

تأثیر عصاره هیدروالکلی تخمه کدو تنبل بر شروع اووژنز و تغییرات هورمونی محور هیپوفیز گناد در موش‌های صحرایی نابالغ

نویسندگان:

سمانه معتمد جهرمی^۱، وحید حمایت خواه جهرمی^{۳*}، حبیب اله جوهری^۲، حسین کارگر جهرمی^۵

۱- معاونت آموزشی، دانشگاه علوم پزشکی جهرم، جهرم، ایران

۲- باشگاه پژوهشگران جوان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد جهرم، جهرم، ایران

۳- گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد جهرم، جهرم، ایران

۴- گروه فیزیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد داراب، داراب، ایران

۵- مرکز تحقیقات زئونوز، دانشگاه علوم پزشکی جهرم، جهرم، ایران

Journal of Jahrom University of Medical Sciences, Vol. 11, No. 4, Winter 2014

چکیده:

مقدمه: استفاده از تخمه کدو به عنوان یک داروی انرژی زا و تقویت کننده قوای جنسی در طب سنتی رایج است. این تحقیق با توجه به در دسترس نبودن شواهد علمی کافی در خصوص میزان تأثیر این ماده بر اووژنز و محور هورمونی هیپوفیز تخمدان طراحی و اجرا شد.

روش کار: در این تحقیق تجربی، ۳۰ سر موش صحرایی ماده نابالغ از نژاد ویستار در محدوده وزنی ۸۰-۱۰۰ گرم و سن سه هفته انتخاب و به طور تصادفی به پنج گروه شش تایی شامل سه گروه تجربی، گروه کنترل و گروه شم تقسیم شدند. به گروه‌های تجربی ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن عصاره هیدروالکلی تخمه کدو تنبل به مدت ۲۱ روز متوالی به صورت درون صفاقی تزریق شد. یک روز بعد از آخرین تزریق، برای بررسی هورمون‌های جنسی از موش‌ها خون گیری به عمل آمد و تخمدان آن‌ها نیز برای مطالعات بافت شناسی برداشته شد.

یافته‌ها: تزریق عصاره هیدروالکلی تخمه کدو تنبل به طور معناداری باعث افزایش میانگین سرمی هورمون‌های محرک فولیکولی (FSH)، استروژن و پروژسترون در گروه‌های تجربی نسبت به گروه شم و کنترل شد ($p < 0.05$). تعداد فولیکول‌های ثانویه در گروه تجربی نسبت به گروه شم و گروه کنترل افزایش معناداری را نشان داد ($p < 0.05$). وزن بدن و وزن تخمدان چپ در گروه‌های تجربی افزایش یافت ($p < 0.05$) ولی تغییر معناداری در پارامترهای دیگر مشاهده نشد.

نتیجه گیری: تزریق عصاره هیدروالکلی تخمه کدو باعث تغییرات معناداری در روند اووژنز و مقدار هورمون‌های جنسی استروژن، پروژسترون و محرک فولیکولی می‌شود.

واژگان کلیدی: عصاره گیاهی، اووژنز، هورمون لوتئینی، هورمون محرک فولیکولی، پروژسترون، استروژن

J Jahrom Univ Med Sci 2014; 11(4): 43-51

مقدمه:

داروها، مقاوم شدن بسیاری از بیماری‌ها در برابر داروهای شیمیایی، نظر محققان را به استفاده از فرآورده های گیاهی در زمینه های مختلف معطوف کرده است [۲]. به طور نمونه، برای درمان نارسایی در بلوغ از هورمون درمانی جایگزین استفاده می‌شود. در واقع هورمون درمانی جایگزینی به ترکیبی از استروژن و گاهی پروژسترون اطلاق می‌شود که با خطر ابتلا به

بلوغ دورانی از زندگی است که با علائم خاص جنسی، فیزیکی و مغزی همراه است و شامل تعدادی از تغییرات فیزیکی همراه با تغییرات محور هیپوتالاموس - هیپوفیز - گناد می‌باشد [۱]. اثر جانبی داروهای شیمیایی، حساسیت افراد به برخی از این

* نویسنده مسئول، نشانی: فارس، جهرم، فلکه گاز، بلوار نخلستان، کوچه شماره ۲، دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم، گروه زیست شناسی

تلفن تماس: ۰۷۹۱-۴۴۴۷۰۰۱-۲، ۰۹۱۷۳۹۱۴۶۲۵، دورنگار: ۳۳۳۱۰۱۹، پست الکترونیک: Dr.hemayatkhah@yahoo.com

پذیرش: ۱۳۹۲/۰۹/۱۷

اصلاح: ۱۳۹۲/۰۷/۳۰

دریافت: ۱۳۹۲/۰۴/۱۸

هیپرپلاژی، سرطان آندومتر، سرطان پستان و ترموبوآمبولیسم همراه است [۳-۴].

طبیعت منبع غنی از ترکیب‌های دارویی است که بخشی از آن‌ها در گیاهان نهفته است. از هزاران سال پیش گیاهان کاربرد زیادی به عنوان داروهای سنتی داشته‌اند. اخیراً در کشورهای در حال توسعه به دلیل اثر جانبی داروهای سنتزی، استفاده از داروهای گیاهی در درمان انواع بیماری‌ها و استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی در کارخانه‌های مواد غذایی مورد توجه زیادی قرار گرفته است و تحقیقات در زمینه استخراج ترکیب‌های فعال بیولوژیکی از گیاهان به سرعت در حال انجام است [۵].

کدو تنبل و دانه آن، یک غذای معروف بومی سرخ‌پوستان آمریکایی با خواص درمانی و تغذیه‌ای منحصر به فرد است. دانه کدو تنبل در برخی از غذاهای اروپایی، به طور عمده در بخش‌های جنوبی، اتریش، مجارستان و اسلوانی استفاده می‌شود. امروزه کشورهای ایالات متحده، مکزیک، هند و چین از تولیدکنندگان تجاری عمده کدو تنبل می‌باشند [۶].

