

Effect of green tea extract (*Camellia sinensis*) on polycystic ovary syndrome induced by letrozole in adult female Wistar rats

Khodarahmi, S.I.¹, Mortazavi, P.^{2*}, Eidi, A.³

1- MSc, Cell and Developmental Biology, Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

2- Associate Professor, Department of Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

3- Professor, Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

*Corresponding author's email: eidi@srbiau.ac.ir

(Received: 2023/4/25 Accepted: 2023/8/25)

Abstract

Green tea (*Camellia sinensis*), has always been a focus of interest in traditional medicine for its biochemical and medicinal properties as an antioxidant agent. Polycystic ovary syndrome (PCOS) is a common endocrinopathy among women of reproductive age. In the present study, the effects of green tea extract on letrozole-induced PCOS were evaluated. Forty eight adult female Wistar rats were assigned to eight groups in random: healthy control group (no treatment), PCOS control group (letrozole at 1 mg/kg by gavage), three healthy experimental groups (green tea extract at 50, 100 and 200 mg/kg body weight by gavage), and three experimental PCOS groups (green tea extract at 50, 100 and 200 mg/kg body weight + letrozole at 1 mg/kg by gavage). On the 28th day (at the end of the experiment), the rats were euthanized, and the antioxidant enzymes (superoxide dismutase, catalase, and glutathione peroxidase) and lipid peroxidation were assessed in the ovarian tissue homogenates. The results indicated that the green tea extract significantly increased the activities of the antioxidant enzymes and decreased lipid peroxidation ($p<0.001$). Our results showed that the green tea extract was also effective in treating letrozole-induced PCOS in the rats by increasing the activities of the antioxidant enzymes.

Conflict of interest: None declared.

Keywords: Antioxidant, Green tea extract, Letrozole, Polycystic ovary syndrome (PCOS).

بررسی اثر عصاره چای سبز (*Camellia sinensis*) بر سندرم تخمدان پلی کیستیک القایی به وسیله لتروزول در موش‌های صحرایی ماده بالغ نژاد ویستار

سیدایمان خدارحمی^۱، پژمان مرتضوی^{۲*}، اکرم عیدی^۳

۱- کارشناس ارشد زیست‌شناسی سلولی و تکوینی، گروه زیست‌شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

۲- دانشیار گروه پاتولوژی، دانشکده دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

۳- استاد گروه زیست‌شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

*نویسنده مسئول مکاتبات: sp.mortazavi@gmail.com

(دریافت ۱۴۰۲/۲/۵ پذیرش نهایی: ۱۴۰۲/۶/۳)

چکیده

چای سبز (*Camellia sinensis*) از لحاظ زیست‌شیمیایی و خواص دارویی همواره در طب سنتی مورد توجه قرار گرفته، دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی در برابر استرس اکسیداتیو می‌باشد. سندرم تخمدان پلی کیستیک (polycystic ovary syndrome; PCOS)، اختلال شایع غدد درون‌ریز است که برخی از زنان در سنین باروری به آن مبتلا می‌شوند. هدف مطالعه حاضر، بررسی اثر عصاره چای سبز بر PCOS القایی، توسط لتروزول در موش صحرایی بود. بدین منظور ۴۸ سر موش صحرایی ماده بالغ نژاد ویستار به طور تصادفی در ۸ گروه تقسیم شدند. حیوانات گروه کنترل سالم در طول آزمایش تیماری دریافت نکرد. موش‌های گروه کنترل PCOS، لتروزول را در دوز ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، به صورت گاوژ دریافت کردند. همچنین حیوانات سه گروه تجربی سالم عصاره چای سبز را در دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به صورت گاوژ دریافت کردند و موش‌های سه گروه تجربی PCOS هم علاوه بر لتروزول، عصاره چای سبز را در ۳ دوز مذکور به صورت گاوژ دریافت کردند. در پایان این آزمایش در روز ۲۸، حیوانات آسان‌کشی شده و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز و همچنین پراکسیداسیون لیپیدی در هموژنات بافت تخمدان مورد سنجش قرار گرفت. عصاره چای سبز باعث افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و کاهش معنی‌دار پراکسیداسیون لیپیدی گردید ($p < 0.001$). نتایج نشان داد که عصاره چای سبز، با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، در درمان PCOS ناشی از لتروزول در موش صحرایی موثر است.

کلیدواژه‌ها: آنتی‌اکسیدان، عصاره چای سبز، لتروزول، سندرم تخمدان پلی کیستیک.

مقدمه

(Sabuncu *et al.*, 2001). تحقیقات بیانگر آن است که سطح سرمی فاکتورهای استرس اکسیداتیو از جمله گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن (reactive oxygen species; ROS) در بیماران مبتلا به تخمدان‌های پلی‌کیستیک افزایش یافته و ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی (total antioxidant capacity; TAC) سرم کاهش پیدا می‌کند و از سوی دیگر افزایش پراکسیداسیون لیپیدی در آن‌ها، باعث ایجاد آسیب به غشاء و اندامک‌های سلول می‌شود (Dikmen *et al.*, 2012; Tahmasebi *et al.*, 2015). امروزه روش‌های غیرتهاجمی به منظور درمان توقف تخمک‌گذاری در بیماران مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک، از جمله استفاده از داروهایی نظیر کلومیفن‌سیترات، متفورمین و لتروزول مطرح می‌باشد که هر کدام با مکانیسم اثر متفاوت، عوارض زیادی را به دنبال دارند که پراکسیداسیون لیپیدها و استرس اکسیداتیو به وجود آمده در بیماران دارای تخمدان پلی‌کیستیک می‌تواند دلیل بسیاری از مشکلات در این بیماران باشد (Naderpoor *et al.*, 2015).

