View metadata, citation and similar papers at core.ac.uk
brought to you by CORE
provided by shahrekord university of medical scinces

مجله دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد/ دوره ۱۳، شماره ۶/ بهمن و اسفند ۱۳۹۰/ ۷۰-۶۳

اثر عصاره هیدروالکلی سیاه دانه (*Nigella sativa*) بر فاکتورهای تولید مثل جنس ماده در موش کوچک آزمایشگاهی (Balb/c)

دکتر مهرداد مدرسی[1]*، نرگس پور ناجی[2]

[1] گروه کشاورزی- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد خوراسگان، اصفهان، ایران، [2] گروه علوم جانوری ـ دانشگاه پیام نور اصفهان، اصفهان، ایران.

تاریخ دریافت: ۸۹/۹/۱۳ اصلاح نهایی: ۹۰/۵/۲۷ تاریخ پذیرش: ۹۰/۹/۱۶

چکیده:

زمینه و هدف: سیاه دانه از خانواده آلاله بوده و از دیرباز به عنوان ادویه و دارو استفاده می شده است. با توجه به نقش این گیاه در درمان ناباروری این تحقیق با هدف بررسی اثر عصاره سیاه دانه بر میزان هورمون های گنادوتروپین، استروژن، پروژسترون و فولیکولوژنز در موش کوچک آزمایشگاهی (Balb/c) انجام شد.

روش بررسی: در این تحقیق تجربی ۴۰ سر موش ماده نژاد Balb/c به صورت تصادفی در پنج گروه هشت تایی (۳ گروه تیمار، گروه کنترل و گروه دارونما) تقسیم شدند. ابتدا موش ها با تزریق درون صفاقی کلوپروستنول و ۳ روز بعد از آن با تزریق زیر جلدی پروژسترون هم سیکل گردیدند. عصاره هیدروالکلی سیاه دانه با دوزهای ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ mg/kg به صورت یک روز در میان به روش داخل صفاقی طی ۲۰ روز تزریق شد. در پایان دوره سطح هورمون های گنادوتروپین (FSH, LH) و استروژن و پروژسترون به روش ایمونورادیومتری اندازه گیری شد. تخمدان ها خارج شده و پس از برش بافتی توسط میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرارگرفت. داده ها با استفاده از آزمون های آماری آنالیز واریانس یک طرفه و دانکن تجزیه و تحلیل شد.

یافته ها: کاهش معنی دار در میزان هورمون های گنادوتروپین (FSH, LH) و افزایش معنی دار استروژن در تمام گروه های تیمار دیده شد (P<۰/۰۵). پروژسترون در گروه تیمار ۱۰۰ mg/kg افزایش یافته و گروه تیمار ۲۰۰ mg/kg افزایش معنی داری در وزن تخمدان نشان داد (P<۰/۰۵). افزایش معنی دار فولیکولوژنز در گروه تیمار ۲۰۰mg/kg و افزایش جسم زرد در گروه تجربی ۱۰۰ mg/kg مشاهده شد (P<۰/۰۵). در بررسی بافت شناسی، بافت تخمدان ها به صورت طبیعی دیده شد.

نتیجه گیری: عصاره هیدروالکلی سیاه دانه می تواند باعث افزایش فولیکول گراف و جسم زرد شود، که این امر می تواند نتیجه مثبت در باروری جنس ماده داشته باشد.

واژه های کلیدی: استروژن، پروژسترون، فولیکوژنز، سیاهدانه، گنادوتروپین، موش.

مقدمه:

مسائل مربوط به باروری همیشه ذهن بشر را به خود مشغول داشته است، ناباروری یکی از دلایل گسسته شدن و نابسامانی در کانون خانواده است. سیاه دانه جایگاه ویژه ای در طب سنتی و عوام بسیاری از کشورها از گذشته تا به حال داشته است. سیاه دانه به عنوان دارویی گرم و خشک معرفی گردیده و آثار دارویی ضد نفخ، ضد انگل های روده ای، افزایش دهندهٔ شیر، قاعده آور، ترمیم کنندهٔ زخم و افزایش دهندهٔ اسپرم در درمان ناباروری بیان گردیده است (۳،۲،۱).

گیاه سیاه دانه با نام علمی *Nigella sativa* l. از خانوادهٔ آلاله می باشد که در بسیاری از نقاط دنیا روییده و یا کشت می شود (۴). این گیاه همچنین به سیاه تخمه در زبان فارسی و شونیز و شونوز در کتب

* نویسنده مسئول: اصفهان – خیابان پروین – کوی امیر رضایی – بن بست توحید – پلاک ۵۱- تلفن: ۰۹۱۳۲۰۷۴۸۵۴،
E-mail:mehrdad_modaresi@hotmail.com

قدیم طب سنتی و "حب السوداء" و "کمون اسود" در زبان عربی معروف است. در زبان فرانسوی به Nigella cultiree و Anis noir و Cumin noir معروف است و انگلیسی ها به آن Black cumin می گویند (۲).

