

بررسی اثرات درمانی عصاره کالیگونوم کوموزوم (*Calligonum*)*comosum* بر روی بارداری و تولد زنده در مدل موش اندومتريوز

پریناز اکبری^۱، کیاندرخت کیانی^{۲*}، محمدهادی فکور^۱

مقاله پژوهشی

مقدمه: اندومتريوز، بیماری است که مشکلات ناباروری را به همراه دارد. کالیگونوم کوموزوم گیاهی دارویی و موثر بر دردهای قاعدگی است. اثر بخشی این گیاه در درمان موش ماده مدل اندومتريوز قبلاً مشخص شده است. این مطالعه با هدف بررسی اثر عصاره کل کالیگونوم کوموزوم (CCTE) بر بارداری، تولد زنده در موش ماده اندومتريوز انجام شد.

روش بررسی: ۲۴ موش ماده نژاد NMRI با سن ۸ هفته، وزن ۳۰ - ۲۵ گرم مورد مطالعه قرار گرفت. با ایجاد ضایعات شبه اندومتريوز به روش جراحی و پیوند اوتولوگ در موش انجام شد. موش‌ها تصادفی در دو گروه تحت درمان و کنترل قرار گرفتند. گروه درمان دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره کالیگونوم کوموزوم و گروه کنترل دریافت‌کننده نرمال سالیین بود. چهار هفته بعد از پیوند و پس از رفع ضایعات اندومتريوزی با عصاره کالیگونوم، بارداری و تولد زنده، بافت‌شناسی تخمدان و اندومتريوز، شاخص‌های رشد نوزدان مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج: نتایج حاصل نشان داد میزان بارداری و تولد زنده بیش از دو برابر و دیواره اندومتر و فولیکول‌های پره‌آنترال در گروه درمان به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل بود. تعداد و سایز ضایعه اندومتريوز در گروه درمان نسبت به گروه کنترل به‌طور معنی‌داری کمتر بود. شاخص‌های رشد نوزدان گروه درمان بهتر از گروه کنترل بود ($P < 0.05$).

نتیجه‌گیری: تاثیر قابل توجه عصاره کالیگونوم کوموزوم بر بارداری و تولد زنده، ضایعات شبه اندومتريوز و تاثیر مثبت بر فاکتورهای تخمدانی، شاخص‌های رشد نوزدان در مدل اندومتريوز موش داشت و می‌تواند یک درمان امیدبخش باشد. پیشنهاد می‌شود این مطالعات وارد فاز کلینیکال شود و در فاز بالینی این عصاره مورد مطالعه قرار بگیرد.

واژه‌های کلیدی: کالیگونوم کوموزوم، موش ماده مدل اندومتريوز، میزان بارداری، میزان تولد زنده، شاخص رشد نوزاد

ارجاع: اکبری پریناز، کیانی کیاندرخت، فکور محمدهادی. بررسی اثرات درمانی عصاره کالیگونوم کوموزوم (*Calligonum*)*comosum* بر روی بارداری و تولد زنده در مدل موش اندومتريوز. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد ۱۴۰۴؛ ۳۳ (۶): ۴۶-۹۱۳۵

۱- گروه میکروبیولوژی، واحد هیدج، دانشگاه آزاد اسلامی، هیدج، ایران.

۲- پژوهشگاه رویان، پژوهشکده زیست‌شناسی و علوم پزشکی تولید مثل جهاد دانشگاهی، مرکز تحقیقات پزشکی تولید مثل، گروه اندوکرینولوژی و ناباروری زنان، تهران ایران.

* (نویسنده مسئول): تلفن: ۰۲۱۲۳۵۶۲۷۳۱، پست الکترونیکی: k.kiani@royan-rc.ac.ir، صندوق پستی: ۳۱۶۵۱۶۷۶۵

مقدمه

یکی از مشکلات ناباروری در زنان اندومتريوز است. اندومتريوز یک اختلال است که باعث می‌شود بافتی شبیه به اندومتر در خارج از رحم در مناطقی مانند تخمدان‌ها، لوله‌های فالوپ، شکم و روده رشد کند. این عارضه بر عملکرد سیستم تولیدمثل خانم تکامل جنین و قابلیت لانه‌گزینی تأثیر منفی گذاشته و موجب ناباروری و سقط خودبه‌خودی می‌گردد، همچنین این افراد در معرض خطر بالایی از عوارض مامایی نظیر زایمان زودرس، خونریزی قبل از زایمان، پره‌اکلامپسی و سزارین می‌باشند (۱). درمان موجب بهتر شدن و بالا رفتن کیفیت زندگی این افراد می‌شود. روش‌های دارویی و جراحی کنترل‌کننده هستند اما با عوارض و عود مجدد بیماری همراه است. برای درمان قطعی اندومتريوز و پیشگیری از عود مجدد بیماری باشند، همچنین بالا بردن قدرت باروری بیمار، نیاز جدی به داروهای موثر است. با توجه به اهمیت نقش تغذیه و مواد طبیعی در پیشگیری و درمان بیماری‌ها و عوارض جانبی بسیار کم، تقاضا برای طب سنتی در کشورهای توسعه یافته، به سرعت رو به افزایش است و هر ساله تعداد زیادی از ترکیبات فیتوشیمیایی به منظور کاربردهای درمانی جدید با هدف ارتقا سلامت و کاهش سمیت و عوارض جانبی مورد بررسی قرار می‌گیرد (۲). در مطالعات اخیر که توسط دکتر کیانی و همکارانشان انجام شده است، تعدادی ترکیبات فیتوشیمیایی شناسایی شده‌اند که در بهبود اندومتريوز مفید است که شامل اپی گالوتچین، جنیستین، ۴-هیدروکسی بنزیل الکل و زانتومول می‌باشد. این‌ها با اثر چندجانبه بر روی مکانسیم سلولی متعددی نظیر تکثیر، مهاجرت، آپوپتوز تأثیر می‌گذارد (۳). روند درمان و کنترل بیماری در حال حاضر با جراحی و دارو است که عوارضی در پی دارد که امکان استفاده طولانی‌مدت دارو و جراحی‌های متعدد میسر نیست و امکان عود مجدد را به همراه دارد برای افرادی که به دنبال درمان نازایی هستند کاربرد ندارد. در زمینه الگوریتم درمانی در زنان جوان و نوجوان، روش‌های مداخله‌ای برای پیشگیری از اندومتريوز، مداخلات تغذیه‌ای و سبک زندگی، روش‌های

