

اثر عصاره هیدروالکلی سیاهدانه روی سطح آنزیم مالون دی آلدهید (MDA) و ظرفیت آنتی-اکسیدانی تام (TAC) در بافت تخمدان رت‌های مدل PCOS

- **رونک کزهادی*:** گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ایران، صندوق پستی: 57561-51818
- **وحید نجاتی:** گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ایران، صندوق پستی: 57561-51818
- **مزدک رازی:** گروه بافت شناسی تطبیقی و جنین شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ایران، صندوق پستی: 57561-51818
- **غلامرضا نجفی:** گروه آناتومی و جنین شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ایران، صندوق پستی: 57561-51818

تاریخ دریافت: مرداد 1395 تاریخ پذیرش: آبان 1395

چکیده

سندرم تخمدان پلی کیستیک (PCOS) بیماری شایعی است که 5-10% خانم‌ها را در سنین باروری درگیر می‌کند و با کاهش تخمک گذاری، افزایش آندروژن و مقاومت به انسولین همراه است. دانه سیاهدانه دارای تاریخچه غنی پزشکی و مذهبی و متشکل از ترکیبات شیمیایی قدرتمند است که می‌تواند اثرات بسیاری بر سلامت انسان بگذارد. در این مطالعه اثر عصاره هیدروالکلی سیاهدانه روی خواص آنتی اکسیدانی بافت تخمدان در رت‌های مدل PCOS بررسی شد. بدین منظور 32 رت ماده بالغ به‌طور تصادفی به 4 گروه تقسیم شدند. شامل: گروه کنترل، گروه PCOS القا شده (با دریافت 4 میلی‌گرم استرادیول والرات، تزریق عضلانی)، گروه تحت درمان PCOS+ سیاهدانه (با دوز 200 میلی گرم/کیلوگرم وزن بدن) و گروه تحت درمان PCOS+ سیاهدانه (با دوز 600 میلی گرم/کیلوگرم وزن بدن). حیوانات عصاره سیاهدانه را به‌صورت خوراکی توسط گاواژ به مدت 63 روز دریافت کردند. بعد از 63 روز، تمام حیوانات در فاز استروس آسان کشی شده و میزان MDA و TAC در بافت تخمدان اندازه‌گیری شد. این مطالعه نشان داد که در گروه‌های تحت درمان با سیاهدانه نسبت به گروه PCOS القا شده، TAC افزایش و MDA کاهش یافت و از بین دوزهای استفاده شده دوز 600 میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن بیش‌ترین تاثیر مثبت را داشت. بنابراین سیاهدانه دارای فعالیت آنتی اکسیدانی است و موجب کاهش استرس اکسیداتیو می‌شود.

کلمات کلیدی: سیاهدانه، PCOS، آنتی اکسیدان، تخمدان، رت

مقدمه

امروزه با افزایش روز افزون ناباروری در زنان و مردان مشکلات متعددی در سطح دنیا دیده می‌شود. این مشکلات در جامعه در زنان نمود بیش‌تری دارد. سندرم تخمدان پلی کیستیک (PCOS) هم به عنوان یکی از عوامل ناباروری در سطح جامعه است که 5-10% زنان در سن تولیدمثل را درگیر می‌کند. اهمیت این سندرم از چندین جهت قابل توجه است: مهم‌ترین اختلال هورمونی است که زنان را درگیر می‌کند، به‌عنوان یک سندرم، علل متفاوت و ناشناخته‌ای در بروز آن نقش دارد و علائم بالینی و شدت آن در بیماران مختلف متفاوت است (Ledger, 2010). رادیکال‌های آزاد، نقش دوجانبه‌ای در مسیر تولیدمثل دارند و مولکول‌های کلیدی سیگنالینگ برای عملکردهای متنوع تخمدان هستند (Sugino و همکاران، 2000) به ویژه، عملکرد سوء رادیکال‌های آزاد در ریز محیط تخمک، اسپرم و در مایع فولیکولی

منجر به تغییراتی می‌شود که این تغییرات بر تکوین فولیکولی، تخمک‌گذاری، کیفیت تخمک، میان‌کنش اسپرم-تخمک، لانه‌گزینی و تکوین اولیه جنینی تاثیر می‌گذارد (Agarwal و همکاران، 2005). گیاهان دارویی غنی از عوامل ضد استرس هستند به همین دلیل باعث افزایش اهمیت بالینی آن‌ها می‌گردد (Roshan و همکاران، 2010). از جمله این گیاهان دارویی سیاهدانه بوده که از زمان‌های قدیم آن را به‌عنوان چاشنی و دارو می‌شناسند. سیاهدانه با نام علمی *Nigella sativa* از خانواده *Ranunculaceae* گیاهی با گل‌های سفید یا آبی کمرنگ تا آبی پر رنگ و دارای دانه‌های سفید شیری است که در تماس با هوا سیاه رنگ می‌شوند (Falah hoseini و همکاران، 2011). سیاهدانه گیاهی علفی، یک‌ساله و کوتاه قد (حدود 20-30 سانتی‌متر) است، و در زبان لاتین به نام پاناسه‌آ به معنی «شفا و علاج همه بیماری‌ها» می‌باشد (Padhy و همکاران، 2008). سیاهدانه حاوی روغن



