

بررسی مقایسه‌ای اثر عصاره هیدروالکلی تخم‌کتان و گل محمدی بر وزن بدن، سطوح سرمی هورمون‌های تیروئیدی و شاخص‌های چربی خون موش صحرائی

امیر ادیبی^۱، آمنه خوشوقتی^{۲*}

مقاله پژوهشی

مقدمه: تیروئید نقش مهمی در متابولیسم بدن دارد. افزایش وزن و آترواسکلروز منجر به بیماری‌های قلبی عروقی می‌شود. گل محمدی و تخم‌کتان در طب سنتی برای کاهش وزن، زیاد استفاده می‌شوند. در این مطالعه مکانیسم اثر این دو گیاه و مقایسه اثر آن‌ها بر وزن بدن، سطوح سرمی هورمون‌های تیروئید و شاخص‌های چربی موش صحرائی بررسی شد.

روش بررسی: در مطالعه آزمایشگاهی تجربی ۳۶ سر موش صحرائی نر نژاد ویستار به گروه کنترل و ۵ گروه تجربی تقسیم شدند. گروه‌های تجربی دوزهای مختلف عصاره این دو گیاه را به مدت ۲۸ روز به صورت داخل صفاقی دریافت کردند. یک روز پس از آخرین تزریق وزن‌کشی و خون‌گیری انجام شد. شاخص‌های چربی به روش بیوشیمیایی و هورمون‌های تیروئیدی به روش ایمنونواسی اندازه‌گیری و مقادیر با استفاده از آزمون‌های آماری one way, ANOVAs و تست Tukey در سیستم SPSS Inc., Chicago, IL; version 18 در سطح معنادار ($p < 0.05$) تجزیه و تحلیل شدند.

نتایج: افزایش معنی‌دار T_3 در همه گروه‌های تجربی (به جز گروه دریافت‌کننده گل محمدی با دوز 500 mg/kg) و کاهش معنی‌دار TSH در همه گروه‌های تجربی مشاهده شد. همه موش‌های صحرائی مورد مطالعه کاهش وزن را نشان دادند (P-value گروه ۱: 0.03 ، گروه ۲: 0.042 و گروه‌های تجربی ۳، ۴، ۵، ۱، $P < 0.0005$). تری‌گلیسیرید در همه گروه‌ها کاهش نشان داد. (P-value در گروه‌های تجربی ۱، ۲، ۳، ۴، ۵، به ترتیب 0.034 ، 0.005 ، 0.003 ، 0.002 ، 0.003 بود)

دوز بالای تخم‌کتان و گل محمدی و تجویز هم‌زمان این دو عصاره سبب افزایش معنی‌دار HDL و کاهش معنی‌دار VLDL شد. LDL در گروه تجربی ۵ در مقایسه با گروه کنترل، کاهش معنی‌دار داشت ($p < 0.05$).

نتیجه‌گیری: گل محمدی و تخم‌کتان سبب افزایش تری‌پروتئین و کاهش TSH شدند و این تغییرات سبب کاهش شاخص‌های چربی و وزن شد، گرچه اثرات گل محمدی بیشتر از تخم‌کتان بود.

واژه‌های کلیدی: تخم‌کتان، شاخص‌های چربی، گل محمدی، هورمون‌های تیروئیدی، وزن بدن

ارجاع: ادیبی امیر، خوشوقتی آمنه. بررسی مقایسه‌ای اثر عصاره هیدروالکلی تخم‌کتان و گل محمدی بر وزن بدن، سطوح سرمی هورمون‌های تیروئیدی و شاخص‌های چربی خون موش صحرائی. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد ۱۳۹۸؛ ۲۷ (۲): ۱۳۰۱-۱۲۹۰.

۱- دانش آموخته دانشکده دامپزشکی، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران

۲- دانشیار، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران

* (نویسنده مسئول): تلفن: ۰۹۱۷۷۱۷۳۶۸۳، پست الکترونیکی: a.khoshvaghti2004@gmail.com، کد پستی: ۷۳۱۳۵-۱۶۸

موجود در آن می‌تواند در پیشگیری از بیماری‌های قلبی مفید باشد (۱۱). در مطالعه‌ای (۱۹۹۶) مشخص شد که ترکیبات جدا شده از عصاره گل محمدی شامل کامپرفول و کوئرستین بر ویروس نقص ایمنی اکتسابی انسان اثر بازدارنده دارد (۱۲). پژوهش دیگری (۲۰۰۰) نشان داد که اسانس و بوی این گل حاوی ترکیبات استری، کتونی و آلدئیدی است که برای بهبود افسردگی پس از زایمان، دردهای روماتیسمی، اضطراب و بهبود عملکرد حافظه مفید است (۱۳). گل محمدی می‌تواند در درمان افسردگی، بی‌خوابی، فشار روحی، حساسیت پوستی، التیام زخم پوست، عفونت‌های باکتریایی، ویروسی و دیابت مورد استفاده قرار گیرد (۱۴). گیاه کتان با نام علمی *Linum Usitatissimum* گیاهی با برگ‌های متناوب خطی و سرنیزه‌ای است. این گیاه در ایران در بخش‌های شمال و شمال‌غرب تا جنوب و جنوب‌شرق پراکندگی دارد (۱۵،۱۶). تجزیه ترکیبات شیمیایی موجود در تخم‌کتان نشان می‌دهد که این بذر غنی از فنیل‌پروپانویدهای مختلف به‌خصوص لیگنان‌ها، فلاونوئیدها و گلیکوزیدهای سیانوژنیک است (۱۷،۱۸). پژوهش‌ها نشان می‌دهد که روغن تخم‌کتان به‌دلیل داشتن اسیدهای چرب امگا ۳ و امگا ۶ از بیماری‌های قلبی عروقی پیشگیری می‌کند (۱۹،۲۰) و منجر به کاهش کلسترول و افزایش و بهبود فعالیت سیستم‌ایمنی می‌شود (۲۱-۲۷) همچنین منبع سرشاری از مواد مغذی هم‌چون فیبر، منیزیم، ویتامین B₁، اسید چرب آلفالینولنیک و امگا ۳ می‌باشد؛ بنابراین منبعی برای چربی سالم و آنتی‌اکسیدان می‌باشد (۲۸). پزشکان طب سنتی جهت کاهش وزن بدن و لاغری از گل‌محمدی و تخم‌کتان استفاده می‌نمایند. با توجه به این‌که تا کنون تحقیقی در زمینه مقایسه تاثیر این دو گیاه بر وزن بدن، فعالیت غده تیروئید، هورمون TSH و میزان چربی سرم صورت نگرفته است. تحقیق حاضر به‌منظور مقایسه اثرات این دو گیاه انجام شده است.

