گردید.

رنگ‌آمیزی گلیکوکونژوگیت‌های سطح سلول‌ها

مقاطع میکروسکوپی، پارافین‌گیری و آب‌گیری شدند و در محلول بافر فسفات حاوی ۰/۱ میلی‌مول کلرید کلسیم، کلرید منیزیم و کلرید منگنز قرار گرفتند. واکنش پراکسیداز درون‌سلولی، توسط قرارگیری مقاطع بافتی در H_2O_2 یک درصد در متانول خنثی گردید. مقاطع بافتی، به مدت ۲ ساعت با لکتین‌های UEA[1]، PNA[2]، DBA[3]، SBA[4] و Con A[5] کونژوکه با پراکسیداز (Sigma, USA) به غلظت ۱۰µg/ml، در دمای اتاق رنگ‌آمیزی گردیدند. لکتین‌های UEA، PNA، DBA، SBA و Con A به ترتیب با α-L-فوکوز، D-گالاکتوز، N-استیل گالاکتوزامین، α و β ان استیل گلوکزامین، D-مانوز و α-D-گلوکز، واکنش نشان می‌دهند. بعد از رنگ‌آمیزی مقاطع بافتی به مدت ۱۰ دقیقه در دی‌آمینو بنزیدین ۰/۰۳ درصد، در بافر حاوی ۲۰۰ میکرولیتر H_2O_2 قرار داده شدند. برای مشاهده بهتر رنگ لکتین‌ها، از رنگ‌آمیزی السین‌بلو (۰/۵ درصد) استفاده گردید. تصاویر میکروسکوپی با درشتنمایی ۱۰ و ۴۰ در سه میدان دید مختلف از هر مقطع میکروسکوپی، توسط دوربین دیجیتال تهیه شد و شدت واکنش لکتین‌ها، به وسیله نرم‌افزار Image-Java اندازه‌گیری شد.

بررسی وضعیت باروری

برای بررسی بارداری و طول دوران آن و نیز سنجش تعداد، وزن و طول سر تا نشیمنگاه (CRL) و سلامت نوزادان، گروه دیگری از موش‌های صحرایی دریافت‌کننده دوز پایین و دوز بالای فراکسیون آبی عصاره آبی و الکلی بذر گیاه شوید و گروه کنترل (در هر گروه ۴ موش) که در فاز استروس بودند، برای جفت‌گیری با موش‌های صحرایی نر، به قفس‌های مجزا منتقل گردیدند؛ به صورتی که در هر قفس، یک موش صحرایی نر و ۲ موش صحرایی ماده حضور داشتند؛ سپس به صورت روزانه با قراردادن یک قطره از ترشحات واژن بر روی لام، از آنها گسترش واژنی تهیه گردید و با توجه به وجود سلول‌های اپی‌تلیالی دیواره واژن (سلول‌های بازال، بینابینی و یا سطحی)، وضعیت آنها در طول سیکل یادداشت شد؛ همچنین حضور یا عدم حضور اسپرم در گسترش واژنی نیز بررسی شد. بعد از اطمینان از حصول حاملگی، موش‌های صحرایی نر از قفس خارج گردیدند. پس از طیّ زمان بارداری که در موش‌های صحرایی ۲۱ روز می‌باشد و در اولین روز زایمان، وزن و طول CRL نوزادان، ثبت و نوزادان از نظر ظاهر، بررسی گردیدند و هر گونه ناهنجاری ثبت شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

داده‌های به دست آمده، با استفاده از نرم‌افزار SPSS (ویرایش ۱۷) و آزمون آماری واریانس یک‌طرفه ANOVA، در سطح معنی‌داری P<۰/۰۵ تجزیه و تحلیل گردید و توسط آزمون تعقیبی Scheffe، میانگین و انحراف معیار مربوط به هر کدام از پارامترها، بین گروه‌های مختلف آزمایشی مقایسه شد.

یافته‌ها

نتایج به دست‌آمده نشان داد که طول فاز دی‌استروس،

[1] *Ulex Europaeus Agglutinin*
[2] *Peanut Agglutinin*
[3] *Dolichos Biflorus Agglutinin*
[4] *Soybean Agglutinin*
[5] *Concanavaline A*

افزایش یافته و قطر دیواره رحم، قطر طولی و عرضی تخمدان و قطر هسته و سیتوپلاسم سلول‌های گرانولوزای جسم زرد کاهش داشتند. این تغییرات از نظر آماری معنی‌دار بودند. عدم بارداری و تولد نوزاد، در کلیه گروه‌های دریافت‌کننده فراکسیون آبی مشاهده گردید. شدت واکنش قندهای α-مانوز، N-استیل گلوکزامین و N-استیل گالاکتوزامین گلیکوکونژوگیت‌های سطح سلول‌های اندومتر رحم و تخمدان بالکتین‌های ConA، DBA و SBA، از تغییراتی برخوردار بودند.

بررسی طول دو سیکل استروس، بیانگر اختلاف معنی‌دار فاز دی‌استروس در گروه آزمایشی تحت تأثیر دوز بالای فراکسیون آبی عصاره آبی بذر گیاه شوید، در مقایسه با گروه کنترل می‌باشد (P=۰/۰۳) اما در سایر گروه‌ها، هیچ اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید (جدول ۱).

میانگین غلظت استروژن و پروژسترون سرم خون، در هیچ یک از گروه‌های آزمایشی، در مقایسه با گروه کنترل اختلاف معنی‌دار نشان ندادند (جدول ۱). در هیچ یک از موش‌های تیمارشده با دوزهای مختلف فراکسیون آبی عصاره آبی و الکلی بذر گیاه شوید، حاملگی اتفاق نیفتاد؛ لذا در کلیه گروه‌های تیمارشده با عصاره، نوزادی متولد نشد و متعاقباً قد و وزن نیز اندازه‌گیری نگردید. میانگین طول بارداری در گروه کنترل ۲۰/۶۷±۰/۵۱ روز، میانگین تعداد نوزادان ۷/۷۱±۳/۴۹، میانگین طول CRL نوزادان ۴/۸۳±۰/۳۳ سانتی‌متر و میانگین وزن نوزادان ۵/۸۳±۰/۶۱ گرم بود.

مقاطع بافتی تهیه‌شده از تخمدان‌ها در گروه کنترل، حضور فولیکول‌های مختلف شامل: فولیکول‌های آغازین (Primordial Follicles)، فولیکول‌های اولیه، فولیکول‌های ثانویه، فولیکول‌های بالغ، جسم زرد و مدولای تخمدان شامل بافت همبند و عروق خونی را نشان دادند (شکل ۱). مقاطع بافتی رحم در گروه کنترل، از داخل به خارج، حضور اندومتریوم، میومتریوم، اپی‌متریوم، غدد و عروق خونی را نشان دادند (شکل ۱). در مطالعه بافتی کلیّه گروه‌های آزمایشی در مقایسه با گروه کنترل، تغییرات ظاهری از لحاظ شکل و تغییرات بافتی یا پاتولوژیک در تخمدان و رحم مشاهده نگردید.

