

مقایسه اثر داروی گیاهی لیپوهرب با متفورمین بر پارامترهای متابولیک و هورمون‌های جنسی موش‌های صحرایی مبتلا به سندرم تخمدان پلی کیستیک

فاطمه توکلی^۱، آزاده امامی^۲، بهروز حیدری^۳، محسن عباسی موصولو^۱، محمد ابراهیم رضوانی^{۴*}

مقاله پژوهشی

مقدمه: مطالعه حاضر با هدف مقایسه اثر لیپوهرب با متفورمین بر تغییرات متابولیک و هورمون‌های جنسی موش‌های صحرایی مبتلا به سندرم تخمدان پلی کیستیک (PCOS) انجام شد.

روش بررسی: ۳۰ موش صحرایی ماده در ۵ گروه قرار گرفتند. گروه (۱): در مدت ۵۶ روز نرمال سالین دریافت کردند، گروه (۲): به مدت ۲۸ روز لتروزول (دوز ۱ mg/kg) و در ۲۸ روز بعدی نرمال سالین دریافت کردند، گروه (۳): در ۲۸ روز اول حامل لتروزول و در ۲۸ روز بعدی لیپوهرب (دوز ۳۲۰ mg/kg) دریافت کردند، گروه (۴): به مدت ۲۸ روز لتروزول (دوز ۱ mg/kg) و در ۲۸ روز بعدی لیپوهرب (دوز ۳۲۰ mg/kg) دریافت کردند، گروه (۵): به مدت ۲۸ روز لتروزول (دوز ۱ mg/kg) و در ۲۸ روز بعدی متفورمین (دوز ۲۵۰ mg/kg) دریافت کردند. در ابتدا و پایان آزمایش سطح سرمی قند ناشتا، پروفایل لیپید و هورمون‌های جنسی اندازه‌گیری شد.

نتایج: قند خون گروه لتروزول و متفورمین به صورت معنی داری کمتر از گروه دریافت‌کننده لتروزول به تنهایی بود ($P < 0/01$). میزان تری‌گلیسرید و LDL سرم در گروه لتروزول و لیپوهرب به صورت معنی‌داری در مقایسه با گروه لتروزول به تنهایی کاهش یافت ($P > 0/05$). در همین گروه غلظت کلسترول تام نیز در مقایسه با دیگر گروه‌ها، به صورت معناداری کاهش یافت ($P > 0/01$). سطح سرمی استروژن در گروه دریافت‌کننده لیپوهرب در مقایسه با گروه لتروزول به تنهایی به صورت معناداری کمتر شد ($P < 0/05$).

نتیجه‌گیری: برپایه نتایج این مطالعه، لیپوهرب توانایی بیشتری برای اصلاح علائم متابولیک موش‌های مبتلا به PCOS داشته است. هر چند اثرات هورمونی لیپوهرب تفاوت معنی‌داری با اثرات هورمونی متفورمین در این سندرم نداشته است.

واژه‌های کلیدی: سندرم تخمدان پلی کیستیک، لتروزول، لیپوهرب، متفورمین

ارجاع: توکلی فاطمه، امامی آزاده، حیدری بهروز، عباسی موصولو محسن، رضوانی محمد ابراهیم. مقایسه اثر داروی گیاهی لیپوهرب با متفورمین بر پارامترهای متابولیک و هورمون‌های جنسی موش‌های صحرایی مبتلا به سندرم تخمدان پلی کیستیک. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد ۱۴۰۱؛ ۳۰ (۱۲): ۴۳-۶۲۳۲.

۱- گروه فارماکولوژی و سم‌شناسی دانشکده داروسازی و مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران.

۲- گروه فارماسیوتیکس دانشکده داروسازی و مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران.

۳- گروه داروسازی بالینی، دانشکده داروسازی و مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران.

۴- گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران.

* (نویسنده مسئول): تلفن: ۰۹۱۳۱۵۶۶۲۹۵، پست الکترونیکی: erezvani@yahoo.com، صندوق پستی: ۸۹۱۵۱۷۳۱۴۹

Cynara، شنبلیله (*Trigonella foenum-graecum*) و زرشک (*Berberis vulgaris*) دارای اثرات فارماکولوژیکی متعدد از جمله اثر بر پارامترهای متابولیک و هورمونی در بدن می‌باشند. مطالعات متعدد به اثبات رسانده است که ترکیبات امگا-۳ موجود در روغن تخم خرفه اثر بسیار بارزی در پائین آوردن تری‌گلیسرید و چربی خون داشته است و این ترکیبات هم‌اکنون در سطح گسترده‌ای به تنهایی یا همراه با مواد دیگر جهت کاهش چربی و کلسترول خون تجویز می‌گردند (۸). مواد موثره موجود در شوید شامل فلاونوئید، فورانوکومارین، مواد معدنی از قبیل کلسیم، پتاسیم، منیزیم و فسفر، ویتامین آ و نیاسین می‌باشد (۹). این گیاه دارای اثرات قوی در کاهش کلسترول خون احتمالاً از طریق مهار فعالیت آنزیم HMG-CO reductase است که نقش اصلی در بیوسنتز کلسترول دارد و مطالعات تجربی متعدد بر روی حیوانات آزمایشگاهی و مطالعات بالینی، اثر بسیار مطلوب شوید بر فراکسیون‌های مختلف چربی خون مانند HDL و LDL را تایید نموده است (۱۰). ترکیبات موجود در برگ‌های کنگر فرنگی، سینارین و کلروژنیک اسید، موجب وقفه بیوسنتز کلسترول و کم شدن لیپوپروتئین‌های خون می‌گردند (۱۱). پژوهشی نشان داده است که ترکیبات موجود در شنبلیله با افزایش بیان ژن گیرنده LDL می‌توانند باعث کاهش کلسترول خون شوند (۱۲). ترکیبات موجود در میوه زرشک موجب ازدیاد ترشح صفرا شده دفع کلسترول را تشدید می‌نمایند (۱۳). با توجه به آنچه گفته شد انتظار می‌رود که لیپوهرب که ترکیبی از گیاهان گفته شده است موجب کاهش LDL و تری‌گلیسریدهای خون شده و HDL را افزایش دهد و اثرات آنتی‌اکسیدانی مطلوبی داشته باشد. بنابراین مطالعه حاضر با هدف مقایسه اثر لیپوهرب با متفورمین بر تغییرات متابولیک و هورمونی موش‌های صحرایی مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک (PCOS) انجام شده است.

