فصلنامه فیزیولوژی و تکوین جانوری دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان
شماره پیاپی ۲۱، جلد ۶، شماره ۲،بهار۹۲، صفحه ۴۹تا ۵۶

بررسی تاثیر عصاره آبی- الکلی هسته زیتون(*Olive sativa*) بر میزان هورمون‌های گنادوتروپین و استروئیدهای تخمدانی در موش صحرایی ماده نابالغ

مختار مختاری[۱] ، علیرضا قنادی[۲]
۱- دانشگاه آزاداسلامی، واحدکازرون، دانشیار گروه زیست شناسی،کازرون. ایران.Mokhtar_Mokhtary@Yahoo.Com
۲- دانشگاه آزاداسلامی، واحدلارستان، مربی گروه پرستاری و مامایی،لارستان. ایران.

تاریخ دریافت: ۹۱/۱۱/۲۰ تاریخ پذیرش: ۹۱/۱۲/۱۵

چکیده

مقدمه و هدف:اثرات جانبی داروهای باروری محققان را بر آن داشته است تا در زمینه تأثیر داروهای گیاهی بر فرآیند تولید مثل، بررسی‌های مختلفی را انجام دهند. هدف از این مطالعه بررسی تأثیر عصاره آبی-الکلی هسته‌زیتون بر میزان هورمون‌های FSH،LH، استروژن و پروژسترون در جنس ماده بررسی شد.

رو ش کار: در این مطالعه‌تجربی۴۰ سرموش صحرایی ماده نابالغ از نژاد ویستار با اختلاف وزن کمتر از ده درصد و سن تقریبی ٤-٥ هفته در گروه‌های۱۰ تایی به شرح زیر تقسیم شدند.گروه‌کنترل: شامل۱۰ سر حیوان که در زمان آزمایش (۲۸روز) ماده خاصی دریافت نکرد.گروه شاهد: شامل۱۰سرحیوان بود که یک میلی لیترآب مقطر به عنوان حلال دارو به مدت۲۸ روز دریافت نمود.گروه‌های تجربی۱و۲ شامل۱ سر حیوان بود که عصاره هسته زیتون را به میزان۲۵۰و۵۰۰mg/kg به مدت۲۸روز به روش خوراکی دریافت کردند.از تمام حیوانات در پایان دوره آزمایش نمونه‌های خونی تهیه و میزان هورمون‌هایFSH،LH،استروژن و پروژسترون به روش RIA اندازه‌گیری و نتایج حاصله با استفاده از آزمون‌های آماری آنالیز واریانس یک طرفه به همراه آزمون تعقیبی توکی ارزیابی شدند (P<۰/۰۵).

یافته‌ها:غلظت سرمی هورمونLH درگروه‌های تجربی۱و۲ نسبت به گروه‌های کنترل و شاهد افزایش معنی‌داری را نشان داد.همچنین غلظت سرمی هورمونFSH،استروژن و پروژسترون در گروه تجربی ۲افزایش معنی‌داری نسبت به گروه‌های کنترل و شاهد نشان داد.

نتیجه‌گیری:با توجه به نتایج حاصله عصاره آبی-الکلی هسته زیتون باعث تشدید فعالیت محورهورمونی هیپوفیز-تخمدان وافزایش میزان هورمون‌های FSH،LH،استروژن و پروژسترون در موش‌صحرایی‌ماده نابالغ می‌شود.

واژه‌های کلیدی:هسته‌زیتون،FSH،LH،استروژن،پروژسترون.

مقدمه

تولید مثل در جنس ماده رویدادی است که به سازماندهی بالای ارتباطی میان همه اجزاء محور تولید مثلی نظیر مغز، غده هیپوفیز و تخمدان نیازمند است. سیستم‌های عصبی و هورمونی کنترل دقیقی را بر وقایع چرخه‌ای سیستم تولید مثلی اعمال می‌کنند(۱۵). تاحدود نیم قرن پیش گیاهان یکی ازمهم‌ترین منابع تامین دارو برای درمان دردها به‌شمار می‌آمدند. از طرفی امروزه ناباروری ومشکلات مربوط به آن به عنوان یکی از مسائل مهم در زندگی زوجین شناخته شده است(۳). مطالعات نشان می دهدعوامل متعددی می‌توانند در بروز ناباروری دخیل باشند. از میان این عوامل می‌توان به مصرف داروهای مخصوص شیمی درمانی، آنتی بیوتیک‌ها ،موادسمی، آفت کش‌ها، تشعشعات، استرس،آلودگی هوا و عدم دریافت کافی ویتامین‌ها اشاره نمود. مشخص شده است این عوامل می‌توانندبا ایجاد رادیکال‌های آزاد واکسیداسیون، سلول‌های ژرمینال را کاهش دهند(۱،۱۱). لزوم بررسی واقع بینانه‌ی طب سنتی وگیاهان دارویی از مدت‌ها قبل درجوامع علمی کشورمان احساس گردیده و در سال‌های اخیر به ضرورت بررسی اثرات گیاهان دارویی توجه بسیاری شده است. در گذشته از داروهای

