

اثر عصاره شاهدانه در آسیب القایی میدان‌های الکترومغناطیسی بر بلوغ فولیکول‌های تخمدانی و تغییرات سطح هورمونی در موش کوچک آزمایشگاهی

آزیتا مهربخش^۱، جواد بهارآرا^۲، سعیده ظفر بالاترآباد^۳ و محمد امین کراچیان^۴

^۱گروه زیست شناسی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران؛ ^۲گروه زیست شناسی و مرکز تحقیقات بیولوژی کاربردی تکوین جانوری، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران؛ ^۳گروه زیست شناسی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران؛ ^۴مرکز تحقیقات ژنتیک پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد؛ بخش ژنتیک پزشکی، دانشکده پزشکی مشهد، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

مستول مکاتبات: جواد بهارآرا، baharara@mshdiau.ac.ir

چکیده. امواج الکترومغناطیسی (EMF) ترکیبی از امواج الکتریکی و مغناطیسی هستند. انرژی حمل شده به وسیله این تابش‌ها در بافت‌های زنده جذب می‌شود. به نظر می‌رسد که میدان‌های الکترومغناطیسی می‌توانند باعث ناباروری در زنان شوند. شاهدانه گیاهی یک‌ساله و لیفی است و در مناطق گرمسیری به طور خودرو می‌روید. این پژوهش با هدف بررسی اثر حفاظتی عصاره شاهدانه با غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم و میدان الکترومغناطیسی با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۵۰ گاوس بر بلوغ فولیکول‌های تخمدانی و تغییرات سطح هورمون‌های LH، FSH، استرادیول و پروژسترون در موش ماده نابالغ نژاد NMRI انجام شده است. در پژوهش حاضر ۴۸ سر موش کوچک آزمایشگاهی نژاد ماده نابالغ NMRI با سن تقریبی ۱۶ روزه و وزن حدود ۱۸ گرم در ۸ گروه تقسیم شدند. بعد از تیمار، نمونه‌ها تشریح و تخمدان‌ها از بدن آن‌ها خارج شدند. سپس وزن تخمدان‌ها با ترازوی دیجیتال ثبت شد و پس از طی مراحل آماده‌سازی بافتی شمارش تعداد فولیکول‌های بدوی، اولیه، ثانویه و آنترزی و تعیین سطح هورمون‌ها انجام شد. نتایج نشان داده است که غلظت ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره شاهدانه می‌تواند بعد از اثر میدان ۵۰ گاوس، تعداد انواع فولیکول‌ها را افزایش و تعداد فولیکول‌های آنترزی را کاهش دهد ($p < 0.01$). کاربرد غلظت ۵۰ بعد از تیمار با میدان ۵۰ گاوس افزایش سطح هورمون‌های LH، FSH، استرادیول را باعث شد ($p < 0.01$) و سطح پروژسترون را کاهش داد ($p < 0.01$). یافته‌ها بیانگر این است که عصاره شاهدانه با غلظت ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم می‌تواند نقش محافظتی در جلوگیری از کاهش تعداد فولیکول‌های حاصل از آسیب القا شده توسط امواج الکترومغناطیسی داشته باشد.

واژه‌های کلیدی. شدت میدان، شمارش فولیکول‌ها، ناباروری، نژاد NMRI، وزن تخمدان

The effect of *Cannabis sativa* extract on damages induced by electromagnetic fields on ovarian follicle maturation and hormonal surface changes in mice

Azita Mehrbakhsh¹, Javad Baharara², Saeedeh Zafar Balanejad³ & Mohammad Amin Kerachian⁴

¹Department of Biology, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran; ²Department of Biology & Research Center for Animal Development & Applied Biology, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran; ³Department of Biology, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran; ⁴Medical Genetics Research Center, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad; Department of Medical Genetics, Faculty of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

Correspondent author: Javad Baharara, baharara@mshdiau.ac.ir

Abstract. Electromagnetic waves (EMF) are a mixture of electrical and magnetic waves. The energy transmitted by these radiations is absorbed by living tissues. Electromagnetic fields seem to cause infertility in women. Cannabis is annual herbaceous plant grows in tropical areas. This study was conducted to investigate the protective effects of hydroalcoholic extract of Cannabis sativa in various doses of 50, 100 and 150 mg / kg on the damages induced by electromagnetic fields of 50 Hz and 50 Gauss, on the puberty of ovarian follicles and levels of FSH, LH, estradiol and progesterone hormones in NMRI immature mice. In this study, 48 NMRI immature female mice with an approximate age of 16 days and approximate weight of 18 grams were divided into 8 (experimental, sham, positive control and negative control) groups. After the treatment, the ovaries were extracted and weighed, and sections with H&E staining,

the number of primordial, primary, secondary, and atretic follicles were counted, and the level of hormones have been done. The results showed that the concentration of 50 mg / kg of cannabis extract after the exposure to electromagnetic field of 50 Gauss could increase the number of follicles and reduce the number of atresia follicles ($p < 0.01$). The group treated with the concentration of 50 mg / kg of cannabis extract after the exposure to electromagnetic field of 50 Gauss showed increased levels of FSH, LH and estradiol hormones ($p < 0.01$) and a reduced level of progesterone ($p < 0.01$). Therefore, the concentration of 50 mg / kg of cannabis extract have a protective role in preventing infertility due to ovarian tissue damages induced by electromagnetic fields.

Key words. field intensity, follicle count, infertility, NMRI, ovary weight

مقدمه

مجموع نقص‌های زمان تولد، سقط جنین و تولد پیش از موعد را باعث شود (Ahmadi et al., 2016). بنابراین ضرورت شناسایی راهکارهایی همچون استفاده از مواد طبیعی جهت پیشگیری و درمان آسیب‌های القایی میدان الکترومغناطیسی آشکار می‌شود. به عنوان مثال تحقیقات بر روی موادی مانند ویتامین C (Saygin et al., 2018) و کلم بروکلی (Mansouri et al., 2019) نقش حفاظتی آن‌ها در برابر میدان‌های الکترومغناطیسی را نشان می‌دهند، همچنین گیاه دارویی بومادران از ترکیبات فعال زیستی غنی است (Baharara et al., 2019).

شاهدانه با نام علمی *Cannabis sativa* گیاهی یک ساله و لیفی است و در مناطق گرمسیری به طور خودرو می‌روید و از این گیاه تاکنون بیش از ۸۵ ماده شیمیایی بدست آمده که همه کانابینوئید نامیده می‌شوند و اصلی‌ترین آن‌ها دلتا ۹ تتراهیدروکانابینول (THC) است که با اتصال به گیرنده‌های کانابینوئیدی در مغز به عنوان مسئول بیشتر آثار روانگردان کانابیس است. مقدار THC در بخش‌های مختلف گیاه متفاوت است؛ به طوریکه در سرشاخه‌های گلدار گیاه در بالاترین حد و در برگ‌ها، برگ‌های تحتانی ساقه و دانه‌های گیاه کاهش می‌یابد (Tehranipour et al., 2012).

تأثیر ترکیبات مختلف عصاره شاهدانه شدیداً به مقدار و مدت مصرف بستگی دارد و اثر درمانی آن در درمان بیماری‌های آلزایمر، آب سیاه، صرع، تنگی نفس، افسردگی، بیماری‌های دوقطبی و نورولوژیک و التهاب گزارش شده است. دو زیرگروه شناخته شده از گیرنده‌های کانابینوئید به نام‌های CB1 و CB2 وجود دارد که CB1 به طور عمده در سیستم عصبی، غدد جنسی و بافت همبند و CB2 به طور عمده در بافت‌های محیطی مانند سیستم ایمنی بدن یافت می‌شوند (Tehranipour et al., 2012). ماده موثره شاهدانه (THC) می‌تواند مسیر بلوغ اووسیت مانند فسفریلاسیون پروتئین کیناز B (AKT) و کیناز وابسته به سیگنال خارج سلولی ($ERK \frac{1}{2}$) را فعال کند (Lopez-Cardona, et al., 2016). THC می‌تواند افزایش شکست هسته‌ای (GVBD) اووسیت را باعث شود و توسط اثر این ماده بخش عمده‌ای از سلول‌های اووسیت-کومولوسی ادامه میوز را در زمان کوتاهی نسبت به حالت طبیعی از سر می‌گیرند (Campen et al., 2017).

