

The Effect of Hydroalcoholic Extract of Truffle on Estrogen and Progesterone Levels in Experimental Model of Multiple Sclerosis (MS) in Female Rats

Eslam Zabihi¹, Seyed Eghbal Motavallibashi², Khayam Bamdad³, Faegheh Pilevaribadi⁴,
Hamid Sheikhkanloui Milan^{5*}

1.MSc Student, Department of Physiology, School of Medicine, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran

2.MSc, Department of Biochemistry, School of Medicine, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran

3.MSc Student, Department of Physiology, School of Medicine, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran

4.MSc in Midwifery, Department of Midwifery, School of Nursing and Midwifery, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran

5.Assistant Professor, Department of Physiology, School of Medicine, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran

Received: 15 Mar 2017, Accepted: 17 Apr 2017

Abstract

Background: The multiple sclerosis is a chronic disease of the central nervous system. Since the level of sex hormone and multiple sclerosis (MS) disease affects one another, the aim of this study was to evaluate the impact of the hydroalcoholic extract of truffle on the hormone levels of estrogen and progesterone administered in experimental model of MS-induced rats.

Materials and Methods: In this experimental study, 42 Wistar female rats, weighing 180 ± 10 grams selected into 6 groups each consisting of 7 rats. Normal control didn't receive any treatment and experimental group was given Cuprizone toxin (as a MS model inducer) for 40 days. The experimental groups (2, 3, 4 and 5) in addition to Cuprizone received the normal saline, 110, 220 and 330 mg/kg/0.2ml (i.p.) of Hydroalcoholic extract of truffle for 12 days too. Blood samples were taken at the end of the twelfth day from all groups involved and levels of sex hormones were measured.

Results: Cuprizone decreases estrogen, progesterone levels and also causes weight loss, while injection of hydroalcoholic extract of truffle increased serum levels of estrogen (in experimental group 4) and progesterone (in experimental group 4 & 5) compared to MS-induced group.

Conclusion: Results of the study revealed that the hydroalcoholic extract of truffle (at dosages of 220 and 330 mg/kg) could increase estrogen and progesterone levels in rats experienced experimental multiple sclerosis.

Keywords: Estrogen, Multiple sclerosis, Progesterone, Rat, Truffle

*Corresponding Author:

Address: Department of Physiology, School of Medicine, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran
Email: hshmilan@gmail.com

اثر عصاره هیدروالکلی قارچ دنبان بر سطح هورمون استروژن و پروژسترون در مدل تجربی مالتیپل اسکلروزیس موش صحرایی ماده

اسلام ذبیحی^۱، سید اقبال متولی باشی^۲، خیام بامداد^۳، فایقه پیله ورعبادی^۴، حمید شیخکانلوی میلان^{۵*}

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران
۲. کارشناسی ارشد، گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران
۳. دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران
۴. کارشناسی ارشد مامایی، گروه مامایی، دانشکده پرستاری و مامایی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران
۵. استادیار، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران

تاریخ دریافت: ۹۵/۱۲/۲۵ تاریخ پذیرش: ۹۶/۱/۲۸

چکیده

زمینه و هدف: بیماری مالتیپل اسکلروزیس یک بیماری مزمن دستگاه عصبی مرکزی است. از آنجایی که سطح هورمون‌های جنسی و بیماری مالتیپل اسکلروزیس (MS) تحت تأثیر هم قرار می‌گیرند. هدف از این مطالعه، بررسی تأثیر عصاره هیدروالکلی قارچ دنبان بر سطح هورمون استروژن و پروژسترون در موش صحرایی ماده مدل ام اس تجربی است.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش تجربی، ۴۲ سر موش صحرایی ماده بالغ نژاد ویستار با وزن تقریبی 180 ± 10 گرم در ۶ گروه ۷ تایی مورد مطالعه قرار گرفتند. گروه کنترل نرمال بدون تیمار دارویی بود و گروه‌های تجربی ۱ تا ۵ به مدت ۴۰ روز کوپریزون دریافت کردند. گروه تجربی ۲ تا ۵ علاوه بر کوپریزون به ترتیب نرمال سالین و ۱۱۰، ۲۲۰ و ۳۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن عصاره‌ی هیدروالکلی قارچ دنبان را به صورت تزریق داخل صفاقی به مدت ۱۲ روز با حجم ۰/۲ میلی‌لیتر بعد از ایجاد ام اس دریافت کردند. در پایان روز دوازدهم از همه‌ی گروه‌ها خون‌گیری به عمل آمده و میزان هورمون‌های جنسی اندازه‌گیری گردید.

