

DOI: 10.30495/JVCP.2021.1910961.1283

"مقاله پژوهشی"

تأثیر عصاره هیدروالکلی گیاه تشنه‌داری (*Scrophularia striata*) بر تغییرات بافتی بیضه در موش صحرایی هایپرکلسترولمیک

ایوب مهدوی^۱، علی محمد بهرامی^{۲*}، شهناز یوسفی‌زاده^۳

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد بافت‌شناسی، دانشکده پیرادامپزشکی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران.

۲- دانشیار گروه بافت‌شناسی و میکروبی‌شناسی، دانشکده پیرادامپزشکی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران.

۳- استادیار گروه علوم آزمایشگاهی و درمانگاهی، دانشکده پیرادامپزشکی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران.

*نویسنده مسئول مکاتبات: am.bahrami@ilam.ac.ir

(دریافت مقاله: ۹۹/۷/۹ پذیرش نهایی: ۹۹/۱۱/۸)

چکیده

کلسترول بالا با تولید رادیکال‌های آزاد و ایجاد تنش اکسیداتیو باعث ناباروری در جنس نر می‌شود. هدف از انجام مطالعه حاضر، بررسی اثرات عصاره گیاه تشنه‌داری (*Scrophularia striata*) بر تغییرات هیستومورفومتری بافت بیضه در موش‌های صحرایی تغذیه شده با رژیم پرکالری بود. بدین منظور، تعداد ۳۲ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار به ۴ گروه شاهد (جیره معمول)، هایپرکلسترولمیک (۸ هفته جیره پرچرب)، هایپرکلسترولمیک+عصاره تشنه‌داری (۴ هفته جیره پرچرب + ۴ هفته جیره معمول) و گروه عصاره تشنه‌داری (۴ هفته جیره معمول + ۴ هفته عصاره تشنه‌داری به میزان ۴۰۰ mg/kg) تقسیم شدند. در پایان دوره، موش‌ها با ترکیب کتامین-زایلازین بیهوش شدند و پس از اخذ خون از قلب، جهت اندازه‌گیری سطح کلسترول سرم خون، آسان‌کشی شده و بیضه راست جهت تهیه لام بافتی و مطالعه هیستومورفومتری به آزمایشگاه بافت‌شناسی منتقل گردید. یافته‌ها مشخص نمود که پس از مصرف جیره پرکالری در گروه هایپرکلسترولمیک، وزن بدن، وزن بیضه و سطح کلسترول خون نسبت به گروه شاهد، افزایش معنی‌داری پیدا کرده‌است ($p < 0/05$). همچنین شاخص‌های فوق در گروه هایپرکلسترولمیک + عصاره تشنه‌داری، نسبت به گروه هایپرکلسترولمیک، کاهش معنی‌داری را نشان داد ($p < 0/05$). از طرف دیگر، مصرف جیره پرچرب باعث کاهش تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت اولیه، اسپرماتید و اسپرماتوزوئید در گروه هایپرکلسترولمیک شد که پس از مصرف عصاره مذکور، افزایش نسبی در تعداد سلول‌های فوق در گروه هایپرکلسترولمیک + عصاره تشنه‌داری مشاهده گردید ($p < 0/05$). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که مصرف عصاره گیاه تشنه‌داری، به دنبال جیره پرکالری، می‌تواند در بافت بیضه موش صحرایی، اثرات محافظتی داشته باشد.

کلیدواژه‌ها: تشنه‌داری، بیضه، موش صحرایی، هایپرکلسترولمی.

مقدمه

متابولیسم و بی‌نظمی هورمونی در مردان چاق تایید شده است (Hammoud *et al.*, 2008).

هرچند که کلسترول یک ماده ضروری در تشکیل غشا سلول می‌باشد، اما بالا بودن میزان آن در بدن می‌تواند همواره به عنوان یک عامل خطر ساز عمل کند (Davis *et al.*, 2001; Mosallanejad *et al.*, 2016).

طرف دیگر، تعداد زیادی از داروهای شیمیایی هم که در حال حاضر در درمان هایپرلیپیدمی مصرف می‌شوند، دارای اثرات جانبی زیان‌بار می‌باشند (Kianbakht *et al.*, 2013)، به همین دلیل بسیاری از بیماران در برابر درمان با داروهای شیمیایی مقاومت می‌کنند. اما استفاده از داروهای گیاهی در حد زیادی به وسیله بیماران استقبال می‌شود و روش موثری در پیشگیری و درمان این عارضه به حساب می‌آید، زیرا عوارض جانبی این داروها نسبت به داروهای شیمیایی به مراتب کمتر می‌باشد (Lakhan and Vieira, 2010). براین اساس، امروزه علاوه بر درمان‌های شیمیایی از روش‌های سنتی نیز برای درمان ناباروری مردان استفاده می‌شود. در سال‌های اخیر در رابطه با اثر گیاهان دارویی بر تولیدمثل و ناباروری، مطالعات زیادی انجام شده و اطلاعات ارزشمندی از این تحقیقات به دست آمده است (Fridiler *et al.*, 2002; Ashamu *et al.*, 2010).

گیاهان دارویی با توجه به جایگاه ویژه‌ای که در درمان بیماری‌ها و بهداشت و سلامت جامعه پیدا کرده‌اند، مورد توجه مراکز علمی و پژوهش‌گران قرار گرفته‌اند. گیاه تشنه‌داری (*Scrophularia striata*) هم که از مهم‌ترین گیاهان دارویی خانواده گل میمونی است (Attar, 2006)، در ایران بیشتر در مناطق سردسیر و

یکی از مشکلات شایع پزشکی در دنیا ناباروری است و حدود ۱۵-۱۰ درصد از زوج‌ها به نوعی درگیر مشکل مذکور می‌باشند. علت ناباروری زوج‌ها در ۳۰ درصد موارد مربوط به جنس نر و در ۴۰-۵۰ درصد موارد، مربوط به جنس ماده می‌باشد (Sainath *et al.*, 2011).

مطالعات متعدد نشان می‌دهد که کیفیت اسپرم از یک سال به سال بعد کاهش می‌یابد (John, 2013)، و عوامل متعددی از جمله تاثیرات محیطی، اختلالات متابولیسمی و پلی‌مورفسم‌های ژنتیکی با کاهش توانایی تولیدمثل در مردان همراه است (Cooper and Handelsman, 2013)، هر چند، نشان داده شده است که چاقی نیز در این پدیده نقش دارد (Ramlau- Hansen *et al.*, 2010; Jensen *et al.*, 2013; Dupont *et al.*, 2013). مطالعات قبلی بر ارتباط بین شاخص توده بدنی (Body Mass Index; BMI) و کیفیت مایع منی اشاره دارد (Hammoud *et al.*, 2008, Ramlau- Hansen *et al.*, 2010). مصرف بیش از اندازه مواد غذایی با چربی بالا می‌تواند باعث ایجاد عوامل خطر آفرین و مشکلات بسیاری نظیر نارسایی در سوخت و ساز بدن، دیابت، بیماری‌های قلبی-عروقی و نیز باعث اختلال در تولید مثل در هر دو جنس نر و ماده شود که در جنس نر با کاهش مقدار اسپرم همراه می‌باشد (Magnusdottir *et al.* and Jensen *et al.*, 2004). همچنین گزارش شده است که چاقی با تاثیر بر اسپرماتوژنز، باعث کاهش کیفیت اسپرم شده و باروری را تحت تاثیر قرار می‌دهد (Jensen *et al.*, 2013). بروز بالای ناباروری هم در ارتباط با اختلالات

خریداری و به خانه حیوانات دانشکده پیرادامپزشکی دانشگاه ایلام منتقل شدند. تمامی موش‌ها در این مطالعه که به مدت ۸ هفته به طول انجامید در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و دمای 25 ± 2 درجه سلسیوس نگهداری و با غذای تجاری پلت شده تغذیه شده و به طور آزاد به آب دسترسی داشتند. پروتکل این مطالعه مطابق اصول اخلاقی مورد تایید کمیته‌های بین‌المللی حمایت از حقوق حیوانات آزمایشگاهی طراحی شد. به منظور سازش با شرایط محیطی، حیوانات به مدت ۱ هفته نگهداری و سپس به طور اتفاقی به ۴ گروه ۸ تایی به شرح زیر تقسیم شدند: گروه شاهد: موش‌های این گروه بدون دریافت دارو با شرایط یکسان محیطی و تغذیه معمولی همزمان با سایر گروه‌ها نگهداری شدند.