امروزه، چای به عنوان منبعی با فعالیت‌های زیستی و دارویی مفید برای سلامتی انسان مورد توجه قرار گرفته است (Mohajeri *et al.*, 2011). در چای سبز (*Camellia sinensis*) سه گروه پلی‌فنلی شامل تئوفلاوین، کاتچین و تئوروبیزن وجود دارد. کاتچین‌های چای سبز نوعی آنتی‌اکسیدان هستند که از بارزترین فلاونوئیدها به شمار می‌روند (Ishii *et al.*, 2008). ترکیبات مهم فنولیک موجود در برگ‌های چای سبز، کاتچین‌ها هستند که ساختار بالای ۳۰ درصد وزن خشک چای را تشکیل می‌دهند (Rasoulifard, 2015). کاتچین‌های چای سبز شامل اپی‌کاتچین،

سندرم تخمدان پلی‌کیستیک (polycystic ovary syndrome; PCOS) در نتیجه اختلال سیستم اندوکرین ایجاد می‌شود. در این بیماری، میزان ترشح هورمون لوتئینه‌کننده (luteinizing hormone; LH) در مقایسه با هورمون محرک فولیکولی (follicle-stimulating hormone; FSH) افزایش می‌یابد. افزایش هورمون LH، باعث تحریک سلول‌های فولیکولی تخمدان و افزایش سنتز آندروژن‌ها می‌شود. همچنین میزان پیش‌سازهای استروژن یعنی تستوسترون و آندروستندیون، افزایش می‌یابد. اختلال در متابولیسم قندها، مقاومت به انسولین، اختلالات متابولیسم لیپید، افزایش فشارخون و چاقی در این بیماران شایع است (Goswami *et al.*, 2012; Alchami *et al.*, 2015). افزایش آندروژن‌ها بر شکل‌گیری و آزادسازی تخمک در دوره تخمک‌گذاری موثر بوده و موجب تکوین تعداد زیادی فولیکول می‌شود. با توجه به توقف رشد فولیکول‌ها در مرحله انتخاب فولیکول غالب در مبتلایان به تخمدان پلی‌کیستیک، فولیکول‌های کیستیک در زیر کپسول تخمدان ایجاد می‌شوند (Dikmen *et al.*, 2012). پژوهش‌ها نشان داده‌است که نوعی عدم تعادل میان ایجاد و مهار رادیکال‌های آزاد توسط سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی، باعث ایجاد استرس اکسیداتیو در بدن می‌شود. استرس اکسیداتیو در ایجاد اختلال در مراحل رشد و بلوغ فولیکول‌های تخمدانی، افزایش سنتز آندروژن‌ها و آسیب به بافت تخمدان در بیماران مبتلا به تخمدان‌های پلی‌کیستیک تاثیرگذار است و همچنین اختلال در تولید و ترشح استروئیدهای تخمدانی یکی از علل استرس اکسیداتیو ایجاد شده در این بیماران است

آپی کاتچین گالات، آپی گالوکاتچین و آپی گالوکاتچین گالات هستند. فعال‌ترین کاتچین از نظر سطح آنتی‌اکسیدانی، آپی گالوکاتچین گالات است (Gadkari and Balaraman, 2015; Choi *et al.*, 2016). آپی کاتچین گالات موجود در برگ چای سبز باعث کاهش آسیب به ماده ژنتیکی بافت کبد می‌شود (Hasegawa *et al.*, 2000). همچنین کاتچین موجود در چای سبز با کاهش سطح گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن سلولی باعث کاهش آسیب به DNA می‌شود. و با اثر محافظتی که در سلول ایجاد می‌کند به DNA فرصت ترمیم و بازسازی را می‌دهد (Katiyar *et al.*, 2007). از طرف دیگر چای سبز به دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی، باعث افزایش بهبودی در روند درمان زخم‌های ناشی از سوختگی و آسیب‌های ایجاد شده در اثر جراحی در موش‌های صحرایی می‌شود (Asadi *et al.*, 2011). بر اساس تحقیقات صورت گرفته، عصاره چای سبز می‌تواند مورفولوژی طبیعی اسپرم، قابلیت تحرک و همچنین ضخامت لوله‌های اسپرم‌ساز، لومن و سلول‌های اپیتلیوم‌زایا را در موش‌های صحرایی القا شده توسط سدیم آرسنیت را تا حدود زیادی به حالت طبیعی بازگرداند. مشخص شده است که عصاره چای سبز با خاصیت آنتی‌اکسیدانی موثر با متوقف کردن استرس اکسیداتیو القا شده توسط سدیم آرسنیت، پراکسیداسیون لیپیدی را در اسپرم کاهش داده و بدین ترتیب از مرگ اسپرم‌ها جلوگیری می‌کند (Shariatzadeh *et al.*, 2015). چای سبز در آسیب کبدی القایی به وسیله استامینوفن نقش حفاظتی دارد و سطح سرمی آلانین آمینوترانسفراز (alanine amino transferase; ALT) و آسپاراتات آمینوترانسفراز (aspartate amino

transferase; AST) را در موش‌های صحرایی مدل آسیب حاد کبدی القایی به وسیله استامینوفن را کاهش می‌دهد. عصاره چای سبز دارای خواص بازدارنده رادیکال‌های آزاد بوده و به عنوان یک آنتی‌اکسیدان طبیعی عمل می‌کند (Sadat Khorsandi *et al.*, 2010). همچنین پلی‌فنل‌های موجود در چای سبز، فعالیت رادیکال‌های سوپراکسید و هیدروکسیل را متوقف کرده و علاوه بر تاثیرات آنتی‌اکسیدانی مستقیم، به صورت فیزیولوژیک آنتی‌اکسیدان‌های درون سلول‌های بدن را افزایش می‌دهد و مقدار آنتی‌اکسیدان‌های اندوژن از جمله گلوتاتیون پراکسیداز (glutathione peroxidase; GPX)، سوپراکسید دیسموتاز (superoxide dismutase; SOD) و کاتالاز (catalase; CAT) را در موش‌های دریافت کننده عصاره چای سبز افزایش می‌دهد (Lambert and Elias, 2010).

با توجه به تاثیرات درمانی و کاربردهای گسترده چای سبز و ترکیبات موثره و همچنین خواص آنتی‌اکسیدانی آن، مطالعه حاضر با هدف تعیین اثر عصاره چای سبز بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی تخمدان در موش‌های صحرایی ماده بالغ مدل سندرم تخمدان پلی‌کیستیک القا شده توسط لئورزول انجام شد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه تجربی آزمایشگاهی در زمستان سال ۱۳۹۷ در مجتمع آزمایشگاهی زکریای رازی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران انجام گردید. قوانین و پروتکل‌های این مطالعه مطابق اصول اخلاقی

که به صورت آزاد به آب و مواد غذایی دسترسی داشتند (Montazeri *et al.*, 2018).