یافته‌ها: نتایج به دست آمده نشان داد که کوپریزون باعث کاهش سطح استروژن، پروژسترون و وزن می‌شود؛ همچنین تزریق عصاره هیدروالکلی دنبان باعث شد میزان غلظت سرمی هورمون استروژن در گروه تجربی ۴ و پروژسترون در گروه تجربی ۴ و ۵ نسبت به گروه ام اس افزایش معناداری داشته است.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره‌ی هیدروالکلی دنبان در دوز ۲۲۰ و ۳۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن موش صحرایی، میزان استروژن و پروژسترون را در موش‌های مدل تجربی مالتیپل اسکلروزیس افزایش می‌دهد.

واژگان کلیدی: مالتیپل اسکلروزیس، قارچ دنبان، استروژن، پروژسترون، موش صحرایی

*نویسنده مسئول: ایران، اردبیل، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی

Email: hshmilan@gmail.com

مقدمه

بیماری مالتیپل اسکلروزیس یک بیماری مزمن دستگاه عصبی مرکزی است و علائم این بیماری از یک بیماری خوش خیم تا یک بیماری ناتوان کننده متغیر است این بیماری باعث اختلال سیستم حسی، فلجی و به هم خوردن سیستم تعادلی می شود که این علائم به محل ضایعه در سیستم اعصاب مرکزی بستگی دارند (۱، ۲) نتایج مطالعات انجام شده بیان گر آن است که نزدیک به ۵۰ درصد بیماران، از زندگی جنسی خود رضایت نداشته یا ارتباط جنسی خود را قطع کرده اند (۳) پژوهش های انجام شده نشان داده است این بیماری در زنان شایع تر از مردان بوده و در سنین باروری (۲۰-۴۰ سالگی) شیوع بالایی دارد (۴) میانگین شیوع این بیماری سه نفر در هر صد هزار نفر است و نسبت ابتلای زنان به مردان بیش از سه برابر (۳/۱۱) گزارش شده است (۵).

گیاهان دارویی از ارزش خاصی در بهداشت و سلامت از لحاظ درمان و پیش گیری از بیماری ها برخوردار است. در ایران نیز استفاده از گیاهان دارویی روند افزایشی پیدا کرده است (۶) تعادل بیولوژیک مواد موثر در گیاهان (به استثناء گیاهان سمی) نسبت به داروهای شیمیایی مزیت به شمار می آید (۷) و از طرف دیگر چون زنان مبتلا به ام اس از تاثیر داروی شیمیایی بر بارداری نگران هستند (۸) این عوامل باعث شده است که استفاده از طب سنتی به عنوان یکی از راه های درمان مطرح شود.

از اثرات درمانی دنبلان در طب سنتی، فعالیت آنتی اکسیدانی (۹) اثرات ضد التهابی و آنتی کارسینوژنیک (۱۰) به اثبات رسیده است. در بعضی کشورها معتقدند که دنبلان نیروی جنسی مهمی دارد، به عنوان مثال، در یک تحقیق گزارش شده است که ۹۵ درصد مردم موافق خوردن ترافل (قارچ دنبلان) برای تحریک جنسی هستند (۱۱). کاهش قند خون یکی دیگر از نتایج استفاده از دنبلان است (۱۲). مواد معدنی از جمله روی، کلسیم و آهن (۱۳) و ترکیبات آنتی اکسیدان قارچ دنبلان از جمله کاتچین، فرولیک اسید و کارتنوئید و دیگر ترکیبات فلاونوئیدی (۱۴)،

(۱۵) می تواند اثرات زیادی از خود نشان دهد. آخرین تحقیقات نشان می دهند که فلاونوئیدها با تأثیر بر روی گیرنده های استروژنی، خواص استروژنی از خود نشان می دهند (۱۶) مطالعه گرینستد و همکاران نشان داد که اختلال عملکردی در محور هیپوتالاموس، هیپوفیز و گناد، اغلب در زنان مبتلا به ام اس رخ می دهد که می تواند همراه با اختلالات قاعدگی در آن ها یا نازایی باشد که در این بیماران غلظت استروژن به طور معنی داری پایین تر از افراد سالم است. بیماری ام اس باعث کاهش غلظت هورمون استروژن و پروژسترون می شود (۱۷، ۱۸). به دلیل وجود ترکیباتی با خاصیت استروژن زایی در قارچ دنبلان *Terfezia Boudieri* (TB) و به خاطر این که تاکنون گزارشی درباره تأثیر عصاره دنبلان بر تغییرات هورمونی در بیماران مولتیپل اسکلروزیس انجام نشده است، مطالعه حاضر اثرات عصاره هیدروالکلی دنبلان بر هورمون های جنسی موش صحرائی را مورد بررسی قرار می دهد.

