مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی- مولکولی
دوره چهارم، شماره چهاردهم، بهار ۱۳۹۳

NCMBJ
Research Article
مقاله تحقیقی

بررسی تاثیر عصاره هیدرواکسی گزنه بر تغییرات هورمون تستورون و اسپرماتوژتر در موش صحرایی

علی قربانی رنجبری[1*]، نازنین قربانی رنجبری[1,2]، زهرا قربانی رنجبری[2]، ستایش قربانی رنجبری[1]

[1] باشگاه پژوهشگران جوان، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران.
[2] دانشکده شیلات و منابع طبیعی، دانشگاه بین المللی خرمشهر

مقدمه و هدف: افزایش بی رویه جمعیت در جهان امروز یک مساله پیچیده و بحرانی برای آینده است. هم چنین شواهد نشان از افزایش گیاهان قابل دسترس و سودمندی دارد که دارای پتانسیل ضد باروری و تنظیم کننده تولیدمثل در مردان هستند.
باتوجه به ترکیبات موجود در گزنه و کاربرد گسترده آن، اطلاعات اندکی در مورد تاثیر عصاره گزنه بر بیضه وجود دارد. لذا در تحقیق حاضر تاثیر عصاره هیدروالکلی گیاه گزنه (*Urtica dioica*) بر محور هیپوفیز- گناد یعنی میزان هورمون های LH, FSH و تستوسترون و اسپرماتوژنز و بافت شناسی بیضه ها مورد بررسی قرار گرفت.

روش کار: ۴۰ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار با وزن تقریبی ۵±۱۹۵ گرم به ۵ گروه ۸ تایی تقسیم شدند. حیوانات گروه های تجربی به ترتیب مقادیر ۷۵، ۲۵، ۵۰ میلی گرم بر کیلو گرم عصاره گزنه را به صورت داخل صفاقی به مدت ۲۸ روز دریافت کردند. گروه شاهد فقط حلال دارو (آب مقطر) دریافت کرد و گروه کنترل بجز آب و غذا هیچ ماده ای دریافت نکرد. از تمام گروه ها در پایان روز ۲۸ خونگیری به عمل آمد. از نمونه های خونی جمع آوری شده برای اندازه گیری غلظت سرمی هورمونهای LH, FSH و تستوسترون استفاده شد. هم چنین از بیضه ها مقاطع بافتی تهیه گردید و تغییرات بافتی بین گروه های تجربی و کنترل نیز بررسی شد. نتایج به دست آمده با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه ANOVA و t-test ارزیابی شد.

نتایج: نتایج به دست آمده نشان می دهد، میزان ۷۵ میلی گرم بر کیلوگرم از عصاره هیدروالکلی گزنه، سطح تستوسترون سرم خون را در مقایسه با گروه کنترل در سطح آماری $p\leq ۰/۰۵$ بطور معنی داری کاهش می دهد. میزان هورمون های FSH وLH بین گروه های تجربی و کنترل اختلاف معنی داری نشان نداد. بررسی مقاطع بافتی نشان می دهد تراکم اسپرم، تعداد سلولهای اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت اولیه، اسپرماتید و لایدیگ در گروه تجربی دریافت کننده ۷۵میلی گرم بر کیلوگرم کاهش معنی داری نسبت به گروه کنترل دارد. همچنین وزن بدن و وزن بیضه ها در گروه های دریافت کننده میزان ۷۵ و۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم از عصاره هیدروالکلی گیاه گزنه در مقایسه با گروه کنترل نیز در سطح آماری $p\leq ۰/۰۵$ دارای کاهش معنی دار می باشد.

نتیجه گیری: با توجه به نتایج به دست آمده و بررسی دیگر محققین احتمالا عصاره گزنه با دارا بودن ترکیبات فیتواسترول و فیتواستروژنی خاصیت ضد آندروژنی داشته و میزان تستوسترون را کاهش می د هد. در بررسی بافت شناسی تغییرات مورفولوژیکی در لوله های اسپرم ساز، تخریب سلول های بینابینی و نیز تحلیل اپیتلیوم زاینده اسپرم ساز مشاهده شد.

کلمات کلیدی: گزنه، تستوسترون،LH, FSH ، اسپرماتوژنز

مقدمه:

افزایش بی رویه جمعیت در جهان به خصوص در کشورهای در حال توسعه مساله پیچیده ای است که امروزه بشر با آن روبروست. این رشد بی رویه جمعیت عمدتا ناشی از بالابودن باروری و ناکارایی داروها وسایل جلوگیری ازحاملگی است. با توجه به عوارض جانبی داروهای شیمیایی توجه بسیاری از محققین به سمت استفاده از گیاهان دارویی معطوف گشته

آدرس نویسنده مسئول : باشگاه پژوهشگران جوان، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران.
Email :dr_alighorbani87@yahoo.com
تاریخ دریافت مقاله: ۹۱/۶/۲۶
تاریخ پذیرش: ۹۲/۳/۱۲

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-04-25]
[DOR: 20.1001.1.22285458.1393.4.14.4.9]

است (۹). گزنه گیاهی است علفی، چند ساله و دارای ساقه های راست به ارتفاع ۵/. تا یک متر و حتی بیشتر که غالباً در اماکن مخروبه، باغها و نقاط مرطوب خارج شهر، به حالت خودرو می روید و شامل واریته های *Urtica dioica* ، *U.urens* ، *U.pilulifera* ، *U. membranacea Poire* ، *U. cannabinal*، *U.kiovensis Rogoff*، *L* می باشد. در بین این واریته های مختلف *Urtica dioica* و *U.urens L* به عنوان گیاهان داروئی از زمان های بسیار دور مورد توجه قرار داشته اند(۱۵، ۲۳). گزنه اعضای پوشیده از تارهای مخروطی شکل و گزنده دارد که در صورت لمس کردن ، محتویات سوز آور آن در پوست بدن وارد می گردد که تولید خارش و سوزش می کند و شاید به همین دلیل آن را گزنه نامیده اند. ترکیبات موجود دراندام های مختلف گیاه گزنه (۴و۱۴) در جدول شماره۱ آورده شده است.