گیاهی نه تنها در زمینه درمان ناباروری بلکه در تمام زمینه‌های طبی استفاده می‌گردید. زیتون گیاه بومی مناطق مدیترانه‌ای دارای ۲۳ جنس صنعتی یا زینتی است. تنها گونه‌های اولئا اروپئا و اولئا ساتیوادارای میوه‌های خوراکی هستند. زیتون درختی است همیشه سبز ومخصوص مناطق نیمه گرمسیری با عمر طولانی، ارتفاعی تا حدود ۵ متر یا اندکی بیشتر،دارای چوبی زرد رنگ می باشد. گونه اولئا اروپئا دارای برگ‌های سبز دائمی بیضوی شکل چرمی، گل‌های سفید کوچک، مجتمع، میوه آلویی شکل است. قسمت های مورد استفاده برگ‌ها، میوه،هسته و روغن زیتون است. در طب سنتی از زیتون برای درمان بیماری‌های افسردگی و تقویت غرائز جنسی استفاده شده است. شواهد نشان می-دهند هسته زیتون از جمله گیاهانی است که دارای ارزش دارویی بوده و از قدیم الایام مورد توجه بشر قرار گرفته است.گذشتگان بر این باور بودند میوه زیتون فعالیت‌های تولید مثلی را در انسان افزایش می‌دهد و از آن به منظور افزایش میل جنسی استفاده می‌کردند.هسته زیتون حاوی سیلیس،فسفر،پتاسیم،گوگرد،منیزیم،کلر و به مقدار فراوان کلسیم (که این میزان بیش از کلسیم موجود در شیر گاو (۱۲۲mg)می‌باشد. ترکیبات فنلی موجود در هسته زیتون به علت فعالیت آنتی اکسیدانی قادر است با حذف رادیکال‌های آزاد در محافظت در برابر پراکسیداسیون نقش داشته باشد(۹). پژوهش های رایانه ای نشان می‌دهد اطلاعات بسیارکمی دررابطه با تاثیرعصاره هسته زیتون برفرآیندتولیدمثل درجنس ماده در دسترس است. بنابراین یافتن مکانیسم عمل دقیق و اثر بخشی آن نیاز به تحقیقات وسیع‌تری دارد. هم‌چنین به دلیل فعالیت زیستی بسیارگسترده ومتنوع ترکیبات هسته زیتون که غالباً اثرات غیرسمی و بهبودی بخش را برسیستم‌های فیزیولوژیک اعمال می‌کنند می‌توان به تاثیر احتمالی عصاره هسته زیتون بر تقویت عملکرد تخمدان امیدوار بوده و اثرات احتمالی این دارو بر فعالیت هیپوفیز – تخمدان و فرآیند تخمک زائی می‌تواند بسیار مهم باشد. هدف از این تحقیق اثبات علمی نظریه تأثیر عصاره هسته زیتون بر میزان هورمون‌های محور هیپوفیز – تخمدان در موش صحرایی ماده نابالغ است تا در صورت تأثیراز آن در درمان ناباروری و تقویت فعالیت‌های تولید مثلی استفاده شود.

مواد و روش‌ها

حیوانات مورد آزمایش در این تحقیق موش‌های صحرایی ماده نابالغ از نژاد ویستار با وزن تقریبی ۹۰ تا ۱۰۰ گرم و سن ۴ هفته بود که از خانه حیوانات دانشگاه علوم پزشکی شیراز تهیه و به محل انجام آزمایش یعنی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون منتقل گردید. تعداد کل حیوانات در این آزمایش ۴۰ سر بود. موش ها پس ازتوزین در ۴ خزانه جداگانه قرار داده شدند. موش‌های موجود در هر گروه مجدداً وزن و با میانگین ۹۰gr در مطالعات بعدی مورد استفاده قرار گیرد. موش‌ها در دمای محیط $^{\circ}C$ ۲ ± ۲۲ در طول شبانه روز ثابت و دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی قرار داشته و آب و غذا بدون محدودیت در اختیار آن ها قرار گرفت. قفس‌ها از جنس پلی کربنات در اندازه ۴/۵ × ۲۵ × ۱۵ سانتی‌متر با سقف مشبک از جنس استیل بود. زمان انجام آزمایش پاییز۱۳۸۹و ملاحظات اخلاقی در مورد حیوانات رعایت گردید.

