

مقاله پژوهشی

بررسی اثر تیمول در سندرم تخمدان پلی‌کیستیک القاء شده در موش صحرایی

سارا حجت جلالی^۱، پریچهر یغمایی^{۱*}، آزاده ابراهیم حبیبی^{۲،۳}، نسیم حیاتی رودباری^۱

۱- گروه زیست‌شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲- مرکز تحقیقات بیوسنسور، پژوهشکده علوم سلولی- مولکولی غدد و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۳- مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم، پژوهشکده علوم بالینی غدد و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

*مسئول مکاتبات: yaghmaei_p@yahoo.com

DOI: 10.22034/ascij.2022.1950084.1357

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۴/۱۸

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۰/۲۷

چکیده

سندرم تخمدان پلی‌کیستیک (PCOS)، یکی از شایع‌ترین اختلالات اندوکرینیاتی در زنان می‌باشد و از مهم‌ترین عواملی محسوب می‌شود که منجر به ناباروری می‌شود. تیمول دارای اثرات ضد میکروبی و ضدقارچی فراوان می‌باشد. هدف از این مطالعه بررسی اثر تیمول در درمان رت‌های مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک می‌باشد. این مطالعه تجربی بر روی رت‌های ماده از نژاد ویستار صورت گرفت و حیوانات به ۳ گروه: کنترل، شاهد (شم)، تجربی تقسیم شده بودند. جهت القای PCOS، استرادیول- والرات به میزان ۴۰ میلی‌گرم در ۴ میلی‌لیتر بصورت داخل عضلانی در ۲ گروه شاهد و تجربی به مدت ۲۵ روز تزریق شد. سپس به مدت ۴ هفته، گروه شاهد و گروه تجربی به ترتیب روغن هسته‌ی انگور، تیمول به میزان ۱۲ میلی‌گرم/کیلوگرم را به میزان ۱ سی‌سی از طریق گاواژ دریافت کردند. در نهایت حیوانات را توسط اثر بیهوش کرده، تخمدان‌ها جهت بررسی‌های هیستولوژیکی خارج گردیدند و سرم خون نیز برای بررسی پارامترهای خونی جدا گردید. یافته‌های این مطالعه بیانگر آن است که در گروه دریافت‌کننده تیمول، افزایش در تعداد فولیکول‌های اولیه ($p < 0/01$)، در حال رشد و جسم زرد ($p < 0/05$)، گراف ($p < 0/001$) و کاهش کیست‌ها ($p < 0/001$) نسبت با گروه شاهد مشاهده شد. در بررسی پارامترهای خونی مشخص شد که در گروه دریافت‌کننده تیمول، کاهش هورمون LH ($p < 0/01$) و افزایش هورمون FSH ($p < 0/01$) نسبت با گروه شاهد مشاهده شد. نتایج تحقیق نشان داد که احتمالاً ترکیب تیمول می‌تواند در درمان بیماران مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک موثر باشد که هرچند این مورد نیازمند مطالعات بیشتری می‌باشد.

کلمات کلیدی: سندرم تخمدان پلی‌کیستیک، تیمول، استرادیول- والرات، رت.

مقدمه

شده است (۱۷). این سندرم در حدود ۸۲ درصد از زنان با هایپراندرژنیسم و در ۷۵ درصد از زنان نابارور به علت فقدان تخمک‌گذاری دیده می‌شود (۱۶). منشاء و علت سندرم تخمدان پلی‌کیستیک هنوز

سندرم تخمدان پلی‌کیستیک (PCOS) یک اختلال آندوکرینی پیش‌رونده می‌باشد که در آن تعادل دقیق محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-آدرنال/تخمدان مختل و منجر به واماندگی ساز و کار چرخه‌ی تولید مثلی

همچنین با افزایش و تکثیر ماکروفاژها، پاسخ ایمنی را بهبود می‌بخشد. بعلاوه تیمول موجود در گیاه آویشن، فعالیت ضدتجمعی داشته و قویا از چسبندگی پلاکت‌ها جلوگیری می‌کند و می‌تواند در پیشگیری از ترومبوز و آترواسکلروز موثر باشد (۷، ۲۱).

مطالعات محققان نشان می‌دهد که تیمول به صورت مولکول‌های کوچک و چربی‌دوست هستند که به راحتی می‌توانند از سد خونی- مغزی عبور کرده و اثرات خود را بر روی قسمت‌های مختلف مغز اعمال کنند، همینطور مشاهده شده است که تیمول، رادیکال-های آزاد مثل رادیکال پروکسیل، رادیکال‌های سوپر اکسید، پراکسید هیدروژن و نیتریک اکسید را در هر دو شرایط آزمایشگاهی و شرایط زنده به طور مؤثر خنثی می‌کند. تیمول فعالیت آنتی‌اکسیدانی از خود نشان می‌دهد و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها را به وجود عامل هیدروکسیل متصل به حلقه‌های آروماتیک آن نسبت می‌دهند. مشخصه‌ی اسیدی ضعیف تیمول، واکنش با رادیکال‌های آزاد را تسهیل می‌کنند (۸).

مطالعات *in-vitro* و *in-vivo* نشان می‌دهند که تیمول دارای خواص مختلف بیولوژیکی و دارویی مانند آنتی‌اکسیدان، ضدباکتری، ضدقارچی، ضدسرطان، ضدالتهابی، هپاتواستروئید، اسپاسمولیتیک و شل‌کننده عروق می‌باشند (۱۵).

لذا به علت اهمیت بیولوژیکی و دارویی تیمول، تمرکز این مطالعه بر روی ارزیابی دانش موجود در مورد اثرات حفاظتی و دارویی تیمول به عنوان یکی از ترکیبات اصلی گیاه آویشن در درمان سندرم تخمدان پلی‌کیستیک می‌باشد. در این پژوهش، بررسی اثر تیمول در درمان سندرم تخمدان پلی‌کیستیک القاء شده توسط استرادیول- والرات در رت‌های ماده از نژاد ویستار مورد بررسی قرار گرفت.

