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

- **روناک کهزادی***: گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ایران، صندوق پستی: ۵۱۸۱۸-۵۷۵۶۱
- **وحید نجاتی**: گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ایران، صندوق پستی: ۵۱۸۱۸-۵۷۵۶۱
- **مزدک رازی**: گروه بافت شناسی تطبیقی و جنین شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ایران، صندوق‌پستی: ۵۱۸۱۸-۵۷۵۶۱
- **غلامرضا نجفی**: گروه آناتومی و جنین شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ایران، صندوق پستی: ۵۱۸۱۸-۵۷۵۶۱

تاریخ دریافت: مرداد ۱۳۹۵ تاریخ پذیرش: آبان ۱۳۹۵

چکیده

سندرم تخمدان پلی‌کیستیک (PCOS) بیماری شایعی است که ۱۰-۵٪ 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 آنتی‌اکسیدانی بافت تخمدان در رت‌های مدل PCOS بررسی شد. بدین منظور ۳۲ رت ماده بالغ به‌طور تصادفی به ٤ گروه تقسیم شدند. شامل: گروه کنترل، گروه PCOS القا شده (با دریافت ٤ میلی‌گرم استرادیول والرات، تزریق عضلانی)، گروه تحت درمان PCOS+ سیاهدانه (با دوز ۲۰۰ میلی گرم/کیلوگرم وزن بدن) و گروه تحت درمان PCOS+ سیاهدانه (با دوز ٦۰۰ میلی گرم/کیلوگرم وزن بدن). حیوانات عصاره سیاهدانه را به‌صورت خوراکی توسط گاواژ به‌مدت ٦۳ روز دریافت کردند. بعد از ٦۳ 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 ٦۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن بیش‌ترین تاثیر مثبت را داشت. بنابراین سیاهدانه دارای فعالیت آنتی اکسیدانی است و موجب کاهش استرس اکسیداتیو می شود.