کدو تنبل از جنس کدو و خانواده Cucurbitaceae است [۱۰-۹، ۷-۸] با دانه‌هایی به رنگ سبز تیره و مسطح که به وسیله پوسته سفید رنگی احاطه شده است [۱۱]. مطالعه حاضر روی کدو تنبل نوع *Maxima c.* انجام شده است. این نوع کدو تنبل نارنجی رنگ است و نسبت به انواع دیگر مفیدتر می‌باشد [۱۲]. منشأ اصلاح ژنتیکی و تنوع کشاورزی کدو تنبل نوع *Maxima c.* از اسپانیا، آمریکای جنوبی است [۱۳]. دانه کدو تنبل نه تنها دارای پروتئین‌ها، ویتامین‌ها و آنتی‌اکسیدان‌ها بلکه دارای کاروتنوئیدها و توکوفرول غنی نیز می‌باشد [۱۴].

در طب سنتی خوردن مغز کدو تنبل باعث از بین رفتن و تسکین سوزش ادرار، زخم معده، اختلال خونی و سرفه می‌شود [۱۱]. تخم کدوی خام کرم روده را دفع می‌کند و همچنین در درمان سرطان و ورم پروستات کاربرد دارد. روغن تخم کدو برای رفع تب و دل پیچه مفید است. کدو و تخم آن در پیشگیری از سرطان ریه بسیار مؤثر است [۱۵]. این ماده غذایی به عنوان یک منبع مفید از مواد مغذی برای انسان محسوب می‌شود [۱۶].

مطالعه‌ای که توسط عبدالقانی و همکاران در سال ۲۰۱۰ انجام شد نشان داد که مصرف روزانه تخم کدو تنبل و وجود عنصر روی در رژیم غذایی برای بهبود وضعیت سلامت جنسی مفید است [۱۷]. در تحقیق گوسل و همکاران در سال ۲۰۰۶ مشاهده شد مصرف تخمه کدو تنبل که سرشار از فیتو استروژن به عنوان ماده پیش ساز استرادیول است، باعث افزایش میزان استرادیول می‌شود [۱۸]. در مطالعه مروری توسط شلمول در

سال ۲۰۱۰ گزارش شده است که با وجود افزایش تمایل به استفاده از گیاهان دارویی برای بهبود فعالیت جنسی و اختلالات نعوظ، شواهد علمی کافی برای تأیید تأثیرات آن‌ها وجود ندارد [۱۹]. با توجه به موارد فوق، این تحقیق به منظور بررسی تأثیر عصاره هیدروالکلی تخمه کدو بر اووژنز و محور هورمونی هیپوفیز تخمدان در موش‌های صحرایی نابالغ انجام شد.

روش کار:

برای گرفتن عصاره هیدرو الکی (۸۰٪) تخمه کدو تنبل از روش سوکسله استفاده شد. برای این کار، ۱۰۰ گرم از دانه‌های کدو تنبل خشک را پودر و با ۵۰۰ میلی لیتر اتانول ۸۰٪ مخلوط کرده و به مدت سه روز در محیط آزمایشگاه در دستگاه پرکولاتور نگهداری شد. بعد از سه روز عصاره از طریق شیر پایین دستگاه قطره قطره جمع آوری و آن قدر اتانول ۸۰٪ به دستگاه اضافه شد تا مایع خروجی بی رنگ شود. این نشان دهنده آن است که دیگر عصاره‌ای وجود ندارد و بعد از این مرحله برای شفاف کردن، مخلوط حاصل از کاغذ صافی عبور داده شد. سپس عصاره بدست آمده برای افزایش غلظت در دستگاه روتاری در حرارت ۴۰ درجه سانتی‌گراد تبخیر شد. عصاره حاصل با استفاده از دستگاه دسی کاتور تحت خلأ قوی به مدت ۲۴ ساعت قرار داده تا رطوبت آن کاملاً گرفته و خشک شود. سپس عصاره خشک به دست آمده توزین شد. در این فرایند از ۱۰۰ گرم پودر تخمه کدو تنبل مقدار ۱۶ گرم عصاره خشک به دست آمد. بدین ترتیب غلظت عصاره حاصل ۱۶ درصد خواهد بود [۲۰].

برای تعیین دوزهای مناسب عصاره تخمه کدو تنبل در این مطالعه، ابتدا غلظت‌های مختلف عصاره کدو تنبل به طور تصادفی به پنج گروه شش تایی از موش‌ها تزریق شد. گروهی که نیمی از موش‌های آن زنده و نیم دیگر مرده بودند به عنوان گروه غلظت LD50 در نظر گرفته شد. در ادامه بر اساس غلظت LD50 به دست آمده (۴۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم)، غلظت‌های حداکثر، متوسط و حداقل تعیین شد. برای دوز حداکثر، ۲۰۰ میلی گرم (نصف میزان LD50) و برای دوزهای متوسط و حداقل به ترتیب ۱۰۰ و ۵۰ میلی گرم بر کیلو گرم عصاره تخمه کدو تنبل در یک میلی لیتر آب مقطر حل شد.

این مطالعه تجربی روی ۳۰ سر موش صحرایی ماده نابالغ نژاد ویستار با سن سه هفته و در محدوده وزنی ۸۰-۱۰۰ گرم انجام گرفت.

موش‌ها از خانه حیوانات دانشگاه آزاد اسلامی واحد چهرم تهیه شدند. حیوانات در طول مطالعه دسترسی کافی به آب و غذا داشتند و چرخه ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی برای

دیجیتال با سرم فیزیولوژی شستشو داده شدند و سپس هر کدام از آن‌ها برای مدت ۱۴ روز درون یک لوله حاوی فرمالین ۳٪ نگهداری شدند. در نهایت، در آزمایشگاه بافت شناسی بیمارستان MRI شیراز از تخمدان‌ها به تعداد حداقل پنج لام برای بررسی تهیه شد. در لام‌های تهیه شده از بخش‌های مختلف تخمدان به ترتیب میزان احتقان و پرخونی عروق، واکوتله شدن سلول‌های بافت تخمدان، آترزی فولیکول‌ها، میانگین فولیکول‌های بدوی، اولیه، ثانویه، گراف، آترتیک و جسم زرد به وسیله میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۴۰۰ بررسی و تعداد فولیکول‌ها شمارش شدند. میانگین تعداد فولیکول‌ها در هر گروه مشخص و با گروه‌های دیگر مورد مقایسه قرار گرفت.