به طور کامل مشخص نیست و حتی نشانه‌های آن در نژادها و اقوام مختلف متفاوت می‌باشد (۴، ۱۵). احتمالا به نظر می‌رسد که این بیماری به صورت یک استعداد ژنتیکی در شخص وجود دارد و علائم آن بر اثر عوامل محیطی و شیوه‌ی زندگی فرد تشدید پیدا می‌کند. از جمله مهمترین عوامل محیطی، نمایه‌ی شاخص توده بدنی یا BMI است که با افزایش و کاهش آن علائم بیماری تشدید یا تخفیف پیدا می‌کند (۱۳). نقش مقاومت به انسولین در اتیولوژی سندرم پلی‌کیستیک تخمدان در چند سال اخیر توجه بیشتری را به خود جلب کرده است، زیرا داروهایی که مقاومت به انسولین را کاهش می‌دهند، غلظت آندروژن‌های خون را کاهش و تغییرات متابولیک ایجاد شده را تا حدودی اصلاح می‌کنند (۱۰).

اولین بار نئومان در سال ۱۷۲۵ میلادی، ماده‌ی موثره‌ی گیاه آویشن را کشف کرد و آن را *Camphre de Thyme* نامید و دانشمند دیگری بنام *Lallemande* در سال ۱۸۵۳ میلادی، نام این ماده را تیمول نهاد. از این زمان به بعد بررسی‌های زیادی بر روی اثر درمانی این گیاه به عمل آمد و از آن در معالجه‌ی بیماری‌های مختلف استفاده گردید (۶).

تیمول، ماده‌ای است که با داشتن ساختار فنلی دارای اثرات ضد میکروبی و ضدقارچی فراوان است (۳).

مکانیسم ضدباکتریایی تیمول به خاصیت آبگریزی آن‌ها برمی‌گردد که موجب نفوذ این مواد به فسفولیپیدهای غشاء باکتری و میتوکندری‌ها شده و سبب اختلال در ساختمان آن‌ها و افزایش نفوذپذیری می‌گردد. این مسئله باعث خروج و نشت یون‌ها و دیگر محتویات سلولی شده که در نهایت مرگ باکتری را در برخواهد داشت (۹، ۱۸، ۲۵).

این ماده دارای خصوصیات زیستی از قبیل: خاصیت ضدالتهاب، فعالیت آنتی‌تومورال، محافظت از کبد و اثرات آنتی‌اکسیدانی می‌باشد (۱۱).

مواد و روش‌ها

حیوانات مورد آزمایش: در این مطالعه از رت‌های ماده نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۰۰-۱۵۰ گرم استفاده شد که در قفس‌های مخصوص و تحت شرایط محیطی و درجه حرارت مطلوب تقریباً ۲۲ درجه سانتیگراد و سیکل روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعته و با مصرف آزاد غذا مخصوص رت‌ها (پلت) و آب نگه‌داری می‌شدند.

کلیدی مراحل کار با حیوان، مطابق منشور اخلاق در پژوهش دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، رعایت شد.

نحوه‌ی القاء در رت‌ها: در این پژوهش برای القاء فوتیپ سندرم تخمدان پلی‌کیستیک از روش القاء هورمونی استرادیول- والرات استفاده شد (۳۰). این دارو از شرکت ابوریحان ساخت کشور ایران تهیه شد. استرادیول- والرات با دوز ۴۰ میلی‌گرم در ۴ میلی‌لیتر به صورت خالص برای هر رت بر اساس وزن، در ناحیه‌ی کشاله‌ی ران در سطح شکمی به صورت داخل عضلانی و در مرحله‌ی استروس سیکل تولید مثلی، به مدت ۲۵ روز تزریق شد (۳۰). پس از حصول اطمینان از القاء PCOS، رت‌ها در ۳ گروه تقسیم‌بندی شدند. لازم به ذکر است که القاء سندرم پلی‌کیستیک تخمدان در گروه شاهد و تجربی صورت گرفته بود. گروه کنترل، گروه سالمی بودند که فقط آب و غذای معمولی دریافت کرده بودند و در هر گروه ۶ عدد رت وجود داشت. گروه کنترل که رت‌های سالمی بودند و گروه شاهد که روغن هسته‌ی انگور را به عنوان حلال تیمول به میزان ۱ سی‌سی از طریق گاوژ دریافت کرده بودند. گروه تجربی که تیمول خریداری شده از شرکت Sigma-Aldrich از کشور آلمان را با دوز ۱۲ میلی‌گرم در کیلوگرم حل شده در آب مقطر استریل به میزان ۱ سی‌سی برای هر رت به مدت ۴ هفته از طریق گاوژ دریافت کرده بودند.

نحوه انجام گاوژ در رت‌ها: نحوه‌ی انجام گاوژ به این صورت بود که لوله‌ی خرطوم‌ی مخصوص گاوژ را به جای سر سوزن به سرنگ انسولینی متصل شده و از آن برای خوراندن دارو به حیوانات استفاده شد. برای این کار، پوست ناحیه‌ی پشت گردن و گوش حیوان گرفته شد و حیوان به صورت قائم نگه داشته شد. این امر موجب شد که دهان حیوان باز و موش‌بی‌حرکت باشد و میله‌ی گاوژ در داخل دهان طوری قرار گرفت که وارد حلق شود. پس از پایان دوره‌ی تیمار، رت‌ها توسط اتر بیهوش شده و توسط جراحی، ناحیه‌ی سینه‌ای را شکافته و با استفاده از سرنگ ۵ سی‌سی از بطن چپ قلب آن‌ها خونگیری صورت گرفت و سپس توسط ساترئیفیوژ ۶ هزار دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه، سرم نمونه‌های خونی جداسازی شد و توسط کیت پیش‌تاز طب ساخت ایران، میزان هورمون‌های LH و FSH بر اساس دستور العمل‌های مربوطه اندازه‌گیری شد. لازم به ذکر است میزان گلوکز سرم نیز به صورت هفتگی توسط دستگاه گلوکومتر Star ساخت آلمان نیز اندازه‌گیری شد.