گروه هایپرکلسترولمی: به حیوانات این گروه به مدت ۴ هفته جیره پرچرب (جدول ۱) داده شد (Fatemi *et al.*, 2012) و پس از اطمینان از هایپرکلسترولمی شدن توسط اندازه‌گیری سطح کلسترول خون به روش کالریتری و کیت تشخیص کمی کلسترول (پارس آزمون، ایران) به علت داشتن اختلاف معنی‌دار با گروه شاهد، هایپرکلسترولمی در موش‌ها تایید شد و به مدت ۴ هفته دیگر با جیره پرچرب تغذیه شدند (در مجموع ۸ هفته).

کوهستانی زاگرس رشد می‌کند. بررسی‌های گذشته نشان می‌دهد که گیاه تشنه‌داری به دلیل داشتن ترکیبات مفید، دارای خواص ضد التهابی و نیز خواص ترمیمی در آسیب‌های بافتی می‌باشد (Park *et al.*, 2009; Ferdowsi *et al.*, 2017). ریشه و قسمت هوایی گیاه مذکور دارای خواص آنتی‌اکسیدانی است که این توانایی به دلیل وجود ترکیباتی مانند فلاونوئیدها، منوترپن‌ها و کومارین‌ها در عصاره این گیاه می‌باشد (Safavi *et al.*, 2012). گزارش شده بیشتر گیاهانی که از نظر آنتی-اکسیدانی قوی هستند، تعداد و تحرک اسپرم را افزایش داده و ناهنجاری شکلی اسپرم را کاهش می‌دهند (Adesanya *et al.*, 2007; Oluyemi *et al.*, 2007).

با توجه به مطالب ذکر شده و از آنجایی که گیاه تشنه‌داری دارای ترکیبات آنتی‌اکسیدانی قوی می‌باشد، مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر گیاه تشنه‌داری بر روند اسپرماتوزن و محافظت از بافت بیضه در موش‌های صحرائی هایپرکلسترولمی شده، انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر از نوع تجربی مداخله‌گر آزمایشگاهی بوده که برای انجام آن، تعداد ۳۲ سر موش صحرائی نر بالغ ۸ هفته‌ای نژاد ویستار با محدوده وزنی 10 ± 200 گرم از مرکز تکثیر و پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز

جدول ۱- ترکیب و انرژی جیره پرچرب مصرفی

انرژی (کیلوکالری)°	مقدار (گرم)	ترکیبات
۱۱۸۶	۳۶۵	غذای پودر شده موش صحرایی
۹۵۰	۲۵۰	کازبین
۲۵۱۱	۳۱۰	دنبه
-	۶۰	مکمل ویتامین و مینرال
-	۱۰	کلسترول
۱۲	۳	میتونین
-	۱	مخمر
-	۱	نمک
۴۶۵۹	۱۰۰۰	جمع

* برای محاسبه میزان انرژی رژیم غذایی، مقدار انرژی خوراک تهیه شده بر اساس اطلاعات کارخانه سازنده و مقدار انرژی پروتئین و چربی افزوده شده با توجه به مقدار استفاده شده از هر ماده غذایی محاسبه شد.

لازم به ذکر است که در تحقیق حاضر، به منظور اطمینان از هایپرکلسترولمی شدن موش‌ها پس از ۴ هفته دریافت رژیم غذایی پرچرب، خونگیری از ورید دمی صورت می‌گرفت و سطح سرمی کلسترول با استفاده از کیت تشخیصی (CHOD) (پارس آزمون، ایران) و دستگاه اسپکتروفتومتری در دانشگاه علوم پزشکی ایلام اندازه‌گیری شده و نتایج حاصله با مقدار آن در مورد موش‌های گروه شاهد مقایسه می‌گردید (Forat et al., 2017).

پس از پایان دوره آزمایش، همه موش‌های مورد مطالعه با تزریق داخل صفاقی کتامین (روتکس مدیا-آلمان) به میزان ۱۰۰ mg/kg و زایلازین (کلا- بلژیک) به میزان ۱۰ mg/kg بیهوش گردیده و از قلب آن‌ها خون‌گیری انجام شد. سپس سرم هریک از نمونه‌ها جداسازی شده (به وسیله دستگاه سانتریفیوژ یخچال‌دار (Heidolph, Germany) در دمای ۴ درجه سلسیوس و سانتریفیوژ با دور ۹۰۰۰ در ثانیه به مدت ۱۰ دقیقه) و تا زمان

گروه هایپرکلسترولمی - تشنه‌داری: به حیوانات این گروه ابتدا به مدت ۴ هفته جیره پرچرب داده شد و پس از اطمینان از هایپرکلسترولمی شدن از طریق اندازه‌گیری سطح کلسترول خون به روش کالریمتری و کیت تشخیص کمی کلسترول (پارس آزمون-ایران) به علت داشتن اختلاف معنی‌دار با گروه شاهد، هایپرکلسترولمی آن‌ها تایید شد و به مدت ۴ هفته همراه با جیره پرچرب، عصاره هیدروالکلی گیاه اسکروفولاریا استریاتا (تشنه‌داری) از مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی دانشگاه علوم پزشکی لرستان تهیه گردید و به میزان ۴۰۰ mg/kg، گاوآژ شد (Farokhi and Riazi, 2018).

گروه تیمار با تشنه‌داری: به موش‌های این گروه ابتدا به مدت ۴ هفته جیره غذایی معمولی داده شد و سپس به مدت ۴ هفته عصاره هیدروالکلی گیاه اسکروفولاریا استریاتا (تشنه‌داری) به میزان ۴۰۰ mg/kg خوراندند.

اندازه‌گیری قطر لوله‌های اسپرم‌ساز و ضخامت اپی‌تلیوم لوله‌ها از نرم افزار رایانه‌ای True Chrom Metrics استفاده شد. جهت اندازه‌گیری قطر لوله‌های اسپرم‌ساز، مقطع عرضی کاملاً یا تقریباً مدور لوله‌های اسپرم‌ساز در بزرگنمایی ۱۰ برابر به طور تصادفی انتخاب و سه قطر بزرگ آن‌ها اندازه‌گیری شد و جهت اندازه‌گیری ضخامت اپی‌تلیوم لوله‌های اسپرم‌ساز، از مقطع عرضی کاملاً یا تقریباً مدور لوله‌های اسپرم‌ساز در بزرگنمایی ۴۰ برابر، از سه نقطه اندازه‌گیری به عمل آمد و نتایج بصورت میانگین برای هر لوله و هر موش محاسبه شد. همچنین به منظور شمارش تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت اولیه، اسپرماتید ابتدایی، نهایی و سرتولی، مقطع عرضی کاملاً یا تقریباً مدور لوله‌های اسپرم‌ساز در بزرگنمایی ۴۰ برابر بطور تصادفی از هر نمونه ۵ برش و از هر لام ۵ میدان دید، انتخاب و شمارش انجام شد. همچنین جهت تعیین تعداد سلول‌های لیدینگ، از هر نمونه ۵ برش تهیه شده و از هر برش حداقل ۵ میدان دید مختلف به طور تصادفی در بزرگنمایی ۴۰ برابر شمارش شد (Hamzavi Jahromi *et al.*, 2014).

-**تحلیل آماری داده‌ها:** برای انجام آنالیز آماری در مورد یافته‌های به دست آمده در تحقیق حاضر، از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ (SPSS Inc., Chicago, version 16) استفاده شد. نتایج به صورت میانگین \pm انحراف استاندارد از میانگین ($\text{mean} \pm \text{SEM}$) بیان شده و از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) و پس‌آزمون LSD (Least Significant Difference) برای مقایسه گروه‌ها استفاده شد. در تمامی موارد ۰/۰۵

اندازه‌گیری سطح کلسترول، در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند. در ادامه نمونه بیضه راست موش‌ها از طریق بازکردن محوطه شکمی، به دقت خارج گردید. وزن بیضه‌ها با ترازوی دیجیتالی (AND مدل Fx3001-ژاپن) با دقت ۰/۰۰۱ گرم اندازه‌گیری شده و یادداشت گردید و سریعاً جهت جلوگیری از اتولیز، نمونه‌ها به داخل ظروف حاوی فرمالین بافر ۱۰ درصد (قطران شیمی - ایران) منتقل گردید. به منظور مطالعه میکروسکوپی، از نمونه‌های پایدار شده، به روش استاندارد، مقاطع بافتی تهیه گردید. در این روش پس از فیکس کردن در فرمالین ۱۰ درصد (قطران شیمی - ایران) و شستشو با آب جاری، مراحل مختلف پاساژ بافت شامل آگیری، شفاف‌سازی و آغشتگی به پارافین (قطران شیمی تجهیز - ایران) انجام گرفت. سپس نمونه‌ها قالب‌گیری شده و با استفاده از میکروتوم دورانی (پاوندآب - ایران)، برش‌هایی با ضخامت ۵ میکرومتر تهیه و با استفاده از روش هماتوکسیلین-ائوزین (H&E) (مرک، آلمان) رنگ‌آمیزی شدند (Bancroft and Gamble, 2011). بدین منظور از بیضه راست هر موش نمونه‌گیری و از هر نمونه پنج برش تهیه شده و حداقل در پنج میدان دید میکروسکوپی، بررسی انجام گرفت. تغییرات ساختاری لوله‌های اسپرم‌ساز شامل سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت اولیه، اسپرماتید ابتدایی، اسپرماتید نهایی، سلول‌های سرتولی و لیدینگ در گروه‌های مختلف مورد مطالعه قرار گرفت. در مطالعات هیستومتری قطر لوله‌های اسپرم‌ساز، ضخامت اپی‌تلیوم لوله‌های اسپرم‌ساز اندازه‌گیری شده و نیز تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتید، سرتولی و لیدینگ در گروه‌های مختلف شمارش گردید. همچنین برای

هم، دریافت عصاره مذکور، در این خصوص، تفاوت معنی‌داری را با گروه شاهد ایجاد نکرد.