روش بررسی

در این مطالعه آزمایشگاهی تجربی، برای تهیه عصاره هیدروالکلی گل‌محمدی و تخم‌کتان از روش‌های استاندارد عصاره‌گیری استفاده گردید (۲۹). پس از تهیه گیاهان از مرکز

غده تیروئید از جمله غدد درون‌ریز بدن می‌باشد که نقش مهمی در فعالیت‌های متابولیکی بدن ایفا می‌کند (۱). این غده دو هورمون مهم به نام تیروکسین (T₃) و تری‌یدونیرونین (T₄) را ترشح می‌کند که نقش بسزایی در فعالیت‌های متابولیکی بدن دارا می‌باشد (۲). امروزه موارد افزایش وزن بدن، هیپرلیپیدمی و در پی آن آترواسکلروز به فراوانی منجر به بیماری‌های قلبی عروقی و حتی مرگ می‌گردد (۳). بنابراین پایین‌آوردن وزن بدن و سطح لیپیدهای خون می‌تواند موجب کاهش چشم‌گیر بروز بیماری‌های قلبی و عروقی گردد (۴). از داروهای شیمیایی بسیاری مانند لواستاتین، کلوستیرامین، کلوفیبرات جهت کاهش سطح لیپوپروتئین با چگالی پایین (LDL) و افزایش سطح لیپوپروتئین با چگالی بالا (HDL) استفاده می‌شود. اما با توجه به این‌که این داروها می‌تواند عوارض زیادی هم‌چون بروز میوپاتی، رابدومیولیز، اختلالات کبدی، تهوع، سرگیجه و مشکلات گوارشی را به‌دنبال داشته باشد در مصرف این داروها با محدودیت‌هایی مواجه هستیم (۵). هیپوتیروئیدسم که در نتیجه عدم ترشح کافی هورمون‌های تیروئیدی رخ می‌دهد سبب کاهش میزان متابولیسم پایه می‌شود. پرکاری و یا کم‌کاری غده تیروئید می‌تواند واکنش‌های بیوشیمیایی بدن را تحت تاثیر قرار دهد. این اختلال در اثر مواردی مثل کمبود ید، آسیب غده تیروئید و یا بیماری‌های خودایمن به‌وجود می‌آید (۶،۷). استفاده از گیاهان دارویی از زمان‌های دور رواج داشته و عوارض کمتری نسبت به داروهای شیمیایی ایجاد می‌کند و به‌خصوص زمانی که درمان‌های رایج قادر به کنترل بیماری نباشد استفاده از این گیاهان توصیه می‌شود (۸).

گل‌محمدی با نام علمی *Rosa damascene mill* از خانواده رزاسه (Rosaceae) می‌باشد (۹). که درختچه‌هایی با خارهای ریز و قلابی‌شکل، دارای گل‌های درشت و بسیار خوش‌بو است (۱۰). ترکیبات اصلی آن آنتوسیانین، سیانیدین ۳، ۵ دی‌گلیکوزید و چندین ترکیب مثل کامفرول، کوئرستین، گالاتوزید، آرابینوزید، ژاینول‌ها می‌باشند. آنتی‌اکسیدان‌های

نمودند (۳۰). گروه تجربی ۳ و ۴ که روزانه به ترتیب ۵۰۰ mg/KgBw و ۱۰۰۰ عصاره هیدروالکلی گل محمدی را به مدت ۲۸ روز دریافت نمودند (۳۴-۳۱). گروه تجربی ۵ روزانه ۱۰۰ mg/KgBw عصاره هیدروالکلی تخم کتان و ۲۵۰ mg/KgBw عصاره هیدروالکلی گل محمدی را به طور هم‌زمان به مدت ۲۸ روز دریافت نمودند. لازم به ذکر می‌باشد که تزریق‌ها به صورت داخل صفاقی انجام شد. یک روز پس از آخرین تزریق، موش‌ها در حالت ناشتا وزن کشی شدند. پس از بیهوشی خفیف به وسیله کتامین (۴۰ mg/Kg) و دیازپام (۱۰ mg/Kg)، خون‌گیری انجام و سپس با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ با سرعت ۲۵۰۰ دور و به مدت ۱۵ دقیقه سرم خون جدا و در مجاورت یخ به آزمایشگاه ارسال گردید. اندازه‌گیری هورمون محرک تیروئید (TSH)، تری‌یدوتیرونین و تیروکسین به روش رادیوایمونواسی و با استفاده از دستگاه با مشخصات (10227 Prague10 Czech, ImmunoTech) و کیت‌های شرکت پارس آزمون انجام شد. کلسترول و تری‌گلیسرید به روش آنزیمی (۳۵،۳۶)، LDL به روش Friedwadd's و HDL به روش فسفوتنگستات اندازه‌گیری شد. میزان VLDL با استفاده از تقسیم میزان تری‌گلیسرید بر ۴ تخمین زده شد (۳۷).

تجزیه و تحلیل آماری

نتایج با استفاده از آزمون آماری one way ANOVAs و

تست Tukey در سیستم SPSS Inc., Chicago, IL; version

18 مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

ملاحظات اخلاقی

پروپوزال این تحقیق توسط دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون تایید شده است (کد اخلاق IR.IAU.KAU.REC.1397.028). در تمامی مراحل آزمایش اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت گردید.