روش بررسی

حیوانات و گروه‌ها

نوع مطالعه، تجربی و از نوع آزمایشگاهی است. تعداد ۳۰ سر موش صحرایی ماده بالغ نژاد ویستار با وزن حدود 200 ± 20 گرم از خانه حیوانات پژوهشکده علوم تولیدمثل دانشگاه علوم

سندرم تخمدان پلی‌کیستیک (PCOS) یکی از شایع‌ترین بیماری‌های اندوکرین زنان در سنین باروری است که منجر به عدم تخمک‌گذاری، قاعدگی‌های نامرتب و حتی ناباروری همراه با علائم هیپرآندروژنیسم مثل آکنه و پرمویی می‌گردد (۱). شیوع این سندرم از ۴ تا ۲۶ درصد در جمعیت جهان متفاوت است و در ایران نیز ۱۴/۸ تا ۱۵/۲ درصد گزارش شده است (۲). از جمله فاکتورهایی که با PCOS در ارتباط بوده و از عوامل زمینه‌ساز و تشدیدکننده آن می‌باشند، می‌توان مقاومت به انسولین، دیابت نوع ۲، هیپرهموسیستینمی و بیماری‌های قلبی-عروقی را نام برد (۳). اتیولوژی دقیق PCOS مشخص نیست. تحقیقات انجام شده نشان داده است که در PCOS تعدادی از اختلالات هورمونی-متابولیکی باعث تقویت و تشدید همدیگر می‌گردند. این اختلالات شامل نقص در عملکرد هیپوتالاموس-هیپوفیز، عملکرد تخمدان و عملکرد آدرنال است. در واقع PCOS با ترشحات غیرعادی گنادوتروپین‌های LH و FSH، افزایش ترشح استروئیدهای تخمدان و همچنین مقاومت به انسولین همراه است (۴). مبتلایان به PCOS عموماً دارای تخمدان‌های بزرگ با استرومای هایپرتروفیک می‌باشند. این افراد به علت اختلال در روند رشد و نمو و آترزی فولیکول‌ها، علی‌رغم دارا بودن تعداد زیاد فولیکول، فاقد تخمک‌گذاری و یا دارای تخمک‌گذاری نامنظم هستند (۵). به نظر می‌رسد که کاهش استرس اکسیداتیو با تجویز آنتی‌اکسیدان‌ها می‌تواند سبب کاهش آثار زیان‌بار رادیکال‌های آزاد اکسیژن و در نتیجه افزایش تعداد و کیفیت تخمک در این افراد شود. عده‌ای بر این باورند که تمرکز درمان در این بیماری می‌بایست بر روی افزایش آنتی‌اکسیدان‌ها باشد (۶). از درمان‌های رایج این بیماری استفاده از داروهای شیمیایی مانند کلومیفن سترات، لتروزول و متفورمین می‌باشد (۷). با توجه به وجود ترکیبات فعال زیستی گوناگون، گیاهان به عنوان منبع بالقوه‌ای برای ساخت ترکیبات دارویی جهت استفاده در پیشگیری و درمان بیماری‌ها معرفی شده‌اند. کپسول لیپوهرب شامل عصاره خشک پنج گیاه خرفه (*Portulaca oleracea*)، شوید (*Anethum graveolens*)، کنگر فرنگی (*scolymus*)

روش القای سندرم تخمدان پلی کیستیک: جهت القا سندرم تخمدان پلی کیستیک از لتروزول به میزان ۱ mg/kg استفاده شد. موش‌ها به مدت ۲۸ روز لتروزول را به صورت خوراکی با لوله گاواژ دریافت کردند. القای سندرم تخمدان پلی کیستیک در ۶ موش جدا از گروه‌بندی‌های مورد مطالعه بررسی شد. برای اطمینان از القای PCOS، بافت تخمدان جدا شده و پس از مقطع‌گیری و رنگ‌آمیزی در زیر میکروسکوپ نوری کیست‌های تخمدانی مشاهده شد (شکل ۲). بعد از آن موش‌های مبتلا به سندرم پلی کیستیک در گروه‌های ۲، ۴ و ۵، به ترتیب نرمال‌سالین (به عنوان حامل)، لیپوهرب با دوز ۳۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و متفورمین با دوز ۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دریافت نمودند.

خونگیری و اندازه‌گیری غلظت پارامترهای مورد مطالعه: خونگیری و اندازه‌گیری پارامترهای بیوشیمیایی و هورمون‌های جنسی در ابتدا و قبل از شروع کار و نیز در پایان دوره ۵۶ روزه آزمایش انجام شد. حیوانات با استفاده از مخلوط ۱ به ۱۰ اکتامین-زیالازین بیهوش شدند و ۳ میلی‌لیتر خون از قلب آن‌ها کشیده شد. خون گرفته شده با دقت به لوله آزمایش منتقل شد تا از لیز گلبول‌ها جلوگیری شود. نمونه‌های خونی در دمای اتاق به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شدند. پس از جداسازی سرم، غلظت سرمی قند خون ناشتا، توتال کلسترول، HDL و LDL به روش اسپکتروفتومتری و هورمون‌های پروژسترون، استروژن، تستوسترون و DHEA به روش الیزا و با استفاده از کیت‌های تجاری Zellbio اندازه‌گیری شد.

تجزیه و تحلیل آماری

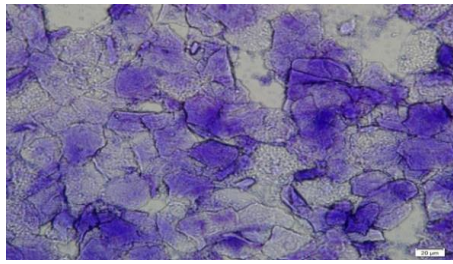
نتایج با استفاده از نرم‌افزار SPSS version 16 و به کمک آنالیز واریانس یک طرفه با هم مقایسه شدند و از آزمون LSD برای مقایسه جفت گروه‌ها استفاده شد. برای مقایسه در داخل هر گروه از آزمون تی زوجی استفاده شد. جهت بررسی نتایج $P \leq 0.05$ به عنوان معنی‌دار بودن تفاوت‌ها در نظر گرفته شد.

ملاحظات اخلاقی

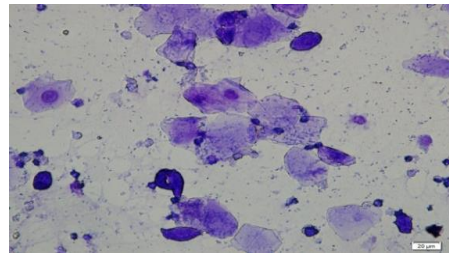
اصول اخلاقی مطابق با قوانین حمایت و نگهداری از حیوانات آزمایشگاهی رعایت گردید و IR.SSU.MEDICINE.REC.106/1397 از کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد دریافت شد.

پزشکی شهید صدوقی تهیه شد و در طول دوره آزمایش در شرایط استاندارد خانه حیوانات با دمای 23 ± 2 درجه سانتی‌گراد و دوره منظم روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعته نگهداری شدند. آب و غذا در طول مدت بررسی به اندازه کافی در اختیار حیوانات قرار گرفت. چرخه جنسی همه موش‌ها با تهیه اسمیر واژن طی ۱۴ روز تعیین شد و ۳۰ سر موش که سیکل منظم داشتند به‌طور تصادفی به پنج گروه ۶ تایی تقسیم شدند. در هر گروه موش‌ها به مدت ۸ هفته تحت درمان قرار گرفتند: گروه (۱): گروه کنترل: در مدت ۵۶ روز نرمال سالین دریافت کردند، گروه (۲): به مدت ۲۸ روز لتروزول (دوز ۱ mg/kg) دریافت کردند و در ۲۸ روز بعدی نرمال سالین دریافت کردند، گروه (۳): در ۲۸ روز اول حامل لتروزول و در ۲۸ روز بعدی لیپوهرب (دوز ۳۲۰ mg/kg) را دریافت کردند. گروه (۴): به مدت ۲۸ روز لتروزول (دوز ۱ mg/kg) و در ۲۸ روز بعدی لیپوهرب (دوز ۳۲۰ mg/kg) را دریافت کردند. گروه (۵): به مدت ۲۸ روز لتروزول (دوز ۱ mg/kg) و در ۲۸ روز بعدی متفورمین (دوز ۲۵۰ mg/kg) دریافت کردند. همه تجویزها به صورت خوراکی و با لوله گاواژ انجام شد. وزن تمام موش‌ها در شروع آزمایش و در پایان دوره آزمایش با استفاده از ترازوی دیجیتالی اندازه‌گیری و ثبت شد.