تهیه عصاره آبی- الکلی هسته زیتون

۵۰۰ گرم هسته زیتون با آسیاب برقی پودر و در محلول ۵۰٪ آب و ۵۰٪ اتانول ۹۶٪ غوطه‌ورو به مدت ۷۲ ساعت در آزمایشگاه نگهداری گردید. در این مدت به-طور متناوب محتویات ظرف تکان داده شد تا عصاره به-طور کامل در الکل حل شود. سپس آن را صاف با دور ۲۵۰۰ در دقیقه سانتریفیوژ و توسط دستگاه سوکسوله مایع حاصله به ماده خشک تبدیل گردید. در مرحله بعد

وزن‌های مورد نظر را در آب مقطر حل کرده تا غلظت های ۲۵ و۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به‌دست آید(۴). عصاره به دست آمده پس از حل کردن در آب مقطربا غلظت‌های مناسب تهیه و برای تجویز دارو از فیدر (Animal Feeding) استفاده گردید. تجویز دارو نیز به‌صورت دهانی و در زمان‌های معینی در طول روز انجام شد. حیوانات در ۴ گروه ۱۰تایی به شرح زیر قرار داده شدند:

۱) گروه کنترل: از آب و غذای استاندارد استفاده کرده و هیچ گونه حلال یا عصاره ای دریافت نکردند.

۲) گروه شاهد: از آب و غذای استاندارد استفاده کرده و روزانه حلال عصاره را به صورت خوراکی به مدت ۲۸ روزدریافت نمودند.

۳) گروه تجربی ۱: علاوه بر استفاده از آب و غذای استاندارد مقدار ۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن عصاره هسته زیتون روزانه به صورت خوراکی و به مدت ۲۸ روز دریافت کردند.

۴) گروه تجربی ۲: علاوه بر استفاده از آب و غذای استاندارد مقدار ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن عصاره هسته زیتون روزانه به صورت خوراکی و به مدت ۲۸ روز دریافت کردند.

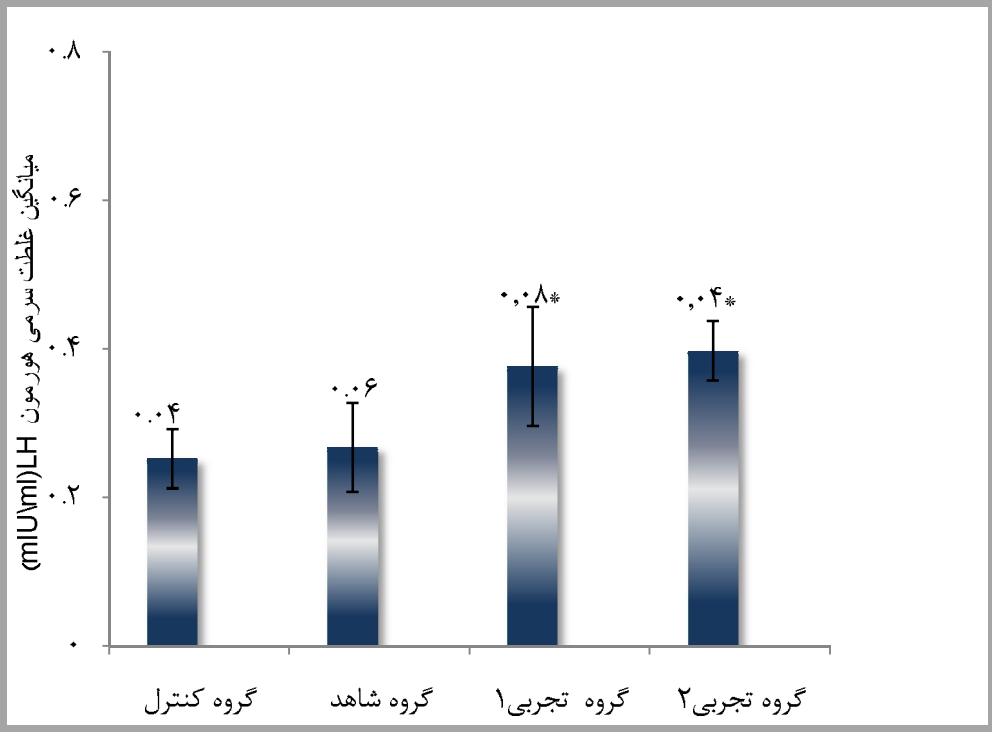
حیوانات در پایان روز ۲۸ام پس از بیهوشی خفیف با اتر از ناحیه بطنی خونگیری شدند. برای خون‌گیری موش‌ها با اتر بیهوش شدند. دلیل استفاده از اتر برای بیهوشی این است که بیهوشی با اتر خفیف است و تأثیر کمتری بر جریان خون دارد. نمونه‌های خونی تهیه شده و پس از سانتریفیوژ با دور ۳۰۰۰ و به مدت ۵ دقیقه و تفکیک سرم به وسیله پیپت پاستور تا زمان سنجش هورمون‌ها در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نمونه‌ها نگه-داری شدند. برای تعیین میزان هورمون‌ها در سرم از روش رادیو ایمونواسی(RIA) استفاده گردید. در این روش ابتدا ۱۲۵ میکرولیتر محلول استاندارد در لوله NSB ریخته و سپس مقدار ۲۵ میکرولیتر سرم به آن اضافه شد. ۵۰۰ میکرولیتر از محلول نشاندار اضافه و در مرحله آخر مقدار ۱۰۰ میکرولیتر آنتی سرم اضافه نموده و به مدت ۱ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. سپس مقدار ۱۰۰۰ میکرولیتر ماده رسوب دهنده اضافه و به مدت ۱۵ در دمای ۲۰ تا ۲۵ درجه سانتی گراد انکوبه شد. در مرحله آخر به مدت ۱۵ تا ۲۰ دقیقه با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ با دور ۱۵۰۰ دور تا ۲۰۰۰ در دقیقه سانتریفیوژ کرده و بعد از مرحله جدا کردن ماده بالایی مقدار هورمون مورد نظر را با استفاده از دستگاه گاما کانتر خوانده شد.