بررسی‌های بافتی: تخمدان‌ها برداشته شد و بلافاصله درون فیکساتور فرمالین قرار داده شد و پس از طی مراحل آب‌گیری، شفاف‌سازی، نفوذ پارافین، قالب‌گیری و برش‌گیری با رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین رنگ‌آمیزی شدند و مورد بررسی‌های هیستومورفومتريک قرار گرفتند. از لام‌های بدست آمده تعداد فولیکول‌های اولیه، فولیکول‌های در حال رشد، فولیکول گراف، جسم زرد و کیست‌ها توسط بزرگ‌نمایی ۴۰× در زیر میکروسکوپ نوری شمارش شدند و در نهایت با بزرگ‌نمایی ۲۰۰×، ۴۰۰× عکس‌برداری انجام گرفت.

آنالیز آماری: تمامی داده‌ها از طریق نرم‌افزار SPSS، با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه (one-way ANOVA)، تست Tukey بررسی گردیدند. نتایج به

صورت نمودار توسط نرم‌افزار Excel رسم گردیدند. لازم به ذکر است که نتایج به صورت میانگین و انحراف از معیار ارائه گردید. معیار استنتاج آماری ($p < 0/05$) در نظر گرفته شد.

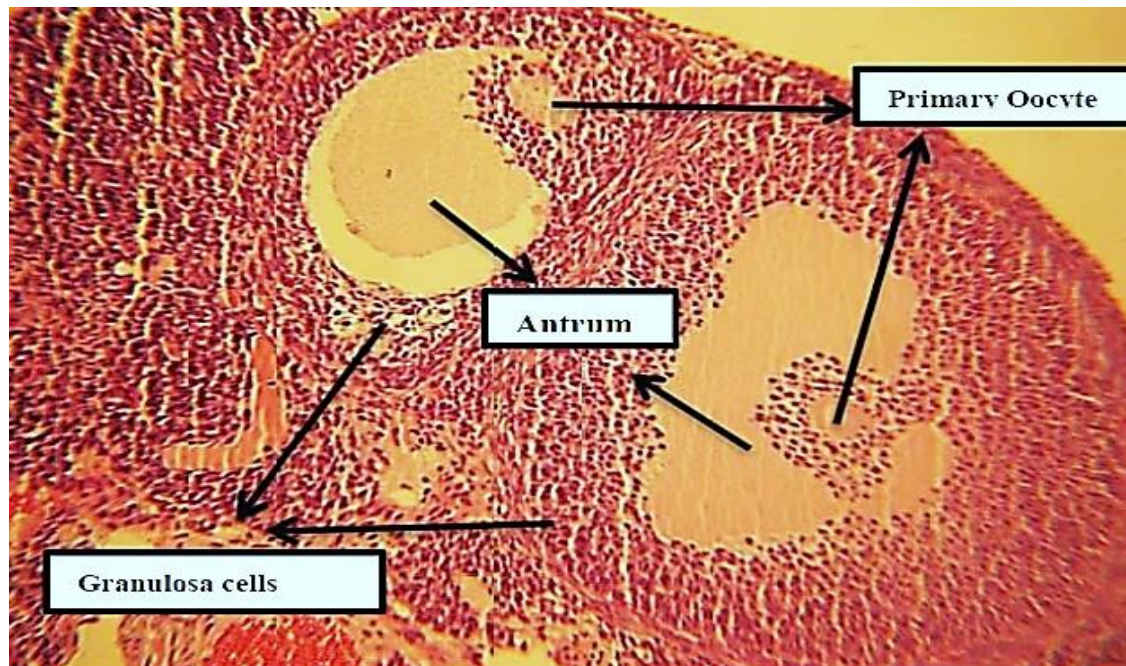
نتایج

در این پژوهش مشخص شد که تعداد فولیکول‌های اولیه در گروه تجربی دریافت‌کننده تیمول در مقایسه با گروه شاهد (شم) که روغن هسته‌ی انگور را به عنوان حلال تیمول دریافت کرده بودند، در سطح معنی‌داری ($p < 0/01$) افزایش یافت و در گروه شاهد در مقایسه با گروه کنترل در سطح معنی‌داری ($p < 0/001$) کاهش یافته بود. تعداد فولیکول‌های در حال رشد در گروه تجربی در مقایسه با گروه شاهد، در سطح معنی‌داری ($p < 0/05$) افزایش یافت و در گروه شاهد در مقایسه با گروه کنترل در سطح معنی‌داری ($p < 0/001$) کاهش یافته بود. تعداد فولیکول‌گراف در گروه تجربی در مقایسه با گروه شاهد که روغن هسته‌ی انگور را به عنوان حلال تیمول دریافت کرده بودند، در سطح معنی‌داری ($p < 0/001$) افزایش یافت و در گروه شاهد در مقایسه با گروه کنترل در سطح معنی‌داری ($p < 0/001$) کاهش یافته بود. تعداد کیست‌ها در گروه تجربی در مقایسه با گروه شاهد در سطح معنی‌داری ($p < 0/001$) کاهش یافته بود. در گروه شاهد در مقایسه با گروه کنترل که فاقد کیست بود، دارای اختلاف معنی‌داری در سطح $p < 0/001$ بود (نمودار ۱، شکل ۱ و ۲). نتایج حاصل از

