

Effect of hydro-alcoholic extract of pumpkin seeds on estrogen hormone and liver markers in adult female rats

Motamed-Jahromi S^{1,2*}, Niami-Jahromi S³

1- Faculty of Medicine, Jahrom University of Medical Sciences, Jahrom, I.R. Iran.

2- Bandar Abbas Educational Development Center, Bandar Abbas Medical University, Bandar Abbas, I.R. Iran.

3- Ships Reservoir Unit-Qeshm Ship Tanks Service, Bandar Abbas, I.R. Iran.

Received: 2018/09/24 | Accepted: 2019/08/17

Abstract:

Background: Alternative synthetic estrogen replacement hormone therapy has a deleterious effect on the liver tissue. It seems the pumpkin seeds can be a good alternative to hormone therapy. In this regard, this study aimed to investigate the effect of hydro-alcoholic extract of pumpkin seeds on the amount of estrogen hormone in adult female rats and its effects on liver markers And liver and ovarian tissue changes.

Materials and Methods: In this experimental study, 40 immature female wistar rats (in the weight range of 10 ± 180 g and the age of 60 days) were divided into 5 groups of 8 animals: three experimental groups, control and sham groups. The hydro-alcoholic extract of pumpkin seeds was injected intraperitoneally for 21 consecutive days to the experimental groups (doses: 20, 50 and 100 mg/kg body weight). Serum levels of hepatic and ovarian markers were determined and histological studies were performed on the liver and ovary.

Results: Significant decrease in ALP and significant increase in FSH and LH and the graph follicles in experimental group 3 and a significant reduction in the number of primary and primary follicles in the three experimental groups compared to the group Controlling and the number of secondary follicles in the experimental group 1 were observed compared to the experimental groups 2 and 3 ($P<0.05$).

Conclusion: Estrogen in the hydro-alkali extract of pumpkin seeds without harmful effects on the liver tissue can lead to ovulation and is an appropriate alternative to artificial estrogens and regulating the gastrointestinal tract.

Keywords: Estrogen, Liver, Rats, Female, Extract

***Corresponding Author:**

Email: Sanammorsal400500@yahoo.com

Tel: 0098 917 792 1046

Fax: 0098 715 426 6286

Conflict of Interests: No

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, December, 2019; Vol. 23, No 5, Pages 455-466

Please cite this article as: Motamed-Jahromi S, Niami-Jahromi S. Effect of hydro-alcoholic extract of pumpkin seeds on estrogen hormone and liver markers in adult female rats. *Feyz* 2019; 23(5): 455-66.

اثر عصاره‌ی هیدروالکلی تخم کدوتبل بر میزان هورمون استروژن و مارکرهای کبدی موش‌های صحرایی ماده‌ی بالغ

سمانه معتمد جهرمی^{*۲،۱} ، صادق نیامی جهرمی^۳

خلاصه:

سابقه و هدف: استروژن مصنوعی اثرات مخربی بر بافت کبد می‌گذارد. به نظر می‌رسد تخم کدوتبل بتواند جایگزین مناسبی در هورمون درمانی باشد. هدف از انجام این پژوهش بررسی تأثیر عصاره‌ی هیدروالکلی تخم کدوتبل بر میزان هورمون استروژن در موش‌های صحرایی ماده‌ی بالغ و اثرات آن بر مارکرهای کبدی و تغییرات بافتی کبد و تخدمان می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این تحقیق تجربی ۴۰ سر موش صحرایی ماده بالغ از تزاد ویستار (در محدوده وزنی ۱۸۰ ± ۱۰ گرم و سن ۶۰ روز) انتخاب و به طور تصادفی به ۵ گروه ۸ تایی: سه گروه تجربی، کنترل و شاهد تقسیم شدند. به گروه‌های تجربی عصاره هیدروالکلی تخم کدوتبل (با دوزهای ۵۰ ، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به ترتیب جهت گروه‌های تجربی ۱، ۲ و ۳) به مدت ۲۱ روز متوالی به صورت درون‌صفاقی تزریق شد. سپس سطح سرمی مارکرهای کبدی و تخدمانی تعیین و مطالعات بافت‌شناسی بر روی کبد و تخدمان انجام شد.

نتایج: کاهش معنی‌دار در میزان سرمی ALP و افزایش معنی‌دار در میزان سرمی هورمون‌های استروژن و LH و FSH و تعداد فولیکول‌های گراف در گروه تجربی ۳ و کاهش معنی‌دار در تعداد فولیکول‌های بدوى و اوّلیه در هر سه گروه تجربی نسبت به گروه کنترل و کاهش معنی‌دار تعداد فولیکول‌های ثانویه در گروه تجربی ۱ نسبت به گروه‌های تجربی ۲ و ۳ مشاهده شد ($P<0.05$).

نتیجه‌گیری: استروژن موجود در عصاره‌ی هیدروالکلی تخم کدوتبل بدون اثر مخرب بر بافت کبد می‌تواند مسیر تخمک‌گذاری را طی نماید و جایگزین مناسبی برای استروژن‌های مصنوعی و تنظیم‌کننده‌ی چرخه‌ی عادت‌ماهیانه زنان باشد.

واژگان کلیدی: استروژن، کبد، موش صحرایی، ماده، عصاره

دو ماهنامه علمی- پژوهشی فیض، دوره بیست و سوم، شماره ۵، آذر و دی ۹۸، صفحات ۴۵۵-۴۶۶

تحقیقات بسیاری بر روی مزایای بهداشتی و تغذیه‌ای تخم کدوتبل انجام شده است. در واقع دانه این گیاه می‌تواند یک جایگزین مناسب برای غنی‌سازی مواد غذایی از لحاظ رونگ و مواد مغذی باشد [۴]. این دانه‌ها منع عالی از مواد معدنی از جمله: روی، فسفر، منیزیم، پتاسیم و سلنیوم می‌باشد که در مقایله با پیشتر بیماری‌ها موردنیاز است و به عنوان سلاح مبارزه با بیماری‌هایی مانند: آرتрит، التهاب، سرطان پروستات و غیره عمل می‌کند. علاوه بر موارد گفته شده این دانه در عناصری مانند: کلسیم، منگنز و روی هم غنی می‌باشد. با توجه به فواید گفته شده، میزان مصرف این دانه در دنیا کم بوده، یا حتی به عنوان زباله در نظر گرفته می‌شود، اما در واقعیت امر این دانه اگر به طور منظم مصرف شود، بدون این که باعث ایجاد عوارض جانبی در سلامت انسان شود، مفید خواهد بود [۵]. دانه‌های کدو در کشورهای شرقی، جهت تهیه نان، کیک و غلات استفاده می‌شود. این دانه غنی از فیبر بوده، منبع طبیعی پروتئین و فیتوستروول می‌باشد [۷-۹]. آرد تخم کدوتبل به دلیل شباهت فرمولاسیون آن با آرد گندم و داشتن میزان بالایی از پروتئین، می‌تواند جایگزین مناسب آرد گندم شود [۱۰] به دلیل ارزش غذایی و بهداشتی فوق العاده رونگ تخم کدوتبل در سال‌های اخیر به آن توجه زیادی شده است، همچنین رونگ تخم کدوتبل دارای PUFA، MUFA، فیتوستروول

مقدمه

کدوتبل (به عنوان *Cucurbita maxima* نیز) در ادبیات مختلف نامگذاری شده است. گونه *Cucurbita maxima* در آمریکای جنوبی پیش از ۴۰۰۰ سال پیش به وجود آمد و بعد از کشف آمریکا تاکنون به طور گسترده‌ای در سراسر جهان کشت می‌شود. این گیاه متعلق به خانواده "Cucurbitaceae" می‌باشد که در این مطالعه از جنس "Danhobak" (*Maxima c*) استفاده شده است. بوته‌ی کدوتبل یک گیاه یکساله با میوه‌های گوشتی و معمولاً دانه‌های بیضی شکل است [۱-۳].