میانگین به دست آمده از اندازه گیری میزان هورمون های LH،FSH، استروژن و پروژسترون در گروه‌های مختلف با استفاده از تست‌های آماری آنالیز واریانس یک طرفه به همراه آزمون تعقیبی توکی ارزیابی شدند. مرز استنتاج آماری$P<۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

نتایج

تاثیر عصاره آبی- الکلی هسته زیتون بر تغییرات غلظت سرمی هورمون LH

میانگین مقادیر غلظت سرمی هورمون LH در گروه-های تجربی ۱و ۲ بعد از ۲۸ روز به ترتیب ۰/۰۶±۰/۳۷۷ و ۰/۰۴±۰/۳۹۸ وگروه‌های کنترل و شاهد به ترتیب۰/۰۴±۰/۲۵۳ و ۰/۰۸±۰/۲۶۸بود.نتایج حاصله نشان می‌دهد در پایان دوره آزمایش میزان هورمون LH در گروه های تجربی ۱ و ۲ نسبت به گروه‌های کنترل و شاهد افزایش معنی‌داری داشته است($P<۰/۰۵$) (نمودار۱).

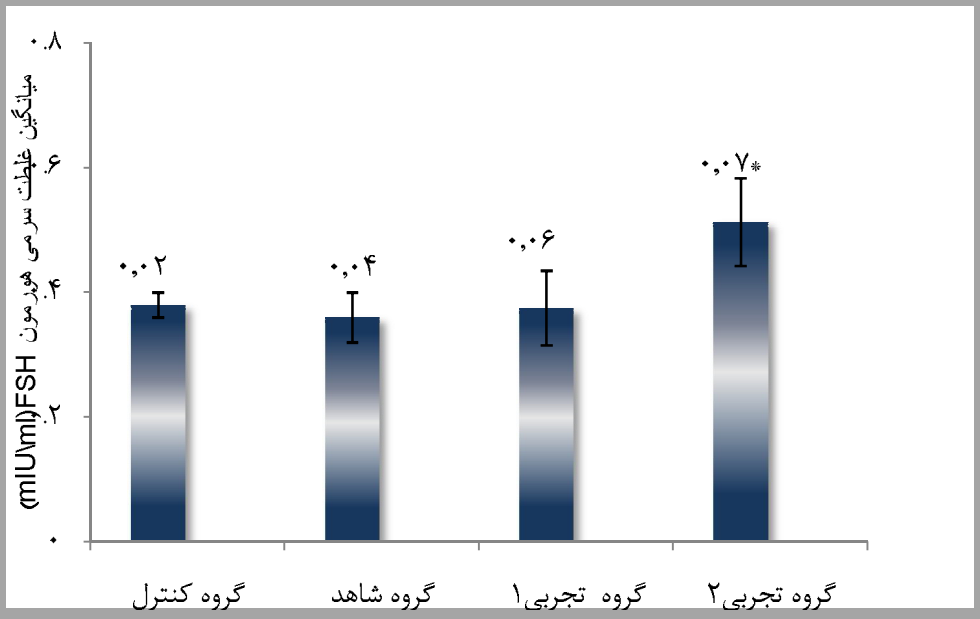


نمودار۱- مقایسه میانگین غلظت سرمی هورمون LH در گروه‌های تجربی دریافت کننده مقادیر مختلف عصاره آبی- الکلی هسته زیتون نسبت به گروه های کنترل و شاهد بعد از ۲۸ روز.

* نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های تجربی، کنترل و شاهد است.