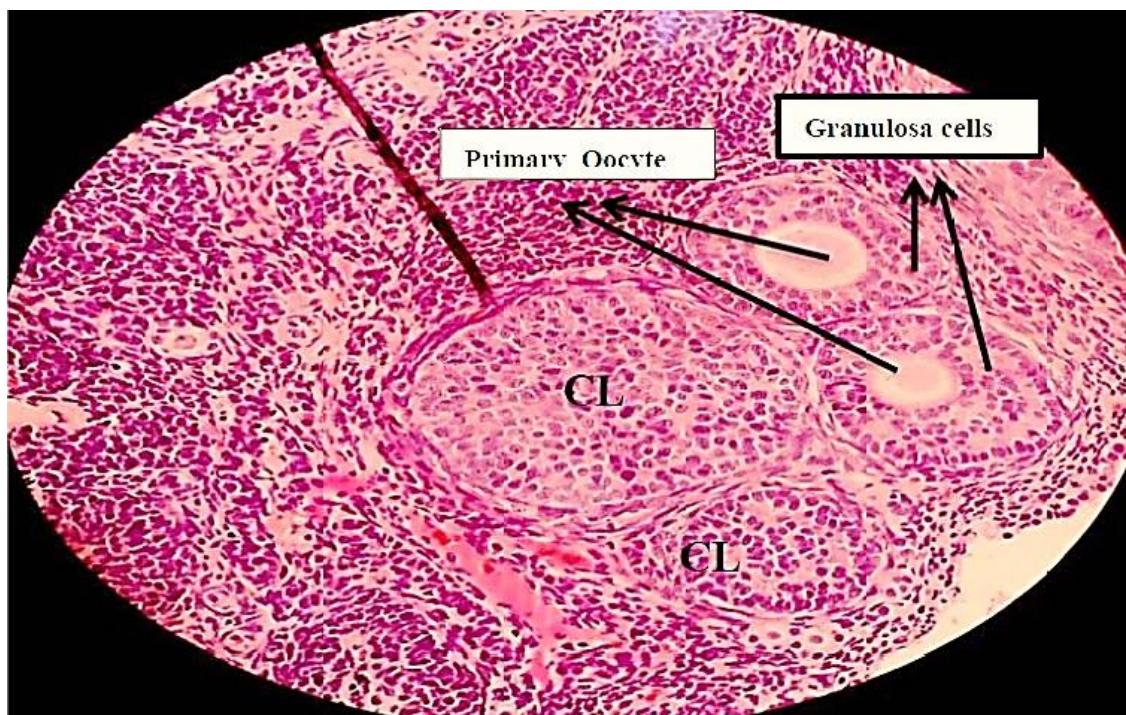
مقایسه‌ی سطح هورمون LH در گروه تجربی با گروه شاهد حاکی از کاهش معنی‌دار در سطح $p < 0/01$ بود و همچنین مقایسه‌ی میزان این هورمون در گروه شاهد در مقایسه با گروه کنترل افزایش معناداری در سطح $p < 0/001$ داشته بود، نتایج حاصل از مقایسه‌ی سطح هورمون FSH در گروه تجربی با گروه شاهد حاکی از افزایش معنی‌دار در سطح $p < 0/01$ بود و همچنین مقایسه‌ی میزان این هورمون در گروه شاهد در مقایسه با گروه کنترل کاهش معناداری را در سطح $p < 0/001$ نشان می‌دهد (نمودار ۲).

در بررسی قند خون به صورت هفتگی مشخص شد که در چهار هفته‌ی اول آزمایش پس از تزریق استرادیول- والرات در گروه‌های دریافت‌کننده‌ی استرادیول- والرات، میزان گلوکز در هفته‌ی اول و دوم پس از تزریق، در سطح معنی‌داری $p < 0/01$ در مقایسه با گروه کنترل، افزایش یافته و در هفته‌ی سوم و چهارم این افزایش در سطح $p < 0/001$ نیز معنی‌دار بود. در چهار هفته‌ی دوم آزمایش که گاوآژ صورت گرفته بود، میزان گلوکز در گروه شاهد در هفته‌ی ۸-۵ در مقایسه با گروه کنترل در سطح معنی‌داری $p < 0/001$ افزایش یافته بود. در گروه تجربی دریافت‌کننده‌ی تیمول، میزان گلوکز خون در مقایسه با گروه شاهد در هفته‌ی ۵ در سطح معنی‌داری $p < 0/05$ کاهش یافته بود و همچنین در هفته‌ی ۸-۶ در سطح معنی‌داری $p < 0/01$ کاهش یافته بود (نمودار ۳).

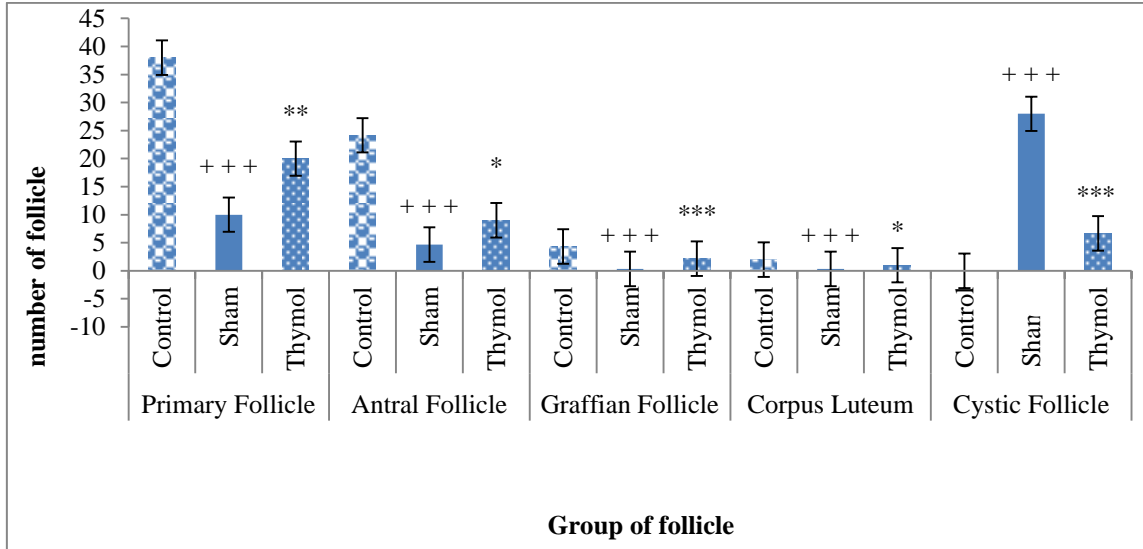
با توجه به نتایج حاضر، بنظر می‌رسد که روغن هسته‌ی انگور به عنوان حلال ترکیب تیمول، تأثیری در بهبود علائم ناشی از سندرم تخمدان پلی‌کیستیک نخواهد گذاشت.