۱. دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جهرم، جهرم، ایران
۲. مرکز مطالعات و توسعه آموزش علوم پزشکی بندرعباس، دانشگاه علوم

پزشکی بندرعباس، بندرعباس، ایران

۳. واحد مخازن کشتیرانی، سایت خدمات مخازن کشتیرانی قشم، بندرعباس، ایران

* لشکن نویسنده مسئول؛

بندرعباس، ضلع شرقی بیمارستان شهید محمدی، معاونت آموزشی

تلفن: ۰۹۱۷۷۹۲۱۰۴۶، دوبلوپس: ۷۱۵۴۲۶۶۲۸۶

پست الکترونیک: Sanammorsal400500@yahoo.com

تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۸/۵/۲۶

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۷/۲

تومور وابسته به هورمون نیز استفاده شوند. تخم کدوتبل دارای ویتامین E و رادیکال آزاد می‌باشد که به عنوان داروی ضدپیری کاربرد دارد. لازم به ذکر است آنتی‌اکسیدان‌هایی مانند: آلفا-توکوفرول و گاما-توکوفرول و کاروتونوئید نیز در این دانه وجود دارد [۲۲-۲۵]. در تحقیقات گوسل و بیلیامز و همکاران در سال ۲۰۰۶ نیز مشاهده شده بود که تخم کدوتبل سرشار از فیتواستروزن (پیش‌ساز استرادیول) بوده، مصرف آن باعث افزایش میزان استرادیول می‌شود [۶]. درواقع فیتواستروزن‌های مصرفی در غذای انسانی در گروه فلاونوئیدها قرار دارند و شامل ایزوفلافون‌ها می‌باشدند. لازم به ذکر است ایزوفلافون‌ها، استروزن‌های گیاهی هستند که مشابه هورمون استروزن زنانه به گیرنده‌ی استروزنی سلول‌ها در ارگان‌های مختلف بدن انسان متصل می‌شوند [۲۶]. فیتواستروزن موجود در تخم کدوتبل همچنین باعث کاهش علائم اصلی یائسگی مانند گرگرفتگی، درد مفاصل و سردرد در زنان یائسه به دلیل عدم وجود فعالیت پاراتورمونی استروزن می‌شود و همچنین مصرف تخم کدوتبل باعث کاهش فشارخون دیاستولیک و افزایش قابل توجه در غلظت لبیوپروتئین با چگالی بالا می‌شود [۲۷]. در پلاسمای انسان تنها سه نوع استروزن به میزان زیاد وجود دارند: بتا-استرادیول، استرون و استریول. استرون اصلی که در تخمدان تولید می‌شود، بتا-استرادیول است. مقادیر کمی استرون نیز ترکیب می‌شود اما بخش عمده آن در بافت‌های محیطی از تبدیل آندروروزن‌های مترشحه از قشر غده فوق‌کلیوی و نیز سلول‌های تکای تخمدان به وجود می‌آید [۳۰-۳۱]. استرادیول در کبد متابولیزه می‌شود و به صورت استرون و استریول در می‌آید که به شکل کنژوگه با گلوکورونیدها و سولفات‌ها از راه ادرار دفع می‌شود [۲۸، ۲۹]. استروزن‌ها و پروژسترون هر دو در خون به وسیله اتصال به آلبومین پلاسمای گلوبولین‌های ویژه متصصل شوند به استروزن و پروژسترون حمل می‌شوند. اتصال هورمون‌ها به پروتئین چنان سست است که در طول حدود ۳۰ دقیقه یا کمی بیشتر به بافت‌ها آزاد می‌شود [۲۸]. بدروستی شناخته شده است که کبد نقش مهمی در فرآیند شیمیایی و غیرفعال‌سازی فرآیند بیولوژیکی استروزن انسانی دارد [۳۳، ۳۴]. در مقابل آن استروزن باعث کاهش سیالیت صفراء و ایجاد سنگ صفاروازی می‌شود که وابسته به دوز استروزن است و احتمالاً ایجاد آن در دوزهای بالاتر بیشتر خواهد بود. اثرات مخرب استروژن‌های مصنوعی بر عملکرد کبدی زنان جوان مبتلا به بیماری‌های مزمن کبدی مشاهده شده است [۳۴]. اختلال در عملکرد کبد رابطه خاصی با بارداری دارد. در طول حاملگی ممکن است سنتز استرادیول به ۶۰ میلی‌گرم در روز برسد که این میزان خیلی بیشتر از استروئیدی است که در زمانی که زنان حامله نیستند، تولید می‌شود. گرچه متون

و کاروتونوئیدها می‌باشد که حتی می‌تواند به عنوان یک نگهدارنده و یا ترکیب کننده در زمینه‌های مختلف از قبیل: لوازم آرایشی، مواد پاک کننده و یا شکل‌دهنده به مواد غذایی به کار برد شود [۱۱]. روغن تخم کدوتبل با اثر آنتی‌اکسیدانی قوی و محافظت در برابر مواد شیمیایی در بهبود وضعیت پوستی اثر بالقوه‌ای دارد [۱۲]. سرینوسکا C. maxima D کشت شده در جمهوری مقدونیه را مورد مطالعه و آنالیز قرار دادند. آن‌ها دریافتند که نسبت لینولیک‌اسید، اولنیک‌اسید و D5-استروول در عصاره این دانه بسیار بالاست [۱۳]. درواقع حضور اسیدهای چرب غیراشبع مانند: اولنیک‌اسید و لینولیک‌اسید در تخم کدوتبل، باعث کاهش سطح کلسترول می‌شود [۱۴]. مطالعه دیگری در سال ۲۰۱۳ نشان داد که تخم کدوتبل متشکل از: فیبر خام (۳۱/۸۸ درصد)، چربی خام (۳۱/۳۷ درصد)، پروتئین خام (۳۳/۲۹ درصد) و کربوهیدرات (۳۶/۳۵ درصد) می‌باشد. مقادیر بالای اسیدهای چرب اشباع‌نشده در آن وجود دارد و اسیدهای چرب غالب، شامل: اسید‌پالmitik، اسید‌استریک، الیگون و اسید‌لینولیک است. مواد معدنی مانند پتاسیم و سدیم با بالاترین میزان در این دانه وجود دارد. مقدار آ-توکوفرول نیز بین ۳۳/۳۳ تا ۱۲۲/۶۵ میکروگرم در گرم می‌باشد [۱۵]. در مطالعه دیگری که توسط موتسانو و همکاران در سال ۲۰۱۸ انجام شد، نشان داد که اسید‌چرب اصلی موجود در این دانه، اسید‌الیکین است که بیشتر عصاره دانه این گیاه از آن تشکیل شده است [۱۶]. طبق مطالعات انجام شده در گذشته، دانه‌ها همچنین حاوی ماده‌ی شیمیایی به نام cucurbitin می‌باشند که می‌تواند در بدن از تبدیل تستوسترون به فرم بسیار قوی این هورمون به نام دی‌هیدروتستوسترون جلوگیری کند، بدون آن‌که تولید سلول‌های پروستات بیشتر و بزرگ‌تر شوند [۱۷]. طبق مطالعات والنسیک در سال ۲۰۱۵، تخم کدوتبل موجب کاهش علائم و بهبود قابل ملاحظه‌ی BPH/LUTS می‌شود [۱۸] مطالعه به منظور بررسی اثرات روغن تخم کدوتبل نیز صورت گرفته و نشان داده شد که روغن تخم کدوتبل به تنهایی یا همراه با فیتوستروول F می‌تواند سبب افزایش نسبت وزنی پروستات و سترز پروتئین T-P شود [۱۹]. مطالعات گذشته نشان داد که تخم کدوتبل دارای بسیاری از اثرات زیستی از جمله: فعالیت استروزنیک و فعالیت ضدسرطانی و کاهنده‌ی کلسترول نیز می‌باشد [۲۱، ۲۰، ۱۴]. مطالعات در سال‌های ۲۰۱۴ و ۲۰۱۸ یک نتیجه مشترک داشت و نشان داد که تخم کدوتبل شامل ترکیبات مهم فیتواستروزن هستند. به عنوان مثال: سیکوپیسول، آریسیرسینول و لاریسیرسینول که دارای اثرات استروزنی مانند: جلوگیری از هپر‌گلیپیدمی و پوکی استخوان برای زنان یائسه می‌باشد. فیتواستروزن‌ها در تخم کدوتبل می‌توانند در درمان یک

پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر عصاره‌ی هیدروالکلی تخم کدوتبل بر میزان هورمون استروژن در موش‌های صحرایی ماده‌ی بالغ و اثرات آن بر مارکرهای کبدی ضروری به‌نظر می‌رسد تا بتواند در آینده جایگزین مناسب داروهای شیمیابی استروژنی مصنوعی در پزشکی نوین و طبستی شود.

مواد و روش‌ها

این مطالعه از نوع علوم‌بايه می‌باشد که به صورت یک مطالعه‌ی تجربی و کاربردی با جامعه‌ی پژوهش موش‌های صحرایی ماده‌ی بالغ نژاد ویستار در سال ۱۳۹۴ انجام شد. در این مطالعه جهت رسیدن به نتایج به بررسی سطح سرمی ALT، AST، ALP، پروتئین‌تام، آلبومین، بیلی‌روبن و هورمون‌های استروژن و پروژسترون و LH و FSH پرداخته، کبد و تخمدان آن‌ها نیز برای مطالعات بافت‌شناسی برداشته شد. اصول مراقبت از حیوانات آزمایشگاهی به‌طور صحیح و طبق اصول آورده‌شده در کتاب راهنمای مراقبت و نگهداری حیوان آزمایشگاهی اثر گاربر و همکاران انجام شد [۴۸]. رعایت ملاحظات اخلاقی از قبیل: مطالعه بر روی نمونه‌ی حیوانی به جای نمونه‌ی انسانی، مراقبت و رعایت نظافت موش‌ها در طول مطالعه و بیهوشی سریع و مرگ بدون درد موش‌های صحرایی هم انجام شد. به‌طورکلی باید گفت تمام آزمایشات توسط کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی جهرم با کد اخلاق: REC.1393.071 jums. گرفت. در این تحقیق حجم نمونه به روش نمونه‌گیری آسان، انتخاب شد و باستفاده از جدول اعداد تصادفی موش‌های نمونه بین گروه‌ها تقسیم شدند. حیوانات به‌صورت تجربی و به تعداد ۴۰ سر موش صحرایی ماده‌ی بالغ نژاد ویستار در محدوده وزنی ۱۸۰ ± 10 گرم و سن ۶۰ روز به‌صورت جداگانه و به‌طور تصادفی به ۵ گروه ۸ تایی شامل: گروه‌های تحریبی ۱، ۲، ۳، کنترل و شاهد تقسیم شدند. موش‌های صحرایی از مرکز پرورش خانه‌ی حیوانات دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم تهیه شد و در همین مرکز کارهای عملی انجام گرفت. غذای مصرفی آن‌ها به‌صورت آماده (Pellet) تهیه شد. از آب لوله‌کشی شده جهت تأمین آب مصرفی حیوانات استفاده شد. درجه حرارت محیط نگهداری ۲۳ ± 2 درجه سانتی‌گراد و دوره ۱۲ ساعت روشناختی و ۱۲ ساعت تاریکی و رطوبت نسبی ۴۰-۶۰ در نظر گرفته شد. قفس‌های نگهداری حیوانات از جنس پلی‌کربنات به ابعاد $۲۰\times ۳۰\times ۵۰$ سانتی‌متر با سقف مشیک بود. کف قفس‌ها از خاک اره و تراشه‌چوب پوشیده بود. کف اتاق و تجهیزات موجود در آن توسط ساولن ضدآفونی می‌شدند و همچنین هر دو روز یکبار قفس‌ها خالی و تمیز و