بررسی‌های انجام شده نشان داد که شرایط استفاده از آزمون آنالیز واریانس وجود دارد. بنابراین داده‌های حاصل از سنجش هورمونی و توزین تخمدان‌ها با استفاده از نرم افزار آماري SPSS-17، آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی (مقایسه دو به دو) تحلیل شدند. $p \leq 0.05$ به عنوان سطح معناداری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها:

کلیه نتایج این مطالعه در جدول ۱ و نمودارهای ۱-۲-۳ و ۴ آورده شده‌اند.

آن‌ها فراهم بود و قبل از شروع آزمایش به مدت دو هفته برای سازگاری نگهداری شدند. در این مطالعه کلیه اصول اخلاقی در خصوص کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت شد.

با توجه به وزن حیوانات مقدار مورد نیاز از عصاره در دوزهای ۱۰۰، ۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم به وسیله سرنگ‌های انسولین برداشته شد. موش‌های صحرایی به طور تصادفی به پنج گروه شش تایی شامل گروه‌های تجربی ۱، ۲، ۳، گروه کنترل و گروه شم تقسیم شدند. به گروه‌های تجربی به ترتیب ۰/۱ میلی لیتر محلول ۱۰۰، ۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم وزن بدن عصاره تخمه کدو تنبل و به گروه شم ۰/۱ میلی لیتر سرم فیزیولوژی به صورت داخل صفاقی به مدت ۲۱ روز متوالی داده شد. گروه کنترل هیچ دارویی دریافت نکرد.

یک روز پس از پایان دوره ۲۱ روزه، تمام موش‌ها بی هوش شدند و از قلب آن‌ها خون گرفته شد. سرم خون‌های جمع آوری شده به وسیله سانتریفیوژ و پیپت پاستور جدا و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

با استفاده از روش الیزا و کیت مخصوص سنجش هورمون‌های استروژن و پروژسترون (ساخت شرکت DRG آلمان) و کیت‌های هورمونی مربوط به هورمون‌های لوتئینی و محرک فولیکولی (ساخت شرکت پیشتاز طب ایران) مقادیر هر یک از هورمون‌ها تعیین شد.

پس از خون‌گیری در ناحیه شکمی موش‌ها برش ایجاد و تخمدان‌ها به وسیله اسکالپل و پنس از بافت‌های چربی اطراف و لوله فالوپ جدا شد. تخمدان‌ها پس از توزین با ترازوی

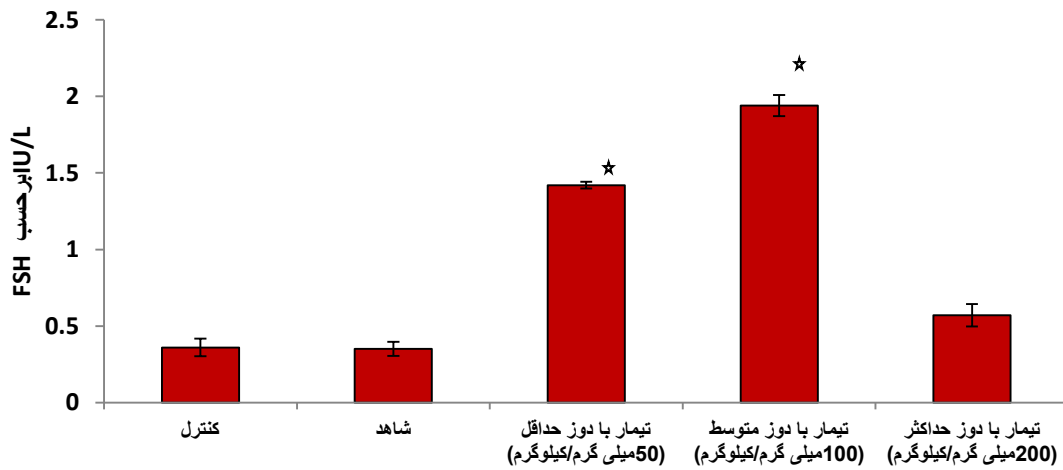
جدول ۱: مقایسه مقادیر متغیرهای مورد بررسی در گروه‌های مختلف

تجربی ۳	تجربی ۲	تجربی ۱	شاهد	کنترل	
۱۷۹,۱۰۰±۳,۶۵	۱۸۰,۱۰۰±۲,۳۵	۱۷۹,۵۷۱±۵,۹۲۳	۱۱۶,۱±۱,۴۸۰	۱۱۶,۲±۱,۴۹۶	وزن حیوان (گرم)
۰,۰۳۹±۰,۰۰۲	۰,۰۴۵±۰,۰۰۱	۰,۰۴۹±۰,۰۰۳	۰,۰۳۲±۰,۰۰۲	۰,۰۳۳±۰,۰۰۳	وزن تخمدان چپ (گرم)
۱,۰۰۰±۰,۰۴۰	۱,۵۰۰±۰,۰۲۸	۱,۲۵۰±۰,۰۲۵	۰,۴۰۰±۰,۰۲۵	۰,۵۰۰±۰,۰۲۸	فولیکول بدوی
۵,۵۵۰±۰,۸۸۶	۵,۰۰۰±۰,۷۰۷	۶,۲۵۰±۰,۸۵۳	۵,۷۵۰±۰,۴۴۰	۵,۷۵۰±۰,۴۷۸	فولیکول اولیه
۳,۷۵۰±۰,۲۵۰	۶,۲۵۰±۰,۴۷۸	۳,۷۵۰±۰,۴۷۸	۶,۲۲۰±۰,۱۰۲	۶,۲۵۰±۰,۱۰۳	فولیکول ثانویه
۸,۲۵۰±۰,۹۱۲	۸,۰۰۰±۰,۶۲۹	۸,۰۰۰±۰,۱۳۵	۹,۲۰۰±۰,۶۱۰	۹,۵۰۰±۰,۶۴۵	فولیکول گراف
۷,۲۵۰±۰,۱۱۸	۶,۰۰۰±۰,۱۰۸	۷,۷۵۰±۰,۰۸۵	۸,۹۸۰±۰,۱۴۵	۹,۰۰۰±۰,۱۴۷	جسم زرد
۱,۰۰۰±۰,۰۴۰	۰,۷۵۰±۰,۰۲۵	۱,۵۰۰±۰,۰۲۸	۰,۱۰۰±۰,۰۱۰	۰,۰۰۰±۰,۰۰۰	فولیکول آترتیک