12 ساعت تاریکی در دمای 22 ± 3 درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی 25 تا 30 درصد نگهداری و دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند. به‌منظور حصول سازش با محیط، تمامی آزمایش‌ها پس از گذشت حداقل دو هفته از استقرار حیوانات در قفس به انجام رسید. در این مطالعه رت‌ها به‌طور تصادفی به 4 گروه (8 رت در هر گروه) تقسیم شدند؛ گروه کنترل: که در این گروه رت‌ها سالم بوده و برای هماهنگی با بقیه گروه‌ها و مشابه آن‌ها، به‌جای استرادیول والرات به این گروه روغن کچد استریل تزریق شد و هیچ درمانی دریافت نکردند. گروه شاهد: در این گروه با دریافت 4 میلی‌گرم استرادیول والرات، PCOS به‌صورت تجربی در رت‌ها القا شد و هیچ تیماری روی آن‌ها صورت نگرفت. گروه‌های تیمار 1 و تیمار 2: در این گروه‌ها در رت‌ها PCOS القا شده و به‌ترتیب با دریافت دوزهای 200 میلی‌گرم/کیلوگرم و 600 میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدنشان با عصاره هیدروالکلی سیاهدانه به‌صورت خوراکی و از طریق گاوژ به‌مدت 63 روز درمان شدند. برای القای PCOS از آمپول‌های استرادیول والرات ساخت کارخانه ابوریحان استفاده گردید. هر ویال از این آمپول حاوی 1 میلی‌لیتر محلول روغنی استرادیول والرات بوده که هر ویال یا به‌عبارتی هر 1 میلی‌لیتر از این دارو حاوی 10 میلی‌گرم ماده موثر بود. برای این‌که هر موش 4 میلی‌گرم ماده موثر دریافت کند به هر حیوان 0/4 میلی‌لیتر از داروی مزبور به‌صورت داخل عضلانی تزریق گردید تا PCOS در آن‌ها ایجاد شود (در دو نوبت و هر بار به‌میزان 0/2 میلی‌لیتر، به فاصله 4 روز). کلیه تزریق‌ها کاملاً در شرایط استریل بوده و از سرنگ‌های انسولین یکبار مصرف برای تزریق استفاده شد. به‌همین ترتیب برای موش‌های گروه کنترل روغن کچد استریل تزریق گردید.

عصاره‌گیری: برای عصاره‌گیری ابتدا وارپته دانه‌های سیاهدانه توسط هرباریم دانشگاه ارومیه تایید شد. سپس دانه‌ها توسط آسیاب برقی خرد گردید. برای تهیه عصاره هیدروالکلی پودر حاصل را در آب و الکل (30 درصد آب و 70 درصد اتانول 96 درجه) خیسانده شد. بدین منظور پودر سیاهدانه را در ظرف مناسبی ریخته شد و سپس به‌زای هر گرم پودر، 5 میلی‌لیتر حلال هیدروالکلی به آن افزوده گردید و ظرف روی شیکر بدون حرارت به‌مدت 72 ساعت قرار داده شد و سپس توسط صافی، صاف گردید و برای اطمینان از عدم وجود ذرات معلق سانتریفیوژ شد و پس از رسوب‌گذاری، رسوب را دور ریخته و محلول بالایی توسط دستگاه اوپراتور (روتاری) در دمای 50 درجه سانتی‌گراد و تحت خلا تغلیظ شد، محلول نهایی در اون با دمای 50 درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا الکل باقی‌مانده آن تبخیر گردد (Nasri و همکاران، 2007).

نحوه بی‌هوشی و جداسازی بافت‌ها: رت‌ها با جابجایی مهره گردنی آسان کشتی شدند. سپس بافت مورد نظر (بافت تخمدان) جدا شد و جهت انجام آزمایش به آزمایشگاه منتقل شد و میزان سطح آنزیم مالون دی آلدهید و ظرفیت آنتی اکسیدانی تام در بافت تخمدان اندازه‌گیری شد.

ثابت (40-35%)، روغن فرار (5-1/5%)، پروتئین (23%)، 8 نوع اسیدآمین، قندهای گلوکز، رامنوز، گزیلوز و آرابینوز، موسیلاژ، آکالوئیدها، اسیدهای ارگانیک، تانن‌ها، رزین‌ها، گلیکوزیدها، متاربین (Metarbin)، ساپونین‌ها، ملانتیژنین (Melanthigenin)، لیپاز و فیتواسترول‌ها (Phytosterols) است. از روغن فرار سیاهدانه موادی نظیر تیمول، تیموکوئینون (Thymoquinone) و دی تیموکوئینون (Dithymoquinone) به‌دست می‌آید (Gilani و همکاران، 2004). تیموکوئینون ترکیب اصلی سیاهدانه بوده و دارای خاصیت آنتی-اکسیدانی، ضدالتهابی و ضدسرطانی است (Radad و همکاران، 2009). خواص متعددی برای سیاهدانه ذکر کرده‌اند از جمله: پایین آورنده تب، ضد اسپاسم، پیشگیری از حملات آسم، ضدتشنج و ضدقارچ (Akhondian و همکاران، 2007)، درمان سرفه، برونشیت، سردرد، آنفولانزا، لاکناز و دفع کرم‌های روده (Yar و همکاران، 2008)، درمان دیابت، ناتوانی جنسی، سرگیجه، ضدنفخ، مدر، قاعده‌آور و ضد انگل (Blunden و Ali، 2003)، ضدمیکروب و ملین است و در مواردی سقط جنین را باعث می‌شود (Abdel-Razik و همکاران، 2007)، همچنین برای درمان احتقان بینی، آلرژی و دندان درد مفید بوده و شیرافزا می‌باشد (Salehi surmaghi، 2008). همچنین مطالعات زیادی روی سیاهدانه صورت گرفته است به‌طور مثال Kanter و همکاران (2004) در مطالعه‌ای تحت عنوان اثرات سیاهدانه روی استرس اکسیداتیو و آسیب سلول بتا با استرپتوزوتوسین ایجادکننده دیابت در رت گزارش دادند که درمان با سیاهدانه از طریق کاهش استرس اکسیداتیو و حفاظت سلول‌های بتا پانکراس باعث محافظت در برابر دیابت می‌شود. در مطالعه دیگر نیز گزارش شده که عصاره روغنی سیاهدانه کلیه را در برابر آسیب رادیکال-های آزاد اکسیژن محافظت می‌کند (Uz و همکاران، 2008). هم-چنین مغز و نخاع را در برابر استرس اکسیداتیو ایجاد شده توسط آنسفالومیلیت خود ایمن تجربی محافظت می‌کند (Ozugurlu و همکاران، 2005). از طرف دیگر گزارش شده که کاربرد تیموکوئینون به‌عنوان ترکیب اصلی سیاهدانه با نقش آنتی-اکسیدانی می‌تواند رت‌ها را در برابر نیترو-ال-آرژنین متیل استر ایجادکننده آسیب کبدی محافظت نماید (Nagi و Khattab، 2007).