نتایج

نتایج مربوط به میانگین وزن نشان می‌دهد که کاهش معنی‌داری در وزن موش‌های گروه‌های دریافت‌کننده عصاره گل محمدی با دوز ۵۰۰ mg/kg و ۱۰۰۰ و گروه دریافت‌کننده

معتبر و تایید گروه زیست‌شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون و تمیز نمودن، آن‌ها را خشک نموده و به صورت پودر درآورده و آماده عصاره‌گیری گردید. جهت عصاره‌گیری هر کدام از گیاهان را به صورت جداگانه به مدت ۷۲ ساعت در دستگاه پرکولاتور قرار دادیم و بعد از ۷۲ ساعت شیر دستگاه پرکولاتور را باز کرده که محلول حاوی عصاره از آن خارج شود. سپس از بالا به طور قطره قطره الکل طبی ۹۶ درصد به طوری که عصاره خشک نشود و خروجی محلول بی‌رنگ گردد به آن اضافه نمودیم. در این حالت تمام عصاره از ترکیبات گیاهی خارج شد. سپس محلول حاوی اتانول که در درون آن عصاره گیاه مدنظر قرار داشت را در دستگاه روتاری قرار دادیم تا کاملاً تغلیظ و تا بیشترین میزان ممکن حلال آن تبخیر گردید. سپس محلول عسلی مانند به دست آمده را در دستگاه دسیکاتوری که به پمپ خلاء وصل بود قرار دادیم. آن‌گاه محلول حاصل را که کاملاً خشک شده کوبیده و به صورت پودر در آورده. در نهایت با توجه به دوز تزریقی با نرمال‌سالین به عنوان حلال هر دو عصاره، مخلوط گردید. هم‌چنین عصاره‌گیری فقط یک بار و در ابتدای دوره انجام پذیرفت و آماده‌سازی محلول نهایی به صورت روزانه انجام و محلول‌ها در شرایط استاندارد آزمایشگاهی نگهداری گردید. برای انجام این پژوهش ۳۶ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با سن ۴-۶ هفته و وزن تقریبی 180 ± 20 انتخاب و در مرکز نگهداری حیوانات آزمایشگاهی با دمای 25 ± 3 درجه سانتی‌گراد و در شرایط ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی نگهداری شد.

در تمامی طول دوره موش‌ها به آب لوله‌کشی شهری و غذای فشرده شده موش به راحتی دسترسی داشتند. قبل از شروع پژوهش به مدت یک هفته، موش‌ها در شرایط استاندارد به منظور سازگاری با محیط نگهداری شدند. سپس به طور تصادفی به ۶ گروه تقسیم‌بندی شدند:

گروه کنترل: تنها آب و غذای معمولی دریافت کردند و هیچ‌گونه دارویی دریافت نمی‌کردند.

گروه تجربی ۱ و ۲ که روزانه به ترتیب ۳۰۰ mg/KgBw و ۵۰۰ عصاره هیدروالکلی تخم کتان را به مدت ۲۸ روز دریافت

همزمان عصاره کتان و گل محمدی کاهش معنی‌داری در میانگین غلظت کلسترول نسبت به گروه دریافت‌کننده تخم‌کتان با دوز ۳۰۰ mg/kg مشاهده شد ($p < 0/05$). بررسی‌های آماری، افزایش معنی‌داری در میانگین غلظت HDL و کاهش معنی‌داری در میانگین غلظت VLDL در همه گروه‌های تجربی دریافت‌کننده دوز بالای عصاره تخم‌کتان و گل محمدی و نیز گروه دریافت‌کننده همزمان این دو عصاره نسبت به گروه کنترل نشان داد ($p < 0/05$).

از دیگر نتایج این پژوهش کاهش معنی‌دار میانگین غلظت LDL، در گروه دریافت‌کننده همزمان عصاره تخم‌کتان و گل محمدی نسبت به گروه کنترل می‌باشد ($p < 0/05$). از دیگر نتایج این تحقیق کاهش معنی‌دار میانگین غلظت VLDL در همه گروه‌های تجربی (به‌جز گروه‌های دریافت‌کننده عصاره تخم‌کتان ۳۰۰ mg/kg ($P=0/082$) و گروه دریافت‌کننده عصاره گل محمدی با دوز ۵۰۰ mg/kg ($P=0/069$) نسبت به گروه کنترل است ($p < 0/05$). نتایج حاصل از این تحقیق در جدول ۱ تا ۳ آورده شده است.

همزمان بذرکتان ۱۰۰ mg/kg و گل محمدی mg/kg ۲۵۰ نسبت به گروه‌های دریافت‌کننده بذرکتان وجود دارد ($p < 0/05$). آزمون‌های آماری مشخص کرد که کاهش معنی‌داری در میانگین غلظت هورمون TSH در همه گروه‌های تجربی نسبت به گروه کنترل وجود دارد ($p < 0/05$). نتایج مربوط به میانگین غلظت هورمون تری‌یدوتیرونین (T_3) افزایش معنی‌داری در میانگین غلظت هورمون T_3 همه گروه‌های تجربی (به‌جز گروه دریافت‌کننده عصاره گل محمدی با دوز ۵۰۰ mg/kg) نسبت به گروه کنترل نشان داد ($p < 0/05$). اما در این پژوهش تغییر معنی‌داری در میانگین غلظت هورمون T_4 در بین گروه‌های مورد بررسی مشاهده نشد ($p < 0/05$). نتایج مربوط به میانگین غلظت تری‌گلیسرید (TG) نشان می‌دهد که در گروه‌های دریافت‌کننده عصاره گل محمدی با دوزهای ۵۰۰ mg/kg و ۱۰۰۰ mg/kg، عصاره تخم‌کتان (۵۰۰ mg/kg) و گروه دریافت‌کننده عصاره تخم‌کتان و گل محمدی به‌طور همزمان کاهش معنی‌داری نسبت به گروه دریافت‌کننده تخم‌کتان با دوز ۳۰۰ mg/kg وجود دارد ($p < 0/05$). در گروه دریافت‌کننده گل محمدی با دوز ۱۰۰۰ mg/kg و نیز در گروه دریافت‌کننده

جدول ۱: میانگین و انحراف معیار سطح سرمی هورمون های T_3 ، T_4 و TSH در موش‌های صحرایی مورد مطالعه