سیاه دانه بیش از ۲۰۰۰ سال است که به عنوان یک گیاه دارویی شناخته شده است. این گیاه در مصر بیش از ۳۰۰۰ سال قدمت دارد. سیاه دانه در گورهای پادشاهان مصری پیدا شده است. این گیاه به عنوان افزودنی غذا و چاشنی در بیشتر کشورها استفاده می شود و خواص متعدد دارویی دارد (۵). این گیاه طیف گسترده ای از خواص پزشکی را دارا است که شامل اثرات: ضد میکروب، ضد تومور، ضد ویروس، ضد التهاب، آنتی اکسیدان، شلی و انبساط ماهیچه می باشد (۶). دانه این گیاه دارای خواص ضد کرم، ضد باکتری، ضد قارچ، منظم کنندهٔ قاعدگی، مسهل، زیاد کننده ترشح شیر، ضد التهاب و آنالژزیک (ضد درد) است (۸،۷) به علاوه به عنوان مادهٔ ضد عفونی کننده و نگهدارنده غذا نیز استفاده می شود.

سیاه دانه مزه تلخ و ادویه ای دارد و در شیرینی جات، شربت ها و لیکورها استفاده می شود. از سیاه دانه در تمام دنیا برای پیشگری و درمان حالاتی مانند آسم، اسهال، دیس لیپیدمی، سردرد و دندان درد نیز استفاده می شود (۹،۷).

در ایران مطالعاتی برای شناسایی ترکیبات تشکیل دهنده سیاه دانه و بررسی اثر مفید آن بر آسم و نفخ گوارشی در انسان انجام شده که علاوه بر خواص مفید دارویی، بی خطر بودن آن را نیز نشان می دهد (۸). شواهد موجود نشان می دهد که هم روغن و هم اجزای فعال تشکیل دهنده سیاه دانه به ویژه تیموکنون (TQ) دارای خواص آنتی اکسیدان و ضد التهاب است و خواص ضد التهاب آن از طریق سرکوب واسطه های التهابی مانند پروستاگلندین ها و لکوترین ها اعمال می شود (۱۰) و به عنوان یک دارو در درمان بیماری های پوستی مثل اگزما در تمام دنیا شناخته شده است (۸). از دیگر اثرات آن می توان به اثر مهم روی بیماری های کبدی اشاره کرد. همچنین به دلیل غنی بودن تخم های آن از استرول ها به ویژه سیتواسترول، بر روی سرطان های فعال مؤثر است و برای تومورهای شکم، چشم و کبد کاربرد دارد. از این گیاه به عنوان دیورتیک استفاده می شود. بر سیستم تنفس فوقانی همانند آسم و آلرژی، آمفیزم و آنفلوآنزا مؤثر است (۱۰). گاهی که به عللی جنین در داخل رحم مادر می میرد خورانیدن مقدار معینی از دانه های این گیاه سبب حرکت ماهیچه های دیواره رحم شده و جنین به این طریق خارج می شود (۲).

در این تحقیق سعی شده که اثرات احتمالی سیاه دانه که از گذشته برای درمان بسیاری بیماری ها و همچنین ناباروری مورد استفاده قرار می گرفته، به میزان هورمون های گنادوتروپین، استروژن، پروژسترون و فولیکوژنز در موش کوچک آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گیرد.

روش بررسی:

در این تحقیق که از نوع تجربی است موش های کوچک آزمایشگاهی گونه Balb/C در محدوده وزنی ۴۰-۲۵ گرم تهیه شده از مؤسسه پاستور حصارک کرج مورد استفاده قرار گرفت. نمونه ها در دمای ۳۰-۲۵ درجه سانتیگراد و شرایط نور طبیعی و دسترسی آزاد به آب و غذا به مدت دو هفته برای سازگاری با محیط در لانه حیوانات دانشگاه پیام نور اصفهان نگهداری شدند. این شرایط در طول دوره تزریق عصاره نیز برقرار گردید.

جهت تهیه عصاره هیدروالکلی با استفاده از آسیاب، سیاه دانه را پودر نموده و ۳۰gr از این پودر را درون یک ارلن استریل قرار داده و ۴۰ سی سی سرم فیزیولوژی به آن اضافه گردید و به مدت ۲۴ ساعت در محیط خنک قرار داده شد. پس از یک شبانه روز با استفاده از دستگاه شیکر مجدداً محتویات ارلن به مدت ۵ دقیقه کاملاً مخلوط می گردد. در این مرحله پس از صاف کردن نمونه توسط کاغذ واتمن و محاسبه مقدار باقیمانده عصاره در محلول، غلظت عصاره در محلول

مادر مشخص و دوزهای مورد نظر تهیه شد.