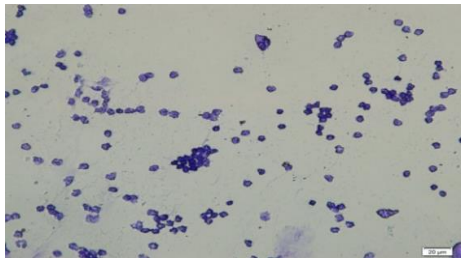
تعیین چرخه جنسی موش‌های صحرائی: حیوانات در ابتدای کار و قبل از انجام خونگیری از نظر نظم مراحل چرخه جنسی (هم سیکل نمودن موش‌های صحرائی) مورد ارزیابی قرار گرفتند. مراحل چرخه جنسی از طریق نمونه‌گیری ترشحات واژن، تهیه اسمیر از ترشحات بر روی لام، رنگ‌آمیزی گیمسا و در نهایت مشاهده سلول‌های موجود در اسمیر در زیر میکروسکوپ نوری بررسی شد. در موش‌های صحرائی آزمایشگاهی طول دوره استروس چهار یا پنج روز و دارای چهار مرحله اصلی است، مرحله ۱: پرواستروس که در آن درلام اسمیر واژینال تمام سلول‌های پوششی هسته‌دار دیده می‌شوند. مرحله ۲: استروس، سلول‌ها به شکل سلول‌های شاخی هستند. مرحله ۳: مت استروس، سلول‌های شاخی به همراه تعداد کمی گلبول‌های سفید در لام اسمیر واژینال دیده می‌شوند و در نهایت مرحله دی استروس، که بیشتر گلبول‌های سفید به همراه دو یا چند سلول شاخی درلام اسمیر واژینال دیده می‌شوند (شکل ۱).



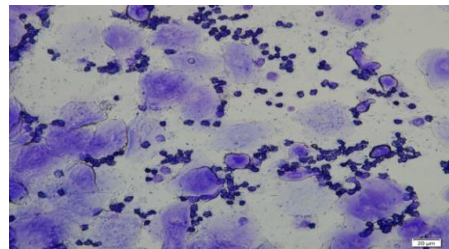
استروس



پرواستروس

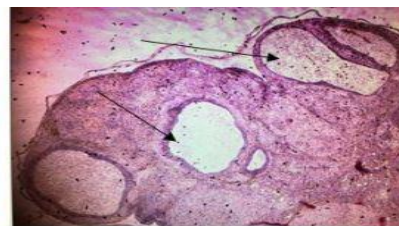
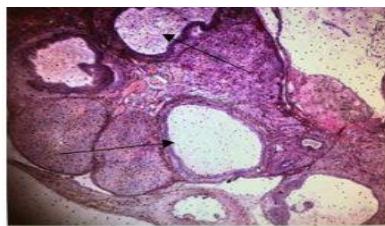


دی استروس



مت استروس

شکل ۱: مراحل مختلف چرخه جنسی در موش صحرایی ماده؛ در موش صحرایی آزمایشگاهی دوره استروس ۴ یا ۵ روز بوده و دارای چهار مرحله اصلی پرواستروس (Proestrus)، استروس (Estrus)، مت استروس (Metestrus) و دی استروس (Diestrus) است.

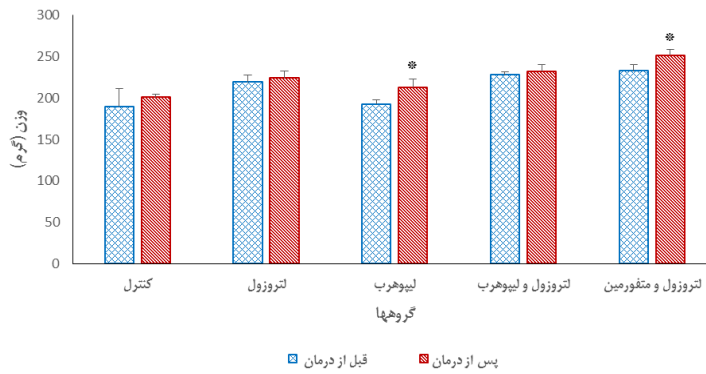


شکل ۲: نمونه بافتی تخمدان تحت القای سندرم تخمدان پلی کیستیک (کیست های ایجاد شده با علامت فلش مشخص شده است)

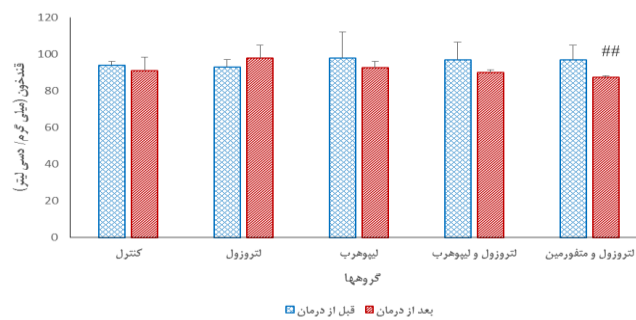
لیپوهرب به ترتیب $97/9 \pm 47$ و $90/1 \pm 15/6$ میلی گرم بر دسی لیتر بود و این کاهش غلظت بعد از درمان تفاوت معناداری را نشان نداد ($P > 0/05$). افزون بر این، میانگین غلظت قند خون قبل و بعد از درمان در گروه PCOS دریافت کننده متفورمین به ترتیب $96/8 \pm 9$ و $87/1 \pm 4$ میلی گرم بر دسی لیتر بود و در این گروه نیز اختلاف میانگین قند خون قبل و بعد از درمان تفاوت معناداری را نشان نداد ($P > 0/05$). قبل از شروع درمان هیچ تفاوت معنی داری در قند خون گروه های مختلف وجود نداشت اما در پایان آزمایش، قند خون گروه PCOS دریافت کننده متفورمین به صورت معنی داری کمتر از گروه دریافت کننده لتروزول به تنهایی (PCOS) بود ($P < 0/01$) (نمودار ۲).