مواد و روش ها

طرح مطالعه:

در این مطالعه ۴۲ سر موش صحرائی ماده بالغ نژاد ویستار، با وزن 10 ± 180 گرم در حیوان خانه جهت مطالعه نگهداری شدند. حیوانات در دمای 2 ± 22 درجه سانتی گراد، ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی به وسیله یک دایمر قابل تنظیم و در بستری از پوشال نگهداری گردیدند. حیوانات به صورت تصادفی در ۶ گروه و ۷ موش در هر گروه با دسترسی آزاد به آب شهری و غذای مخصوص حیوانات (پلت فرم) نگهداری شدند.

عصاره گیری:

در این مطالعه قارچ دنبلان توسط پژوهشگر از منطقه ی یامچی استان اردبیل جمع آوری گردید. قارچ در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و در سایه خشک، سپس با دستگاه آسیاب برقی پودر گردید. به هر ۱۰۰ گرم پودر قارچ دنبلان، یک لیتر آب و اتانول ۷۰ درصد با نسبت ۳ به ۷ افزوده شد و به مدت ۷۲ ساعت خیس گردد. عصاره ی

حاصل جهت به دست آوردن عصاره خالص تر دو بار از صافی عبور داده شد. ۱۵ ساعت در دمای ۳۷ درجه فور جهت تبخیر الکل و به دست آوردن عصاره‌ی خشک قرار داده شد. سپس برای تهیه‌ی غلظت‌های مختلف، عصاره‌ی خشک با سرم فیزیولوژی (حلال عصاره) مخلوط گردید.

همسان سازی سیکل:

یکی از مراحل مهم انجام این طرح هم سیکل نمودن موش‌ها بود. با توجه به این که در ۴ فاز مختلف هر سیکل موش، مقدار هورمون‌ها متفاوت است برای یکسان‌سازی سیکل ابتدا ۱۰۰ میکروگرم استرادیول والرات در ۰.۲ میلی‌لیتر روغن زیتون حل و عضلانی تزریق شد. بعد از ۴۲ ساعت ۵۰ میکروگرم پروژسترون به صورت عضلانی تزریق شد. ۶ ساعت بعد از موش‌ها اسمیر واژنی تهیه شد و مشخص نمودن مراحل سیکل استروس با روش Marcondes و همکارانش انجام شد (۱۹). سیکل‌ها بر اساس نسبت میان سه نوع جمعیت سلولی اپیتالی، شاخی و لکوسیت‌ها مشخص گردید. مشاهدات میکروسکوپی نشان داد در فاز استروس موش‌ها هم سیکل شده‌اند. موش‌هایی که در فاز استروس بودند از بین موش‌های دریافت کننده استرادیول و پروژسترون جدا و گروه بندی شدند.

گروه بندی:

موش‌ها جهت القای ام اس به مدت ۴۰ روز کوپریزون ۰/۲ درصد به همراه غذا دریافت کردند (۲۰) بعد از انجام تست واکنش عمومی شامل Elevated Plus (Elevated Plus Maze Test, Climbing Behavior Test) جهت تشخیص القای ام اس استفاده می‌شود (۲۱) موش‌ها به گروه‌های زیر تقسیم شدند:

گروه کنترل: هیچ دارویی دریافت نکردند.

گروه تجربی ۱: ۴۰ روز کوپریزون خوراکی دریافت کردند. گروه تجربی ۲: بعد از دریافت کوپریزون، به مدت ۱۲ روز فقط نرمال سالیین دریافت کردند.

گروه تجربی ۳: بعد از دریافت کوپریزون، ۱۱۰ mg/kg عصاره TB دریافت کردند.

گروه تجربی ۴: بعد از دریافت کوپریزون، ۲۲۰ mg/kg عصاره TB دریافت کردند.