پارامتر گروه	تری‌یدوتیرونین (pg/ml) (Mean±S.E.M)	تیروکسین (ng/ml) (Mean±S.E.M)	هورمون محرک تیروئید (IU/ml) (Mean±S.E.M)
کنترل	۰/۷۰±۰/۱۴	۰/۷۰±۰/۱۴	۰/۵۲±۰/۰۹
تجربی ۱	a ۰/۹۵±۰/۰۵	۰/۹۵±۰/۰۵	a ۰/۲۰±۰/۰۲
تجربی ۱	P=۰/۰۰۲	P=۰/۰۸۹	P=۰/۰۰۰
تجربی ۲	۰/۹۲±۰/۰۲	۰/۹۲±۰/۰۲	a ۰/۱۸±۰/۰۱
تجربی ۲	P=۰/۰۷۸	P=۰/۸۹۸	P=۰/۰۰۳
تجربی ۳	۰/۸۰±۰/۰۳	۰/۸۰±۰/۰۳	a ۰/۱۵±۰/۰۰۵
تجربی ۳	P=۰/۰۷۸	P=۰/۸۹۸	P=۰/۰۰۳
تجربی ۴	a ۰/۹۴±۰/۰۲	۰/۹۴±۰/۰۲	a ۰/۲۴±۰/۰۲
تجربی ۴	P=۰/۰۰۳	P=۰/۰۸۲	P=۰/۰۲۲
تجربی ۵	a ۰/۹۲±۰/۰۳	a ۰/۹۲±۰/۰۳	۰/۱۹±۰/۰۱
تجربی ۵	P=۰/۰۰۰	P=۰/۰۱۲	P=۰/۷۵۱

*حرف a بیانگر وجود اختلاف آماری معنی‌دار بین گروه‌های مختلف در مقایسه با گروه کنترل می‌باشد که بر اساس آزمون آماری one way و توکی مشخص شده است.

جدول ۲: میانگین و انحراف معیار وزن بدن و سطح سرمی الگوی چربی در موش‌های صحرایی مورد مطالعه

گروه پارامتر	وزن (g) (Mean±S.E.M)	تری گلیسرید (mg/dl) (Mean±S.E.M)	کلسترول (mg/dl) (Mean±S.E.M)	لیپوپروتئین با چگالی بالا (mg/dl) (Mean±S.E.M)	لیپوپروتئین با چگالی پایین (mg/dl) (Mean±S.E.M)	لیپوپروتئین با چگالی خیلی پایین (mg/dl) (Mean±S.E.M)
کنترل	۲۳۹/۲±۱۸	۸۴/۴۰±۵/۶۱	۹۴/۴۰±۴/۲۱	۳۱/۰۰±۰/۷۳	۴۸/۴۷±۱/۶۷	۱۷/۴۷±۱/۰۸
تجربی ۱	۲۰۱/۵±۴ _a	a۷۲/۱۷±۴/۳۲	a۷۸/۱۶±۲/۷۷	۴۰/۱۷±۶/۰۷	۴۳/۵۳±۱/۷۴	۱۴/۴۳±۰/۸۶
	P=۰/۰۳	P=۰/۰۳۴	P=۰/۰۰۲	P=۰/۰۷۷	P=۰/۷۶۵	P=۰/۰۸۲
تجربی ۲	۲۱۱±۲/۳ _a	a۵۵/۱۷±۳/۷۴	a۷۵/۳۳±۴/۶۴	۴۳/۶۷±۲/۴۱ _a	۴۸/۰۳±۱/۷۰	۱۱/۰۳±۰/۷۴ _a
	P=۰/۰۴۲	P=۰/۰۰۵	P=۰/۰۱۰	P=۰/۰۰۲	P=۰/۸۸۹	P=۰/۰۰۲
تجربی ۳	۱۷۶±۵/۹ _a	a۵۴/۶۷±۳/۳۹	a۷۳/۶۰±۲/۳۳	۳۶/۳۳±۲/۵۱ _a	۴۷/۲۷±۴/۴۸	۱۴/۳۳±۳/۴۸
	P=۰/۰۰۰	P=۰/۰۰۳	P=۰/۰۰۰	P=۰/۰۴۷	P=۰/۹۹۹	P=۰/۰۶۹
تجربی ۴	۱۷۰/۲±۳ _a	۵۰/۷۵±۳/۴۶ _a	a۶۶/۶۶±۲/۴۰	۴۶/۳۳±۳/۰۷ _a	۴۵/۴۰±۱/۳۶	۱۰/۷۳±۰/۶۶ _a
	P=۰/۰۰۰	P=۰/۰۰۲	P=۰/۰۰۰	P=۰/۰۰۱	P=۰/۷۸۱	P=۰/۰۱۰
تجربی ۵	۱۷۵±۲/۳ _a	a۵۴/۴۰±۴/۱۵	a۶۵/۰۰±۳/۵۰	۴۳/۶۷±۲/۰۲ _a	۴۰/۷۳±۱/۴۴ _a	۱۱/۶۳±۰/۵۷ _a
	P=۰/۰۰۰	P=۰/۰۰۳	P=۰/۰۰۰	P=۰/۰۰۰	P=۰/۰۱۰	P=۰/۰۰۳

*حرف a بیانگر وجود اختلاف آماری معنی دار بین گروه‌های مختلف در مقایسه با گروه کنترل است که بر اساس آزمون آماری one way ANOVA و توکی مشخص شده است.

جدول ۳: وجود یا عدم وجود اختلاف آماری معنی داری بین میانگین میزان پارامترهای مختلف در گروه‌های تجربی در مقایسه با گروه کنترل

پارامتر/ گروه	وزن	تری بدو تیروئین	تیروکسین	هورمون محرک تیروئید	تری گلیسرید	کلسترول	لیپوپروتئین با چگالی بالا	لیپوپروتئین با چگالی پایین	لیپوپروتئین با چگالی خیلی پایین
تجربی ۱	۰/۰۳	۰/۰۰۲	۰/۰۸۹	۰/۰۰۰	۰/۰۳۴	۰/۰۰۲	۰/۰۷۷	۰/۷۶۵	۰/۰۸۲
تجربی ۲	۰/۰۴۲	۰/۰۲۳	۰/۷۵۱	۰/۰۱۰	۰/۰۰۵	۰/۰۱۰	۰/۰۰۲	۰/۸۸۹	۰/۰۰۲
تجربی ۳	۰/۰۰۰	۰/۰۷۸	۰/۸۹۸	۰/۰۰۳	۰/۰۰۳	۰/۰۰۰	۰/۰۴۷	۰/۹۹۹	۰/۰۶۹
تجربی ۴	۰/۰۰۰	۰/۰۰۳	۰/۰۸۲	۰/۰۲۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۰	۰/۰۰۱	۰/۷۸۱	۰/۰۱۰
تجربی ۵	۰/۰۰۰	۰/۰۱۲	۰/۷۵۱	۰/۰۱۲	۰/۰۰۳	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۱۰	۰/۰۰۳

*وجود یا عدم وجود اختلاف آماری معنی دار بین گروه‌های مختلف در مقایسه با گروه کنترل بر اساس آزمون آماری One way ANOVA و توکی تعیین شد.