تاثیر عصاره آبی- الکلی هسته زیتون بر تغییرات غلظت سرمی هورمونFSH

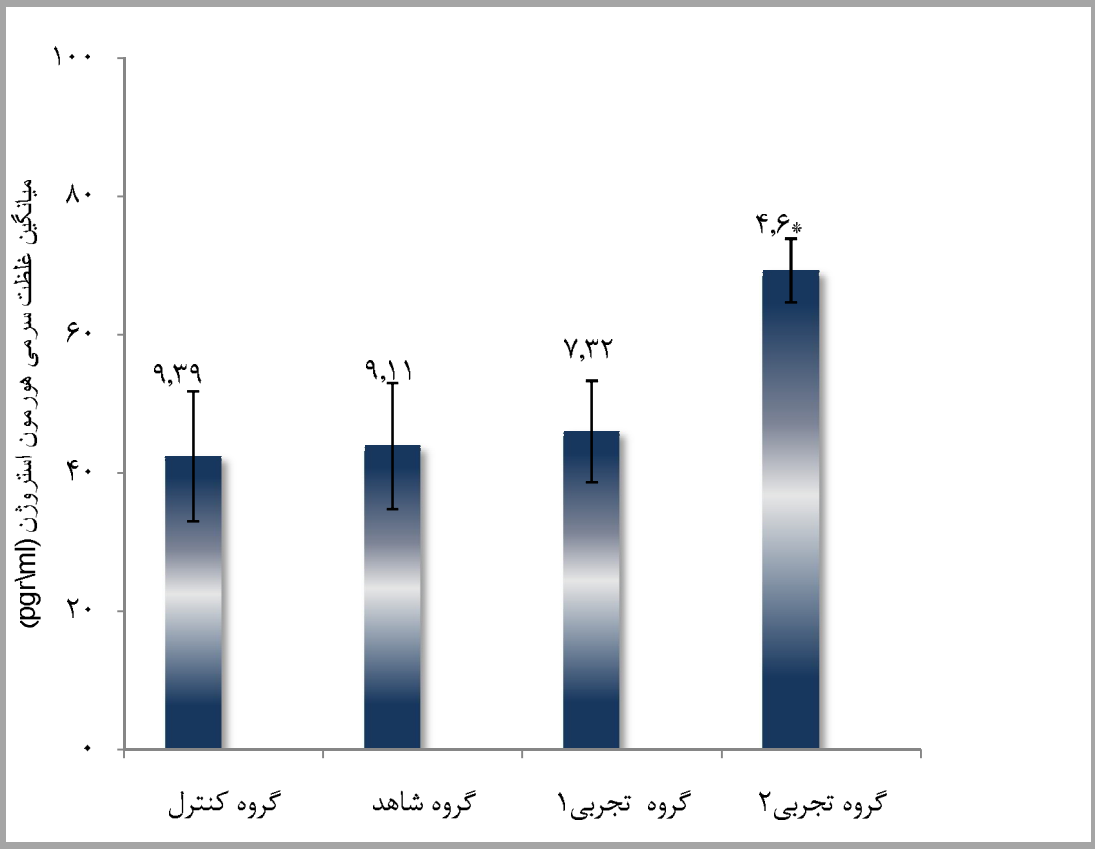
میانگین مقادیر غلظت سرمی هورمون FSH بعد از ۲۸ روز در گروه تجربی۰/۲۰۷±۰/۵۱۳نسبت به گروه-های کنترل و شاهد ۰/۰۲±۰/۳۸و۰/۰۴±۰/۳۶ بعد از ۲۸ روز افزایش معنی دار نشان می‌دهد($P<0/05$) (نمودار۲).



نمودار۲- مقایسه میانگین غلظت سرمی هورمون FSH در گروه‌های تجربی دریافت کننده مقادیر مختلف عصاره آبی- الکلی هسته زیتون نسبت به گروه‌های کنترل و شاهد بعد از ۲۸ روز.

تاثیر عصاره آبی- الکلی هسته زیتون بر تغییرات غلظت سرمی هورمون استروژن

میانگین مقادیر غلظت سرمی هورمون استروژن بعد از ۲۸ روز در گروه تجربی۲، ۵/۲۰±۸۸/۷۹ و میزان این هورمون در گروه‌های کنترل و شاهد بعد از پایان دوره آزمایش به ترتیب ۶/۹±۴۵/۰۷ و ۴/۳±۴۵/۲۱ بود.میزان هورمون استروژن در گروه تجربی ۲ نسبت به گروه‌های کنترل و شاهد افزایش معنی‌داری را نشان می‌دهد(P<۰/۰۵)(نمودار۳).