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

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: ronak.kohzadi@gmail.com

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 پلی‌کیستیک (PCOS) هم به عنوان یکی از عوامل ناباروری در سطح جامعه است که ۱۰-۵ ٪ 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 سندروم، علل متفاوت و ناشناخته‌ای در بروز آن نقش دارد و علایم بالینی و شدت آن در بیماران مختلف متفاوت است (Ledger، ۲۰۱۰). رادیکال‌های آزاد، نقش دوجانبه‌ای در مسیر تولیدمثل دارند و مولکول‌های کلیدی سیگنالینگ برای عملکردهای متنوع تخمدان هستند (Sugino و همکاران، ۲۰۰۰) به ویژه، عملکرد سوء رادیکال‌های آزاد در ریزمحیط تخمک، اسپرم و در مایع فولیکولی منجر به تغییراتی می‌شود که این تغییرات بر تکوین فولیکولی، تخمک‌گذاری، کیفیت تخمک ا، میان‌کنش اسپرم-تخمک، لانه‌گزینی و تکوین اولیه جنینی تاثیر می‌گذارد (Agarwal و همکاران، ۲۰۰۵). گیاهان دارویی غنی از عوامل ضداسترس هستند به‌همین دلیل باعث افزایش اهمیت بالینی آن‌ها می‌گردد (Roshan و همکاران، ۲۰۱۰). 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، ۲۰۱۱). سیاهدانه گیاهی علفی، یک‌ساله و کوتاه قد (حدود ۲۰-۳۰ سانتی‌متر) است، و در زبان لاتین به نام پاناسهآ به معنی «شفا و علاج همه بیماری‌ها» می‌باشد(Padhy و همکاران، ۲۰۰۸). سیاهدانه حاوی روغن ثابت (٪۳۵-۴۰)، روغن فرار (٪۵/۵-۱/۰)، پروتئین (٪۲۳)، ۸ نوع اسیدآمینه، قندهای گلوکز، رامنوز، گزیلوز و آرابینوز، موسیلاژ، آلکالوئیدها، اسیدهای ارگانیک، تانن‌ها، رزین‌ها، گلیکوزیدها، متاربین (Metarbin)، ساپونین‌ها، ملانتیژنین (Melanthigenin)، لیپاز و فیتواستول‌ها (Phytosterols) است. از روغن فرار سیاهدانه موادی نظیر تیمول، تیموکوئینون (Thymoquinone) و دی تیموکوئینون (Dithymoquinone) به‌دست می‌آید (Gilani و همکاران، ۲۰۰۴). تیموکوئینون ترکیب اصلی سیاهدانه بوده و دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی و ضدسرطانی است (Radad و همکاران، ۲۰۰۹). خواص متعددی برای سیاهدانه ذکر کرده‌اند ازجمله: پایین آورنده تب، ضد اسپاسم، پیشگیری از حملات آسم، ضدتشنج و ضدقارچ(Akhondian و همکاران، ۲۰۰۷)، درمان سرفه، برونشیت، سردرد، آنفولانزا، لاکتاز و دفع کرم‌های روده (Yar و همکاران، ۲۰۰۸)، درمان دیابت، ناتوانی جنسی، سرگیجه، ضدنفخ، مدر، قاعده‌آور و ضد انگل (Ali و Blunden، ۲۰۰۳)، ضدمیکروب و ملین است و در مواردی سقط جنین را باعث می‌شود (Abdel–Razik و همکاران، ۲۰۰۷)، هم‌چنین برای درمان احتقان بینی، آلرژی و دندان درد مفید بوده و شیرافزا می‌باشد (Salehi surmaghi، ۲۰۰۸). هم‌چنین مطالعات زیادی روی سیاهدانه صورت گرفته است به‌طور مثال Kanter و همکاران(۲۰۰۴) در مطالعه‌ای تحت عنوان اثرات سیاهدانه‌روی استرس‌اکسیداتیو 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 رادیکال‌های آزاد اکسیژن محافظت می‌کند (Uz و همکاران، ۲۰۰۸). هم‌چنین مغز و نخاع را در برابر استرس اکسیداتیو ایجاد شده توسط آنسفالومیلیت خود ایمن تجربی محافظت می‌کند (Ozugurlu و همکاران، ۲۰۰۵). از طرف دیگر گزارش شده که کاربرد تیموکوئینون به‌عنوان ترکیب اصلی سیاهدانه با نقش آنتی‌اکسیدانی می‌تواند رت‌ها را در برابر نیترو-ال-آرژینین متیل استر ایجادکننده آسیب کبدی محافظت نماید (Khattab و Nagi، ۲۰۰۷).

هدف از این پژوهش بررسی تاثیر خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره هیدروالکلی سیاهدانه روی میزان آنزیم مالون دی آلدهید (MDA) و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی 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 ۳۲ رت ماده بالغ با وزن متوسط ۱۷±۱۵۰ گرم، از مرکز حیوانات آزمایشگاهی دانشکده علوم دانشگاه ارومیه تهیه شده و تحت شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی در دمای ۳±۲۲ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۲۵ تا ۳۰ 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 ۴ گروه (۸ 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 کنجد استریل تزریق شد و هیچ درمانی دریافت نکردند. گروه شاهد: در این گروه با دریافت ۴ میلی‌گرم استرادیول والرات، PCOS به‌صورت تجربی در رت‌ها القا شد و هیچ تیماری روی آن‌ها صورت نگرفت. گروه‌های تیمار ۱ و تیمار ۲: در این گروه‌ها در رت‌ها PCOS القا شده و به‌ترتیب با دریافت دوزهای ۲۰۰ میلی‌گرم/گیلوگرم و ۶۰۰ میلی‌گرم/گیلوگرم وزن بدنشان با عصاره هیدروالکلی سیاهدانه به‌صورت خوراکی و از طریق گاواژ به‌مدت ۶۳ روز درمان شدند. برای القای PCOSاز آمپول‌های استرادیول والرات ساخت کارخانه ابوریحان استفاده گردید. هر ویال از این آمپول‌ها حاوی ۱ میلی‌لیتر محلول روغنی استرادیول والرات بوده که هر ویال یا به‌عبارتی هر ۱ میلی‌لیتر از این دارو حاوی ۱۰ میلی‌گرم ماده موثر بود. برای این‌که هر موش ۴ میلی‌گرم ماده موثر دریافت کند به هر حیوان ۰/۴ میلی‌لیتر از داروی مزبور به‌صورت داخل عضلانی تزریق گردید تا PCOSدر آن‌ها ایجاد شود (در دو نوبت و هربار به‌میزان ۰/۲ میلی‌لیتر، به فاصله ۴ 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 کنجد استریل تزریق گردید.