نتایج

تغییرات وزن: نتایج این پارامتر نشان داد که میانگین وزن در تمامی گروه ها افزایش یافته است. در گروه دریافت کننده لیپوهرب میانگین وزن قبل و بعد از درمان به ترتیب $193/14 \pm 4/3$ و $213/11 \pm 10$ گرم بود و اختلاف معناداری را بعد از درمان نشان داده است ($P < 0/05$). در گروه PCOS دریافت کننده متفورمین میانگین وزن قبل و بعد از درمان به ترتیب $233/11 \pm 6/9$ و $252/6 \pm 14/1$ گرم بوده است که این افزایش وزن هم تفاوت معناداری را نشان داده است ($P \leq 0/05$) (نمودار ۱). در بقیه گروه ها افزایش معنی داری در وزن موش ها پس از ۵۶ روز درمان مشاهده نشد. تغییرات قند خون: نتایج نشان داد که میانگین غلظت قند خون قبل و بعد از درمان در گروه PCOS دریافت کننده



نمودار ۱: مقایسه میانگین وزن قبل و بعد از درمان (تجویز دارو) در هر گروه مورد مطالعه (میانگین‌های دارای تفاوت معنی‌دار با * مشخص شده‌اند ($P < 0.05$)).



نمودار ۲: مقایسه میانگین غلظت قند خون قبل و بعد از درمان (تجویز دارو) در هر گروه مورد مطالعه (میانگین‌های دارای تفاوت معنی‌دار با * مشخص شده‌اند ($P < 0.05$)). مقایسه میانگین غلظت قند خون در گروه‌های مختلف در پایان آزمایش ($P < 0.01$ ### تفاوت معنی‌دار با گروه لتروزول به تنهایی).

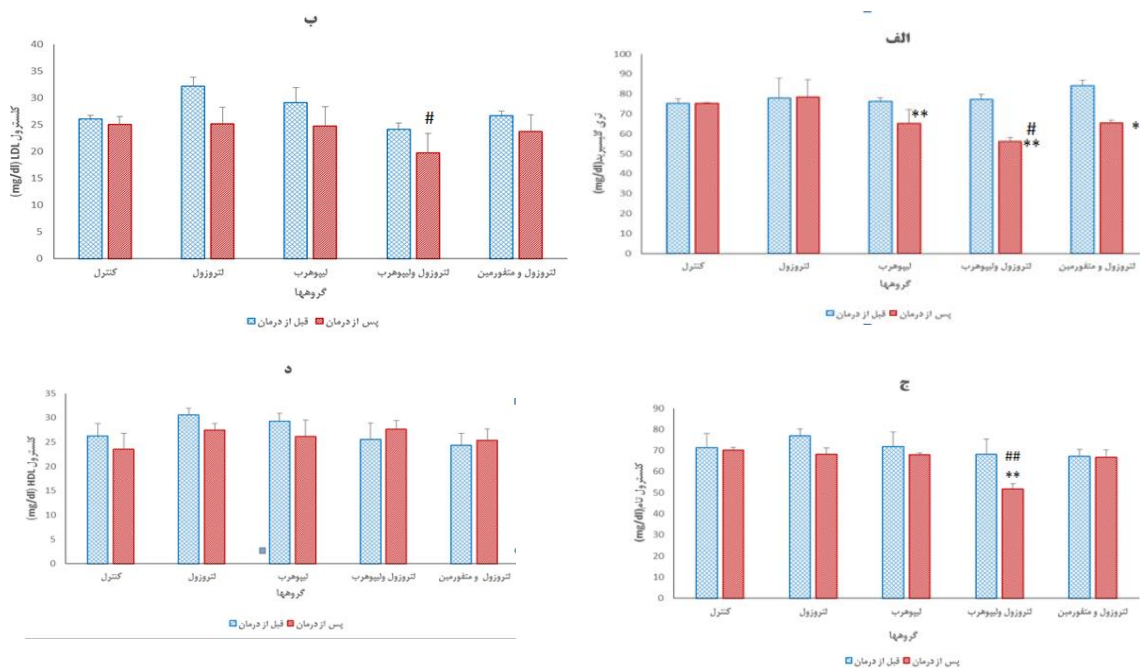
غلظت کلسترول تام در گروه‌های مورد مطالعه بعد از درمان نشان داد که در گروه لتروزول + لیپوهرب در مقایسه با دیگر گروه‌ها، میانگین غلظت کلسترول تام به صورت معناداری کاهش یافته است ($P > 0.01$). در مقایسه درون‌گروهی نیز تنها در گروه لتروزول + لیپوهرب کاهش معنی‌دار در میانگین غلظت کلسترول تام موش‌ها در پایان دوره آزمایش مشاهده شد ($P > 0.01$) (نمودار ۳-ج). در مقایسه درون‌گروهی قبل و پس از دوره درمان و نیز مقایسه بین گروه‌ها در پایان دوره درمان، هیچ اختلاف معناداری در میانگین غلظت HDL سرم در گروه‌های مختلف مشاهده نشد (نمودار ۳-د).

تغییرات هورمون‌های جنسی: نتایج حاصل از بررسی سطح سرمی استروژن با توجه به نمودار ۴-الف، نشان می‌دهد که در گروه دریافت‌کننده لیپوهرب سطح سرمی این هورمون بعد از درمان در مقایسه با قبل از شروع درمان به طور معنی‌دار کاهش داشته است ($P < 0.05$) و نیز در مقایسه بین گروه‌ها در پایان دوره درمان، سطح سرمی استروژن در گروه دریافت‌کننده

تغییرات پروفایل لیپید: قبل از شروع درمان تفاوت معنی‌داری بین غلظت تری‌گلیسرید سرم در گروه‌های مختلف وجود نداشت اما در پایان دوره آزمایش، میزان تری‌گلیسرید سرم در گروهی که پس از القا PCOS با استفاده از لتروزول، لیپوهرب را دریافت کرده بود به صورت معنی‌داری در مقایسه با گروه لتروزول به تنهایی کاهش یافت ($P > 0.05$). در مقایسه درون‌گروه‌ها، غلظت تری‌گلیسرید در گروه‌های لیپوهرب، لتروزول + لیپوهرب و لتروزول + متفورمین پس از آزمایش در مقایسه با پیش از آزمایش به صورت معنی‌داری کاهش یافت ($P > 0.01$) (نمودار ۲-الف). مقایسه میانگین غلظت کلسترول LDL سرم در میان گروه‌های مختلف در پایان دوره درمان نشان داد که این پارامتر در گروه دریافت‌کننده لتروزول و لیپوهرب در مقایسه با گروهی که تنها لتروزول دریافت کردند به صورت معناداری کاهش یافت ($P > 0.05$)، اما در مقایسه درون‌گروهی، تفاوت معنی‌داری در میزان کلسترول LDL سرم قبل و پس از آزمایش در هیچ گروهی مشاهده نشد (نمودار ۳-ب). بررسی میانگین

مقایسه سطح تستوسترون خون بین گروه‌های مختلف در پایان آزمایش نشان داد که در گروه دریافت‌کننده لترزول به تنهایی (گروه PCOS بدون درمان) سطح این هورمون از همه گروه‌ها بیشتر است و این تفاوت از نظر آماری کاملاً معنی‌دار است ($P < 0/01$) (نمودار ۴-ج). مانند هورمون پروژسترون، مقایسه سطح سرمی DHEA درون گروه‌های مختلف قبل و پس از درمان و نیز بین گروه‌های مختلف در پایان درمان هیچ تفاوت معنی‌داری را نشان نداد (نمودار ۴-د).