فولیکول تخمدانی واحد اصلی ساختاری و عملکردی تخمدان پستانداران است که محیط لازم را برای رشد و بلوغ تخمک فراهم می‌کند و با وجود جمعیت بزرگ فولیکول‌های بدوی حاضر در تخمدان،

امواج الکترومغناطیسی (EMF) ترکیبی از امواج الکتریکی و مغناطیسی هستند که در خلأ با سرعت نور جریان می‌یابند و فرمی از تابش در محدوده اشعه‌های کیهانی مافوق انرژي و اشعه‌های گاما با فرکانس 10^{18} هرتز تا تابش‌های مایکروویو کم‌انرژی به میزان ۱۰ گیگاهرتز (GHz) یا امواج رادیویی ۱۰۰ مگاهرتز MHz هستند. امواج الکترومغناطیسی به عنوان فرم‌های انرژی ممکن است موجودات زنده را تحت تأثیر قرار دهند، با این وجود، اطلاعات درباره این مشکل هنوز کافی نیست، انرژی حمل شده به وسیله تابش‌های الکترومغناطیسی در بافت‌های زنده جذب می‌شود و به انرژی جنبشی ذراتی که ماده از آن ساخته شده است تبدیل می‌شود. میزان تابش الکترومغناطیسی جذب شده در هر توده در یک زمان مشخص به عنوان میزان جذب مخصوص (SAR) Specific Absorption Rate تعریف می‌شود و این مقدار بر اساس تعیین ماکزیمم شدت مجاز جریان انرژی امواج الکترومغناطیسی است که بدن انسان ممکن است در معرض آن قرار بگیرد، مقدار SAR مجاز برای هر بخش از بدن مخصوص است (Wdowiak et al., 2017). اخیراً علاقه در زمینه میدان‌های الکترومغناطیسی به منظور بررسی اثرات پتانسیلی EMF بر روی سلامت انسان و حیوانات افزایش یافته است، ما در دنیایی زندگی می‌کنیم که کاملاً به وسیله میدان ژنومغناطیس زمین با شدت 0.5 Gauss احاطه شده است و آلودگی الکترومغناطیسی به وسیله منبع ساخت انسانی ایجاد شده است. اثرات مخرب میدان‌های الکترومغناطیسی بستگی به فرکانس، طول موج، شدت میدان و دوره تابش دارد، میدان الکترومغناطیسی با فرکانس فوق العاده پائین (ELF-EMF)، امواجی با طول موج بالا منتشر می‌کند، بیشتر وسایل الکتریکی در فرکانس بین ۵۰ یا ۶۰ هرتز کار می‌کنند و بیشتر مطالعات در زمینه تأثیر تابش‌های الکترومغناطیسی بر روی موجود زنده در این محدوده فرکانس انجام شده است، مطالعات زیادی برای تعیین اثرات احتمالی میدان‌هایی با فرکانس پایین روی سلامت انسان انجام شده است و بنظر می‌رسد که میدان‌های الکترومغناطیسی می‌توانند باعث ناباروری در زنان شوند. EMF-ELF اثرات ویرانگری روی سیستم تولیدمثلی رت‌های ماده دارد، تابش ELF-EMF می‌تواند تغییراتی در بافت رحم و تخمدان رت ایجاد کند، تعداد بلاستوسیت‌ها را کاهش دهد و ارتفاع سلول‌های اپی تلیالی در لوله‌های فالوپ را افزایش دهد و تکوین فولیکولی و سیکل استروس را تحت تأثیر قرار دهد و در

۵۰ گاوس به مدت ۵ ساعت قرار گرفته و سپس با غلظت ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره شاهدانه تیمار شدند. در هر یک از این مراحل موش‌ها توسط ترازوی دیجیتال وزن شدند. موش‌هایی که در میدان قرار می‌گرفتند در محفظه پلاستیکی قرار داده شدند. همه شرایط برای موش‌های گروه‌های مختلف یکسان در نظر گرفته شد. بعد از هر آزمایش، موش‌ها با روش جابجایی گردن کشته شدند و خون‌گیری از قلب آن‌ها انجام شد و خون جمع‌آوری شده جهت بررسی هورمون‌های LH، FSH، استروژن و پروژسترون به آزمایشگاه تشخیص طبی فردوس مشهد تحویل و مورد بررسی قرار گرفت.

همچنین تخمدان موش‌ها از بدن خارج شد و وزن تخمدان‌ها اندازه‌گیری و ثبت شد. سپس در بوئن قرار داده شدند و پس از ۲۴ ساعت مراحل پاساژ بافتی انجام شد که شامل سه مرحله آبگیری از بافت (با استفاده از الک)، شفاف‌سازی (توسط زایلن) و آغشتگی با پارافین بود. برش‌هایی از بلوک‌های پارافینی بافت تخمدان به ضخامت ۵ میکرون به صورت سریال تهیه شدند و به روش هماتوکسیلین و اتوزین H&E (محصول شرکت شیمی پژوهش آسیا) رنگ آمیزی شدند. سپس از مقاطع، عکس گرفته شد و شمارش انواع فولیکول‌ها شامل ابتدایی، اولیه، ثانویه و آترزی در زیر میکروسکوپ نوری انجام گرفت (Kaboli Kafshgiri et al., 2017).

نتایج کمی حاصل توسط آزمون‌های آماری t، ANOVA و آزمون دانت با معنی‌داری در سطح ($p < 0.05$) تحلیل شد. این تحقیق توسط کمیته ملی اخلاق در پژوهش‌های زیست پزشکی بررسی شده و با شناسه اخلاق IR.IAU.MSHD.REC.1398.208 مصوب گردیده است.

نتایج

نتایج حاصل از بررسی غلظت‌های مختلف عصاره شاهدانه بر بلوغ فولیکول‌های تخمدانی و تغییرات سطح هورمون‌های FSH، LH، استروژن و پروژسترون

از آنجایی که تغییرات تعداد فولیکول‌های تخمدان بین کنترل و شاهد آزمایشگاهی ۲ (DMSO) اختلاف معنی‌داری نشان نداد ($p > 0.05$) لذا گروه‌های تجربی با کنترل مقایسه شدند. بررسی مقاطع بافتی تخمدان در گروه‌های تیمار با عصاره هیدروالکلی شاهدانه با غلظت ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم (تجربی ۲) در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی‌دار در تعداد فولیکول‌های بدوی، اولیه و ثانویه (پری‌آنترال) نشان داد ($p < 0.01$) لیکن تعداد فولیکول‌های آترزی کاهش یافته بود ($p < 0.01$). گروه تیمار با غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم (تجربی ۳)، کاهش معنی‌دار در فولیکول‌های ثانویه و آترزی ($p < 0.01$) و گروه تیمار با غلظت ۱۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره

در طی فولیکولوژن تعداد بسیاری از فولیکول‌ها دچار آترزی شده و تعداد کمی به مرحله پیش از تخمک‌گذاری می‌رسند. اووسیت در مرحله دیپلوتن میوز I متوقف می‌شود و با یک سری از علائم ادامه تقسیم و رشد و نمو را آغاز می‌کند (Khalaeghi et al., 2014). با توجه به مصرف این گیاه در پزشکی و با توجه به اینکه تاکنون تحقیقی در زمینه اثرات حفاظتی احتمالی عصاره الکلی شاهدانه بر آسیب‌های القایی میدان الکترومغناطیسی با فرکانس کم بر بلوغ فولیکول‌های تخمدانی و پیشگیری از ناباروری صورت نگرفته است، اهمیت و ضرورت این مطالعه آشکار می‌شود.