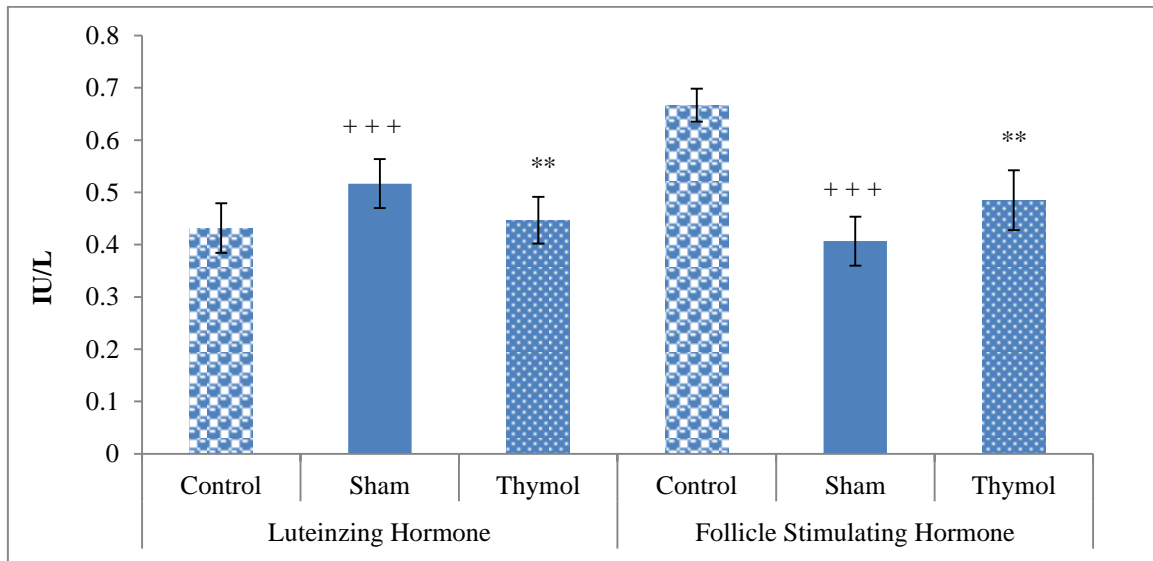
شکل ۱- فتومیکروگراف برش عرضی قسمتی از مقطع بافت تخمدان رت از گروه کنترل. در این تصویر فولیکول گراف و فولیکول در حال رشد و بخش‌های مختلف آن‌ها از جمله ائوسیت اولیه (Primary Oocyte)، حفره آنتروم (Antrum)، سلول‌های گرانولوزا (Granulosa cells) قابل مشاهده می‌باشند. رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین، میکروسکوپ نوری، بزرگنمایی ۲۰۰×



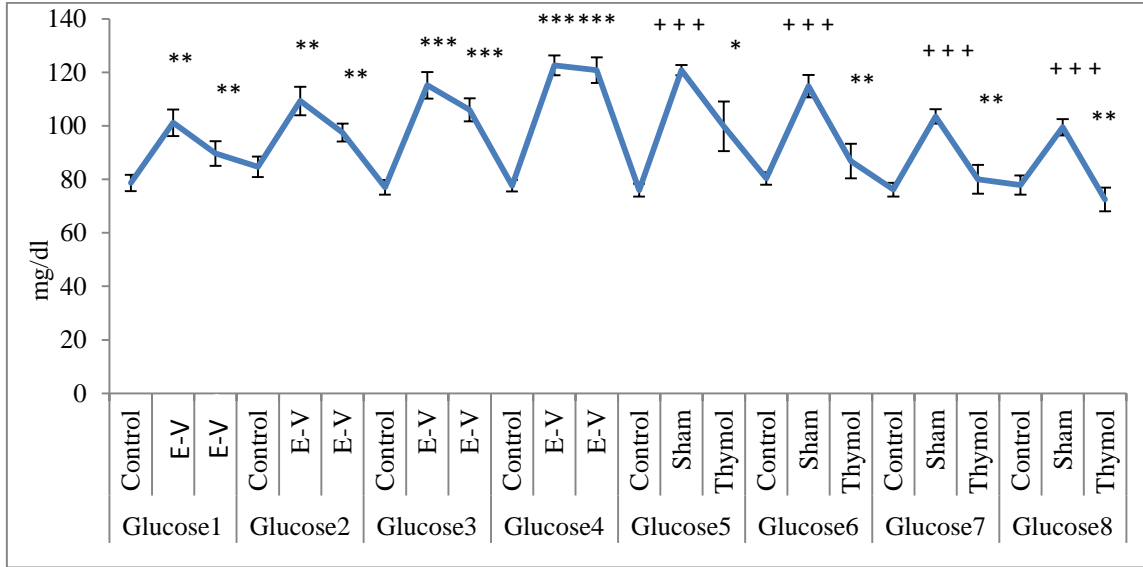
شکل ۲- فتومیکروگراف برش عرضی قسمتی از مقطع بافت تخمدان رت از گروه تجربی تیمار شده توسط تیمول. در این شکل جسم زرد (CL: Corpus Luteum) نشان داده شده است به همراه فولیکول‌های اولیه (PF: Primary follicle) نشان داده شده به همراه بخش‌های مختلف آن از جمله سلول‌های گرانولوزا و ائوسیت اولیه قابل مشاهده می‌باشند (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین، بزرگنمایی ۲۰۰×)



نمودار ۱- مقایسه تعداد فولیکول‌های اولیه، در حال رشد، فولیکول گراف، جسم زرد و فولیکول‌های کیستی در گروه شاهد (شم) با گروه کنترل که (علامت +) و گروه تجربی دریافت کننده تیمول با گروه شاهد (علامت *) مشخص شده است. اختلاف معنی‌دار گروه شاهد با گروه کنترل ($p < 0/05$), ++ ($p < 0/01$), +++ ($p < 0/001$), اختلاف معنی‌دار گروه تجربی دریافت کننده تیمول با گروه شاهد. (* $p < 0/05$), ** ($p < 0/01$), *** ($p < 0/001$)



نمودار ۲- مقایسه میزان سطح هورمون LH و FSH در گروه شاهد (شم) با گروه کنترل (علامت +) و گروه تجربی دریافت کننده تیمول با گروه شاهد (علامت *). اختلاف معنی‌دار گروه شاهد با گروه کنترل ($p < 0/05$), + ($p < 0/01$), ++ ($p < 0/001$)، اختلاف معنی‌دار گروه تجربی تیمول با گروه شاهد (* $p < 0/05$), ** ($p < 0/01$), *** ($p < 0/001$)



نمودار ۳- مقایسه میزان گلوکز خون در ۴ هفته‌ی اول آزمایش پس از تزریق استرادیول- والرات (E-V) در هر ۲ گروه دریافت کننده‌ی استرادیول- والرات با گروه کنترل

بحث

۰/۲ میلی‌لیتر روغن ذرت استفاده کردند و پس از مدت ۶۰ روز مشاهده کردند که فولیکول‌های کیستی در تخمدان رت‌ها ایجاد شده و آن‌ها دچار سندرم تخمدان پلی‌کیستیک شده بودند (۳۰).