از طرف دیگر، میانگین وزن بیضه درمورد موش-های گروه هایپرکلسترولمی، نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری را نشان داد ($p < 0/05$). همچنین میانگین وزن بیضه موش‌های گروه هایپرکلسترولمی- تشنه‌داری، پس از دریافت عصاره تشنه‌داری نسبت به مقدار آن درمورد موش‌های گروه هایپرکلسترولمی، دارای کاهش معنی‌داری بود ($p < 0/05$)، اما بررسی میزان فاکتور فوق، در مقایسه با مقدار آن در موش‌های گروه شاهد، تفاوت آماری معنی‌داری را نشان نداد. تجویز عصاره تشنه‌داری در مورد موش‌های گروه تیمار با عصاره هم، تفاوت آماری معنی‌داری را در این خصوص با میزان آن در گروه شاهد ایجاد نکرد (جدول ۲).

$p <$ به عنوان معیار حداقل اختلاف آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

مطابق داده‌های ثبت شده در جدول ۲، میانگین وزن موش‌های مورد مطالعه، در پایان دوره آزمایش (روز ۲۸ درمان)، در گروه هایپرکلسترولمی در مقایسه با گروه شاهد افزایش معنی‌داری داشت ($p < 0/05$). همچنین میانگین وزن موش‌ها در گروه هایپرکلسترولمی - تشنه‌داری، بعد از دریافت عصاره هیدروالکلی گیاه تشنه‌داری، در مقایسه با میانگین وزن موش‌های گروه هایپرکلسترولمی، کاهش معنی‌داری را نشان داد ($p < 0/05$). اما میانگین وزن موش‌ها در گروه هایپرکلسترولمی - تشنه‌داری در مقایسه با گروه شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت. در گروه تیمار با تشنه‌داری

جدول ۲- میانگین \pm انحراف استاندارد وزن موش‌های صحرایی در گروه‌های مختلف مورد مطالعه و وزن بیضه آن‌ها بر حسب گرم

مشخصه مورد نظر		گروه‌های مورد مطالعه	
وزن بیضه	وزن موش‌ها	شروع آزمایش	پایان آزمایش
پایان آزمایش	پایان آزمایش	شروع آزمایش	پایان آزمایش
۱/۱ \pm ۳۸/۹ ^a	۲۴۶۲ \pm ۴/۶۱ ^a	۲۰۶۱ \pm ۱/۶۳ ^a	۲۴۶۲ \pm ۴/۶۱ ^a
۱/۲ \pm ۹۲/۲۳ ^b	۳۰۸۱ \pm ۳۳/۲۲ ^b	۲۰۳۱ \pm ۲/۲۶ ^a	۳۰۸۱ \pm ۳۳/۲۲ ^b
۱/۱ \pm ۵۴/۱۲ ^a	۲۵۳/۵ \pm ۲/۹۸ ^a	۲۰۹/۴ \pm ۳/۲۱ ^a	۲۵۳/۵ \pm ۲/۹۸ ^a
۱/۳ \pm ۴۰/۲ ^a	۲۳۷۷ \pm ۳۳/۷۱ ^a	۱۹۸۹ \pm ۳/۱۲ ^a	۲۳۷۷ \pm ۳۳/۷۱ ^a

a, b, c: حروف نامتشابه در هر ستون، اختلاف آماری معنی‌دار بین گروه‌های مختلف را نشان می‌دهد ($p < 0/05$).

آزمایش، میزان کلسترول سرم موش‌های گروه هایپرکلسترولمی، نسبت به مقدار آن در سرم موش‌های گروه شاهد، بیانگر افزایش معنی‌دار بود ($p < 0/05$). اما سطح کلسترول سرم موش‌های گروه هایپرکلسترولمی- تشنه‌داری، پس از ۲۸ روز دریافت عصاره، نسبت به میزان آن در سرم موش‌های گروه هایپر کلسترولمی

براساس داده‌های ثبت شده در جدول ۳، سطح سرمی کلسترول موش‌های گروه‌های مورد مطالعه در روز صفر (۴ هفته پس از تغذیه با جیره پرچرب و قبل از مصرف عصاره تشنه‌داری)، در گروه هایپرکلسترولمی، نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری داشته‌است ($p < 0/05$). همچنین در پایان

با عصاره، نسبت به موش‌های گروه شاهد، در این مورد هرچند کمتر بود، اما تفاوت آماری معنی‌داری را ایجاد نکرد (جدول ۳).

دارای کاهش معنی‌داری بود ($p < 0/05$)، اما در این خصوص با مقدار کلسترول سرم موش‌های گروه شاهد، تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده نشد. از طرف دیگر، نتیجه تجویز عصاره تشنه‌داری به موش‌های گروه تیمار

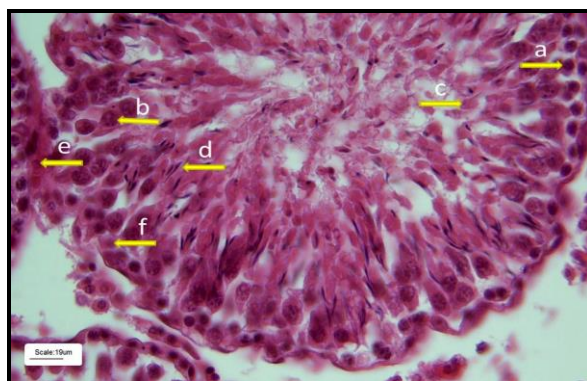
جدول ۳- میانگین \pm انحراف استاندارد سطح کلسترول سرم خون موش‌های گروه‌های مختلف مورد مطالعه، بر حسب mg/dl.

مرحله آزمایش		گروه‌های مورد مطالعه
پایان آزمایش	روز صفر	
۵۶/۰ \pm ۰۵/۴۳ ^a	۵۲/۰ \pm ۶/۲۵ ^a	شاهد
۹۳/۰ \pm ۳۲/۱۸ ^b	۸۷/۰ \pm ۲۲/۱۵ ^b	هایپرکلسترولمی
۵۹/۰ \pm ۷۴/۲۲ ^a	۸۴/۰ \pm ۴/۴ ^b	هایپرکلسترولمی - تشنه‌داری
۴۸/۰ \pm ۳/۲۶ ^a	۵۱/۰ \pm ۲/۲۵ ^a	تشنه‌داری

a, b, c حروف نامتشابه در هر ستون، اختلاف آماری معنی‌دار بین گروه‌های مختلف را نشان می‌دهد ($p < 0/05$).

نهایی (d)، لیدیگ (e) و سلول‌های سرتولی (f) در گروه شاهد دیده می‌شود.

در شکل ۱ آرایش منظم سلول‌های اپی‌تلیوم لوله‌های اسپرم‌ساز شامل سلول‌های اسپرماتوگونی (a)، اسپرماتوسیت اولیه (b)، اسپرماتید ابتدایی (c)، اسپرماتید

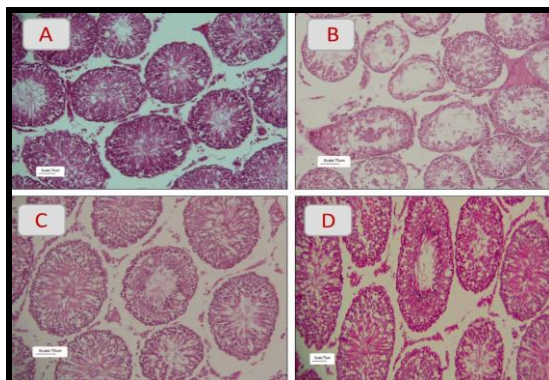


شکل ۱- ساختار بافتی بیضه موش صحرائی در گروه شاهد (هماتوکسیلین-ائوزین، درشت‌نمایی $\times 40$).