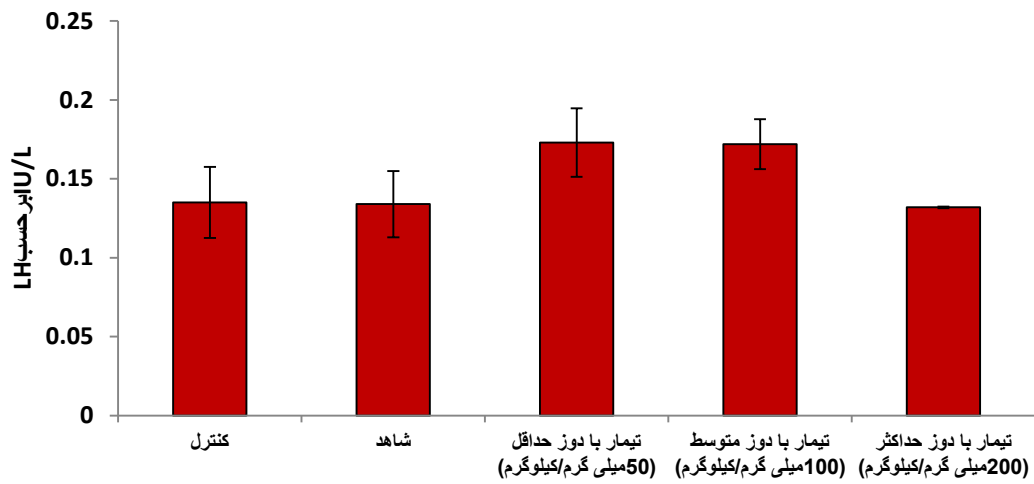
یافته‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار نشان داده شده‌اند.

($P \leq 0.05$)، ولی گروه تجربی ۳ نسبت به گروه کنترل تغییر معناداری ندارد (نمودار ۱).

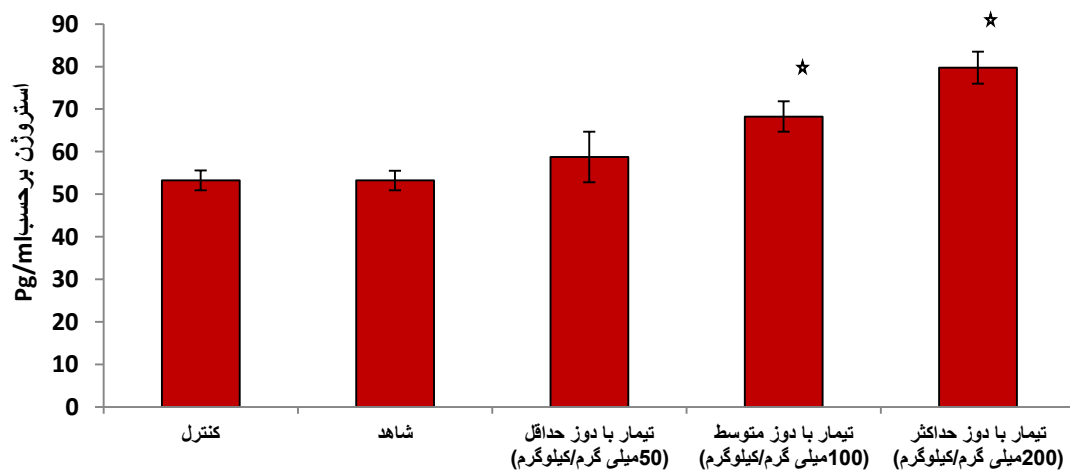
نتایج حاصل از اندازه‌گیری مقدار هورمون محرک فولیکولی در بین گروه‌های مختلف نشان داد که گروه تجربی ۱ و گروه تجربی ۲ نسبت به گروه کنترل افزایش معناداری دارند



نمودار ۱: مقایسه میزان هورمون محرک فولیکولی در تمام گروه های مورد مطالعه بعد از تأثیر عصاره تخمه کدو تنبل



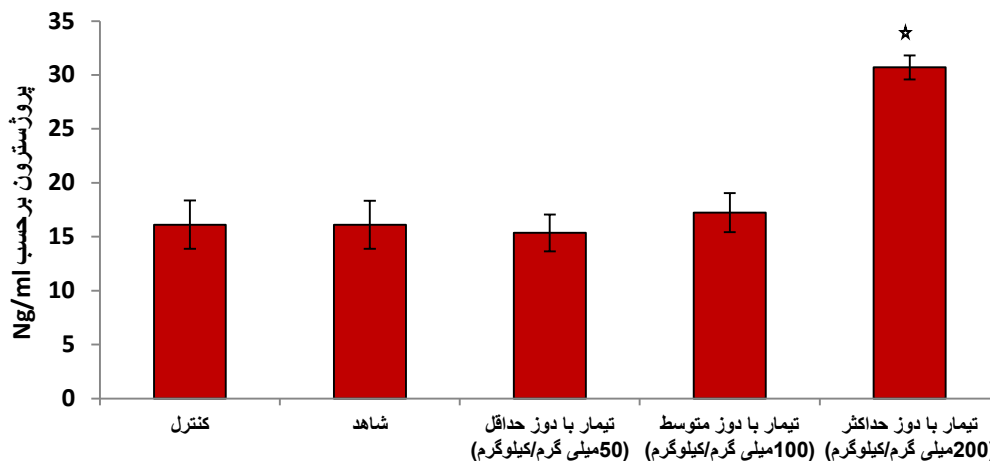
نمودار ۲: مقایسه میزان هورمون لوتئینی در تمام گروه های مورد مطالعه بعد از تأثیر عصاره تخمه کدو تنبل



نمودار ۳: مقایسه میزان هورمون استروژن در گروه های مختلف مورد مطالعه بعد از تأثیر عصاره تخمه کدو تنبل

۳ نسبت به گروه کنترل افزایش معناداری دارد ($P \leq 0.05$) (نمودار ۳).

نتایج حاصل از اندازه گیری مقدار هورمون پروژسترون در بین گروه‌های مختلف نشان داد که گروه تجربی ۱ و گروه تجربی ۲ نسبت به گروه کنترل تغییر معناداری ندارند، ولی گروه تجربی ۳ نسبت به گروه کنترل افزایش معنادار را نشان داد ($P \leq 0.05$) (نمودار ۴).