استاندارد طولانی‌مدت برای پیشگیری از عود مجدد اندومتريوز نیاز به تحقیق داشته و شواهد بسیار کمی در این رابطه وجود دارد (۴،۳). این مطالعه با هدف بررسی اثر عصاره کل *Calligonum comosum* (CCTE) بر بارداری و میزان تولد زنده در مدل موش‌های مبتلا به اندومتريوز انجام گرفته است. با توجه به شایع بودن و پرهزینه بودن بیماری اندومتريوز و همچنین نبود درمان قطعی و نیاز ضروری به تشخیص و درمان به‌موقع نیاز به پژوهش و مطالعات بیشتر در این زمینه می‌تواند کمک شایانی به ارتقا سلامت زنان و بهبود کیفیت زندگی آنان و همچنین کمک به بالا بردن میزان باروری با رفع اندومتريوز گردد، و می‌توان آن را در مراقبت‌های بهداشتی اولیه کشور که برنامه موفقی می‌تواند باشد قرار داد. در مطالعه‌ای توسط دکتر کیانی و همکارانشان (۳) صورت گرفته، نشان داده شده است که عصاره کامل گیاه کالیگونوم کوموزوم به میزان قابل‌توجهی رشد ضایعه، تشکیل کیست، میزان عروق، تکثیر سلول‌ها و میزان تجمع سلول‌های ایمنی در ضایعات اندومتريوزی موش را کاهش داده و مهار می‌کند، اما در رابطه با میزان باروری و تولد زنده موش‌های اندومتريوز تحت درمان با عصاره اسکنبیل مطالعه و تحقیقی صورت نگرفته بود هدف این مطالعه بررسی رابطه بین درمان اندومتريوز با عصاره اسکنبیل و تأثیر این عصاره بر میزان باروری و وضعیت جنین‌های حاصل می‌باشد.

روش بررسی

در این مطالعه از عصاره گیاهی اسکنبیل با نام علمی *L'Her Calligonum comosum* درختچه‌ای به ارتفاع ۱۷۵ سانتی‌متر و حداکثر دو متر، بسیار منشعب، بند بند و نازک هستند. ساقه‌های جوان شیاردار و به رنگ سبز کلمی می‌باشند. این گیاه در هرباریوم باغ گیاه‌شناسی کاشان با شماره هرباریومی KBGH 1101 ثبت شده است. برای عصاره‌گیری از گیاه، نمونه جمع‌آوری شده پس از انتقال به آزمایشگاه، در شرایط سایه، به مدت چهار هفته به طور کامل خشک شدند. پودر خشک شده گیاه، با اتانول ۷۰٪ سه مرتبه و با حداقل فاصله سه روز یک‌بار و بر روی ۵۰ گرم از بخش‌های مختلف گیاه خیسانده شدند. برای تغلیظ و خشک نمودن عصاره تهیه

توسط کالیبر دیجیتال اندازه‌گیری شد و همچنین برای مطالعات بافت‌شناسی ضایعات اندومتریوزی، رحم و تخمدان در فرمالین فیکس شدند. شاخص‌های رشد نوزادان (قد، وزن، دور سر) نیز اندازه‌گیری شدند.

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از SPSS version 16 انجام می‌شود. متغیرهای پیوسته به‌عنوان انحراف معیار \pm میانگین و متغیرهای طبقه‌ای به‌صورت تعداد (درصد) بیان شد. نرمال بودن متغیرهای بررسی شده با آزمون Kolmogorov-Smirnov چک شد. پس از آن، از آزمون تی تست مستقل در صورت نرمال بودن و من‌ویتنی در صورت غیرنرمال بودن، بین گروه‌های مطالعه استفاده گردید ($P < 0.05$) از نظر آماری معنادار در نظر گرفته شد.

الزامات قبل از القای مدل: برای شناسایی مشکلات بالقوه که موجب افزایش خطر بیهوشی می‌گردد، معاینه فیزیکی حیوانات قبل جراحی انجام شد. برای کاهش عوارض بیهوشی حیوانات قبل از جراحی، ناشتا بودند. قبل از بیهوشی به منظور کاهش مقادیر داروی بیهوشی و پیشگیری از ایجاد حساسیت سیستم عصبی مرکزی از ضد دردها استفاده شد. عمل جراحی با به‌کارگیری بی‌حسی موضعی و یا بیهوشی عمومی مناسب انجام شده و عمق بیهوشی، عملکرد دستگاه قلبی-عروقی، تنفسی و نیز کاهش دمای بدن در حین جراحی پایش گردید. اعمال بیهوشی و انجام جراحی با نظارت و کمک کارکنان توانمند آموزش دیده و با تجربه صورت پذیرفت.

نتایج

نتایج میزان بارداری: میزان بارداری در موش‌های مدل اندومتریوز تحت درمان با عصاره اسکنبیل در مقایسه با گروه درمان، بیش از دو برابر افزایش نشان داد و در گروه مدل اندومتریوز تحت درمان با اسکنبیل میزان بارداری 66.7% و میزان بارداری در گروه کنترل 25% بود ($P < 0.05$) (نمودار ۱).