عصاره‌گیری: برای عصاره‌گیری ابتدا واریته 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 (۳۰ درصد آب و ۷۰ درصد اتانول ۹۶ درجه) خیسانده شد. بدین منظور پودر سیاهدانه را در ظرف مناسبی ریخته شد و سپس به‌ازای هر گرم پودر، ۵ میلی‌لیتر حلال هیدروالکلی به آن افزوده گردید و ظرف روی شیکر بدون حرارت به‌مدت ۷۲ 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 ۵۰ درجه سانتی‌گراد و تحت خلا تغلیظ شد، محلول نهایی در اون با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا الکل باقی‌مانده آن تبخیر گردد (Nasri و همکاران، ۲۰۰۷).

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

سنجش مالون دی آلدئید (MDA): MDA به عنوان مارکر استرس اکسیداتیو، آخرین محصول تجزیه لیپیدها است. قبل از اندازه‌گیری آنزیم باید ۳ نوع محلول آماده شود:

محلول یک: ۱/۵۰۴ گرم از NaH_2PO_4 و ۰/۲۱۷ گرم از Na_2HPO_4 را برداشته و هر کدام، جداگانه در یک بالن ۱۰۰ میلی‌لیتری ریخته و با آب دیونیزه بالن‌ها به حجم رسانده شد. محتویات دو بالن را با هم مخلوط کرده‌و PH آن با استفاده از اسیدفسفریک و هیدروکسید سدیم روی ۷/۴ تنظیم گردید.

محلول دو: ۱۰ گرم TCA (تری کلرواستیک اسید) در یک بالن ۱۰۰ میلی‌لیتری با آب دیونیزه به حجم رسانده شد.

محلول سه: ۰/۶۷ گرم از TBA در بالن ۱۰۰ میلی‌لیتری ریخته شد و با آب دیونیزه به حجم رسانده شد.

دستورالعمل: به بافت تخمدان به میزان ۱۰٪ وزن بافت کلریدپتاسیم ۱۰٪ اضافه کرده و خوب هموژن شد. ۱ میلی‌لیتر از نمونه هموژن شده با ۲ میلی‌لیتر از مخلوط ۳ نوع محلول (به نسبت مساوی) از قبل آماده شده، مخلوط کرده و به‌مدت ۱۵ دقیقه روی آب جوش حرارت داده شد. سپس نمونه به‌مدت ۱۰ دقیقه با دور ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. بعد از سرد شدن میزان جذب نوری نمونه در طول موج ۵۵۰نانومتر قرائت شدوبااستفاده از فرمول $1/56\times10^{5}$/جذب نوری غلظت آنزیم به‌دست آمد (Rezazadeh-Reyhani و همکاران، ۲۰۱۵).

سنجش ظرفیت آنتی‌آکسیدانی تام (FRAP): ارزیابی روش FRAP براساس توانایی در احیای یون Fe^{+3} به Fe^{+2}و در حضور ماده‌ای به‌نام TPTZ که به‌عنوان معرف می‌باشد، استوار است. TPTZ از مخلوط ۳ نوع محلول ۱، ۲ و ۳ به‌ترتیب با نسبت‌های ۱۰:۱:۱ به‌دست می‌آید.

محلول ۱: مقدار ۰/۰۷۸۰۲ گرم TPTZ به ۴۰ میلی‌مول از هیدروکلریک اسید اضافه شد (۰/۳۲ میلی‌لیتر از هیدروکلریک اسید در ۱۰۰۰ میلی لیتر آب دیونیزه = ۴۰ میلی‌مول هیدروکلریک اسید).