نمونه ها به ۵ گروه هشت تایی شامل گروه کنترل، گروه شاهد و ۳ گروه تیمار (۳،۲،۱) تقسیم شدند. در هر گروه موش ها بر اساس وزن در قفس های جداگانه قرار گرفتند به طوری که میانگین وزنی همه گروه ها یکسان و در حدود ۵±۳۰ گرم بود. به گروه تجربی ۱: ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن، گروه تجربی ۲: ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن، گروه تجربی ۳: ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن عصاره هیدروالکلی سیاهدانه و به گروه شاهد: فقط محلول نمکی ۹ درصد تزریق شد. گروه کنترل: هیچ گونه ماده ای دریافت نکرد.

عصاره با استفاده از سرنگ انسولین cc ۱ و به روش درون صفاقی و میزان cc ۰/۵ در هر تزریق انجام شد. تمام تزریقات به مدت ۲۰روز و یک روز در میان در ساعات بین ۱۱ تا ۱۳ انجام شد (۱۰ تزریق).

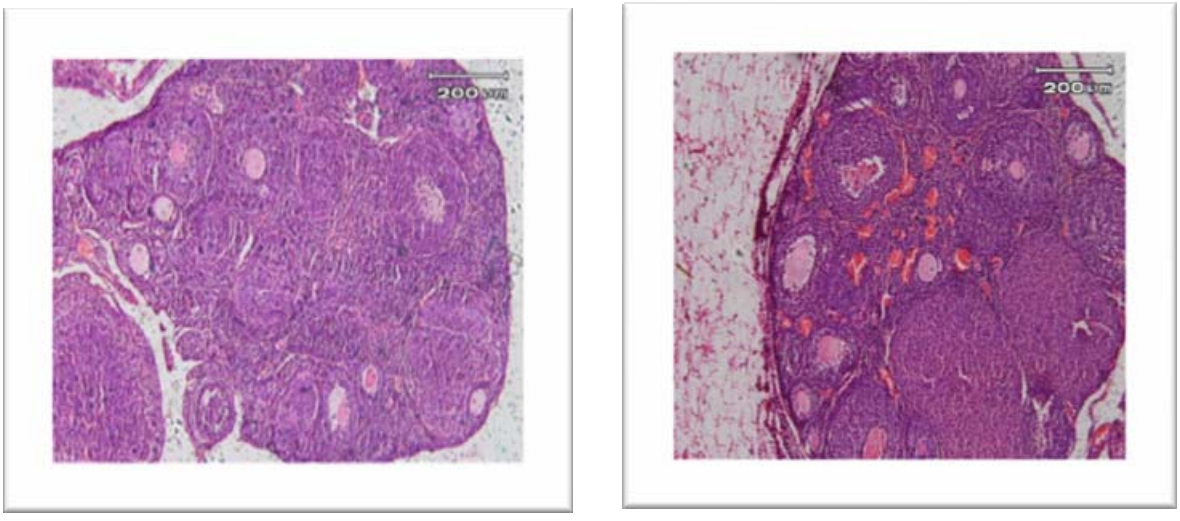
برای ارزیابی اثر دارو بر نمونه ها، ابتدا باید تمام موش ها با سن مشابه در یک سیکل جنسی قرار بگیرند. برای این کار ابتدا ۰/۵ میکروگرم کلوپروستنول به صورت درون صفاقی و ۳ روز بعد از آن ۳ میکروگرم داروی پروژسترون به صورت زیر جلدی به تمام نمونه ها تزریق شد. بنابر پژوهش انجام شده (۱۱) ۱۰۰ درصد نمونه ها هم سیکل می شوند.

یک روز بعد از تزریق پروژسترون، تزریق عصاره ها به گروه ها شروع شد و از همگی نمونه ها یک روز بعد از آخرین تزریق، خونگیری از قلب بعمل آمده و پس از جداسازی سرم به روش ایمونورادیومتری ارزیابی هورمونی انجام گرفت. هورمون محرک فولیکول (FSH) توسط کیت ایمونو آنزیماتیک، (LH) Luteinizing hormone توسط کیت سنجش ایمنی آنزیمی (EIA، پادتن علم) و استروژن و پروژسترون به ترتیب توسط کیت های IBL Estradiol و Demeditec (ساخت کشور آلمان) اندازه گیری گردیدند. به منظور بررسی بافت شناسی تخمدان، عمل تشریح انجام گرفت و با جداسازی تخمدان، نمونه ها بروش هماتوکسیلین – ائوزین رنگ آمیزی گردید.