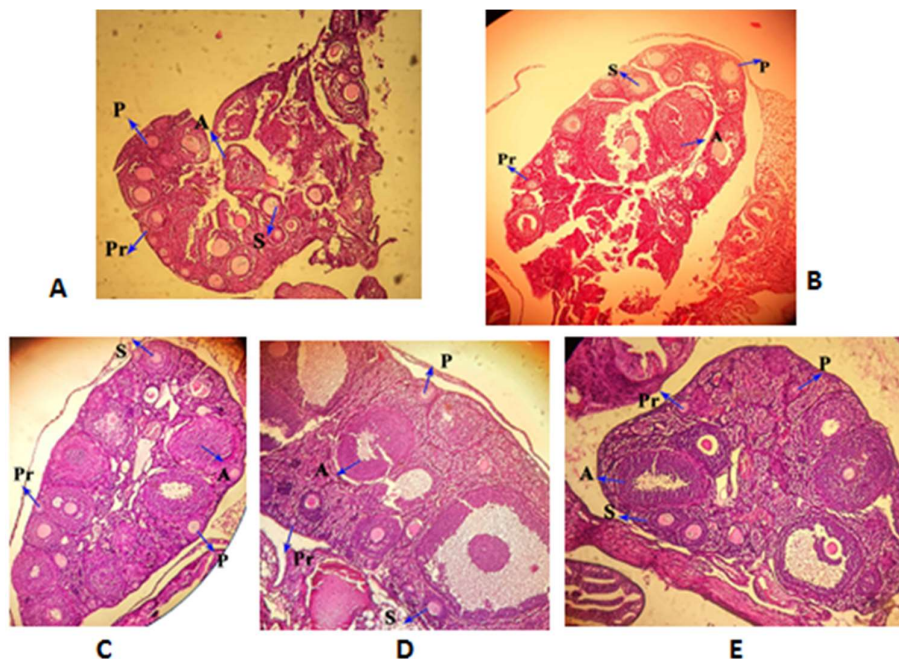
مواد و روش‌ها

در پژوهش حاضر ۴۸ سر موش کوچک آزمایشگاهی نژاد ماده نابالغ NMRI با سن تقریبی ۱۶ روزه و وزن حدود ۱۸ گرم به صورت تصادفی در ۸ گروه مساوی در اتاق نگهداری حیوانات مرکز تحقیقات بیولوژی کاربردی تکوین جانوری دانشگاه آزاد مشهد در دمای ۲۵-۲۳ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۵۰ درصد و سیکل نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی با آب و غذای استاندارد کافی نگهداری شدند.

برای تهیه عصاره، گیاه شاهدانه از دانشگاه فردوسی مشهد بخش گیاه شناسی تهیه شد و کد هرباریومی ۴۵۵۳۴ (FUMH) دریافت شد. برگ‌ها و گل‌های گیاه شاهدانه آسیاب شده، به ۳۰ گرم آن ۳۰۰ سی سی متانول اضافه شد و برای عصاره‌گیری در دستگاه Rotary Evaporator قرار گرفت. عصاره آماده شده در آون ۷۰ درجه سانتی‌گراد برای خشک شدن قرار گرفت (Farrokhyar et al., 2015).

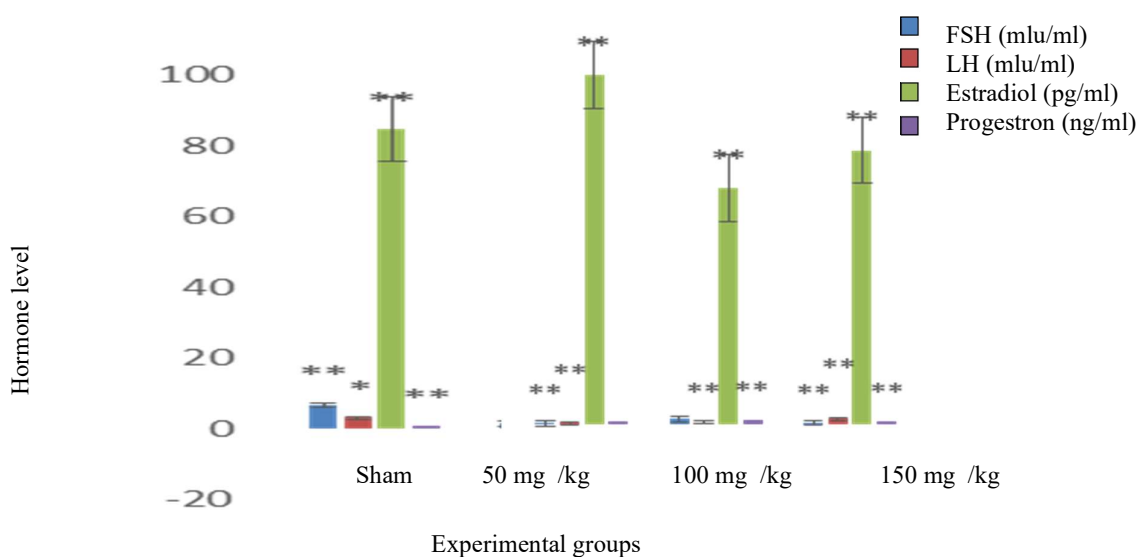
عصاره شاهدانه برای تعیین درصد ماده THC موجود در آن تحت بررسی GCMass قرار گرفت. ۵/۰ گرم از عصاره خشک در ۲ سی سی DMSO (شرکت CARLO EBRA France، 445103) حل شد و طیف کروماتوگرافی بررسی شد. ماده مورد نظر ما که THC بود در زمان ۳۷ دقیقه خارج شد و غلظتش نسبت به کل مواد ۸۵ درصد بود. بنابراین غلظت بالایی را در نمونه عصاره دارا است (Nayebi et al., 2013).

موش‌ها در گروه کنترل، تحت هیچ گونه تیماری قرار نگرفتند. گروه شاهد آزمایشگاهی ۱ درون سیستم مولد میدان الکترومغناطیسی خاموش قرار داده شدند. سیستم مولد میدان الکترومغناطیسی دانشگاه آزاد اسلامی مشهد توسط محققان طراحی شده است (Baharara et al., 2006). گروه شاهد آزمایشگاهی ۲ با DMSO تیمار شدند. گروه تجربی ۱ به مدت ۵ روز و هر روز ۵ ساعت در معرض امواج الکترومغناطیسی با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۵۰ گاوس قرار گرفتند. گروه تجربی ۲، ۳ و ۴ تحت تیمار با عصاره شاهدانه با غلظت ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم به مدت ۵ روز قرار گرفتند. نمونه‌های گروه تجربی ۵ ابتدا در میدان الکترومغناطیسی با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت



شکل ۱- فتو میکرو گراف بافت تخمدان موش کوچک آزمایشگاهی نژاد NMRI. A. گروه کنترل، B. شاهد آزمایشگاهی ۲ (DMSO)، C، D و E. تجربی ۲، ۳ و ۴ تحت تیمار با غلظت‌های (۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم) عصاره شاهدانه (رنگ آمیزی H&E). Pr فولیکول بدوی، P فولیکول ابتدایی، S فولیکول ثانویه، A فولیکول آنترزی. (بزرگنمایی تصاویر A، B، ۴۰×، بزرگنمایی تصاویر C، E، ۱۰۰×، بزرگنمایی تصویر D، ۴۰۰×).

Fig. 1. Photo micrograph of ovarian tissue. A. control, B. DMSO, C, D & E. experimental 2, 3 & 4 treated with concentrations (50, 100 and 150 mg / kg) of Cannabis extract (H & E). Pr Primordial follicle, P Primary follicle, S Secondary follicle, A Atresia follicle (images A,B zoom in x40, images C,E zoom in x100, image D zoom in x400).



شکل ۲- مقایسه سطح هورمون‌ها بین گروه کنترل و گروه‌های تیمار شده با غلظت‌های مختلف عصاره شاهدانه (* p < 0.05) (** p < 0.01).

Fig. 2. Comparison of the steroid hormone levels among control and different concentrations of cannabis extract (* p < 0.05) (** p < 0.01).