محلول ۲: مقدار ۰/۱۳۵۱۳ گرم از فریک کلرید هگزاهیدرات با آب دیونیزه به حجم ۲۵ میلی‌لیتر رسانده شد.

محلول ۳: مقدار ۰/۲۷۲۱۶ گرم از استات سدیم تری هیدرات را برداشته در یک بالن ۱۰۰ میلی‌لیتری ریخته با آب دیونیزه به حجم بالن رسانده شد. PH بااستفاده‌از هیدروکلریک‌اسید روی ۳/۶ تنظیم شد.

دستورالعمل: بافر TPTZ تازه آماده شده به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه‌سانتی‌گراد انکوبه گردید. ۳۰ میکرولیتر از نمونه هموژن شده

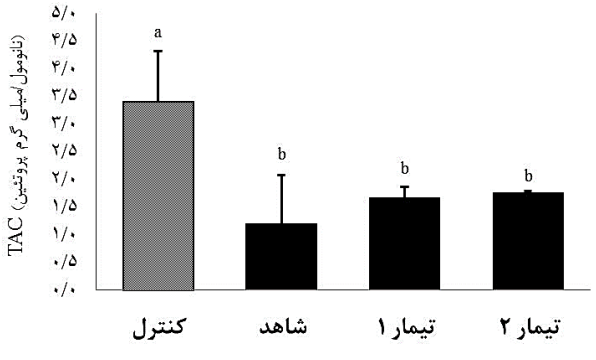
با ۲۰۰ میکرولیتر از محلول فراپ مخلوط شده و حجم آن با آب مقطر به ۱ میلی‌لیتر رسانده شد و بعد از ۱۰ دقیقه انکوبه کردن نمونه بادور ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. بلانک نیز مانند نمونه‌ها تهیه شده فقط به‌جای بافت هموژن شده آب مقطر اضافه گردید. سپس جذب نوری نمونه‌ها و بلانک در طول موج ۵۹۳ نانومتر قرائت شدوبا استفاده از فرمول: جذب نوری بلانک/جذب نوری نمونه، ظرفیت آنتی اکسیدانی تام به‌دست آمد (Rezazadeh-Reyhani و همکاران، ۲۰۱۵).

آنالیز و تحلیل آماری داده‌ها: به‌منظور تحلیل داده‌ها و ترسیم نمودارها از نرم‌افزار Microsoft Office Excel ,۲۰۱۳ استفاده شد.

نتایج

نتایج به‌صورت (میانگین±انحراف معیار) ارائه گردید و در کلیه یافته‌ها (P<۰/۰۵) به‌عنوان مرز معنی‌دار بودن از لحاظ آماری درنظر گرفته شد.

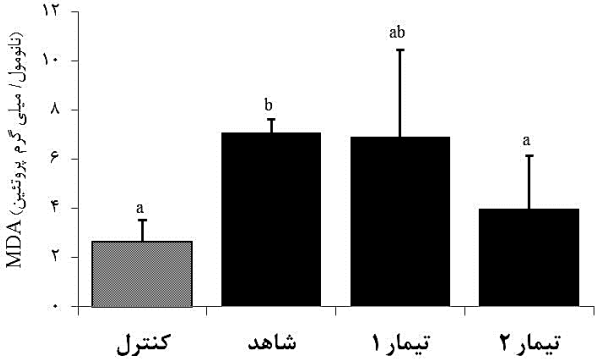
نتایج حاصل از مطالعه TAC بافت تخمدان: نتایج حاصل از مطالعه TAC بافت تخمدان نشان داده که با القای سندرم تخمدان پلی‌کیستیک میزان TAC دچار تغییرات زیادی شده به‌طوری‌که میزان آن در گروه شاهد (۱۹/۸۸±۱/۰) در مقایسه با گروه کنترل (۰/۹۱±۳/۴۱) به‌صورت معنی‌داری کاهش داشته است (P<۰/۰۵) (جدول ۱ و شکل ۱). کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام نشان‌دهنده بیش‌تر درگیر بودن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی 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 درگروه‌های تحت درمان با این عصاره در مقایسه با گروه شاهد شده است (جدول ۱ و شکل ۱). که نشان‌دهنده کاهش استرس اکسیداتیو می‌باشد. این افزایش در هیچ‌کدام از گروه‌ها معنی‌دار نبود. اما گروه تیمار ۲ (دوز ۶۰۰: ۰/۰۴±۱/۷۵) در مقایسه با گروه تیمار ۱ (دوز ۲۰۰: ۰/۲±۱/۶۶) عملکرد بهتر نشان داده است (جدول ۱ و شکل ۱).