استاندارد نشان می‌دهند که عملکرد کبد در حاملگی طبیعی است اما شواهدی در رد این مسئله نیز وجود دارد. بنابراین نیاز به بررسی تأثیر استروژن‌های مصنوعی بر متغیرهای بافتی و سرمی کبد قبل از تجویز آن‌ها به مراجعه کنندگان و بیماران می‌باشد [۳۵]. سنتز استروژن توسط هورمون‌های FSH و LH صورت می‌گیرد و سنتز و ترشح آن در فاز فولیکولی دوره‌ی قاعدگی افزایش می‌باید [۲۸]. هورمون‌های استروژنی، اصلی‌ترین نقش را در تنظیم رشد، تکوین، هوموستازی و مرگ‌سلولی برنامه‌ریزی شده در تحملان دارند. در زنان ۴۰ سال به بالا چروک پوست ناشی از کاهش سطح استروژن دیده می‌شود. استفاده از استروژن در اوایل دوران یائسگی همچنین می‌تواند باعث حفظ ساختار پوست و نشاط پوست و عروق از طریق افزایش کلازن شود [۳۶]. دوران بلوغ شامل تعدادی از تغییرات فیزیکی همراه با تغییرات محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گناد است [۳۷]. هورمون‌های گنادوتروپین (FSH و LH) تنظیم کننده‌ی اصلی چرخه‌های عادت ماهیانه هستند که طی آن تخمک‌گذاری انجام می‌شود [۳۸]. با این تفسیر می‌توان گفت، عدم باروری و میزان کم‌باروری به علت وضعیت و میزان سطوح هورمونی ناشی از پروتکل‌های تحریکی تخمک‌گذاری می‌تواند ایجاد شود [۳۹] که جهت درمان از هورمون‌درمانی جایگزین استفاده می‌شود. درواقع هورمون‌درمانی جایگزین به ترتیب استروژن و گاهی پروژسترون اطلاق می‌شود [۴۰]. همان‌طور که می‌دانیم استروژن از محرك‌های قوی رشد فولیکولی در جوندگان است و دارای نقش میتوژنیک بر سلول‌های گرانول می‌باشد [۴۱] در مرحله‌ی پرواستروس تحت تأثیر استروژن، حفره‌ی رحمی گسترش یافته و ترشح استروژن به حد نهایی رسیده، مقدار FSH کاهش و LH افزایش می‌باید [۴۲، ۴۳]. میزان پروژسترون بر اثر تشکیل جسم زرد افزایش می‌باید و میزان استروژن کاهش پیدا می‌کند [۴۴، ۳۱] به دلیل شباهت مراحل عادت-ماهیانه انسان با موش‌های صحرایی نژاد ویستار در تحقیقات مربوط به ارزیابی هورمون‌های زنانه، از این نوع موش‌ها استفاده می‌شود. این را باید مدت‌ظرف قرار داد که اثرات جانبی داروهای شیمیابی، حساسیت افراد زیادی به برخی از این داروها و مقاوم شدن بسیاری از بیماری‌ها در برابر داروهای شیمیابی باعث می‌شود که بار دگر نظر و توجه دانشمندان و محققان به استفاده از فرآورده‌های گیاهی در زمینه‌های مختلف معطوف شود. از جمله داروهای شیمیابی استروژن-های مصنوعی هستند که در مقادیر و شرایط خاص بر عملکرد کبد تأثیر می‌گذراند؛ به‌طوری که حتی وقوع اختلالات کبدی در زنانی که جهت جلوگیری از بارداری و موارد مشابه آن از استروژن‌های مصنوعی حاوی استروئید استفاده می‌کردند، مشاهده شده‌است [۴۷-۴۵]. با توجه به مطالعه ذکر شده به این نتیجه رسیدیم که انجام

گروه‌های دیگر مورد مقایسه قرار گرفت [۴۹].

عصاره‌ی هیدروالکلی (۸۰ درصد) تخم کدوتبل جهت عصاره‌گیری از روش سوکسله استفاده شد [۵۰]. ابتدا ۱۰۰ گرم از دانه‌های کدوتبل خشک (Pumkin) از جنس کدو و خانواده Cucurbitaceae ("Danhabak") *Maxima c.* نمونه [۱۶] را به صورت پودر درآورده، سپس با ۵۰۰ میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد مخلوط کرده، به مدت سه روز در هوای آزمایشگاه در دستگاه پرکولاتور نگهداری شد. بعد از سه روز عصاره به وسیله شیر پایین دستگاه قطره‌قطره جمع‌آوری شد. در این مرحله اتانول ۸۰ درصد به دستگاه اضافه شد تا مادامی که عصاره به دست آمده را بی‌رنگ نشان دهد و این نشان‌دهنده آن است که دیگر عصاره‌ای وجود ندارد. بعد از آن جهت شفافسازی، مخلوط حاصل از کاغذ صافی عبور داده شد، سپس عصاره به دست آمده در دستگاه روتاری در درجه حرارت 40°C تبخیر شد، تا عصاره‌ای غلظت به دست آمد. عصاره حاصل با استفاده از دستگاه دسی‌کاتور تحت خلاً قوی به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفت تا رطوبت کاملاً گرفته و خشک شد. سپس عصاره خشک به دست آمده را وزن کرده، راندمان آن تعیین شد. بدین صورت برای ۱۰۰ گرم پودر تخم کدوتبل بعد از مراحل انجام شده ۱۶ گرم عصاره خشک به دست آمد و بقیه تفاله بود، بنابراین عصاره‌ی حاصل به دست آمده درصد می‌باشد. درنهایت دوز کشنده دارو و سپس دوزهای حداقل، متوسط و حداکثر تعیین شد [۴۹].

تعیین دوز عصاره‌ی تخم کدوتبل

چند غلظت از عصاره‌ی تخم کدوتبل به صورت تصادفی انتخاب و به ۵ گروه ۸ تایی از موش‌ها تزریق شد. در گروهی که نیمی از موش‌ها مُردند، دوز مصرفی انتخابی به عنوان LD_{50} شد که برابر با 400 mg/kg بود و سپس غلظت‌های حداقل، متوسط و حداکثر تعیین شد. لازم به ذکر می‌باشد عصاره‌ی تخم کدوتبل از مرکز تهیه عصاره دانشگاه پژوهشی شیراز تهیه شد. طبق دستورالعمل در هر لیتر از عصاره تهیه شده ۴۰۰ میلی‌گرم عصاره خالص وجود داشت که با توجه به وزن موش‌ها که حدود ۲۰۰ گرم بود، جهت تعیین LD_{50} دوزهای 50 ، 20 و 10 میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن از عصاره تام اویله در حجم $0/2$ میلی‌لیتر به صورت داخل صفاقی به حیوانات تزریق شد.