نتایج میزان تولد زنده: نتایج حاصل از میزان تولد زنده نیز، با توجه به نرخ بالای بارداری در گروه تحت درمان نسبت به گروه

شده از دستگاه روتاری و آون تحت خلا استفاده گردید (۳). این مطالعه یک بررسی تجربی و حیوانی است و به ۲۴ موش ماده با سن دو ماه، سویه NMRI، که از انستیتو پاستور خریداری شدند نیاز داشتیم، این حجم نمونه با توجه به مطالعه قبلی (کیانی و همکاران) انتخاب گردید (۳). موش‌ها در محیطی با درجه حرارت و رطوبت مناسب و رعایت سیکل تاریکی و روشنایی و کاهش صدای محیط قرار گرفتند و دسترسی به آب و غذای تمیز داشتند و یک هفته برای خو گرفتن و عادت به محیط تا زمان جراحی و القا مدل فرصت داده شد. برای القا اندومتریوز بایستی از موش‌های سالم که عملکرد تخمدانی و فعالیت دوره‌ای جنسی دارند، استفاده شد. به روش اسمیر واژینال موش‌هایی که در فاز استروس هستند انتخاب شده، محیط استریل شده و با کتامین -زایلانین (کتامین دوز ۸۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم -زایلانین دوز ۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) موش‌ها بیهوش شدند. شکم از ۰.۵ تا ۱ سانتی‌متری بالای واژن به صورت طولی برش خورده و با مشاهده شاخ رحمی، شاخ رحمی سمت چپ برداشته شده و در محیط کشت قرار داده شد. شاخ رحمی به‌صورت طولی برش داده شد و با پانچ بیبوسی به قطعات دو میلی‌متری تقسیم شدند. به تعداد چهار عدد از قطعات دو میلی‌متری به دیواره ی شکمی سمت راست موش پیوند خورد (شکل ۱). یک روز بعد از پیوند به جهت اطمینان از پیوند تصویر برداری اولتراسوند انجام شد. موش‌های مدل به‌صورت تصادفی به دو گروه درمان و کنترل تقسیم شدند. گروه درمان دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره کالیگونوم کوموزوم (با توجه به دوز یابی که در مطالعه دکتر کیانی انجام گرفته بود استفاده شد (۳))، گروه کنترل هم نرمال سالیین دریافت کردند. درمان به مدت چهار هفته ادامه داشت، پس از آن دو موش ماده با یک نر به جهت بررسی بارداری هم قفس شدند. با مشاهده پلاگ واژینال اولین روز بارداری محسوب شد و موش‌های باردار در قفس‌های جداگانه‌ای قرار گرفتند. در صورتی که پلاگ واژینال مشاهده شده بود اما بارداری اتفاق نیفتاده بود موش‌های غیر باردار از باردار جدا شدند. پس از پایان بارداری، تعداد و سایز ضایعات

نشان دهنده رشد زیاد اندومتريوم است که باعث ایجاد علائم شدیدتری از اندومتريوز می شود (شکل ۳). اما گروه تحت درمان ضخامت اندومتريوم ۳/۳۶۳ میکرومتر را دارد و تأثیر دارو و همچنین کاهش علائم اندومتريوز و لانه‌گزینی بهتر جنین را نشان می‌دهد. این تفاوت بین دو گروه معنی دار ($P < 0.05$) بوده است (نمودار ۵).

نتایج هیستوپاتولوژی تخمدان: نتایج حاصل از مطالعه هیستوپاتولوژی تخمدان (شکل ۴) نشان داد که در مقایسه بین تعداد فولیکول‌ها، در تخمدان موش‌های مدل اندومتريوز بارداری تحت درمان با عصاره اسکنبیل با موش‌های بارداری گروه کنترل، تعداد فولیکول‌های اولیه در گروه تحت درمان به نسبت گروه کنترل بیشتر بوده است (نمودار ۶).

شاخص‌های رشد نوزادان: در مقایسه شاخص‌های رشد نوزادان در موش‌های مدل اندومتريوز تحت درمان با عصاره اسکنبیل با گروه کنترل (شکل ۵ و ۶) مشاهده شد که عصاره علاوه بر اینکه تأثیر سوء بر نوزادان و رشد آن‌ها نداشته است، بلکه موجب بهتر شدن شاخص‌های رشدی نیز گردیده است و با گروه کنترل تفاوت دارند.

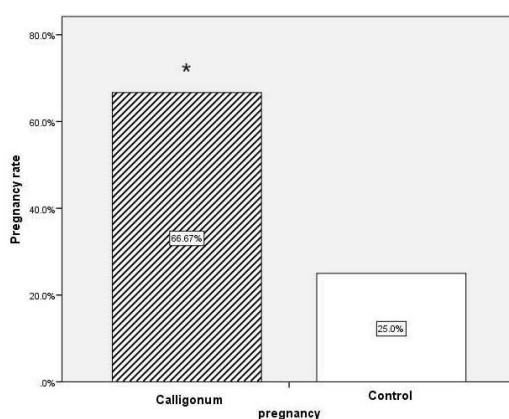
کنترل تفاوت معنی‌داری داشت و میزان تولد زنده در گروه درمان بیشتر از گروه کنترل بود ($P < 0.05$) (نمودار ۲).

نتایج بافت‌شناسی ضایعات اندومتريوزی: در مقایسه بافت‌شناسی ضایعات اندومتريوزی در موش‌های مدل اندومتريوز بارداری تحت درمان با عصاره اسکنبیل با موش‌های بارداری گروه کنترل. ضایعات در گروه درمان با پسرقت و تخریب همراه بوده است (شکل ۲).