شکل ۱: نمودار میانگین± انحراف معیار مقدار TAC بافت تخمدان بین گروه‌های کنترل، شاهد، تیمار ۱ (درمان با دوز ۲۰۰) و تیمار۲ (درمان با دوز ۶۰۰) در موش‌های صحرایی ماده

حروف نامشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح (P<۰/۰۵) می‌باشد.

نتایج حاصل از مطالعه MDA بافت تخمدان: نتایج حاصل از مطالعه MDA بافت تخمدان نشان داد که در نتیجه القای سندرم تخمدان پلی‌کیستیک میزان MDA دچار تغییرات زیادی شده به طوری‌که میزان آن در گروه شاهد (۷/۰۶±۰/۵۷) در مقایسه با گروه کنترل (۲/۰۶۳±۰/۸۸) به‌صورت معنی‌داری افزایش داشته است (P<۰/۰۵) (جدول ۱ و شکل ۲). 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، به‌طوری‌که در گروه‌های تحت تیمار با این عصاره در مقایسه با گروه شاهد MDA کاهش داشته است (جدول ۱ و شکل ۲). سطوح پایین یا فقدان MDA، منعکس‌کننده اثرات محافظتی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و نشان‌دهنده کاهش استرس اکسیداتیو می‌باشد. اما این کاهش فقط در گروه تیمار ۲ (۳/۹۷±۲/۱۸) معنی‌دار بود (P<۰/۰۵) (جدول ۱ و شکل ۲). پس با استفاده از دوز ۶۰۰ این عصاره در مقایسه با دوز ۲۰۰ (۶/۸۹±۳/۵۶) احتمالاً نتایج درمانی بهتری حاصل می‌شود.



شکل ۲: نمودار میانگین± انحراف معیار مقدار MDA بافت تخمدان بین گروه‌های کنترل، شاهد، تیمار ۱ (درمان با دوز ۲۰۰) و تیمار۲ (درمان با دوز ۶۰۰) در موش‌های صحرایی ماده

حروف نامشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح (P<۰/۰۵) می‌باشد.

جدول۱: تاثیر عصاره هیدروالکلی سیاهدانه بر میزان MDA و TAC (میانگین± انحراف معیار)

گروه‌ها / موارد آزمایش	کنترل	شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲
MDA (نانومول/میلی‌گرم پروتئین)	۲/۶۳^{a} ± ۰/۸۸	۷/۰۶^{b} ± ۰/۵۷	۶/۸۹^{ab} ± ۳/۵۶	۳/۹۷^{a} ± ۲/۱۸
TAC (نانومول/میلی‌گرم پروتئین)	۳/۴۱^{a} ± ۰/۹۱	۱/۱۹^{b} ± ۰/۸۸	۱/۶۶^{b} ± ۰/۲	۱/۷۵^{b} ± ۰/۰۴

حروف نامشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح (P<۰/۰۵) می‌باشد.