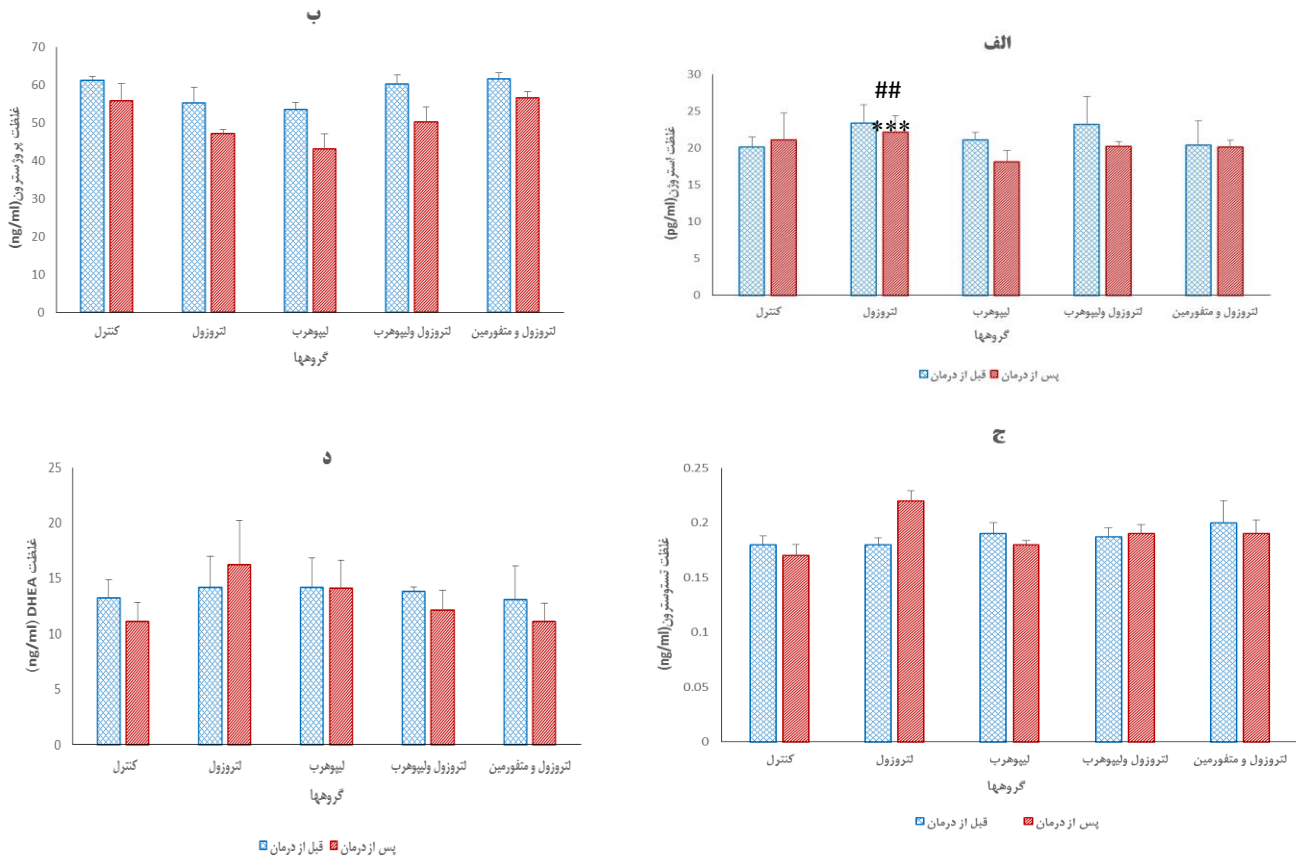
لیپوهرت در مقایسه با گروه لترزول به تنهایی به صورت معناداری کمتر است ($P < 0/05$). مقایسه سطح سرمی پروژسترون درون گروه‌های مختلف قبل و پس از درمان و نیز بین گروه‌های مختلف در پایان درمان هیچ تفاوت معنی‌داری را نشان نداد (نمودار ۴-ب). در مقایسه درون گروهی سطح هورمون تستوسترون در تمام گروه‌ها قبل و پس از دوره درمان تفاوت معنی‌داری نداشت بجز گروه دریافت‌کننده لترزول به تنهایی که افزایش میزان تستوسترون در پایان دوره در مقایسه با قبل از شروع آزمایش کاملاً معنی‌دار بود ($P < 0/001$).



نمودار ۳: الف. مقایسه میانگین غلظت تری‌گلیسرید سرم، ب. مقایسه میانگین غلظت کلسترول LDL سرم، ج. مقایسه میانگین غلظت کلسترول تام سرم، د. مقایسه میانگین غلظت کلسترول HDL سرم. مقایسه به صورت درون گروهی قبل و بعد از درمان (تجویز دارو) و نیز بین گروه‌های مختلف در پایان دوره درمان انجام شده است.

* نشانه تفاوت معنی‌دار میانگین‌ها در مقایسه درون گروهی و # نشانه تفاوت معنی‌دار با گروه دریافت‌کننده لترزول به تنهایی است.

##($P < 0/01$), #($P < 0/05$), *($P < 0/01$), **($P < 0/05$)



نمودار ۴: الف. مقایسه میانگین غلظت هورمون استروژن در سرم، ب. مقایسه میانگین غلظت هورمون پروژسترون در سرم، ج. مقایسه میانگین غلظت هورمون تستوسترون در سرم، د. مقایسه میانگین غلظت DHEA در سرم. مقایسه به صورت درون گروهی قبل و بعد از درمان (تجویز دارو) و نیز بین گروههای مختلف در پایان دوره درمان انجام شده است. * نشانه تفاوت معنی دار میانگینها در مقایسه درون گروهی و # نشانه تفاوت معنی دار بین گروههای مختلف است. در نمودار الف غلظت استروژن در گروه دریافتکننده لیپوهرب به صورت معنی داری کمتر از گروه دریافتکننده لتروزول است. در نمودار ج غلظت تستوسترون در گروه دریافتکننده لتروزول به صورت معنی داری از همه گروههای دیگر بیشتر است. ($P < 0.05$), ($P < 0.001$), ($P < 0.05$), ($P < 0.01$), ($P < 0.001$).