روش تجزیه و تحلیل اطلاعات

جهت تجزیه و تحلیل اطلاعات از آنالیز واریانس یک‌طرفه ANOVA استفاده شد. ارزیابی نرمالبودن توزیع داده‌ها توسط آزمون Kolmogorov-Smirnov انجام گرفت و محاسبات آماری توسط نرم‌افزار SPSS در سطح معنی‌دار ۵ درصد انجام

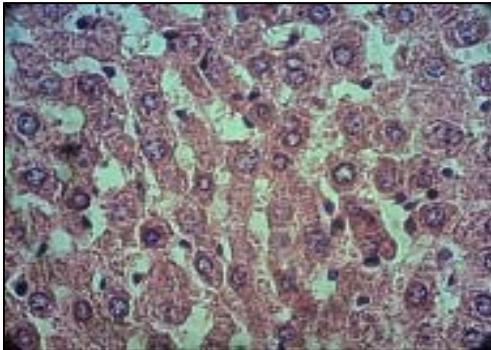
ضد عفونی می‌شد. شرایط نگهداری برای تمام حیوانات یکسان بود و در طول دوره تیمار دسترسی به آب و غذا داشتند. گروه‌های تجربی به ترتیب $1/1$ میلی‌لیتر محلول 20 ، 50 و 100 میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن عصاره‌ی تخم کدوتبل و گروه شاهد $0/1$ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی به صورت داخل صفاقی و توسط سرنگ انسولین به مدت ۲۱ روز متواالی هر روز ساعت ۱۰ صبح دریافت کردند. گروه کنترل هیچ دارویی دریافت نکرد [۴۸]. در انتهای پژوهش (روز ۲۲ ام) پس از توزین حیوانات به طور مستقیم و با کمک سرنگ 5 میلی‌سی‌سی از قلب حیوانات (تحت بیهوشی به وسیله دی‌ای‌تل اتر) خون‌گیری انجام شد و سرم آن‌ها توسط دستگاه سانتریفیوژ (به مدت ۱۵ دقیقه و 3000 دور در دقیقه) جمع‌آوری شد و در دمای -20 - درجه سیلیسیوس به منظور سنجش ALP, AST, ALT, پروتئین‌تام، آلبومین، بیلی‌روین و هورمون‌های استروژن و پروژسترون و FSH و LH نگهداری شد. برای اندازه‌گیری فاکتورهای بیوشیمی خون از کیت‌های اندازه‌گیری زیست‌شیمی ساخت ایران و به روش رنگ‌سنگی و دستگاه اتوآنالایزر مدل Selectera XL ساخت هلند استفاده شد.

بررسی میکروسکوپی بافت کبد و تخمندان

پس از خون‌گیری، ناحیه شکمی برش زده شد و کبد و تخمندان توسط اسکالپل و پنس از بافت‌های چربی اطراف جدا شد. کبد و تخمندان تمامی حیوانات جدا شد و پس از توزین با سرم فیزیولوژی شستشو داده شد، سپس هر کدام از آن‌ها را وارد یک شیشه حاوی فرمالین 10 درصد کرده، برای مدت ۱۴ روز در محلول فرمالین نگهداری شد. سپس کبد و تخمندان به صورت جداگانه به آزمایشگاه بافت‌شناسی بیمارستان شهید مطهری جهرم جدأگانه تهیه لام ارسال شد. اسلامیدهای تهیه شده از بخش‌های مختلف بافت‌های کبد و تخمندان به صورت جداگانه، امکان مطالعه بافتی را فراهم نمود. در هر اسلامید مربوط به کبد به ترتیب میزان احتقان و پرخونی عروق، آترزی بافتی، میانگین میزان تخریب بافت کبدی (برخی از پارامترهای بافتی کبد شامل از بین رفن نظم رو به مرکز هپاتوسیت‌ها، پرخونی و اتساع وریدها، نکروز هپاتوسیت‌ها، تجمع سلول‌های کوپفر، ارتشاج سلول‌های آمامی و تغییرات فضای پورتال) و در هر یک از اسلامیدهای مربوط به تخمندان به ترتیب میزان احتقان و پرخونی عروق، واکوئله‌شدن سلول‌های بافت تخمندان، آترزی فولیکول‌ها، میانگین تعداد فولیکول‌های بدوى، اویله، ثانويه، گراف، آتریک و جسم زرد توسط میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی 400 در 10 میدان دید (مجموعاً 50 میدان دید در هر حیوان) مورد بررسی قرار گرفته، اندازه‌گیری شد. سپس میانگین آن‌ها در هر گروه مشخص شد و با

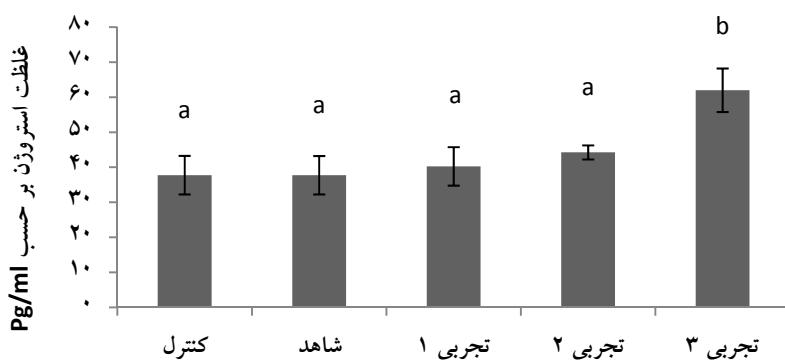
اثر عصاره‌ی هیدروالکلی تخم کدوتبل بر میزان متغیرهای بافتی کبد و تخمدان

در هیچ‌کدام از گروه‌های مورد بررسی، عصاره‌ی تخم کدوتبل بر بافت کبد تغییرات معنی‌داری را از لحاظ پرخونی کبد، ارتashاج سلول‌های آماسی، نکروز هپاتوسیتی، واکوتله‌شدن سلول، روشن شدن سیتوپلاسم و تغییرات فضای پورتال اعمال نکرد (شکل شماره ۲).



شکل شماره ۲- طبیعی بودن ساختار کبد در گروه دریافت‌کننده دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نسبت به گروه کنترل (هماتوکسیلین-آئوزین، بزرگنمایی ۴۰۰)

افزایش معنی‌دار در تعداد فولیکول‌های گراف در گروه تجربی دریافت‌کننده دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و کاهش معنی‌دار در تعداد فولیکول‌های بدی و اویله در هر سه گروه تجربی نسبت به گروه کنترل نیز مشاهده شد و تعداد فولیکول‌های ثانویه در گروه تجربی دریافت‌کننده دوز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نسبت به گروه‌های تجربی دریافت‌کننده دوز ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کاهش معنی‌داری داشت. در تعداد فولیکول‌های ثانویه و جسم زرد و آتریک نسبت به گروه کنترل در هیچ‌کدام از گروه‌ها تغییر معنی‌داری مشاهده نشد (شکل شماره ۳ و جدول شماره ۱).



نمودار شماره ۱- مقایسه گروه‌های مورد بررسی از نظر غلظت استروژن بعد از تأثیر عصاره‌ی تخم کدوتبل: گروه دریافت‌کننده دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از لحاظ میزان هورمون استروژن در مقایسه با گروه‌های دیگر افزایش معنی‌داری را نشان داد.
(ستونهایی که حداقل یک حرف مشترک دارند اختلاف معنی‌داری با هم ندارند ($P < 0.05$))

شد. معیار ورود موش‌های صحرابی ماده‌ی بالغ سالم نژاد ویستار و معیار خروج مرگ حیوان می‌باشد.

نتایج

اثر عصاره‌ی هیدروالکلی تخم کدوتبل بر وزن بدن با توجه به توزین انجام شده در روز اول و روز آخر و مقایسه بین گروه‌های شاهد و گروه‌های دریافت‌کننده دوزهای ۵۰، ۲۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، بر طبق جدول شماره ۱ چنین می‌توان نتیجه گرفت که گروه شاهد و گروه‌های دریافت‌کننده دوزهای ۲۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تغییر معنی‌داری از نظر وزن بدن نسبت به گروه کنترل نشان ندادند.

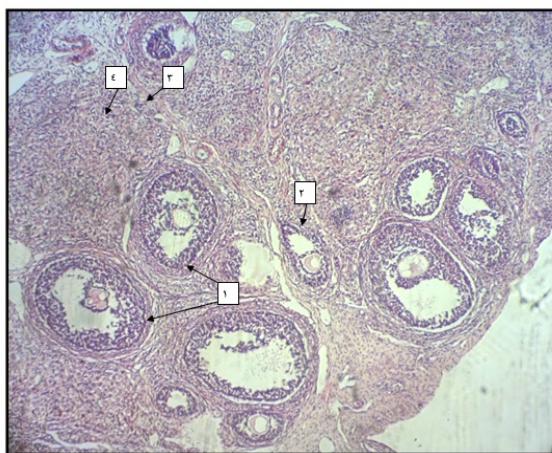
اثر عصاره‌ی هیدروالکلی تخم کدوتبل بر میزان متغیرهای سرمی کبد و تخمدان

نتایج نشان داد که گروه شاهد و گروه‌های دریافت‌کننده دوزهای ۲۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تغییر معنی‌داری بر میزان غلظت‌های ALT,AST, آلبومین، پروتئین تام و بیلیروین و هورمون پروژسترون نسبت به گروه کنترل نشان ندادند. گروه شاهد تغییر معنی‌داری از نظر غلظت ALP و هورمون‌های استروژن و FSH و LH نسبت به گروه کنترل نشان نداد. گروه دریافت‌کننده دوز ۲۰ و ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم توانستند به صورت غیرمعنی‌دار میزان ALP را نسبت به گروه کنترل کاهش دهند و در گروه دریافت‌کننده دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از لحاظ میزان ALP نسبت به گروه کنترل به طور معنی‌داری کاهش نشان داده شد و همین گروه از لحاظ میزان هورمون استروژن و FSH و LH در مقایسه با گروه‌های دیگر افزایش معنی‌داری را نشان داد (جدول شماره ۱ و شکل شماره ۱).