بحث

بیماری‌های دستگاه تناسلی و یا سایر بیماری‌هایی که به‌نحوی بر روی عملکرد این دستگاه تاثیر می‌گذارند می‌توانند منجر به بروز ناباروری‌های موقتی یا دائمی گردند. سندروم تخمدان پلی‌کیستیک (PCOS) شایع‌ترین ناهنجاری آندوکرینی با علت ناشناخته است که ۱۰-۵٪ زنان را در سنین 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 به‌علت اتیولوژی ناشناخته و بروز سایر علایم کلینیکی، کار مشکلی است. گاهاً فقط به درمان علایم ثانویه چون پرمویی بسنده می‌شود اما برای درمان آن شناخت کامل فاکتورهای مختلف موثر 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 موثره 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 گاهاً 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 آنتی‌اکسیدان 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 والرات 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 موش‌های صحرایی نژاد Sprague dawley مبتلا به سندرم پلی‌کیستیک تخمدانی صورت گرفت پیشنهاد نمودند که عصاره این گیاه احتمالاً از طریق تاثیر بر ترشح گنادوتروپین‌ها و هورمون‌های جنسی باعث بهبود عوارض این سندرم می‌شود (جلودار و عسکری، ۱۳۹۱). هم‌چنین استفاده از داروهای سنتی چینی در زنان مبتلا به این سندرم با مکانیسم‌های مختلفی علایم مربوط را بهبود بخشیده است (Ried و Stuart، ۲۰۱۱). 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، ۲۰۱۳). 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 ۲۰،۴۰ و۸۰ میلی‌گرم/کیلوگرم باعث کاهش فراوان MDA گردید (Hoseeinzadeh و همکاران، ۲۰۱۲). اما در یک‌سری از مطالعات سیاهدانه‌وتیموکوئینون با دوز۱۶میلی‌گرم بر کیلوگرم باعث افزایش مقدار کم MDA شده است (Ulu و همکاران، ۲۰۱۲). در مطالعه‌ای دیگر، سیاهدانه هندی با استفاده از روش تیوسیانات آهن و به کمک لینولئیک 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، ۲۰۰۵).

El Shenawy و همکاران (۲۰۰۸) در مطالعه‌ای تحت عنوان اثر خواص آنتی اکسیدانی عصاره سیر و سیاهدانه به‌عنوان عوامل آنتی شیستوسومیازیس در موش‌ها گزارش کردند که سیاهدانه و سیر دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌شیستوزومیازیس می‌باشند. هم‌چنین در مطالعه دیگری گزارش شد که کادمیوم می‌تواند در رت‌ها سطوح مالون دی آلدئید خون و اریتروسیتی وآنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز را افزایش دهد و درمان با سیاهدانه می‌تواند سطوح مالون‌دی‌آلدئید خون و اریتروسیت‌ها و هم‌چنین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مذکور را کاهش دهد (Kanter و همکاران، ۲۰۰۵) 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، ۲۰۰۷).

Burits و Bucar (۲۰۰۰) در مطالعه‌ای تحت عنوان فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس روغنی سیاهدانه گزارش کردند که تیموکوئینون و ترکیبات کارواکرول، ۴-آنتول وتتراتریپنول دارای خاصیت آنتی اکسیدانی و حذف‌کنندگی رادیکال‌های آزاد هستند. روغن سیاهدانه و تیموکینون، از طریق غیرآنزیمی، پراکسیداسیون چربی‌ها را در لیپوزوم مهار می‌کنند و ترکیبات دیگر سیاهدانه مانند کینون، کارواکرول، تی آنتول و تتراترپنئول، در اتصال رادیکال‌های آزاد به یکدیگر فوق العاده‌اند (Houghton و همکاران، ۱۹۹۵). به‌علت وجود اسیدهای چرب و ترکیباتی نظیر توکوفرول، کاروتنوئیدها، یون‌های فلزی و ترکیبات فسفری 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 هیدروپراکسایدها از روغن سرعت اکسیداسیون را کند می‌کند (Famadan، ۲۰۰۴). تیموکوئینون و متابولیت آن دی هیدروتیموکوئینون به‌عنوان آنتی‌اکسیدان نقش مهمی در پیشگیری از پراکسیداسیون چربی‌ها در بافت‌های مختلف موش از خود نشان داده‌اند (Mansour و همکاران، ۲۰۰۲). سیاهدانه رادیکال‌های آزاد تولید شده توسط تشعشعات را خنثی می‌کند (Cemek و همکاران، ۲۰۰۶) و باعث کاهش پراکسیداسیون لیپیدی می‌شود (Khan و Sultana، ۲۰۰۵). 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 بیماری 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

۱. **جلودار، غ. و عسکری، ک.، ۱۳۹۱.** 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 ۱۶، شماره۱، صفحات ۶۳ تا ۶۹.