داده ها با استفاده از آزمون آنالیر واریانس یک طرفه وآزمون دانکن در سطح اطمینان بیش از ۹۵ درصد تجزیه و تحلیل شد.

یافته ها:

در بررسی های بافت شناسی هیچ گونه تخریب بافتی ناشی از تزریق مشاهده نگردید به طوری که رشد اووسیت های اولیه در گروه های تجربی به همان نسبت



تصویر شماره ۱: مقاطع عرضی بافت تخمدان در گروه های کنترل (راست) و تجربی ۵۰ (چپ)

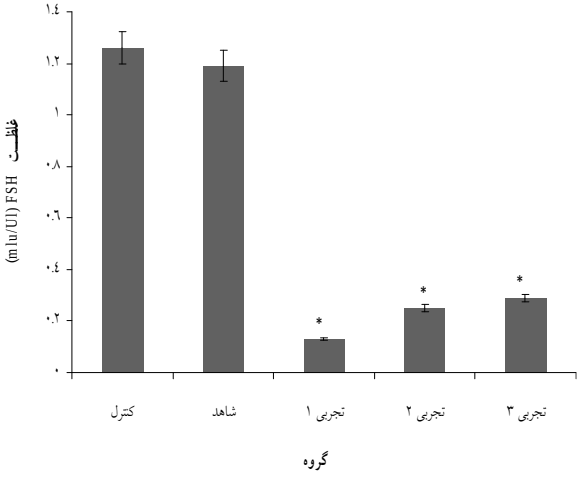
جدول شماره ۱:مقایسه میانگین وزن تخمدان، تعداد جسم زرد و تعداد فولیکول گراف به دنبال دریافت مقادیر مختلف عصاره هیدروالکلی سیاه دانه در موش کوچک آزمایشگاهی

متغیر / گروه	وزن تخمدان (گرم)	تعداد جسم زرد	تعداد فولیکول گراف
کنترل	۰/۱۱۸±۰/۰۳	۳/۰±۰/۲	۱/۹±۰/۲
شاهد	۰/۱۱٦±۰/۰۲	۳/۰±۰/۱	۲/٤±۰/۳
گروه تجربی ۱	۰/۱۱۹±۰/۰۱۱	۳/۰±۰/۱	۳±۰/٤
گروه تجربی ۲	۰/۱۱۸±۰/۰۲۲	۵/۵±۰/۲*	۳/۱±۰/۲۲
گروه تجربی ۳	۱/٤٥٦±۰/۰۳٤*	۳/۰±۰/۳	۳/۷± ۰/۱٤*

گروه تجربی ۱: تیمار با دوز ۵۰ mg/kg عصاره سیاه دانه
گروه تجربی ۲: تیمار با عصاره ۱۰۰ mg/kg عصاره سیاه دانه
گروه تجربی ۳: تیمار با دوز ۲۰۰mg/kg عصاره سیاه دانه
$P<۰/۰۵$ در مقایسه با گروه شاهد بر اساس آزمون دانکن داده ها به صورت "انحراف معیار±میانگین" می باشد.*

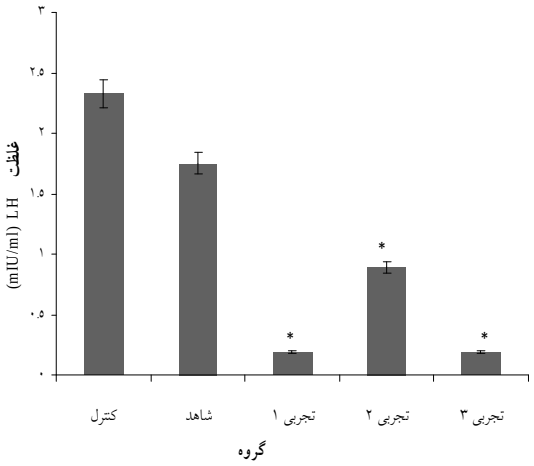
آن ها در گروه کنترل بود و رشد طبیعی و روند تکامل به سمت فولیکول گراف به طور طبیعی صورت گرفته بود (تصویر شماره ۱).

میانگین وزن تخمدان موش ها در گروه تجربی ۳ (تیمار با دوز ۲۰۰ mg/kg) به طور معنی داری بیشتر از



نمودار شماره ۱:مقایسه میانگین FSH خون به دنبال دریافت مقادیر مختلف عصاره هیدروالکلی سیاه دانه در موش کوچک آزمایشگاهی