جدول ۱- ترکیبات موجود در گیاه گزنه

ترکیبات موجود در گیاه گزنه	میزان بر حسب ppm
آلفا- توکوفرول	۱۶-۹۴
آلومینیوم	۶۲-۳۴۵
ارسنیک	۰/۰۲-۰/۱۱
اسکوربیک اسید	۸۳۰
بتا کاروتن	۹۴-۲۰۲
بور	۶-۳۶
برم	۲۰-۱۱۰
کلسیم	۵۹۴۰-۳۳۰۰۰
کربوهیدرات	۳۹۶۰۰۰
سلولز	۱۰۳۰۰۰
کلر	۲۷۰۰
کلروفیل	۸۰۰-۱۰۰۰۰
کروم	۰/۱۸-۱
کبالت	۰/۰۳-۰/۱۶
مس	۲-۱۵
چربی	۲۳۰۰۰-۳۴۰۰۰
فلوئور	۱/۴-۷/۸
گلیسرول	۶۹۷۵-۹۰۴۵
آهن	۴۴-۴۱۸
سرب	۱-۶
لینولئیک اسید	۱۱۴۲۳۵-۱۴۸۱۳۷
لینولنیک اسید	۲۶۳۵-۳۴۱۷
منیزیم	۸۶۰-۸۶۰۰
منگنز	۳۱-۱۷۲
جیوه	۰/۰۰۵-۰/۰۲۸
نیتروژن	۱۰۰۰۰-۵۵۵۵۵۵
اولئیک اسید	۱۷۸۲۵-۲۳۱۱۵
پالمتیک اسید	۱۰۰۰۰-۱۳۵۰۰
پنتوتنیک اسید	۱۰
فسفر	۹۲۰-۶۸۰۰
پتاسیم	۶۷۰۰-۳۷۲۲۰
پروتئین	۱۰۲۰۰۰-۳۰۴۰۰۰
ریبوفلاوین	۴-۱۵
سروتونین	۲۰۰
سیلیسیوم	۱۱۷۰-۶۵۰۰
سدیم	۴۹-۱۴۰۰
سولفور	۱۲۰۰-۶۶۶۵
تیامین	۰/۸-۵/۴
آب	۸۸۲۰۰۰
روی	۱۷-۹۵

در طب سنتی از گیاه گزنه به عنوان تقویت کننده مو، دستگاه هاضمه، ادرارآور ، بند آوردن خونریزی و درمان بیماری قند نیز استفاده شده است. برای بر طرف کردن درد رماتیسم، برگ های تازه گزنه را روی پوست می مالند (۲۶، ۱۴ ، ۳ ، ۱). عصاره گزنه دارای ترکیباتی مانند پالمتیک اسید، لینولئیک اسید، فرولیک اسید، اسکوپلتین، سروتونین، سیتوسترول و... می باشد. کومارین نیز یکی از ترکیبات موجود می باشد که داروی کشنده جانوران جونده مثل موش محسوب می شود که به طور وسیعی به ۳ و ۴ کومارین اپوکسید متابولیزه می شود که این ترکیب باعث خونریزی داخلی می شود. کومارین ضد میتوز، مهار کننده آلدوز ردوکتاز، مهار کننده سنتز پروستاگلاندین ها، مهار کننده لیپواکسیژناز و ضد باروری می باشد (۱۸). با توجه به اینکه بررسی هایی در زمینه اثر عصاره گزنه بر فعالیت تولیدمثلی جنس نر و عملکرد بیضه صورت نگرفته است. در این تحقیق تاثیر عصاره هیدروالکلی گیاه گزنه (*Urtica dioica*) بر میزان هورمون های LH,FSH و تستوسترون و نیز تغییرات بافت بیضه در موش صحرایی نر بالغ مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش کار

تهیه گیاه و عصاره گیری

ابتدا قسمت هوایی گیاه گزنه از اطراف شهرکازرون- فارس جمع آوری شد. پس از تمیز کردن در سایه به مدت دو هفته خشک شد. سپس به کمک آسیاب برقی پودر گردید. ۹۰۰ گرم پودر از این گیاه را در ظرف شیشه ای درب داری ریخته و به میزان مساوی اتانول ۹۶٪ و آب مقطر اضافه گردید و به مدت چهار روز خیسانده شد. طی این مدت بطور متناوب محتویات ظرف با استفاده از همزن مرتباً هم زده شد تا عصاره در الکل بطور کامل حل شود. سپس آن را صاف کرده، عصاره هیدروالکلی توسط دستگاه سانتریفیوژ با دور ۴۵۰ در دقیقه به مدت ۸ دقیقه سانتریفیوژ گردید. مایع حاصل در ظروف در باز قرار داده شد تا الکل آن تبخیر شد. سرانجام یک شیره سبز رنگ غلیظ بدست آمد که برای تغلیظ بیشتر، عصاره در درجه حرارت ۵۰-۴۰ درجه سانتی گراد در اون قرار گرفت. در مرحله بعد مقادیر مورد نظر در آب مقطر حل شد تا اینکه غلظت های مختلف به

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-04-25]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1393.4.14.4.9]

دست آمد (۱۸).

حیوانات موردآزمایش و تعیین گروه تجربی

در این بررسی تجربی ۴۰ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با وزن تقریبی ۵±۱۸۵ گرم از موسسه سرم سازی رازی شیراز تهیه گشت. به حیوانات پس از انتقال به خانه پرورش حیوانات دانشکده دامپزشکی کازرون یک هفته فرصت داده شد تا با محیط سازگاری پیدا کنند. این حیوانات در شرایط ۱۲ساعت روشنایی/۱۲ساعت تاریکی قرار گرفتند و پس از رسیدن به وزن تقریبی ۵±۱۹۵ گرم به ۵ گروه ۸ تایی تقسیم شدند. حیوانات گروههای تجربی به ترتیب مقادیر ۲۵،۵۰،۷۵ میلی گرم بر کیلو گرم عصاره گزنه را به صورت داخل صفاقی به مدت ۲۸ روز دریافت کردند. گروه شاهد فقط حلال دارو (آب مقطر) دریافت کرد و گروه کنترل بجز آب و غذا هیچ ماده ای دریافت نکرد.