- آماده‌سازی و تیمار حیوانات: تعداد ۴۸ سر موش صحرایی مورد آزمایش، بعد از یک هفته سازش با محیط نگهداری حیوانات، به طور تصادفی در ۸ گروه شش تایی به شرح زیر قرار گرفتند:

گروه ۱ (حیوانات کنترل سالم): شامل موش‌هایی که هیچ گونه تیماری دریافت نکردند.

گروه ۲ (حیوانات کنترل PCOS): شامل موش‌هایی که فقط لئروزول (لتراکس ۲/۵ میلی‌گرم، شرکت داروسازی ابوریحان، ایران) را در دوز ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به مدت ۲۸ روز متوالی به صورت گاوژ دریافت کردند.

گروه‌های ۳، ۴ و ۵ (حیوانات تجربی سالم): شامل موش‌هایی که عصاره چای سبز را در دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن دریافت کردند (Ghafurniyan *et al.*, 2015). طریقه مصرف به صورت گاوژ و به مدت ۲۸ روز عصاره چای سبز را در سه دوز مذکور دریافت کردند. از آنجایی که در ابتدای آزمایش، دوز موثر عصاره چای سبز مشخص نبود، لذا در سه دوز به حیوانات سالم و PCOS تجویز شد.

گروه‌های ۶، ۷ و ۸ (حیوانات تجربی PCOS): حیوانات این گروه علاوه بر لئروزول که در دوز ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به مدت ۲۸ روز متوالی به صورت گاوژ دریافت کردند، عصاره چای سبز را نیز در دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به صورت گاوژ به مدت ۲۸ روز دریافت کردند.

- جمع‌آوری نمونه‌های بافت تخمدان و آزمایش‌های بیوشیمیایی: پس از گذشت ۲۸ روز همه موش‌های

مورد تایید کمیته بین‌المللی حمایت از حقوق حیوانات آزمایشگاهی طراحی شد.

- آماده‌سازی عصاره چای سبز: ۲۰۰ گرم چای سبز خشک (چای سبز خالص بسته‌بندی شده، شرکت گلستان، ایران)، از بازار خریداری و توسط مجتمع آزمایشگاهی زکریای رازی مورد تایید قرار گرفت.

چای سبز خشک به وسیله آسیاب آزمایشگاهی مکانیکی (شرکت کیمیا تجهیز غرب، ایران) تبدیل به پودر گردید، سپس در یک ظرف شیشه‌ای ریخته شد و به آن اتانول ۸۰ درجه (شرکت فلوکا، سوییس) اضافه شد، به طوری که تمام سطح چای سبز پودر شده را پوشاند، بعد از گذشت ۲۴ ساعت، صاف کردن مخلوط چای سبز و الکل انجام گرفت، پس از صاف کردن محلول، از محلول به دست آمده با روش تغلیظ در خلاء توسط دستگاه روتاری (کمپانی ویجنز، آلمان) عمل عصاره‌گیری انجام شد و عصاره خشک گردید (Abdolahi *et al.*, 2010).

لازم به ذکر است در زمان آزمایش، عصاره چای سبز خشک شده در آب مقطر (شرکت کیمیا تهران اسید، ایران) در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، حل و تهیه گردید.

- حیوانات مورد استفاده: در این مطالعه تجربی، تعداد ۴۸ سر موش صحرایی ماده بالغ نژاد ویستار (با محدوده وزنی ۱۸۰-۲۲۰ گرم) و سن ۳-۲/۵ ماهه استفاده شد. موش‌ها از بخش پرورش حیوانات آزمایشگاهی انستیتو پاستور تهران خریداری شده و در اتاق حیوانات (با دمای 23 ± 2 درجه سلسیوس، دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) نگهداری شدند

میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن کاهش معنی‌داری را در غلظت آنزیم کاتالاز در مقایسه با گروه کنترل سالم نشان نداد، درحالی‌که تیمار لتروزول کاهش معنی‌داری در میزان آنزیم کاتالاز در گروه کنترل PCOS در مقایسه با حیوانات کنترل سالم ایجاد نمود ($p < 0/001$). عصاره چای سبز نیز در دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، تغییر معنی‌داری را در میزان کاتالاز در مقایسه با گروه کنترل PCOS ایجاد نکرد. اما تیمار با عصاره چای سبز در دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، افزایش معنی‌داری در میزان کاتالاز بافت تخمدان در مقایسه با گروه کنترل PCOS ایجاد نمود ($p < 0/001$).

مطابق نتایج ارائه شده در نمودار ۲، مشخص گردید که تیمار عصاره چای سبز در دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، تغییر معنی‌داری را در غلظت گلوتاتیون پراکسیداز در مقایسه با گروه کنترل سالم نشان نداد. درحالی‌که تیمار لتروزول کاهش معنی‌داری در میزان آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در گروه کنترل PCOS در مقایسه با حیوانات کنترل سالم ایجاد نمود ($p < 0/001$). همچنین عصاره چای سبز در دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن تغییر معنی‌داری را در میزان گلوتاتیون پراکسیداز در مقایسه با گروه کنترل PCOS ایجاد نکرد. اما تیمار عصاره چای سبز در دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، افزایش معنی‌داری در میزان گلوتاتیون پراکسیداز بافت تخمدان در مقایسه با گروه کنترل PCOS ایجاد نمود ($p < 0/001$).