نمودار ۴: مقایسه میزان هورمون پروژسترون در گروه‌های مختلف مورد مطالعه بعد از تأثیر عصاره تخمه کدو تنبل

آن در کاهش میزان پروتئین متصل شونده در سرطان پروستات و بهبود بافت بیضه اهمیت دارد [۲۲]. در تحقیق حاضر افزایش معناداری در میزان وزن تخمدان‌های چپ موش‌ها مشاهده شد. تمایز موفق فولیکول، وابسته به حضور استروئید و عوامل رشدی است که تمایز فولیکولی را تحریک کرده و موجب حفاظت سلول‌ها در مقابل مرگ سلولی می‌شود. رشد و تمایز فولیکول‌های تخمدانی از طریق روند تکثیر و تمایز سلول‌های گرانولوزا انجام می‌گیرد. هورمون‌های استروئیدی، اصلی‌ترین نقش را در تنظیم رشد، تکوین، هومئوستازی و مرگ سلولی برنامه ریزی شده در تخمدان دارند [۲۳]. مطالعه انجام شده توسط گوسل- ویلیامز و همکاران در سال ۲۰۱۱ روی زنان یائسه نشان داد که تخمه کدو تنبل سرشار از فیتو استروژن است و باعث کاهش علائم اصلی یائسگی از جمله گرگرفتگی، درد مفاصل و سردرد می‌شود [۱۸]. مطالعاتی که توسط بایچت و همکاران در سال ۱۹۸۰ و آواد و همکاران در سال ۲۰۰۰ انجام شد نیز نشان داد تخمه کدو تنبل حاوی بتا استرادیول می‌باشد که دارای اثرات بیولوژیکی مختلفی از جمله کاهش کلسترول، فعالیت استروژن و فعالیت ضد سرطانی است [۲۵-۲۴]. فلاونوئیدهای موجود در غذای گیاهی که به آن‌ها فیتو استروژن گفته می‌شود دارای قدرت استروژنی هستند [۲۶]. از

نتایج حاصل از اندازه گیری مقدار هورمون لوتئینی در بین گروه‌های مختلف نشان داد که گروه تجربی ۱، ۲ و ۳ نسبت به گروه کنترل تغییر معناداری ندارد (نمودار ۲).

نتایج حاصل از اندازه گیری مقدار هورمون استروژن در بین گروه‌های مختلف نشان داد که گروه تجربی ۱ نسبت به گروه کنترل تغییر معناداری ندارد، ولی گروه تجربی ۲ و گروه تجربی

بحث:

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که تزریق عصاره هیدروالکلی تخمه کدو تنبل باعث افزایش میزان هورمون‌های استروژن، پروژسترون و هورمون محرک فولیکولی و همچنین تعداد فولیکول‌های ثانویه و در نتیجه بلوغ می‌شود. این اولین مطالعه تجربی روی موش‌های نابالغ می‌باشد که تأثیر تخمه کدو تنبل را روی اووژنز و محور هیپوفیز هورمونی تخمدان نشان می‌دهد.

مصرف غذای غنی شده با تخمه کدو تنبل افزایش قابل توجه وزن بدن در بین مصرف کنندگان شده است [۲۱]. در مطالعه حاضر، در گروه‌های تجربی دریافت کننده دوز ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن نیز افزایش معنادار وزن بدن مشاهده شد.

تحقیق مانال و همکاران در سال ۲۰۰۶ روی بافت بیضه انجام نشان داد که تخمه کدو باعث افزایش بافت بیضه می‌شود. در بررسی اثر دانه کدو تنبل بر وزن پروستات، پروتئین متصل شونده در سرطان پروستات و بافت بیضه در موش‌های صحرایی نیز معلوم شد که دانه کدو تنبل در ۱۰٪ موارد می‌تواند هیپرپلازی لوب شکمی پروستات را مهار کند و همچنین نقش

ضروری‌اند و تحلیل گونه‌های اکسیژنی آزاد تخمدان، از تخمک گذاری و مجموعه کاملی از پاسخ‌های ضروری پیش از تخمک گذاری ممانعت می‌کنند [۳۷].

نتایج بدست آمده از تحقیق حاضر با نتایج فروزان فر و همکاران در سال ۲۰۰۵، مغایرت دارد و تغییر معناداری در شمارش تعداد فولیکول‌های گراف مربوط به تخمدان‌ها در گروه‌های مختلف نسبت به گروه کنترل مشاهده نشده است [۳۰].

مطالعات مختلفی در گذشته روی موش‌های نر انجام شده است. به طور نمونه، در مطالعه انجام شده توسط گوسل- ویلیامز و همکاران در سال ۲۰۰۶ نشان داده شده است که تخمه کدو تنبل می‌تواند تستوسترون ناشی از هیپرپلازی پروستات را مهار نماید و این بیماری را درمان کند [۱۸]. مطالعه‌ای که توسط دریکون در سال ۲۰۰۲ انجام شد نیز نشان داد که تخمه کدو تنبل در درمان علائم مجرای ادراری تحتانی و هیپرپلازی خوش‌خیم پروستات مفید است [۳۸]. شواهد موجود در مطالعه کنون و همکاران در سال ۲۰۰۷ نشان داد که مرگ سلولی در سلول‌های گرانولوزا، سازوکار اصلی آتزی فولیکول‌های تخمدان است [۳۹]. با توجه به تحقیقات کیم و همکاران در سال ۲۰۰۸ عارضه جانبی آنتی‌اکسیدان‌ها ممانعت از تخمک گذاری و مجموعه کاملی از پاسخ‌های ضروری پیش از تخمک گذاری است [۲۲]. نتایج بدست آمده در مطالعه حاضر حاکی از افزایش معناداری در تعداد فولیکول‌های آتریک تخمدانی در دو گروه موش‌های نابالغ دریافت‌کننده دوزهای حداقل و حداکثر (گروه‌های تجربی ۱ و ۳) است که با تحقیق کیم و همکاران مطابقت دارد. در مطالعاتی که توسط آواد و همکاران در سال ۲۰۰۰ انجام شد نشان داده شده است که تخمه کدو تنبل حاوی فیتو استروژن می‌باشد [۴۰]. با توجه به تحقیقات ترابی زاده و فلاحی در سال ۲۰۰۳، یکی از خواص جانبی فیتو استروژن‌ها فعالیت آنتی‌اکسیدانی است [۴۱]. شاید افزایش معنادار در مقدار هورمون پروژسترون گروه تجربی ۳، باعث افزایش تعداد فولیکول آتریک در این گروه شده است. همچنین در مطالعات چان و همکاران در سال ۱۹۹۶ نشان داده شد که هورمون‌های استروئیدی نقش مهمی در تنظیم مرگ سلولی در تخمدان بازی می‌کنند، استروژن‌ها از آپوپتوز سلول‌های گرانولوزای فولیکولی جلوگیری می‌کنند، در حالی که آندروژن‌ها به تکه تکه شدن DNA سلول‌های تخمدانی کمک می‌کنند. این هورمون‌ها اثرات فوق را به ترتیب با ممانعت و افزایش فعالیت اندونوکلتاز در سلول‌های گرانولوزای تخمدان ایجاد می‌کنند [۴۲].