گروه هایپرکلسترولمی (B) ساختار به هم‌ریخته و نامنظم لوله‌های اسپرم‌ساز همراه با تخریب شدید اپی‌تلیوم زایا دیده می‌شود. در گروه هایپرکلسترولمی-تشنه‌داری (C) بهبودی ساختار لوله‌ها و اپی‌تلیوم زایا نسبت به گروه

شکل ۲ نمای کلی از ساختار بافتی بیضه موش صحرائی در گروه‌های مختلف مورد مطالعه را نشان می‌دهد. در گروه شاهد (A) آرایش منظم لوله‌های اسپرم‌ساز همراه با ساختار طبیعی اپی‌تلیوم دیده می‌شود. در

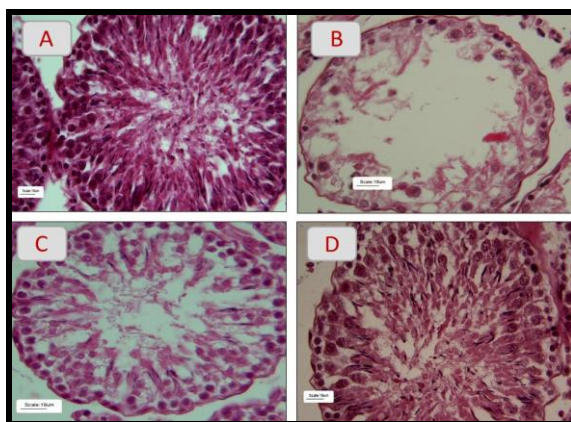
هایپرکلسترولمی پس از مصرف تشنه‌داری دیده می‌شود ولی در گروه تیمار با عصاره تشنه‌داری (D) تغییری در وضعیت ظاهری نسبت به گروه کنترل مشاهده نمی‌شود.



شکل ۲- نمای کلی از ساختار گروه‌های مختلف مورد مطالعه (هماتوکسیلین-ائوزین، درشت‌نمایی ۴۰×).

هایپرکلسترولمی-تشنه‌داری (C) بهبود وضعیت نظم سلولی و احیاء ساختار اپی‌تلیوم زایا نسبت به گروه هایپرکلسترولمی پس از مصرف تشنه‌داری را نشان می‌دهد و در گروه تیمار با عصاره تشنه‌داری (D) شرایط مشابه گروه کنترل بوده و تفاوت زیادی مشاهده نمی‌شود.

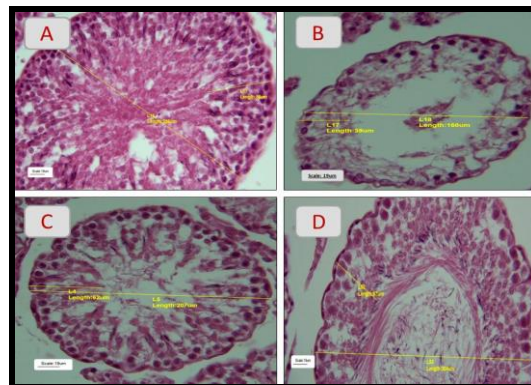
شکل ۳ مقایسه ساختار بافتی اپی‌تلیوم در لوله‌های اسپرم‌ساز در گروه‌های مختلف را نشان می‌دهد. در گروه شاهد (A) آرایش منظم رده‌های مختلف سلولی در اپی‌تلیوم و وجود ساختار متراکم و طبیعی دیده می‌شود. در گروه هایپرکلسترولمی (B) ساختار به هم ریخته و نامنظم سلول‌ها همراه با تخریب شدید اپی‌تلیوم زایا دیده می‌شود. همچنین این شکل، در گروه



شکل ۳- مقایسه ساختار بافتی اپی‌تلیوم در لوله‌های اسپرم‌ساز در گروه‌های مختلف (هماتوکسیلین-ائوزین، درشت‌نمایی ۴۰×).

هایپرکلیسترولمی-تشنه‌داری (C) افزایش قطر لوله‌ها و ضخامت اپی‌تلیوم زایا نسبت به گروه هایپرکلیسترولمی پس از تجویز تشنه‌داری دیده می‌شود و در گروه تیمار با عصاره تشنه‌داری (D) هم، شرایط مشابه گروه کنترل بوده و تفاوت زیادی مشاهده نمی‌شود.

شکل ۴ مقایسه اندازه قطر و ضخامت اپی‌تلیوم لوله‌های اسپرم‌ساز در گروه‌های مختلف را نشان می‌دهد. در گروه شاهد (A) اندازه طبیعی قطر اپی‌تلیوم و قطر لوله دیده می‌شود. در گروه هایپرکلیسترولمی (B) کاهش اندازه قطر و ضخامت اپی‌تلیوم زایا نسبت به گروه کنترل مشخص می‌باشد. در گروه



شکل ۴- مقایسه اندازه قطر و ضخامت اپی‌تلیوم لوله‌های اسپرم‌ساز در گروه‌های مختلف (هماتوکسیلین-ائوزین، درشت‌نمایی $\times 40$).

اسپرماتوسیت‌های اولیه در گروه هایپرکلیسترولمی-تشنه‌داری نسبت به گروه هایپرکلیسترولمی افزایش معنی‌داری را نشان داد ($p < 0/05$)، اما تعداد سلول‌های اسپرماتوسیت اولیه در گروه تیمار با عصاره تشنه‌داری نسبت به گروه شاهد تفاوت آماری معنی‌داری نداشت (جدول ۴).

میانگین تعداد سلول‌های اسپرماتید نیز در گروه هایپرکلیسترولمی در مقایسه با گروه شاهد، کاهش معنی‌داری را نشان داد ($p < 0/05$). با وجود این که تعداد سلول‌های اسپرماتید در گروه هایپرکلیسترولمی-تشنه‌داری در مقایسه با گروه هایپرکلیسترولمی دارای افزایش معنی‌داری بود ($p < 0/05$)، اما هنوز هم نسبت به گروه شاهد، کاهش معنی‌داری را داشت ($p < 0/05$). البته تفاوت تعداد این سلول‌ها در گروه تیمار با عصاره

مطابق یافته‌های ثبت شده در جدول ۴، میانگین تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی در گروه هایپرکلیسترولمی نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌داری را نشان داد ($p < 0/05$). همچنین مقایسه تعداد اسپرماتوگونی‌ها در گروه هایپرکلیسترولمی-تشنه‌داری نسبت به گروه هایپرکلیسترولمی افزایش معنی‌داری را بیان کرد ($p < 0/05$)، اما همچنان نسبت به گروه شاهد، دارای کاهش معنی‌داری بود ($p < 0/05$). اما تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی در گروه تیمار با عصاره تشنه‌داری نسبت به گروه شاهد، تفاوت آماری معنی‌داری را نشان نداد.

میانگین تعداد اسپرماتوسیت‌های اولیه در گروه هایپرکلیسترولمی نسبت به گروه شاهد دارای کاهش معنی‌داری بود ($p < 0/05$). همچنین مقایسه تعداد

در گروه تشنه‌داری هم نسبت به گروه شاهد از نظر تعداد اسپرمتوزوئیدها تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید. از طرف دیگر به لحاظ آماری مقایسه میانگین تعداد سلول‌های لیدینگ در گروه‌های مختلف مورد مطالعه، اختلاف آماری معنی‌داری را نشان نداد (جدول ۴).

تشنه‌داری نسبت به گروه شاهد معنی‌دار نبود (جدول ۴).

تعداد سلول‌های اسپرمتوزوئید در گروه هایپرکلسترولمی در مقایسه با گروه شاهد افزایش معنی‌داری را نشان داد ($p < 0/05$). اما تعداد سلول‌های مذکور در گروه هایپرکلسترولمی - تشنه‌داری نسبت به گروه هایپرکلسترولمی تفاوت معنی‌داری را نشان نداد.

جدول ۴- مقایسه میانگین \pm انحراف استاندارد تعداد سلول‌های اسپرمتوگونی، اسپرمتوسیت اولیه، اسپرمتاید، اسپرمتوزوئید و لیدینگ در بیضه موش‌های گروه‌های مورد مطالعه.

گروه‌های مورد مطالعه	اسپرمتوگونی	اسپرمتوسیت اولیه	اسپرمتاید	اسپرمتوزوئید	لیدینگ
شاهد	2±44/5 ^a	1±47/3 ^a	4±78/2 ^a	3±43/3 ^a	5±25/1 ^a
هایپرکلسترولمی	3±20/3 ^b	1±15/1 ^b	2±17/3 ^b	1±11/2 ^b	4±22/2 ^a
هایپرکلسترولمی - تشنه‌داری	1±31/8 ^c	3±39 ^a	5±36/1 ^c	2±17 ^b	4±26 ^a
تشنه‌داری	2±38/4 ^a	2±43/8 ^a	5±66/4 ^a	2±38/3 ^a	3±20/8 ^a

a,b,c: حروف نامتشابه در هر ستون، اختلاف آماری معنی‌دار بین گروه‌های مختلف را نشان می‌دهد ($p < 0/05$).