مطابق نتایج ارائه شده در نمودار ۳ نیز مشخص گردید که تیمار عصاره چای سبز در دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و

صحرائی مورد آزمایش به وسیله اتر بیهوش شدند. در ادامه بافت تخمدان از بدن آن‌ها خارج شده و پس از شستشو با محلول سالین و بافر تریس (دنازیست، ایران)، به مدت ۶ دقیقه در دستگاه هموژنیزه کننده (رویان ایران، ایران) با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه، همگن شده و سپس محلول به دست آمده به وسیله دستگاه سانتریفیوژ یخچال‌دار (پارس آزما، ایران) جدا سازی گردید. به منظور جلوگیری از بین رفتن پروتئین‌ها و آنزیم‌ها، تمامی مراحل در دمای ۴ درجه سلسیوس (دمای سانتریفیوژ یخچال‌دار) انجام شده و همچنین از محلول ۰/۵ میلی‌مولار فنیل متیل سولفونیل فلوراید (phenyl methyl sulfonyl fluoride)، (شرکت سیگما، آمریکا) به‌عنوان مهارکننده آنزیم پروتئاز استفاده می‌گردید. پس از مرحله سانتریفیوژ کردن، محلول شفاف رویی از بخش رسوب‌کرده زیرین، جدا و برای سنجش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز و همچنین پراکسیداسیون لیپیدی به روش الیزا و با استفاده از کیت‌های (شرکت راندوکس، انگلستان) استفاده می‌شد.

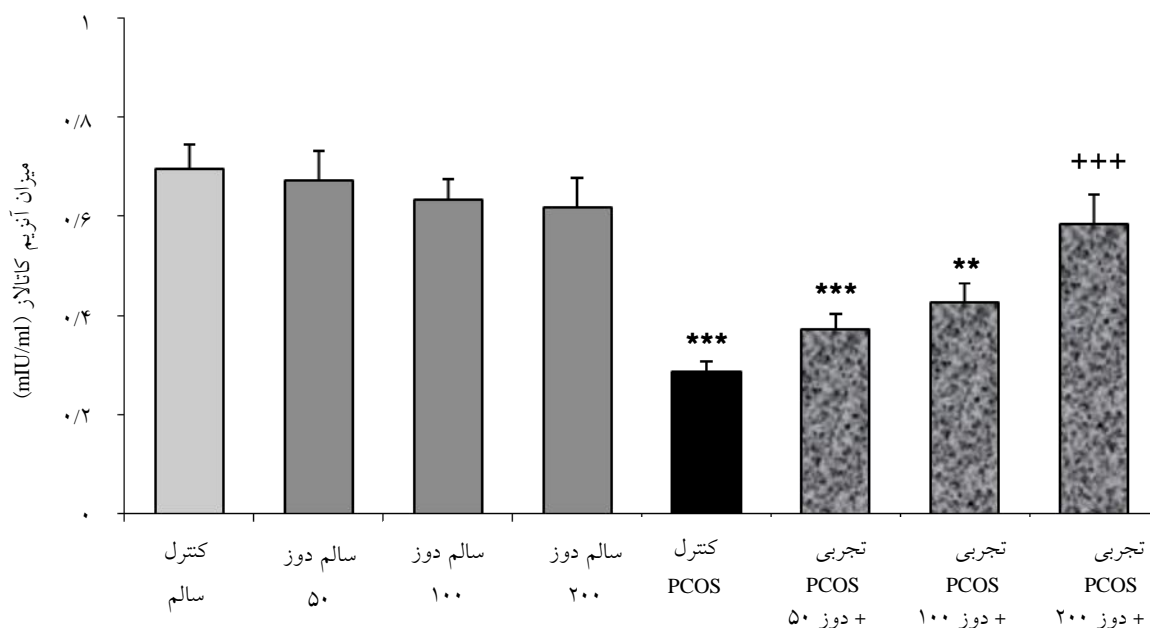
- تحلیل آماری داده‌ها: داده‌های جمع‌آوری شده، به کمک نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۳، توسط آزمون‌های آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) و پس‌آزمون توکی (Tukey) تحلیل شدند. اختلاف آماری بین گروه‌های مورد آزمایش هم با سطح معنی‌داری ($p < 0/05$) در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

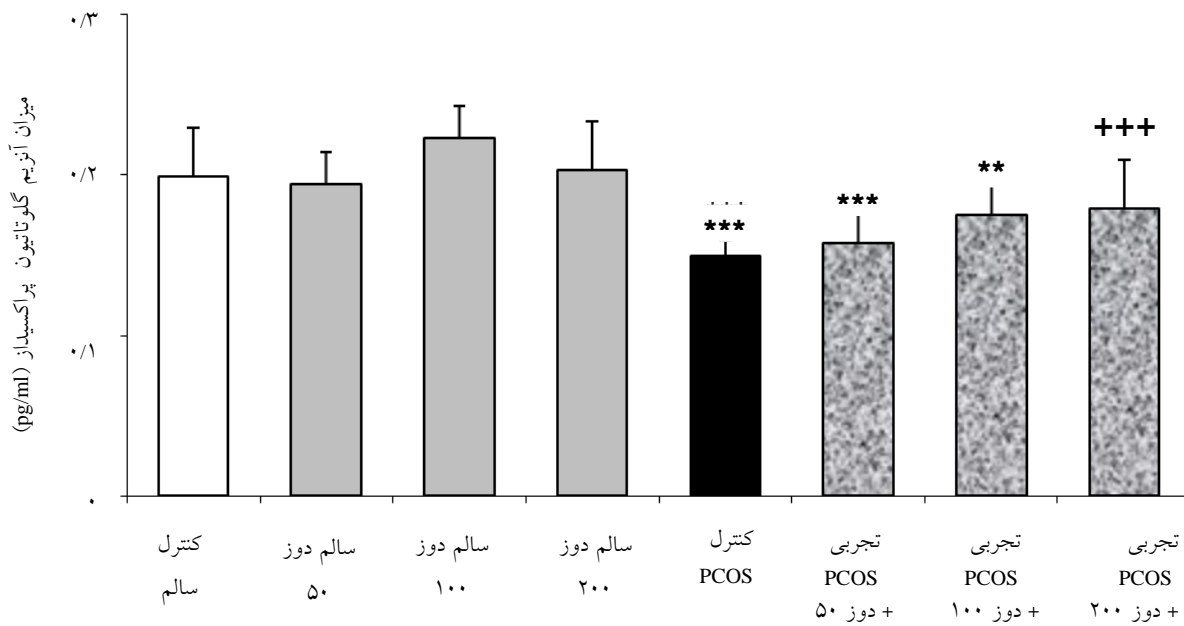
مطابق نتایج ارائه شده در نمودار ۱، مشخص گردید که تیمار عصاره چای سبز در دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰

مقایسه با حیوانات کنترل سالم ایجاد نمود ($p < 0/001$). عصاره چای سبز نیز در دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن تغییر معنی‌داری را در میزان سوپراکسیداز دیسموتاز در مقایسه با گروه کنترل PCOS ایجاد نکرد. اما تیمار عصاره چای سبز در دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، افزایش معنی‌داری در میزان سوپراکسیداز دیسموتاز بافت تخمدان در مقایسه با گروه کنترل PCOS ایجاد نمود ($p < 0/001$).