روش تجویز عصاره گزنه

عصاره گزنه پس از حل کردن در آب مقطر استریل با غلظت های مناسب هر روز یک مرتبه به مدت ۲۸روز تزریق شد برای تجویز عصاره گزنه از سرنگ های انسولینی استفاده شد. تجویز دارو به صورت داخل صفاقی بود (۵).

گروه کنترل: شامل ۸ سر حیوان بود و به عنوان گروه کنترل گروه بندی شدند. در این گروه کلیه شرایط با سایر گروه ها یکسان بود با این تفاوت که حیوانات این گروه به جز آب و غذا هیچ ماده یا دارویی را دریافت نکردند.

گروه شاهد: شامل ۸ سر حیوان بود و به عنوان گروه شاهد گروه بندی شدند. حیوانات این گروه روزانه مقدار ۰/۲ میلی لیتر آب مقطر به عنوان حلال دارو به صورت تزریق داخل صفاقی دریافت کردند. گروه های تجربی که عصاره گیاه را در غلظت ۲۵،۵۰ و ۷۵ میلی گرم بر کیلوگرم دریافت کردند (n=۸) (۵).

روش خون گیری از حیوانات و خارج کردن بیضه ها

از تمام حیوانات در روز بیست و نهم (یک روز بعد از مصرف آخرین وعده دارویی) بوسیله بیهوشی خفیف با اتر، خونگیری از ناحیه قلب انجام شد. سپس خون موجود در سرنگ بسرعت داخل لوله آزمایش کوچک که فاقد هر گونه ماده ضد انعقاد بود، منتقل شد. از کلیه موشها به همین روش خونگیری شد، حدود ۱۵ دقیقه بعد لوله های جمع آوری شده را در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد قرار داده و پس از وقوع انعقاد لوله ها داخل سانتریفیوژ به مدت ۱۵ دقیقه و با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه قرار داده شد؛ سپس لوله ها از سانتریفیوژ خارج، و سرم خون که فاز جداگانه ای روی بخش لخته شده تشکیل داده، با دقت فراوان به کمک پی پت پاستور جدا گردید و داخل لوله آزمایش معمولی ریخته شد و تا زمان سنجش های هورمونی در دمای منفی ۲۰ درجه سانتیگراد نگهداری شد. همچنین با ایجاد برش در ناحیه شکم، با احتیاط و به آرامی بیضه ها و اپیدیدیم را به وسیله پنس و قیچی خارج کرده ودر محلول فیکساتور فرمالین با PH= ۷ قرار گرفت.

اندازه گیری هورمون ها به روش رادیوایمونواسی[1] و تهیه مقاطع بافتی

برای سنجش هورمونها از روش RIA استفاده گردید. RIA روشی است که برای مقاصد تحقیقی روزمره کاربرد دارد. این روش از لحاظ قدرت تکرارپذیری و سادگی در پیشرفت بوده است. برای این کار سرم خون فاقد مواد نشاندار (آنتی ژن غیر نشاندار) در ظرفی ریخته و سپس هورمون نشاندار شده با I_{125} (آنتی ژن نشاندار) به آن اضافه گردید. هر دوی این آنتی ژنها برای اتصال به آنتی بادی نشاندار استاندارد که به محلول اضافه شده است، با یکدیگر رقابت می کنند. اما ابتدا آنتی بادی به آنتی ژن غیر نشاندار متصل شده و اضافه آن به آنتی ژن نشاندار متصل می شود. محلول بالایی موجود در ظرف را که حاوی آنتی ژن نشاندار آزاد و آنتی ژن غیر نشاندار متصل به آنتی بادی است را دور ریخته و رسوب که حاوی آنتی ژن نشاندار متصل به آنتی بادی است، در ته ظرف باقی می ماند. رسوب در داخل دستگاه گاماکانتر قرار داده شده خوانده می شود. حال عدد خوانده شده، نشان دهنده میزان آنتی ژن رادیو اکتیو متصل شده می باشد. یعنی هر چه عدد بیشتری خوانده شود، میزان هورمون اصلی درون سرم کمتر است، زیرا باعث شده مقدار بیشتری از آنتی ژنهای نشاندار به آنتی بادی استاندارد و نشاندار متصل شود (۱۶، ۱۰). آماده سازی و تهیه مقاطع بافتی با استفاده از رنگ آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین انجام شد. مقاطع بافتی تهیه شده از بیضه های راست و چپ با استفاده از میکروسکوپ و فتومیکروگراف بررسی شد و شاخص های زیر مورد بررسی قرارگرفت. در هر اسلاید که برش عرضی

۱ 1-Radio Immuno assay (RIA)

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-04-25]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1393.4.14.4.9]

بافت بیضه را نشان می داد، ابتدا کل بافت از نظر تراکم لوله های اسپرم ساز و همچنین مورفولوژی، مورد بررسی قرار گرفت، سپس از ۵ قسمت مختلف بافت، بطور تصادفی ۵ لوله اسپرم ساز انتخاب گردید و در هر کدام ۱/۴ لوله در نظر گرفته شد و تعداد سلولهای اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیست I و اسپرماتید شمارش شد و نتیجه حاصل، در عدد ۴ ضرب گردید تا تعداد کل این سلولها در یک لوله بدست آید، سپس میانگین اعداد بدست آمده در ۵ لوله برای هر رده سلولی ، حساب شد. همچنین تراکم اسپرمها در لوله های اسپرم ساز انتخاب شده ، مورد مطالعه قرار گرفت و نیز تعداد سلولهای بینابینی بین این لوله ها و لوله های مجاور شمارش شد و میانگین آنها نیز بدست آمد.