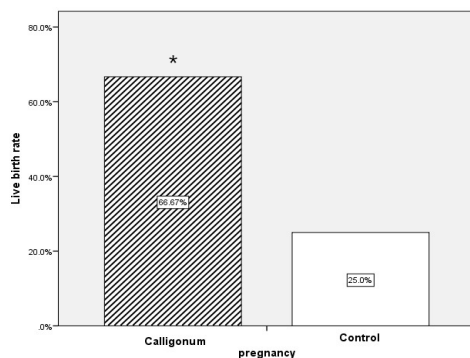
نتایج سائز ضایعات اندومتريوزی: در مقایسه سائز ضایعات اندومتريوزی در موش‌های مدل اندومتريوز بارداری تحت درمان با عصاره اسکنبیل با موش‌های بارداری گروه کنترل، تفاوت معنی‌داری بین دو گروه وجود دارد ($P < 0.05$). در گروه تحت درمان سائز ضایعات اندومتريوزی کاهش داشت و این امر تأثیر مثبت عصاره اسکنبیل بر سائز ضایعات را نشان می‌دهد (نمودار ۳).

نتایج تعداد ضایعات اندومتريوز بین دو گروه: همچنین در مقایسه تعداد ضایعات اندومتريوزی در موش‌های مدل اندومتريوز بارداری تحت درمان با عصاره اسکنبیل با موش‌های بارداری گروه کنترل، تفاوت معنی‌دار بوده و در گروه تحت درمان با اسکنبیل (کالیگونوم)، تعداد ضایعات کاهش نشان داده است (نمودار ۴).

نتایج بافت‌شناسی ضخامت اندومتر: در بافت‌شناسی ضخامت اندومتر در گروه کنترل ۳/۴۱۲ میکرومتر است که این ضخامت،

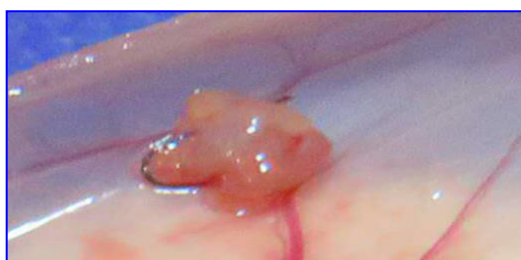


نمودار ۱: مقایسه میزان بارداری در موش‌های ماده مدل اندومتريوز تحت درمان با عصاره اسکنبیل با گروه کنترل. نتایج به صورت (Mean \pm SEM) گزارش شده‌اند ($P < 0.05$)*

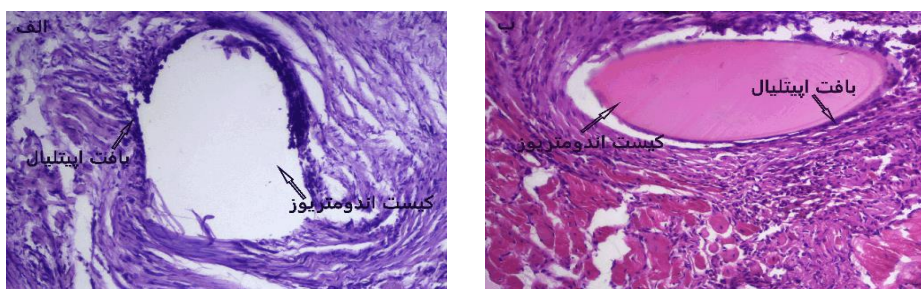


نمودار ۲: مقایسه میزان تولد زنده در موش‌های ماده مدل اندومتريوز تحت درمان با عصاره اسکنبیل با گروه کنترل.

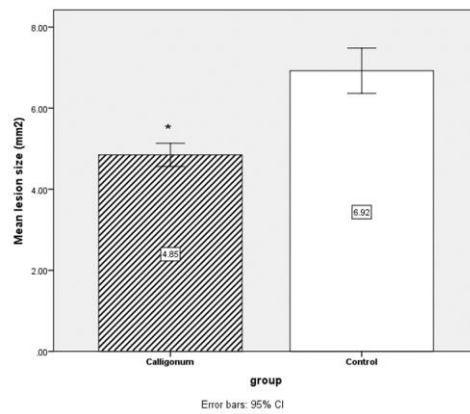
نتایج به صورت (Mean ± SEM) گزارش شده‌اند (*P<0.05)



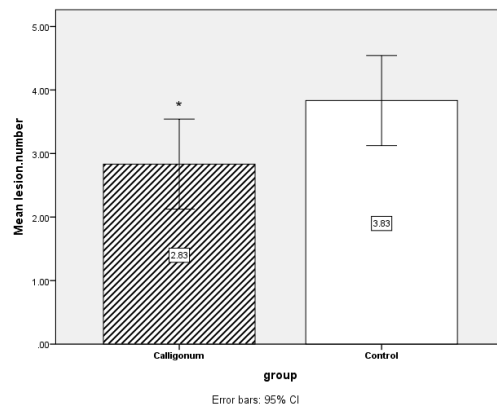
شکل ۱: ظاهر ماکروسکوپیکی ضایعات شبه اندومتريوزی، ۲۸ روز بعد پیوند به دیواره شکمی موش‌های سویه NMRI



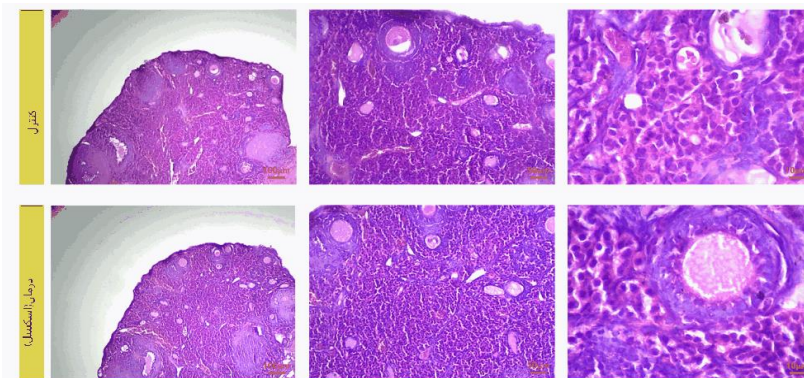
شکل ۲: نمای بافت‌شناسی ضایعات شبه اندومتريوزی (رنگ آمیزی H&E) در گروه درمان دریافت کننده عصاره تام گیاه اسکنبیل (الف)، در مقایسه با گروه کنترل (ب) دریافت کننده نرمال سالیین