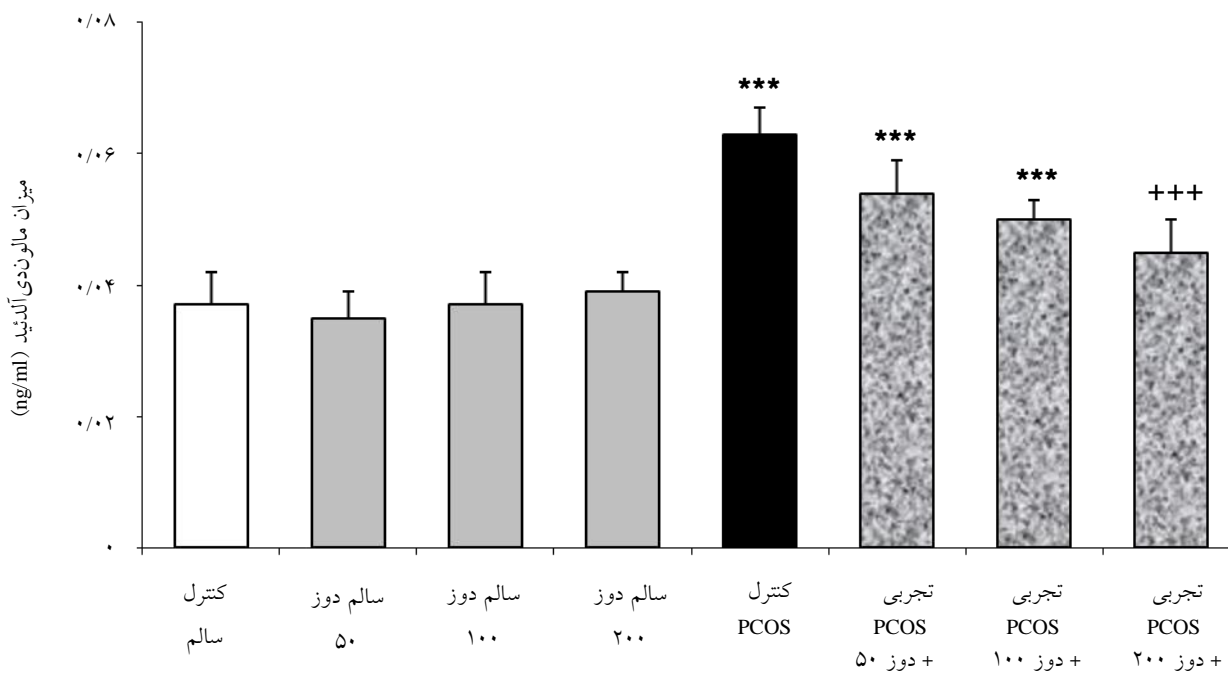
۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، تغییر معنی‌داری را در غلظت مالون‌دی‌آلدئید در مقایسه با گروه کنترل سالم نشان نداد. اما تیمار لتروزول افزایش معنی‌داری در میزان مالون‌دی‌آلدئید در گروه کنترل PCOS در مقایسه با حیوانات کنترل سالم ایجاد نمود ($p < 0/001$). عصاره چای سبز نیز در دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن تغییر معنی‌داری را در میزان مالون‌دی‌آلدئید در مقایسه با گروه کنترل PCOS ایجاد نکرد. اما تیمار عصاره چای سبز در دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، کاهش معنی‌داری در میزان مالون‌دی‌آلدئید بافت تخمدان در مقایسه با گروه کنترل PCOS ایجاد نمود ($p < 0/001$). همچنین مطابق نتایج ارائه شده در نمودار ۴ مشخص گردید که تیمار عصاره چای سبز در دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، کاهش معنی‌داری را در غلظت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در مقایسه با گروه کنترل سالم نشان نداد. درحالی‌که تیمار لتروزول کاهش معنی‌داری در میزان آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در گروه کنترل PCOS