مورفومتری تخمدان نشان داد که میانگین قطر طولی تخمدان در گروه دریافت‌کننده دوز بالای الکلی عصاره آبی، در مقایسه با گروه کنترل، دچار کاهش معنی‌دار شده است (P=۰/۰۱). قطر عرضی تخمدان در گروه‌های دریافت‌کننده دوز بالای الکلی و دوز پایین آبی عصاره آبی، در مقایسه با گروه کنترل کمتر بود. سیتوپلاسم سلول‌های گرانولوزای جسم زرد تخمدان، در تمام گروه‌های دریافت‌کننده عصاره در مقایسه با گروه کنترل، کاهش قطر معنی‌داری را نشان دادند (P=۰/۰۱). آنالیز مورفومتری مربوط به دو قطر جسم زرد و قطر طولی و عرضی فولیکول ثانویه، در هیچ یک از گروه‌های دریافت‌کننده عصاره، اختلاف معنی‌داری را نشان ندادند (جدول۲). قطر دیواره رحم در گروه دریافت‌کننده دوز بالای آبی فراکسیون آبی در مقایسه با گروه کنترل، کاهش معنی‌داری را نشان داد (P=۰/۰۲)؛ ولی بخش‌های مختلف رحم در سایر گروه‌های دریافت‌کننده عصاره، هیچ اختلاف معنی‌داری را در مقایسه با گروه کنترل نشان ندادند (جدول ۲).

رنگ‌آمیزی با ConA بافت پیوندی تخمدان، تنها در گروه آزمایشی دوز پایین عصاره الکلی در مقایسه با گروه کنترل، افزایش معنی‌داری در شدت واکنش کربوهیدرات‌های با انتهای α-مانوز را نشان داد و اندومتریوم رحم در گروه آزمایشی دوز پایین عصاره آبی و میومتریوم در تمام گروه‌های دریافت‌کننده فراکسیون آبی در مقایسه با گروه کنترل، از کاهش معنی‌داری (P=۰/۰۰) برخوردار بودند (نمودار ۱- ۵) (شکل ۲).

مقایسه شدت رنگ‌پذیری با لکتین DBA که قادر به شناسایی اختصاصی کربوهیدرات‌هایی با انتهای N-استیل‌گالاکتوزآمین در گلیکولیپیدها یا گلیکوپروتئین‌های غشا می‌باشد، نشان داد که سلول‌های گرانولوزای

فولیکول‌های تخمدانی کلیّه گروه‌های دریافت‌کننده فراکسیون آبی، در مقایسه با گروه کنترل، افزایش معنی‌داری را نشان دادند (P=۰/۰۱).
بافت پیوندی تخمدان، تنها در گروه آزمایشی دوز بالای عصاره آبی، در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی‌داری را نشان داد (P=۰/۰۱). اندومتریوم رحم نیز در تمام گروه‌های دریافت‌کننده فراکسیون آبی، در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌داری (P=۰/۰۰) را نشان داد (نمودار ۱- ۵)(شکل ۲).

جدول۱- میانگین و انحراف استاندارد طول دو سیکل جنسی متوالی و مراحل آن (بر حسب روز) و غلظت سرمی استروژن و پروژسترون (pg/ml) در موش‌های صحرایی تیمارشده با فراکسیون آبی عصاره آبی و الکلی بذر گیاه شوید

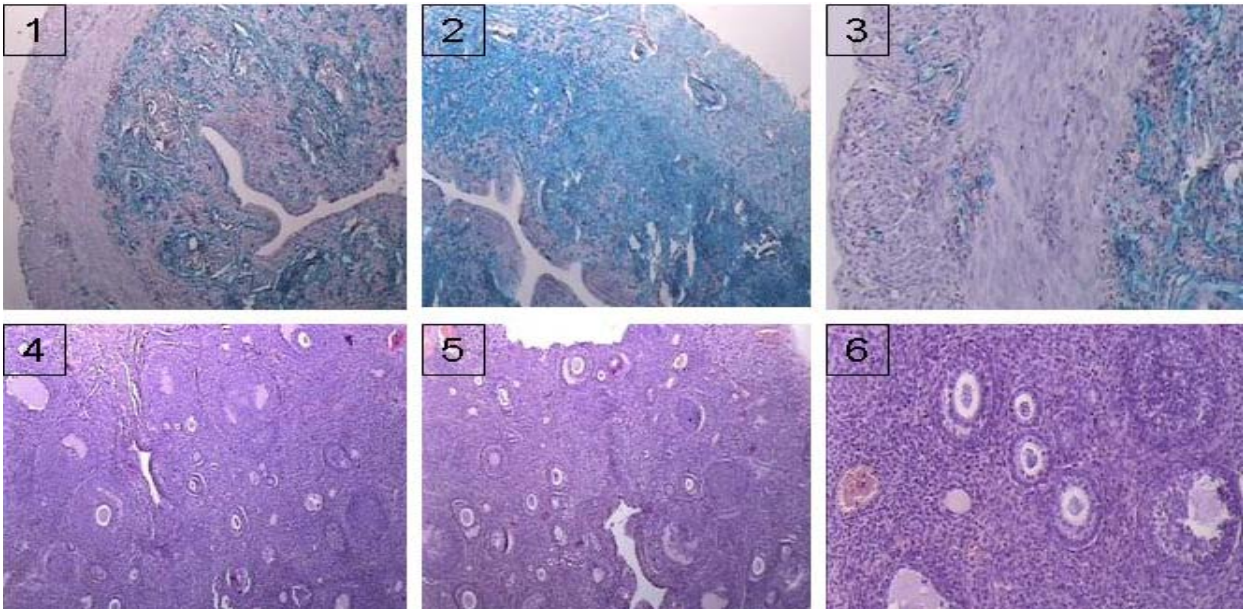
گروه‌های آزمایشی	کنترل	دوز پایین آبی	دوز پایین الکلی	دوز بالای آبی	دوز بالای الکلی
استروژن (pg/ml)	۱۱/۹۸±۴/۴۷	۱۱/۲۴±۱/۰۸	۱۱/۲۲±۲/۷۰	۶/۹۲±۱/۶۱	۷/۵۲±۰/۹۴
پروژسترون (pg/ml)	۴۱/۸۹±۸/۸۳	۴۴/۲۱±۷/۱۸	۴۲/۲۹±۴/۸۲	۴۲/۵۶±۹/۵۴	۴۹/۸۴±۳/۲۱
طول دو سیکل جنسی (روز)	۱۴/۹۶±۲/۲۷	۱۵/۰۰±۰/۰۰	۱۴/۲۰±۰/۸۳	۱۶/۰۰±۲/۳۴	۱۴/۶۰±۱/۱۴
طول فاز دی‌استروس (روز)	۶/۵۸±۳/۰۳	۸/۰۰±۰/۷۰	۸/۰۰±۲/۳۴	۱۱/۴۰±۱/۶۷*	۱۰/۲۰±۲/۰۴
طول فاز استروس (روز)	۳/۸۸±۰/۶۸	۴/۴۰±۱/۱۴	۴/۲۰±۰/۸۳	۳/۶۰±۰/۹۷	۳/۲۰±۰/۴۴
طول فاز پرواستروس(روز)	۲/۴۶±۱/۶۱	۲/۶۰±۰/۸۹	۲/۰۰±۱/۰۰	۱/۰۰±۱/۴۱	۱/۲۰±۱/۶۴

* اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل

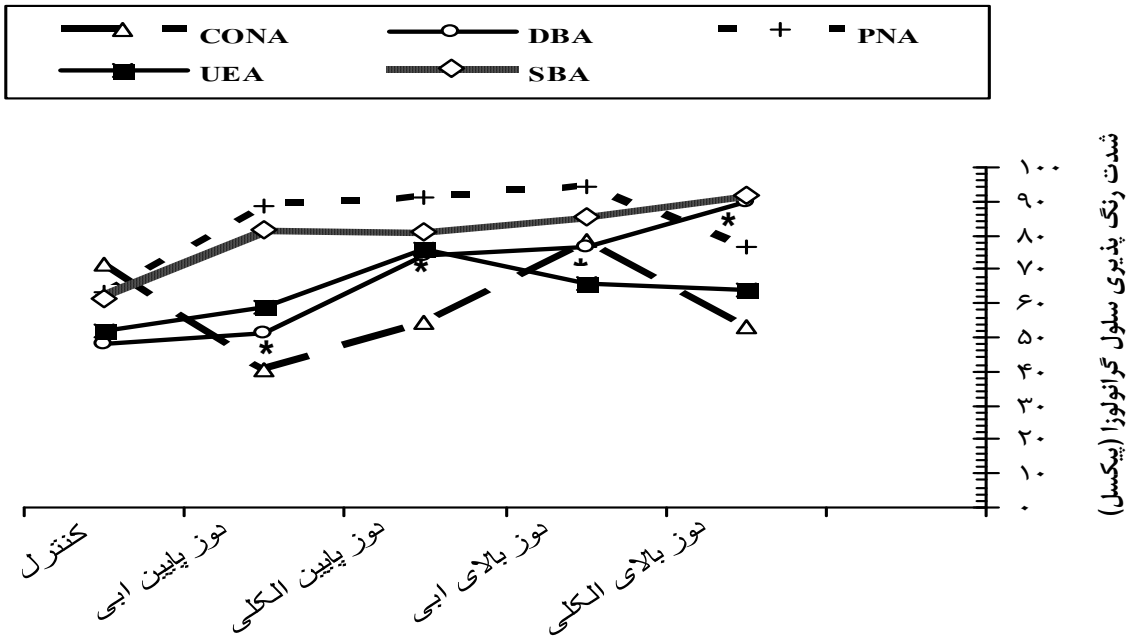
جدول۲- میانگین و انحراف استاندارد مورفومتری رحم و تخمدان، بر حسب میلی‌متر در موش‌های صحرایی تیمارشده با فراکسیون آبی عصاره آبی و الکلی بذر گیاه شوید

گروه‌های آزمایشی	کنترل	دوز پایین آبی	دوز پایین الکلی	دوز بالای آبی	دوز بالای الکلی
قطر طولی تخمدان (میلی‌متر)	۳/۵۹±۰/۵۳	۳/۵۳±۰/۲۷	۳/۶۶±۰/۵۷	۳/۹۱±۰/۲۵	۲/۳۰±۰/۴۴*
قطر عرضی تخمدان (میلی‌متر)	۳/۰۵±۰/۱۰	۱/۹۹±۰/۲۸*	۲/۸۳±۰/۴۷	۲/۸۵±۰/۳۱	۱/۴۷±۰/۱۳*
قطر جسم زرد (میلی‌متر)	۱/۰۱±۰/۲۱	۰/۶۹±۰/۱۲	۰/۷۳±۰/۲۰	۰/۸۵±۰/۱۱	۰/۹۸±۰/۱۰
قطر طولی فولیکول ثانویه (میلی‌متر)	۰/۲۳±۰/۰۸	۰/۱۰±۰/۰۲	۰/۱۵±۰/۰۳	۰/۲۵±۰/۰۰	۰/۱۷±۰/۰۲
قطر عرضی فولیکول ثانویه (میلی‌متر)	۰/۱۹±۰/۰۶	۰/۰۹±۰/۰۱	۰/۱۶±۰/۰۴	۰/۱۸±۰/۰۰	۰/۱۳±۰/۰۲
قطر سلول جسم زرد (میلی‌متر)	۰/۰۱۶±۰/۱۰	۰/۰۰۹±۰/۰۸*	۰/۰۱۱±۰/۱۵*	۰/۰۱۲±۰/۱۵*	۰/۰۱۲±۰/۰۸*
طول غدد رحم (میلی‌متر)	۰/۲۳±۰/۰۸	۰/۱۱±۰/۰۲	۰/۳۳±۰/۰۸	۰/۲۰±۰/۰۷	۰/۱۷±۰/۰۶
قطر میومتر (میلی‌متر)	۰/۳۸±۰/۰۶	۰/۳۸±۰/۰۹	۰/۴۶±۰/۰۵	۰/۳۵±۰/۱۱	۰/۲۹±۰/۰۸
قطر اندومتر (میلی‌متر)	۰/۹۱±۰/۲۸	۰/۶۸±۰/۲۵	۱/۰۲±۰/۱۹	۰/۵۹±۰/۱۵	۰/۷۱±۰/۱۱
قطر دیواره رحم (میلی‌متر)	۱/۲۹±۰/۵۱	۱/۰۸±۰/۱۷	۱/۴۸±۰/۱۵	۰/۸۰±۰/۳۴*	۱/۰۱±۰/۱۳
قطر کل رحم (میلی‌متر)	۲/۶۷±۰/۱۶	۲/۲۲±۰/۳۱	۲/۳۳±۰/۱۴	۲/۶۶±۰/۴۷	۲/۱۸±۰/۵۲

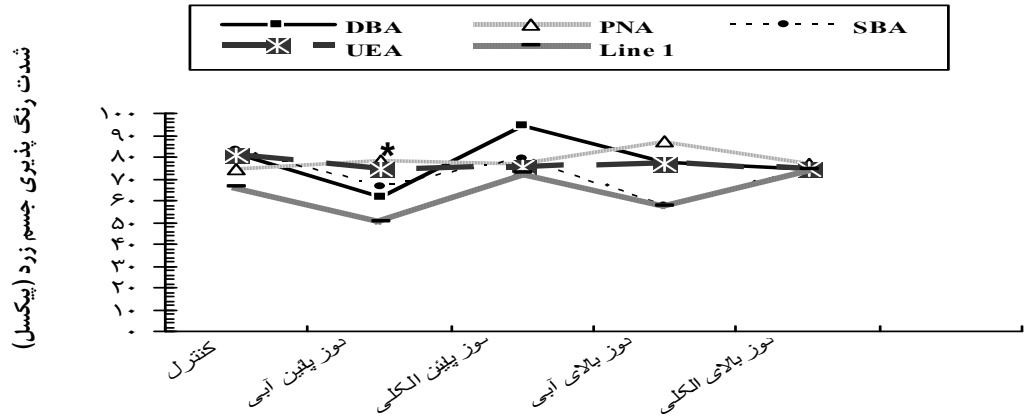
* اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل



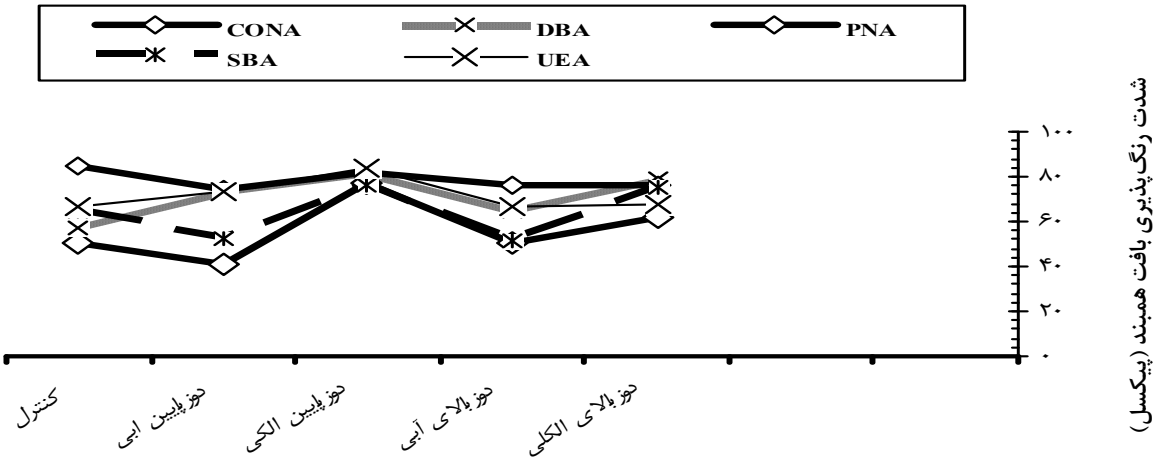
شکل ۱- تصاویر مقاطع بافتی رحم (ردیف بالا) و تخمدان (ردیف پایین) در گروه‌های کنترل (۱، ۴) و گروه‌های دریافت‌کننده دوز بالای فراکسیون آبی عصاره آبی بذر گیاه شوید (۲، ۵). بزرگنمایی بیشتر مقاطع بافتی در تصاویر ۳ و ۶ نمایان شده است. تصاویر ۱، ۲، ۴ و ۵ با بزرگنمایی ۴× و تصاویر۳ و ۶ با بزرگنمایی ۱۰× نمایش داده شده‌اند.رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین.



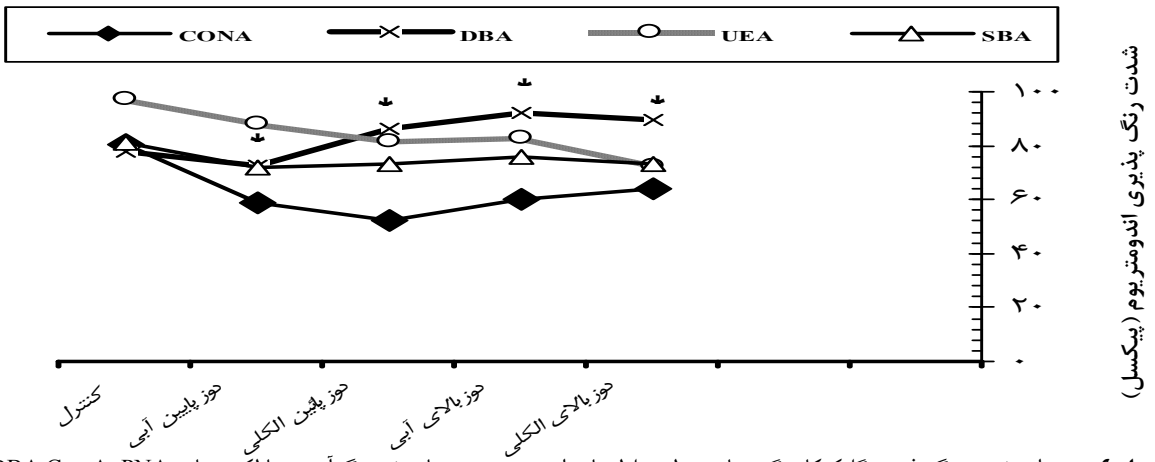
نمودار ۱- تغییرات شدت رنگ‌پذیری گلیکوکانژوگیت‌های سطح سلول‌های گرانولوزای فولیکول با روش رنگ‌آمیزی با لکتین‌های PNA،ConA، DBA،SBA، UEA در موش‌های صحرایی تیمارشده با فراکسیون آبی عصاره آبی و الکلی بذر گیاه شوید. * افزایش معنی‌دار در شدت رنگ‌پذیری را نشان می‌دهد.



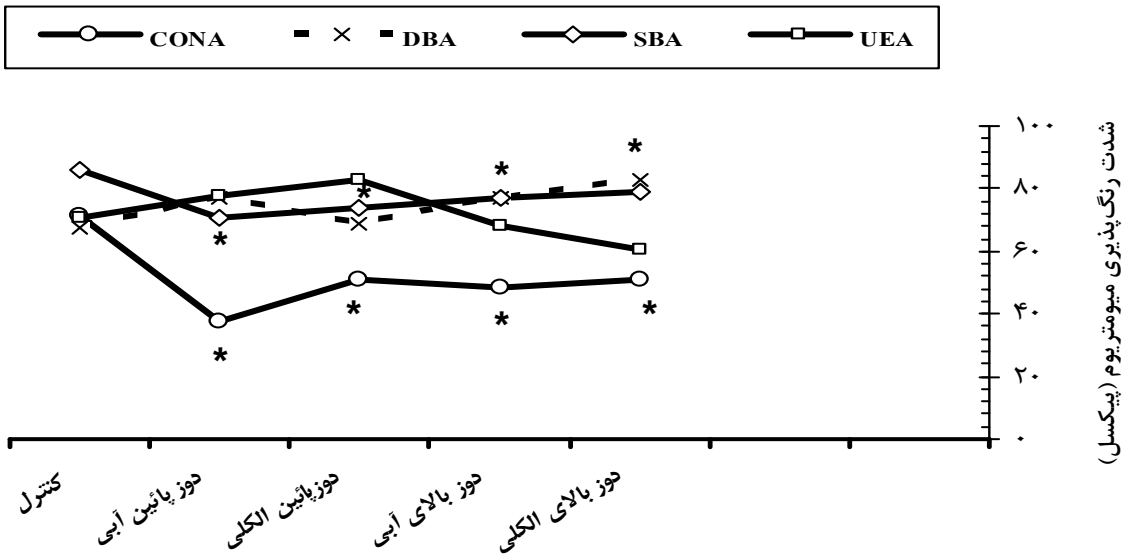
نمودار ۲- تغییرات شدت رنگ‌پذیری گلیکوکانژوگیت‌های سطح سلول‌های جسم زرد تخمدان با استفاده از روش رنگ‌آمیزی با لکتین‌های PNA، Con A، SBA،DBA، UEA در موش‌های صحرایی تیمارشده با فراکسیون آبی عصاره آبی و الکلی بذر گیاه شوید. * افزایش معنی‌دار در شدت رنگ‌پذیری را نشان می‌دهد.