هدف از این پژوهش بررسی تاثیر خواص آنتی اکسیدانی عصاره هیدروالکلی سیاهدانه روی میزان آنزیم مالون دی آلدهید (MDA) و ظرفیت آنتی اکسیدانی تام (TAC) بافت تخمدان در رت‌های مدل PCOS می‌باشد.

مواد و روش‌ها

حیوانات و گروه‌های مورد آزمایش: در این مطالعه تجربی کلیه اصول اخلاقی در مورد نحوه کار با حیوانات آزمایشگاهی مدنظر قرار گرفته است. تعداد 32 رت ماده بالغ با وزن متوسط 17 ± 150 گرم، از مرکز حیوانات آزمایشگاهی دانشکده علوم دانشگاه ارومیه تهیه شده و تحت شرایط 12 ساعت روشنایی و

نوری بلانک/جذب نوری نمونه، ظرفیت آنتی اکسیدانی تام به دست آمد (Rezazadeh-Reyhani و همکاران، 2015).

آنالیز و تحلیل آماری داده‌ها: به منظور تحلیل داده‌ها و ترسیم نمودارها از نرم افزار Microsoft Office Excel 2013 استفاده شد.

نتایج

نتایج به صورت (میانگین ± انحراف معیار) ارائه گردید و در کلیه یافته‌ها ($P < 0/05$) به عنوان مرز معنی‌دار بودن از لحاظ آماری در نظر گرفته شد.

نتایج حاصل از مطالعه TAC بافت تخمدان: نتایج حاصل از مطالعه TAC بافت تخمدان نشان داده که با القای سندرم پلی کیستیک میزان TAC دچار تغییرات زیادی شده به طوری که میزان آن در گروه شاهد ($1/19 \pm 0/88$) در مقایسه با گروه کنترل ($3/41 \pm 0/91$) به صورت معنی‌داری کاهش داشته است ($P < 0/05$) (جدول 1 و شکل 1). کاهش ظرفیت آنتی اکسیدانی تام نشان‌دهنده بیش‌تر درگیر بودن آنزیم‌های آنتی اکسیدانی بدن با عوامل استرس اکسیداتیو می‌باشد. در نتیجه با القای این سندرم رادیکال‌های آزاد در بافت تخمدان افزایش می‌یابد. نتایج تیمار نشان می‌دهد که درمان با عصاره هیدروالکلی سیاهدانه باعث افزایش TAC در گروه‌های تحت درمان با این عصاره در مقایسه با گروه شاهد شده است (جدول 1 و شکل 1). که نشان‌دهنده کاهش استرس اکسیداتیو می‌باشد. این افزایش در هیچ‌کدام از گروه‌ها معنی‌دار نبود. اما گروه تیمار 2 (دوز 600؛ $1/75 \pm 0/04$) در مقایسه با گروه تیمار 1 (دوز 200؛ $1/66 \pm 0/02$) عملکرد بهتر نشان داده است (جدول 1 و شکل 1).

نتایج حاصل از مطالعه MDA بافت تخمدان: نتایج حاصل از مطالعه MDA بافت تخمدان نشان داد که در نتیجه القای سندرم تخمدان پلی کیستیک میزان MDA دچار تغییرات زیادی شده به طوری که میزان آن در گروه شاهد ($7/06 \pm 0/57$) در مقایسه با گروه کنترل ($2/063 \pm 0/88$) به صورت معنی‌داری افزایش داشته است ($P < 0/05$) (جدول 1 و شکل 2). افزایش سطح MDA نشان‌دهنده افزایش آسیب غشاء سلولی و در نتیجه افزایش استرس اکسیداتیو می‌باشد نتایج این مطالعه نشان داد که درمان با عصاره هیدروالکلی سیاهدانه باعث بهبود در وضعیت MDA می‌شود، به طوری که در گروه‌های تحت تیمار با این عصاره در مقایسه با گروه شاهد MDA کاهش داشته است (جدول 1 و شکل 2). سطوح پایین یا فقدان MDA، منعکس‌کننده اثرات محافظتی آنزیم‌های آنتی اکسیدان و نشان‌دهنده کاهش استرس اکسیداتیو می‌باشد. اما این کاهش فقط در گروه تیمار 2 ($3/97 \pm 2/18$) معنی‌دار بود ($P < 0/05$) (جدول 1 و شکل 2). پس با استفاده از دوز 600 این عصاره در مقایسه با دوز 200 ($6/89 \pm 3/56$) احتمالاً نتایج درمانی بهتری حاصل می‌شود.

سنجش مالون دی آلدنید (MDA): به عنوان مارکر

استرس اکسیداتیو، آخرین محصول تجزیه لیپیدها است. قبل از اندازه‌گیری آنزیم باید 3 نوع محلول آماده شود:

محلول یک: 1/504 گرم از NaH_2PO_4 و 0/217 گرم از Na_2HPO_4 را برداشته و هر کدام، جداگانه در یک بالن 100 میلی‌لیتری ریخته و با آب دیونیزه بالن‌ها به حجم رسانده شد. محتویات دو بالن را با هم مخلوط کرده و PH آن با استفاده از اسید فسفریک و هیدروکسید سدیم روی 7/4 تنظیم گردید.

محلول دو: 10 گرم TCA (تری کلرواستیک اسید) در یک بالن 100 میلی‌لیتری با آب دیونیزه به حجم رسانده شد.

محلول سه: 0/67 گرم از TBA در بالن 100 میلی‌لیتری ریخته شد و با آب دیونیزه به حجم رسانده شد.