آنالیز آماری

به منظور آنالیز آماری نتایج و مقایسه اختلاف میانگین وزن حیوانات قبل و بعد از آزمایش در هر گروه و بین گروههای مختلف و همچنین به منظور اختلاف میانگین وزن بیضه های چپ و راست ، در پایان دوره آزمایش در هر گروه و بین گروههای مختلف از روشهای T-Test و ANOVA استفاده شد. به منظور ارزیابی میانگین غلظت هورمونهای تستوسترون ، LH و FSH در پنج گروه از روش ANOVA استفاده شد و سپس گروهها به صورت جفت با کمک روشهای Duncan و Tukey مقایسه گردید. به منظور مقایسه میانگین تعداد سلولهای اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیست اولیه، سرتولی و بینابینی از روشهای T-Test ، ANOVA ، Tukey ، Dunca و Post Hoc Test استفاده شد. تمامی تجزیه و تحلیل ها با استفاده از برنامه ۱۷SPSS انجام گرفت. کلیه نتایج بصورت ($\overline{X}$ ± SEM) و سطح معنی دار بودن نتایج ، حداقل با $p \leq ۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

نتایج:

تاثیر عصاره گزنه بر وزن بدن

تغییرات وزن بدن بعد از انجام آزمایش در گروههای مختلف در جدول ۲ نشان داده شده است. میانگین وزن بدن در گروه تجربی ۲ با دوز mg/kg ۵۰و در گروه تجربی ۳ با دوز mg/kg ۷۵ نسبت به میانگین وزن بدن در گروه کنترل و گروه شاهد کاهش معنی داری را در سطح۰۵ /۰ ≤ p نشان می دهد. همچنین میانگین وزن بیضه های راست و چپ در گروه تجربی ۲ با دوز mg/kg ۵۰ و در گروه تجربی ۳ با دوز mg/kg ۷۵ نسبت به میانگین وزن بیضه های راست و چپ در گروه کنترل و گروه شاهد کاهش داشته که در سطح ۰۵/۰ ≤p دارای اختلاف معنی داری می باشد.

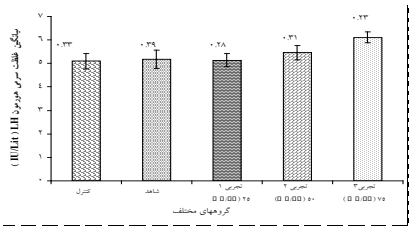
جدول :۲ مقایسه میانگین وزن بدن در گروههای تجربی دریافت کننده مقادیر مختلف عصاره گزنه در مقایسه با گروه کنترل

گروههای مختلف مورد آزمایش	تعداد حیوانات در هر گروه	میانگین وزن بدن بر حسب گرم±خطای معیار ($\overline{X}$ ± SEM)
کنترل	۸	۲۰۹/۷±۵/۱
شاهد	۸	۲۰۰/۲±۴/۵
دوزحداقل(۲۵ mg/ kg)	۸	۲۰۰/۰±۴/۸
دوزمتوسط (۵۰ mg/ kg)	۸	۱۷۲/۵۰±۴/۲ *
دوزحداکثر(۷۵ mg/ kg)	۸	۱۵۵/۶۲±۳/۷ *

* ($p \leq ۰/۰۵$)

علامت * نشان دهنده اختلاف معنی دار بین گروههای تجربی با گروه کنترل است .

نمودار شماره ۱ تغییرات غلظت سرمی هورمون LH را در گروههای مختلف نشان می دهد میانگین غلظت پلاسمایی هورمون LH در گروه تجربی ۲ با دوز mg/kg ۵۰ و در گروه تجربی ۳ با دوز mg/kg ۷۵ نسبت به میانگین غلظت پلاسمایی در گروه کنترل و گروه شاهد افزایش داشته که در سطح ۰/۰۵ ≤ p دارای اختلاف معنی دار نمی باشد. تغییرات غلظت سرمی هورمون FSH را در گروههای مختلف نشان می دهد میانگین غلظت پلاسمایی هورمون FSH در گروه تجربی ۱ با دوز mg/kg ۲۵ ودر گروه تجربی ۲ با دوز mg/kg ۵۰ و در گروه تجربی ۳ با دوز mg/kg ۷۵ نسبت به میانگین غلظت پلاسمایی هورمون FSH در گروه کنترل و گروه شاهد اختلاف معنی داری در سطح۰۵/۰ ≤ p نشان نمی دهد.



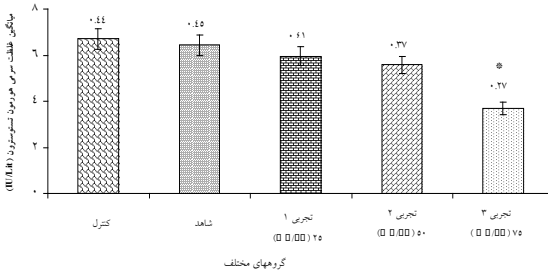
نمودار ۱ میانگین غلظت سرمی هورمون LH در گروههای تجربی دریافت کننده مقادیر مختلف عصاره گزنه در مقایسه با گروه کنترل

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-04-25]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1393.4.14.4.9]

تاثیر عصاره گزنه بر غلظت سرمی هورمون تستوسترون

نمودار شماره ۲ تغییرات غلظت سرمی هورمون تستوسترون را در گروههای مختلف نشان می دهد. میانگین غلظت سرمی هورمون تستوسترون در گروه تجربی ۳ با دوز ۷۵ mg/kg نسبت به میانگین غلظت سرمی هورمون تستوسترون در گروه کنترل و گروه شاهد کاهش داشته که در سطح $p \leq ۰/۰۵$ دارای اختلاف معنی داری می باشد.



نمودار ۲ میانگین غلظت سرمی هورمون تستوسترون در گروههای تجربی دریافت کننده مقادیر مختلف عصاره گزنه در مقایسه با گروه کنترل

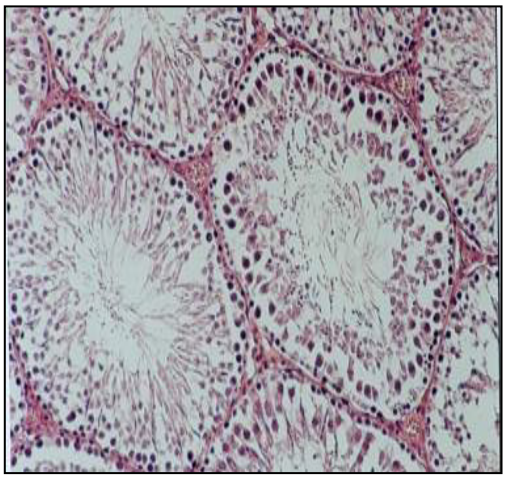
تاثیر عصاره گزنه بر تعداد سلولهای بافت بیضه