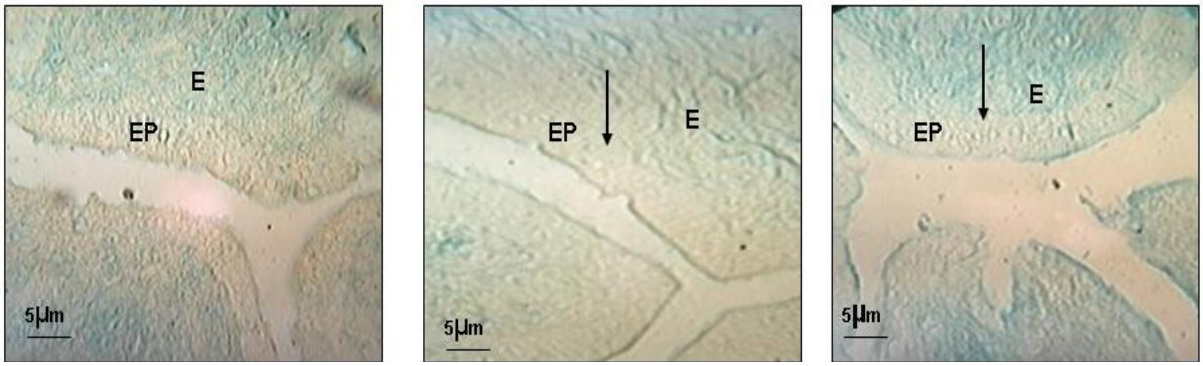
نمودار ۳- تغییرات شدت رنگ‌پذیری گلیکوکانژوگیت‌های بافت پیوندی تخمدان با روش رنگ‌آمیزی با لکتین‌های PNA، Con A، DBA،SBA، UEA در موش‌های صحرایی تیمارشده با فراکسیون آبی عصاره آبی و الکلی بذر گیاه شوید *افزایش معنی‌دار در شدت رنگ‌پذیری را نشان می‌دهد.



نمودار ٤- تغییرات شدت رنگ‌پذیری گلیکوکانژوگیت‌های سطح سلول‌های اندومتریوم رحم با روش رنگ‌آمیزی با لکتین‌های PNA، Con A،DBA، SBA، UEA در موش‌های صحرایی تیمارشده با فراکسیون آبی عصاره آبی و الکلی بذر گیاه شوید. *افزایش معنی‌دار در شدت رنگ‌پذیری را نشان می‌دهد.



نمودار ۵- گلیکوکانژوگیت‌های سطح سلول‌های میومتریوم رحم با استفاده از روش رنگ‌آمیزی با لکتین‌های PNA، Con A، DBA، SBA، UEA در موش‌های صحرایی تیمارشده با فراکسیون آبی عصاره آبی و الکلی بذر گیاه شوید. *افزایش معنی‌دار در شدت رنگ‌پذیری را نشان می‌دهد.



شکل ۲- تغییرات شدت رنگ‌پذیری اپی‌تلیوم اندومتر رحم توسط رنگ‌آمیزی با لکتین‌های DBA و ConA. A) گروه کنترل، B) گروه تیمار با دوز بالای فراکسیون آبی و رنگ آمیزی با ConA. C) گروه تیمار با دوز بالای فراکسیون آبی و رنگ‌آمیزی با DBA. اپی‌تلیوم اندومتر رحم (EP)، اندومتر رحم (E). اندازه مقیاس‌های تصاویر ۵ میکرومتر است.

مقایسه شدت رنگ‌پذیری با لکتین SBA نشان داد که جسم زرد تخمدانی، تنها در گروه‌های آزمایشی دوز پایین و بالای عصاره آبی در مقایسه با گروه کنترل، از اختلاف معنی‌دار برخوردار بوده است؛ به نحوی که گروه‌های دریافت‌کننده دوز پایین و بالای عصاره آبی نسبت به گروه کنترل، کاهش معنی‌داری در شدت رنگ‌پذیری داشتند (P=۰/۰۴). در میومتریوم رحم، در تمام گروه‌های آزمایشی دریافت‌کننده فراکسیون آبی در مقایسه با گروه کنترل، کاهش معنی‌دار (P=۰/۰۱) مشاهده شد (نمودار ۱- ۵).

مقایسه شدت رنگ‌پذیری با لکتین PNA که قادر به شناسایی کربوهیدرات‌هایی با انتهای N-استیل گالاکتوزآمین و D-گالاکتوز در گلیکولیپیدها یا گلیکوپروتئین‌های غشا می‌باشد، اختلاف معنی‌داری را در رحم و تخمدان هیچ یک از گروه‌های دریافت‌کننده فراکسیون آبی در مقایسه با گروه کنترل نشان ندادند. به دلیل عدم رنگ‌پذیری بافت‌های مختلف موجود در رحم با استفاده از لکتین PNA، نمونه‌های رحمی رنگ‌آمیزی نشدند و تنها به رنگ‌آمیزی نمونه‌های تخمدانی اکتفا شد (نمودار ۱- ۳).

برای بررسی پراکنش و ساخته‌شدن کربوهیدرات‌های با انتهای α-فوکوز، از لکتین UEA استفاده گردید. نتایج،

اختلاف معنی‌داری را در رحم و تخمدان هیچ یک از گروه‌های دریافت‌کننده فراکسیون آبی در مقایسه با گروه کنترل نشان ندادند (نمودار ۱– ۵).