لوله‌ها در گروه هایپرکلسترولمی نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌داری یافته بود ($p < 0/05$). همچنین در موش‌های گروه هایپرکلسترولمی - تشنه‌داری نسبت به گروه هایپرکلسترولمی، ضخامت اپی‌تلیوم لوله‌های اسپرم‌ساز افزایش معنی‌داری را نشان داد ($p < 0/05$). اما مقایسه ضخامت اپی‌تلیوم این لوله‌ها در موش‌های گروه تیمار با عصاره تشنه‌داری نسبت به موش‌های گروه شاهد، اختلاف آماری معنی‌داری نداشت (جدول ۵).

یافته‌های ثبت شده در جدول ۵ نشان داد که قطر لوله‌های اسپرم‌ساز در گروه هایپرکلسترولمی نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌داری داشت ($p < 0/05$). قطر این لوله‌ها در گروه هایپرکلسترولمی - تشنه‌داری در مقایسه با گروه هایپرکلسترولمی افزایش معنی‌داری را نشان داد ($p < 0/05$). اما قطر لوله‌های اسپرم‌ساز در گروه تیمار با عصاره تشنه‌داری نسبت به گروه شاهد تفاوت معنی‌داری را شاهد نبود.

نتایج حاصله از اندازه‌گیری ضخامت اپی‌تلیوم لوله‌های اسپرم‌ساز نشان داد که ضخامت اپی‌تلیوم این

جدول ۵- میانگین \pm انحراف استاندارد قطر و ضخامت اپی‌تلیوم لوله‌های اسپرم‌ساز بیضه موش‌های صحرایی گروه‌های مختلف (برحسب μm).

مشخصه مورد نظر		گروه‌های مورد مطالعه
ضخامت اپی‌تلیوم لوله‌ها	قطر لوله‌ها	
۸۶/۰ \pm ۷۵/۴۳ ^a	۲۳۸/۰ \pm ۴/۷۲ ^a	شاهد
۴۲/۰ \pm ۱۲/۲۵ ^b	۱۹۴/۰ \pm ۲۲/۲۵ ^b	هایپرکلستروملی
۶۹/۰ \pm ۹۴/۷۲ ^a	۲۲۵/۰ \pm ۴/۳۳ ^a	هایپرکلستروملی - تشنه‌داری
۷۷/۰ \pm ۳۳/۶۲ ^a	۲۴۱/۰ \pm ۳۳/۶۸ ^a	تشنه‌داری

a, b, c: حروف نامتشابه در هر ستون، اختلاف آماری معنی‌دار بین گروه‌های مختلف را نشان می‌دهد ($p < 0.05$).

بحث و نتیجه‌گیری

امروزه چاقی به‌عنوان یک عامل تهدیدکننده سلامت در کشورهای توسعه‌یافته و در حال توسعه مطرح می‌باشد (Drew et al., 2007). مطالعات نشان می‌دهند که رژیم پرچرب باعث افزایش کلسترول، تری‌گلیسرید، کاهش تستوسترون سرم، کاهش کیفیت و بلوغ اسپرماتوزن و افزایش نیتریک اکساید سرم می‌شود. تعداد و میزان حرکت اسپرم و تعداد سلول‌های اسپرماتوزنیک در حیواناتی که با رژیم پرچرب تغذیه می‌شوند، در مقایسه با حیوانات عادی، کمتر می‌باشد (Li et al., 2013). تغذیه با رژیم پرچرب و چاقی ناشی از آن می‌تواند با افزایش پراکسیداسیون لیپیدی و در نتیجه تولید رادیکال‌های آزاد همراه باشد (Pan et al., 2006). رادیکال‌های آزاد در شرایط عادی در بدن تولید می‌شوند و می‌توانند بر روی سیستم ایمنی، لیپیدها، پروتئین‌ها و DNA اثر کرده و آن‌ها را اکسیده کنند. به منظور کاهش و یا دفاع در برابر رادیکال‌های آزاد، بدن مجهز به یک سیستم آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. هرگونه عدم تعادل در این مجموعه آنتی‌اکسیدانی و سیستم اکسیدانی باعث ایجاد استرس سلولی می‌شود که می‌تواند مسیر

سلول را به سمت آسیب، پیری، سرطان، آپوپتوز و مرگ پیش ببرد (Finaud et al., 2006).

در مطالعه حاضر، تغذیه حیوانات با جیره پرچرب به مدت ۸ هفته، باعث افزایش معنی‌دار وزن موش‌ها و نیز وزن بیضه در موش‌های گروه هایپرکلستروملی نسبت به حیوانات گروه شاهد شد. همچنین یافته‌های مطالعه حاضر، نشان داد که تغذیه حیوانات با جیره پرچرب به مدت ۸ هفته، باعث افزایش معنی‌دار سطح کلسترول سرم در حیوانات دریافت‌کننده جیره پرچرب می‌شود که این یافته حاکی از موفقیت‌آمیز بودن مدل هایپرکلستروملی و در واقع همان ابتلاء به چاقی است. مطالعات پیشین نیز نشان داده‌اند که رژیم پرچرب موجب بالا رفتن وزن حیوانات آزمایشگاهی می‌شود. هنگامی که بدن کالری زیادی را دریافت می‌کند، بافت چربی به عنوان یک مکان ذخیره امن جهت ذخیره‌کردن مقادیر بالای لیپیدها عمل می‌کند. لیپیدهای اضافی در بافت چربی ذخیره شده و باعث افزایش وزن بدن می‌گردد (Frayn, 2002). در مطالعه یان و همکاران که در سال ۲۰۱۵ منتشر گردیده، مصرف ۸ هفته‌ای رژیم غذایی حاوی ۱۶ درصد چربی خوک نشان داده که موش‌های صحرایی نر پس از پایان مطالعه به طور

ساختار بافتی بیضه و در نتیجه افزایش وزن آن می‌شود (Yazdanparast and Alavi, 2001). در مطالعه حاضر نیز تغذیه حیوانات با جیره پرچرب به مدت ۸ هفته، باعث افزایش معنی‌دار وزن بیضه در گروه‌های دریافت کننده رژیم پرچرب، نسبت به گروه شاهد شد که با نتایج به دست آمده در مطالعه ایزی و همکاران (Ezi et al., 2016) و عباسی و همکاران (Abbasi et al., 2013) مطابقت ندارد اما با نتایج رودخانه‌ای (Rudkhaneei et al., 2016) و یزدان‌پرست و علوی (Alavi, 2001) و Yazdanparast and هم‌خوانی دارد.

از طرف دیگر مصرف عصاره گیاه تشنه‌داری به مدت ۴ هفته در گروه هایپرکلسترولمی - تشنه‌داری نشان داد که وزن حیوانات چاق شده و مبتلا به کلسترول بالا، وزن بیضه و نیز سطح کلسترول خون، به‌صورت معنی‌داری کاهش پیدا کرد. بر اساس مشاهدات گذشته، ثابت شده است که کوئرستین موجود در گیاه تشنه‌داری، موجب کاهش کلسترول و LDL می‌شود. بر اساس این مطالعات، فلاونوئیدهای موجود در این گیاه با جلوگیری از اکسیداسیون LDL، باعث کاهش میزان چربی‌ها و وزن بدن می‌شوند (Katan and Hollman, 1998). گزارش شده که عصاره الکلی گیاهانی که دارای ترکیباتی چون بیوفلاونوئیدها هستند، از طریق افزایش فعالیت لیپازهای کبدی و لیپوپروتئین‌ها و کاهش فعالیت آنزیم‌های هیدروکسی‌متیل‌گلو تاریل‌کوآنزیم‌آردوکتاز باعث کاهش کلسترول تام، LDL و تری‌گلیسریدها می‌شود که منجر به کاهش وزن بدن و وزن بیضه‌ها می‌گردد (Alavi, 2001). علاوه بر آن می‌توان احتمال داد که کاهش وزن بیضه مربوط به اثرات

معنی‌داری مقادیر وزن بالاتری را نسبت به گروه شاهد دارا بودند (Yan et al., 2015). اسرینیواسان و رامارائو نیز نشان دادند که رژیم پرچرب به‌تنهایی باعث افزایش وزن بدن در موش‌های صحرایی می‌شود (Srinivasan and Ramarao, 2007). همچنین در مطالعه رودخانه‌ای و همکاران که بر روی موش‌های صحرایی انجام شد، مشخص گردید که مصرف ۴ ماهه جیره پرچرب، باعث شد که وزن نهایی حیوانات در گروه پرچرب نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری داشته باشد (Rudkhaneei et al., 2016). نتایج به دست آمده در مطالعه ما نیز افزایش چشم‌گیر وزن بدن در موش‌های صحرایی دریافت‌کننده رژیم غذایی پرچرب را نشان می‌دهد که با این مطالعات هم‌خوانی دارد.