میانگین تعداد سلولهای اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت اولیه، سلولهای اسپرماتید و سلولهای بینابینی در گروه تجربی ۳ با دوز ۷۵ mg/kg نسبت به میانگین تعداد سلولهای اسپرماتوگونی در گروه کنترل و گروه شاهد کاهش داشته که در سطح۰/۰۵ $p \leq$ دارای اختلاف معنی داری می باشد. اما میانگین تعداد سلولهای سرتولی در گروه تجربی ۱ با دوز ۲۵ mg/kg ودر گروه تجربی ۲ با دوز ۵۰ mg/kg و در گروه تجربی ۳ با دوز ۷۵ mg/kg نسبت به میانگین تعداد سلولهای سرتولی در گروه کنترل و گروه شاهد اختلاف معنی داری در سطح۰/۰۵ $p \leq$ نشان نمی دهد.

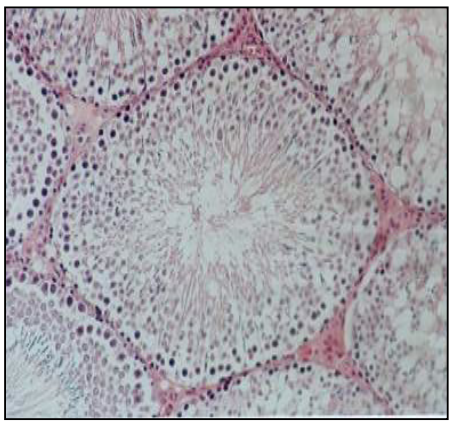
نتایج حاصل از مطالعات میکروسکوپی بافت بیضه

در گروه کنترل لوله های اسپرم ساز با تراکم زیاد ، فاصله کم و بسیار مرتب در بافت بیضه دیده شد. کلیه لوله های اسپرم ساز دارای شکلی گرد و با تراکم سلولی زیاد و آرایش مرتب بودند. درون لوله های اسپرم ساز تمایز سلولی از اسپرماتوگونی تا اسپرم بالغ با نظم و آرایش مرتب وجود داشت (تصویرشماره ۱). بررسی فتومیکروگراف تهیه شده از لوله های اسپرم ساز گروه شاهد،تجربی ۱ و تجربی ۲ و مقایسه آن با تصویرشماره ۱ در گروه کنترل ، نشان می دهد که تغییرات بافتی در لوله های اسپرم ساز در گروه شاهد نسبت به گروه کنترل از نظر تعداد ، اندازه فضای بینابینی ، ساختار لوله های اسپرم ساز و تراکم سلولهای درون لوله انجام نگرفته است (تصاویر شماره ۲،۳و۴). اما بررسی فتومیکروگرافی تهیه شده از لوله های اسپرم در گروه تجربی ۳ و مقایسه آن با شکل ۱ در گروه کنترل نشان دهنده تغییرات بافتی در این لوله ها است از جمله اینکه لوله های اسپرم ساز در گروه تجربی۳ کمی مورفولوژی طبیعی خود را از دست داده اند و ظاهر آنها کمی از حالت مدور خارج شده است ، همچنین تعداد لوله های اسپرم ساز کاهش پیدا کرده و مقدار فضای بینابینی افزایش یافته و سلولهای درون لوله ها نسبت به گروه کنترل (اصطلاحاً از نظر آماری کاهش معنی دار داشته) است (تصویر شماره۵).

تصویر شماره۱- فتومیکروگراف لوله های اسپرم ساز در گروه کنترل، بزرگنمایی ×۱۰۰ (لوله های اسپرم ساز با تراکم زیاد، فاصله کم وبسیار مرتب در بافت بیضه مشاهده می شود.)



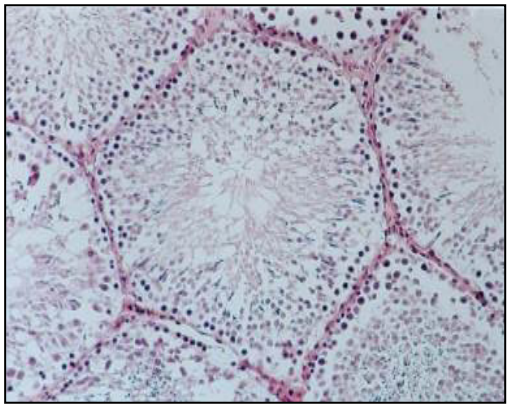
تصویر شماره۲فتومیکروگراف لوله های اسپرم ساز در گروه شاهد ، بزرگنمایی ×۱۰۰ (تغییرات بافتی از نظر تعداد ، ساختار و شکل لوله های اسپرم ساز نسبت به گروه کنترل صورت نگرفته است.)



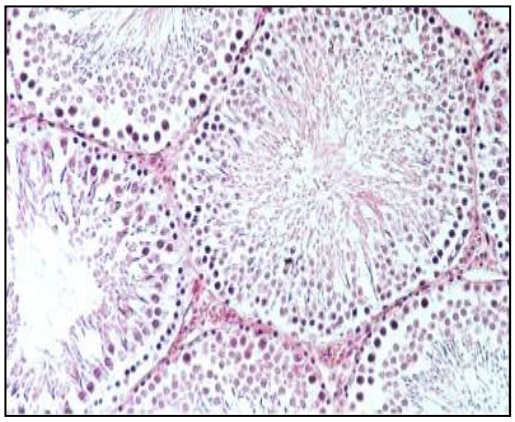
[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-04-25]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1393.4.14.4.9]

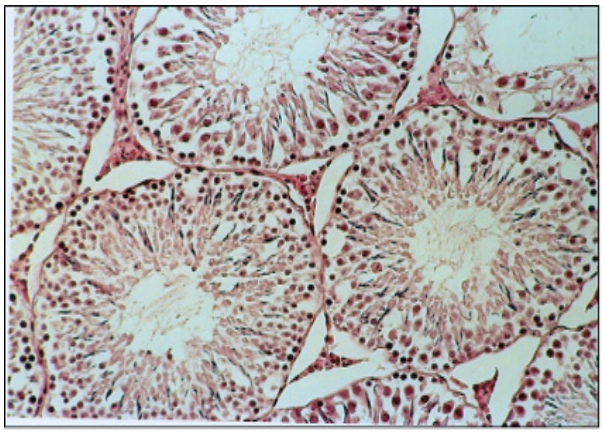
تصویر شماره۳ فتومیکروگراف لوله های اسپرم ساز در گروه تجربی ۱، بزرگنمایی × ۱۰۰ (تغییرات بافتی از نظر تعداد ، ساختار و شکل در لوله های اسپرم ساز نسبت به گروه کنترل صورت نگرفته است.)