بحث

در موش‌های صحرایی ماده، سیکل جنسی به طور نرمال ۴ تا ۵ روز به طول می‌انجامد و نوع و میزان سلول‌های موجود در گسترش واژنی، تعیین‌کننده مراحل مختلف سیکل می‌باشند. تجویز فراکسیون آبی عصاره آبی و الکلی بذر گیاه شوید به صورت وابسته به دوز، سبب بروز تغییرات معنی‌دار فاز دی‌استروس در طول یک و دو سیکل جنسی گردیده است؛ بدین ترتیب که تجویز دوز بالای آبی فراکسیون آبی بذر شوید، سبب افزایش تقریباً ۲ برابر فاز دی‌استروس در طول دو سیکل جنسی در مقایسه با گروه کنترل گردیده است. به نظر می‌رسد، فراکسیون آبی، با تأثیر بر فاز لوتئال و فعالیت جسم زرد تخمدان، سبب ماندگاری جسم زرد، ترشح هورمون‌های آن یعنی پروژسترون، طولانی‌شدن مدت زمان فاز دی‌استروس به صورت معنی‌دار و به تبع آن، افزایش مدت زمان سیکل استروس در موش‌های صحرایی شده است. این نتایج با نتایج به‌دست‌آمده از مطالعات گذشته، حاصل از اعمال عصاره تام آبی و الکلی بذر شوید بر سیکل جنسی موش صحرایی ماده مطابقت دارد (۶، ۷)؛ لذا احتمالاً ترکیبات استخراج‌شده در این فراکسیون، اثرات مشابهی با عصاره تام نشان می‌دهند و یا ماده استخراج‌شده در این فراکسیون، بخش مؤثر این عصاره بر طول سیکل جنسی می‌باشد. دو نوع از ترکیبات عمده در دانه شوید، مونوترپن‌ها و فلاونوئیدها می‌باشند که از مونوترپن‌ها به Carvone، Limonene و Trans-Anethole و از فلاونوئیدها نیز به Kaempferol و Vicenin می‌توان اشاره کرد. تحقیقات نشان داده‌اند که Kaempferol، خاصیت فیتواستروژنی داشته است و می‌تواند فعالیت استروژنیک را تحت تأثیر قرار دهد؛ به طوری که Kaempferol بسته به غلظت استرادیول، می‌تواند عملی موافق و مخالف با استروژن داشته باشد. Kaempferol، می‌تواند اتصال استروژن را به AFP (Alpha-Feto Protein) (پروتئین سرم که به استرادیول متصل می‌شود) مهار کند. برهم‌کنش فلاونوئیدهای زیستی با AFP، دسترسی استروژن‌ها را برای سلول‌های پاسخگو به آن تحت تأثیر قرار می‌دهد. تعدیل بیان و عملکرد رسپتورهای استروژن و پروژسترون نیز گزارش شده است. مشخص شده است که kaempferol در فراکسیون‌های اتیل‌استات، دی‌اتیل اتر و آبی، قابل حل می‌باشد (۹)؛ از طرفی limonene و trans-anethole دارای خاصیت فیتواستروژنی است. Limonene ترکیبی قطبی بوده و در فراکسیون آبی قابل حل می‌باشد (۱۰)، اما Trans-Anethole ترکیبی غیرقطبی بوده و در فراکسیون آبی قابل حل نمی‌باشد (۱۱). به نظر می‌رسد که احتمالاً Kaempferol و یا Limonene، به تنهایی و یا توأم با هم، به عنوان مواد مؤثّره موجود در فراکسیون آبی عصاره آبی و الکلی بذر شوید، مسؤول بروز تغییرات باشند.

طبق نتایج حاصل از مطالعات هیستولوژیک، تجویز فراکسیون آبی عصاره آبی و الکلی بذر شوید، سبب تغییرات ظاهری، بافتی و یا پاتولوژیک نگردیده است؛ بنابراین می‌توان نتیجه‌گیری کرد که فراکسیون آبی عصاره آبی و الکلی بذر شوید، ایمن بوده و مصرف آن سبب ایجاد تغییرات سوء در بدن نمی‌شود.

مورفومتری رحم، نشان از کاهش ۱/۵ برابری قطر دیواره رحم، تنها در گروه دریافت‌کننده دوز بالای آبی فراکسیون آبی در مقایسه با گروه کنترل دارد. قطر طولی تخمدان، در گروه دریافت‌کننده دوز بالای الکلی در مقایسه با گروه کنترل، ۱/۵برابر کاهش و قطر عرضی تخمدان، در گروه دریافت‌کننده دوز بالای الکلی و دوز پایین آبی نسبت به گروه کنترل، به ترتیب ۲ و ۱/۵ برابر کاهش را نشان دادند. قطر هسته سلول جسم زرد در گروه دوز پایین آبی عصاره آبی و قطر سیتوپلاسم سلول جسم زرد در تمام گروه‌های

دریافت‌کننده فراکسیون آبی در مقایسه با گروه کنترل، ۱/۵ برابر کاهش نشان دادند. ترکیبات فیتواستروژنی، با مهار آنزیم تیروزین‌کیناز، از تکثیر سلول‌های میوبلاست و سنتز پروتئین Myotube جلوگیری کرده و در نهایت در تکوین نرمال عضله، اختلال ایجاد می‌کنند (۱۲). احتمالاً حضور این ترکیبات در فراکسیون آبی عصاره آبی و الکلی بذر شوید، منجر به تغییراتی در رشد رحم گردیده است (۱۳). کاهش قطر هسته و سیتوپلاسم سلول‌های گرانولوزای جسم زرد را نیز می‌توان به تقسیمات مکرر و فراوان سلوهای گرانولوزا، تحت تأثیر عصاره بذر گیاه شوید نسبت داد.

رنگ‌آمیزی با لکتین Con A برای کربوهیدرات‌هایی با انتهای α–مانوز، بافت پیوندی تخمدان در گروه دریافت‌کننده دوز پایین الکلی، ۱/۵ برابر افزایش شدت رنگ و اندومتریوم در گروه دریافت‌کننده دوز پایین آبی و میومتریوم در تمام گروه‌های دریافت‌کننده فراکسیون آبی عصاره آبی و الکلی بذر گیاه شوید در مقایسه با گروه کنترل، ۱/۵ برابر کاهش شدت رنگ را نشان دادند. در رنگ‌آمیزی با لکتین DBA برای کربوهیدرات‌هایی با انتهای N–استیل گالاکتوزآمین، سلول‌های گرانولوزای فولیکول‌های تخمدانی، در تمام گروه‌های دریافت‌کننده فراکسیون آبی عصاره آبی و الکلی بذر گیاه شوید و بافت پیوندی تخمدان، در گروه دریافت‌کننده دوز بالای آبی در مقایسه با گروه کنترل، ۱/۵ برابر افزایش شدت رنگ و اندومتریوم در تمام گروه‌ها در مقایسه با گروه کنترل، ۱/۵ برابر کاهش شدت رنگ را نشان دادند. در رنگ‌آمیزی با لکتین SBA برای کربوهیدرات‌های با انتهای α– N – استیل گلوکزآمین، N–b–استیل گلوکزآمین، N–استیل گالاکتوزآمین و گالاکتوز پیرانوزیل، جسم زرد تخمدان در گروه‌های آزمایشی دوز پایین و بالای عصاره آبی و نیز میومتریوم رحم در تمام گروه‌های آزمایشی در مقایسه با گروه کنترل، تقریباً ۱/۵ برابر کاهش شدت رنگ را نشان دادند. نتایج حاصل از رنگ‌آمیزی با لکتین‌های PNA و UEA، نشان داد که هیچ یک از بافت‌های تخمدان و رحم، تغییری در ساخت و پراکنش گلیکوکانژوگیت‌هایی با انتهای قندی D–گالاکتوزیل، N–استیل‌گالاکتوزآمین با رنگ اختصاصی PNA و α–فوکوز با رنگ اختصاصی UEA را نشان ندادند. امروزه اهمیت ترکیبات قندی سطح سلول در روند تکامل جنینی، تغییرات رحم و تخمدان در طی فازهای مختلف سیکل جنسی، بلوغ و ظرفیت‌پذیری اسپرم، پذیرش اسپرم از طرف تخمک و لانه‌گزینی تخم، مورد تأیید قرار گرفته است؛ به طوری که نقص در سنتز، تخریب و یا تغییرات کمّی وکیفی گلیکوکانژوگیت‌های سطح سلول‌ها در قسمت‌های مختلف سیستم تناسلی ماده از جمله اندومتر رحم، یکی از علل ناباروری در جنس ماده می‌باشد (۱۴). قند گالاکتوزآمین در تکامل اندومتریوم رحم که برای لانه‌گزینی جنین لازم می‌باشد، اهمیت زیادی دارد و هر گونه تغییر در توزیع این قند، ممکن است باعث عملکردهای غیرطبیعی رحم گردد (۱۵). Gheri و همکاران (۱۹۸۵)، تفاوت در الگوهای باندشدن لکتین، در اندومتر فرد نرمال، در دو فاز تکثیری و ترشحی رحم را گزارش نمودند (۱۶). قند گالاکتوز، در روند تولیدمثلی، در فرایندهایی نظیر واکنش تخمک–اسپرم، متراکم‌شدن مورولا و در جوندگان، در بلوغ اسپرم و در فرایندهای اتصال بلاستوسیست به دیواره اپی‌تلیوم رحم، در زمان لانه‌گزینی نقش دارد (۱۷). لکتین‌ها، به عنوان ابزاری مناسب با حساسیت و دقت بالا، برای ردیابی قندهای انتهایی ترکیبات سطح سلول و ماتریکس خارج سلولی، مورد قبول همگان می‌باشند.