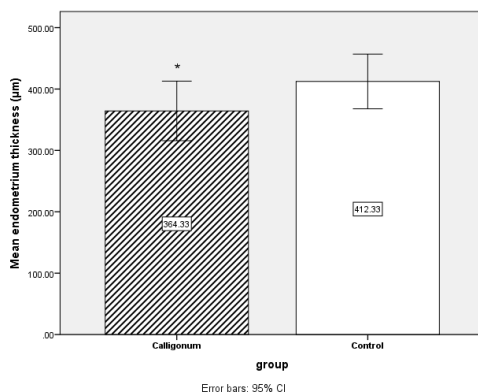
نمودار ۳: سایز ضایعات شبه اندومتريوزی (mm^2) پیوند شده به دیواره پريتوتن موش‌های سويه NMRI که با استفاده از قطرسنج دیجیتال اندازه‌گیری شدند، گروه کنترل (ستون سفید، تعداد ضایعات بررسی شده = ۱۲)، گروه درمان با اسکنبیل (کالیگونوم) (ستون سیاه، تعداد ضایعات بررسی شده = ۱۲). نتایج به صورت (Mean \pm SEM) گزارش شده‌اند. ($P < 0.0001$)



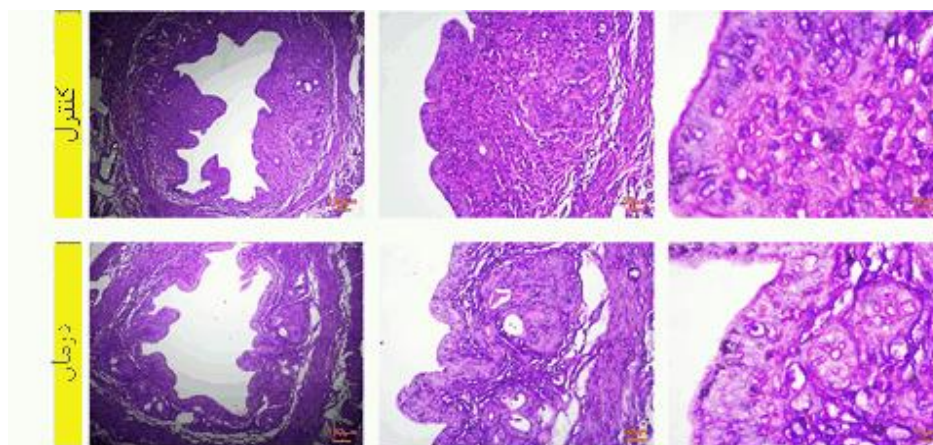
نمودار ۴: مقایسه تعداد ضایعات شبه اندومتريوزی پیوند شده به دیواره پريتوتن موش‌های سويه NMRI، در (گروه کنترل تعداد = ۱۲) و (گروه دریافت‌کننده عصاره اسکنبیل (کالیگونوم) تعداد = ۱۲). نتایج به صورت (Mean \pm SEM) گزارش شده‌اند ($P = 0.032$).



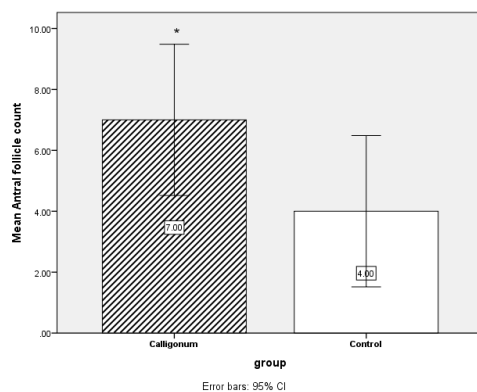
شکل ۳: نمای بافت‌شناسی اندومتر (رنگ آمیزی H&E) در بزرگنمایی‌های ۱۰،۵۰،۱۰۰ در دو گروه کنترل و درمان.



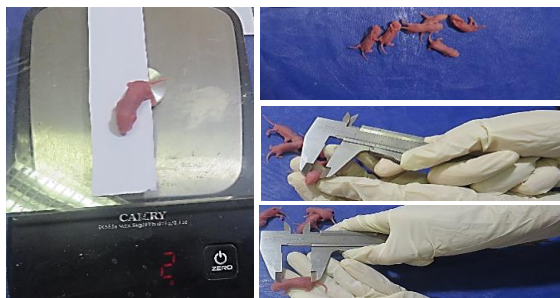
نمودار ۵: مقایسه ضخامت اندومتر (میکرومتر) بین گروه تحت درمان با عصاره اسکنبیل (کالیگونوم) و گروه کنترل.
 نتایج به صورت (Mean ± SEM) گزارش شده‌اند ($P = 0.035^*$).



شکل ۴: تصاویر هیستوپاتولوژی تخمدان (رنگ آمیزی H&E) در بزرگنمایی ۱۰،۵۰،۱۰۰ در دو گروه کنترل و تحت درمان با عصاره اسکنبیل



نمودار ۶. مقایسه تعداد فولیکول‌های آنترال بین دو گروه تحت درمان با عصاره اسکنبیل (کالیگونوم) در مقایسه با گروه کنترل.
 نتایج به صورت (Mean ± SEM) گزارش شده‌اند ($P = 0.021^*$).