جدول شماره ۱- میزان متغیرهای تغییریافته سرمی و بافت تخمدان تغییریافته در گروههای مختلف نسبت به گروه کنترل*

میزان متغیرهای بافت تخمدان تغییریافته در گروههای مختلف نسبت به گروه کنترل						
تجربی ۳	تجربی ۲	تجربی ۱	شاهد	کنترل		
۱۰/۱±۷۵۰/۲۵۰b	۱۰/۱±۵۰۰/۱۹۰ab	۱۰/۰±۲۵۰/۸۵۰ab	۷/۱±۰۰۰/۰۰۰ a	۷/۱±۰۰۰/۰۰۰ a	تعداد فولیکول گراف (درصد)	
۰/۰±۲۵۰/۰۲۵ a	۰/۰±۰۰۰/۰۰۰ a	۰/۰±۲۵۰/۰۲۵ a	۱/۰±۲۳۰/۰۲۴ b	۱/۰±۲۵۰/۰۲۵ b	تعداد فولیکول بدبوی (درصد)	
۳/۰±۰۷۵/۰۸۵ a	۳/۰±۲۵۰/۰۶۲ a	۳/۰±۰۰۰/۰۷۰ a	۶/۰±۰۰۰/۰۷۰ b	۶/۰±۰۰۰/۰۷۰ b	تعداد فولیکول اولیه (درصد)	
۵/۰±۰۰۰/۹۱۲b	۵/۰±۲۸۰/۴۷۸b	۳/۰±۰۰۰/۴۰۸a	۳/۰±۰۷۵۰/۴۲۲ ab	۳/۰±۰۷۵۰/۴۷۸ ab	تعداد فولیکولهای ثانویه (درصد)	
میزان متغیرهای سرمی هورمون تخمدان تغییریافته در گروههای مختلف نسبت به گروه کنترل						
تجربی ۳	تجربی ۲	تجربی ۱	شاهد	کنترل		
۰/۷۵۰±۰/۱۰۰ b	۰/۴۲۰±۰/۰۸۰ a	۰/۳۳۰±۰/۰۶۵ a	۰/۱۷۰±۰/۰۲۰ a	۰/۲۴۰±۰/۰۳۰ a	(IU/L) FSH	هورمون
۰/۱۳۲±۰/۰۰۰۴ a	۰/۱۷۲±۰/۰۱۵ a	۰/۱۷۳±۰/۰۲۱ a	۰/۱۳۴±۰/۰۲۱ a	۰/۱۳۵±۰/۰۲۲ a	(IU/L) LH	هورمون
۶۲۰±۶۰/۲۱۰b	۴۴/۲۵۰±۰/۰۱۰ a	۴۰/۲۵۰±۰/۰۱۰ a	۳۷/۷۳۰±۰/۰۱۰ a	۳۷/۷۵۰±۰/۰۱۰ a	(Pg/ml)	استروژن
میزان متغیرهای سرمی کبد تغییریافته در گروههای مختلف نسبت به گروه کنترل						
تجربی ۳	تجربی ۲	تجربی ۱	شاهد	کنترل		
۴۵۹/۶۲۵±۴۸/۸۴۳ a	۵۰۱/۷۵±۵۰/۴۴۷ ab	۵۳۶/۳۷۵±۵۰/۶۹۳ ab	۶۷۰/۷۵±۴۲/۱ b	۶۶۶/۷۵±۴۲/۰۳۱ b	ALP(UL)	

* کاهش معنی دار در میزان سرمی ALP و افزایش معنی دار در میزان سرمی هورمون استروژن و LH و تعداد فولیکولهای FSH و LH و کاهش معنی دار در گروه تجربی ۳ و کاهش معنی دار در تعداد فولیکولهای بدبوی و اولیه در هر سه گروه تجربی نسبت به گروه کنترل و کاهش معنی دار در تعداد فولیکولهای ثانویه در گروه تجربی ۱ نسبت به گروههای تجربی ۲ و ۳ مشاهده شد ($P<0.05$) و در ضمن میانگینهای موجود در هر ردیف که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند براساس آزمون دانکن اختلاف معنی داری با هم ندارند. در بقیه متغیرها تغییری مشاهده نشد.



فولیکولهای تخدمانی در گروه تجربی ۳ موشهای صحرابی بالغ: فتو میکروگراف فولیکول گراف (۱)، فولیکول ثانویه (۲)، فولیکول اولیه (۳)، جسم زرد (۴).

شکل شماره ۳- افزایش معنی دار در تعداد فولیکولهای گراف و کاهش معنی دار در گروه کنترل (بزرگنمایی ۴۰ و رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ائزین).

اشاره نمود که شامل: سیکویسول، آریسیرسینول و لاریسرسینول است و دارای اثرات استروژنی مانند جلوگیری از هپرگلپیدمی و پوکی استخوان برای زنان یائسه می باشد. حتی فیتواستروژنها در تخم کدوتبل می توانند در درمان یک تومور وابسته به هورمون استفاده شوند [۲۲-۲۵]. مطالعات دیگری نیز همین نتیجه را نشان دادند و اعلام نمودند تخم کدوتبل حاوی فیتواستروژن می باشد که دارای فعالیت استروژنیک است [۵۴, ۲۱, ۲۰] در واقع فیتواستروژن های مصرفی غذای انسانی (ایزوفلاؤنها) در گروه فلاونوئیدها قرار دارند. لازم به ذکر است ایزوفلاؤنها استروژن های گیاهی هستند

بحث

کدوتبل *Cucurbita maxima* در سراسر جهان برای استفاده های آشپزی و دارویی کشت می شود و به عنوان سبزیجات پر طرفدار که به آسانی رشد می کند و به این ترتیب مقرون به صرفه است، از آن صحبت می شود [۵۱]. در هر کدوتبل به مقدار زیادی دانه تولید می شود. بزرگ ترین میانگین توده هی دانه در هر میوه کدوتبل به صورت میانگین مقدار ۱۱۰/۷ گرم می باشد [۵۳, ۵۲]. تخم کدوتبل از مواد معدنی و مغذی بسیاری تشکیل شده است، از جمله ترکیبات موجود در آن می توان به ترکیبات مهم فیتواستروژن

کبد در برخی از بیماران مصرف کننده استروژن حاوی استروئید جهت مقاصد ضد بارداری مشاهده شد [۶۲،۶۱]. در مطالعه حاضر ALT و بررسی های انجام شده تغییر معنی داری در سطح سرمی AST، پروتئین تام و آلبومین نسبت به گروه کنترل مشاهده نشد و میزان سرمی ALP در گروه تجربی ۳ (دریافت کننده دوز حداکثر) نسبت به گروه کنترل کاهش معنی داری را نشان داد. بنابراین می توان چنین نتیجه گرفت که احتمالاً تخم کدوتبل می تواند بهترین انتخاب جهت تأمین کمبودهای استروژنی بدن با حداقل آسیب به کبد باشد و می تواند به عنوان جایگزین مناسب استروژن های مصنوعی کاربردی شود. همانطور که قبلاً هم به آن اشاره شد استروژن های مصنوعی به طور واضح دفع ادراری پورفیرین ها و پیش سازهای آن را در بیماران مبتلا به پورفیری متاوب حاد (پورفیریا بیماری اختلال در تولید هموگلوبین) افزایش می دهد. البته این را باید مدت نظر قرار داد که در برخی از افراد این میزان طبیعی می باشد [۶۴،۶۳]. در مطالعات دیگر نشان داده شده است که استروژن خوارکی مصنوعی بر فعالیت پلاکت ها و فاکتور انعقادی پلاسما اثر می گذارد که هر دو، عامل کلیدی در ایجاد لخته و ترومبوز هستند. ترکیب استروژن خوارکی با پروژستین منجر به افزایش چسبندگی پلاکت می شود و خطر ابتلا به ترومبو آمبولی - وریدی (VTE) به علت افزایش فاکتورهای لخته شدن و کاهش فعالیت آنتی ترومبوین را افزایش می دهد. این فرآیند از طریق متابولیسم کبدی در زمان یائسگی ایجاد می شود [۶۶،۶۵]. در دیگر مطالعات نشان داده شد که برداشت تخدمان، باعث افزایش میزان کلسترول HDL و کلسترول Total می شود. تقریباً ۴۰ درصد کلسترول بدن از طریق اسیدهای صفراء موجود در کبد تجزیه می شود. مطالعات نشان دادند برداشت تخدمان باعث کاهش ترشح و یا تخریب اسیدهای صفراء می شود [۶۷-۶۹]. گزارش های متداول نشان دادند که میزان بیلی روین بالا در زنان مبتلا به سیروز صفراء درمان شده با هورمون ها وجود دارد و نیازمند توقف درمان است [۵۰-۵۲] که البته در مطالعه حاضر تغییر معنی داری در میزان بیلی روین مشاهده نشد. طبق مطالعات گذشته، تأثیر نحوه تجویز استروژن بر بدن می تواند بر نحوه و مسیر عملکردی آن اثرگذار باشد، همچنین تأثیر استروژن های خارجی بر کبد بستگی به مسیر مصرف و نوع و دوز استروژن دارد. بر طبق مطالعات گذشته تجویز خوارکی استروژن های مصنوعی، اثرات عمیقی بر پروتئین های پلاسما، پروتئین انعقادی، لیپوپروتئین ها و تری گلیسریدها دارد، در حالی که مصرف داروهای موضعی استرادیول تأثیر بسیار کمی بر این جنبه های عملکردی کبدی دارد. از لحاظ بالینی، استروئید خوارکی جهت درمان سرطان پروستات مؤثر است؛ اما عوارض