که ترکیب ۵ گیاه خرفه، شوید، کنگر فرنگی، شنبلیله و زرشک در مقایسه با متفورمین، توانایی بیشتری برای اصلاح علائم متابولیک به ویژه پروفایل لیپیدی موشهای مبتلا به PCOS داشته است. هرچند توانایی متفورمین برای کاهش قند خون بیشتر از لیپوهرب (ترکیب گیاهان گفته شده) بوده است. در عین حال براساس نتایج به دست آمده به نظر می رسد که اثرات هورمونی لیپوهرب تفاوت معنی داری با اثرات هورمونی متفورمین در سندرم تخمدان پلی کیستیک نداشته است. خرفه توسط WHO به عنوان یکی از پرکاربردترین گیاهان طبی نام برده شده است (۸). در تحقیقات قبلی نشان داده شده است که عصاره گیاه خرفه می تواند از ایجاد التهاب عروقی توسط دیابت جلوگیری کند و قند خون را کاهش دهد (۱۶-۱۴). گیاه خرفه دارای مواد بیولوژیکی فعالی مانند نورآدرنالین است که در آزادسازی

بحث

استفاده از گیاهان دارویی در کناریا به عنوان جایگزینی برای داروهای شیمیایی و سنتزی همواره مطرح بوده است. مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر داروی گیاهی لیپوهرب، که حاوی پنج گیاه خرفه، شوید، کنگر فرنگی، شنبلیله و زرشک است، بر تغییرات متابولیک و هورمونی موشهای صحرایی مبتلا به سندرم تخمدان پلی کیستیک و مقایسه آن با اثرات متفورمین که یک درمان استاندارد و رایج برای PCOS است، انجام شد. تغییرات وزن، سطح قند خون ناشتا (FBS) و پروفایل لیپید شامل کلسترول و تری گلیسرید، لیپوپروتئین با دانسیته زیاد (HDL) و لیپوپروتئین با دانسیته کم (LDL) و نیز غلظت هورمونهای جنسی شامل استروژن، پروژسترون، تستوسترون و DHEA در سرم اندازه گیری شد. یافته های این مطالعه نشان داد

مطالعات قبلی به بررسی اثر بربرین به عنوان یکی از مواد موثره زرشک در بیماران مبتلا به PCOS پرداختند و نشان داده شده است که بربرین می‌تواند همانند متفورمین میزان مقاومت به انسولین را کاهش بخشد (۲۷). بعضی از مطالعات نیز به بررسی اثر بربرین در زنان مبتلا به PCOS پرداخته‌اند (۲۸). به عنوان مثال در یک مطالعه کوهورت با مشارکت ۱۵۰ زن نابارور مبتلا به PCOS اثر متفورمین، بربرین و پلاسبو با یکدیگر مقایسه شد و مشاهده شد که میزان تستوسترون، قند خون ناشتا، انسولین ناشتا، میزان اندروژن آزاد در گروه بربرین کاهش یافته به طوری که این اثرات با متفورمین یکسان بوده است (۲۹). اشرف و همکاران در مطالعه‌ای به این نتیجه رسیدند که عصاره زرشک در افزایش سطح هورمون تستوسترون و کاهش سطح هورمون استروژن تاثیر دارد (۳۰). نتایج مطالعه حاضر نیز نشان داد که در گروه دریافت‌کننده لیپوهرب سطح سرمی استروژن بعد از درمان به طور معنی‌دار کاهش داشته است ($P < 0.05$). گیاه شوید گیاهی علفی و معطر است که از جمله اجزای اصلی آن کاروون، فلاندرن، لیمونن و تانن می‌باشد (۳۱). شوید نیز به عنوان یکی از اجزای ترکیب گیاهان می‌تواند در بهبود شرایط بیماران PCOS موثر باشد. این فرضیه از مطالعه‌ای توسط منصفی و همکاران در سال ۲۰۰۶ به دست آمد که از عصاره شوید در درمان موش‌ها با سیکل‌های استروس نامنظم استفاده شد و نشان داده شد که شوید می‌تواند مدت زمان سیکل استروس و فاز دیستروس را در موش‌ها به شکل چشم‌گیری افزایش دهد. استفاده از شوید می‌تواند با تاثیر بر فاز لوتئال و افزایش فعالیت و بقای کورپوس لوتئوم باعث افزایش مدت زمان فاز لوتئال شود و می‌توان از آن در درمان نامنظمی سیکل قاعدگی استفاده نمود (۳۲). یکی دیگر از اجزای ترکیب گیاهان، عصاره گیاه شنبلیله می‌باشد. در مطالعات قبلی اثرات ضد دیابتی این گیاه در مدل‌های آزمایشگاهی نشان داده شده است (۳۳). Hannan و همکاران در مطالعه‌ای به این نتیجه رسیدند که عصاره شنبلیله باعث افزایش کلسترول HDL و کاهش کلسترول LDL و تام و تری‌گلیسیرید در موش‌های دیابتی نوع دو می‌شود (۳۴). نتایج یافت شده در مطالعه حاضر نیز هم‌راستا با مطالعات قبلی است. با در نظر

GnRH موثر و در نهایت در تنظیم غلظت FSH نقش دارند (۱۷، ۱۸). در مطالعات به این نتیجه رسیده‌اند که فیتواستروژن‌ها مانند فلاونوئیدها و کومارین‌ها باعث کاهش آندروژن‌ها و در نهایت کاهش سطح استروژن می‌شوند. هم‌چنین کومارین‌های موجود در گیاه خرفه فعالیت ضد آروماتازی از خود نشان می‌دهند که می‌توانند باعث کاهش سطح استروژن شوند (۱۹-۲۱). نتایج مطالعه ما هم با مطالعات قبلی هم‌راستا است و لیپوهرب در مقایسه با سایر گروه‌ها در کاهش معنی‌دار سطح استروژن موثر بوده است. کنگرفرنگی از خانواده کاسنی است و از قدیمی‌ترین گیاهان دارویی جهان است. این گیاه بومی جنوب اروپا، مدیترانه، شمال آفریقا و جزایر قناری است. در ایران در بعضی مناطق کشور از جمله قزوین، اندیمشک به صورت محدود کشت داده می‌شود. در بیماری‌هایی مانند دیابت شیرین، چاقی متابولیک، کهیر، آسم، سنگ کلیه، تصلب شرائین، روماتیسم و بیماری‌های پوست نظیر اگزما و التهاب مفید است. در مطالعه Fritsche و Beindorff نشان داده شده که سینارین، کلروژنیک اسید، لوتئلین و فرم گلیکوزید آن و سیناروزید عمده‌ترین ترکیب‌های فعال بیولوژیک موجود در کنگرفرنگی هستند که فعالیت آنتی‌اکسیدانی دارند (۲۲). تحقیقات نشان داده است که کنگرفرنگی به دلیل دارا بودن کلروژنیک اسید در کاهش قند خون تاثیر دارد (۱۱). در مطالعه حاضر نیز نتایج بررسی غلظت قند خون نشان داد که میانگین غلظت قند خون قبل و بعد از درمان در گروه PCOS دریافت‌کننده لیپوهرب به ترتیب $97/12 \pm 9/4$ و $90/15 \pm 1/6$ میلی‌گرم در دسی لیتر بود. Shimoda و همکاران به این نتیجه رسیدند که عصاره برگ کنگرفرنگی سطح تری‌گلیسیرید را کاهش می‌دهد (۲۳). که با نتایج مطالعه حاضر همخوانی دارد. هم‌چنین در مطالعات مختلف اثرات مفید کنگرفرنگی شامل اثرات ضد دیابت، ضد چاقی، ضد التهاب، ضد کلسترول خون، محافظ کبد، و ضد سرطان آن اثبات شده است (۲۴، ۲۵). از دیگر اجزای ترکیب گیاهان می‌توان به عصاره زرشک اشاره نمود. زرشک یکی از گیاهانی است که تاریخچه‌ای طولانی در طب سنتی دارد و در درمان تب‌های عفونی، تیفوس و اسهال مورد استفاده قرار می‌گرفته است (۲۶).