دستورالعمل: به بافت تخمدان به میزان 10% وزن بافت کلرید پتاسیم 10% اضافه کرده و خوب هموژن شد. 1 میلی‌لیتر از نمونه هموژن شده با 2 میلی‌لیتر از مخلوط 3 نوع محلول (به نسبت مساوی) از قبل آماده شده، مخلوط کرده و به مدت 15 دقیقه روی آب جوش حرارت داده شد. سپس نمونه به مدت 10 دقیقه با دور 10000 دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. بعد از سرد شدن میزان جذب نوری نمونه در طول موج 550 نانومتر قرائت شد و با استفاده از فرمول $1/56 \times 10^5$ جذب نوری غلظت آنزیم به دست آمد (Rezazadeh-Reyhani و همکاران، 2015).

سنجش ظرفیت آنتی اکسیدانی تام (FRAP): ارزیابی روش

FRAP بر اساس توانایی در احیای یون Fe^{+3} به Fe^{+2} و در حضور ماده‌ای به نام TPTZ که به عنوان معرف می‌باشد، استوار است. TPTZ از مخلوط 3 نوع محلول 1، 2 و 3 به ترتیب با نسبت‌های 10:1:1 به دست می‌آید.

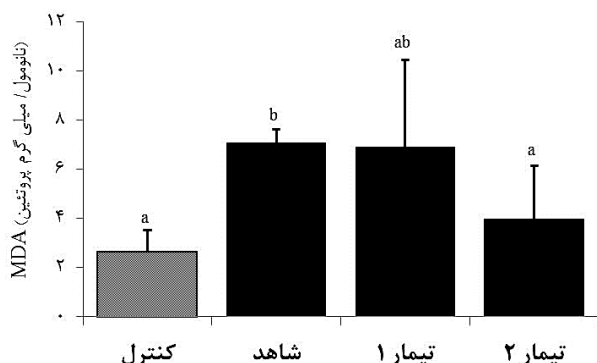
محلول 1: مقدار 0/07802 گرم TPTZ به 40 میلی‌مول از هیدروکلریک اسید اضافه شد ($0/32$ میلی‌لیتر از هیدروکلریک اسید در 1000 میلی لیتر آب دیونیزه = 40 میلی‌مول هیدروکلریک اسید).

محلول 2: مقدار 0/13513 گرم از فریک کلرید هگزاهیدرات با آب دیونیزه به حجم 25 میلی‌لیتر رسانده شد.

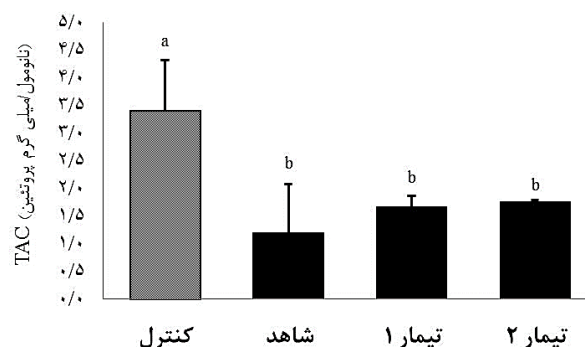
محلول 3: مقدار 0/27216 گرم از استات سدیم تری هیدرات را برداشته در یک بالن 100 میلی‌لیتری ریخته با آب دیونیزه به حجم بالن رسانده شد. PH با استفاده از هیدروکلریک اسید روی 3/6 تنظیم شد.

دستورالعمل: بافر TPTZ تازه آماده شده به مدت 10 دقیقه در دمای 37 درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. 30 میکرولیتر از نمونه هموژن شده با 200 میکرولیتر از محلول فرآپ مخلوط شده و حجم آن با آب مقطر به 1 میلی‌لیتر رسانده شد و بعد از 10 دقیقه انکوبه کردن نمونه با دور 10000 دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. بلانک نیز مانند نمونه‌ها تهیه شده فقط به جای بافت هموژن شده آب مقطر اضافه گردید. سپس جذب نوری نمونه‌ها و بلانک در طول موج 593 نانومتر قرائت شد و با استفاده از فرمول: جذب





شکل ۲: نمودار میانگین $\pm$ انحراف معیار مقدار MDA بافت تخمدان بین گروه‌های کنترل، شاهد، تیمار ۱ (درمان با دوز ۲۰۰) و تیمار ۲ (درمان با دوز ۶۰۰) در موش‌های صحرایی ماده. حروف نامشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ($p < 0/05$) می‌باشد.



شکل ۱: نمودار میانگین $\pm$ انحراف معیار مقدار TAC بافت تخمدان بین گروه‌های کنترل، شاهد، تیمار ۱ (درمان با دوز ۲۰۰) و تیمار ۲ (درمان با دوز ۶۰۰) در موش‌های صحرایی ماده. حروف نامشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ($p < 0/05$) می‌باشد.

جدول ۱: تاثیر عصاره هیدروالکلی سیاهدانه بر میزان MDA و TAC (میانگین $\pm$ انحراف معیار)

موارد آزمایش	کنترل	شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲
MDA (نانومول/میلی گرم پروتئین)	2/63 ^a $\pm$ 0/88	7/06 ^b $\pm$ 0/57	6/89 ^{ab} $\pm$ 3/56	3/97 ^a $\pm$ 2/18
TAC (نانومول/میلی گرم پروتئین)	3/41 ^a $\pm$ 0/91	1/19 ^b $\pm$ 0/88	1/66 ^b $\pm$ 0/2	1/75 ^b $\pm$ 0/04

حروف نامشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ($p < 0/05$) می‌باشد.