که مشابه هورمون استروژن زنانه به گیرنده استروژنی سلول ها در ارگان های مختلف بدن انسان متصل می شوند [۲۶]. امروزه استفاده از استروژن های مصنوعی جهت درمان بیماری های هورمونی زنان و همچنین درمان ناباروری به فور مشاهده می شود. نتایج مطالعات گذشته نشان داده است که استروژن مصنوعی در مقادیر مناسب و در شرایط خاص بر عملکرد کبد اثر می گذارد [۴۵،۴۴]. وقوع اختلالات عملکردی کبد در زنان استفاده کننده از استروژن های حاوی استروئید جهت مقاصد جلوگیری از بارداری و یا مشابه نیز گزارش شده است [۴۷،۴۶]. با توجه به این که فعالیت غدد جنسی و وزن آن ها به شدت متأثر از هورمون های استروئیدی است، تمایز موفق فولیکول، وابسته به حضور استروئیدها و فاکتورهای رشدی است که تمایز فولیکولی را تحریک می کند و همچنین موجب حفاظت سلول ها در مقابل مرگ سلولی می شود. رشد و تمایز فولیکول های تخدمانی توسط روند تکثیر و تمایز سلول های گرانولوزا صورت می گیرد [۳۶]. تخمک برای انجام تقسیم میوزی و رسیدن به ظرفیت و پتانسیل رشد و تکامل، حداقل به میزان مناسب از دو هورمون FSH و LH نیازمند است [۳۷]. در تحقیق حاضر در گروه تجربی ۳ (دریافت کننده دوز حداکثر)، افزایش معنی داری در میزان پروژسترون و FSH مشاهده شد که این افزایش با مطالعات Chawla و Dhiman در سال ۲۰۰۸ نیز مطابقت دارد [۵۵]. همچنین در گروه تجربی ۳ تحقیق حاضر (دریافت کننده دوز حداکثر) افزایش معنی دار در میزان هورمون استروژن نسبت به گروه کنترل مشاهده شد. باید به این نکته توجه کرد که افزایش میزان LH سبب افزایش تولید آندروژن ها می شود و این مسئله با مطالعات گذشته اسکولت و همکاران مطابقت دارد [۵۶] با توجه به این که در تحقیق حاضر میزان LH در گروه تجربی ۳ (گروه دریافت کننده دوز حداکثر) افزایش معنی داری نسبت به گروه کنترل داشته است، افزایش میزان استروژن در این گروه قابل توجه است. در یک تعامل متابولیک، ممکن است استروژن ها خودشان به طور مستقیم بر روی کبد اثرگذار باشند [۵۸،۵۷]. در مطالعه حاضر به علت تغییر بر میزان استروژن، احتمال تأثیر آن بر نتایج و مارکرهای مورد مطالعاتی کبد موردن توجه قرار گرفت. از آنجایی که استروژن ها ترشح و اشباع کلسترول صفراء را افزایش می دهند، میزان کلسترول در صفراء افزایش یافته، باعث کاهش توان حرکتی کیسه ای صفراء با افزایش کریستال شدن صفراء می شود. طبق مطالعات گذشته آپاندیس، التهاب کیسه ای صفراء و برداشت آپاندیس در زنانی که استروژن های خوارکی مصرف می کنند، بیشتر اتفاق می افتد که احتمالاً جزء اثرات اوژنیه مصرف خوارکی این هورمون ها بر کبد می باشد [۶۰،۵۹]. وقوع اختلالات عملکردی

گراف مربوط به تخدمان‌ها در گروه تجربی ۳ (گروه دریافت‌کننده‌ی دوز حداکثر) نسبت به گروه کترول را نشان داد که با مطالعات گذشته، مطابقت دارد [۷۷]. برطبق مطالعات انجام شده در سال‌های ۲۰۰۰ و ۲۰۰۷، مولکول‌های شباهستروژن همچون فیتواستروژن‌ها اثرات پیچیده‌ای بر رفتارهای غیر تولیدمثلى همچون اضطراب و حرکت دارند، بنابراین ممکن است اثرات خدااضطرابی ایجاد کنند که این بهنوبه خود فعالیت حرکتی و رفتارهای کاوشی را افزایش می‌دهد و این اثرات بیشتر در ارتباط با عمل هورمونی و استروئیدهای جنسی می‌باشد و در پی افزایش تحرک تا حدودی کاهش وزن مشاهده می‌شود [۷۹،۷۸]. افزایش تحرک و فعالیت در گروه‌های دریافت‌کننده دوزهای متوسط و حداکثر به شدت مشاهده شد که با توجه به وزن‌گیری انجام‌شده در گروه‌های تجربی موش‌های صحرایی مورد مطالعه، شاید در اثر افزایش تحرک است که باعث شده‌است افزایشی در وزن حیوان مشاهده نشود که این مورد، به مطالعات بیشتری نیاز دارد.

نتیجه‌گیری

مطالعه حاضر نشان داد که در طول مدت تزریق عصاره‌ی هیدروالکلی تخم کدوتبل به موش‌های صحرایی هیچ‌گونه اثر مخرب بر بافت کبد و تأثیر نامطلوبی بر آنزیم‌های کبدی ایجاد نشد. علاوه بر آن افزایش استروژن مشهود بود که این مهم، نشان‌دهنده اثرات مثبت بر محور هورمونی-هیپوفیز-گناد و بافت تخدمان در تولید استروژن و تغییرات سطح فولیکول‌های تخدمانی می‌باشد. نتایج حاصل از این تحقیق می‌تواند جهت استفاده از استروژن موجود در تخم کدوتبل کاربردی باشد و پر واضح است که در آینده با انجام تحقیقات و آزمایشات مولکولی بر این ماده احتمالاً بتوان به نتایج جایگزینی به جای استروژن‌های مصنوعی، قرص‌های جلوگیری از بارداری و تنظیم‌کننده عادت‌ماهیانه زنان رسید.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل یک طرح تحقیقاتی مصوب معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی چهرم با شماره طرح ۵۰/۹۳ می‌باشد. نویسندهان مراتب قدردانی خود را از حمایت مالی و تجهیزاتی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی چهرم و همچنین از زحمات همه افرادی که بهنوعی در پیشبرد اهداف این تحقیق ما را یاری نموده‌اند، به خصوص آقای دکتر حسین کارگر اعلام می‌دارند.

جانبی شدید قلبی-عروقی، مانند: فشارخون بالا، ترومبوآمبولی وریدی و سایر اختلالات قلبی-عروقی را که همراه با تغییر در متabolism کبدی است، به همراه دارد [۷۳]. عفونت، التهاب و برداشتن کیسه‌ی صfra در زنان مصرف‌کننده استروژن خوراکی بیشتر اتفاق می‌افتد که احتمالاً به علت اثرات کبدی پس از مصرف خوراکی استروژن می‌باشد. استروژن‌ها ترشح و اشیاع کلسترول صفاوی را افزایش می‌دهند، درنتیجه افزایش میزان کلسترول در صfra، باعث کاهش حرکت کیسه‌ی صfra و افزایش کریستال‌شدن صفاوی می‌شود [۷۴-۷۵]. تجویز پوستی (مانند استفاده از ژلهای) و یا زیرجلدی (ایمپلنت‌ها) سطوح استروژن خون را حفظ می‌کند و بدون این که در کبد، غلظت بالایی از استروژن‌های کنزوگه مشاهده شود، در خون انتقال می‌یابد [۷۶]. در مطالعه‌ی حاضر، نحوی تجویز به صورت درون‌صفاقی انجام شد، چراکه با توجه به وسعت رگ‌های خونی در ناحیه‌ی صفاق جذب بهتری صورت می‌پذیرد [۴۹]. وقایع آبشاری تخمک‌گذاری توسط فولیکول‌ها شروع می‌شود. طبق مطالعات قبلی اسیدهای چرب باعث تحریک فولیکول‌سازی از نظر تعداد، اندازه و یا افزایش رشد فولیکول‌های گراف می‌شوند. همان‌طور که قبلاً نیز گفته شد تخم کدوتبل هم یک منبع خوب اسیدهای چرب غیراشباع است [۱۶،۱۴] و هم دارای فلاونوئید می‌باشد که قدرت استروژنی دارد (فیتواستروژن). البته این را هم باید مذکور قرار داد که استروژن از محرك‌های قوی رشد فولیکولی در جوندگان است [۴۱،۲۶]. در تحقیق حاضر کاهش معنی‌داری در تعداد فولیکول‌های بدوي و اویله مربوط به تخدمان‌ها در بین گروه‌های مختلف تجربی نسبت به گروه کترول و کاهش معنی‌دار در تعداد فولیکول‌های ثانویه گروه تجربی ۱ (گروه دریافت‌کننده دوز حداقل) نسبت به دو گروه تجربی ۲ (گروه دریافت‌کننده دوز متوسط) و ۳ (گروه دریافت‌کننده دوز حداکثر) مشاهده شد. البته این نتایج با نتایج تحقیقات گذشته مغایرت دارد، احتمالاً این تفاوت‌ها به علت تغییر برخی عوامل مهم، مانند: نژاد حیوان، میزان هورمون و مدت زمان تیمار می‌باشد. شاید این نتایج را بتوان بدین صورت توجیه کرد که: کدوتبل دارای مقدار قابل توجهی از آنتی‌اسیدان‌ها، توکوفرول و کاروتینوئیدها است. بنابراین کدوتبل به‌طور بالقوه دارای فعالیت آنتی‌اسیدانی می‌باشد. اسیدان‌های فعال موجود در فولیکول‌های تخدمانی، پیش از تخمک‌گذاری برای پاسخ تخمک‌گذاری ضروری‌اند و تحلیل گونه‌های اکسیژنی آزاد تخدمان، باعث ممانعت از تخمک‌گذاری و مجموعه کاملی از پاسخ‌های ضروری پیش از تخمک‌گذاری می‌شود [۲۲-۲۵]. نتایج به‌دست‌آمده از تحقیق حاضر افزایش معنی‌داری در شمارش تعداد فولیکول‌های