اما در زمینه تاثیر جیره غذایی پرچرب بر وزن بیضه، از مطالعات قبلی نتایج متفاوتی به دست آمده است. ایزی و همکاران اعلام کردند که وزن بیضه موش‌های دریافت‌کننده رژیم حاوی ۲۰ درصد روغن دنبه به طور معنی‌داری کمتر از گروه کنترل بود (Ezi et al., 2016). اما در مطالعه عباسی و همکاران که در سال ۲۰۰۴ منتشر گردید، محققین اثرات مصرف ۸ هفته رژیم غذایی حاوی ۵ درصد روغن کنجد را در موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار مورد بررسی قرار داده و مشخص کردند که روغن کنجد سبب افزایش معنی‌دار تعداد اسپرم در موش‌های صحرایی شده اما تأثیری بر پارامترهای وزن بیضه و غلظت تستوسترون نداشت (Abbasi et al., 2013). ولی در ارزیابی دیگری ثابت شده است که افزایش سطح کلسترول و چربی خون، موجب افزایش تعداد رگ‌های خونی، تعداد رگ‌های لنفاوی و همچنین افزایش توده بافت چربی در

کاهش چشمگیری در اسپرمتوزن و تعداد اسپرم در مقایسه با گروه دریافت‌کننده رژیم غذایی استاندارد داشته باشند. یافته‌های آنان همچنین نشان داد که در گروه دریافت‌کننده رژیم پرچرب، غلظت تستوسترون به طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل کاهش داشت (Yan et al., 2015). از جمله دلایل ناباروری، اثر رادیکال‌های آزاد بر عملکرد اسپرم می‌باشد. استرس اکسیداتیو از دلایل اصلی ناباروری در مردان می‌باشد. وجود مقادیر بالای رادیکال‌های آزاد می‌تواند به دلیل فقدان آنتی‌اکسیدان‌ها و یا رهاسازی الکترون آزاد توسط گلبول سفید و اسپرم در حین واکنش‌های اکسیداتیو درون سلولی باشد. مطالعات نشان می‌دهد که بین مقدار تولید انواع اکسیژن واکنشی توسط اسپرم و کیفیت اسپرم در منی ارتباط منفی وجود دارد (Lombardo et al., 2011). هایپرکلسترولمی و استرس اکسیداتیو ناشی از آن و در پی آن پراکسیداسیون لیپید، منجر به آزاد شدن فاکتورهای آپوپتوزنیک مثل سیتوکروم C و فاکتورهایی از میتوکندری‌ها می‌شود. همچنین این آلاینده‌ها ممکن است با ایجاد اختلال در عملکرد میتوکندری‌ها موجب اختلال در فرآیند فسفوریلاسیون اکسیداتیو این اندامک شده و منجر به تخلیه ATP (adenosine triphosphate) اسپرم شده و در نهایت منجر به کاهش قابلیت حیات در اسپرم گردد (Levi et al., 2003). با توجه به افزایش استرس اکسیداتیو و در پی آن، افزایش میزان MDA (malondialdehyde) که فرآورده نهایی پراکسیداسیون لیپیدی توسط گونه‌های فعال اکسیژن (reactive oxygen species; ROS) است، می‌توان به این نتیجه رسید که تولید ROS فعال باعث توقف

آنتی‌آندروژنی کومارین‌ها و فیتواسترول‌ها باشد که باعث کاهش تستوسترون می‌شوند. کاهش تستوسترون از طریق کاهش سنتز پروتئین‌ها و افزایش هورمون تری‌یدوتیرونین و لیپولیز و پروتئولیز باعث کاهش وزن بیضه‌ها می‌شود. در مطالعه انجام شده توسط مالینی و همکاران نیز مشخص شده که فیتواسترول‌ها سبب کاهش وزن بیضه‌ها می‌گردند (Malini and Vanithakumari, 1991). همچنین نشان داده‌اند که اسانس‌های گیاهی، به خاطر وجود ترکیبات ترپنوئیدی، ساخت کلسترول و اسیدهای چرب را در کبد مهار می‌کنند و در نتیجه سطح کلسترول خون به ویژه لیپوپروتئین‌های با چگالی پایین را کاهش می‌دهند (Yeh and Liu, 2001). یافته‌های ما نیز که بیانگر کاهش چشم‌گیر وزن بدن، وزن بیضه و میزان کلسترول خون در نتیجه درمان با عصاره هیدروالکلی گیاه تشنه‌داری است، با نتایج بررسی‌های پیشین (Katan and Hollman, 1998, Yeh and Liu, Malini and Vanithakumari, 1991, Yazdanparast and Alavi, 2001) مطابقت دارد.

همچنین در مطالعه حاضر، بررسی بافت‌شناسی و میکروسکوپی بیضه و وضعیت اسپرمتوزن نشان داد که در حیوانات دریافت‌کننده جیره پرچرب، تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت اولیه، اسپرماتید و اسپرماتوزوئید نسبت به موش‌های شاهد به طور معنی‌داری کاهش پیدا کرده بود ($p < 0/05$)، اما در مورد سلول‌های لیدیک این کاهش معنی‌دار نبود (جدول ۴). در این ارتباط، نتایج مطالعه یان و همکاران در سال ۲۰۱۵ نشان داد که مصرف ۸ هفته‌ای رژیم غذایی حاوی ۱۶ درصد چربی خوک باعث شد که موش‌های صحرایی نر پس از پایان مطالعه به طور معنی‌داری،

افزایش نیز نشان داد (Campos-Silva et al., 2015). در مطالعات مشابه قبلی گزارش شده است که کاهش یافتن قطر لوله‌های منی‌ساز در حالت هایپرکلسترولمی، ممکن است به دلیل کاهش تعداد سلول‌های سرتولی و جنسی در اثر آپوتوزیس یا اختلال در فرآیند اسپرماتوزن باشد (Chitra and Premendu, 2004). گونه‌های فعال اکسیژن موجب تخریب DNA اسپرم و فرآیند اسپرمیوزن شده، تولید رده‌های سلولی اسپرماتوزن کاهش یافته، قطر لوله سمینوفر کاهش می‌یابد و از این طریق سبب آتروفی لوله اسپرم‌ساز می‌شوند (Chitra and Premendu, 2004). در حالت هایپرکلسترولمی و استرس اکسیداتیو و تولید گونه‌های فعال اکسیژن، کاهش تعداد لایه‌های اپی‌تلیوم منی‌ساز را می‌توان در نتیجه توقف تقسیمات میتوزی اسپرماتوگونیم B نیز دانست که به معنی طویل شدن فاز G₁ است. طولانی شدن فاز G₁ در نتیجه ممانعت از سنتز سیکلین، به خاطر بیان بیش از اندازه ژن (-X) XBP₁ (box binding protein 1) است. این پروموتور ژن دارای چندین عامل تنظیم شونده با استرس است که یکی از آن‌ها به استرس اکسیداتیو پاسخ می‌دهد (Malini and Vanithakumari, 1991). به طور کلی می‌توان این گونه استنباط کرد که تخریب شدید سلول‌های جنسی و بینابینی که منجر به کاهش شدید تعداد این سلول‌ها در بافت پوششی لوله‌های اسپرم‌ساز می‌شود می‌تواند دلیل اصلی کاهش قطر این لوله‌ها و ضخامت بافت پوششی در آن‌ها باشد. ارزیابی‌های ما نیز نشان داد که پس از تجویز عصاره گیاه تشنه‌داری، بهبود کلی در وضعیت بافتی و اسپرماتوزن در بیضه گروه‌های مربوطه به وجود آمده است. در این خصوص،

سیکل سلولی و افزایش فرآیند آپوتوز می‌شود که به این ترتیب باعث کاهش تولید روزانه اسپرم و همچنین کاهش تعداد کلی اسپرم می‌گردد (Amin and Hamza, 2006).