بحث

بیماری‌های دستگاه تناسلی و یا سایر بیماری‌هایی که به نحوی بر روی عملکرد این دستگاه تاثیر می‌گذارند می‌توانند منجر به بروز ناباروری‌های موقتی یا دائمی گردند. سندرم تخمدان پلی‌کیستیک (PCOS) شایع‌ترین ناهنجاری آندوکرینی با علت ناشناخته است که ۱۰-۵٪ زنان را در سن باروری مبتلا می‌سازد و عوارض متابولیکی، آندوکرینی و جنسیتی ایجاد می‌کند (Miller و همکاران، ۲۰۰۳). در بیماران PCOS معمولاً کیست‌های تخمدانی افزایش می‌یابد. کیست‌های تخمدانی ساختارهایی حاوی مایع فولیکولی هستند که توسط لایه نازکی از سلول‌های گرانولوزا در تخمدان احاطه شده‌اند که در نتیجه عدم تعادل هورمون‌هاست (Sasikla و Shamiha، ۲۰۰۹). استرس اکسیداتیو در بیماری‌زایی تخمدان (ناباروری) نقش مؤثری دارد و احتمالاً در افزایش تولید انسولین و آندوژن‌ها در تخمدان و اختلال در تولید فولیکول‌ها دخالت دارد (Esfandiari و همکاران، ۲۰۰۵). میزان رادیکال‌های آزاد اکسیژن که بر اثر افزایش آندروژن در تخمدان زنان مبتلا به این سندرم بالا رفته است می‌تواند انتشار یابد و از غشای سلولی عبور نماید و انواع زیادی از ملکول‌های سلول از جمله لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک را تغییر دهد. اثرات آن متعدد بوده و شامل آسیب‌های میتوکندریایی، بلاک سلولی جنین، نقصان ATP و آپوپتوزیس می‌شود (Guerin و همکاران، ۲۰۰۱). درمان سندرم تخمدان پلی‌کیستیک به علت اتیولوژی ناشناخته و بروز سایر علایم کلینیکی، کار مشکلی است. گاهی فقط به درمان علایم ثانویه چون پرمویی بسنده می‌شود اما برای درمان آن شناخت کامل فاکتورهای مختلف



مؤثر در بیماری مهم است تا علائم بیش‌تری بهبود یابد. درمان متداول با داروهای شیمیایی صورت می‌پذیرد. اما داروهای شیمیایی صرفاً با یک مکانیسم به مقابله با سندرمی چنین پر وسعت می‌پردازند. لذا به‌نظر می‌رسد استفاده از داروهای گیاهی که حاوی چندین ماده مؤثره هستند، در دوز مناسب نتیجه بهتری در پی داشته باشد (Wang و همکاران، ۲۰۱۲). البته در تحقیقات بالینی استفاده هم‌زمان دو داروی شیمیایی و گیاهی هم کاربرد دارد که بیش‌تر برای کاهش عوارض جانبی داروی شیمیایی و گاهی اثر سینرژیستی آن دو است (Armanini و همکاران، ۲۰۰۵). مطالعات اخیر نشان داده‌اند که سیاهدانه اختلالات سیستم رادیکال‌های آزاد را بهبود می‌بخشد و از مکانیسم‌های دفاعی آنتی-اکسیدان در شرایط داخل بدن و آزمایشگاهی پشتیبانی می‌کند (Ashraf و همکاران، ۲۰۱۱) به‌همین دلیل استفاده از این گیاه دارویی می‌تواند در بهبود علائم این سندرم مفید باشد.

استفاده از سایر داروهای گیاهی نیز برای کاهش عوارض متابولیک سندرم تخمدان پلی‌کیستیک، مفید گزارش شده است. مثلاً استفاده از گیاه *Labisiapumila* اثر مفیدی روی این سندرم القا شده با دی هیدروتستوسترون در رت داشته‌است (Manneras و همکاران، ۲۰۰۷). Rezvanfar و همکاران (۲۰۱۲) از ترکیب سه عصاره گیاهی و سلنیوم روی سندرم تخمدان پلی‌کیستیک اثرات درمانی موفقی به‌دست آوردند. استفاده از موم‌زنبور عسل در همین مدل سندرم القا شده با استرادیول و ال‌رات در رت نیز اثرات درمانی در پی داشته است (Nabiuni و همکاران، ۲۰۱۲). در پژوهش دیگری که بر روی عصاره میوه گیاه پنج انگشت در

ترکیباتی نظیر توکوفرول، کاروتنوئیدها، یون‌های فلزی و ترکیبات فسفوری در مقادیر کمتر، گیاه تازه و دست نخورده بیش‌تر از روغن حاصل از آن در برابر اکسیداسیون مقاوم است. لیپیدهای قطبی سیاهدانه به‌ویژه فسفولیپیدها منبع قوی ترکیبات آنتی‌اکسیدان است. خروج هیدروپراکسیدها از روغن سرعت اکسیداسیون را کند می‌کند (Famadan, 2004). تیموکوئینون و متابولیت آن دی‌هیدروتیموکوئینون به‌عنوان آنتی‌اکسیدان نقش مهمی در پیشگیری از پراکسیداسیون چربی‌ها در بافت‌های مختلف موش از خود نشان داده‌اند (Mansour و همکاران، 2002). سیاهدانه رادیکال‌های آزاد تولید شده توسط تشعشعات را خنثی می‌کند (Cemek و همکاران، 2006) و باعث کاهش پراکسیداسیون لیپیدی می‌شود (Khan و Sultana، 2005). مطالعه حاضر با مطالعات فوق همخوانی دارد از آن جایی‌که مصرف سیاهدانه باعث افزایش TAC شده که با مقابله با رادیکال‌های آزاد باعث کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و استرس اکسیداتیو می‌شوند. با توجه به فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره هیدروالکلی سیاهدانه می‌توان با توصیه به افراد سالم جهت تقویت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی از ایجاد بیماری‌های جلوگیری کرد (پیشگیری اولیه) و در بیماران نیز با تقویت این سیستم از عوارض ناشی از بیماری جلوگیری نمود یا بروز آن را به تعویق انداخت.

با توجه به نتایج این مطالعه می‌توان گفت که سندرم تخمدان پلی‌کیستیک باعث افزایش استرس اکسیداتیو می‌گردد و سیاهدانه با دارا بودن ترکیبات فراوان با خواص آنتی‌اکسیدانی قوی باعث کاهش استرس اکسیداتیو و مانع اثرات رادیکال‌های آزاد بر روی بافت تخمدان می‌گردد. در پایان پیشنهاد می‌شود با استخراج و خالص سازی ترکیبات عصاره سیاهدانه به‌منظور کشف ساز و کارهای مولکولی تحقیقات بیش‌تر صورت گیرد.