در پژوهش حاضر نیز با تزریق استرادیول- والرات به میزان ۴۰ میلی‌گرم در ۴ میلی‌لیتر بصورت خالص، پس از مدت ۲۵ روز کیست‌های تخمدان قابل مشاهده بودند. در این پژوهش، میزان دوز استرادیول- والرات را بصورت خالص بالا برده و در نتیجه در مدت زمان زودتر کیست‌های تخمدان ایجاد شد در نتیجه، یافته‌های فوق، نتایج پژوهش حاضر را تایید می‌نماید. در نتایج تحقیق بدست آمده مشاهده شد که میزان گلوکز سرم در گروه‌های دریافت کننده‌ی استرادیول- والرات، افزایش یافته بود ($p < 0/001$)، دلیل این واقعه احتمالاً به این صورت می‌باشد که با توجه به اینکه استرادیول از طریق گیرنده‌های استروژنی به ویژه گیرنده‌ی استروژنی آلفا، میزان انسولین و گلوکز سرم را تنظیم می‌کند، در زمانی که

سندرم تخمدان پلی‌کیستیک یکی از بیماری‌های مهم زنان در سنین باروری بوده و درمان قطعی برای این بیماری وجود ندارد. اخیراً مطالعاتی در مورد درمان‌هایی بر پایه مواد موثره‌ی گیاهی بخصوص آنتی‌اکسیدان‌ها صورت گرفته است (۲، ۳، ۱۲، ۲۶).

در پژوهش حاضر، فنوتیپ سندرم تخمدان پلی‌کیستیک توسط استرادیول- والرات در مدل حیوانی ایجاد شد و اثر ترکیب تیمول به عنوان ماده موثره‌ی گیاه آویشن و همچنین یک ترکیب آنتی‌اکسیدان در درمان این سندرم بررسی شد.

در پژوهش‌های دیگری، برای القاء PCOS در رت‌ها از تزریق داخل عضلانی استرادیول- والرات به میزان ۴ میلی‌گرم در ۰/۲ میلی‌لیتر روغن استفاده کردند و پس از مدت ۳۰ روز مشاهده کردند که رت‌ها دچار PCOS شده‌اند (۲۲، ۲۷، ۲۸).

ظفری زنگنه و همکاران در سال ۲۰۱۰ نیز در پژوهش خود برای القاء PCOS در رت‌ها از تزریق داخل عضلانی استرادیول- والرات به میزان ۴ میلی‌گرم در

کاهش هورمون LH شده است که عصاره‌ی بابونه به خاطر داشتن ترکیب فلاونوئیدی این بهبودی را حاصل کرده بود (۳۰).

با توجه به نتایج بدست آمده در پژوهش ما، تیمول نیز به عنوان یک ترکیب فلاونوئیدی منجر به کاهش کیست‌ها و افزایش فولیکول‌های غالب شده بود. نتایج مطالعات Sakai در سال ۲۰۰۱ و Arabbi در سال ۲۰۰۴ نشان دادند که فلاونوئیدها باعث کاهش قند پلاسما می‌شوند (۵، ۲۴).

در سال ۲۰۰۲، Sabu و همکارانش با آزمایشی که بر روی پلی فنل‌های چای سبز انجام دادند بیان کردند که این ترکیبات باعث مهار پراکسیداسیون چربی و سوپراکسید رادیکال‌ها و کاهش گلوکز سرم در موش‌های دیابتی می‌شود (۲۳).

همچنین در آزمایشی که توسط Lo Piparo و همکاران در سال ۲۰۰۸ انجام شد مشخص شد که ترکیبات گیاهی با جرم مولکولی پایین و ترکیبات پلی‌فنولی چای سبز، آلفا آمیلاز را کاهش و هایپرگلاسمیا را بعد از غذا کاهش می‌دهند. در این تحقیق اثر مهار فلانوئیدها بر آلفا آمیلاز را بررسی کرده‌اند و مشخص شده که این ترکیبات موجب کاهش قند خون می‌شوند (۲۰).

در سال ۲۰۱۲، Kemertelidze و همکارانش تحقیقی بر روی تاثیر سبزیجات خانگی برای درمان دیابت ملیتوس نوع ۲ انجام دادند. این تحقیق بر روی برگ مرزه صورت گرفت. این برگ حاوی تیمول و کارواکول می‌باشد. بررسی‌های دارویی که روی عصاره مرزه در حیوانات سالم و حیواناتی که توسط استرپتوزوتوسین دیابتی شدند صورت گرفت نشان داد که این عصاره به طور معناداری موجب کاهش سطح قند خون می‌شود و در درازمدت این اثر محفوظ می‌ماند (۱۹). در مجموع نتایج ما، یافته‌های فوق را تایید می‌کند.

استرادیول به صورت چه آگزوژن چه آندوژن بیش از سطح فیزیولوژی بدن اعمال اثر کند، گیرنده‌های استروژنی بیش از حد تحریک می‌شود، سیگنال‌های غیرطبیعی انسولینی به راه می‌افتد که نتیجه‌ی آن هایپراینسولینمیا و مقاومت به انسولین و بدنبال آن ابتلا به دیابت ملیتوس نوع ۲ می‌باشد (۱۳).

از طرفی هایپراینسولینمیا، باعث هایپرآندروژنیسم می‌شود و احتمالاً به نظر می‌رسد هایپرآندروژنیسم، فیدبک منفی استروژن را روی هورمون LH مهار کند که این امر باعث افزایش هورمون LH می‌شود (۱۱). از طرفی افزایش هورمون LH به عنوان عاملی است که منجر به اختلال در اوولاسیون و بدنبال آن آزاد نشدن تخمک در زمان مقرر، احتباس مایع فولیکولی در فولیکول‌های تخمدان و در نهایت تشکیل کیست را به همراه خواهد داشت (۶).