تیروئید در موش‌های صحرائی نر بالغ پرداختند این نتیجه حاصل شد که عصاره گیاه پنج‌انگشت باعث افزایش هورمون های تیروئیدی T_3 و T_4 و کاهش هورمون TSH شده است که با توجه به اثر مهاری عصاره گیاه پنج‌انگشت بر ترشح هورمون پرولاکتین این گیاه از طریق کاهش میزان این هورمون باعث افزایش میزان هورمون‌های تیروئیدی می‌شود. همچنین با توجه به ترکیبات فلاوونوئیدی موجود در گیاه پنج‌انگشت احتمالاً کاهش میزان TSH به دلیل این ترکیبات باشد (۳۸). با توجه به این که نتایج این تحقیق مشابه یافته‌های ما می‌باشد و تخم‌کتان و گل‌محمدی نیز هم‌چون گیاه پنج‌انگشت دارای ترکیبات فلاوونوئیدی می‌باشند. افزایش هورمون T_3 و کاهش TSH در تحقیق حاضر نیز می‌تواند به دلیل اثر مهاری تخم‌کتان و گل‌محمدی بر روی ترشح هورمون پرولاکتین باشد. کاهش وزن و اصلاح الگوی چربی نیز به دنبال افزایش فعالیت غده تیروئید و متابولیسم بدن می‌باشد.

زارعی و همکاران (۱۳۹۴) به بررسی تاثیر عصاره هیدروالکلی زرشک بر هورمون‌های تیروئیدی پرداختند و گزارش نمودند که ریشه گیاه زرشک در دوز حداکثر می‌تواند موجب افزایش هورمون‌های تیروئیدی T_3 و T_4 گردد، ولی تاثیر معنی‌داری بر روی TSH ندارد؛ این افزایش T_3 و T_4 می‌تواند ناشی از افزایش پروتئین‌های پلازما از جمله آلبومین باشد که توسط ترکیبات آلكالوئیدی موجود در گیاه زرشک اعمال شده است (۲).

طاهری و همکاران (۱۳۹۵) به بررسی تاثیر عصاره هیدروالکلی میوه گل‌گیاه سبز بر روی هورمون‌های تیروئیدی پرداختند و نتیجه گرفتند که این عصاره موجب افزایش معنی‌داری در سطح پلاسمایی هورمون‌های T_3 و T_4 و کاهش معنی‌داری در سطح پلاسمایی هورمونی TSH می‌شود (۱).

در مطالعه پاندا و همکاران (۱۹۹۹) مشخص شد که عصاره ریشه گیاه ویتانا سومنیفرا و عصاره پوست درخت باهینیا پورپوره می‌تواند باعث افزایش فعالیت غده تیروئید شود که مکانیسم آن افزایش فعالیت کاتالاز و دیسموتاز و کاهش فعالیت (LPO) می‌باشد (۳۹).

مطالعه حاضر به منظور بررسی مقایسه‌ای اثر عصاره هیدروالکلی گل‌محمدی و تخم‌کتان بر وزن بدن، شاخص‌های چربی و فعالیت غده تیروئید در موش صحرائی نر صورت گرفت. در این تحقیق معلوم گردید که عصاره هیدروالکلی گل‌محمدی و تخم‌کتان موجب افزایش هورمون تیروئیدی تری‌یدوتیرونین (T_3) و کاهش هورمون محرک غده تیروئید (TSH) می‌گردد. هورمون تیروکسین (T_4) در هیچ یک از گروه‌های تجربی تغییرات معنی‌داری را نسبت به گروه کنترل نشان نداد. هم‌چنین عصاره هر دو گیاه موجب کاهش تری‌گلیسرید، کلسترول، VLDL، افزایش HDL و نیز موجب کاهش وزن بدن گردید. LDL فقط در گروه تجربی ترکیبی عصاره هر دو گیاه تغییرات نشان داد. به‌طور کلی در این مطالعه گل‌محمدی در دوز حداکثر و در گروه تجربی ترکیب با تخم‌کتان در مقایسه با عصاره تخم‌کتان تاثیرات معنی‌دار و موثرتری بر هورمون‌های تیروئیدی، شاخص‌های چربی و وزن بدن نشان داد.

گل‌محمدی دارای ترکیباتی هم‌چون آنتوسیانیدین، سیانیدین ۵،۳ دی‌گلیکوزید و چندین ترکیب مثل کامفرول، کوئرستین، گالاتوزید، آرابینوزید، فلاوونوئیدها و ژائینول‌ها می‌باشد (۱۱). تخم‌کتان حاوی ترکیباتی از لیگنان‌ها، فلاوونوئیدها و گلیکوزیدهای سیانوژنیک است. هم‌چنین هر دو گیاه حاوی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی نیز می‌باشند (۱۷،۱۸). این احتمال وجود دارد که به دلیل داشتن ترکیبات فلاوونوئیدی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی هر دو گیاه، افزایش تولید هورمون T_3 را به دنبال داشته و افزایش این هورمون اثر فیدبک منفی بر تولید TSH داشته است. در نتیجه سبب کاهش TSH شده است. هم‌چنین فاکتورهای مرتبط با چربی هم‌چون تری‌گلیسرید، کلسترول و VLDL را کاهش و HDL را افزایش می‌دهد، که کاهش وزن صورت گرفته در مصرف کنندگان این عصاره‌ها می‌تواند به دلیل اثرات مثبت این گیاهان بر متابولیسم لیپیدها باشد.