تصویر شماره ۴ فتومیکروگراف لوله های اسپرم ساز در گروه تجربی۲، بزرگنمایی×۱۰۰(تغییرات بافتی از نظر تعداد ، ساختار و شکل لوله های اسپرم ساز نسبت به گروه کنترل صورت نگرفته است.)



تصویر شماره ۵ فتومیکروگراف لوله های اسپرم ساز در گروه تجربی۳، بزرگنمایی×۱۰۰(لوله های اسپرم ساز مورفولوژی طبیعی خود را از دست داده اند، همچنین تعداد لوله های اسپرم ساز کاهش یافته است.)



بحث:

با توجه به نتایج به دست آمده می توان نتیجه گیری کرد که میانگین غلظت پلاسمایی هورمون LH در گروههای دریافت کننده عصاره گزنه نسبت به میانگین غلظت پلاسمایی هورمون LH در گروه کنترل و شاهد تغییرات معنی داری نسبت به یکدیگر ندارند. اگرچه غلظت پلاسمایی هورمون LH در گروههای تجربی با دوز ۵۰ mg/kg و ۷۵ mg/kg عصاره گزنه نسبت به غلظت پلاسمایی هورمون LH در گروههای شاهد و کنترل افزایش داشته اما این افزایش در سطح $p \leq ۰/۰۵$ معنی دار نمی باشد. تحقیق بر روی اثرات فلاونوئیدها بر میزان هورمون LH نشان می دهد که فلاونوئیدها باعث افزایش میزان هورمون LH در هیپوفیز قدامی در موش های صحرایی مؤنث در معرض استرس می گردد (۲۵) بنابراین با توجه به حضور فلاونوئیدها در عصاره گزنه افزایش LH را می توان انتظار داشت. orexins متعلق به گروهی پیام آورهای هیپوتالاموسی که باعث تعادل انرژی و تولیدمثل می باشد. orexin A به شدت ضربان های هورمون LH را تحریک می کند. عمل تحریکی orexin A روی LH توسط استروژن قوی تر می شود. در این آزمایش احتمالاً با حضور فلاونوئیدها و خاصیت ممانعت کنندگی آروماتاز و کاهش استروژن باعث مهار اثر سرکوبی orexin A بر روی LH و افزایش LH می گردد. (۲۱،۸). همچنین با توجه به کاهش تستوسترون ناشی از عصاره در گروه تجربی با دوز mg/kg ۷۵ انتظار می رود که غلظت هورمون LH از طریق مکانیسم فیدبک منفی بالا رود و این افزایش در سطح$p \leq ۰/۰۵$ معنی دار باشد ولی در عصاره ترکیبات فعالی از جمله فیتواستروولها از طریق کاهش گنادوتروپین ها از جمله LH اثرات تعدیلی خود را اعمال می کنند. علاوه بر این β- سیتسترول که یک فیتواسترول می باشد هیچگونه تأثیری بر روی پاسخ های هیپوفیزی و حجم هسته های دی مورفیک جنسی در موشهای صحرایی اخته ندارد (۲۰).

نتایج نشان می دهد اختلاف معنی داری در میزان هورمون FSH در گروه های تجربی با گروه کنترل و شاهد وجود ندارد. بررسی ها نشان می دهد ترشح FSH مستقل از GnRH است. از طرفی چون کلیرانس متابولیکی آن آهسته تر از LH است تغییرات آن چندان مشهود نیست (۶و۲۴). گیرنده های هورمون

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-04-25]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1393.4.14.4.9]

FSH در سطح سلولهای سرتولی وجود دارند و هورمون FSH با اتصال به این گیرنده ها باعث فعال شدن آنزیم آدنیلیل سیکلاز و افزایش غلظت cAMP و در نتیجه فعال شدن پروتئین کیناز C (PKC) در سیتوزول می گردد. سپس زیر واحد کاتالیتیکی، فعال و وارد هسته شده و رونویسی از ژن ABP را فعال می کند (۸). هورمون FSH سنتز و ترشح ABP را افزایش داده و از این طریق غلظت تستوسترون در داخل لوله های منی ساز جهت روند عادی اسپرماتوژنز فراهم می گردد (۱۲). هورمون FSH برای شروع اسپرماتوژنز یعنی شروع تقسیم میتوز سلول های اسپرماتوگونی ضروری است (۱۹). بنابراین اختلال در میزان هورمون FSH باعث ایجاد اختلال در روند اسپرماتوژنز می گردد. همچنین هورمون FSH برای اتصال و چسبیدن اسپرماتیدها به سلولهای سرتولی ضروری است (۱۱).