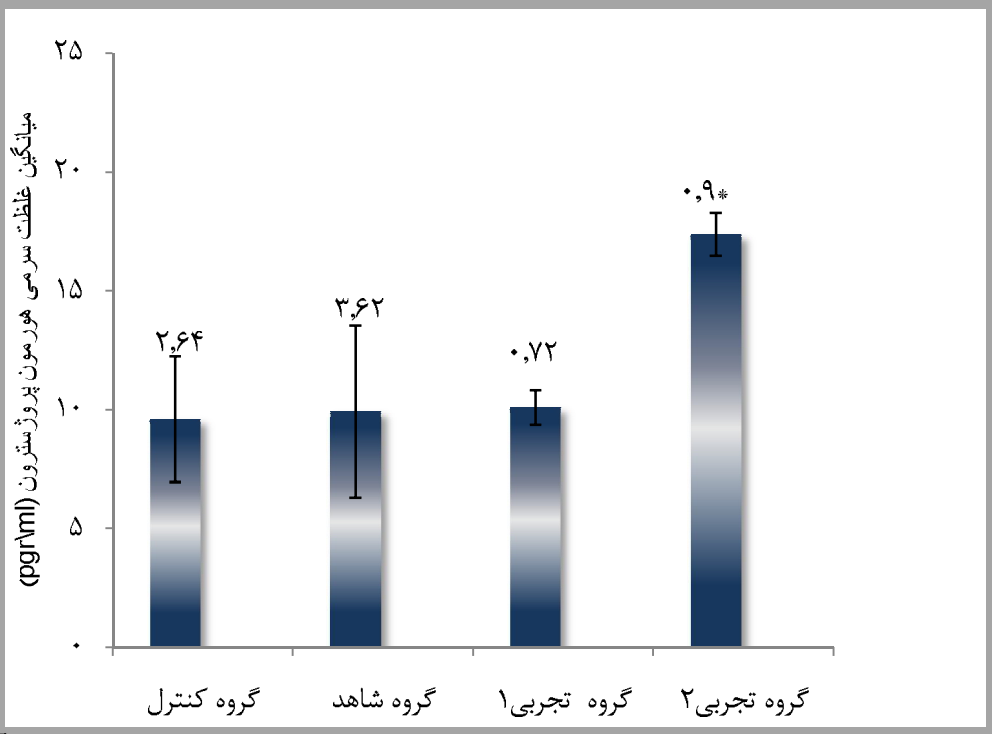


نمودار۳- مقایسه میانگین غلظت سرمی هورمون استروژن در گروه‌های تجربی دریافت کننده مقادیر مختلف عصاره آبی- الکلی هسته زیتون نسبت به گروه کنترل بعد از ۲۸ روز.

* نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های تجربی، کنترل و شاهد است.

تاثیر عصاره آبی- الکلی هسته زیتون بر تغییرات غلظت سرمی هورمون پروژسترون

میانگین مقادیر غلظت سرمی هورمون پروژسترون بعد از ۲۸ روز در گروه تجربی۱ ۰/۲،۹۱±۱۷/۳۷ نسبت به گروه‌های کنترل و شاهد به ترتیب ۲/۶۴±۹/۶ و ۳/۶۲±۹/۹۳ بود که افزایش معنی‌داری را نشان می‌دهد (P<۰/۰۵)(نمودار۴).



نمودار٤- مقایسه میانگین غلظت سرمی هورمون پروژسترون در گروه‌های تجربی دریافت کننده مقادیر مختلف عصاره آبی- الکلی هسته زیتون نسبت به گروه‌های کنترل و شاهد بعد از ۲۸ روز.

* نشان دهنده اختلاف معنی دار بین گروه‌های تجربی ، کنترل و شاهد بعد از ۲۸ روز است.

بحث و نتیجه گیری

تاثیر مقادیر مختلف عصاره الکلی هستهٔ زیتون برمیانگین غلظت سرمی هورمون FSH وLH

با توجه به نمودار۱ میانگین غلظت سرمی هورمون LH در گروه دریافت‌کنندهٔ مقادیر ۲۵۰mg/kg و ۵۰۰mg/kg عصارهٔ هسته زیتون نسبت به گروه‌های کنترل و شاهد افزایش معنی‌داری را نشان می‌دهد ($p<۰/۰۵$). همچنین با توجه به نمودار ۲ میانگین غلظت سرمی هورمون FSH در گروه دریافت کنندهٔ ۵۰۰mg/kg عصارهٔ هستهٔ زیتون به مدت ۲۸ روز نسبت به گروه‌های کنترل و شاهد افزایش معنی دار نشان می‌دهد ($p<۰/۰۵$).

شواهد نشان می دهد روتین موجود در عصاره هسته زیتون باعث افزایش رهاسازی هورمون پرولاکتین ازطریق تأثیر بر روی گیرنده های پرولاکتینی می‌گردد. پرولاکتین نیز باعث افزایش تعداد گیرنده های LH و افزایش غلظت آن می‌شود(۱۸، ۶).نیتریک اکسید نقش مهمی در آزادسازی LH از هیپوفیز دارد(۱۴) و اولئوروپین موجود در عصاره با از بین بردن رادیکال‌های سوپر اکسید باعث تولید بیشتر نیتریک اکسید واحتمالاً موجب آزادسازی LH می‌شود(۱۶).مطالعات انجام شده توسط González و همکاران در سال ۲۰۰۱بر روی موش‌های صحرایی نر نشان می‌دهد نیتریک اکسید با فعال‌سازی آنزیم نیتریک اکسید سنتتاز نورونی در غده هیپوفیز موجب افزایش آزادسازی هورمون آزادکننده گنادوتروپین می‌شود که نتیجه آن افزایش آزاد سازی LH و FSH می‌باشد(۵).در مطالعه ای که توسط Oi-kanpy و همکاران در سال ۲۰۱۲ انجام شد مشخص گردید اولئوروپین بر روی آزاد سازی هورمون LH تاثیر دارد. هم‌چنین به دنبال القاء اولئوروپین با مقادیر وابسته به دوز، هورمون LH افزایش می‌یابد (۱۲).به نظر می رسد

ترکیبات موجود در عصاره هستهٔ زیتون از طریق تأثیر سیستم مرکزی باعث افزایش هورمون‌هایLH, FSH از بخش قدامی هیپوفیز می‌شود.