در بیماران مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک، مقدار هورمون LH در حال گردش و نسبت LH/FSH در مقایسه با گروه کنترل که گروه سالمی هستند، افزایش پیدا می‌کند. تغییرات هورمونی در مراحل انتهایی رشد و بلوغ فولیکول، موجب تشکیل کیست در تخمدان می‌شود (۲۹، ۳۱).

در این پژوهش، بنابر نمودار ۲ در گروه شاهد، افزایش هورمون LH و کاهش هورمون FSH در مقایسه با گروه کنترل قابل مشاهده است که حاکی از تشکیل کیست تخمدان می‌باشد. تحقیق حاضر مشخص کرد که تیمار توسط تیمول به مدت ۴ هفته از طریق گاوژ به رت‌هایی که توسط استرادیول-والرات دچار سندرم تخمدان پلی‌کیستیک شده بودند، کاهش هورمون LH ($p < 0/01$) و افزایش هورمون FSH ($p < 0/01$) در مقایسه با گروه شم، شده بود. در آزمایشی که توسط ظفری زنگنه و همکاران در سال ۲۰۱۰ انجام شد و مشخص گردید که عصاره‌ی بابونه باعث بهبود علائم بافتی تخمدان پلی‌کیستیک و

2. Al-kataan M.A., Ibrahim M.A., Al-jammas M.H.H., Shareef Y.S., Sulaiman M.A. 2010. Serum Antioxidant Vitamins Changes in Women with Polycystic Ovarian Syndrome. *Journal of the Bahrain Medical Society*, 22(2):68-71

3. Amini L., Tehranian N., Movahedin M., Ramezani-Tehrani F., Soltanghorae H., 2016. Polycystic ovary morphology (PCOM) in estradiol valerate treated mouse model. *International Journal of Women's Health and Reproduction Sciences*, 4(1): 7-13.

4. Andersen A. 2006. Final report on the safety assessment of sodium p-chloro-m-cresol, p-chloro-m-cresol, chlorothymol, mixed cresols, m-cresol, o-cresol, p-cresol, isopropyl cresols, thymol, o-cymen-5-ol, and carvacrol. *International Journal of Toxicology*, 25(2):29-127.

5. Arabbi P.R., Genovese M.I., Lajolo F.M. 2004. Flavonoidis in vegetable foods commonly consumed in Brazil and estimated ingestion by the Brazillian population. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 52(5):1124-1131.

6. Arya B.K., Haq A.U., Chaudhury K. 2012. Oocyte quality reflected by follicular fluid analysis in poly cystic ovary syndrome (PCOS): a hypothesis based on intermediates of energy metabolism. *Medical Hypotheses*, 78(4):475-480.

7. Asgari S., Ani M., Naderi G.H., Safari M.R., Mirzaalian A. 2001. Oxidized-LDL affinity for LDL receptor is increased in the presence of flavonoids. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 33(6):17-20.

8. Aybastier Ö., Dawbaa S., Demir C., Akgün O., Ulukaya E., Arı F. 2018. Quantification of DNA damage products by gas chromatography tandem mass spectrometry in lung cell lines and prevention effect of thyme antioxidants on oxidative induced DNA damage. *Mutation Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 808: 1-9.

با توجه به این که ابتلا به بیماری‌های قلبی-عروقی، دیابت ملیتوس از اختلالات متابولیکی ناشی از PCOS می‌باشد و افزایش گلوکز به نوبه‌ی خود از جمله فاکتورهایی می‌باشد که ریسک ابتلا به این بیماری‌ها را افزایش می‌دهد.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج پژوهش حاضر، تیمول به عنوان ترکیب فلاونوئید عصاره‌ی گیاه آویشن احتمالاً منجر به کاهش ریسک ابتلا به اختلالات متابولیکی ناشی از سندرم تخمدان پلی‌کیستیک شده، از طرف دیگر ترکیباتی که منجر به کاهش سطح گلوکز سرم می‌شوند باعث بهبود هایپراندرژیسم شده که نتیجه‌ی آن بهبود مکانیسم اوولاسیون می‌باشد از طرفی تیمول منجر به کاهش هورمون LH شده و باعث بهبود علائم بافتی تخمدان در سندرم تخمدان پلی‌کیستیک شده بود.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان نامه برای اخذ درجه کارشناسی ارشد بوده است که در دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران و با همکاری و مساعدت مرکز تحقیقات غدد درون ریز و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی تهران به تحریر درآمده است. از جناب آقای فریدون حجت جلالی که مسئولیت انجام آزمایشات مربوط به پارامترهای خونی را به عهده گرفتند کمال سپاس و تشکر را داریم.

منابع

1. Abdul-Latif M.H., Mahmood A.K., Abayaji M.A. 2012. Adsorption of Thymol from aqueous solution using granulated surfactant initiated modified bentonite via packed column method. *Ibn AL-Haitham Journal for Pure and Applied Science*, 25(1):266-282.

of hirsutism: a consensus statement by the Androgen Excess and Polycystic Ovary Syndrome Society. *Human Reproduction Update*, 18(2):146-170.

18. Imaida K., Fukushima S., Shirai T., Ohtani M., Nakanishi K., Ito N. 1983. Promoting activities of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene on 2-stage urinary bladder carcinogenesis and inhibition of γ -glutamyl transpeptidase-positive foci development in the liver of rats. *Carcinogenesis*, 4(7):895-899.

19. Kemertelidze E., Sagareishvili T., Syrov V., Khushbaktova Z., Tsutskiridze L., Kurashvili R., 2012. Saturin - effective vegetative remedy in treatment of type 2 diabetes mellitus. *Georgian Medical News*, 203:47-52.

20. Lo Piparo E., Scheib H., Frei N., Williamson G., Grigorov M., Chou C.J. 2008. Flavonoids for controlling starch digestion: structural requirements for inhibiting human alpha-amylase. *Journal of Medicinal Chemistry*, 51(12):3555-3556.

21. Nostro A., Roccaro A.S., Bisignano G., Marino A., Cannatelli M.A., Pizzimenti F.C. 2007. Effects of *oregano, carvacrol* and *thymol* on *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* biofilms. *Journal of Medical Microbiology*, 56(4): 519-523.