تاثیر مقادیر مختلف غلظت عصاره هیدروالکلی گزنه بر غلظت سرمی هورمون تستوسترون نشان می دهد میانگین غلظت پلاسمایی هورمون تستوسترون گروههای تجربی دریافت کننده دارو نسبت به میانگین غلظت پلاسمایی هورمون تستوسترون در گروه کنترل و شاهد کاهش یافته و اختلاف معنی دار بین غلظت پلاسمایی هورمون تستوسترون در گروه دریافت کننده دوز حداکثر دارو نسبت به گروه کنترل و شاهد وجود دارد ($p \leq ۰/۰۵$). هورمون های استروئیدی برخلاف هورمون های پپتیدی که در وزیکول ترشحی انباشته می شوند فقط متناسب با نیاز ساخته و ترشح می شوند و همچنین در سنتز هورمون های استروئیدی دو عامل مؤثر ۱-جذب و در دسترس بودن کلسترول داخل سلولی ۲- تبدیل کلسترول به پروگننولون (۲۲) فیتواسترول های موجود در عصاره با کاهش فعالیت سیتوکروم $P_{۴۵۰}$ (آنزیم کلسترول دسمولاز) باعث کاهش تبدیل کلسترول به پروگنولون در میتوکندری می شود که باعث کاهش سنتز استروئیدها از جمله تستوسترون می شود (۱۳). در مطالعه ای که در آن تأثیر عصارهٔ گیاه رازک بر محور هیپوفیز- گناد مورد بررسی قرار گرفت، مشخص شد که کاهش تستوسترون سرم خون تحت تأثیر تزریق عصارهٔ گیاه رازک را احتمالاً می توان به وجود ترکیبات فیتواستروژنی این گیاه نسبت داد. بدین معنی که با تجویز درازمدت عصارهٔ گیاه رازک میزان استروژن پلاسمایی خون افزایش پیدا کرده و این افزایش استروژن عملکرد محور هیپوفیز – گناد را تحت تأثیر قرار داده و باعث کاهش ترشح تستوسترون از بیضه ها شده است (۲). از آنجا که گیاه گزنه حاوی ترکیبات فیتواستروژنی می باشد بنابراین چنین نتیجه ای را می توان انتظار داشت. در مطالعه ای که در آن اثر تعدیلی عصارهٔ برگ گیاه گزنه بر روی سیستم های آنزیمی biotransformation ، آنزیمهای آنتی اکسیدان، لاکتات دهیدروژناز و لیپیدپراکسیداز در موش صورت گرفت، مشخص شد که عصاره باعث کاهش معنی داری در فعالیت سیتوکروم $P_{۴۵۰}$ و سیتوکروم $P_{۴۵۰}$ ردوکتاز می شود، (۲۷) از آن جایی که آنزیمهای $P_{۴۵۰}$ می توانند با اتصال به پروژسترون باعث تولید آندروژن توسط سلول های لایدیگ شوند، (۱۷) احتمالاً گزنه با مهار عملکرد سیتوکروم $P_{۴۵۰}$ در سلول های لایدیگ و جلوگیری از عملکرد طبیعی هورمون های استروئید جنسی موجب توقف واکنش های فوق شده و میزان تستوسترون کاهش می یابد.

مقایسه فتومیکروگراف گروههای کنترل و شاهد با گروه های تجربی نشان می دهد در گروه تجربی۲ بتدریج فاصله لوله های اسپرم ساز افزایش و تراکم آنها کاهش یافته اما در گروه تجربی۳ علاوه بر کاهش لوله های اسپرم ساز ، اندکی به هم ریختگی و تخریب در آنها مشاهده می شود.

مطالعات نشان داده تستوسترون نقش زیادی در حفظ و نگهداری بیضه دارا می باشد (۷). با توجه به اینکه میزان تستوسترون در این پژوهش کاهش معنی دار در گروه تجربی۳ نشان داده پس اثرات منفی ایجاد شده روی بافت بیضه از این طریق محتمل است.

نتیجه گیری

به طور کلی مصرف گیاه گزنه با دوز ۷۵ mg/kg به مدت ۲۸ روز باعث کاهش غلظت سرمی هورمون تستوسترون می شود. فیتواسترولها با کاهش فعالیت سیتوکروم ۴۵۰p باعث کاهش تبدیل کلسترول به پروگننولون و در نتیجه کاهش سنتز استروئیدها از جمله تستوسترون می شوند. از طرفی دیگر فیتواسترولها و کومارین موجود در عصاره گیاه باعث اثرات آنتی آندروژنی شده و از این طریق اثرات خود را اعمال می کنند. مصرف گیاه گزنه با دوز ۷۵ و ۵۰ mg/kg به مدت ۲۸ روز باعث کاهش وزن بدن و وزن بیضه ها می شود. فیتواسترول، کومارین و لینولئیک اسید موجود در این گیاه باعث کاهش میزان کلسترول

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-04-25]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1393.4.14.4.9]

تام و کلسترول LDL می شوند ، که این کاهش کلسترول بطور مستقیم باعث کاهش وزن بدن می شود. همچنین فلاونوئیدها و فیتواسترولهای موجود در گیاه آنزیم ۵ آلفا ردوکتاز را مهار می کند در نتیجه تستوسترون به دی هیدروتستوسترون تبدیل نمی شود. چون وجود هورمونهای جنسی برای افزایش توده بافتی ضروری است مسلماً کاهش تستوسترون باعث کاهش وزن بیضه ها می شود. از طرفی مصرف گیاه گزنه با دوز ۷۵mg/kg به مدت ۲۸ روز باعث کاهش تعداد سلول های اسپرماتوگونی ، اسپرماتوسیت اولیه ، اسپرماتید ، لایدیگ و تراکم اسپرم می شود. به نظر می رسد کاهش کلسترول ، سنتز آندروژنها از جمله تستوسترون را کاهش می دهد و کاهش آندروژنها می تواند بر روند اسپرماتوژنز تأثیر گذاشته باعث کاهش تولید اسپرم در لوله های سمینیفر شود. نتیجه کلی این که می توان از آن در جهت تنظیم باروری در جنس نر و ایجاد ناباروری استفاده نمود هرچندمطالعات بیشتری در این زمینه پیش نهاد می گردد.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-04-25]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1393.4.14.4.9]

منابع

۱- جیمز . آ .، دوک.، فرهنگ گیاهان دارویی، ترجمه وتحقیق : دکتر زهره آموزگار ، دکتر عبدالعلی محقق زاده ، دکتر محمد رضا شمس اردکانی.(۱۳۸۷) چاپ اول ، انتشارات مارلیک ، صفحات : ۹۵۱-۹۴۹ .

۲- خاک پور، شهرزاد .، عریان ، شهربانو.، حائری روحانی، سید علی .، امین ، غلام رضا.، یحیوی ،سید حسین. (۱۳۸۸). بررسی اثر عصاره گیاه رازک بر هورمون های محور هیپوفیز- گناد در موش سوری نر ، فیزیولوژی-فارماکولوژی ، (۱):۳۱-۳۸ .