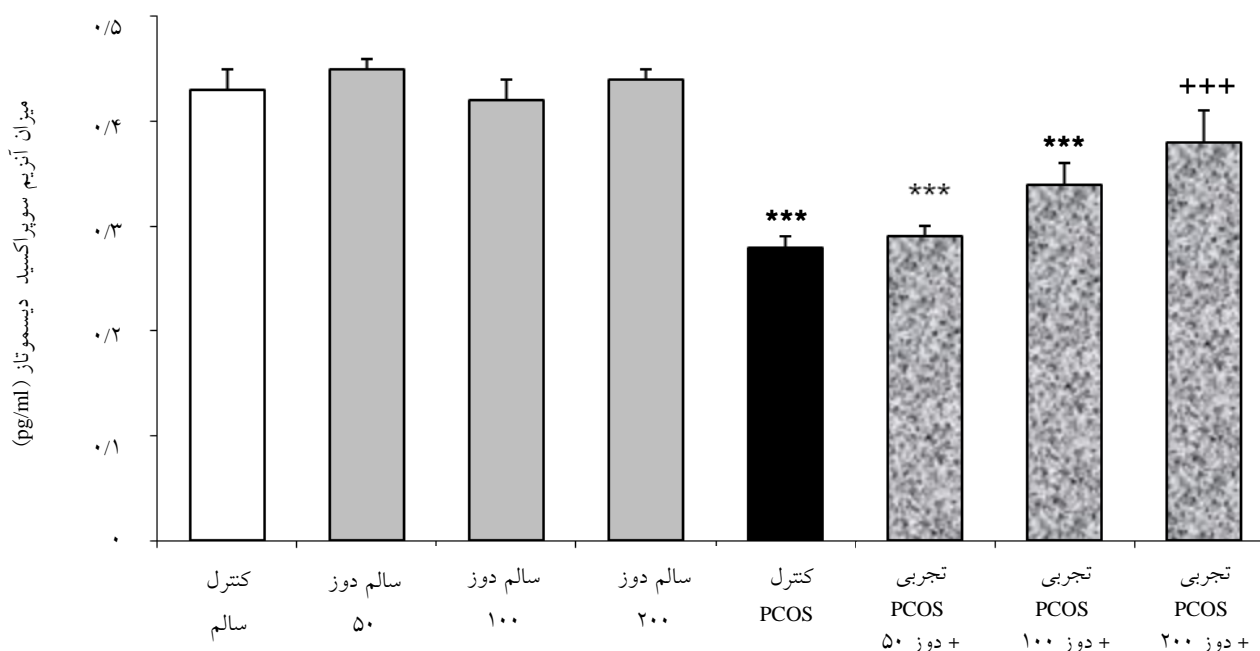
نمودار ۱- اثر تیمار خوراکی عصاره چای سبز در دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، بر میزان آنزیم کاتالاز در موش‌های صحرایی ماده بالغ نژاد ویستار سالم و مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک القا شده توسط لتروزول. **: وجود اختلاف آماری معنی‌دار با گروه کنترل سالم را نشان می‌دهد ($p < 0.01$). ***: وجود اختلاف آماری معنی‌دار با گروه کنترل سالم را نشان می‌دهد ($p < 0.001$). +++: وجود اختلاف آماری معنی‌دار با گروه مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک را نشان می‌دهد ($p < 0.001$).



نمودار ۲- اثر تیمار خوراکی عصاره چای سبز در دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، بر میزان آنزیم مالون‌دی‌آلدئید پراکسیداز در موش‌های صحرایی ماده بالغ نژاد ویستار سالم و مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک القا شده توسط لتروزول. **: وجود اختلاف آماری معنی‌دار با گروه کنترل. +++: وجود اختلاف آماری معنی‌دار با گروه مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک را نشان می‌دهد ($p < 0.001$).



نمودار ۳- اثر تیمار خوراکی عصاره چای سبز در دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن بر میزان مالون دی آلدئید در موش های صحرائی ماده بالغ نژاد ویستار سالم و مبتلا به سندرم تخمدان پلی کیستیک القا شده توسط لتروزول. ***: وجود اختلاف آماری معنی دار با گروه کنترل سالم را نشان می دهد ($p < 0/001$). +++: وجود اختلاف آماری معنی دار با گروه مبتلا به سندرم تخمدان پلی کیستیک را نشان می دهد ($p < 0/001$).



نمودار ۴- اثر تیمار خوراکی عصاره چای سبز در دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن، بر میزان آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در موش های صحرائی ماده بالغ نژاد ویستار سالم و مبتلا به سندرم تخمدان پلی کیستیک القا شده توسط لتروزول. ***: وجود اختلاف آماری معنی دار با گروه کنترل سالم را نشان می دهد ($p < 0/001$). +++: وجود اختلاف آماری معنی دار با گروه مبتلا به سندرم تخمدان پلی کیستیک را نشان می دهد ($p < 0/001$).

بحث و نتیجه گیری

(نمودارهای ۱ تا ۴). همچنین تیمار عصاره چای سبز در موش های گروه کنترل PCOS توانست سطح آنزیم های آنتی اکسیدانی SOD، CAT و GPX و نیز سطح MDA را، در مقایسه با حیوانات گروه کنترل سالم تا میزان زیادی به حد طبیعی بازگرداند (نمودارهای ۱ تا ۴). در راستای مطالعه حاضر، طهماسبی و همکاران در سال ۲۰۱۵ گزارش کردند که ایجاد بیماری سندرم تخمدان پلی کیستیک موجب افزایش استرس اکسیداتیو در

در مطالعه حاضر تأثیر عصاره چای سبز بر میزان فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی در مورد PCOS القایی توسط لتروزول در موش های صحرائی ماده بالغ نژاد ویستار مورد بررسی قرار گرفت و مشخص گردید که تیمار لتروزول باعث کاهش معنی داری در آنزیم های آنتی اکسیدانی SOD، CAT و GPX و همچنین افزایش سطح پراکسیداسیون لیپیدی (MDA) می گردد

تخمندان پلی‌کیستیک باعث ایجاد آسیب به ماده ژنتیکی سلول‌های اپیتلیوم تخمدان و القاء آپوپتوز در سلول‌های گرانولوزا می‌شود (Norouzi *et al.*, 2016)، یافته‌های تحقیقات فوق هم‌سو با نتایج حاضر بوده و تاییدی بر تاثیر بیماری سندرم تخمدان پلی‌کیستیک بر افزایش سطح مالون‌دی‌آلدئید است. از طرف دیگر ابوالفتحی و همکاران در سال ۲۰۱۱ در پژوهشی نشان دادند، چای سبز با فعالیت آنتی‌اکسیدانی خود باعث کاهش آنزیم‌های سرمی مربوط به آسیب به بافت کبد و نیز کاهش آسیب به عملکرد این ارگان می‌شود (Abolfathi *et al.*, 2011). همچنین در مطالعه‌ای سننایاکه در سال ۲۰۱۳ نشان داد که کاتچین موجود در برگ‌های چای سبز یک آنتی‌اکسیدان موثر است و باعث مهار استرس اکسیداتیو می‌شود و از آسیب بافتی جلوگیری می‌کند. همچنین سطح آنتی‌اکسیدان‌های اندوژن را افزایش می‌دهد (Senanayake, 2013)، که با نتایج حاصله از پژوهش حاضر هم‌سو است و تاییدی بر تاثیر عصاره چای سبز بر افزایش سطح آنتی‌اکسیدان‌های اندوژن از جمله کاتالاز، گلو‌تاتیون پراکسیداز و سوپراکسید دی‌سموتاز است.