و زرشک است، توانایی بیشتری برای اصلاح علائم متابولیک موش‌های مبتلا به PCOS داشته است. هرچند اثرات هورمونی لیپوهرب تفاوت معنی‌داری با اثرات هورمونی متفورمین در سندرم تخمدان پلی کیستیک نداشته است.

سیاسگزاری

نویسندگان مقاله، مراتب قدردانی خود را از معاونت پژوهشی و مرکز تحقیقات علوم دارویی دانشکده داروسازی علوم پزشکی شهید صدوقی یزد به واسطه تأمین هزینه و انجام این پایان‌نامه (کد ۶۶۳۳) را اعلام می‌دارند. این پایان‌نامه در سال ۱۳۹۷ در این دانشکده تصویب و در آزمایشگاه تحقیقاتی فیزیولوژی و فارماکولوژی انجام شده است هیچ‌کدام از نویسندگان این مطالعه، تعارض منافی برای انتشار این مقاله ندارند.

حامی مالی: دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
تعارض در منافع: وجود ندارد.

گرفتن یافته‌های این مطالعه و مقایسه آن با مطالعات دیگر می‌توان گفت اثر این گیاهان به صورت ترکیبی بر روی تغییرات متابولیکی و به ویژه پروفایل لیپیدی هم‌راستا با اثر هر کدام از آن‌ها به تنهایی و در جهت بهبود علائم در سندرم تخمدان پلی کیستیک است. این ترکیب گیاهی هم‌چنین توانسته است سطح تستوسترون و DHEA را در مقایسه با گروهی که تنها لتروزول دریافت کرده‌اند یعنی PCOS در آن‌ها القا شده است ولی درمانی دریافت نکرده‌اند کاهش دهد. هرچند اثرات این ترکیب گیاهی بر روی تغییرات هورمونی بر اثرات متفورمین برتری ندارد اما تفاوت معنی‌داری هم با متفورمین نداد و بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که می‌توان از ترکیب این گیاهان به جای و یا در کنار متفورمین برای درمان PCOS استفاده کرد.

نتیجه‌گیری

در نهایت می‌توان گفت که در مقایسه با متفورمین، لیپوهرب که ترکیب ۵ گیاه خرفه، شوید، کنگر فرنگی، شنبلیله

References:

- 1-Bulsara J, Patel P, Soni A, Acharya S. *A Review: Brief Insight into Polycystic Ovarian Syndrome*. *Endocr Metab Sci* 2021; 3: 1-7.
- 2-Hosseinpanah F, Barzin M, Keihani S, Ramezani Tehrani F, Azizi F. *Metabolic aspects of different phenotypes of polycystic ovary syndrome: Iranian PCOS Prevalence Study*. *Clin Endocrinol* 2014; 81(1): 93-9.
- 3- Raja-Khan N, Shuja SA, Kunselman AR, Hogeman CS, Demers LM, Gnatuk CL, et al. *Brachial artery conductance during reactive hyperemia is increased in women with polycystic ovary syndrome*. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2011; 155(1): 49-53.
- 4-Marx TL, Mehta AE. *Polycystic Ovary Syndrome: Pathogenesis and Treatment Over the Short and Long Term*. *Cleve Clin J Med* 2003; 70(1): 31-45.
- 5-Pasarica M, Tchoukalova YD, Heilbronn LK, Fang X, Albu JB, Kelley DE, et al. *Differential Effect of Weight Loss on Adipocyte Size Subfractions in Patients with Type 2 Diabetes*. *Obesity* 2009; 17: 1976-8.
- 6-Liu J, Liu M, Ye X, Liu K, Huang J, Wang L, et al. *Delay in Oocyte Aging in Mice by the Antioxidant N-Acetyl-L- Cysteine (NAC)*. *Hum Reprod* 2012; 27(5): 1411-20.
- 7- Moghetti P, Castello R, Negri C, et al. *Metformin Effects on Clinical Features, Endocrine and*

- Metabolic Profiles, and Insulin Sensitivity in Polycystic Ovary Syndrome: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled 6-Month Trial, Followed by Open, Long-Term Clinical Evaluation.* J Clin Endocrinol Metab 2000; 85(1): 139-46.
- 8- Uddin MK, Juraimi AS, Hossain MS, Nahar MA, Ali ME, Rahman MM, et al. *Purslane Weed (Portulaca Oleracea): A Prospective Plant Source of Nutrition, Omega-3 Fatty Acid, and Antioxidant Attributes.* Sci World J 2014; 1-6.
- 9- Al-Snafi AE. *The Pharmacological Importance of Anethum Graveolens. A Review.* Int J Pharm Pharm Sci 2014; 6(4): 11-13.
- 10- Yazdanparast R, Bahramikia S. *Evaluation of The Effect of Anethum Graveolens L. Crude Extracts on Serum Lipids and Lipoproteins Profiles in Hypercholesterolaemic Rats.* DARU J Pharmaceutical Sciences 2008; 2(16): 88-94.
- 11- Mohamed Abdel Magied M, Hussien SE, Mohamed Zaki SM, Mohamed EL Said R. *Artichoke (Cynara scolymus L.) Leaves and Heads Extracts as Hypoglycemic and Hypocholesterolemic in Rats.* J Food Nutr Res 2016; 4(1): 60-8.
- 12- Kassae SM, Goodarzi MT, Kassae SN. *Ameliorative Effect of Trigonella Foenum Graecum L. on Lipid Profile, Liver Histology and LDL-Receptor Gene Expression in High Cholesterol-Fed Hamsters.* Acta Endocrinol (Buchar) 2021; 17(1): 7-13.
- 13- Imanshahidi M, Hosseinzadeh H. *Pharmacological and Therapeutic Effects of Berberis Vulgaris and Its Active Constituent, Berberine.* Phytother Res 2008; 22(8): 999-1012.
- 14- Lee AS, Lee YJ, Lee SM, Yoon JJ, Kim JS, Kang DG, et al. *Portulaca Oleracea Ameliorates Diabetic Vascular Inflammation and Endothelial Dysfunction in Db/Db Mice.* Evid based Complement. Altern Med 2012; 2012: 741824.
- 15- Gong F, Li F, Zhang L, Li J, Zhang Z, Wang G. *Hypoglycemic Effects of Crude Polysaccharide from Purslane.* Int Mol Sci 2009; 10(3): 880-8.
- 16- El-Sayed M-IK. *Effects of Portulaca Oleracea L. Seeds in Treatment of Type-2 Diabetes Mellitus Patients as Adjunctive and Alternative Therapy.* J Ethnopharmacol 2011; 137(1): 643-51.
- 17- Bedakhanian M, Entezari M H, Ghanadian M, Askari G, Maracy MR. *The Effects of Portulaca Oleracea on Lipid Profile, C-Reactive Protein, and Fasting Blood Glucose in Men with Metabolic Syndrome: A Double-Blind Randomized Clinical Trial.* HSR 2017; 12(4): 478-83.
- 18- hosseini E, forozan far M, paye dar A. *Effect of Hydroalcoholic Extract of Purslane on Serum Concentration of Estrogen, Progesterone, Prolactin and Gonadotropins in Adult Female Rats.* J Shahrekord Univ Med 2014; 15(5): 1-10.
- 19- Ahangarpour A, Lamoochi Z, Moghaddam HF, Mansouri SM, et al. *Effects of Portulaca Oleracea Ethanolic Extract on Reproductive System of Aging Female Mice.* Int J Reprod BioMed 2016; 14(3): 205-12.
- 20- Shabaniyan S, Bahmani M, Asadi-Samani M. *The Medicinal Plants Effective on Female Hormones, A Review of the Native Medicinal Plants of Iran Effective on Estrogen, Progesterone, and Prolactin.* J Chem Pharm Sci 2016; 9(3): 1270-6.