۳- دلنواز هاشملویان ، بابک .، عطائی عظیمی، عذرا .(۱۳۸۶). خواص دارویی و خوراکی گیاهان با تأکید بر گیاهان ساوه ، مؤسسه انتشارات دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساوه ، تابستان ، صفحات:۴۹-۴۸ .

۴- ذبیحی، خلیل الله. (۱۳۸۸). مطالعه تجربی تأثیر داروی والسارتان بر محور هیپوفیز-گناد و تغییرات بافتی بیضه در موشهای صحرایی نر بالغ، پایان نامه برای دریافت درجه کارشناسی ارشد ،دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون.

۵- رنج دوست ، صدیف.(۱۳۸۲). بررسی اثرات هیپوگلیسمیک عصاره Urtica dioica بر روی رت های سالم ودیابتی ، پایان نامه برای دریافت درجه دکترای داروسازی ، شماره پایان نامه: ۳۰۴۴.

۶- شهبازی، پرویز.، ملک نیا، ناصر.، بیوشیمی عمومی،جلد دوم ، چاپ هفدهم، تهران،مؤسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران ، پاییز ۱۳۷۸ ،صفحات:۵۰۰-۴۸۹.

۷- ضمیری، محمد جواد. (۱۳۸۵). فیزیولوژی تولید مثل ، چاپ اول، رشت: انتشارات حق شناس، صفحات:۲۶-۶ .

8- Adam,J.A., Menhere , P.P.C.A., Van Dielen, F.M ., Soeters, P.B , Decreased plasma Orexin A level in obese individuals , Endocrinology, 2002; Vol 26 , NO 2, 274-276.

9-Aghilikhorasani A. Treasure of spice. Islamic revolution education press. 1992; pp: 324 - 5.

10- Baumgartner, W. A., P. F. Jones, W. A. Baumgartner, and C. T. Black. Radio-immunoassay of hair for determining opiate-abuse histories. J. Nucl. Med, 1979; 20:748-752.

11- Choi JS , Kang TS , Kwack SJ , Min BS , Ha DT , Ngoc TM , Hung TM , Thuong PT , Bae K , Antioxidant activities of coumarins from Korean medicinal plants and their structure- activity relationships , College of Pharmacy , Chungnam National University , Daejeon, 2009; 26 305-764.

12- Elizabeth, S., Effect of selection for testosterone production on testicular morphology and daily sperm production in pigs, (Dr.Joseph Cassady), J. Anim,2004; 82:2259-2263.

13- Gilman, CL., Flush, F.D ., Breckenridge, WC., Maclatchy, DL., Effects of phytosterol mixture on male Fish plasma Lipoproteins and testis P450 SCC activity , Department of Biology and Canadian Rivers Institute university of new Brunswick , 2000; 32(2)1-4.

14- James A , Duke , Phytochemical databases , Beltsvilla Argriculture Research center . Green Farmacy Garden, 2008.

15- kavalali G , Tuncel H , Goksel S , Hatemi HH , Hypoglycemic activity of Urtica pilulifera in streptozotocin-diabetic rats . Ethanopharmacol, 2003; 84(2-3) : 241-5.

16- Kulshereshta AS, Farnsworth NR. Botanical sources of fertility regulation agents, Chimistry and Pharmacology. *Prog. Horm. Biochem. Pharmacol*,1999;۱:149-222.

17- Morrela, MY., Flynn, KL., Seale, CG., Done, C., Paulson, AJ., Flaster, ER., Ferin,M., Reproductive dye function in woman with epilepsy :antiepileptic drug effects o sex-steroid hormones. CNS spectr, 2001; 6(9):771-2 , 783-86.

18- Parvizpur A, Ahamadiani A, Kamalinejad M.Probable Role of Purinergic System in Antinociceptive Effects of Trigonella foenum- raecum Leaves Extract, 14th International Congress of Geographic Medicine and 15th Iranian Congress of Physiology and Pharmacology. Shiraz- Iran , 2001; 5 - 8, p: 346.

19 - Plant, Toni.M., Gary,R.MARSHALL., The significane of FSH in spermatogenesis and the control of its secretion in male primates, Department of biology and physiology and medicine university of Pittsburg school of medicine Pittsburg, Pennsylvania , 2001.

20- Register, B.,Bethel, M.A., Thompson , N.N., Wlmer,D., Bloha, P., Ayyash, L., Hughes,C., The effect of neonatal exposure to diethyl stilbestrol, coumestrol , and beta-sitosterol on pituitary responsivenss and sexully dimorphic nucleus volume in the castrated adult rat, Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine, 1995; 208:72-77.

21- Shuye, P.U., Jain, M.R., Kalras, P., Orexin A novel family of Hypothalamic neuropeptides modulate pituitary LH secretion in ovarian steroid- dependent manner, 1998; Vol 78 : 136-138.

22- Sable, D. (2004) Waking up and getting engaged: Transformative learning in the university classroom. Shambhala Institute Community. Retrieved May 23, 2004.

23-Testai T, Chericoni S, Calderone V at all,. Cardiovascular effects of *Urtica dioica* L. (Urticaceae) roots extracts: in vitro and in vivo pharmacological studies, Journal of Ethnopharmacology . Volume 81 ,Issue1, June 2002 ; pages 105-109.

24- Turek, Paul.J., Hypothalamic-pituitary-gonadal axis and control of spermatogenesis , Director male reproductive laboratory department of urology university of California at San Francisco, 2000.

25- Wang,C., Makela, T., Adlercreutz, H., Lignans flavonoids inhibit aromataz in human prediadiposit , J Steroid Biochem. Mol Bio, 1994; Vol 50:205-12.

26- Wikipedia , the free encyclopedia , 2008.

27- Özen, T., Korkmaz , H., Modulatory effect of *Urtica dioica* L. (Urticaceae) leaf extract on biotransformation enzyme systems, antioxidant enzymes, lactate dehydrogenase and lipid peroxidation in mice , Phytomedicine, 2003; Volume 10, Issue 5, PP: 405-415.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-04-25]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1393.4.14.4.9]