کاهش تعداد سلول‌های جنسی و بینابینی بیضه در مطالعه حاضر پس از دریافت ۸ هفته رژیم پرچرب و ایجاد مدل هایپرکلسترولمی نیز می‌تواند به دلیل تأثیر افزایش سطح کلسترول خون در تولید رادیکال‌های آزاد و در نتیجه آسیب سلولی به سلول‌های زایا و پشتیبان در بافت بیضه و از طرفی دیگر کاهش تولید هورمون‌های جنسی به دلیل اختلال در مسیر هورمونی هیپوتالاموس - هیپوفیز - بیضه باشد. در مطالعه حاضر مشاهده گردید که در گروه‌های دریافت کننده رژیم پرچرب قطر لوله‌های اسپرم‌ساز و ضخامت اپی‌تلیوم آن‌ها، نسبت به گروه شاهد به طور معنی‌داری کاهش پیدا کرده بود (جدول ۵). در مطالعه ایزی و همکاران در سال ۱۳۹۵ نیز گزارش شده است که تغذیه با رژیم پرچرب حاوی روغن دنبه، علاوه بر اینکه باعث کاهش معنی‌دار در تعداد اسپرماتوگونی‌ها شد، ضخامت لایه زایشی و قطر لوله‌های اسپرم‌ساز نیز دچار کاهش معنی‌داری شدند (Ezi, et al. 2016). همچنین نتیجه مشاهدات کامپوس - سیلوا و همکاران نشان داد که مصرف ۱۶ هفته‌ای رژیم غذایی با کلسترول بالا حاوی ۵۰ درصد چربی خوک، سبب کاهش ضخامت اپی‌تلیوم زایا در لوله‌های اسپرم‌ساز بیضه گردید، در حالی که موش‌هایی که رژیم غذایی حاوی ۵۰ درصد چربی غیراشباع (روغن کانولا) را دریافت کرده بودند، نه تنها این ضخامت در آن‌ها کاهش نیافته بود، بلکه به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل که رژیم معمولی دریافت کرده بودند،

و پس از بررسی‌های بافتی مشخص گردید که در گروه‌های دریافت کننده کلسترول، افزایش سطح کلسترول، باعث کاهش قطر لایه‌ای تلیوم منی‌ساز و لومن لوله‌های منی‌ساز می‌شود، اما تجویز عصاره بذر شوید باعث بهبود این وضعیت گردید (Farokhi and Riazi, 2018). نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر نیز بیانگر اثرات درمانی و مثبت تجویز گیاه تشنه‌داری بر روی بافت بیضه و وضعیت اسپرماتوژنز و اسپرمیوژنز در آن است.

به‌طور کلی مطالعه حاضر نشان داد که مصرف جیره پرچرب به مدت ۸ هفته، سبب افزایش وزن بدن، هایپرکلسترولمی و در نهایت آسیب در بافت بیضه و اختلال در روند اسپرماتوژنز و اسپرمیوژنز می‌گردد. از طرفی مصرف خوراکی عصاره هیدروالکلی گیاه تشنه‌داری در موش‌های تحت تیمار، هایپرکلسترولمی و افزایش وزن ایجاد شده در اثر دریافت جیره پرچرب را تا حدودی تعدیل نموده و به حالت طبیعی نزدیک گردانید. از سوی دیگر عصاره تشنه‌داری با بهبود سطح کلسترول سرم در حیوانات هایپرکلسترولمی شده، سبب بهبود وضعیت و نزدیک شدن آن به حالت طبیعی گردید. همچنین تجویز عصاره این گیاه، باعث بهبود ساختار بافتی بیضه گردید که به نظر می‌رسد به دلیل وجود خواص آنتی‌اکسیدانی ترکیبات موجود در این گیاه باشد که موجب کاهش میزان استرس‌اکسیداتیو به دنبال مصرف آن به مدت ۴ هفته گردید. لذا به نظر می‌رسد که مصرف خوراکی گیاه تشنه‌داری، می‌تواند موجب بهبود اختلالات باروری ناشی از چاقی و هایپرکلسترولمی و اثرات سوء آن بر بیضه و دستگاه تناسلی جنس نر شده و نیز اثرات سودمند و محافظتی

مشخص شده‌است که بخش هوایی گیاه تشنه‌داری حاوی ترکیبات فلاونوئیدی و گلیکوزیدی است که با توجه به وجود این ترکیبات در ساختار این گیاه، می‌توان تصور نمود که بخشی از اثرات مفید و محافظتی گیاه مذکور، از طریق تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی و مهار تولید ROS اعمال گردد (Zaheri et al., 2011). در بررسی‌های بیشتر ترکیب شیمیایی عصاره گیاه تشنه‌داری، حضور فلاونوئیدها، کوئرستین، کومارین و فیتواسترول‌ها را نشان می‌دهد. فلاونوئیدها دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی هستند. این ترکیبات از طریق مهار تشکیل ROS، حذف ROS و حفاظت از سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی، با استرس اکسیداتیو مقابله می‌کنند و در نتیجه، کاهش تولید ROS، باعث کاهش نفوذپذیری سلولی و افزایش حیات اسپرم می‌شود (Levi et al., 1979).

یکی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی بسیار مهم موجود در عصاره گیاه تشنه‌داری، کوئرستین می‌باشد. کوئرستین دارای اثرات محافظتی بر سلول‌های اسپرماتوگونی تحت استرس اکسیداتیو است و با دادن الکترون به گونه‌های اکسیژن فعال (ROS)، تخریب DNA سلولی را کاهش می‌دهد (Vargas and Burd, 2010). ترکیبات آنتی‌اکسیدانی چون فلاونوئیدها از طریق کاهش آسیب‌های ایجاد شده توسط رادیکال‌های آزاد، تقویت و استحکام سد خونی - بیضه‌ای و حفاظت و ترمیم DNA اسپرم‌ها، موجب بهبود اسپرماتوژنز و افزایش تعداد اسپرم می‌شوند (Amin and Hamza, 2006). در یک مطالعه مشابه فرخی و همکاران تأثیر عصاره الکلی بذر شوید را بر بافت بیضه موش‌های صحرایی هایپرکلسترولمی شده مورد بررسی قرار دادند

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضاد

منافعی ندارند.

بر پارامترهای بیوشیمیایی، آنتی‌اکسیدانی و بافت بیضه داشته باشد.

سپاسگزاری

پژوهش حاضر بر گرفته از پایان‌نامه مقطع کارشناسی ارشد رشته بافت‌شناسی مصوب دانشکده پیرادامپزشکی دانشگاه ایلام می‌باشد. لذا بدین وسیله از کلیه کارشناسان آزمایشگاه دانشگاه، به‌خصوص کارشناس مرکز تحقیقات دانشکده پیرادامپزشکی تشکر می‌گردد.

منابع

- Abbasi, Z., Fatemi Tabatabaei, S.R., Mazaheri, Y., Barati, F. and Morovvati, H. (2013). Effects of sesame oil on the reproductive parameters of diabetes mellitus-induced male rats. *The World Journal of Men's Health*, 31(2): 141-149.
- Adesanya Olamide, A., Oluyemi Kayode, A., Ofusori David, O., Omotuyi Idowu, U., Okwuonu Christina, O., Ukwenya Victor. A., *et al.* (2007). Micromorphometric and stereological effects of ethanolic extracts of *Garcinia cambogia* seeds on the testes and epididymides of adult Wistar rats. *The Internet Journal of Alternative Medicine*, 5(1): 1-9.
- Amin, A. and Hamza, A.A. (2006). Effects of Roselle and Ginger on cisplatin-induced reproductive toxicity in rats. *Asian Journal of Andrology*, 8(5): 607-612.
- Ashamu, E., Salawu, E., Oyewo, O., Alhassan, A., Alamu, O. and Adegok, A. (2010). Efficacy of vitamin C and ethanolic extract of *Sesamum indicum* in promoting fertility in male wistar rats. *Journal of Human Reproductive. Sciences*, 3(1): 11-14.
- Attar, F., Keshvari, A., Ghahreman, A., Zarre, Sh. and Aghabeigi, F. (2007). Micromorphological studies on *Verbascum* (Scrophulariaceae) in Iran with emphasis on seed surface, capsule ornamentation and trichomes. *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, 202(2): 169-175.
- Bancroft, J.D. and Gamble, M. (2011). *Theory and practice of histological techniques*. 6th ed., Philadelphia: Churchill Livingstone Elsevier, pp: 126-139.
- Campos-Silva, P., Furriel, A., Costa, W.S., Sampaio, F.J. and Gregorio, B.M. (2015). Metabolic and testicular effects of the long-term administration of different high-fat diets in adult rats. *International Brazilian Journal of Urology*, 41(3): 569-575.
- Chitra, K.C. and Premendu, M. (2004). Vitamin E prevent nonylphenol-induced oxidative stress in testes of rats. *Indian Journal of Experimental Biology*, 42(2): 220-223.
- Cooper, T.G. and Handelsman D.J. (2013). Falling sperm counts and global oestrogenic pollution: postscript. *Asian Journal of Andrology*, 15: 208-211.
- Davis, H.R., Pula, K.K., Alton, K.B., Burrier, R.E. and Watkins, R.W. (2001). The synergistic hypocholesterolemic activity of the potent cholesterol absorption inhibitor, ezetimibe, in