نتایج حاصل از کاربرد توام عصاره شاهدانه با غلظت ۵۰ و میدان الکترومغناطیسی با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۵۰ گاوس بر بلوغ فولیکول‌ها و تغییرات سطح هورمون‌ها

در پژوهش حاضر اثر کاربرد توام عصاره شاهدانه با غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم و میدان الکترومغناطیسی با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۵۰ گاوس بررسی شد و غلظت‌های ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره شاهدانه و میدان الکترومغناطیسی هیچ اثری بر بلوغ فولیکول‌ها و تخمدان نشان ندادند، لیکن تیمار نمونه‌های گروه‌های در معرض میدان ۵۰ گاوس به وسیله غلظت ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره هیدروالکلی شاهدانه (تجربی ۵) نشان داد که تعداد فولیکول‌های بدوی، اولیه و ثانویه (پری انترال) به طور معنی داری افزایش یافته و تعداد فولیکول‌های آترزی کم شده است ($p < 0.01$) (شکل ۵).

مقایسه میانگین وزن تخمدان موش‌های در معرض میدان و غلظت ۵۰ اثر افزایشی معنی دار بر وزن تخمدان داشته است ($p < 0.05$). بررسی‌های هورمونی در گروه تجربی ۵ (اثر توام میدان ۵۰ گاوس و غلظت ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره شاهدانه) نشان داد سطح FSH افزایش معنی دار پیدا کرده ($p < 0.05$) و سطح LH نیز افزایش معنی دار یافته ($p < 0.01$)، سطح استرادیول افزایش معنی دار داشته ($p < 0.01$) و سطح پروژسترون کاهش معنی دار داشته است ($p < 0.01$) (شکل ۶).

بحث

استفاده روز افزون از دستگاه‌های مولد امواج الکترومغناطیسی، توجه بسیاری از محققان را به بررسی اثر این امواج بر روی سیستم تولیدمثلی و ناباروری جلب نموده است و بسیاری از نتایج، نشان دهنده اثرات مخرب این امواج بر سیستم تولید مثلی است (Ahmadi et al., 2016). با توجه به تاثیرات منفی ناباروری بر افراد و جمعیت انسانی، از دیر باز جهت رفع این مشکل، بشر استفاده از گیاهان را مورد توجه قرار داده است و با توجه به اثرات درمانی شاهدانه در التهاب روده، سرطان، ایدز، MS، تهوع، گلوکوم و صرع و همچنین فعالیت آنتی اکسیدانی این گیاه بررسی آن اهمیت زیادی پیدا کرده است (Ahmed & Katz, 2016). نتایج بررسی حاضر نشان داد قرار گرفتن در معرض امواج الکترومغناطیسی با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۵۰ گاوس موجب کاهش معنی دار در تعداد فولیکول‌های بدوی، اولیه، ثانویه و افزایش معنی دار در تعداد فولیکول‌های آترزی شد. در سال ۲۰۱۵ محققان نشان دادند که امواج الکترومغناطیس می‌تواند تعداد فولیکول‌های پریموردیال تخمدان رت را کاهش دهد (Bakacak et al., 2015).

شاهدانه (تجربی ۴) کاهش معنی دار تعداد فولیکول‌های ابتدایی و ثانویه را نشان داد ($p < 0.01$) (شکل ۱).

مقایسه میانگین وزن تخمدان موش‌های تیمار شده با غلظت ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره هیدروالکلی شاهدانه (گروه تجربی ۲) در مقایسه با گروه کنترل اختلاف معنی دار نشان نداد ($p > 0.05$)، اما غلظت‌های ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره هیدروالکلی شاهدانه (گروه‌های تجربی ۳ و ۴) افزایش معنی دار وزن تخمدان در مقایسه با گروه کنترل نشان داد. ($p < 0.05$).

بررسی‌های هورمونی نشان داد که سطح FSH در هر سه غلظت ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره هیدروالکلی شاهدانه (تجربی ۲، ۳ و ۴) در مقایسه با کنترل کاهش معنی دار داشته است ($p < 0.01$). در حالی که سطح استرادیول در غلظت ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم افزایش معنی دار در مقایسه با کنترل شان داد ($p < 0.01$)، دو غلظت ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم کاهش معنی داری را در میزان استرادیول در مقایسه با کنترل نشان دادند ($p < 0.01$). پروژسترون در هر سه غلظت افزایش معنی دار ($p < 0.01$) و LH در هر سه غلظت کاهش معنی داری نسبت به کنترل نشان داد ($p < 0.05$) (شکل ۲).

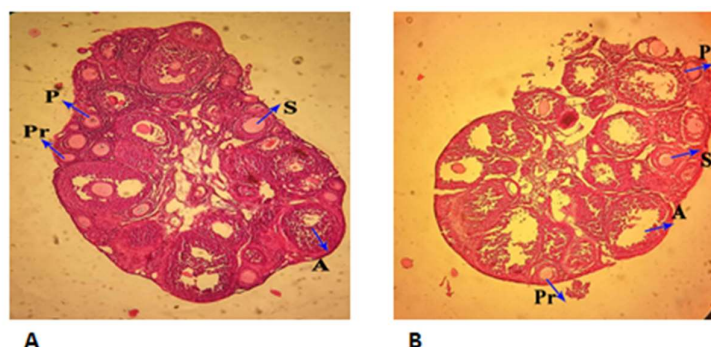
نتایج حاصل از بررسی اثر میدان الکترومغناطیسی با فرکانس کم بر بلوغ فولیکول‌ها و تغییرات سطح هورمونی

از آنجایی که تغییرات تعداد فولیکول‌های تخمدان بین کنترل و شاهد آزمایشگاهی ۱ (سیستم مولد میدان در حالت خاموش) اختلاف معنی دار نشان نداد ($p > 0.05$) لذا گروه تجربی ۱ (تیمار با میدان الکترومغناطیسی ۵۰ گاوس) با شاهد آزمایشگاهی ۱ مقایسه شد.

بررسی مقاطع بافتی تخمدان نشان داد که در گروه‌های در معرض میدان ۵۰ گاوس (تجربی ۱) در مقایسه با گروه شاهد آزمایشگاهی ۱ کاهش معنی دار در تعداد فولیکول‌های بدوی، اولیه و ثانویه (پری آنترال) صورت گرفته و هم چنین تعداد فولیکول‌های آترزی افزایش یافته است ($p < 0.01$) (شکل ۳).

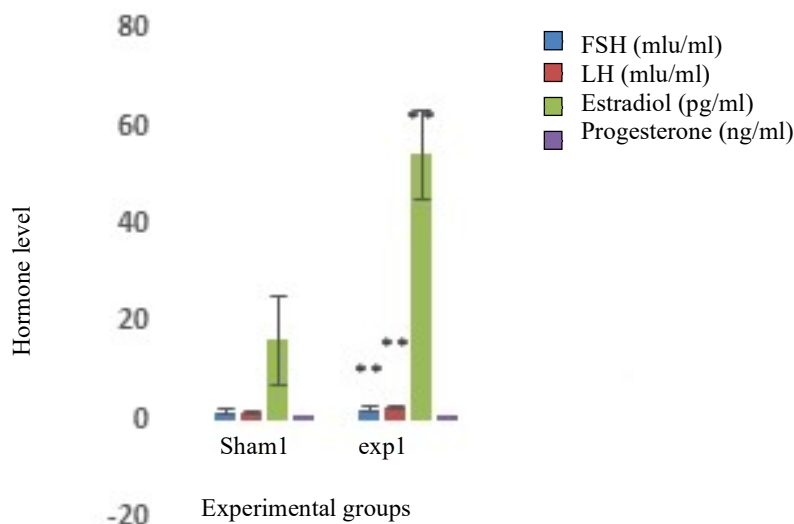
مقایسه میانگین وزن تخمدان موش‌های در معرض میدان ۵۰ گاوس افزایش معنی دار در مقایسه با گروه شاهد آزمایشگاهی ۱ نشان داد ($p < 0.05$).