گروه‌های دریافت‌کننده فراکسیون آبی عصاره آبی و الکلی بذر شوید، پس از دریافت فراکسیون آبی عصاره آبی و الکلی بذر شوید، با گذشت زمان‌های متفاوت بین ۱۴ تا ۲۰ روز، به فاز استروس رسیده و برای جفت‌گیری، به قفس‌های مجزا در کنار موش صحرایی نر بالغ منتقل می‌شدند؛ ولی هیچ‌گونه لقاح موفّقی صورت نگرفت و عدم بارداری در کلیه گروه‌ها ملاحظه گردید.

زوناپلوسیدای تخم پستانداران، در تشخیص اختصاصی

گونه اسپرم، ممانعت از پلی‌اسپرمی و حمایت از اووسیت و جنین تا قبل از لانه‌گزینی نقش دارد؛ به طوری‌که به دنبال اتصال اسپرم به زوناپلوسیدا، برهم‌کنش اختصاصی بین گلیکوپروتئین‌های زوناپلوسیدا و پروتئین‌های متصل‌شونده به تخم روی سطح اسپرم و واکنش آکروزومی، القا می‌شوند. قند انتهایی α-مانوز در سطح زوناپلوسیدا، به عنوان رسپتور دوّم اسپرم معرفی شده است؛ به‌طوری‌که با تشخیص و اتصال α-مانوزیداز سطح اسپرم به باقیمانده‌های مانوزیل، برهم‌کنش تخم و اسپرم انجام می‌گیرد. میزان بیان α-مانوز در سطح غشاء پلاسمایی بلاستوسیست، در مرحله شکل‌گیری بلاستوسیست افزایش می‌یابد (۱۸). قند انتهایی α-فوکوز در سطح زوناپلوسیدا، در تحرک، ظرفیت‌پذیری و واکنش آکروزومی اسپرم دخالت ندارد و تنها کربوهیدرات‌های سطح سلول را برای برهم‌کنش تخم و اسپرم شرکت می‌دهد. N-استیل‌گلوکزآمین در سطح زوناپلوسیدا، در تشخیص اسپرم، القاء واکنش آکروزومی و جلوگیری از پلی‌اسپرمی نقش دارد؛ از طرفی در تکوین پروسه‌های کلیواژ اووم تا مرحله شکل‌گیری مورولا نیز دارای اهمیت می‌باشد. N-استیل‌گالاکتوزآمین در سطح زوناپلوسیدا نیز در القای واکنش آکروزومی و اتصال تخم و اسپرم دخالت دارد. نقش مهم این نوع قند در مرحله کلیواژ اووم تا شکل‌گیری مورولا و حضور آن در سطح غشاء پلاسمایی بلاستوسیست و عملکرد آن در پروسه تشخیص سلولی، بین سلول‌های تروفوبلاست قطبی و سلول‌های مجاور توده سلولی داخلی گزارش شده است (۱۹). مطالعات نشان می‌دهند که در سطح غشاء پلاسمایی تخم و جنین در طول لقاح و کلیواژ، تغییرات ساختاری و عملکردی گوناگونی اتفاق می‌افتد. تغییرات کمّی و کیفی گلیکوکانژوگیت‌های سطح تخم و جنین در طول لقاح و کلیواژ، بهترین شرایط را برای لانه‌گزینی فراهم می‌سازند؛ لذا این احتمال وجود دارد که تجویز فراکسیون آبی عصاره آبی و الکلی بذر گیاه شوید، با ایجاد تغییراتی در ساخته‌شدن و پراکنش گلیکوکانژوگیت‌های بافت پیوندی، سلول‌های گرانولوزای فولیکول و جسم زرد تخمدان و گلیکوکانژوگیت‌های اندومتر و میومتر رحم، به نوعی در پروسه‌های اشاره شده در فوق و به تبع آن، در بارداری خلل ایجاد کرده است؛ به‌طوری‌که در تست بارداری در این تحقیق، عدم بارداری گروه‌های دریافت‌کننده فراکسیون آبی عصاره آبی و الکلی بذر گیاه شوید، این فرضیه را ثابت کرد.

برای متوقف‌شدن ریزش اندومتر و ادامه رشد و ذخیره مواد غذایی در آن، لازم است که میزان هورمون‌های مترشحه از جسم زرد افزایش یابد؛ در حالی که در تحقیق حاضر، احتمالاً به علت عملکرد ترکیبات فیتواستروژنی، میزان استروژن، کاهش و میزان پروژسترون افزایش غیرمعنی‌دار یافته و منجر به ریزش اندومتر و عدم بارداری گردیده است. این ترکیبات، منجر به کاهش تحرک لوله‌های رحمی، تغییر در گلیکوکونژوگه‌های زوناپلوسیدا، اندومتر و میومتر رحم، گلیکوکونژوگه‌های تخمدان و موکوس سرویکس شدند؛ به این صورت که موکوس کم، غلیظ و سلولار سرویکس، سبب نفوذناپذیرشدن سرویکس در برابر ورود اسپرم و احتمالاً، مهار ظرفیت‌پذیری اسپرم، در نتیجه عدم بارداری می‌گردد.

نتیجه‌گیری

فراکسیون آبی عصاره آبی و الکلی بذر شوید، بدون ایجاد تغییرات بافتی و پاتولوژیک، از باروری موش‌های صحرایی ماده ممانعت نموده است. به نظر می‌رسد، ترکیبات محلول در آب این عصاره، با تأثیر بر قندهای انتهایی سطح غشاهای ساختارهای تناسلی، سبب بروز ناباروری گردیده است.