- 21- Akbaribazm M, Goodarzi N, Rahimi M. *Female Infertility and Herbal Medicine: An Overview of the New Findings*. Food Sci Nutr 2021; 9: 5869-82.
- 22-Fritsche J, Beindorff CM, Dachtler M, Zhang H, Lammers J. *Isolation, Characterization and Determination of Minor Artichoke (Cynara Scolymus L.) Leaf Extract Compounds*. Eur Food Res Technol 2002; 215: 149-57.
- 23-Shimoda H, Ninomiya K, Nishida N, Yoshino T, Morikawa T, Matsuda H, et al. *Anti-Hyperlipidemic Sesquiterpenes and New Sesquiterpene Glycosides from the Leaves of Artichoke (Cynara Scolymus L.): Structure Requirement and Mode of Action*. Bioorg Med Chem Lett 2003; 13(2): 223-8.
- 24-Sharma P, Kumar Verma P, Kishore Pankaj N, Agarwal S. *The Phytochemical Ingredients and Therapeutic Potential of Cynara scolymus L.* Pharm Biomed Res 2021; 7(3): 141-60
- 25-Gebhardt R. *Inhibition of Cholesterol Biosynthesis in Primary Cultured Rat Hepatocytes by Artichoke (Cynara Scolymus L.) Extracts*. J Pharmacol Exp Ther 1998; 286(3): 1122-8.
- 26-Rahimi-Madiseh M, Lorigoini Z, Zamani-gharaghoshi H, Rafeian-kopaei M. *Berberis Vulgaris: Specifications and Traditional Uses*. Iran J Basic Med Sci 2017; 20(5): 569-87.
- 27-Li Y, Ma H, Zhang Y, Kuang H, Ng EH, Hou L, et al. *Effect of Berberine on Insulin Resistance in Women with Polycystic Ovary Syndrome: Study Protocol for a Randomized Multicenter Controlled Trial*. Trials 2013; 14: 226.
- 28-Rondanelli M, Riva A, Petrangolini G, Allegrini P, Giacosa A, Fazio T, et al. *Berberine Phospholipid is an Effective Insulin Sensitizer and Improves Metabolic and Hormonal Disorders in Women with Polycystic Ovary Syndrome: A One-Group Pretest-Post-Test Explanatory Study*. Nutrients 2021; 13(10): 3665.
- 29-An Y, Sun Z, Zhang Y, Liu B, Guan Y, Lu M. *The Use of Berberine for Women with Polycystic Ovary Syndrome Undergoing IVF Treatment*. Clin Endocrinol 2014; 80(3): 425-31.
- 30-Ashraf H, Khaneshi F, Rafei F, Nejati V. *Effect of Aqueous Extract of Zarafshan Barberry Root on Testicular Tissue and Testosterone Level in Streptozotocin - Induced Diabetic Rats*. Qom Univ Med Sci J 2013; 7(4): 28-35.
- 31-Al-Snafi AE. *The Pharmacological Importance of Anethum Graveolens—A Review*. Int J Pharm Pharm Sci 2014; 6(4): 11-3.
- 32-Monsefi M, Ghasemi M, Bahaoddini A. *The Effects of Anethum Graveolens L. on Female Reproductive System*. Phytother Res 2006; 20(10): 865-8.
- 33-Swaroop A, Bagchi M, Kumar P, Preuss HG, Tiwari K, Marone PA, et al. *Safety, Efficacy and Toxicological Evaluation of a Novel, Patented Anti-Diabetic Extract of Trigonella Foeniculum-Gracum Seed Extract (Fenfuro)*. Toxicol Mech Methods 2014; 24(7): 495-503.
- 34-Hannan JM, Rokeya B, Faruque O, Nahar N, Mosihuzzaman M, Azad Khan AK, et al. *Effect of Soluble Dietary Fibre Fraction of Trigonella Foeniculum Graecum on Glycemic, Insulinemic, Lipidemic and Platelet Aggregation Status of Type 2 Diabetic Model Rats*. J Ethnopharmacol 2003; 88(1): 73-7.

Effects of Lipoherb with Metformin on Metabolic Parameters and Sex Hormones in Rats with Polycystic Ovary Syndrome

Fatemeh Tavakoli¹, Azadeh Emami², Behrooz Heydari³,
Mohsen Abbasi¹, Mohammad Ebrahim Rezvani^{†4}

Original Article

Introduction: The purpose of the present study was comparing the effects of Lipoherb with metformin on metabolic changes and sex hormones of rats with polycystic ovary syndrome

Methods: Thirty female Wistar rats were divided into 5 groups (n=6). Group (1): received normal saline for 56 days, group (2): received letrozole (1mg/kg) for 28 days and normal saline for the next 28 days, group (3): in the first 28 days, they received letrozole carrier and in the next 28 days, they received Lipoherb (320 mg/kg), group (4): they received letrozole (1mg/kg) for 28 days and Lipoherb (320 mg/kg) in the next 28 days, group (5): they received letrozole (mg/kg) for 28 days and metformin (250 mg/kg) in the next 28 days. Letrozole at the dose of 1 mg/kg for 28 days induced polycystic ovary syndrome. At the beginning and at the end of the experiment, fasting blood sugar level, lipid profile and sex hormones were measured by ELISA method.

Results: Blood sugar in the letrozole plus metformin group was significantly lower than letrozole group (P<0.01). The amount of serum triglyceride and LDL cholesterol in the group that received letrozole and Lipoherb were significantly decreased compared to letrozole group (P>0.05). In the same group, total cholesterol concentration also decreased significantly compared to other groups (P>0.01). The serum level of estrogen in the group received Lipoherb was significantly lower compared to letrozole group (P<0.05).

Conclusion: Compared to metformin, Lipoherb had more ability to correct the metabolic symptoms of rats with polycystic ovary syndrome. However, the hormonal effects of Lipoherb did not differ significantly from the hormonal effects of metformin in polycystic ovary syndrome.

Keywords: Polycystic ovary syndrome, Letrozole, Lipoherb, Metformin.

Citation: Tavakoli F, Emami A, Heydari B, Abbasi M, Rezvani M.E. **Comparison of the Effects of Lipoherb with Metformin on Metabolic Parameters and Sex Hormones in Rats with Polycystic Ovary Syndrome.** J Shahid Sadoughi Uni Med Sci 2023; 30(12): 6232-43.

¹Department of Toxicology and Pharmacology, Faculty of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences Research Center, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran.

²Department of Pharmaceutics, Faculty of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences Research Center, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran.

³Department of Clinical Pharmacy, Faculty of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences Research Center, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran.

⁴Department of Physiology, School of Medicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran.

*Corresponding author: Tel: 09131566295, email: erezvani@yahoo.com