شکل ۵: اندازه گیری شاخص‌های رشد نوزادان در گروه تحت درمان با عصاره اسکنبیل



شکل ۶: اندازه گیری شاخص‌های رشد نوزادان در گروه کنترل

جدول ۱: مقایسه شاخص‌های رشدی نوزادان متولد شده بین دو گروه دریافت کننده عصاره اسکنبیل (کالیگونوم کوموزوم) و کنترل (میانگین \pm خطای

استاندارد)

گروه‌های مطالعه	گروه درمان (دریافت کننده عصاره اسکنبیل) تعداد=۳۱	گروه کنترل (دریافت کننده نرمال سالین) تعداد=۱۱	P
قد (mm)	$21/29 \pm 0/297$	$18/09 \pm 0/343$	$>0/0001^*$
وزن (gr)	$1/426 \pm 0/051$	$1/145 \pm 0/064$	$*0/004$
دور سر (mm)	$7/27 \pm 0/078$	$6/61 \pm 0/140$	$>0/0001^*$

بحث

این مطالعه با هدف بررسی اثر عصاره کل *Calligonum comosum* (CCTE) بر باروری و میزان تولد زنده در مدل موش‌های مبتلا به اندومتريوز انجام گرفته است و این سوال پیش می‌آید که آیا این عصاره بر میزان باروری و تولد زنده تأثیر مثبت داشته است؟ بر اساس یافته‌های این پژوهش می‌توان گفت که عصاره تام (CCTE) بر بارداری تأثیر مثبت دارد و با فرضیه اولیه پژوهش همسو است. عصاره اسکنبیل با تأثیر بر تعداد و سایز ضایعات اندومتريوزی و بهتر شدن عملکرد رحم و تخمدان موجب بالا رفتن بارداری و تولد زنده شده است عصاره گیاهی اسکنبیل

بر درمان اندومتريوز موثر است که این نتایج همسو با مطالعات (کیانی و همکاران) است (۳). این یافته‌ها نشان می‌دهند که گیاهان دارویی می‌توانند به عنوان یک درمان جایگزین برای افزایش باروری در زنان مبتلا به اندومتريوز مورد استفاده قرار گیرند. یکی از مکانسیم‌های مبتلا به اندومتريوز، افزایش التهاب لگن است که یکی از عوامل اصلی ایجاد مشکلات باروری است. این یافته‌ها با مدل التهابی اندومتريوز که توسط برن و همکاران (۷)، در سال ۱۳۹۴ ارائه شده است همخوانی دارد. این مدل بیان می‌کند که اندومتريوز باعث کاهش کیفیت تخمک‌ها و اختلال در عملکرد تخمدان می‌شود و این مدل نشان می‌دهد که کاهش التهاب لگن می‌تواند به بهبود باروری در زنان مبتلا به اندومتريوز

تشکیل لوله و جوانه زدن را مهار می‌کند. با توجه به این که کالیگونوم کوموزوم (*Calligonum comosum*) باعث سرکوب رگ‌های خونی جدید توسط ضایعات می‌شوند و هم‌چنین رشد ضایعات متوقف می‌شود در نتیجه تعداد و سایز ضایعات در گروه تحت درمان کاهش یافته و در نتیجه موجب بهبود بارداری با کاهش تعداد ضایعات اندومتريوز خواهد شد. شاخص‌های رشد نوزادان در موش‌های مدل اندومتريوز تحت درمان با عصاره اسکنبیل با گروه کنترل تفاوت دارد. طبق نتایج به‌دست آمده تعداد نوزادان در گروه تحت درمان با عصاره تام اسکنبیل بیشتر از گروه کنترل بود شاخص‌های رشدی در گروه درمان بهتر از گروه کنترل بود و این نشان می‌دهد که عصاره اثر سو بر نوزادان نداشته است. طبق مطالعه‌ای که توسط ظهرايي و همکارانش (۱۰). انجام شده است که با هدف بررسی اثر کوئرستین بر بافت تخمدان موش‌های صحرایی ماده نژاد ویستار تحت درمان با سیکلوفسفامید و شاخص‌های رشد نوزادان آن‌ها انجام شده است و نشان داده شده است که کوئرستین با افزایش تعداد نوزادان اثرات مثبتی هم بر روی شاخص‌های رشدی نوزادان داشته است که با مطالعه حاضر همسو است چرا که اسکنبیل نیز حاوی کوئرستین می‌باشد. در نهایت این مطالعه به دلیل مطالعه بر روی حیوان محدودیتی‌هایی دارد که باید در نظر گرفته شود، این مطالعه بر روی مدل حیوانی انجام شده است و باید دید آیا قابل تعمیم به انسان است یا خیر. در این پژوهش از یک روش مدل‌سازی اندومتريوز استفاده شده است و در مدل‌های دیگر ممکن است نتایج متفاوتی ارائه دهد. هم‌چنین سبک زندگی، سن، سابقه بارداری و سلامت زنان در این مطالعه به دلیل محدودیت‌های مدل حیوانی بررسی نشده است. پیشنهاد می‌شود، برای رفع محدودیت‌های این پژوهش و افزایش اعتبار و قابلیت تعمیم یافته‌های آن به انسان تحقیقات بیشتری انجام شود و بر روی حیوانات بزرگتر مثل بابون‌ها و میمون‌ها انجام شود. پیشنهاد می‌شود، این پژوهش بر روی باروری به روش لقاح مصنوعی (IVF) در موش‌های ماده مدل اندومتريوز و نوزادان آن‌ها مورد بررسی قرار گیرد. پیشنهاد می‌شود، اثرات عصاره اسکنبیل بر