همچنین بررسی‌های هورمونی نشان داد که سطح هورمون FSH، LH و استرادیول در گروه تجربی ۱ (میدان ۵۰ گاوس) در مقایسه با شاهد آزمایشگاهی ۱ افزایش معنی دار داشته است ($p < 0.01$). در حالی که سطح پروژسترون اختلاف معنی داری نشان نداد ($p > 0.05$) (شکل ۴).



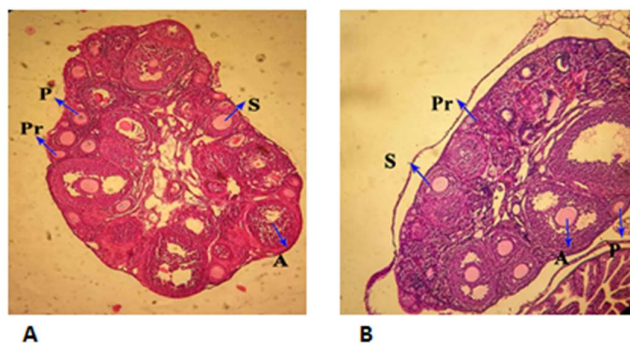
شکل ۳- فتو میکرو گراف بافت تخمدان موش کوچک آزمایشگاهی. A. گروه شاهد آزمایشگاهی ۱ (سیستم مولد میدان در حالت خاموش)، B. تجربی ۱ در معرض میدان ۵۰ گاوس (رنگ آمیزی H&E). (Pr: فولیکول بدوی، P: فولیکول ابتدایی، S: فولیکول ثانویه، A: فولیکول آترزی (بزرگنمایی ۴۰x)).

Fig. 3. Photo micrograph of ovarian tissue. **A:** sham 1 (field off), **B:** experimental 1 exposed to a field of 50 Gauss (H & E staining). Pr: Primordial follicle, P: Primary follicle, S: Secondary follicle, A: Atresia follicle (zoom in X40).



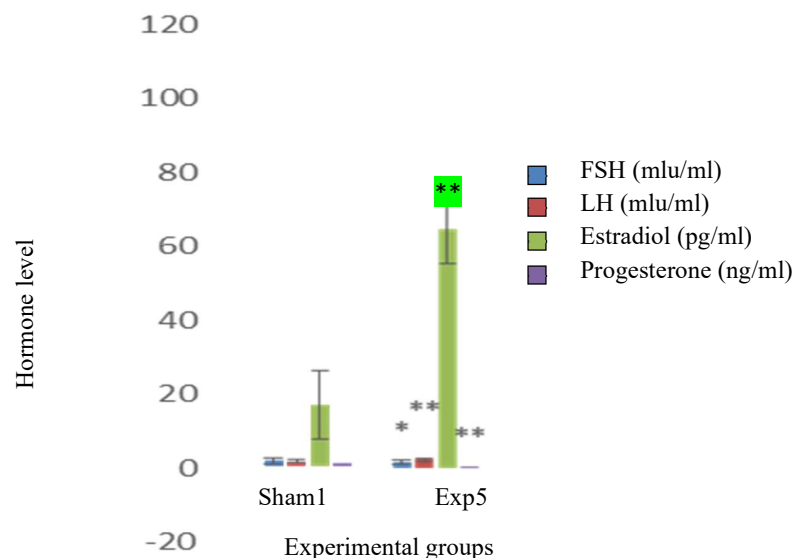
شکل ۴- مقایسه سطح هورمونها بین گروه شاهد آزمایشگاهی ۱ و تجربی ۱ (میدان ۵۰ گاوس) (** $p < 0.01$).

Fig. 4. Comparison of the steroid hormone levels among sham1 and experimental 1 (field of 50 Gauss) (** $p < 0.01$).



شکل ۵- بافت تخمدان موش کوچک آزمایشگاهی. A. گروه شاهد آزمایشگاهی ۱ (سیستم مولد میدان در حالت خاموش)، B. تجربی ۵ (میدان ۵۰ گاوس و غلظت ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره شاهدانه) (رنگ آمیزی H&E). Pr: فولیکول بدوی، P: فولیکول ابتدایی، S: فولیکول ثانویه، A: فولیکول آترزی (بزرگنمایی ۴۰x).

Fig. 5. Photo micrograph of ovarian tissue. **A:** sham 1 (field off), **B:** experimental 5 exposed to a field of 50 Gauss and treated with concentrations 50 mg/ kg of Cannabis extract (H & E staining). Pr: Primordial follicle, P: Primary follicle, S: Secondary follicle, A: Atresia follicle (zoom in x40).



شکل ۶- مقایسه سطح هورمون‌ها بین گروه شاهد آزمایشگاهی ۱ و تجربی ۵ (میدان ۵۰ گاوس و غلظت ۵۰ عصاره هیدروالکلی شاهدانه (** $p < 0.01$)). (* $p < 0.05$).

Fig. 6. Comparison of the steroid hormone levels among sham1 & experimental 5 (field of 50 Gauss treated with concentration of 50 mg/kg of *Cannabis* extract (** $p < 0.01$)) (* $p < 0.05$).

Alghanimi, 2017). نتایج مطالعات قبلی با مطالعه حاضر در ارتباط با سطح هورمون‌های LH، FSH و استرادیول هم‌راستا است و نشان می‌دهد که امواج الکترومغناطیسی با فرکانس پایین می‌توانند در سطح هورمون‌های LH، FSH و استرادیول نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌دار ایجاد کنند.

نتایج بررسی حاضر مشخص کرد قرار گرفتن در معرض امواج الکترومغناطیسی با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۵۰ گاوس موجب افزایش معنی‌دار در وزن تخمدان‌های در معرض این امواج نسبت به گروه کنترل شد.

در مطالعه‌ای مشخص شد که تیمار با امواج الکترومغناطیسی موجب افزایش وزن تخمدان در موش‌های کوچک آزمایشگاهی شد (Elebetieha & AL-Akhras, 2002). این پژوهش با تحقیق حاضر از این نظر که قرار گرفتن در معرض امواج الکترومغناطیسی با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۵۰ گاوس موجب افزایش معنی‌دار در وزن تخمدان‌های در معرض این امواج نسبت به گروه کنترل شد هم‌راستا است. در گزارشی در سال ۲۰۱۶ نشان داده شد که امواج الکترومغناطیسی با فرکانس ۵۰ هرتز تغییر معنی‌دار در وزن تخمدان ایجاد نکرد (Asghari et al., 2016) که این نتیجه با تحقیق حاضر هم‌راستا نیست زیرا در مطالعه حاضر نشان داده شد که قرار گرفتن در معرض امواج الکترومغناطیسی با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۵۰ گاوس موجب افزایش معنی‌دار در وزن تخمدان‌های در معرض این امواج نسبت به گروه کنترل شد.

در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۶ صورت گرفت مشخص شد که امواج الکترومغناطیسی موجب تاثیر منفی در روند تکوین فولیکول‌ها در رت‌های ماده شدند و در آن‌ها آترزی فولیکول‌های تخمدان دیده شد (Ahmadi et al., 2016). محققان در سال ۲۰۱۶ بیان کردند که امواج الکترومغناطیسی موجب کاهش تعداد فولیکول‌ها می‌شود، همچنین قرار گرفتن طولانی مدت در معرض این امواج موجب اثر زیان آوری بر بافت گناد می‌گردد (Khaki et al., 2016).

نتایج پژوهش حاضر با نتایج مطالعات قبلی هم‌سو است و موید این مطلب است که امواج الکترومغناطیسی با فرکانس پایین می‌توانند در تکوین فولیکول‌ها اختلال ایجاد کنند و از تعداد فولیکول‌های بدوی، اولیه، ثانویه یا پری آنترال کاسته و تعداد فولیکول‌های آترزی را افزایش دهند، در نتیجه در سطح بافتی تخمدان تغییر ایجاد کنند. مطالعه حاضر نشان داد قرار گرفتن در معرض امواج الکترومغناطیسی با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۵۰ گاوس موجب افزایش معنی‌دار سطح هورمون‌های LH، FSH و استرادیول نسبت به گروه کنترل شد.