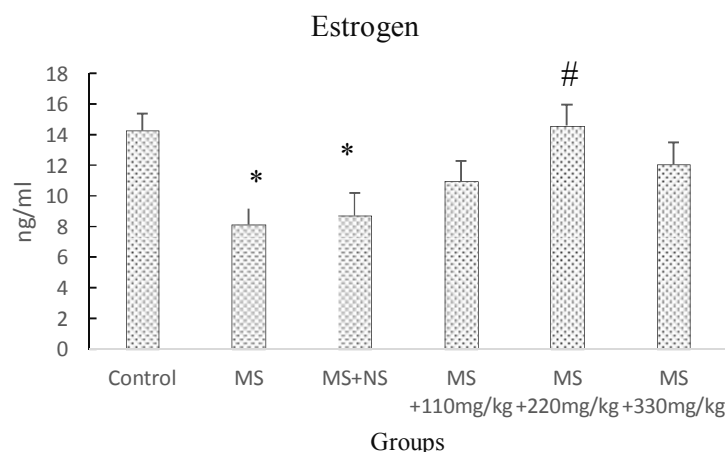
گروه تجربی ۵: بعد از دریافت کوپریزون، ۳۳۰ mg/kg عصاره TB دریافت کردند.

تزریق عصاره‌ی هیدروالکلی قارچ دنبلان به مدت ۱۲ روز و به صورت داخل صفاقی با حجم ۰/۲ میلی‌لیتر انجام می‌شد. در پایان روز روز دوازدهم حیوانات با ترازوی دیجیتالی وزن کشی شده و سپس با کتامین (۱۰۰ mg/kg) و زایلازین (۱۰ mg/kg) بیهوش شدند. به صورت مستقیم از قلب خون‌گیری شد و در ۵ دقیقه با دور ۳۵۰۰ سانترفیوژ گردید. سرم‌های خونی تا انجام آزمایش در دمای ۲۰- نگهداری گردید با استفاده از کیت‌های شرکت BioVendor و طبق دستورالعمل شرکت هورمون‌های استروژن و پروژسترون اندازه‌گیری شد.

نتایج به صورت میانگین \pm انحراف میانگین گزارش شد. داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS و از طریق آزمون تجزیه و تحلیل واریانس و تست تعقیبی توکی در سطح معناداری، $p < 0/05$ مورد تحلیل آماری قرار گرفتند.

یافته‌ها

نتایج حاصل از تحلیل داده‌های این مطالعه نشان داد بعد از دریافت کوپریزون به مدت ۴۰ روز، سطح استروژن موش‌ها نسبت به کنترل به طور معناداری کاهش یافت (میانگین $1/1 \pm 14/26$ ng/ml در برابر $1/47$ ng/ml $\pm 1/13$). با دریافت عصاره‌ی هیدروالکلی قارچ دنبلان (TB) در مدت ۱۲ روز، طبق نمودار ۱ میانگین غلظت هورمون استروژن در گروه تجربی ۴ (میانگین $1/40$ ng/ml $\pm 14/58$) نسبت به گروه تجربی ۱ (میانگین $1/47$ ng/ml $\pm 8/13$) و تجربی ۲ (میانگین $1/49 \pm 8/70$ ng/ml) افزایش معنی‌داری پیدا کرد ($p < 0/05$). ولی در گروه‌های تجربی ۳ و ۵ با وجود افزایش سطح هورمون نسبت به گروه MS، اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد.



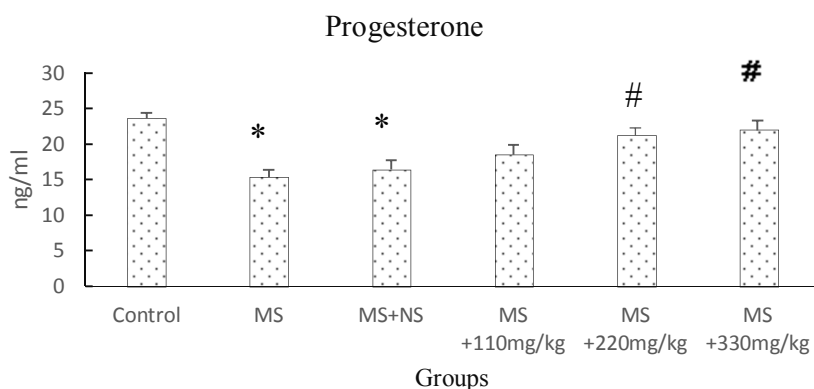
نمودار ۱. تاثیر غلظت‌های مختلف عصاره‌ی هیدروالکلی قارچ دنبلان بر سطح سرمی هورمون استروژن (نانوگرم بر میلی‌لیتر) در موش صحرائی ماده

* نشان دهنده‌ی اختلاف معنی‌دار کنترل نسبت به گروه تجربی ۱ و گروه تجربی ۲ ($p < 0.05$).