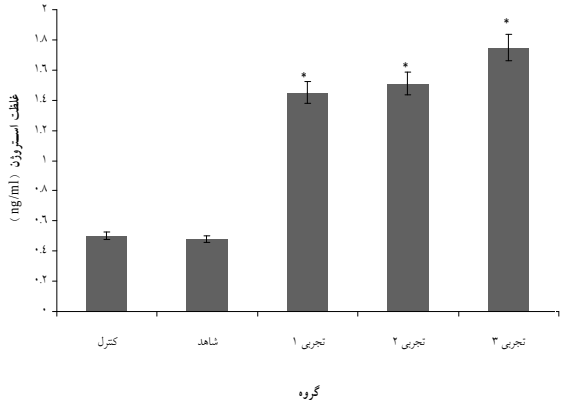
$P<۰/۰۵$ نسبت به گروه شاهد*
گروه تجربی ۱: تیمار با دوز ۵۰ mg/kg عصاره سیاه دانه
گروه تجربی ۲: تیمار با عصاره ۱۰۰ mg/kg عصاره سیاه دانه
گروه تجربی ۳: تیمار با دوز ۲۰۰mg/kg عصاره سیاه دانه
FSH: هورمون محرک فولیکولی



نمودار شماره ۲: مقایسه میانگین LH خون به دنبال دریافت مقادیر مختلف عصاره هیدروالکلی سیاه دانه در موش کوچک آزمایشگاهی

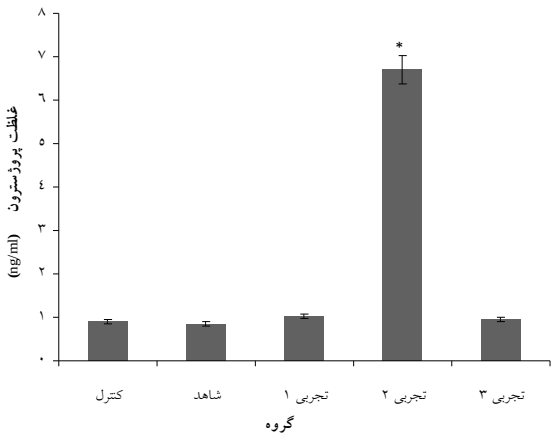
$P<۰/۰۵$ نسبت به گروه شاهد*
LH= Luteinizing hormone
گروه تجربی ۱: تیمار با دوز ۵۰ mg/kg عصاره سیاه دانه
گروه تجربی ۲: تیمار با عصاره ۱۰۰ mg/kg عصاره سیاه دانه
گروه تجربی ۳: تیمار با دوز ۲۰۰mg/kg عصاره سیاه دانه

گروه کنترل بود (P<۰/۰۵). آزمون دانکن نتایج نشان داد که میانگین تعداد جسم زرد در گروه تجربی ۲ (تیمار با دوز تجربی ۱۰۰ mg/kg) به طور معنی داری بیشتر از گروه شاهد بود (P<۰/۰۵). میانگین تعداد



نمودار شماره ۳: مقایسه میانگین هورمون استروژن به دنبال دریافت مقادیر مختلف عصاره هیدروالکلی سیاه دانه در موش کوچک آزمایشگاهی

$P<۰/۰۵$ نسبت به گروه شاهد*
گروه تجربی ۱: تیمار با دوز ۵۰ mg/kg عصاره سیاه دانه
گروه تجربی ۲: تیمار با عصاره ۱۰۰ mg/kg عصاره سیاه دانه
گروه تجربی ۳: تیمار با دوز ۲۰۰mg/kg عصاره سیاه دانه



نمودار شماره ۴: مقایسه میانگین هورمون پروژسترون به دنبال دریافت مقادیرمختلف عصاره هیدروالکلی سیاه دانه در موش کوچک آزمایشگاهی

**P<۰/۰۵ نسبت به گروه شاهد*

گروه تجربی ۱: تیمار با دوز ۵۰ mg/kg عصاره سیاه دانه

گروه تجربی ۲: تیمار با عصاره ۱۰۰ mg/kg عصاره سیاه دانه

گروه تجربی ۳: تیمار با دوز ۲۰۰mg/kg عصاره سیاه دانه

فولیکول گراف در گروه تجربی ۳ (تیمار با دوز تجربی ۲۰۰ mg/kg) به طور معنی داری بیشتر از گروه شاهد بود (P<۰/۰۵). افزایش در بقیه گروه ها معنی دار نبود (جدول شماره ۱). بررسی میانگین سطح هورمون FSH و LH در سرم خون موش های گروه های تجربی و گروه کنترل با استفاده از آزمون دانکن مشخص نمود که غلظت این هورمون ها در همه گروه های تجربی (تیمار با دوز ۵۰ mg/kg، ۱۰۰ و ۲۰۰) به طور معنی داری کمتر از گروه شاهد و کنترل بود (P<۰/۰۵) (نمودار شماره ۱ و ۲).