نتایج به دست آمده از شمارش تعداد جسم زرد مربوط به تخمدان‌ها در گروه‌های تجربی تحقیق حاضر تغییر معناداری نسبت به گروه کنترل نشان نداد.

نتایج این تحقیق افزایش معنادار در هورمون‌های جنسی استروژن در گروه تجربی دریافت‌کننده دوز ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم وزن بدن و افزایش پروژسترون در گروه‌های تجربی دریافت‌کننده دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم وزن بدن نسبت به گروه کنترل ($P < 0.05$) مشاهده شد که با نتایج مطالعات ذکر شده هم خوانی دارد.

تخمک برای انجام تقسیم میوزی و رسیدن به ظرفیت و توان رشد و تکامل به مقادیر مناسبی از دو هورمون محرک فولیکولی و لوتئینی نیاز دارد [۲۷]. در مطالعه‌ای که توسط باتاینه و همکاران انجام شد نشان داده شد که مصرف تخمه کدو باعث افزایش معناداری در مقادیر هورمون‌های محرک فولیکولی و لوتئینی سرمی در افراد گروه‌های تجربی مصرف‌کننده غذای غنی شده با تخمه کدو تنبل می‌شود [۲۱]. در تحقیق حاضر، در مقدار سرمی هورمون محرک فولیکولی در گروه تجربی دریافت‌کننده دوز ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم وزن بدن نسبت به گروه کنترل افزایش معناداری مشاهده شد ($P < 0.05$).

بعد از بلوغ، مقادیر زیاد هورمون‌های LH و FSH ترشح شده از هیپوفیز قدامی باعث رشد و نمو تخمدان و فولیکول‌های تخمدانی می‌شود [۲۸] که وقایع آبشاری تخمک گذاری را به دنبال خواهد داشت [۲۹]. اسیدهای چرب باعث تحریک فرایند فولیکول سازی از نظر تعداد، اندازه و افزایش رشد فولیکول‌های گراف می‌شوند [۳۰] و استروژن از محرک‌های قوی رشد فولیکولی در جوندگان می‌باشد [۳۱]. دانه کدوتنبل یک منبع خوب اسیدهای چرب غیر اشباع و فیتواستریول‌ها است [۳۴-۳۲]. مطالعه‌ای که توسط تاکادا و همکاران در سال ۱۹۹۴ انجام شد نشان داد اسیدهای چرب غیر اشباع موجود در تخمه کدو تنبل شامل اسید اولئیک و اسید لینولئیک باعث کاهش میزان کلسترول در موش‌های صحرائی می‌شود [۳۵].

در تعداد فولیکول‌های بدوی و اولیه گروه‌های مختلف موش‌های نابالغ تحقیق حاضر تغییر معناداری مشاهده نشد، ولی کاهش معناداری در تعداد فولیکول‌های ثانویه گروه‌های تجربی ۱ و ۳ نسبت به گروه کنترل مشاهده شد. علت مغایرت نتایج مطالعه حاضر با نتایج تحقیقات قبلی احتمالاً می‌تواند ناشی از تغییر در برخی عوامل مهم از جمله نژاد حیوان، میزان هورمون و مدت زمان تیمار باشد. شاید بتوان گفت که کدو تنبل دارای مقدار قابل توجهی از آنتی‌اکسیدان‌ها، توکوفرول، و کاروتنوئیدها است و در نتیجه به طور بالقوه دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی است [۳۶]. تحقیقات کیم و همکاران در سال ۲۰۰۸، عوارض جانبی و غیر منتظره آنتی‌اکسیدان‌ها را نشان داده و اظهار می‌دارد که اکسیدان‌های فعال موجود در فولیکول‌های تخمدانی، پیش از تخمک گذاری برای پاسخ تخمک گذاری

داد که وجود پتاسیم در تخمه کدو تنبل باعث کاهش احتمال ایجاد سنگ مجاری ادراری اغزالات کلسیم می‌شود [۴۷].

نتیجه گیری: با توجه به تحقیق حاضر می‌توان گفت احتمالاً عصاره هیدرو الکی تخمه کدو بر بافت تخمدان و همچنین محور هورمونی هیپوفیز گناد دارای تأثیر مثبت بوده و باعث تغییرات معناداری در سطح فولیکول ثانویه تخمدان و همچنین هورمون‌های جنسی ماده می‌شود. بنابراین برای یافتن سازوکار و چگونگی تأثیر این ماده و استفاده از آن به عنوان یک داروی مؤثر در شروع و تنظیم اووژنز و باروری موفق، انجام تحقیقات بیش‌تر پیشنهاد می‌شود.

تعارض منافع: نویسندگان هیچ‌گونه تعارض منافی در این مطالعه نداشته‌اند.

مطالعات انجام شده روی اندام‌های دیگر در گذشته از جمله مطالعاتی که در سال‌های ۲۰۰۵ تا ۲۰۰۷ انجام شده است نشان می‌دهند که تخمه کدو تنبل در صورتی که به عنوان یک میان وعده خورده شود، یک منبع خوب روی و اسیدهای چرب غیر اشباع و فیتواسترینول‌ها است که در جلوگیری از بیماری‌های مزمن مؤثرند [۱۶-۴۳-۴۴]. مطالعه ای که توسط هوآنگ و همکاران در سال ۲۰۰۴ انجام شد نشان داد که رژیم‌های غذایی دارای تخمه کدو تنبل، خطرات سرطان معده، پستان، ریه و کولورکتال را به طور قابل توجهی پایین می‌آورند [۴۵].