نشان دهنده‌ی اختلاف معنی‌دار گروه‌های تجربی ۴ نسبت به گروه تجربی ۱ و گروه تجربی ۲ ($p < 0.05$)

۱/۳۴ ± ۲۱/۹۹) نسبت به گروه تجربی ۱ (میانگین ng/ml
 ۱/۰۱ ± ۱۵/۳۹) و تجربی ۲ (میانگین ng/ml
 ۱/۲۵ ± ۱۶/۴۶) افزایش معنی‌داری پیدا کرد ($p < 0.05$). ولی
 در گروه‌های تجربی ۳ با وجود افزایش جزئی در سطح
 هورمون پروژسترون، اختلاف معنی‌داری نسبت به گروه‌های
 شم و MS مشاهده نشد.

هم‌چنین نتایج حاصل از تحلیل داده‌های این
 مطالعه نشان داد کوپریزون باعث کاهش سطح پروژسترون
 گردید (میانگین ng/ml ۲۳/۶۵ ± ۰/۷۸ در برابر ng/ml
 ۱۵/۳۹ ± ۱/۰۱). با دریافت عصاره‌ی هیدروالکلی قارچ
 دنبلان (TB) در مدت ۱۲ روز، طبق نمودار ۲ میانگین
 غلظت هورمون پروژسترون در گروه تجربی ۴ (میانگین
 ng/ml ۲۱/۲۵ ± ۱/۰۸) و گروه تجربی ۵ (میانگین



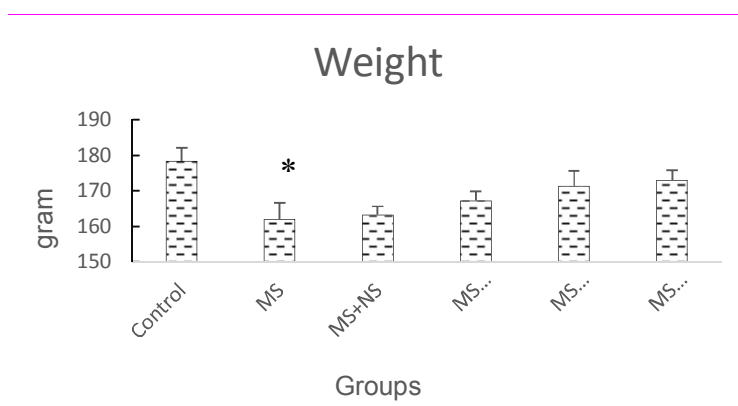
نمودار ۲. تاثیر غلظت‌های مختلف عصاره‌ی هیدروالکلی قارچ دنبلان بر سطح سرمی هورمون پروژسترون (نانوگرم بر میلی‌لیتر) در موش صحرائی ماده

* نشان دهنده‌ی اختلاف معنی‌دار ($p < 0.01$) گروه کنترل نسبت به گروه تجربی ۱ و گروه تجربی ۲

نشان دهنده‌ی اختلاف معنی‌دار ($p < 0.05$) گروه‌های تجربی ۴ و ۵ نسبت به گروه تجربی ۱ و گروه تجربی ۲

این که افزایش جزئی وزن داشتیم ولی این افزایش وزن به طور معنی داری نبود (نمودار ۳). گرچه احتمال عوارض عصاره با دوزهای بالاتر وجود دارد ولی در طول تحقیق سمیت اثر گذار از قارچ دنبان کوهی بر روی موش های صحرائی مشاهده نشد.

در بررسی نتایج حاصل از تحلیل داده های این مطالعه بر تغییرات وزن بدن حیوانات مورد آزمایش، گروه تجربی ۱ نسبت به گروه کنترل (میانگین $178/50 \pm 3/59$ گرم در برابر $162/04 \pm 4/58$ گرم) کاهش وزن معنی داری داشت ($p < 0/05$). ولی در هیچ یک از گروه های تجربی دریافت کننده عصاره نسبت به گروه تجربی ۱ با وجود



نمودار ۳. تاثیر غلظت های مختلف عصاره ی هیدروالکلی قارچ دنبان بر میانگین وزن موش های صحرائی * نشان دهنده ی اختلاف معنی دار ($p < 0/05$) گروه کنترل نسبت به گروه تجربی ۱

بحث

تعدیل فرآیند التهابی می تواند بر بیماری تاثیر گذار باشند (۲۳).