در گزارشی در اثر تیمار با امواج موبایل نشان داده شد که سطح هورمون‌های LH، FSH و استرادیول افزایش معنی‌دار پیدا کرد (Hemayatkhah Jahromi et al., 2010). از لحاظ بررسی سطح هورمونی نشان داده شده است که در اثر امواج موبایل سطح هورمون‌های LH، FSH و استرادیول افزایش معنی‌دار نسبت به آن‌هایی که در معرض این امواج نبودند، پیدا کرد (Najem &

نتایج پژوهش حاضر نشان داد غلظت ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره هیدروالکلی شاهدانه موجب افزایش تعداد فولیکول‌های بدوی، اولیه و ثانویه تخمدان و همچنین کاهش فولیکول‌های آترزی شد. غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره هیدروالکلی شاهدانه باعث کاهش معنی‌دار تعداد فولیکول‌های ثانویه و آترزی شد و غلظت ۱۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره هیدروالکلی شاهدانه توانست کاهش تعداد فولیکول‌های اولیه و ثانویه را باعث شود.

در تحقیق سال ۲۰۱۶ مشخص شد که عصاره آبی ریشه مارچوبه می‌تواند باعث افزایش تعداد فولیکول‌های تخمدان شود و عدم معنی‌داری در افزایش تعداد فولیکول‌های آترزی را نشان دهد (Karimi Jashni et al., 2016)، همچنین پژوهش سال ۲۰۱۹ نشان داد تجویز همزمان متفورمین و عصاره ریشه گزنه سبب افزایش معنی‌دار فولیکول‌های آغازین، اولیه، ثانویه و کاهش فولیکول‌های آترتیک می‌شود (Esfadeh et al., 2019). این مطالعات با تحقیق حاضر از این جهت همسو است که غلظت ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره هیدروالکلی شاهدانه نیز می‌تواند موجب افزایش معنی‌دار در تعداد فولیکول‌های بدوی، اولیه و ثانویه تخمدان شود. در گزارش سال ۲۰۱۷ نشان داده شد که عصاره الکلی برگ گیاه چریش باعث کاهش معنی‌دار در تعداد فولیکول‌های در حال تکوین در موش می‌شود و افزایش فولیکول‌های آترزی را به همراه دارد (Sitasiwi et al., 2017). این یافته با نتیجه مطالعه حاضر از این جهت همسو نیست که غلظت ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره هیدروالکلی شاهدانه موجب کاهش فولیکول‌های آترزی شد. مطالعه حاضر مشخص کرد غلظت ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره هیدروالکلی شاهدانه می‌تواند باعث افزایش معنی‌دار سطح هورمون‌های استرادیول و پروژسترون و کاهش معنی‌دار میزان هورمون‌های FSH و LH شود. همچنین نشان داده شد که غلظت‌های ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره هیدروالکلی شاهدانه می‌توانند باعث کاهش معنی‌دار LH، FSH، استرادیول و افزایش پروژسترون شوند.

گزارشی از اثر گیاه گلرنگ بر تخمدان موش کاهش معنی‌دار در سطح FSH و استروژن ایجاد کرد (Louei & Salati, 2013). از آنجایی که بررسی اثر غلظت‌های ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره شاهدانه در پژوهش حاضر هم نتوانست کاهش معنی‌دار سطح استروژن و FSH را باعث شود لذا گزارش فوق با تحقیق حاضر بر روی غلظت‌های ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره شاهدانه هم راستا است. در حالی که در اثر غلظت ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره هیدروالکلی شاهدانه میزان FSH کاهش ولی سطح استرادیول افزایش یافت. محققین در سال ۲۰۱۴ تاثیر عصاره هیدروالکلی رازیانه بر غلظت سرمی هورمون‌های جنسی را مورد

بررسی قرار دادند و متوجه شدند که این عصاره موجب کاهش میزان LH شد (Karampoor et al., 2014) که نتایج تحقیق ذکر شده با مطالعه حاضر بر روی غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره شاهدانه به واسطه کاهش معنی‌دار میزان هورمون LH همسو است. تحقیق سال ۲۰۱۶ نشان داد که عصاره آبی ریشه مارچوبه باعث افزایش سطح هورمون‌های LH، FSH، استروژن و پروژسترون شد (Karimi Jashni et al., 2016). از آنجایی که در مطالعه حاضر اثر غلظت ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره هیدروالکلی شاهدانه باعث افزایش معنی‌دار سطح هورمون‌های استرادیول و پروژسترون شد، لذا با تحقیق مذکور هم راستا است، در حالی که کاهش معنی‌دار میزان هورمون‌های LH و FSH در تحقیق حاضر متضاد با نتیجه افزایش سطح این هورمون‌ها در تحقیق با عصاره مارچوبه است. مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۷ نشان داد که عصاره هیدروالکلی بابونه باعث کاهش LH و FSH می‌شود (Mirzakhani & Hosseini, 2017) که نتایج این مطالعه با تحقیق حاضر بر روی هر سه غلظت ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره شاهدانه مطابق است و تیمار با هر سه این غلظت‌ها باعث کاهش سطح هورمون‌های LH و FSH شد. تحقیق سال ۲۰۱۸ بر روی بابونه آلمانی اثر افزایشی بر سطح هورمون پروژسترون را نشان داد (Shoorei et al., 2018) که این نتیجه با مطالعه حاضر بر روی غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره هیدروالکلی شاهدانه که با افزایش سطح هورمون پروژسترون همراه است هم راستا است. مطالعه سال ۲۰۱۹ مشخص کرد عصاره ریشه گزنه سبب افزایش معنی‌دار سطح هورمون‌های LH و FSH شد (Esfadeh et al., 2019)، در حالی که کاهش معنی‌دار میزان هورمون‌های LH و FSH در تحقیق حاضر متضاد با نتیجه تحقیق مذکور است.

نتایج بررسی حاضر مشخص کرد وزن تخمدان در غلظت‌های ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره شاهدانه افزایش یافت. تحقیق سال ۲۰۱۸ نشان داد که اثر گلی فوسات روی تخمدان موش باعث کاهش وزن تخمدان شده است (Ren et al., 2018). این یافته با نتیجه مطالعه حاضر همسو نیست چون با اثر عصاره شاهدانه با غلظت‌های ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم افزایش وزن تخمدان کنترل شد. در مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۸ مشخص شد که غلظت‌های مختلف عصاره الکلی گیاه رازک موجب کاهش وزن تخمدان موش‌های ماده تیمار شده گردید (Parandin & Yousofvand, 2018). این نتیجه با یافته تحقیق ما منطبق نبود زیرا غلظت‌های ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره شاهدانه توانسته بود افزایش وزن تخمدان را ایجاد کند که این نتیجه می‌تواند به علت افزایش حجم فولیکول‌ها و تعداد سلول‌ها در تخمدان باشد.

در پژوهش حاضر اثر توام عصاره هیدروالکلی شاهدانه و امواج با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۵۰ گاوس مورد بررسی قرار گرفت و مشخص شد غلظت ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره گیاه شاهدانه در زمانی که فولیکول‌ها در معرض امواج بودند، توانست تعداد فولیکول‌های بدوی، اولیه و ثانویه تخمدان را افزایش و فولیکول‌های آترزی را کاهش دهد و احتمالاً توسط غلظت ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره گیاه شاهدانه اثرات مخرب میدان الکترومغناطیسی با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۵۰ گاوس بر فولیکول‌های تخمدان کاهش یابد.