منابع

1. جلودار، غ. و عسکری، ک.، 1391. بررسی اثر هیدروالکلی گیاه پنج انگشت بر روی تغییرات هورمون‌های جنسی در سندرم تخمدان پلی‌کیستیک (PCOS) القایی در موش صحرایی. مجله فیزیولوژی و فارماکولوژی. جلد 16، شماره 1، صفحات 63 تا 69.
2. Abdel- Razik, H.; Farrag, A.; Mostafa, M. and Osfor, M., 2007. Protective Effect of Nigella sativa Seeds Lead induced Hepatorenal Damage in Male Rats. P Pakistan J of Biological Sciences. Vol. 10, No. 17, pp: 2809-2816.
3. Agarwal, A.; Gupta, S. and Sharma, R.K., 2005. Role of oxidative stress in female reproduction. Reprod Biol Endocrinol. Vol. 3, 28 p.
4. Akhondian, J.; Parsa, A. and Rakhshande, H., 2007. The effect of Nigella sativa (black cumin seed) on intractable pediatric seizures. Med Sci Monit. Vol. 13, pp: CR555-559.
5. Al-Enazi, M.M., 2007. Effect of thymoquinone on malformations and oxidative stress-induced diabetic mice. Pakistan J Biol Sci. Vol. 10, No. 18, pp: 3115-3119.
6. Ali, B. and Blunden, G., 2003. Pharmacological and toxicological properties of Nigella sativa. Phytother Res. Vol. 17, No. 4, pp: 299-305.

موش‌های صحرایی نژاد Sprague dawley مبتلا به سندرم پلی‌کیستیک تخمدانی صورت گرفت پیشنهاد نمودند که عصاره این گیاه احتمالاً از طریق تأثیر بر ترشح گنادوتروپین‌ها و هورمون‌های جنسی باعث بهبود عوارض این سندرم می‌شود (جلودار و عسکری، 1391). همچنین استفاده از داروهای سنتی چینی در زنان مبتلا به این سندرم با مکانیسم‌های مختلفی علایم مربوط را بهبود بخشیده است (Ried و Stuart، 2011). حتی در برخی موارد محققان و پزشکان چینی و کره‌ای استفاده از طب سوزنی را به‌همراه درمان‌های گیاهی جایگزین جراحی‌های درمانی معمول کرده‌اند (Yu و همکاران، 2013). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تجویز عصاره سیاهدانه باعث کاهش MDA و افزایش TAC در بافت تخمدان و کاهش اثرات مخرب استرس بر این بافت گردید. در مطالعات قبلی نیز تیموکوئینون ماده موثره سیاهدانه با دوزهای 20، 40 و 80 میلی‌گرم/کیلوگرم باعث کاهش فراوان MDA گردید (Hoseeinzadeh و همکاران، 2012). اما در یک سری از مطالعات سیاهدانه و تیموکوئینون با دوز 16 میلی‌گرم بر کیلوگرم باعث افزایش مقدار کم MDA شده است (Ulu و همکاران، 2012). در مطالعه‌ای دیگر، سیاهدانه هندی با استفاده از روش تیوسیانات آهن و به کمک لینولنیک و دستگاه اسپکتروفتومتری، با کاهش رادیکال‌های آزاد، باعث کاهش تشکیل پراکسیدها و در نتیجه افزایش جذب محلول شده است. این نتیجه با استفاده از روغن دانه کلزا نیز مشاهده شده است (Singh و همکاران، 2005).

El Shenawy و همکاران (2008) در مطالعه‌ای تحت عنوان اثر خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره سیر و سیاهدانه به عنوان عوامل آنتی‌شیستوسومیازیس در موش‌ها گزارش کردند که سیاهدانه و سیر دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌شیستوسومیازیس می‌باشند. همچنین در مطالعه دیگری گزارش شد که کادمیوم می‌تواند در رت‌ها سطوح مالون دی‌آلدنید خون و اریتروسیته و آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی سوپراکسید دیسموتاز، گلوکاتایون پراکسیداز و کاتالاز را افزایش دهد و درمان با سیاهدانه می‌تواند سطوح مالون دی‌آلدنید خون و اریتروسیته‌ها و همچنین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مذکور را کاهش دهد (Kanter و همکاران، 2005) و در درمان دیابت حاملگی موش‌ها موثر بوده و می‌تواند ناهنجاری‌های جنینی ایجاد شده توسط رادیکال‌های آزاد را از طریق افزایش اندازه جنین و بلوغ آن‌ها مهار کند (Al-Enazi، 2007).

Bucar و Burits (2000) در مطالعه‌ای تحت عنوان فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس روغنی سیاهدانه گزارش کردند که تیموکوئینون و ترکیبات کارواکرو، 4-آنتول و تترائترپینول دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی و حذف‌کنندگی رادیکال‌های آزاد هستند. روغن سیاهدانه و تیموکوئینون، از طریق غیرآنزیمی، پراکسیداسیون چربی‌ها را در لیپوزوم مهار می‌کنند و ترکیبات دیگر سیاهدانه مانند کینون، کارواکرو، تی آنتول و تترائترپینول، در اتصال رادیکال‌های آزاد به یکدیگر فوق‌العاده‌اند (Houghton و همکاران، 1995). به‌علت وجود اسیدهای چرب و