میانگین سطح هورمون استروژن در گروه های تجربی (تیمار با دوز ۵۰ mg/kg، ۱۰۰ و ۲۰۰) نسبت به با گروه شاهد دارای افزایش معنی داری بود (P<۰/۰۵) (نمودار شماره ۳). ولی سطح هورمون پروژسترون فقط در گروه تجربی ۲ (تیمار با دوز تجربی ۱۰۰ mg/kg) نسبت به گروه شاهد دارای افزایش معنی داری بود (P<۰/۰۵) (نمودار شماره ۴).

بحث:

نتایج به دست آمده از بررسی وزن تخمدان نشان دهندهٔ افزایش معنی دار گروه تیمار با دوز تجربی ۲۰۰ mg/kg نسبت به گروه شاهد می باشد. با توجه به تحقیقات مشابه (۱۳،۱۲) که اثر این گیاه را بر روی جنس نر بررسی کرده است در این مطالعه نیز می توان افزایش وزن تخمدان را به علت وجود پروتئین و ویتامین هایی مانند A، B و C به علاوه مواد معدنی مهم مثل روی، منیزیم و مس دانست. همچنین بیان گردیده که فعالیت غدد جنسی در جوندگان و وزن آن ها شدیداً متاثر از هورمون های استروئیدی است (۱۵،۱۴). از طرفی تعداد فولیکول گراف ها در گروه تجربی ۳ افزایش زیاد داشته که شاید دلیلی برای افزایش وزن بیشتر در این گروه باشد.

با توجه به تحقیقات انجام شده می توان گفت که اسید لینولئیک مزدوج (CLA) موجود در گیاه سیاه دانه در تمام گروه ها اثر گذاشته ولی این اثر در گروه تجربی ۳ بیشتر بوده که باعث افزایش معنی دار تعداد فولیکول گراف ها شده است. نتایج حاصل از تحقیقات بیانگر آن است که اسید لینولئیک غلظت پروستاگلندین و آدنوزین مونوفسفات حلقوی درون سلولی و فسفریلاسیون پروتیین کیناز را در طول تکامل افزایش می دهد. بنابراین CLA در طول تکامل اوویست با کنترل مکانیسم های مولکولی هسته تخمک، منجر به افزایش تعداد اووسیتها در مرحله متافاز ۲ می شود و در نتیجه رشد اولیه جنینی را بهبود می بخشد. این اثر روی مسیر فعال کردن پروتیین کنیاز به طور مستقیم و روی سنتز پروستاگلندین غیر مستقیم می باشد (۱۶).

مسیرهایی که به واسطه آن ها اسیدهای چرب باعث افزایش عملکرد تولید مثلی شده است، عبارتند از: اسیدهای چرب باعث بهبود بالانس منفی انرژی می شوند که در نتیجه باعث افزایش فعالیت تخمدان ها و در نتیجه بروز فحلی می شود. اسیدهای چرب باعث تحریک فولیکول سازی از نظر تعداد و یا اندازه و یا افزایش رشد فولیکول گراف می شود. تغییر مشاهده شده از لحاظ افزایش تعداد فولیکول گراف ها همراه با بزرگی حجم و وزن تخمدان ها بدون افزایش تعداد

جسم زرد در دوز ۲۰۰ mg/kg، فرضیه تحریک بیش از حد تخمدان (بدون تخمک گذاری) را در این دوز مطرح می سازد که بسیار شبیه به بیماری Ovary Hyperstimulation Syndrome تخمدان انسان بر اثر تحریک بیش از حد با Human monopausal gonadotrophin (HMG) و Human chorionic gonadotrophin (HCG) در پروسهٔ تحریک تخمک گذاری در درمان ناباروری است (۱۷).

با توجه به نتایج مشخص شد که هورمون LH در تمام گروه های تجربی ۱، ۲ و ۳ کاهش معنی دار داشته است. بر اساس تحقیقات انجام شده، CLA اثر کاهنده بر میزان LH دارد (۱۸)، که مربوط به اثر CLA برنیتریک اکساید و لپتین است و کنترل کننده های مهمی در آزاد سازی LH هستند. نورون های تولیدکننده نیتریک اکساید با ترشح NO اثر مستقیم در آزاد سازی GnRh دارند. در تحقیق Khodaii و همکاران میزان NO کاهش معنی دار داشته است (۱۸). همچنین لپتین اثر خود را در آزادسازی LH از طریق افزایش دادن نیتریک اکساید در هیپوفیز و هیپوتالاموس اعمال می کند (۱۹).