چندین مطالعه عنوان کرده‌اند که جوانه‌ها، دانه‌ها و برگ‌های شاهدانه دارای اثرات آنتی اکسیدانی هستند (Frassinetti et al., 2018). اثرات حفاظتی چندین ماده در آسیب‌های القایی میدان‌های الکترومغناطیسی با فرکانس کم بر فولیکول‌های تخمدان توسط پژوهشگران مورد مطالعه قرار گرفته است که نتایج این تحقیقات نشان داد که توسط اثر آنتی اکسیدانی ویتامین E و عصاره رازیانه اثرات تخریبی امواج با فرکانس ۵۰ هرتز بر فولیکول‌های تخمدان رت کاهش یافت (Asghari et al., 2015). مشخص شده است که عصاره ریحان (Khaki et al., 2011)، عصاره سیر (Avci et al., 2012)، چای سبز (Baharara & Zahedifar, 2013) و ویتامین C (Saygin et al., 2018) و کلم بروکلی (Mansouri et al., 2019) نیز نقش حفاظتی در برابر میدان‌های الکترومغناطیسی ایفا می‌کنند.

تمام این مطالعات از این نظر با تحقیق حاضر در یک راستا هستند که اثرات مخرب میدان الکترومغناطیسی بر فولیکول‌های تخمدانی توسط عصاره‌های گیاهی از جمله عصاره شاهدانه با غلظت ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم کاهش یافته است. مطالعه حاضر نشان داد کاربرد توام عصاره هیدروالکلی شاهدانه با غلظت ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم و امواج با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۵۰ گاوس موجب افزایش هورمون‌های LH، FSH و استرادیول و کاهش سطح هورمون پروژسترون شد.

در گزارشی که عصاره هیدروالکلی سیر را بر بافت تخمدان موش صحرایی تیمار شده با امواج موبایل اثر داده بودند افزایش سطح پروژسترون مشاهده شد (Hajiuon, 2013). این تحقیق با نتیجه مطالعه حاضر که کاهش میزان پروژسترون در اثر کاربرد توام میدان الکترومغناطیسی با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۵۰ گاوس و عصاره شاهدانه با غلظت ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم را نشان داد هم راستا نیست. علت می‌تواند تغییر در فرکانس و شدت امواج به علت استفاده از موبایل باشد. در تحقیق سال ۲۰۱۹ مشخص شد که ماده کروسین زعفران می‌تواند اثرات مخرب امواج الکترومغناطیسی را کم کند و سطح LH را افزایش دهد (Vafaei et al., 2019) که این

نتیجه در افزایش معنی‌دار سطح LH با گزارش حاضر در اثر کاربرد توام عصاره هیدروالکلی شاهدانه با غلظت ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم و امواج با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۵۰ گاوس همسو است.

نتایج بررسی حاضر مشخص کرد کاربرد توام عصاره هیدروالکلی شاهدانه با غلظت ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم و امواج با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۵۰ گاوس می‌تواند باعث افزایش معنی‌دار وزن تخمدان شود. تحقیق سال ۲۰۱۳ نشان داد عصاره ریحان می‌تواند کاهش وزن تخمدان ناشی از اثر امواج الکترومغناطیسی با فرکانس ۵۰ هرتز را جبران کرده و آن را افزایش دهد (Khaki et al., 2013). این تحقیق با نتیجه مطالعه حاضر همسو است زیرا عصاره هیدروالکلی شاهدانه با غلظت ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم توانست باعث افزایش معنی‌دار در وزن تخمدان‌هایی شود که در معرض امواج الکترومغناطیسی با فرکانس ۵۰ هرتز قرار داشتند. گزارش دیگری در همین سال حاکی از این بود که عصاره هیدروالکلی سیر بر وزن تخمدان‌های تیمار شده با امواج موبایل تغییر معنی‌دار نداشت (Hajiuon, 2013). این نتیجه با گزارش حاضر هم راستا نیست زیرا کاربرد توام عصاره هیدروالکلی شاهدانه با غلظت ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم و امواج با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۵۰ گاوس می‌تواند باعث افزایش معنی‌دار وزن تخمدان شود.

مطالعه حاضر نشان داد که غلظت ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره هیدروالکلی شاهدانه می‌تواند تعداد فولیکول‌های بدوی، اولیه، ثانویه یا پری آترال را افزایش دهد و از تعداد فولیکول‌های آترزی بکاهد همچنین زمانی که امواج الکترومغناطیسی با فرکانس پایین ۵۰ هرتز و شدت میدان ۵۰ گاوس تعداد فولیکول‌ها را کاهش می‌دهند و فولیکول‌های آترزی افزایش می‌یابند، تیمار با عصاره الکی شاهدانه با غلظت ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم می‌تواند نقش حفاظتی در برابر آسیب‌های القایی میدان الکترومغناطیسی با فرکانس پایین داشته و باعث بهبود رشد و بلوغ فولیکول‌های تخمدانی در موش کوچک آزمایشگاهی نژاد NMRI شود و افزایش وزن تخمدان و میزان LH، FSH و استرادیول را باعث شود.

با توجه به نتایج حاصله از این تحقیق پیشنهاد می‌شود که اثر غلظت‌های پایین تر از ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره شاهدانه در آسیب‌های القایی میدان‌های الکترومغناطیسی با فرکانس کم بر تعداد فولیکول‌های تخمدان و سطح هورمون‌های استروئیدی مورد بررسی قرار گیرد.

سپاسگزاری

بدین وسیله از کارشناسان مرکز تحقیقاتی تکوین جانوری دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد جهت همکاری در انجام تحقیق حاضر تشکر می‌نماییم.