یکی از راه های درمان در بیماری های مختلف، طب مکمل است (۲۶) با توجه به ترکیبات موجود در قارچ دنبان، در این مطالعه اثر این قارچ بر روی هورمون استروژن و پروژسترون در مدل تجربی ام اس انجام گرفت. نتایج این مطالعه نشان داد که هورمون استروژن و پروژسترون افزایش یافت. که مطابق با نتایج مطالعات گذشته بر روی گیاهانی است که ترکیباتی نزدیک به قارچ دنبان دارند. یکی از نتایج این تحقیق کاهش استروژن و پروژسترون در مدل ام اس است که با پژوهش های قبلی همخوانی دارد (۱۸).

از نتایج این تحقیق افزایش سطح استروژن می باشد. گیاهانی که خاصیت استروژن زایی دارند با اثر بر محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گناد(غیر مستقیم) یا با اثر بر

در بیماری ام اس و در سنین بالاتر، زنان در مقایسه با مردان بسیار سریعتر در برابر بیماری احساس ضعف و ناتوانی می کنند که همزمان با دوره منوپوز زنان است و با کاهش استروژن و پروژسترون همراه است (۲۲) هم چنین در بیماران ام اس بخشی از تفاوت بین زنان و مردان به هورمون های جنسی بر می گردد که درمان با هورمون های استروژن پروژسترون و تستسترون مورد توجه قرار گرفته است (۲۳).

پژوهش های گذشته نشان داده است که فعالیت بیماری ام اس تحت تاثیر استروژن و پروژسترون قرار می گیرد که تغییر در میزان هورمون ها با درمان بیماری رابطه دارد (۲۴) زیرا این هورمون ها بر عملکرد ساخت و ترمیم میلین و حفاظت عصبی موثر است (۲۵) و این که مطالعات نشان می دهد که استروژن پروژسترون و تستسترون با

تولید در کبد به مایع فولیکولی رفته و بر بلوغ فولیکول اثر می‌کند (۳۵-۳۶) و از طرفی فرولیک اسید یکی از ترکیبات فعال موجود در دنبلان است (۱۴) پس احتمال دارد یکی از مکانیسم افزایش سطح پروژسترون همین مسیر باشد.

نتیجه‌گیری

نتایج به دست آمده در این پژوهش نشان داد که، قارچ دنبلان بر وزن موش‌های مورد پژوهش تأثیر معناداری نداشت ولی توانست سطح هورمون‌های استروژن را در مقادیر 220 mg/kg و پروژسترون را در مقادیر 330 mg/kg و 220 و 330 افزایش دهد. با توجه به این نتایج احتمالاً می‌توان از این قارچ در بیماران مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس جهت تسکین بیماری و افزایش هورمون‌های جنسی استفاده نمود. پیشنهاد می‌شود سطح هورمون‌های هیپوتالاموسی و هم‌چنین بیان ژنی که بر هورمون‌های استروژن و پروژسترون موثر هستند در مطالعات بعدی اندازه‌گیری شود و هم‌چنین با توجه به افزایش سطح پروژسترون با دوز 330 mg/kg پیشنهاد می‌شود دوزهای دیگری هم مورد مطالعه قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

این طرح با کد شناسایی ۹۶۰۳ تصویب و در دانشگاه علوم پزشکی اردبیل انجام شد. نویسندگان مقاله بر خود لازم می‌دانند از کمک مدیر گروه محترم فیزیولوژی جناب آقای دکتر پناهپور واز معاونت پژوهشی دانشگاه به دلیل حمایت مالی از این پژوهش تقدیر و تشکر داشته باشند.

منابع

1. Bradley WJ. Neurologie in clinical practice: Philadelphia Butterworth-Heineman Medical Ppublications 2004: 3:1637-59..
2. Jules L, Dienstag K, Urt J, Issel Bacher. Harrisons Participles of Internal Medicine 16th ed. New York: McGraw-Hill; 2005. 2461-70.
3. Lilius HG, Valtonen Ej, Wikstrom J. Sexual problems in patients suffering from