کمک کند و عصاره تام گیاه کالیگونوم کوموزوم باعث کاهش التهابات شده و موثر بر میزان باروری خواهد بود. همانطور که گفته شد اندومتريوز یکی از شایع‌ترین بیماری‌های زنان است که براساس آمارها حدود ۱۰ الی ۱۵ درصد از زنان سنین باروری را تحت تاثیر قرار می‌دهد. این بیماری علاوه بر درد شدید لگن و کاهش کیفیت زندگی می‌تواند باعث ناباروری یا کاهش باروری در زنان شود بر اساس مطالعه محمدی و همکارانش (۸). بین ۲۵ تا ۴۰ درصد از زنان مبتلا به اندومتريوز در ایران نابارور هستند. این مطالعه هم‌چنین نشان داده است که اندومتريوز می‌تواند بر روان و احساسات زنان تاثیر منفی داشته باشد و باعث افسردگی و اضطراب شود. این مطالعه نشان می‌دهد که عصاره کالیگونوم کوموزوم با تاثیر بر اندومتريوز بر بهبود و میزان باروری در زنان مبتلا یک درمان امیدوار کننده باشد و این درمان می‌تواند به کاهش هزینه‌های درمانی، افزایش شانس بارداری، کاهش عوارض جانبی داروهای شیمیایی و افزایش کیفیت زندگی زنان کمک کند. این درمان هم‌چنین می‌تواند به حفظ و ارتقای سلامت زنان و جامعه نیز کمک کننده باشد. در مطالعه‌ای که توسط استیلی و همکارانش (۹). در سال ۲۰۰۹ انجام شده است اندومتريوز باعث کاهش تعداد و کیفیت تخمک‌ها می‌شود و در نتیجه میزان باروری کمتر و هم‌چنین تعداد جنی‌ها با قابلیت تولد زنده نیز کمتر می‌شود. اما با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه، عصاره کالیگونوم کوموزوم موجب بالا رفتن کیفیت و تعداد تخمک‌ها شده و هم‌چنین افزایش فولیکولهای پره‌آنترال و داشتن ضخامت مناسب دیواره رحم میزان باروری نیز در گروه درمان بالا رفته است. *Calligonum comosum* گیاهی است که دارای خاصیت ضدالتهابی است و هم‌چنین در مهار رگ‌زایی موثر است. CCTE رشد و تشکیل کیست، عروق و نفوذ سلول‌های ایمنی ضایعات اندومتريوز موش را سرکوب می‌کند. این اثرات، ممکن است توسط اجزای فیتوشیمیایی موجود در CCTE، مانند فلاونوئیدها (کوئرستین، کامفرول‌ها و کاتچین‌ها) و پلی‌فنول‌ها (تانن‌ها) (کیانی و همکاران) باشد (۳). دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌طور موثری مهاجرت سلولی،

در این پژوهش از نمونه حیوانی استفاده شده است. بدین وسیله تایید می‌گردد با آگاهی کامل از راهنمای اخلاق پژوهش بر حیوانات، جنبه‌های اخلاقی مربوط به بهره‌برداری از حیوانات در پژوهش‌های زیستی و پزشکی در نظر گرفته شده است. کلیه روش‌ها مطابق با گایدلاین NIH در مورد مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی و نیز دستورالعمل کشوری ملاحظات اخلاقی در پژوهش‌های حیوانی، صورت پذیرفته است. موارد زیر در این رابطه رعایت شد:

-انتخاب صحیح گونه حیوان برای مطالعه (موش سویه (NMRI)

-استفاده از حداقل تعداد ممکن حیوان برای مطالعه
-ضرورت استفاده از حیوانات آزمایشگاهی برای مطالعه و عدم امکان جایگزینی آن با نرم افزارهای کامپیوتری و استفاده از تجارب دیگران

-آموزش لازم برای شناخت زندگی و شرایط فیزیولوژیک حیوان (تغذیه، سلامت، بیماری، ناراحتی و درد و سایر تغییرات فیزیولوژیک و پاتولوژیک حیوان)

-اطلاعات لازم در مورد تاثیر شرایط محیطی بر نتایج آزمایش

- عدم استفاده از حیوانات بیمار در آزمایش

مشارکت نویسندگان

کیاندرخت کیانی در ارائه ایده، کیاندرخت کیانی و محمد هادی فکور در طراحی مطالعه، پریناز اکبری در جمع‌آوری داده‌ها، کیاندرخت کیانی، محمد هادی فکور و پریناز اکبری در تجزیه و تحلیل داده‌ها مشارکت داشته و همه نویسندگان در تدوین، ویرایش اولیه و نهایی مقاله و پاسخگویی به سوالات مرتبط با مقاله سهیم هستند.

روی سایر شاخص‌های بارداری و تولد زنده، طول بارداری، میزان شیر مادر، سلامت مادر و نوزاد پس از زایمان در موش ماده مدل اندومتريوز مورد بررسی قرار گیرد و می‌توان اثرات اسکنبیل در ترکیب با داروها یا عصاره‌های دیگر و تاثیر آن بر اندومتريوز و بارداری در موش ماده مدل اندومتريوز را بررسی کرد. و در نهایت پیشنهاد می‌شود که این مطالعات وارد فاز کلینیکال شده و درمان و مطالعات روی انسان ادامه پیدا کند.

نتیجه‌گیری

اندومتريوز یکی از شایع‌ترین بیماری‌های زنان است قابلیت باروری زنان را تحت تاثیر قرار می‌دهد عصاره اسکنبیل با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، می‌تواند یک درمان موثر برای درمان ناباروری شود چرا که باعث بهبود عملکرد تولیدمثل و سلامت تخمدان می‌شود و موجب کاهش تعداد و سائز ضایعات و همچنین مهار اندومتريوز می‌شود.