تقدیر و تشکر

بدین‌وسیله نویسندگان مراتب قدردانی خود را از معاونت پژوهشی دانشگاه شیراز، برای حمایت مالی از تحقیق حاضر اعلام می‌دارند. نویسندگان از حمایت‌های فراوان مرکز تحقیقات شیمی دارویی و گیاهی دانشگاه علوم پزشکی شیراز، در تهیه عصاره و فراکسیون نیز کمال سپاس‌گزاری را دارند.

منابع:

1- Gahraman A. Iranian chromophytes (plant systematic). 7th ed. Iran: Tehran University Publication Center; 1995. [Persian]

2- Fritz Weiss R. Weiss's Herbal Medicine. 6th ed. New York: Classic Edition; 2001.

3- Omidbagi Z. Medicinal plant production. 3th ed. Iran; Astan Ghods Razavi Publication; 2001. [Persian]

4- Monsefi M, Ghasemi M, Bahaoddini A. The Effects of Anethum graveolens L. on Female Reproductive System of Rats. Daru. 2006; 14 (3): 131-35.

5- Monsefi M, Ghasemi M, Bahaoddini A. The Effects of Anethum graveolens L. on Female Reproductive System. Phytother Res. 2006; 20 (10): 865-8.

6- Monsefi M, Pahlavan S. Effect of Aqueous Extract of Anethum graveolens (L.) on male Reproductive System of Rats. J Biol Sci. 2007; 7 (5): 815-18.

7- Monsefi M, Zahmati M, Masoudi M, Javidnia K. Effects of Anethum graveolens L. on fertility in male rats. Eur J Contracept Reprod Health Care. 2011; 16 (6): 488-97.

8- Hosseinzadeh H, Karimi GR, Ameri M. Effects of Anethum graveolens L. seed extracts on experimental gastric irritation models in mice. BMC Pharmacol. 2002; 2 (1): 21-30.

9- Kitagawa S, Nabekura T, Takahashi T, Nakamura Y, Sakamoto H, Tano H, et al. Structure-activity relationships of the inhibitory effects of flavonoids on P-glycoprotein-mediated transport in KB-C2 cells. Biol Pharm Bull. 2005; 28 (12): 2274-8.

10- Kazuhisa T, Shinji H, Eiichi Y, Masao T, Yasuhisa N, Minoru U. The solubilization of limonene in aqueous micellar solution of N, N-dimethyldodecylamine oxide and dispersity of stratum corneum in the solution. Colloid Surface B. 1998; 10 (5): 281-9.

11- Chen CH, deGraffenried LA. Anethole suppressed cell survival and induced apoptosis in human breast cancer cells independent of estrogen receptor status. Phytomedicine. 2012; 19 (8-9): 763-7.

12- Rehfeldt C, Kalbe C, Nürnberg G, Mau M. Dose-dependent effects of genistein and daidzein on protein metabolism in porcine myotube cultures. J Agric Food Chem. 2009; 57 (3): 852-7.

13- McGarvey C, Cates PA, Brooks A, Swanson IA, Milligan SR, Coen CW, et al. Phytoestrogens and gonadotropin-releasing hormone pulse generator activity and pituitary Luteinizing Hormone Release in the Rat. Endocrinology. 2001; 142 (3): 1202-8.

14- Miller DL, Jones CJ, Aplin JD, Nardo LG. Altered glycosylation in peri-implantation phase endometrium in women with stages III and IV endometriosis. Hum. Reprod. 2010; 25 (2): 406-11.

15- Jeschke U, Walzel H, Mylonas I, Papadopoulos P, Shabani N, Kuhn C, et al. The human endometrium expresses the glycoprotein mucin-1 and shows positive correlation for Thomsen-Friedenreich epitope expression and galectin-1 binding. J Histochem Cytochem. 2009; 57 (9): 871-81.

16- Gheri G, Gheri Bryk S, Taddei G, Borri P, Noci I . Lectin binding in the human endometrium in early luteal phase following controlled ovarian hyperstimulation. Histol Histopathol. l998; 13 (3): 737-42.

17- Domino SE, Zhang L, Gillespie PJ, Saunders TL, Lowe JB. Deficiency of reproductive tract alpha (1, 2) fucosylated glycans and normal fertility in mice with targeted deletions of the FUT1 or FUT2 alpha(1,2) fucosyltransferase locus. Mol Cell Biol. 2001; 21 (24): 8336-45.

18- Ganguly A, Bansal P, Gupta T, Gupta SK. ZP domain' of human zona pellucida glycoprotein-1 binds to human spermatozoa and induces acrosomal exocytosis. Reprod Biol Endocrinol [serial online] 2010 September 11 [cited 2012 January 10]; 8: [5 screens]. available from: http://www.rbej.com/content/8/1/110

19- El-Mestrah M, Kan FW. Variations in modifications of sugar residues in hamster zona pellucida after in vivo fertilization and in vitro egg activation. Reproduction. 2002; 123 (5): 671-82.

Abstract *Original Article*

Effects of aqueous fraction of *Anethum graveolens* L. (dill) extracts on fertility and terminal sugar of female rat's reproductive system

Malihezaman Monsefi[1], Farnaz Gramifar[2]

Background and Aim: Regarding the effects of dill extracts on the reproductive system of the female sex reported by many researches, in, the present study the effects of aqueous fraction of this extract were investigated.

Materials and Methods: In this experimental study, 40 adult female rats were divided into 5 groups: control, low and high doses of aqueous fraction of extract (0.5 and 5 g/kg, respectively) and low and high doses of ethanol and aqueous extract (0.045 and 0. 45 g/kg, respectively) of dill seed. The animals were gavaged with 1 ml of the mentioned doses for 10 days. At the end of the experiment, blood samples were taken from their dorsal aorta to measure progesterone and estrogen concentration. The ovaries and uteri of the subjects were removed .Then histomorphometrical changes and intensity of reaction of glycoconjugates of ovary and uterus were measured using ConA, UEA, PNA, DBA, SBA lectins. The female rats were mated with male ones (4 in each group).Finally, the number of fetuses and their CRL and weight were measured.

Results: Duration of diestrus phase under high dose of aqueous extract increased 2 times compared to the control group. Uterus thickness, longitudinal and transverse diameters of ovaries, granulosa cells of corpus luteum diameters of the experimental groups decreased 1.5 to 2 times compared to the control group's. Female rats of the experimental groups did not get pregnant. Intensity of reactions of α-mannose, N-acetyl glucosamine, and N-acetyl galactoseamine of endometrium and ovarian cell surfaces changed after being stained by ConA, DBA and SBA.

Conclusion: Oral administration of ethanol fraction and aqueous dill seeds extracts can induce infertility in female rats.

Key Words: Aqueous fraction of dill seeds extract, Estrogen, Progesterone, Estrous cycle, Lectin, Glycoconjugates

Journal of Birjand University of Medical Sciences. 2013; 19 (4): 362- 375

Received: April 16, 2012 ***Accepted: February 6, 2013***

[1] *Corresponding author, Associate Professor, Department of Biology, Faculty of Sciences, Shiraz university, Shiraz, Iran... monsefi@susc.ac.ir.*
[2] *Master of Science, Department of Biology, Faculty of Sciences, Shiraz, Iran.*