مطالعه ای که توسط گوسل- ویلیامز و همکاران در سال ۲۰۱۱ انجام شد نشان داد که مصرف تخمه کدو تنبل باعث افزایش قابل توجهی در غلظت لیپوپروتئین با چگالی بالا می‌شود [۴۶]. همچنین مطالعه انجام شده توسط سوفاکارن و همکاران نشان

References:

- Zafari Zangene F. Reproductive tract. 2nd ed. Tehran: Teymourzadeh Inst Phys Publ; 2008: 26-30.
- Salimi M, Ebrahimi A, Shojaei Z, et al. Expression and Identification of the chemical composition of mountain celery. Quart Sci Iran Med Aroma Plants Res 2010; 26(2): 147-56.
- Moore AA, Noonan MD. A Nurse's guide to hormone replacement therapy. J Obstet Gynecol Neonatal Nurs 1999; 28(6 Suppl 1): 13-20.
- Rees MCP. The need to improve compliance to Hormone Replacement Therapy. British J Obs Gyn 1997; 104(Suppl 16): 1-3.
- Asghari J, Mazaheri TM. Tannin extract from the leaves of eucalyptus and trimiristin of Indian Nutmeg with using microwave radiation, Quart Sci Iran Med Aroma Plants Res 2010; 26(3): 185-95.
- Murkovic M, Hillebrand A, Winkler H, et al. Variability of vitamin E content in pumpkin seeds (*Cucurbita pepo* L.). J Forsch 1996; 202(4): 275-8.
- Ganzer M, Croom Jr, Khan IA. Determination of the fatty acid content of pumpkin seed, pygeum, and saw palmetto. J Med Food 1999; 2(1): 21-7.
- Al-Khalifa AS. Physicochemical characteristics, fatty acid composition, and lipoxigenase activity of crude pumpkin and melon seed oils. J Agric Food Chem 1996; 44(4): 964-6.
- Jamieson GS. Vegetable Fats and Oils. 2nd ed. New York: Reinhold Publ Corp; 1943.
- Phillips KM, Ruggio DM, Ashraf-Khorassani M. Phytosterol composition of nuts and seeds commonly consumed in the United States. J Agric Food Chem 2005; 53(24): 9436-45.
- Li SZ. Compendium of medical material. 2nd ed. Beijing: China Light Industry Press; 2012. (Chinese)
- Rad KO. Pharmacy In house. 6th ed. Tehran: Publ Bridge; 2011: 344,107-8. (Persian)
- Ferriol M, Picó B, Nuez F. Morphological and molecular diversity of a collection of *Cucurbita maxima* landraces. J Am Sch Hort Sci 2004; 129(1): 60-9.
- Stevenson DG, Eller FJ, Wang L, et al. Oil and tocopherol content and composition of pumpkin seed oil in 12 cultivars. J Agric Food Chem 2007; 55(10): 4005-13.
- Khoshbin S. Miracle plant. 4th ed. Tehran: Publ Tertiary; 2009: 331-5. (Persian)
- Glew RH, Glew RS, Chuang LT, et al. Amino acid, mineral and fatty acid content of pumpkin seeds (*Cucurbitaspp*) and *Cyperusesculentus* nuts in the Republic of Niger. J Plant Foods Hum Nutr 2006; 61(2): 51-6.
- Abd El-Ghany M, Dalia A, Hafez A, Soha M, et al. Biological study on the effect of pumpkinseeds and zinc on reproductive potential of male rats. Proceedings of Faculty of Specific Education. proceeding of the 5th Arab and 2nd International Annual Scientific Conference. Apr 14-15, 2010. Mansoura, Egypt: Mansoura Univ: 2383-404.
- Gossell-Williams M, Davis A, O'Connor N. Inhibition of testosterone-induced hyperplasia of the prostate of sprague-dawley rats by pumpkin seed oil. J Med Food 2006; 9(2): 284-6.
- Shamloul R. Natural aphrodisiacs. J Sex Med 2010; 7(1): 39-49.
- Marianna N, Tzortzis N, Elizabeth F. Antioxidant and lipoxigenase inhibitory activities of pumpkin seed extracts. J Food Res Int 2009; 42(5): 641-6.
- Bataineh ZM, Hani IH and Al-Alami JR. Zinc in normal and pathological human prostate gland. J Saudi Med 2002; 23(2): 218-20.
- Manal K, Abdel-Rahman. Effect of Pumpkin Seed (*CucurbitapepoL*) Diets on benign prostatic hyperplasia