22. Ouladsahebmadarek E., Khaki A., Farzadi L., Zahedi A. 2013. Nutrition with polyunsaturated fatty acid and lower carbohydrate diet has controlled polycystic ovarian syndrome, on poly cystic ovarian (PCO) induces rats. *Life Science Journal*, 10(1):1171-1175.

23. Sabu M.C., Smith K., Kuttan R. 2002. Antidiabetic activity of green tea polyphenol. *Journal of Ethnopharmacology*, 83(1-2):109-116.

24. Sakai I., Izumi S.I., Murano T., Okuwaki S., Makino T., Suzuki T. 2001. Presence of aldose reductase inhibitors in

9. Burt S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods a review, *International Journal Food Microbiology*, 94(3):223-253.

10. Brower M., Brennan K., Pall M., Azziz R., 2013. The severity of menstrual dysfunction as a predictor of insulin resistance in PCOS. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 98(12):15-28.

11. Chang R.J. 2007. The Reproductive Phenotype in Polycystic Ovary Syndrome: The Role of Androgens and Insulin in Hirsutism. *Nature Clinical Practice, Endocrinology and Metabolism*, 3(10):688-698.

12. Clifford T., Constantinou C.M., Keane K.M., West D.J., Howatson G., Stevenson E.J. 2017. The plasma bioavailability of nitrate and betanin from *Betavulgaris rubra* in humans. *European Journal of Nutrition*, 56 (3):1245-1254.

13. Dahan M.H., Morris D.V. 2013. The impact of body mass index (BMI) on the incidence of type 2 diabetes (DMII) in women with and without polycystic ovary syndrome (PCOS). *Fertility and Sterility*, 100(3): 348-349.

14. Ding E.L., Song Y., Manson J.E., Buring J.E., Liu S. 2007. Plasma sex steroid hormones and risk of developing type 2 diabetes in women: a prospective study. *Diabetologia*, 50(10): 2076-2084.

15. Dumesic D.A., Schramm R.D., Abbott D.H., 2005. Early origins of polycystic ovary syndrome (PCOS). *Reproduction, Fertility and Development*, 17(3):349-360.

16. Ehrmann D.A. 2005. Polycystic ovary syndrome. *The New England Journal of Medicine*, 352(12):1223-1236.

17. Escobar-Morreale H.F., Carmina E., Dewailly D., Gambineri A., Kelestimur F., Moghetti P., Pugeat M., Qia J., Wijeyaratne C.N., Witchel S.F., Norman R.J., 2012. Epidemiology, diagnosis and management

experimentally induced polycystic ovaries. *Biology of Reproduction*, 63(5):1497-1503.

29. Wu C., Wei K., Jiang Z. 2017. 5 α -reductase activity in women with polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 15(1): 21-30.

30. Zafari Zanganeh F., Minaee B., Amirzargar A., Ahangarpour A., Mousavizadeh K. 2010. Effects of chamomile extract on biochemical and clinical parameters in a rat model of polycystic ovary syndrome. *Journal of Reproduction and Infertility*, 11(3):169-174.

31. Zhang Y., Hu M., Meng F., Sun X., Xu H., Zhang J., Cui P., Morina N., Li X., Li W., Wu X.K., Brännström M., Shao R., Billig H. 2017. Metformin ameliorates uterine defects in a rat model of polycystic ovary syndrome. *EBioMedicine*, 18:157-170.

tea leaves. *Japanese Journal of Pharmacology*, 85(3):322-326.

25. Shareef Y.S., Sulaiman M.A. 2010. Serum Antioxidant Vitamins Changes in Women with Polycystic Ovarian Syndrome. *Journal of the Bahrain Medical Society*, 22(2):68-71.

26. Suntres Z.E., Coccimiglio J., Alipour M. 2015. The bioactivity and toxicological actions of *carvacrol*. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(3):304-318.

27. Stener-Victorin E., Kobayashi R., Watanabe O., Lundeberg T., Kurosawa M. 2012. Effect of electro-acupuncture stimulation of different frequencies and intensities on ovarian blood flow in anaesthetized rats with steroid-induced polycystic ovaries. 26:2-16.

28. Stener-Victorin E., Lundeberg T., Waldenstrom U., Manni L., Aloe L., Gunnarsson S., Janson P.O. 2000. Effects of electro-acupuncture on nerve growth factor and ovarian morphology in rats with

The Effect of Thymol on Rat with Polycystic Ovary Syndrome

Sara Hojat-Jalali¹, Parichehr Yaghmaei^{1*}, Azadeh Ebrahim-Habibi^{2,3}, Nasim Hayati-Roudbari¹

1. Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
2. Biosensor Research Center, Endocrinology and Metabolism Molecular-Cellular Sciences Institute, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
3. Endocrinology and Metabolism Research Center, Endocrinology and Metabolism Clinical Sciences Institute, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Abstract

Polycystic ovary syndrome (PCOS) is one of the most common endocrinopathy disorders in women and is one of the most important factors that lead to infertility. Thymol has many antimicrobial and antifungal effects. The aim of this study is to investigate the effect of thymol in the treatment of rats suffering from polycystic ovary syndrome (PCOS). This experimental study was conducted on female Wistar rats and the animals were divided into three groups: control, control (sham), and experimental. In order to induce PCOS, estradiol-valerate in the amount of 40 mg/4 ml was injected intramuscularly in 2 control and experimental groups for 25 days. Then, for 4 weeks, the control group and the experimental group were given grape seed oil, thymol in the amount of 12 mg/kg in the amount of 1 cc through gavage. Finally, the animals were anesthetized by ether, the ovaries were removed for histological examination, and the blood serum was separated to examine the blood parameters. The findings of this study indicate that in the group The recipient of thymol increased the number of primary follicles ($p < 0.01$), developing and corpus luteum ($p < 0.05$), grafts ($p < 0.001$) and reduced cysts ($p < 0.001$) compared to the group. A control was observed. In the examination of blood parameters, it was found that in the group receiving thymol, there was a decrease in LH hormone ($p < 0.01$) and an increase in FSH hormone ($p < 0.01$). It was observed with the control group. The results of the research showed that probably the composition of thymol can be effective in the treatment of patients with polycystic ovary syndrome, although this case requires more studies.

Keywords: Polycystic Ovary Syndrome, Thymol, Estradiol-Valerat, Rat.