تخمندان (مستقیم) موثر واقع می‌شوند یکی از منابع فیتواستروژنی ایزوفلاون‌ها است که بر استروژن خون تأثیر می‌گذارد (۲۷) که احتمال دارد دنبلان با دارا بودن منابع غنی از فلاونوئیدها (۱۴) باعث افزایش در سطح هورمون استروژن شده است. قارچ دنبلان دارای ترکیباتی مختلفی از جمله بتا سیسترونول می‌باشد (۲۸) که این ترکیبات فعالیت بیولوژیک استروژن‌زایی دارند با توجه به مطالعات گذشته بتا سیسترونول نقش مهمی در افزایش استروژن ایفا می‌کند (۲۹). پس احتمال دارد یکی دیگر از مکانیسم‌های افزایش سطح استروژن در استفاده از دنبلان همین باشد. البته در دوز بالاتر سطح استروژن کاهش یافته است با توجه به این که فیتواستروژن‌ها ساختاری شبیه به استرادیول دارد به عنوان استروژن و آنتی استروژن عمل می‌کند (۲۷) که کاهش در دوز بالا را می‌توان به خاصیت آنتی استروژنی مرتبط دانست.

از دیگر نتایج این طرح افزایش سطح پروژسترون است. با توجه به این که برای اتصال به آلبومین مابین اسید چرب و پروژسترون رقابت وجود دارد که این رقابت منجر به افزایش پروژسترون پلاسما می‌شود احتمال دارد در مطالعه ما که دنبلان اسید چرب فراوان دارد با این مکانیسم باعث افزایش سطح آزاد پروژسترون شده است که این یافته با پژوهش‌های گذشته مطابقت دارد (۳۰-۳۱).

Khaled A و همکارانش دریافتند که تجویز عصاره دنبلان به صورت خوراکی بر علیه دیابت محافظت ایجاد می‌کند چون TB عوارض جانبی نداشت احتمال داده شد که با آزادی هورمون انسولین از سلول‌های بتای پانکراس به عنوان ضد دیابتی عمل می‌کند (۳۲). مطالعه بر روی موش‌های دیابتی که اسید فرولیک دریافت کردند نشان داد که قند خونشان با افزایش انسولین کاهش یافت (۳۳) و اسید فرولیک با بالا بردن سطح انسولین (۳۳-۳۴) و هم‌چنین IGF-1 در پاسخ دادن تخمدان به هورمون محرک فولیکولی و به دنبال آن افزایش سطح پروژسترون تأثیر گذار می‌باشند. با توجه به این که مطالعات قبلی نشان داده است که عامل رشد شبه انسولینی IGF-1 بعد از

13. Hamza, A., et al., Nutraceutical potential, antioxidant and antibacterial activities of *Terfezia boudieri* Chatin, a wild edible desert truffle from Tunisia arid zone. *Arabian Journal of Chemistry*, 2013.
14. Dođan, H. and S. Aydin, Determination of antimicrobial effect, antioxidant activity and phenolic contents of desert truffle in Turkey. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 2013. 10(4): p. 52-58.
15. Dundar, A., et al., Antioxidant properties, chemical composition and nutritional value of *Terfezia boudieri* (Chatin) from Turkey. *Food Science and Technology International*, 2012. 18(4): p. 317-328.
16. Galluzzo, P. and M. Marino, Nutritional flavonoids impact on nuclear and extranuclear estrogen receptor activities. *Genes & nutrition*, 2006. 1(3-4): p. 161-176.
17. Elham R, Mina T, Mahnaz T. Protective Effect of Aloe Vera Alcoholic Extract Gel on Changes of Estrogen and Progesterone in Experimental Model Rats with MS. *Par J Med Sci* 2015;13(3):45-50.
18. Grinsted L, Heltberg A, Hagen C, Djursing H. Serum sex hormone and gonadotropin concentrations in premenopausal women with multiple sclerosis. *J Intern Med* 1989; 226(4):241-244.
19. Marcondes F, Bianchi F, Tanno A. Determination of the estrous cycle phases of rats: some helpful considerations. *Brazilian Journal of Biology*. 2002;62(4A):609-14.
20. Torkildsen O, Brunborg LA, Myhr KM, Bø L. The cuprizone model for demyelination. *Acta Neurol Scand* 2008; 188(Suppl): 72-76.
21. Walf AA, Frye CA. The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents. *Nature protocols*. 2007;2(2):322-8.
22. Confavreux C, Vukusic S. Age at disability milestones in multiple sclerosis. *Brain journal*. 2006;129:595- 605
- Multiple Sclerosis. *Journal of Chronic Disease* 1976; 29:643-647.
4. Nabavi S, Poorfarzam S, Ghassemi H. Clinical course and prognosis of 203 patients with MS in shahid Mustafa Khomeini Hospital, Tehran 2002. *Tehran Univ Med J* 2006; 64 (7): 90-7.
5. Elhami SR, Mohammad K, Sahraian MA, Eftekhari H. A 20-year incidence trend (1989-2008) and point prevalence (March 20, 2009) of multiple sclerosis in Tehran, Iran: a population-based study. *Neuroepidemiology* 2011; 36: 141-47.
6. Massaro, D., Massaro, GD. (2004). Estrogen regulates pulmonary alveolar formation, loss, and regeneration in mice. *American Journal of Physiology* , 287 (6); 1154-1159.
7. Adlercreutz H, Mazur W. Phytoestrogens and western diseases. *Ann Med* 1997; 29(2): 95- 120.
8. Jalkanen A, Alanen A, Airas L, Group FMSaPS. Pregnancy outcome in women with multiple sclerosis: results from a prospective nationwide study in Finland. *Mult Scler* 2010; 16(8):950-5.
9. Complementary and Alternative Medicines, 2013. 10(4): p. 52-58.
- 9 Dođan, H. and S. Aydin, Determination of antimicrobial effect, antioxidant activity and 9. phenolic contents of desert truffle in Turkey. *African Journal of Traditional*,
10. Hannan, M.A., et al., Mutagenic and antimutagenic factor (s) extracted from a desert mushroom using different solvents. *Mutagenesis*, 1989. 4(2): p. 111-114.
11. among native Bahraini and non-Bahraini peoples of the Kingdom of Bahrain. *Journal of ethnopharmacology*, 2007. 110(1): p. 118-129.
12. Mandeel, Q.A. and A.A.A. Al-Laith, Ethnomycological aspects of the desert truffle
12. Shakshak KA, Afan AM, Auzi AA, Hamrouni AM. The Hypoglycemic Effect of Libyan Truffle “*TerfeziaBoudieri*” in Experimentally Induced Diabetic Rats. *Tripolitana Medical Journal*. 2014;3(1):1-4.