- damage in streptozotocin-induced diabetic rats. *Discov Mol Cell Evol Biol.* Vol. 279, No. 1, pp: 685-691.
22. **Kanter, M.; Coskun, O. and Gurel, A., 2005.** Effect of black cumin (*Nigella sativa*) on cadmium-induced oxidative stress in the blood of rats. *Biol Trace Element Res.* Vol. 107, No. 3, pp: 277-287.
 23. **Khan, N. and Sultana, S., 2005.** Inhibition of two stage renal carcinogenesis, oxidative damage and hyperproliferative response by *Nigella sativa*. *EJCP.* Vol. 14, No. 2, pp: 68-159.
 24. **Khattab, M.M. and Nagi, M.N., 2007.** Thymoquinone supplementation attenuates hypertension and renal damage in nitric oxide deficient hypertensive rats. *Phytother Res.* Vol. 21, No. 5, pp: 410-414.
 25. **Ledger, W.L., 2010.** Clinical utility of measurement of anti Müllerian hormone in reproductive endocrinology. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism.* Vol. 95, No. 12, pp: 5144-5154.
 26. **Mannerås, L.; Lystig, T.; Holmång, A.; Ottosson-Lönn, M. and Stener-Victorin, E., 2007.** Continuous administration of dihydrotestosterone or letrozole to immature female rats results in polycystic ovary syndrome characteristics at adult age. *American Journal of Physiology Regulatory, Integrative and Comparative Physiology.* Vol. 281, No. 5, pp: 488-501.
 27. **Mansour, M.A.; Nagi, M.N.; El Khatib, A.S. and Al Bekairi, A.M., 2002.** Effects of thymoquinone on antioxidant enzyme activities, lipid peroxidation and PI-diaphorase in different tissues of mice: a possible mechanism of action. *Cell Biochem. Funct.* Vol. 20, pp: 143-151.
 28. **McCraty, R.; Atkinson, M. and Conforti, K., 1999.** Heart rate variability, hemoglobin A1c and psychological health in type 1 and 2 diabetes following an emotional self management program: proceeding of the society of behavioral medicine. 20th ed. California: Annual Sci Sessions San Diego, pp: 405-409.
 29. **Miller, W.; Dixon, J.; Macfarlane, L.; Cameron, D. and Anderson, T., 2003.** Pathological features of breast cancer response following neoadjuvant treatment with either letrozole or tamoxifen. *European Journal of Cancer.* Vol. 39, No. 4, pp: 462-468.
 30. **Nabiuni, M.; Nasri, S.; Poyanmanesh, F.; Karimzadeh, L. and Nazari, Z., 2012.** Honey Bee Venom Modulates Hyperglycemia in Response to Hyperandrogenism in Polycystic Ovarian Syndrome-Induced Wistar Rats. *International conference on applied life sciences.* Vol. 12, pp: 235-240.
 31. **Nasri, S.; Oryan, S.H.; Rohani, A.H. and Amin, G.H.R., 2007.** The effect of Vitex agnus castus extract on LH and testosterone in male mice. *J Pak J Biol Sci.* Vol. 10, No. 14, pp: 2300-2307.
 32. **Ozugurlu, F.; Sahin, S.; Idiz, N.; Akyol, O.; Ilhan, A. and Yigitoglu, R., 2005.** The effect of *Nigella sativa* oil against experimental allergic encephalomyelitis via nitric oxide and other oxidative stress parameters. *Cell Mol Biol.* Vol. 51, No. 3, pp: 337-342.
 33. **Padhye, S.; Banerjee, S.; Ahmad, A.; Mohammad, R. and Sarkar, F.H., 2008.** From here to eternity the secret of Pharaohs: Therapeutic potential of black cumin seeds and beyond. *Cancer Ther.* Vol. 6, No. b, pp: 495-510.
 7. **Armanini, D.; Fiore, C.; Bielenberg, J. and Ragazzi, E., 2005.** Licorice (*Glycyrrhizaglabra*) In: *Encyclopedia of dietary supplements*, Coates, P.M., Blackman, R.M., Cragg, G.M., Levine, M., Moss, J., White, J.D (ed). pp: 391-399 (Marcel Dekker Inc.: New York).
 8. **Ashraf, S.S.; Rao, M.V.; Kaneez, F.S.; Qadri, S.; Al Marzouqi, A.H. and Chandranath, I.S., 2011.** *Nigella sativa* extract as a potent antioxidant for petrochemical induced oxidative stress. *J Chromatogr Sci.* Vol. 49, pp: 321-326.
 9. **Burits, M. and Bucar, F., 2000.** Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytother. Res.* Vol. 14, No. 5, pp: 323-328.
 10. **Cemek, M.; Enginar, H.; Karaca, T. and Unak, P., 2006.** In vivo radioprotective effects of *Nigella sativa* L oil and reduced glutathione against irradiation-induced oxidative injury and number of peripheral blood lymphocytes in rats. *Photochem Photobiol.* Vol. 82, No. 6, pp: 1691-1696.
 11. **El Shenawy, N.S.; Soliman, M.F.M. and Reyad, S.I., 2008.** The effect of antioxidant properties of aqueous galic extract and *Nigella sativa* as Anti-schistosomiasis agents in mice. *Rev Inst Med Trop. S Paulo.* Vol. 50, No. 1, pp: 29-36.
 12. **Esfandiari, N.; Falcon, T.; Agarwal, A.; Attaran, M.; Nelson, D.R. and Sharma, R.K., 2005.** Protein supplementation and the incidence of apoptosis and oxidative stress in mouse embryos. *Obstet Gynecol.* pp: 653-660.
 13. **Falah hoseini, H.; Mohtashami, R.; Sadesghi, Z.; Saeidi, Y. and Falah hoseini, A., 2011.** A review of the pharmacological effects of *Nigella sativa* seeds (*Nigella sativa* L.). *Quarterly pharmaceutical crops.* Vol. 2, pp: 1-14. [Full Text in Persian]
 14. **Famadan, M.F., 2004.** Oxidative stability of black cumin (*Nigella sativa* L.), coriander (*Coriandrum sativum* L.) and niger (*Guizotia abyssinica* cass.) Crude seed oils upon stripping. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* Vol. 106, pp: 35-43.
 15. **Gilani, A.H.; Jabeen, Q. and Ullah khan, M.A., 2004.** A review of medicinal uses and pharmacological activities *Nigella sativa*. *Pak J Biol Sci.* Vol. 7, pp: 441-451.
 16. **Guerin, P.; El Moutassim, S. and Menezo, Y., 2001.** Oxidative stress and protection against reactive oxygen species in the pre-implantation embryo and its surroundings. *Human Reproduction Update.* Vol. 7, No. 2, pp: 175-189.
 17. **Halliwell, B. and Whiteman, M., 2004.** Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? *BJP May.* Vol. 142, No. 2, pp: 231-255.
 18. **Hoseeinzadeh, H.; Taiari, S. and Nasiri-Asl, M., 2012.** Effect of thymoquinone, a constituent of *Nigella sativa* L., on ischemia-reperfusion in rat skeletal muscle. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol.* Vol. 385, pp: 503-508.
 19. **Houghton, P.J.; Zarka, R.; De las Heras, B. and Hoult, J.R.S., 1995.** Fixed oil of *Nigella sativa* and derived thymoquinone inhibit eicosanoid generation in leukocytes and membrane lipid peroxidation. *Planta Med.* Vol. 61, pp: 6-33.
 20. **Juranek, I. and Bezek, S., 2005.** Controversy of free radicals hypothesis: reactive oxygen species – cause or consequence of tissue injury? *Gen Physiol Biophys.* Vol. 24, No. 3, pp: 78-263.
 21. **Kanter, M.; Coskun, O.; Korkmaz, A. and Oter, S., 2004.** Effects of *Nigella sativa* on oxidative stress and beta-cell