سپاس‌گزاری

این مطالعه طرح تحقیقاتی و دانشجویی با همکاری دانشگاه آزاد هیدج و پژوهشگاه رویان انجام شده است که با تشکر ویژه از دکتر کیاندرخت کیانی (عضو هیئت علمی پژوهشگاه رویان) به عنوان استاد راهنما که دلسوزانه علم و دانش خود را در این مسیر در اختیار اینجانب گذاشتند و با تشکر از دکتر محمد هادی فکور به عنوان استاد مشاور که در این مسیر همراهی کردند.

حامی مالی: ندارد.

تعارض در منافع: وجود ندارد.

ملاحظات اخلاقی

پروپوزال این تحقیق توسط اخلاق پزشکی پژوهشگاه رویان تایید شده است (کد اخلاق: IR.ACECR.AEC.1401.060)

References:

- 1-Lebovic DI, Mueller MD, Taylor RN. *Immunobiology of Endometriosis*. Fertil steril 2001. 75(1): 1-10.
- 2-Navarro J, Garrido N, Remohí J, Pellicer A. *How does endometriosis affect infertility?* Obstet Gynecol Clin North Am 2003. 30(1): 181-92.
- 3-Kiani K, Movahedin M, Malekafzali H, Mirfasihi F, Sadati SN, Moini A, et al. *Effect of the Estrus Cycle Stage on the Establishment of Murine Endometriosis Lesions*. Int J Reprod Biomed 2018; 16(5): 305.
- 4-Chapron C, Fauconnier A, Dubuisson JB, Barakat H, Vieira M, Bréart G. *Deep Infiltrating Endometriosis: Relation between Severity of Dysmenorrhoea and Extent of Disease*. Human Reproduct 2003; 18(4): 760-66.
- 5-DE Oliveira R, Adami F, Mafra FA, Bianco B, Vilarino FL, Barbosa CP. *Causes of Endometriosis and Prevalent Infertility in Patients Undergoing Laparoscopy without Achieving Pregnancy*. Minerva Ginecol 2016; 68(3): 250-8.
- 6-Kiani K, Rudzitis-Auth J, Scheuer C, Movahedin M, Sadati Lamardi SN, Malekafzali Ardakani H, et al. *Calligonum Comosum (Escanbil) Extract Exerts Anti-Angiogenic, Anti-Proliferative and Anti-Inflammatory Effects on Endometriotic Lesions*. J Ethnopharmacol 2019; 239: 111918.
- 7-Hammami R, Riadh H, Farhat I, Imen F, Zouhir A, Abdelmajid Z, et al. *Detection and Extraction of Anti-Listeral Compounds from Calligonum Comosum, A Medical Plant from Arid Regions of Tunisia*. Afr J Tradit Complement Altern Med 2011; 8(3): 322-7.
- 8-Malvezzi H, Marengo EB, Podgaec S, Piccinato CA. *Endometriosis: Current Challenges in Modeling a Multifactorial Disease of Unknown Etiology*. J Transl Med. 2020; 18(1): 311.
- 9-Stilley JA, Woods-Marshall R, Sutovsky M, Sutovsky P, Sharpe-Timms KL. *Reduced Fecundity in Female Rats with Surgically Induced Endometriosis and in their daughters: A Potential Role for Tissue Inhibitors of Metalloprotein*. PloS one 2009; 80(4): 649-56.
- 10-Zahrabi D, Prior K, Santhi R, Nasim Kh. *Investigating the Effect of Quercetin on the Ovarian Tissue of Female Wistar Rats Treated with Cyclophosphamide and the Growth Index of Their Newborns*. Cell and Tissue 2017; 8(3): 285-93. [Persian].

Effect of *Calligonum Comosum* Extracts on Pregnancy and Live Birth Rate in Endometriosis Mice Model

Parinaz Akbari¹, Kiandokht Kiani^{*2}, Mohamad Hadi Fakor¹

Original Article

Introduction: Endometriosis is a condition that leads to issues with infertility. *Calligonum comosum* is an herbal remedy that successfully alleviates menstrual discomfort. This plant successfully treats endometriosis in female mice from the condition. This study aimed to investigate the impact of *Calligonum comosum* extract on pregnancy and live birth rates in a mouse model of endometriosis.

Methods: Twenty-four 8-week-old NMRI mice, each weighing 25-30 grams, were studied. Pseudo-endometriosis lesions were created in mice through surgical procedures and autologous transplantation. Mice were randomly divided into two groups: treatment and control. The treatment group received 50 mg/kg of Escanbil, while the control group was given normal saline. Four weeks after transplantation and following the extraction of lesions, the outcomes of pregnancy and live birth, ovary histology, endometriosis, and infant growth indicators were investigated.

Results: The results showed that the rates of pregnancy and live birth were more than double and the endometrial thickness along with preantral follicles in the treatment group were significantly higher than in the control group. In the treatment group, the number and size of endometriosis lesions were markedly reduced compared to the control group. The growth indices of the infants in the treatment group were better to those in the control group ($P < 0.05$).

Conclusion: *Calligonum comosum* significantly influenced pregnancy, live births, endometriosis-like lesions, and positively impacted ovarian factors, and infant growth indices in the mouse endometriosis model, making it a promising treatment option. It is suggested that these studies proceed to the clinical phase and assess the clinical phase of this extract.

Keywords: *Calligonum comosum*, Female mouse model of endometriosis, Pregnancy rate, Live birth rate, Infant growth indicators.

Citation: Akbari P, Kiani K, Fakor M.H. Effect of *Calligonum Comosum* Extracts on Pregnancy and Live Birth Rate in Endometriosis Mice Model. J Shahid Sadoughi Uni Med Sci 2025; 33(6): 9135-46.

¹Department of Microbiology, Hidaj Branch, Islamic Azad University, Hidaj, Iran.

²Department of Endocrinology and Female Infertility, Reproductive Biomedicine Research Center, Royan Institute for Reproductive Biomedicine, ACECR, Tehran, Iran.

*Corresponding author: Tel: 02123562731, email: k.kiani@royan-rc.ac.ir