References:

- [1] Raphael K, Clive W, Amos M, Misheck M, Clarice N, Perkins M, et al. Proximate composition of pumpkin gourd (*Cucurbita pepo*) seeds from Zimbabwe. *IJNFS* 2014; 3(4): 279-83.
- [2] Mozaffarian v. Identification of Medicinal and Aromatic Plants of Iran. 5th ed. Tehran: Farhang Moaser Publisher; 2012. p. 1434-44.
- [3] Sohini R, Santa D. A comprehensive review of the versatile pumpkin seeds (*Cucurbita maxima*) as a valuable natural medicine. *IJCR* 2015; 7(8): 19355-61.
- [4] Devi NM, Prasad RV, Sagarik N. A review on health benefits and nutritional composition of pumpkin seeds. *IJCS* 2018; 6(3): 1154-7.
- [5] Maheshwari P, Prasad N, Batra E. Papitas -The Underutilized Byproduct and the Future Cash Crop-A Review. *AIJRFANS* 2015; 31-4.
- [6] Revathy MN, Sabitha N. Development, quality evaluation and popularization of pumpkin seed flour incorporated bakery products. *IJFANS* 2013; 2(2): 40-5.
- [7] Priyanka M, Neha P, Ekta B. Papitas-The Underutilized Byproduct and the Future Cash Crop-A Review. *AIJRFANS* 2015; 12(1): 31-4.
- [8] Moura FA, Spier F, Zavareze ER, Dias ARG, Elias MC. Biscoitos tipo "cookie" elaborados com diferentes frações de semente de abóbora (*cucurbita maxima*). *Alim Nutr* 2010; 21(4): 579-85.
- [9] Paucar-Menacho ML, Salvador-Reyes R, Guillén-Sánchez J, MoriArismendi S. Effect of partial substitution of wheat flour by soybean meal in technological and sensory characteristics of cupcakes for children of school age. *Scientia Agropecuaria* 2016; 7(2): 121-32.
- [10] Batosta JER, Braja LP, Olivera RCd, Solva EP, Damoano C. Partial replacement of wheat flour by pumpkin seed flour in the production of cupcakes filled with carob. *Food Sci. Technol* 2018; 38(2): 250-4.
- [11] Montesano R, Blasi F, Simonetti MS, Santini A, Cossignani L. Chemical and Nutritional Characterization of Seed Oil from *Cucurbita maxima* L.(var. Berrettina) Pumpkin. *Foods* 2018; 7(30): 1-14.
- [12] Seif HSA. Ameliorative Effect of Pumpkin Oil (*Cucurbita pepo* L.) Against Alcohol-induced Hepatotoxicity and Oxidative Stress in Albino Rats. *BJBAS* 2014; 3(3): 178-85.
- [13] Elinge CM, Muhammad A, Atiku FA, Itodo AU, Peni IJ, Sanni OM, et al. Proximate, mineral and anti-nutrient composition of pumpkin (*Cucurbita pepo* L) seeds extract. *J Plant* 2012; 2(5): 146-50.
- [14] Y Al-Okbi S. Urgent Demand of the Continual Studies of Drug-Nutrition-Interrelation. *RJPCS* 2015; 6(1): 914-30.
- [15] Karanja JK, Mugendi BJ, Khamis FM, Muchugi AN. Nutritional composition of the pumpkin (*cucurbita* spp.) Seed cultivated from selected regions in kenya. *J IJAF* 2013; 3(1): 17-22.
- [16] Montesano D, Blasi F, Simonetti MS, Santini A, Cossignani L. Chemical and Nutritional Characterization of Seed Oil from *Cucurbita maxima* L. (var. Berrettina) Pumpkin. *Foods* 2018; 7(3): 30.
- [17] Gossell-Williams M, Davis A, O'Connor N. Inhibition of testosterone-induced hyperplasia of the prostate of sprague-dawley rats by pumpkin seed oil. *JMF* 2006; 9(2): 284-6.
- [18] Vahlensieck W, Theurer C, Pfitzer E, Patz B, Banik N, Engelmann U. Effects of Pumpkin Seed in Men with Lower Urinary Tract Symptoms due to Benign Prostatic Hyperplasia in the One-Year, Randomized, Placebo-Controlled GRANU Study. *Urol Int* 2015; 94: 286-95.
- [19] Tsai YS, Tong YC, Cheng JT, Lee CH, Yang FS, Lee HY. Pumpkin seed oil and phytosterol-f can block testosterone/prazosin-induced prostate growth in rats. *Urol Int* 2006; 77(3): 269-74.
- [20] Awad AB, Fink CS. Phytosterols as anticancer dietary components: evidence and mechanism of action. *J Nutr* 2000; 130(9): 2127-30.
- [21] Raicht RF, Cohen BI, Fazzini EP, Sarwal AN, Takahashi M. Protective effect of plant sterols against chemically induced colon tumors in rats. *Cancer Res* 1980; 40(2): 403-5.
- [22] Yadav M, Jain S, Tomar R, Prasad GB, Yadav H. Medicinal and biological potential of pumpkin: an updated review. *Nutr Res Rev* 2010; 23: 184-90.
- [23] Hernández-Santos B, Rodríguez-Miranda J, HermanLara E, Torruco-Uco JG, Carmona-García R, Juárez-Barrientos JM, et al. Effect of Oil Extraction Assisted by Ultrasound on The Physicochemical Properties and Fatty Acid Profile of Pumpkin Seed Oil (*Cucurbita pepo*). *J.Ultsonch* 2016; 31: 429-36.
- [24] Lestari B, Meiyanto E. A Review: The Emerging Nutraceutical Potential of Pumpkin Seeds. *IJCC* 2018; 9(2): 92-101.
- [25] Rabrenovic BB, Dimic EB, Novakovic MM, Tesevic VV, Basic ZN. The Most Important Bioactive Components of Cold Pressed Oil from Different Pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) seeds, *JLWT* 2014; 55: 521-7.
- [26] Hickman Jr. Animal diversity. 7th ed. New York: McGraw-Hill; 2014. p. 500-12.
- [27] Gossell-Williams M, Hyde C, Hunter T, Simms-Stewart D, Fletcher H, McGrowder D, et al. Improvement in HDL cholesterol in postmenopausal women supplemented with pumpkin seed oil: pilot study. *Climacteric* 2011; 14(5): 558-564.