- radical scavenging. Journal of Exp Med. Vol. 203, No. 4, pp: 1117-1127.
48. **Yaman, I. and Balikci, E., 2010.** Protective effects of nigella sativa against gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. Exp. Toxicol. Pathol. Vol. 62, No. 2, pp: 90-183.
 49. **Yar, T.; El-Hariri, M.; El-Bahai, M.N. and Bamosa, AO., 2008.** Effects of *Nigella sativa* supplementation for one month on cardiac reserve in rats. Indian Physiol Pharmacol. Vol. 52, No. 2, pp: 141-148.
 50. **Yu, L.; Liao, Y.; Wu, H.; Zhao, J.; Wu, L.; Shi, Y. and Fang, J., 2013.** Effects of electroacupuncture and Chinese kidney-nourishing medicine on polycystic ovary syndrome in obese patients. Journal of Traditional Chinese Medicine. Vol. 33, No. 3, pp: 287-293.
 34. **Radad, K.; Moldzio, R.; Taha, M. and Rausch, W.D., 2009.** Thymoquinone protects dopaminergic neurons against MPP (+) and rotenone. Phytother Res. Vol. 23, No. 5, pp: 696-700.
 35. **Rezazadeh-Reyhani, Z.; Razi, M.; Malekinejad, H. and Sadrkhanlou, R., 2015.** Cytotoxic effect of nanosilver particles on testicular tissue: Evidence for biochemical stress and Hsp70-2 protein expression. Environ Toxicol Pharmacol Sep. Vol. 40, No. 2, pp: 626-638.
 36. **Rezvanfar, M.; Ahmadi, A.; Shojaei-Saadi, H.; Baeeri, M. and Abdollahi, M., 2012.** Molecular mechanisms of a novel selenium-based complementary medicine which confers protection against hyperandrogenism-induced polycystic ovary. Theriogenology. Vol. 78, No. 3, pp: 620-631.
 37. **Ried, K. and Stuart, K., 2011.** Efficacy of Traditional Chinese Herbal Medicine in the management of female infertility: a systematic review. Complementary therapies in medicine. Vol. 19, No. 6, pp: 319-326.
 38. **Rodrigues, B. and Poucheret, D., 1999.** Streptozotocin induced diabetes induction mechanism and dose dependency. In: McNeills JH. Experimental models of diabetes Boca Raton. NewYourk: CRC Press. pp: 3-14.
 39. **Roshan, S.; Abdullah, K.H.; Tazneem, B. and Sadath, A., 2010.** To study the effect of *Nigella sativa* on various biochemical parameters on stress induced in albino rats. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. Vol. 2, pp: 185-189.
 40. **Salehi surmaghi, M.H., 2008.** *Nigella Sativa*. In Herbal Medicine and Herbal Therapy, volum 2, Donyay Taghziah press. Tehran Iran. pp: 216-219.
 41. **Sasikla, S.L. and Shamiha, S., 2009.** Unique rat model exhibiting biochemical fluctuations of letrozole induced polycystic ovary syndrome and subsequent treatment with allopathic and ayurvedic medicines. Journal of Cell and Tissue Research. Vol. 9, No. 3, pp: 2013-2017.
 42. **Singh, G.; Marimuhu, P.; Heluani, C.S.D. and Catalan, C., 2005.** Chemical constituents and antimicrobial and antioxidant potentials of essential oil and acetone extract of *Nigella sativa* seeds. J. Sci. Food Agricultur. Vol. 85, pp: 2297-2306.
 43. **Sugino, N.; Takiguchi, S.; Kashida, S.; Karube, A.; Nakamura, Y. and Kato, H., 2000.** Superoxide dismutase expression in the human corpus luteum during the menstrual cycle and in early pregnancy. Mol Hum Reprod. Vol. 6, pp: 19-25.
 44. **Ulu, R.; Dogukan, A.; Tuzcu, M.; Gencoglu, H.; Ulas, M. and Ilhan, N., 2012.** Regulation of renal organic anion and cation transporters by thymoquinone in cisplatin induced kidney injury. Food and Chemical Toxicology. Vol. 50, pp: 1675-1679.
 45. **Uz, E.; Bayrak, O.; Kaya, A.; Bayrak, R.; Uz, B. et al., 2008.** *Nigella sativa* oil for prevention of chronic cyclosporine nephrotoxicity: an experimental model. Am J Nephrol. Vol. 28, No. 3, pp: 22-517.
 46. **Wang, C.C.; Li, L.; Tang, L.Y. and Leung, P.C., 2012.** Safety evaluation of commonly used Chinese herbal medicines during pregnancy in mice. Human Reproduction. Vol. 27, No. 8, pp: 2448-2456.
 47. **Wu, B.J.; Kathir, K.; Witting, P.K.; Beck, K.; Choy, K. and Li, C., 2006.** Antioxidants protect from atherosclerosis by a heme oxygenase -1 pathway that is independent of free