در عین حال LH بنا بر مکانیسم فیدبک منفی و کنترل ترشح هورمون های جنسی از طریق سیستم هیپوفیز- گناد تنظیم می شود. بنابراین افزایش دو هورمون استروژن و پروژسترون باعث کاهش ترشح هورمون محرک LH از هیپوفیز قدامی می گردد. در نتیجه LH کاهش می یابد (۲۰). این موضوع با نتیجه ای که در این تحقیق به دست آمده مطابقت دارد. در بررسی نتایج به دست آمده مشخص شد که میزان هورمون FSH در تمام گروه های تجربی، کاهش معنی دار داشته است. از آنجایی که پروژسترون به مقدار زیاد تولید هورمون محرک فولیکولی را مهار می کند و به نظر می رسد که پپتیدهای اوپیوئیدی مغز میانجی این اثر فیدبک منفی است. در نتیجه با افزایش میزان هورمون استروژن و پروژسترون در این مطالعه، کاهش FSH کاملاً با این امر مطابقت دارد. در نتایج به دست آمده مشخص شد که میزان هورمون استروژن در تمام گروه های تجربی افزایش معنی دار داشته است. سلول های گرانولوزای فولیکول، تولید استروژن در تخمدان را به عهده دارند (۲۰). ابتدا چندین فولیکول آنترال کوچک شروع به رشد کرده و استرادیول می سازند. برخی از این فولیکول ها دچار آترزی می شوند. از میان فولیکول های باقی مانده، فولیکول چیره، برگزیده شده و بیشترین میزان استرادیول در این مرحله ترشح می شود. با توجه به افزایش تعداد فولیکول ها در این مطالعه، انتظار می رفت که میزان هورمون استروژن نیز افزایش پیدا کند که چنین نتیجه ای حادث شد و از آنجایی که میزان فولیکول گراف در گروه تجربی ۲۰۰ mg/kg عصاره دارای بیشترین مقدار است، بیشترین افزایش استروژن نیز در این گروه مشاهده شد. با توجه به نتایج به دست آمده، میزان هورمون پروژسترون در گروه تجربی ۱۰۰ mg/kg عصاره افزایش معنی دار داشته است. سنتز هورمون پروژسترون در سلول های تک جسم زرد صورت می گیرد (۲۰). بنابراین افزایش این هورمون در این تحقیق با افزایش جسم زرد در گروه تجربی ۱۰۰ mg/kg عصاره مطابقت دارد.

نتیجه گیری:

با توجه به نتایج به دست آمده، به نظر می رسد که گیاه سیاه دانه از طریق اثر بر تخمدان، تعداد فولیکول گراف را در ۳ گروه تیمار و تعداد جسم زرد را فقط در گروه تیمار با دوز ۱۰۰ mg/kg عصاره افزایش داده است. همچنین این عصاره سبب ترشح استروژن می شود که این امر سبب فیدبک منفی محور هیپوفیز- گناد شده و کاهش LH و FSH را باعث می شود. این نتایج می تواند بیانگر اثر وابسته به دوز عصاره سیاهدانه در جنس ماده باشد. با توجه به این عوامل می توانیم اثر مثبت این گیاه را روی پتانسیل تولید مثل جنس ماده شاهد باشیم. با توجه به نتایج، مؤثرترین دوز را می توان ۱۰۰ mg/kg در نظر گرفت.

تشکر و قدردانی:

بدینوسیله از کلیه همکارانی که در انجام این طـــرح تحقیقاتی اینجانب را یاری دادند تشکر و قدردانی می گردد.

منابع:

1. Amin Gh. [Traditional medicinal plants of Iran. Tehran: Res Pub; 1990.]Persian

2. Mirheidar H. [Herbal Education-plants used in the prevention and treatment of disease. Tehran: Islamic Culture Pub; 1992.]Persian

3. Faroopi MIH. Medicinal plants in the traditions of Prophet Muhammad. Lucknow: Sidrah Pub; 1998.

4. Zargari A. [Medicinal plants. 4th ed. Tehran: Tehran Univ Press. 1989.]Persian

5. Vahdati-Mashhadian N, Rakhshandeh H, Omidi A. [An investigation on LD 50 and subacutehepatic toxicity of *Nigella Sativa* seed extract in mice. Depart of Pharmacology, Mashhad Univ Med Sci. 2005. 60(7): 544-7.]Persian

6. Smsamshariat H. [Herb and natural remedies. Isfahan: Mashal Publ Inst. 1988.]Persian

7. Nagi A, Alhaj Mariana N. Shamsudin Hana F. Zamri. Extraction of essential oil from *Nigella sativa* using supercritical carbon dioxide: study of antibacterial activity. Am J Pharm Toxic. 2008; 3(4): 225-8.

8. Sheikhi-Karizaki A. [Pharmacognostical investigation of *Nigella sativa* and determination of its components with GC-MS analyzer. [Dissertation]. Tehran: Tehran Univ Med Sci; 1999. 2(1): 234-43.]Persian

9. Ali BH, Blunden G. Pharmacological and toxicological properties of *Nigella sativa*. Phytother Res. 2003; 17(4): 299-305.