کرسپی و ویلیامسون در سال ۲۰۰۴ در پژوهشی دریافتند که چای سبز که دارای کاتچین به عنوان یک آنتی‌اکسیدان موثر می‌باشد، سطح آنتی‌اکسیدانی بافت را افزایش داده و سطح رادیکال‌های آزاد موجود در سلول را کاهش می‌دهد و مانع از اثر عوامل سرطان‌زا روی کروموزوم‌ها می‌شود (Crespy and Williamson, 2004).

چوبوت و همکاران در سال ۲۰۰۹ در پژوهشی تاثیر آنتی‌اکسیدان‌های موجود در ترکیبات چای سبز را

تخمندان موش‌های صحرایی می‌شود (Tahmasebi *et al.*, 2015). در مطالعه‌ای دیگر مال‌هاترا و همکاران در سال ۲۰۱۴ مشخص کردند که در بیماران دارای سندرم تخمدان پلی‌کیستیک، مقدار فاکتورهای سرمی استرس اکسیداتیو مانند ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل، دچار اختلال شده و غیرطبیعی است و هنگامی که بافت به مدت زیادی در شرایط استرس اکسیداتیو باشد، باعث افزایش تکثیر در سلول‌های مزانشیم بافت تخمدان و ایجاد اختلال در فیزیولوژی بافت تخمدان می‌شود که آن‌هم باعث کاهش تخمک‌گذاری و پایین آمدن کیفیت تخمک می‌شود (Malhatra *et al.*, 2014). در توافق با نتایج حاضر، در مطالعه‌ای دولبا در سال ۲۰۱۲ مشخص کرد میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بافت تخمدان در بیماران مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک، کاهش و استرس اکسیداتیو موجود در بافت تخمدان، سطح آندروژن‌های تخمدان را افزایش می‌دهد و باعث ایجاد اختلال در رشد و بلوغ فولیکول‌های تخمدان می‌شود (Duleba, 2012). نوروزی و همکاران نیز در سال ۲۰۱۶ در پژوهشی مشخص کردند که سطح سرمی لیپیدهای موجود در خون و سطح لیپیدهای اکسید شده در بیماران مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک نسبت به افراد سالم دچار افزایش است و سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی قادر به محافظت لیپیدها در برابر عوامل اکسیداسیون نبوده و با افزایش غلظت لیپیدها و کاهش توان سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی، درصد بروز آسیب‌های اکسیداتیو افزایش یافته و به صورت افزایش میزان سرمی مالون‌دی‌آلدئید مشاهده می‌شود. همچنین نامبردگان گزارش کردند که افزایش سطح استرس اکسیداتیو در بافت تخمدان موش‌های صحرایی مبتلا به سندرم

باعث کاهش پراکسیداسیون لیپیدی می‌شود که به موجب آن میزان مالون‌دی‌آلدئید کاهش می‌یابد (Azam *et al.*, 2014).

با توجه به نتایج مطالعه حاضر، مشخص گردید که آنتی‌اکسیدان‌های عصاره چای سبز موجب افزایش سطح فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در تخمدان موش‌های صحرایی مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک می‌شود و لذا می‌توان این‌گونه بیان کرد که عصاره چای سبز برای کاهش برخی عوارض سندرم تخمدان پلی‌کیستیک مفید و موثر است.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله نویسندگان از تمامی همکاران محترم دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران که ما را در اجرای این طرح یاری نمودند، قدردانی و تشکر می‌نمایند.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضاد منافی ندارند.

در مهار رادیکال‌های آزاد، به ساختار کاتکول‌آمین‌های موجود در ساختارشان نسبت دادند. همچنین کاتچین‌های چای سبز با داشتن خواص آنتی‌اکسیدانی باعث غیرفعال شدن رادیکال‌های هیدروکسیل، پراکسید هیدروژن، نیتریک‌اکسید و سوپراکسید می‌شوند (Chobot *et al.*, 2009).

عموآغلی تبریزی و مهاجری در سال ۲۰۱۴ در پژوهشی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره چای سبز را با سنجش سطح مالون‌دی‌آلدئید و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در بافت کبد مورد سنجش قرار داده و مشخص کردند که تیمار با چای سبز به موش‌های مبتلا به بالا بودن سطح کلسترول و سطح تری‌گلیسرید خون، موجب کاهش سطح سرمی آنزیم‌های کبدی، افزایش سطح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و کاهش سطح پراکسیداسیون لیپیدی بافت کبد می‌شود (Amoughli, Tabrizi and Mohajeri, 2014).

آزام و همکاران در سال ۲۰۱۴ نشان دادند، کاتچین چای سبز با کاهش سطح رادیکال‌های آزاد از افزایش پراکسیداسیون لیپیدها جلوگیری می‌کند. همچنین مشخص شد اپی‌کاتچین با کاهش سوپراکسیدها، رادیکال‌های هیدروکسیل و رادیکال‌های پراکسی‌نیتريت

منابع

- Abdolahi, M., Khorsandi, L. and Ahrari, K. (2010). The protective effect of green tea extract on acetaminophen induced nephron – toxicity in mice. *Journal of Arak University of Medical Sciences*, 13(1): 90-96. [In Persian]
- Abolfathi, A., Rezaie, A., Mousavi, G., Valilou, M. and Jafari, B. (2011). Effects of Green tea extract on liver histopathology and serum biomarkers of hepatic tissue injury in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Veterinary Clinical Pathology*, 5(19): 1315-1324. [In Persian]