REFERENCES

- Ahmadi, S.S., Khaki, A.A., Ainehchi, N., Alihemmati, A., Khatooni, A.A., Khaki, A. & Asghari, A. 2016. Effect of non-ionizing electromagnetic field on the alteration of ovarian follicles in rats. *Electronic Physician Journal* 8: 2168-2174.
- Ahmed, W. & Katz, S. 2016. Therapeutic use of cannabis in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology & Hepatology* 12: 668-679.
- Asghari, A., Khaki, A.A., & Khaki, A. 2016. A review on electromagnetic fields (EMFs) and the reproductive system. *Electron Physician* 8: 2655-2662.
- Asghari, A., Montaseri, A. & Khaki, A.A. 2015. A study of the protective effects of vitamin E and fennel extract on mitochondria changes in mice ovary due to electromagnetic field exposure. *Crescent Journal of Medical and Biological Sciences* 2: 10-13.
- Avci, B., Akar, A., Bilgici, B. & Tuncel, O.K. 2012. Oxidative stress induced by 1.8 GHz radio frequency electromagnetic radiation and effects of garlic extract in rats. *International Journal of Radiation Biology* 88: 799-805.
- Baharara, J. & Zahedifar, Z. 2013. Effect of green tea in decreasing electromagnetic waves damage. *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences* 17: 29-34.
- Baharara, J., Parivar, K., Oryan, Sh. & Ashraf, A.R. 2006. Effects of low frequency electromagnetic fields on gonads and fertility of female Balb/c mouse. *Journal of Arak University Medical Sciences* 9: 1-11. (In Persian).
- Baharara, J., Ramezani, T., Saghiri, N. & Salek F. 2019. Investigating the apoptotic effects of silver nanoparticles coated with *Achillea biebersteinii* extract on A2780 ovarian cancer cells. *Nova Biologica Reperta* 6: 140-147.
- Bakacak, M., Bostanci, M.S., Attar, R., Yildirim, O.K., Yildirim, G., Bakacak, Z., Sayar, H. & Han, A. 2015. The effects of electromagnetic fields on the number of ovarian primordial follicles: An experimental study. *Kaohsiung Journal of Medical Sciences* 31: 287-292.
- Campen, K.A., McNatty, K.P. & Pitman, J.L. 2017. A protective role of cumulus cells after short-term exposure of rat cumulus cell-oocyte complexes to lifestyle or environmental contaminants. *Reproductive Toxicology* 69: 19-33.
- Elebetieha, A. & AL-Akhras, M. 2002. Long-term exposure of male and female mice to 50Hz magnetic field: effects on fertility. *Bioelectromagnetics* 23: 168-172.
- Farrokhyar, S., Baharara, J., Namvar, F., Behnam Rasoli, M & Ramezani, T. 2015. Evaluation effect of methanol extract of brittle stars Persian Gulf in vitro. *Quarterly Journal of Biological Sciences* 8: 61-68.
- Frassinetti, S., Moccia, E., Caltavuturo, L., Gabriele, M., Longo, V., Bellani, L., Giorgi, G. & Giorgetti, L. 2018. Nutritional potential of hemp (*Cannabis sativa* L.) seeds and sprouts. *Food Chemistry* 262: 56-66.
- Esfadeh, H., Mirabolghasemi, G., Azarnia M. 2019. The joint effect of hydro-alcoholic extract of nettle root and metformin on ovarian tissue of diabetic model of Wistar rat. *Nova Biologica Reperta* 6: 131-139. (In Persian).
- Hajiun, B. 2013. Effects of cell phone radiation on estrogen and progesterone levels and ovarian changes in rats treated with garlic (*Allium sativum* L.) hydro-alcoholic extract. *Journal of Herbal Drugs* 4: 81-88.
- Hemayatkhah Jahromi, V., Fatahi, E., Nazari, M., Jowhary, H. & Kargar, H. 2010. Study on the effects of mobile phones waves on the number of ovarian follicles and level of FSH, LH, estrogen and progesterone hormones in adult rats. *Tissue and Cell* 1: 27-34. (In Persian).
- Kaboli Kafshgiri, S., Parivar, K., Baharara, J., Hayati Roodbari, N. & Kerachian, M.A. 2017. Comparison the effect of movento, a chemical pesticide, with chitosan a biologic pesticide, on female reproductive system in Balb/C mice. *Nova Biologica Reperta* 3: 279-287. (In Persian).
- Karampoor, P., Azarnia, M., Mirabolghasemi, G. & Alizadeh, F. 2014. The effect of hydroalcoholic extract of Fennel (*Foeniculum vulgare*) seed on serum levels of sexual hormones in female wistar rats with Polycystic Ovarian Syndrome (PCOS). *Journal of Arak University Medical Sciences* 17: 70-78. (In Persian).
- Karimi Jashni, H., Kargar Jahromi, H. & Khabbaz Kherameh, Z. 2016. Effects of aqueous extract from *Asparagus officinalis* L. roots on hypothalamic-pituitary-gonadal axis hormone levels and the number of ovarian follicles in adult rats. *International Journal of Reproductive BioMedicine* 14: 75-80.
- Khaki, A.A., Khaki, A.y. and Ahmadi, S.Sh. 2016. The effect of non-ionizing electromagnetic field with a frequency of 50 Hz in Rat ovary: A transmission electron microscopy study. *International Journal of Reproductive BioMedicine* 14: 125-132. (In Persian).
- Khaki, A., Khaki, A.A. & Zahedi, A. 2013. Effect of *Ocimum basilicum* on Ovary tissue Apoptosis after exposed with extremely low frequency electromagnetic fields (ELF-EMF) in Rats. *Life Science Journal* 10: 1-5.
- Khaki, A., Fathizad, F., Nouri, M. & Khaki, A.A. 2011. Effect of *Ocimum basilicum* on apoptosis in testis of rats after exposure to electromagnetic field.- *African Journal of. Pharmacy and Pharmacology* 5: 1534-1537. (In Persian).
- Khaleghi, Kh., Rajaei, F., Javadi, A & Abedpour, N. 2014. The effect of PMSG and hCG on the ovarian follicles in NMRI strain mice. *Qom University of Medical Sciences Journal* 8: 1-10. (In Persian).
- Lopez-Cardona, A.P., Sanchez-Calabuig, M.J., Beltran-Brena, P., Agirregoitia, N., Rizos, D., Agirregoitia, E & Gutierrez-Adan, A. 2016. Exocannabinoids effect on in vitro bovine oocyte maturation via activation of KT and ERK1/2. *Reproduction* 152: 603-612.
- Louei Monfared, A. & Salati, A.P. 2013. Effects of *Carthamus tinctorius* L. on the ovarian histomorphology and the female reproductive hormones in mice. *Avicenna Journal of Phytomedicine* 3: 171-177.
- Mansouri, E., Keshtkar, A., Khaki, A., Keshtkar, E. & Khaki, A. 2019. Effects of extremely low frequency electromagnetic fields and simultaneous treatment with *Allium cepa* on biochemical parameters and ultrastructure of ovarian tissues of rats. *Iranian Journal of Medical Physics* 16: 158-165.
- Mirzakhani, Z. & Hosseini, S.E. 2017. Effects of chamomile hydro- alcoholic extract (*Matricaria chamomilla*) on the aborted fetuses, serum sex hormones and ovarian follicles in adult female rats. *Journal of Ardabil University of Medical Sciences* 17: 22-31. (In Persian).
- Najem, N.A. & Alghanimi, Y.Kh. 2017. Effect of GSM (Towers and Mobil radiation) on reproductive hormones in

- males. International Journal of ChemTech Research 10: 652-654.
- Nayebi, Sh., Kakeshpour, T., Hasanvand, A., Nadri, M. & Rashidi Monfares, S. 2013. Composition of volatile compounds of extract of *Ammi majus* from Iran by GC-MS. Journal of Sciences, Islamic Republic of Iran 24: 335-338.
- Parandin, R. & Yousofvand, N. 2018. Effects of perinatal exposure to alcoholic extract of hops (*Humulus lupulus*) flowers on sexual puberty and some reproductive parameters in female mice. Razi Journal of Medical Sciences 25: 10-20. (In Persian).
- Ren, X., Li, R., Liu, J., Huang, K., Wu, S., Li, Y. & Li, Ch. 2018. Effects of glyphosate on the ovarian function of pregnant mice, the secretion of hormones and the sex ratio of their fetuses. Environmental Pollution 243: 833-841.
- Saygin, M., Ozmen, O., Erol, O., Ellidag, H.Y., Ilhan, I., Aslankoc, R. 2018. The impact of electromagnetic radiation (2.45 GHz, Wi-Fi) on the female reproductive system: The role of vitamin C. Toxicology & Industrial Health 34: 620-630.
- Shoorei, H., Khaki, A. & Abbas Raza, S.H. 2018. Effects of *Matricaria chamomilla* extract on growth and maturation of isolated mouse ovarian follicles in a three-dimensional culture system. Chinese Medical Journal 131: 218-225.
- Sitasiwi, A.J., Isdadiyanto, S. & Mardiaty, S.M. 2017. The Estradiol 17- β Concentration in Mice after Treated with Ethanolic Leaf Extract of *Azadirachta indica* (Neem). AIP Conference Proceedings 1844: 2-8.
- Tehranipour, M., Kehtarpour, M., Javadmoosavi, B.Z. & Mahdavi-Shahri, N. 2012. Evaluation of *Cannabis sativa* leaves aquatic extract effect on triple regions of hippocampus neuronal density in male rats. Journal of Shahrekord University of Medical Sciences 14: 20-27. (In Persian).
- Vafaei, Sh., Motejaded, F. & Ebrahimzadeh- bideskan, A. 2019. Protective effect of crocin on electromagnetic field-induced testicular damage and heat shock protein A2 expression in male BALB/c mice. Iranian Journal of Basic Medical Sciences 23: 102-110.
- Wdowiak, A., Mazurek, P.A. & Bojar, I. 2017. Effect of electromagnetic waves on human reproduction. Annals of Agricultural and Environmental Medicine 24: 13-18.

How to cite this article:

Mehrbakhsh, A., Baharara, J., Zafar Balanejad, S. & Kerachian, M.A. 2020. Effect of Cannabis sativa extract on induced damage to electromagnetic fields on ovarian follicle maturation and hormonal surface changes in mice. Nova Biologica Reperta 7: 267-277. (In Persian).

مهربخش، ا.، بهارآرا، ج.، ظفر بالانژاد، س. و کراچیان، م. ا. ۱۳۹۹. اثر عصاره شاهدانه در آسیب القایی میدان‌های الکترومغناطیسی بر بلوغ فولیکول‌های تخمدانی و تغییرات سطح هورمونی در موش کوچک آزمایشگاهی. یافته‌های نوین در علوم زیستی ۷: ۲۶۷-۲۷۷.