در مطالعه‌ای که هاشم‌پور و همکاران (۱۳۹۵) به بررسی اثر عصاره هیدروالکلی گیاه پنج‌انگشت بر عملکرد محور هیپوفیز

در مطالعه‌ای که شهرانی و همکاران (۱۳۸۷) به بررسی اثرات کرفس کوهی بر چربی خون موش سوری پرداختند نتیجه گرفتند که این گیاه موجب کاهش معنی‌داری در کلسترول تام، تری‌گلیسرید، LDL و VLDL می‌گردد و این تغییر معنی‌دار را می‌توان به وجود ترکیبات فلاونوئیدی در گیاه کرفس کوهی نسبت داد (۳). کاهش میزان کلسترول به‌دنبال مصرف گیاهان حاوی فلاونوئیدها می‌تواند به دلیل تاثیر کاهنده این ترکیب بر فعالیت آنزیم استیل کلسترول آسپیل ترانسفراز سلول‌های کبدی (ACAT)، کاهش فعالیت آنزیم هیدروکسی‌متیل‌گلویتاریل کوآنزیم A ردوکتاز (۴۲،۴۳) و افزایش تعداد رسپتورهای کبدی باشد (۴۴). تنظیم کلسترول در ابتدای مسیر سنتز آن یعنی در مرحله دی‌هیدروکسی‌متیل‌گلویتاریل کوآنزیم A (HMG-CoA) اعمال می‌شود. واکنش تبدیل HMG-CoA به موالونات تحت تاثیر HMG-CoA ردوکتاز و NADPH، مرحله تنظیمی اصلی در بیوسنتز کلسترول و همچنین محل اثر داروهای کاهنده کلسترول است.

نتیجه گیری

این مطالعه نشان داد که هر دو عصاره هیدروالکلی گل محمدی و تخم کتان می‌تواند موجب افزایش فعالیت غده تیروئید و کاهش چربی‌ها و در نتیجه کاهش وزن بدن و لاغری گردد. اما استفاده از گل محمدی به‌تنهایی و در ترکیب با تخم کتان تاثیر موثرتری نسبت به استفاده از تخم کتان به‌تنهایی نشان داد. با توجه به یافته‌های حاصل شده، نتایج این مطالعه می‌تواند مورد استفاده متخصصین طب سنتی و تغذیه قرار گیرد.

سپاس‌گزاری

مقاله حاضر برگرفته از یک پایان نامه دکترای عمومی دام‌پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون است که با هزینه شخصی انجام شده است. از معاونت محترم پژوهشی جهت تایید و همکاری کمال سپاس‌گزاری را دارم. **تعارض در منافع:** وجود ندارد.

اسدی و همکاران (۱۳۹۱) به بررسی مقایسه‌ای اثر عصاره هیدروالکلی گیاه زوفایی با لواستاتین بر الگوی چربی موش پرداختند و این نتیجه حاصل شد که مصرف روزانه عصاره این گیاه مقدار کلسترول، تری‌گلیسرید، LDL، VLDL را کاهش داده و افزایش قابل‌توجهی در مقدار HDL سرم را سبب می‌شود. گیاه زوفایی منبع خوبی از تریپنویئیدها و فلاونوئیدها و ایزوپروپونوئیدها نظیر تیمول و کارواکرول می‌باشد که احتمال دارد اثر کاهش گیاه زوفایی بر میزان کلسترول سرم به دلیل وجود همین ترکیبات فلاونوئیدی و ایزوپروپونوئیدی موجود در عصاره هیدروالکلی گیاه باشد (۸).

جعفری دینانی و همکاران (۱۳۸۶) در مطالعه‌ای به بررسی تاثیر عصاره هیدروالکلی شیرین‌بیان بر ایجاد پلاک‌های آترواسکلروتیک در آئورت خرگوش‌های هیپرکلسترولمیک پرداختند و کاهش غلظت کلسترول تام، تری‌گلیسرید، LDL و افزایش HDL را به‌دنبال مصرف عصاره هیدروالکلی شیرین‌بیان در خرگوش‌های مبتلا به هیپرکلسترولمی شده گزارش کردند. گلیسرین و بخش غیرقندی آن گلیسرتینیک‌اسید از ترکیب‌های اصلی ریشه شیرین‌بیان می‌باشند و برای معالجه هیپرلیپیدمی به‌کار می‌رود (۴۰).

لیو و همکاران (۲۰۰۶) گزارش نمودند که روغن سیر موجب کاهش سطح کلسترول پلاسما می‌شود. این ویژگی می‌تواند به علت حضور ترکیبات ارگانوسولفور موجود در آن باشد که بر متابولیسم کلسترول تاثیر می‌گذارد. این ترکیب‌ها با جلوگیری از ترشح آنزیم‌هایی که در کبد در تبدیل استات به کلسترول نقش دارند باعث کاهش بیوسنتز کلسترول در کبد و در نتیجه کاهش غلظت آن در پلاسما می‌شود. (۴۱). زارعی و همکاران (۱۳۹۱) گزارش کردند که عصاره آبی‌الکلی گیاه آویشن شیرازی سبب کاهش معنی‌داری در میزان کلسترول، تری‌گلیسرید، LDL، VLDL و افزایش معنی‌داری در میزان HDL سرم می‌گردد که این می‌تواند به دلیل ترکیبات فلاونوئیدی موجود در گیاه آویشن شیرازی باشد (۴).

References:

- 1-Taheri S, Mirazi N. *The Effect of Elettaria cardamomum L. Fruit's Hydroethanolic Extract on Thyroids Hormones Serum Level in Hypothyroid Male Mice*. Armaghane danesh 2016; 21(1): 27-39. [Persian]
- 2-Zarei A, Taheri S, Changizi Ashtiyani S, Rezaei A. *The study of the effect of the extract Berberis Vulgaris root on serum levels of thyroid hormones in hypercholesterolemia rats*. ISMJ 2015; 18(2): 270-9. [Persian]
- 3-Shahrani M, Pilehvarian Aa, Kheyri S, Asgari A, Farokhi E, Parvin N, Rafieian M. *Effects of Kelussia odoratissima Mozaffarian (KOM.) extract on blood lipid in Balb/c mice*. J Shahrekord Uni Med Sci 2009; 10(4): 50-6. [Persian]
- 4-Zarei M A, Eftekhari H, Aqababa H. *Effect of hydroalcoholic extract of Zataria multiflora Bioss on serum lipids levels in high cholesterol diet fed Rats*. Horizon Med Sci 2014; 19(4): 218-23. [Persian]
- 5-Rafati A, Moradi S, Ismaeili Dahadje M, Jalali B, Yaghmayee P. *Comparison of the Efficiency of Lovastatin and Seed Dill Extract in Reduction of Serum Lipid Levels in Rats*. JSSU 2006; 13(5) (5):41-9. [Persian]
- 6-Guyton A, Hall J, editors. *Textbook of Medical Physiology*. 12th ed. Philadelphia: Saunders; 2010; 945-56.
- 7-Kar A, Panda S, Bharti S. *Relative Efficacy Of Three Medicinal Plant Extracts In The Alteration Of Thyroid Hormone Concentrations In Male Mice*. J Ethnopharmacology 2002; 81(2): 281-5.
- 8-Asadi M, Cheraghi J, Pilevariyan A, Mehrabi A, Ebrahimi V. *Effect of alcoholic extract of Thymbra Spicata on blood lipid profile in compared with lovastatin in male rats*. JBUMS 2012; 14(5): 42-8. [Persian]
- 9-Sedighi M, Noori-Ahmadabadi M, Rafieian-Kopaei M, Ebrahimpoor-Samani J, Shahinfard N. *The effect of Rosa damascena Mill hydroalcoholic extract on the ileum contraction in rat*. J Mazandaran Uni Med Sci 2014; 23(108): 30-9. [Persian]
- 10- Ezzati S, Asadi SY, Parsaei P, Rafieian-kopaei M, Karimi M. *Effect of hydroalcoholic extract of Rosa damascena on post-laparotomy intra-abdominal adhesions in rat*. Scientific J Kurdistan Uni Medical Sci 2015; 20(4):73-82. [Persian]
- 11- Akbari M, Kazerani HR, Kamrani A, Mohri M. *A preliminary study on some potential toxic effects of Rosa damascena Mill*. Iranian J Veterinary Res 2013; 14(3): 232-6. [Persian]
- 12- Mahmood N, Piacente S, Pizza C, Burke A, Khan AI, Hay AJ. *The Anti-HIV Activity and Mechanisms of Action of Pure Compounds Isolated from Rosa damascena*. Biochem Biophys Res Commun 1996; 229(1):73-9.
- 13- Lis Balchin M. *Essential oils d'aromatherapy': their modern role in healing*. Journal of the royal society of health 1997;117(5):324-329

- 14- Baniasad A, Khajavirad A, Hosseini M, Shafei MN, Aminzadah S, Ghavi M. *Effect of hydro-alcoholic extract of Rosa damascena on cardiovascular responses in normotensive rat*. Avicenna J Phytomed 2015; 5(4): 319-24.
- 15- Diederichsen A, Raney JP, Fu YB, Richards KW. *Diversity in the flax collection at Plant Gene Resources of Canada*. Proceedings of the 59th flax institute of the United States 2002: 21-3.
- 16- Ebrahimi Vosta Kalae S, Talebi Mazraeh Shahi A, Naseri M. *Anti-Inflammation Effect of Alcoholic Extract of Linum*. JBUMS 2014; 16(4):50-56. [Persian]
- 17- Morris DH. *A Health and nutrition primer*. 4th ed. Flax Council of Canada 2007. Available at: <http://www.flaxcouncil.ca/english/index.jsp?p=primer&mp=nutrition>
- 18- Oomah BD, Mazza G. *Flaxseed products for disease prevention. Functional Foods. USA: Technomic Publishing Co. Inc. Lancaster Basel* 1998: 91-138.
- 19- Farahpour MR, Taghikhani H, Habibi M. *Wound healing activity of flaxseed Linum usitatissimum L. in rats*. African J Pharmacy and Pharmacology 2011; 5(21):2386-9.[Persian]
- 20- Zuk M, Kulma A, Dymińska L, Szoltysek K, Prescha A, Hanuza J, Szopa J. *Flavonoid engineering of flax potentiate its biotechnological application*. BMC Biotechnology 2011; 11:10.
- 21- Deng Y, Zhang CH, Zhang HN. *Effects of chaihu shugan powder on the behavior and expressions of BDNF and TrkB in the hippocampus, amygdala, and the frontal lobe in rat model of depression*. Zhongguo Zhong xi yi jie he za zhi Zhongguo Zhongxiyi jiehe zazhi= Chinese J Integrated Traditional Western Med 2011;31(10):1373-8.
- 22- Chytilová M, Mudroňová D, Nemcová R, Gancarčíková S, Buleca V, Koščová J, Tkáčiková E. *Anti-inflammatory and immunoregulatory effects of flax-seed oil and Lactobacillus plantarum–BiocenoL™ LP96 in gnotobiotic pigs challenged with enterotoxigenic Escherichia coli*. Res In Vet Sci 2013; 95(1):103-9.
- 23- Chytilová M, Nemcová R, Gancarčíková S, Mudroňová D, Tkáčiková E. *Flax-seed oil and Lactobacillus plantarum supplementation modulate TLR and NF-κB gene expression in enterotoxigenic Escherichia coli challenged gnotobiotic pigs*. Acta Veterinaria Hung 2014; 62(4):463-72.
- 24- Green AG. *Genetic control of polyunsaturated fatty acid biosynthesis in flax (Linum usitatissimum) seed oil*. TAG Theoretical and Applied Genetics 1986; 72(5): 654-61.
- 25- Tanna IR, Aghera HB, Ashok BK, Chandola HM. *Protective role of Ashwagandharishta and flax seed oil against maximal electroshock induced seizures in albino rats*. Ayu 2012; 33(1):114-18.
- 26- Tülüce Y, Özkol H, Koyuncu İ. *Photoprotective effect of flax seed oil (Linum*