30. falahi m. stage of growth and development package dactylifera, 1 ed. Publication branava.199; p: 55.
31. Majd r, amini ma. Theory condition date stat fars office authority. Ecology eftat furs. 1999.[farsi]
32. Khaled A. Shakshak The Hypoglycemic Effect of Libyan Truffle "Terfezia Boudieri" in Experimentally Induced Diabetic Rats Tripolitana Medical Journal (2014) Vol. 3, No. 1, pp. 1-4.
33. Nomura H. Acceleration of ferulic acid and related compounds on insulin secession. Research report of Wakayama industrial technology center; 2001: 17-9.
34. Asgary S, Naderi GA, Zadegan NS. The inhibitory effects of pure flavonoids on in vitro protein glycosylation. J Herb Pharmacother 2002;2(2):47-55.
35. Park JY, Su YQ, Ariga M. EGF-like growth factors as mediators of LH action in the ovulatory follicle. Sci 2004; 303(5658):682-4.
36. Hasanpoor K, Mamoei M, Asghari Moghadam M, et al. The effect of ovarian follicular size and estrous cycle on IGF-1, insulin and glucose levels of follicular fluid and blood serum in Khuzestan hybrid cattle. Iranian Vet J 2013;9(3):36-42. (Persian)
23. Gold SM, Voskuhl RR. Estrogen treatment in multiple sclerosis. journal Neurol sciences .2009;286:99-103.
24. Bansil S, Lee HJ, Jindal S, et al. Correlation between sex hormones and magnetic resonance imaging lesions in multiple sclerosis. Acta Neural Scand 1999; 99(2): 91-4.
25. Nicot A. Gender and sex hormones in multiple sclerosis pathology and therapy. Front Bio journal sciences. 2009;14(44):77-515.
26. Heidarifar R, Mehran N, Momenian S, Mousavi SM, Kouhbor M, Hajiali Gol A. A Study of the status of use of drug plants and its related factors in Qom City, Iran. Qom Univ Med Sci J 2013;7(4):95-100. [Full Text in Persian]
27. Yildiz F (2005) Phytoestrogens in functional foods. Taylor and Francis Ltd, UK. P. 336.
28. S.S. Dahham et al. Antioxidant, anticancer, apoptosis properties and chemical composition of black truffle Terfezia claveryi Journal of Biological Sciences (2016), doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.01.031
29. Hafez e. reproduction and breeding techniques for laboratory animal. Lea and febiger.1980; pp 299-316.