۲. **Abdel- Razik, H.; Farrag, A.; Mostafa, M. and Osfor, M., 2007.** Protective Effect of Nigella sative Seeds Lead induced Hepatorenal Damage in Male Rats. P Pakistan J of Biological Sciences. Vol. 10, No. 17, pp: 2809-2816.

۳. **Agarwal, A.; Gupta, S. and Sharma, R.K., 2005.** Role of oxidative stress in female reproduction. Reprod Biol Endocrinol. Vol. 3, 28 p.

٤. **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.

٥. **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.

٦. **Ali, B. and Blunden, G., 2003.** Pharmacological and toxicological properties of Nigella sativa. Phytother Res. Vol. 17, No. 4, pp: 299-305.

۷. **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).

۸. **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.

۹. **Burits, M. and Bucar, F., 2000.** Antioxiant activity of Nigella sativa essential oil. Phytother. Res. Vol. 14, No. 5, pp: 323-328.

۱۰. **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.

۱۱. **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.

۱۲. **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.

۱۳. **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]

۱۴. **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.

۱۵. **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.

۱۶. **Guerin, P.; El Mouatassim, 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.

۱۷. **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.

۱۸. **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.

۱۹. **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.

۲۰. **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.

۲۱. **Kanter, M.; Coskun, O.; Korkmaz, A. and Oter, S., 2004.** Effects of Nigella sativa on oxidative stress and beta-cell damage in streptozotocin-induced diabetic rats. Discov Mol Cell Evol Biol. Vol. 279, No. 1, pp: 685-691.

۲۲. **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.

۲۳. **Khan, N. and Sultana, S., 2005.** Inhibition of two stage renal carcinogenesis, oxidative damage and hyperpr oliferative response by Nigella sativa. EJCP. Vol. 14, No. 2, pp: 68-159.

۲۴. **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.

۲۵. **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.

۲۶. **Mannerås, L.; Lystig, T.; Holmäng, 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.

۲۷. **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.

۲۸. **McCraty, R.; Atkinson, M. and Conforti, K., 1999.** Heart rate variability, hemoglobin Alc 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.

۲۹. **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.

۳۰. **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. Internationl conference on applied life sciences. Vol. 12, pp: 235-240.

۳۱. **Nasri, S.; Oryan, S.H.; Rohani, A.H. and Amin, G.H.R., 2007.** The effect of Vitex agnus castus extract on LH and testostrone in male mice.J Pak J Biol Sci. Vol. 10, No. 14, pp: 2300-2307.

۳۲. **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.

۳۳. **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.

۳٤. **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.

۳۵. **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.

۳٦. **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.

۳۷. **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.

۳۸. **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.

۳۹. **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. nternational Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. Vol. 2, pp: 185-189.

٤۰. **Salehi surmaghi, M.H., 2008.** Nigella Sativa. In Herbal Medicine and Herbal Therapy, volum 2, Donyay Taghziah press. Tehran Iran. pp: 216-219.

٤۱. **Sasikla, S.L. and Shamiha, S., 2009.** Unique rat model ehibiting biochemical fluctuationsot 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.

٤۲. **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.

٤۳. **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.

٤٤. **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.

٤۵. **Uz, E.; Bayrak, O.; Kaya, A.; Bayrak, R.; Uz, B. et al., ۲۰۰۸.** Nigella sativa oil for prevention of chronic cyclosporine nephrotoxicity: an experimental model. Am J Nephrol. Vol. 28, No. 3, pp: 22-517.

٤٦. **Wang, C.C.; Li, L.; Tang, L.Y. and Leung, P.C., 2012.** Safety evaluation ofcommonly used Chinese herbal medicines during pregnancy in mice. Human Reproduction. Vol. 27, No. 8, pp: 2448-2456.

٤۷. **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 radical scavenging. Journal of Exp Med. Vol. 203, No. 4, pp: 1117-1127.

٤۸. **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.

٤۹. **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.

۵۰. **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.