- usitatissimum L.) against ultraviolet C-induced apoptosis and oxidative stress in rats. Toxicology Industrial Health 2012; 28(2): 99-107.*
- 27- Williams D, Verghese M, Walker LT, Boateng J, Shackelford L, Chawan CB. *Flax seed oil and flax seed meal reduce the formation of aberrant crypt foci (ACF) in azoxymethane-induced colon cancer in Fisher 344 male rats. Food Chem Toxicol 2007; 45(1):153-9.*
- 28- Jhala AJ, Hall LM. *Flax (Linum usitatissimum L.): current uses and future applications. Aust. J. Basic Appl Sci 2010; 4(9): 4304-12.*
- 29- Vahidi N, Ahmadifar M, Kalhor N, Gholambabaeian MM. *Evaluation of Methanolic Extract of Peganum harmala on Pituitary-Thyroid Hormones and Histopathological Effect on Female Rats. JSSU 2015; 23(3):1987-93.*
- 30- Palla AH, Khan NA, Bashir S, Iqbal J, Gilani AH. *Pharmacological basis for the medicinal use of Linum usitatissimum (Flaxseed) in infectious and non-infectious diarrhea. J Ethnopharmacology 2015; 160: 61-8.*
- 31- Baniasad A, Khajavirad A, Hosseini M, Shafei MN, Aminzadah S, Ghavi M. *Effect of hydroalcoholic extract of Rosa damascena on cardiovascular responses in normotensive rat. Avicenna J Phytomedicine 2015; 5(4): 319-24.*
- 32- Dolati K, Rakhshandeh H, Shafei MN. *Antidepressant-like effect of aqueous extract from Rosa damascena in mice. Avicenna J Phytomed 2011; 1(2): 91-7.[Persian]*
- 33- Akbari M, Kazerani HR, Kamrani A, Mohri M. *A preliminary study on some potential toxic effects of Rosa damascena Mill. Iranian J Veterinary Res 2013; 14(3): 232-6. [Persian]*
- 34- Rath BP, Pradhan D. *Antidepressant activity of linum usitatissimum extract. International J Pharmacognostic Phytochemical Res 2012; 1(2):29-32.*
- 35- Fossati P, Prencipe L. *The determination of triglyceride using enzymatic methods. Clin Chem 1982; 28(10): 2077-80.*
- 36- Richmond W. *Qualitative determination of cholesterol in serum or plasma by enzymatic method. Clin Chem 1973; 19:1350.*
- 37- Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. *Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. Clin Chem 1972; 18(6): 499-502.*
- 38- Hashempour Z, Hosseini E. *The Effect of Hydroalcoholic Vac Extract on Pituitary-Thyroid Axis Function in Adult Male Rats. JBUMS 2016; 18(7):41-7. [Persian]*
- 39- Panda S, Kar A. *Withania somnifera and Bauhiniapurpurea in the regulation of circulating thyroid hormone concentrations in female mice. J Ethnopharmacology 1999; 67(2):233-9.*
- 40- Jafari Dn, Asgary S, Madani H, Naderi Ga, Mahzouni P. *Effect of hydroalcoholic extract of*

Glycyrrhiza glabra L. on atherosclerotic plaque in hypercholesterolemic rabbits. [Persian]

41- Liu CT, Wong PL, Lii CK, Hse H, Sheen LY.

Antidiabetic effect of garlic oil but not diallyl disulfide in rats with streptozotocin-induced diabetes. Food Chem Toxicology 2006; 44(8):1377-84.

42- Bok SH, Lee SH, Park YB, Bae KH, Son KH, Jeong TS, et al.

Plasma and hepatic cholesterol and hepatic activities of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase and acyl CoA: cholesterol transferase are lower in rats fed

citrus peel extract or a mixture of citrus bioflavonoids. J Nutr 1999; 129(6):1182-5.

43- Dávalos A, Fernández-Hernando C, Cerrato F, Martínez-Botas J, Gómez-Coronado D, Gómez-Cordovés C, et al.

Red grape juice polyphenols alter cholesterol homeostasis and increase LDL-receptor activity in human cells in vitro. J Nutr 2006; 136(7):1766-73.

44- Lampe JW. *Health effects of vegetables and fruit: assessing mechanisms of action in human experimental studies.* American J Clin Nut 1999;

70(3): 475s-90s.

A comparative study on the effects of *Linum usitatissimum* and *Rosa domascena* hydro-alcoholic extracts on body weight, thyroid hormones, and lipids profiles in rats

Amir Adibi¹, Ameneh Khoshvaghti^{*2}

Original Article

Introduction: Thyroid gland has a major function in the metabolism. Overweight lead to cardiovascular diseases. *Linum usitatissimum* and *Rosa domascena* are used in traditional medicine for weight loss. This study was done for find the mechanism of these plants; also compare their effects on weight, thyroid hormones, and lipids profile in rats.

Methods: 36 Wistar male rats were studied (control and 5 experimental groups) for 28 days. One day after the last intraperitoneally injection, rats were weighted, blood sampling was done and sera were separated. Lipids and thyroid hormones were assayed by biochemistry and Immunoassay methods, respectively. Data were analyzed at $P < 0.5$ level, by ANOVA, one way and t test via SPSS Inc., Chicago, IL; version 18.

Results: Increases in T3 hormone in all groups (except the group receiving *Rosa domascena* at a dose of mg/kg500) and decreases in TSH in all groups compared to the control group were observed ($P \leq 0.05$). Weight loss was shown in all studied rats (group1 $P = 0.03$, group2 $P = 0.042$, groups3, 4, 5 $P = 0.000$). In all groups, the levels of triglyceride decreased (groups 1, 2, 3, 4, 5 $P = 0.034, 0.05, 0.03, 0.02, 0.03$). There were increase in the HDL and decrease in the VLDL in groups receiving high dose of *Linum usitatissimum* and *Rosa domascena*, as well as the group receiving these two extracts simultaneously, in comparison with the control group ($P \leq 0.05$). LDL level, in group 5, was lower compared to the control group ($P \leq 0.05$).

Conclusion: *Rosa domascena* and *Linum usitatissimum* increase T3 and decrease TSH, these lead to reduction in lipid index and ultimately a loss in weight. The effect of *Rosa domascena* is more significant than *Linum usitatissimum*.

Keywords: *Linum usitatissimum*, lipids index, *Rosa domascena*, Thyroid hormones, Body weight

Citation: Adibi A, Khoshvaghti A. A comparative study on the effects of *Linum usitatissimum* and *Rosa domascena* hydro-alcoholic extracts on body weight, thyroid hormones, and lipids profiles in rats. J Shahid Sadoughi Uni Med Sci 2019; 27(2): 1290-1301.

¹Department of Clinical Science, Faculty of Veterinary Medicine, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran

²Faculty of Veterinary Medicine, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran

*Corresponding author: Tel: 09177025464, email: khoshvaghti2004@yahoo.com .