- combination with 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme a reductase inhibitors in dogs. *Metabolism*, 50(10): 1234-1241.
- Dupont, C., Faure, C., Sermondade, N., Boubaya, M., Eustache, F., Clément, P., *et al.* (2013). Obesity leads to higher risk of sperm DNA damage in infertile patients. *Asian Journal of Andrology*, 15(5): 622.
 - Drew, B.S., Dixon, A.F. and Dixon, J.B. (2007). Obesity management: update on orlistat. *Vascular Health and Risk Management*, 3(6): 817-821.
 - Ezi, S., Hosseini, M., Hassanzadeh-Taheri, M., Jahani, F., Afshar, M. and Hassanzadeh-Taheri M.M. (2016). Effects of tail fat enriched diet on male Wistar rat reproductive system. *Journal of Birjand University of Medical Sciences*, 23(1): 1-10. [In Persian]
 - Fatemi tabatabaei, S.R., Shahriari, A., and Abaszadeh, M. (2012). Effect of Vitamin C on the Obesity Indices of High Fat Fed Diet Rats. *Jundishapur Scientific Medical Journal*, 13(1): 31-42. [In Persian]
 - Farokhi, F. and Riazi, S. (2018). The Effect of alcoholic extract of *Anethum graveolens* seed on the changes of testis tissue, sperm parameters in hypercholesterolemic male rats. *Arak Medical University Journal*, 20(127): 74-89. [In Persian]
 - Ferdowsi, Sh., Hooshmandi, Z. and Shahmoradi, E. (2017). The effect of *Scrophularia striata* hydroalcoholic extract in the prevention of gastric ulcers induced by indomethacin in rats. *Journal of Animal Biology*, 9(4): 79-90. [In Persian]
 - Finaud, J., Lac, G. and Filaire, E. (2006). Oxidative stress: Relationship with exercise and training. *Sports Medicine*, 36(4): 327-358.
 - Forat Yazdi, M., Giahi Yazdi, M. and Sorbi, M.H. (2017). Effects of *Artemisia dracunculus* essential oil on blood lipid profiles in hyperlipidemic rat. *Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences*, 25(6): 426-35.
 - Frayn, K.N. (2002). Adipose tissue as a buffer for daily lipid flux. *Diabetologia*, 45(9): 1201-1210.
 - Friedler, S., Raziell, A., Strassburger, D., Schachter, M., Soffer, Y. and Ron-El, R. (2002). Factors influencing the outcome of ICSI in patients with obstructive and non-obstructive azoospermia: a comparative study. *Human Reproduction*, 17(12): 3114-3121.
 - Hammoud, A.O., Gibson, M., Peterson, C.M., Meikle, A.W. and Carrell, D.T. (2008). Impact of male obesity on infertility: a critical review of the current literature. *Fertility and Sterility*, 90(4): 897-904.
 - Hamzavi Jahromi, Z., Zolghadri Jahromi, S., Hemayatkhah Jahromi, V., Kargar Jahromi, H. and Erfanian, S. (2014). Protective effects of curcumin against gamma-radiation on rats. *Hormozgan Medical Journal*, 18(2): 121-131. [In Persian]
 - Jensen, T.K., Andersson, A.M., Jørgensen, N., Andersen, A.G., Carlsen, E. and Skakkebaek, N.E. (2004). Body mass index in relation to semen quality and reproductive hormones among 1,558 Danish men. *Fertility and Sterility*, 82(4): 863-870.
 - Jensen, T.K., Heitmann, B.L., Jensen, M.B., Halldorsson, T.I., Andersson, A.M., Skakkebaek, N., *et al.* (2013). High dietary intake of saturated fat is associated with reduced semen quality among 701 young Danish men from the general population. *The American journal of clinical nutrition*, 97(2): 411-418.
 - John, A.R. (2013). Falling sperm counts twenty years on: where are we now? *Asian Journal of Andrology*, 15(2): 204.
 - Kianbakht, S. and Dabaghian, F.H. (2013). Improved glycemic control and lipid profile in hyperlipidemic type 2 diabetic patients consuming *Salvia officinalis* L. leaf extract: A randomized placebo. Controlled clinical trial. *Complementary Therapies in Medicine*, 21(5): 441-446.
 - Lakhan, S.E. and Vieira, K.F. (2010). Nutritional and herbal supplements for anxiety and anxiety-related disorders: systematic review. *Nutrition Journal*, 9(1): 42-55.

- Levi, A.J., Fisher, A.M., Hughes, L. and Hendry, W.F. (1979). Male infertility due to sulphasalazine. *Lancet*, 2(8137): 276-278.
- Li, Y., Liu, L., Wang, B., Xiong, J., Li, Q. and Chen, D. (2013). Impairment of reproductive function in a male rat model of non-alcoholic fatty liver disease and beneficial effect of N-3 fatty acid supplementation. *Toxicology Letters*, 222(2): 224-232.
- Lombardo, F., Sansone, A., Romanelli, F., Paoli, D., Gandini, L. and Lenzi, A. (2011). The role of antioxidant therapy in the treatment of male infertility: an overview. *Asian Journal of Andrology*, 13(5): 690-697.
- Magnusdottir, E.V., Thorsteinsson, T., Thorsteinsdottir, S., Heimisdottir, M. and Olafsdottir, K. (2005). Persistent organochlorines, sedentary occupation, obesity and human male subfertility. *Human Reproduction*, 20(1): 208-215.
- Malini, T. and Vanithakumari, G. (1991). Antifertility effects of beta-sitosterol in male albino rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 35(2): 149-153.
- Mosallanejad, B., Avizeh, R., Razi Jalali, M. and Jahanmardi, A. (2016). Comparative evaluation of garlic and atorvastatin effects on lipid profiles changes in dog. *Iranian Veterinary Journal*, 12(2): 93-102.
- Oluyemi Kayode, A., Jimoh Olusegun, R., Adesanya Olamide, A., Omotuyi Idowu, O., Josiah Sunday, J. and Oyesola Tolulope, O. (2007). Effects of crude ethanolic extract of *Garcinia cambogia* on the reproductive system of male Wistar rats (*Rattus norvegicus*). *African Journal of Biotechnology*, 6(10): 1236-1238.
- Pan, M., Song, Y.L., Xu, J.M. and Gan, H.Z. (2006). Melatonin ameliorates nonalcoholic fatty liver induced by high-fat diet in rats. *Journal of Pineal Research*, 41(1):79- 84.
- Park, S.U., Park, N., Kim, Y.K., Suh, S.Y., Eom, S.H. and Lee, S.Y. (2009). Application of plant biotechnology in the medicinal plant. *Rehmannia glutinosa* Liboschitz. *Journal of Medicinal Plants Research*, 3(13):1258-1263.
- Ramlau-Hansen, C.H., Hansen, M., Jensen, C.R., Olsen, J., Bonde, J.P. and Thulstrup, A.M. (2010). Semen quality and reproductive hormones according to birthweight and body mass index in childhood and adult life: two decades of follow-up. *Fertility and Sterility*, 94(2): 610-618.
- Rudkhaneei, K., Aghajanasab, M., Abbasi, M. and Mohammadghasemi, F. (2016). Effect of apple vinegar in spermatogenesis and serum total antioxidant status in rats under high fat diet. *Scientific Journal of Hamadan University of Medical Sciences*, 2(3): 249-258. [In Persian]
- Sainath, S.B., Meena, R., Supriya, C.H., Reddy, K.P. and Reddy, P.S. (2011). Protective role of *Centella asiatica* on lead-induced oxidative stress and suppressed reproductive health in male rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 32(2): 146-154.
- Srinivasan, K. and Ramarao, P. (2007). Animal models in type 2 diabetes research: an overview. *The Indian Journal of Medical Research*, 125(3): 451-472.
- Vargas, A.J. and Burd, R. (2010). Hormesis and synergy: pathways and mechanisms of quercetin in cancer prevention and management. *Nutrition Reviews*, 68(7): 418-428.
- Yan, W.J., Mu, Y., Yu, N., Yi, T.L., Zhang, Y., Pang, X.L., *et al.* (2015). Protective effects of metformin on reproductive function in obese male rats induced by high-fat diet. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 32(7): 1097-1104.
- Yazdanparast, R. and Alavi, M. (2001). Anti hyperlipidaemic and hypercholesterolaemic effects of *Anethum graveolens* leaves after the removal of furocoumarins. *Cytobios*, 105(410): 185-191.
- Yeh, Y.Y. and Liu, L. (2001). Cholesterol-lowering effect of garlic extracts and organosulfur compounds: human and animal studies. *The Journal of nutrition*, 131(3): 989S-993S.
- Zaheri, M., Ebrahimi vosta calai, S. and Cheraghi, J. (2011). Protective effect of aerial parts extract of *Scrophularia striata* on cadmium and mercury induced nephrotoxicity in rats. *Journal of Babol University of Medical Sciences*, 13(4): 48-53. [In Persian]