تاثیر مقادیر مختلف عصارهٔ الکلی هسته ی زیتون برغلظت سرمی هورمون استروژن

باتوجه به نمودار ۳میانگین غلظت سرمی هورمون استروژن در گروه دریافت کنندهٔ ۵۰۰mg/kg عصاره هستهٔ زیتون در دوره زمانی ۲۸ روز نسبت به گروه‌های کنترل و شاهد افزایش معنی‌داری را نشان داد ($p<۰/۰۵$).مطالعات Jun Bi و همکاران در سال ۲۰۱۰ مشخص نمود که استرهای فنیل کافئیک اسید تعدیل کنندهٔ انتخابی گیرندهٔ استروژن می باشد. هم‌چنین کافئیک اسید دارای میل اتصالی انتخابی به گیرنده‌ی بتا-استروژن بیش از گیرنده α-استروژن است. مشخص شده است استرهای فنیل کافئیک اسید (CAPE) آگونیست انتخابی گیرندهٔ انسانی hERB می‌باشند، اما هیچ‌گونه اثر استروژنیک بر سلول‌های سرطانی پستان و بافت رحم موش صحرایی نابالغ ندارد که این مسئله نشان دهندهٔ اثر تعدیل کنندگی قوی گیرنده‌ی انتخابی استروژن است (۸). سایر مطالعات نیز نشان می‌دهند که اولئیک اسید فعالیت ERK ۱/۲ را در سلول‌های سرطانی پستان القاء می‌کند (۱۳). Xu-dongGuo و همکاراندر سال ۲۰۱۲ تأیید کردند القاء روتین غلظت E2 در پلاسما و غدد پستانی را افزایش می‌دهد و رهاسازی هیپوفیزی PRLو GH، تکوین غدد پستانی را در موش‌هایی که تخمدان آن‌ها برداشته شده است را تحریک و بیان ژن ER (گیرنده‌های استروژنی) و GHR, PRL-R را تنظیم می-کند(۶). در مطالعه‌ای که توسط Glnnocenti و همکاران در سال ۲۰۰۷ انجام شد فعالیت استروژنیک *Achillea millefolium* L. مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه مشخص گردید Luteolin یک ترکیب استروژنیک است (۷). مطالعات Zch و همکاران در سال ۲۰۰۹ نشان داد اسیدهای فنولیک طبیعی ممکن است سطح استرادیول را در موش‌های صحرایی که تخمدان آن‌ها برداشته شده است را افزایش دهد (۱۷). همچنین در موش هایی که تخمدان آن‌ها برداشته شده بود، کافئیک اسید سطوح استرادیول سرم را افزایش داد.

تأثیر مقادیر مختلف عصارهٔ الکلی هسته ی زیتون برغلظت سرمی هورمون پروژسترون

با توجه به نمودار ۴ میانگین غلظت سرمی هورمون پروژسترون در گروه دریافت کنندهٔ ۵۰۰mg/kg عصارهٔ هستهٔ زیتون به مدت ۲۸ روز نسبت به گروه‌های کنترل و شاهد افزایش معنی داری نشان داد ($p<۰/۰۵$).مطالعات S-coyral-castel و همکاران در سال ۲۰۱۰ در خصوص اثرات اسیدهای چرب غیراشباع بر ترشح پروژسترون در سلول‌های گرانولوزا نشان می‌دهد ، اولئیک اسیدولینولئیک اسید ترشح پروژسترون را در حضور یا فقدان فاکتور رشد شبیه انسولینی I-(IGF) یا FSH افزایش می‌دهند. شواهد نشان می‌دهد روتین موجود درعصاره هسته زیتون باعث افزایش رهاسازی پرولاکتین می‌گردد (۱۲). ازآن‌جائی که پرولاکتین باعث افزایش گیرنده‌های LH در تخمدان می‌شود. احتمال دارد با افزایش پرولاکتین، گیرنده‌های LH تحریک شده و سنتز پروژسترون نیز افزایش یابد. در مطالعه ای که توسط Kyeongyin kim و همکاران در سال ۲۰۰۹ صورت گرفت مشخص شد اولئیک اسید پیام رسانی کبدی انسولین را ازطریق تنظیم مجدد بیان c/EBP و فعالیت $STAT_3$ مهار می کند (۱۰). شواهد نشان می‌دهد افزایش اسیدهای چرب آزاد(FFAS)، آسیب به پیام رسانی انسولین را القا می‌کند. اولئیک اسید بیان سوبسترای گیرنده انسولین ۱ (IRS-1) و فراوانی (افزایش) بیان پیام رسانی سیتوکنین را کاهش می‌دهد. اولئیک اسید، فسفوریلاسیون هدایت کننده‌های پیام کورتیزول تحریک شده توسط کورتیکوتروپین که وابسته به دپلاریزاسیون است را مهار می‌کند (۲). مشخص شده