10. Salem ML. Immunomodulatory and therapeutic properties of the *Nigella sativa* L. seed. Int Immunopharmacol. 2005; 5(13-14): 1749-70.

11. Pallares P, Gonzalez-Bulnes A. A new method for induction and synchronizoution of oestrus and fertile ovulations in mice by using exogenous hormones. Lab Anim. 2009; 43(3): 295-9.

12. Al-Saaidi JAA, Al-khuzai ALD, AL-Zobaydi NFH. Effect of alcoholic extract of *Nigella sativa* on fertility in male rats. Iraq J Verterin Sci, 2009; 23(Suppl2): 123-8.

13. Mukhallad AM, Mohamad MJM, Hatham DM. Effect of Black seeds (*Nigella sativa*) on spermatogenesis and fertility of male albino kats. Res J Medicin Med Sci. 2009; 4(2): 386-90.

14. Ebling FJ. Hormonal control of sebaceous glands in experimental animals. Advances in biology of skin. Oxford: Pergamon; 1983.

15. Brain RF, Hamady MH, Mainardi M. Preputial glands, dominance and aggressiveness in mice. Poll Zoo. 1983; 50: 173-87.

16. Castaneda- Gutierrez E, Pelton SH, Gilbert RO, Butler WR. Effect of peripartum dietary energy supplementation of dairy cows on metabolites, liver function and reproductive variables. Anim Reprod Sci. 2009; 112(3-4): 301-15.

17. Froozanfard F, Akbari , Hormone agonists reflect release of gonadotropin (GnRH against) the cycle of ovulation and risk of ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS). Grace J. 2005; 35: 20-22.

18. Khodaii H, Chamani M, Sadeghi A, Hejazi H. Effects of conjugated linoleic acid on mouse factors and hormones in the process of ovulation in miceintint. J Fertil. 2009; 2: 101-9.

19. Squires Ey. Applied animal endocrinology. 1st ed. Cambridge: CABI; 2003.

20. Zamiri MJ. [Physiology of reproduction. Tehran: Haghshenas Pub. 2005.]Persian

Journal of Shahrekord University of Medical Sciences
(J Shahrekord Univ Med Sci) 2012 Feb, March; 13(6): 63-70.

Original article

The effect of black seed (*Nigella sativa*) hydro-alcoholic extract on breeding factors in female mice

Modaresi M (PhD)[1]*, Poor-Naji N (MSc)[2]
[1]Agriculture Dept, Islamic Azad University, Khorasgan Branch, Isfahan, Iran, [2]Animal Sciences Dept., Payame Noor University of Isfahan, Isfahan, Iran.
Received: 4/Dec/2010 Revised: 18/Aug/2011 Accepted: 7/Dec/2011

Background and aim: The black seed belongs to Ranunculaceaes and has been used as a spice and a curative remedy for numerous disorders. With regard to the effect of this plant on infertility this study was designed to investigate the role of the hydro-alcoholic extract of black seed on gonadotropin, estrogen, progesterone and folliculogenesis in mice.
Methods: In this experimental study, 40 mice were randomly divided in to 5 groups of 8 animals. (3 experimental groups, one control group and one placebo group). All mice received one dose of Cloprostenol (i.p) and after three days progesterone (s.c.) for menstrual synchronization. Placebo group received normal saline and three other experimental groups received 50,100 and 200 mg/kg *Nigella sativa* extract (i.p.), every other day for to days. After 10 injections, blood samples were taken from all groups and hormonal measurements, including LH, FSH, estrogen, progesterone were measured by RIA technique. Ovaries were taken out and used for tissue slicing and then were studied using light microscope. Results were analyzed using ANOVA and Donkey tests.
Results: Results showed a significant decrease in the level of FSH and LH. In addition, a significance increase was observed in the level of estrogen in all groups, while the level of progesterone was increased in the second experimental group (100 mg/kg extract groups). The third experimental group (200 mg/kg) showed a significant increase in the weight of ovaries and the number of follicles. The number of corpus luteum was significantly increased in second experimental group (100 mg/kg).
Conclusion: The hydro-alcoholic extract of *Nigella sativa* may enhance the number of follicle and corpus luteum which can have positive effect on fertility in female mice.

Keywords: **Estrogen, Folliculogenesis, Gonadoteropin, *Nigella sativa*, Progesterone, Mice.**

Cite this article as: Modaresi M, Poor-Naji N. [The effect of black seed (*Nigella sativa*) hydro-alcoholic extract on breeding factors in female mice. J Sharekord Univ Med Sci. 2012 Feb, March; 13(6): 63-70.]Persian

*Corresponding author:
Agriculture Dept., No51, Tohid impasse, Amirrezai lane, Parvin St, Isfahan, Iran, Tel: 00989132074854, E-mail:mehrdad_modaresi@hotmail.com