- Alchami, A., O'Donovan, O. and Davies, M. (2015). PCOS: diagnosis and management of related infertility. *Obstetrics, Gynaecology and Reproductive Medicine*, 25(10): 279-282.
- Amoughli Tabrizi, B. and Mohajeri, D. (2014). Preventive Effects of Green Tea Extract from Hepatic Steatosis in the Rats Fed with High Fat Diet. *Journal of Rafsanjan University of Medical Sciences*, 13(2): 125-140. [In Persian]
- Asadi, S., Zamiri, A., Ezzati, S., Parsaei, P., Rafieian, M. and Shirzad, F. (2011). Effect of alcoholic extract of green tea (*Camellia sinensis*) on the healing process in surgical and burn wounds in rats. *Journal of Birjand University of Medical Sciences*, 18(1): 1-9. [In Persian]
- Azam, S., Hadi, N., Khan, N.U. and Hadi, S.M. (2004). Proxidiantproeprerty of green tea polyphenols, epicatechin and epicatechin-3-gallate: implications of anticancer properties. *Journal of Toxicology in Vitro*, 18(5): 555-561.
- Choi, S.J., Park, S.Y., Park, J.S., Park, S.K. and Jung, M.Y. (2016). Contents and compositions of policosanols in green tea (*Camellia siensis*) leaves. *Journal of Food Chemistry*, 204(1): 94-101.
- Chobot, V., Huber, CH., Trettenhahn, G. and Hadacek, F. (2009). Catechin: Chemical Weapon, Antioxidant, or Stress Regulator. *Journal of Chemical Ecology*, 35(8): 980-96.
- Crespy, V. and Williamson, G. (2004). A review of the health effects of green tea catechins in in vivo animal models. *Journal of Nutrition*, 134(12): 3431-40.
- Dikmen, A., Ergenoglu, A.M., Yeniel, A.O., Dilsiz, O.Y., Ercan, G. and Yilmaz, H. (2012). Evaluation of glycemic and oxidative/antioxidative status in the estradiol valerate-induced PCOS model of rats. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, 160(1): 55-59.
- Duleba, AJ. (2012). Medical management of metabolic dysfunction in PCOS. *Journal of Steroids*, 77(4): 306-11.
- Gadkari, PV. and Balaraman, M. (2015). Green tea: Sources, extraction and encapsulation: A review. *Journal of Food and Bioproducts Processing*, 93(1): 122-38.
- Ghafurniyan, H., Azarnia, M., Nabiuni, M. and Karimzadeh, L. (2015). The effect of green tea extract on reproductive improvement in estradiol valerate – induced polycystic ovarian syndrome in rat. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 14(4): 1215-1233.
- Goswami, PK., Khale, A., and Ogale, S. (2012). Natural remedies for polycystic ovarian syndrome (PCOS). A review. *International Journal of Pharmaceutical and Phytopharmacological Research*, 1(6): 396-402.
- Hasegawa, R., Chujo, T., Sai-Kato, K., Umemura, T., Tanimura, A. and Kurokawa, Y. (2000). Preventive effects of green tea against liver oxidative DNA damage and hepatotoxicity in rats treated with 2-intropropane. *Journal of Food and Chemical Toxicology*, 33(11): 961-70.
- Ishii, T., Mori, T., Tanaka, T., Mizuno, D., Yamaji, R., Kumazawa, SH., et al. (2008). Covalent modification of proteins by green tea polyphenol- epigallocatechin-3-gallate through autoxidation. *Journal of Free Radical Biology and Medicine*, 45(1): 1384-94.
- Katiyar, S., Elmetsa, CA. and Katiyar, SK. (2007). Green tea and skin cancer: Photoimmunology, angiogenesis and DNA repair. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 18(5): 287-96.
- Lambert, JD. and Elias, RJ. (2010). The antioxidant and prooxidant activities of green tea polyphenols: a role in cancer prevention. *Archives of Biochemistry and Biophysics Journal*, 50(1): 65-72.
- Malhotra, N., Gongdashetti, K., Daha, R. and Singh, N. (2014). Oxidative stress biomarkers in follicular fluid of women with PCOS and tubal factor infertility-is there a correlation with in-vitro-fertilization outcome. *International Journal of Fertility and Sterility*, 102(3): 86-87.
- Mohajeri, D., Doustar, Y. and Rahmani, J. (2011). Antioxidant activity of Green tea extract against Isoniazid induced hepatotoxicity in the rats. *Journal of Veterinary Clinical Pathology*, 5(18): 1221-1231. [In Persian]
- Montazeri, H., Safavi, M., Ebrahim - Habibi, A. and Yaghmaei, P. (2018). The effects of Betanin of Beetroot in ploy cystic ovary syndrome induced rat. *Journal of Medicinal Plants*, 17(68): 74-81. [In Persian]

- Naderpoor, N., Shorakae, S., de Courten, B., Misso, M.L., Moran, L.J. and Teede, H.J. (2015). Metformin and lifestyle modification in polycystic ovary syndrome: systematic review and meta-analysis. *Journal of Human Reproduction Update*, 21(5): 560-74.
- Norouzi, T., Ghatreh Samani, K., Amini, S.A., Jafarzadeh, L. and Mardani, G. (2016). Compare the effects of atorvastatin and omega-3 on index of lipid oxidation in patients with polycystic ovary syndrome. *Journal of Shahrekord University of Medical Sciences*, 18(1): 36-44. [In Persian]
- Rasoulifard, M. and Zargari, F. (2015). The effect of aqueous extract of white tea on serum antioxidant enzymes in rats exposed to arsenic. *Journal of Veterinary Clinical Pathology*, 9(34): 153-161. [In Persian]
- Sabuncu, T., Vural, H. and Harma, M. (2001). Oxidative stress in polycystic ovary syndrome and its contribution to the risk of cardiovascular disease. *Journal of Clinical Chemistry*, 34(5): 407-13.
- Sadat Khorsandi, L., Javadnia, F., Orazizadeh, M. and Abdolahi, M. (2010). Effect of green tea (*Camellia sinensis* L.) extract on acetaminophen induced acute hepatotoxicity in mice. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, 26(1): 22-9. [In Persian]
- Senanayake, S.P.J.N. (2013). Green tea extract: Chemistry, antioxidant properties and food applications. A review. *Journal of Functional Foods*, 5(4): 1529-41.
- Shariatzadeh, MA. and Mohammadi, M. (2015). Protective role of green tea (*Camellia sinensis*) hydroalcoholic extract on sperm parameters and testicular tissue in NMRI mice exposed to sodium arsenite. *Journal of Birjand University of Medical Sciences*, 21(4): 432-43. [In Persian]
- Tahmasebi, F., Movahedin, M. and Mazaheri, Z. (2015). Poly Cystic Ovary Model as an Elevated Oxidative Stress Factor. *Journal of Mazandaran University of Medical Sciences*, 25(127): 82-91. [In Persian]