است کاهش کورتیزول و ACTH باعث افزایش فعالیت محور هیپوفیز- گناد و افزایش سطح پروژسترون می‌شود.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از مسئولین محترم دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون و سرکار خانم مسیب زاده کارشناس محترم پژوهشی که موجبات انجام این تحقیق را فراهم نمودند تشکر و سپاسگزاری می‌شود

منابع

1.Aitken, R. J. (1999). The amoroso lecture the human spermatozoon-a cell in crisis.J Reprod Fertil, 115;1-7.

2.Danthi S, Enyeart JA, Enyeart JJ.(2004). Caffeic acid esters activate TREK-1 potassium channels and inhibit depolarization-dependent secretion. Mol Pharmacol. 65(3):599-610.

3.Ebisch, I.M.W., Thomas, C.M.G., Peters, W.H., Braat, D.D.M. (2007). Steeger-theunissen R.P.M.The importance of folate,Zinc and antioxidants in the pathogenesis and prevention of subfertility.J Hum Repord Update, 13(2); 163-74.

4.Giovanninic, Straface E., Modestid , Coni E., Canatafora, Devincezi M. (1999). Tyrosol the major olive oil biophenol protects against oxidized- LDL – induced injury in caco – 2 cell, J Nutr, 129(7) ; 1269-1277.

5.González, LC., Pinilla, L., Tena-Sempere, M., Bellido, C., Aguilar, E. (2001). Effects of systemicblockade of nitric oxide synthases on pulsatile lh, prolactin, and GH secretion in adult male rats. Horm Res, 55(5); 229-235.

6.GUO, Xu-dong., Diao, Qi-yu., Wang, Yue-ying., TU, Yan., Deng, Kai-dong., Wang Xin-jian. (2012). The effect ofadministration of rutin on plasma levels of estrogen, prolactin, growth hormone and gene expression of their receptors in mammary glands in ovariectomized rats. Journal of Integrative Agriculture, 11(10); 1700-1706.

7.Innocenti, G., Vegeto, E., Dall'Acqua, S., Ciana, P., Giorgetti, M., Agradi, E. (2007). In vitro estrogenic activity of *Achillea millefolium* L. Phytomedicine, 14(2-3);147-152.

8.Jung, BI., Kim, MS., Kim, HA., Kim, D., Yang, J., Her, S. (2010). Caffeic acid phenethyl ester, a component of beehive propolis, is a novel selective estrogen receptor modulator. Phytother Res, 24(2); 295-300.

9.Katzong and Terror. (1377). Pharmacology. trans Rostami M.5th ed. Tehran Pike Noor Publisher.;396.

10. Kim K, Kim HY, Son EJ, Heo J, Cheong J.(2009). Oleic acid inhibits hepatic insulin signaling through deregulation of STAT3 activation and C/EBPalpha expression .Cell Signal, 21(8);1269-1276.

11. Mosher,WD., Pratt, WF. (1991). Fecundity and infertility in the United States:incidence and trends. J Fertil steril, 56(2);192-193.

12. Oi-Kano, Y., Kawada, T., Watanabe, T., Koyama, F., Watanabe, K., Senbongi, R.(2012). Oleuropein supplementation increases urinary noradrenaline and testicular testosterone levels and decreases plasma corticosterone level in rats fed high-protein diet. J Nutr Biochem, 15.

13. Soto-Guzman, A., Robledo, T., Lopez-Perez, M., Salazar, EP. (2008). Oleic acid induces ERK1/2 activation and AP-1 DNA binding activity through a mechanism involving Src kinase and EGFR transactivation in breast cancer cells. Mol Cell Endocrinol, 294(1-2); 81-91.

14. Tammanini, C., Basini, G., Grasselli, F., TirlliM. (2003). Nitric oxide and the ovary. Journal ofAnimal Science, 81; E1- E7.

15. Vaughan, T. A., J. M. Ryan, N. J. (2000). Czaplewski.. Mammalogy. Fourth Edition. Saunders College Publishing, Philadelphia. 20; 340-341.

16. Visioli, F., Carcuso, D., Grande, S., Bosisior, V., Gallig, S., Calli, C. (2004). Vigin olive oil study (volos) ;vasoprotective potential of extra virgn olive oil in nildly dy slipidomic patients. Eury. J. Nutr, 6; 1-7.

17. Zargari, A. (1366). Medicinal Plants.4th ed. Tehran University Press. Vol1. Pp20.

18. Zych, M., Folwarczna, J., Trzeciak, HI. (2009). Natural phenolic acids may increase serum estradiol level in ovariectomized rats.Acta Biochim Pol, 56(3);503-507.