- [28] Hall JE. Guyton and Hall textbook of medical physiology E-Book. 13th ed. New York: Saunders; 2015. P. 1120-72.
- [29] Barrett K E, Barman S M, Boitano S , Brooks HL. Ganong sReview of medical physiology. 25th ed. New York: McGraw-Hill; 2015. P.760-8.
- [30] Wilson K, Walker J. Principles and Techniques of Biochemistry and Molecular Biology. 1th ed. Britain: Cambridge University Press; 2013. p. 328-744.
- [31] Cho Y, Ariga M, Uchijima Y, Kimura K, Rho JY, Furuhata Y, et al. The novel roles of liver for compensation of insulin resistance in human growth hormone transgenic rats. *Endocrinology* 2006; 147(11): 5374-84.
- [32] Jordan VC. Estrogen Action, Selective Estrogen Receptor Modulators and Women's Health: Progress and Promise. 1th ed. London: *Imperial College* Press; 2013. P. 501-44.
- [33] Kelce WR, Borgert CJ. In Vitro Detection of Estrogen Activity in Plastic Products Using a Sensitive Bioassay: Failure to Acknowledge Limitations. *EHP* 2011; 119(9): 378-9.
- [34] Caldwell SH, Hoffman M, Lisman T, Macik BG, Northup PG, Reddy KR, et al. Coagulation disorders and hemostasis in liver disease: pathophysiology and critical assessment of current management. *Hepatology* 2006; 44(4): 1039-46.
- [35] Mueller MN, Kappas A. Estrogen pharmacology. I. The influence of estradiol and estriol on hepatic disposal of sulfobromophthalein (BSP) in man. *J Clin Invest* 1964; 43(10): 1905-14.
- [36] Firpi RJ, Soldevila-Pico C, Abdelmalek MF, Morelli G, Judah J, Nelson DR. Short recovery time after percutaneous liver biopsy: should we change our current practices?. *CG Hepatol* 2005; 3: 926-9.
- [37] Zafari Zanganeh F. Reproduction system. Tehran: Tamirzadeh Cultural and Educational Institute. 2th ed. Iran: Tabriz Publication; 2008. P. 250-69.
- [38] Ben- ze'ev A, Amsterdam A. Regulation of cytoskeletal proteins involved in cell contact formation during differentiation of granulosa cells on extracellular matrix. *PNAS* 1986; 83(9): 2894-98.
- [39] Malter H, Talansky B, Gordon J, Cohen J. Monospermy and polyspermy after partial zona dissection of reinseminated human oocytes. *MRD* 1989; 23(4): 377-86.
- [40] Moore AA, Noonan MD. A Nurse's guide to hormone replacement therapy. *JOGNN* 1996; 25(1): 24-31.
- [41] Erickson GF, Facua L, Shimaski S. Analysis of spatial and temporal expression patterns of bone morphogenetic protein family members in the rat uterus over the estrous cycle. *J Endocrinol* 2004; 182: 203-17.
- [42] Biuin W, Baker H. Biology of rat. 4th ed. NewYourk Led: NewYourk Academic; 1997. p. 110-120.
- [43] Harder JD. Mammalian reproduction II: estrous cycles, Gestation & lactation, Zoology: EEOB. 2th ed. American: Pearson Benjamin Cummings; 2004. p. 625.
- [44] Jashni HK, Kargar H, Gorbani A, Karga Z, Khabaz Z. Effects of aqueous extract from *Asparagus officinalis* L. roots on hypothalamic-pituitary-gonadal axis hormone levels and the number of ovarian follicles in adult rats. *Int J Reprod BioMed* 2016; 14(2): 75-80.
- [45] Castrodale D, Bierbaum O, Helwig EB and MacBryde CM. Comparative studies of the effects of estradiol and stilbesterol upon the blood, liver, and bone marrow. *Endocrinology* 1941; 29(3): 363-72.
- [46] Barros RP, Gustafsson JA. Estrogen receptors and the metabolic network. *Cell Metab* 2011; 14(3): 289-99.
- [47] Tan KT, Rajan DK, Kachura JR, Hayeems E, Simons ME, Ho CS. Pain after percutaneous liver biopsy for diffuse hepatic disease: a randomized trial comparing subcostal and intercostal approaches. *JVIR* 2005; 16: 1215-09.
- [48] Garber JC, Barbee RW, Bielitzki JT, Clayton LA, Donovan JC. Guide for the care and use of laboratory animals. 8th ed. Washington DC: The National Academies Press; 2011. p. 238-46.
- [49] Marianna N, Tzortzis N, Elizabeth F. Antioxidant and lipoxygenase inhibitory activities of pumpkin seed extracts. *J Foodres* 2009; 42: 641-6.
- [50] Mathangi S. A study on extraction of oil from Pumpkin seed using sun drying and hot air oven dryin. *IJFSN* 2018; 3(1): 34-6.
- [51] Rozylo R, Gawlik-Dziki U, Dziki D, Jakubczik A, Karas M, Rozylo K. Wheat Bread with Pumpkin (*Cucurbita maxima* L.)Pulp as Functional Food. *FTB* 2014; 52(4): 430-8.
- [52] Poštić D, Nebojša M, Zoran B, Lana Đ, Ratibor Š, Terzić D, Stanisavljević R. The Effect Genotype and Ecological Conditions on Yield Components of Potato. *JPEA* 2017; 21(4): 207-21.
- [53] Srdić J, Milašinović-Šeremešić M, Radosavljević M, Kravić N, Babić V. Evaluation of agronomic and sensory characteristics of the popcorn kernel. *JPEA* 2017; 21(4): 185-7.
- [54] Czerny B, Pawlik A, Teister M, Juzyszyn Z, Mysliwiec Z. Effect of tamoxifen and raloxifene on cholesterol transformation to bile acids in ovariectomized rats. *Gynecological Endocrinol* 2005; 20(6): 313-06.
- [55] Dhiman RK, Chawla YK. Hormone Replacement Therapy and Gallstone Disease: A Real Association. *Digestion* 2008; 77: 1-3.
- [56] Schoultz Bv , Carlström K, Collste L, Eriksson A, Henriksson P, Pousette A, Stege R. Estrogen therapy and liver function-metabolic effects of oral and parenteral administration. *Prostat* 1989; 14(4): 389-95.

- [57] Bataineh ZM, Hani IH, Al-Alami JR. Zinc in normal and pathological human prostate gland. *Saudi Med J* 2002; 23(2): 218-20.
- [58] Abbot DH ,Tarantalt AF, Dumesic DA. Fetal, infant, adolescent and adult phenotypes of polycystic ovary syndrome in prenatally androgenized female rhesus monkeys. *Am J Primatol* 2009; 71: 776-84.
- [59] John E. Text Book of physiology. 13th ed. United States: *Surg Neurol Int*; 2017. p. 1011-24.
- [60] Zamiri M J. Reproductive physiology. Tehran: *Haghshenas Publication*; 2005. p. 430-48.
- [61] Fernández-Pérez L, Guerra B, C. Díaz-Chico J, Flores-Morales A. Estrogens Regulate the Hepatic Effects of Growth Hormone, a Hormonal Interplay with Multiple Fates. *FENDO* 2013; 4: 66.
- [62] Gao H, Bryzgalova G, Hedman E, Khan A, Efendic S, Gustafsson JA, et al. Long-term administration of estradiol decreases expression of hepatic lipogenic genes and improves insulin sensitivity in ob/ob mice: a possible mechanism is through direct regulation of signal transducer and activator of transcription 3. *Mol Endocrinol* 2006; 20: 1287-99.
- [63] Baik M, Yu JH, Hennighausen L. Growth hormone-STAT5 regulation of growth, hepatocellular carcinoma, and liver metabolism. *Ann NY Acad Sci* 2011; 1229: 29-37.
- [64] Chen Z, Wang Ou Nie M, Elison K, Zhou D, Li M, Jiang Y, et al. Aromatase deficiency in a Chinese adult man caused by novel compound heterozygous *CYP19A1* mutations: Effects of estrogen replacement therapy on the bone, lipid, liver and glucose metabolism. *J MCE* 2015; 399: 32-42.
- [65] Eisalo A, Jarvinen PE, Luukkainen T. Hepatic impairment during the intake of contraceptive pills: Clinical trial with post menopausal women. *Brit Med J* 1964; 2(5406): 426- 7.
- [66] Barclay JL, Nelson CN, Ishikawa M, Murray LA, Kerr LM, McPhee TR, et al. GH-dependent STAT5 signaling plays an important role in hepatic lipid metabolism. *Endocrinology* 2011; 152: 181-92.
- [67] Hodges RM. The effects of oral estrogen-progestin compounds on blood coagulation factors. *Int J Fertil* 1968; 13: 349-53.
- [68] Bassuk SS, Manson JE. Oral contraceptives and menopausal hormone therapy: relative and attributable risks of cardiovascular disease, cancer, and other health outcomes. *Ann Epidemiol* 2015; 25(3): 193-200.
- [69] Barnes S. Phytoestrogens and osteoporosis- What is a safe dose?. *Br J Nutr* 2004; 89(51): S101-8.
- [70] The Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS Consensus Workshop Group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome. *Ferti Steri* 2004; 81(1): 19-25.
- [71] Van-Erpelum KJ, Van-Berge-Henegouwen GP, Verschoor L, Stoelwinder B, Willekens FL. Different hepatobiliary effects of oral and transdermal estradiol in postmenopausal women. *Gastroenterol* 1991; 100: 482-8.
- [72] Czerny B, Pawlik A, Juzyszyn Z, Myśliwiec Z, Teister M. Effect of tamoxifen, raloxifene and tibolon on bile components in ovariectomized rats. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2005; 119(2): 194-7.
- [73] Rimington C, DeMatteis F. Oral contraceptives and acute intermittent porphyria. *Lancet* 1965; 1: 255-70.
- [74] Ginsburg J, Prelevic GM. Is there a proven place for phytoestrogens in the menopause?. *Climacteric* 1999; 2: 75-8.
- [75] Padhi EMT, Belewet HJ, Duncan AM, Gusman RP, Hawke A, Seetharaman K, et al. Whole Soy Flour Incorporated into a Muffin and Consumed at 2 Doses of Soy Protein Does Not Lower LDL Cholesterol in a Randomized, Double-Blind Controlled Trial of Hypercholesterolemic Adults. *J Nutr* 2015; 145(12): 266526-74.
- [76] Marion B, Rejeski J, Rudnick S, Bonkovsky HL. Porphyrias-An Overview and Update for Physicians and their Staffs. *Medical Research Archives* 2017; 5(9): 1-22.
- [77] Namavar Jahromi B, Parsanezhad ME, Shomali Z, Bakhshai P, Alborzi M , Moin Vaziri N, et al. Ovarian Hyperstimulation Syndrome: A Narrative Review of Its Pathophysiology, Risk Factors, Prevention, Classification, and Management. *Iran J Med Sci* 2018; 43(3):248-260.
- [78] Moreira P, Custódio J, Nunes E, Moreno A, Seiça R, Oliveira C, et al. Estradiol affects liver mitochondrial function in ovariectomized and tamoxifen-treated ovariectomized female rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 2007; 221: 102-1.
- [79] Awad AB, Fink CS. Phytosterols as anticancer dietary components: evidence and mechanism of action. *J Nutr* 2000; 130(9): 2127-30.