- (BPH): chemical and morphometric evaluation in rats. *World J Chem* 2006; 1(1): 33-40.
23. Quirk PG, Patchell VB, Colyer Y, et al. Conformational Effect of serine phosphorylation in phospholamban peptides. *Eur J Biochem* 2004; 236(1): 85-91.
24. Awad AB, Fink CS. Phytosterols as anticancer dietary components: evidence and mechanism of action. *J Nutr* 2000; 130(9): 2127-30.
25. Raicht RF, Cohen BI, Fazzini EP, et al. Protective effect of plant sterols against chemically induced colon tumors in rats. *J Cancer Res* 1980; 40(1): 403-5.
26. Lund TD, Lephart ED. Dietary soy phytoestrogens produce anxiolytic effects in the elevated plus-maze. *J Brain Res* 2001; 913: 180-4.
27. Ben-Ze'ev A, Amsterdam A. Regulation of cytoskeletal proteins involved in cell contact formation during differentiation of granulosa cells on extracellular matrix. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 83(9): 2894-8.
28. Gayton A. Medical Physiology: Endocrinology and Reproduction. Trans. Beghdili M, Tehran: Teymourzadeh Publ; 2006: 867-75.
29. Russell DL, Ochsner SA, Hsieh M, Mulders Richards JS. Hormone-regulated expression and localization of versican in the rodent ovary. *J Endocrinol* 2003; 144(3): 1020-31.
30. Froozanfard F, Akbari K. Hormone agonists reflect release of gonadotropin (GnRH against) the cycle of ovulation and risk of ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS). *J Grace* 2005; 35: 20-22. (Persian)
31. Erickson GF, Shimaski S. The spatiotemporal expression pattern of the bone morphogenetic protein family in rat ovary cell type during the estrous cycle. *J Reproductive Biol Endocrinol* 2003; 5(1): 1-20.
32. Phillips KM, Ruggio DM, Ashraf-Khorassani M. . *J Agric Food Chem* 2005; 53(24): 9436-45.
33. Sabudak T. Fatty acid composition of seed and leaf oils of pumpkin, walnut, almond, maize, sunflower and melon. *J Chem Nat Compounds* 2007; 43(4):465-7.
34. Kumar SA, Sudhahar V, Varalakshmi P. Protective role of eicosapentaenoate-lipoate (EPA-LA) derivative in combating oxidative hepatocellular injury in hypercholesterolemic atherogenesis. *J Atherosclerosis* 2006;189(1): 115-22.
35. Takada R, Saitoh M, Mori T. Dietary gamma linolenic acid-enriched oil reduces body fat content and induces liver enzyme activities relating to fatty acid beta oxidation in rats. *J Nutr* 1994; 124(4): 469-74.
36. YadavM, Jain S, Tomar R, et al. Medicinal and biological potential of pumpkin: an updated review. *J Nutr Res Rev* 2010; 23:184-90
37. Kim Y, Lee YS, Choe J, et al. CD44-epidermal growth factor receptor interaction mediates hyaluronic acid-promoted cell motility by activating protein kinase C signaling involving Akt, Rac1, Phox, reactive oxygen species, focal adhesion kinase, and MMP-2. *J Biol ChemAug* 2008; 283(33): 22513-28.
38. Dreikorn K. The role of phytotherapy in treating lower urinary tract symptoms and benign prostatic hyperplasia. *World J Urol* 2002; 19(6): 426-35.
39. Cannon JD, Cherian-Shaw M, Lovekamp- Swan T. Granulosa cell expression of G1/S phase cyclins and cyclin-dependent kinases in PMSG-induced follicle growth. *J Mol Cell Endocrinol* 2007; 264(1-2): 6-15.
40. Awad AB, Fink CS. Phytosterols as anticancer dietary components: evidence and mechanism of action. *J Nutr* 2000; 130(9):2127-30.
41. Torabizade A, Fallahi A. An overlook of phytoestrogens. *Iran J Obstet Gynecol Infertil* 2003; 6: 80-5.
42. Chun SY, Eisenhauer KM, Minami S, et al. Hormonal regulation of apoptosis in early antral follicles. FSH as a major survival factor. *Endocrinology* 1996; 137(4):1447-56.
43. Sabudak T. Fatty acid composition of seed and leaf oils of pumpkin, walnut, almond, maize, sunflower and melon. *J Chem Nat Compounds* 2007; 43(4): 465-7.
44. Ryan E, Galvin K, O'Connor TP, et al. Phytosterol, squalene, tocopherol content and fatty acid profile of selected seeds, grains, and legumes. *J Plant Foods Hum Nutr* 2007; 62(3): 85-91.
45. Huang XE, Hirose K, Wakai K, et al. Comparison of lifestyle risk factors by family history for gastric, breast, lung and colorectal cancer. *Asian Pac J Cancer Prev* 2004; 5(1): 419-27.
46. Gossell-Williams M, Hyde C, Hunter T, et al. Improvement in HDL cholesterol in postmenopausal women supplemented with pumpkin seed oil: pilot study. *J Climacteric* 2011; 14(5):558-64.
47. Suphakarn V, Dhanamitta S, Valyasevi A, et al. Role of glycosaminoglycans in urinary stone formation. *J Nutr Assoc Thai* 1998; 15(4):144-57.

Effect of hydroalcoholic extract of pumpkin seeds on start of oogenesis and change of hormone-pituitary-ovarian axis in immature rats

Motamed Jahromi S^{1,2}, Hemayatkah Jahromi V^{*3}, Johari H⁴, Kargar Jahromi H⁵

Received: 07/09/2013

Revised: 10/22/2013

Accepted: 12/08/2013

1. Deputy of Education, Jahrom University of Medical Sciences, Jahrom, Iran
2. Young Researchers Club, Islamic Azad University, Jahroum Branch, Jahrom, Iran
3. Dept. of Biology, Islamic Azad University, Jahroum Branch, Jahroum, Iran
4. Dept. of Physiology, Islamic Azad University, Darab Branch, Darab, Iran
5. Zoonoses Research Center, Jahrom University of Medical Sciences, Jahrom, Iran

Journal of Jahrom University of Medical Sciences, Vol. 11, No. 4, Winter 2014

J Jahrom Univ Med Sci 2014; 11(4): 43-51

Abstract

Introduction:

Pumpkin seed has been used in traditional medicine as a drug for improving sexual function and vigor. We did not find sufficient scientific evidence to support it. The present study was designed to evaluate the effect of hydroalcoholic extract of pumpkin seeds on hormone-pituitary-ovarian axis and oogenesis in immature rats.

Materials and Methods:

In this experimental study, we used 30 immature female Wistar rats (weight range 100 to 80 g and 35-30 days old) were randomly selected and divided into five groups of six, three experimental groups, control and sham groups. The experimental group was injected 200,100,50 mg/kg dose of pumpkin seed extract intraperitoneally for 21 consecutive days. One day after the last injection, blood was taken from the rats to investigate the sex hormones, and then their ovaries were removed for histological studies.

Results:

The results showed a significant increase in the mean serum FSH, estrogen and progesterone in the experimental groups compared to the sham and control ($P < 0.05$). Secondary follicles in the experimental group compared to the sham and control groups showed a significant increase ($P < 0.05$). Body weight and weight of the right and left ovaries in the experimental group increased ($P < 0.05$). Amongst the other parameters, no significant differences were observed in all groups.

Conclusions:

Injection of hydroalcoholic extract of pumpkin seeds could significantly be effective on oogenesis and concentration of FSH, estrogen and progesterone hormones.

Keywords: Plant Extract, Luteinizing Hormone, Follicle Stimulating Hormone, Oogenesis, Estrogen, Progesterone

* Corresponding author, Email: dr.hemayatkah@yahoo.com