تداخل اثر عصاره آبی گیاه شاهتره و کلرامبوسیل بر اسپرماتوژنز در موش صحرایی

مونا سوری[۱]، میترا حیدری نصرآبادی[۲]، عبدالحسین شیروی[۳]، زهرا حبیبی[٤]

چکیده

کلرامبوسیل، داروی آلکیله کننده ای است که دردرمان برخی تومورها به کارمی رود، این دارو اثرات سمی براسپرماتوژنز دارد،

گیاه شاهتره از گیاهان دارویی است که اثرات مفید آن درکاهش اثرات سمی برخی از داروها درکبد نشان داده شده است.

دراین مطالعه اثرمحافظتی شاهتره بربافت بیضه ونیز نقش آن درکاهش اثرات سمی کلرامبوسیل براسپرماتوژنزمورد بررسی قرار گرفته است درمطالعه ما، ازموش های نر نژاد ویستاراستفاده شده است. موش ها در٦ گروه ۷ تایی قرارگرفتند، ۲گروه کنترل و٤ گروه تجربی.

گروه‌های کنترل آب مقطریا کلرامبوسیل دریافت کردند وگروه‌های تجربی عصاره آبی شاهتره ویا شاهتره وکلرامبوسیل دریافت نمودند.

بررسی های موفولوژیک وهیستولوژیک برای تمام نمونه ها انجام شد. نتایج نشان داد که میانگین قطرکوچک، میانگین تعداد لوله های سمی نیفر، میانگین تعداد اسپرماتیدها و اسپرماتوزوئیدها وسلول های سرتولی بین گروههای کنترل وتجربی اختلاف معنی داروجود دارد.

به نظرمی رسد مصرف عصاره آبی شاهتره درموش های نژاد ویستاراثرحمایتی بربرخی ازپارامترهای اسپرماتوژنزدارد.

۱- دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان

۲- عضو هیات علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد پرند

۳- استادیار دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان

٤- دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان

کلمات کلیدی : شاهتره، کلوامبوسیل، اسپرماتوژنز و گیاهان دارویی

مقدمه:

شاهتره گیاهی علفی یکساله بوده دربن فاقد غده است وگل ها به رنگ سفید یا صورتی است. میوه شفت مانند، ناشکوفا ودانه ها فافد پوشش اضافی است.(۳و۱)

این گیاه تقریبا درتمام نقاط ایران می روید.(۳)

قسمت ها مورد استفاده میوه وسرشاخه های گلدارآن می باشد(٤)

طبق بررسی های صورت گرفته دربرگها وساقه گیاه ترکیبات غیرآلکا لوئیدی، پنتا نوکتان، گلوکز، تا ننوفوماریک اسید مشخص شده است. قسمت هوایی گیاه حاوی حدود یک درصد آلکالوئید است بیش از۳۰ عدد آن ها تعیین فرمول شده اند.اکثراین آلکالوئیدها ازمشتقات بنزیل ایزوکینولین هستند.

مهم ترین این آلکالوئیدها شامل فومارین(پروتوپین) فوماری لین و سیناکتین، کریپتو کاوین، اسکولزین هستند.از دیگرترکیبات شاهتره می توان فلاوونوئیدها، اسیدهای‌گیاهی به ویژه اسید فوماریک و موسیلاژ،را نام برد. گیاهان تیره شاه تره دربافت پارانشیمی خود دارای لوله های ترشح کننده غیرشیرابه ای هستند ودارای فرمول $CA^{2}CO2AG$ می باشند.(٦و٥)

عصاره این گیاه اثرمحافظتی انتخا بی درمقابل سمیت کبدی ناشی ازمصرف بعضی از داروها دارد.(٦)

این عصاره دردرمان بسیاری ازبیماری های کبدومثانه وبه عنوان ضد خارش، ضد سرفه ، تب بر، معرق، اشتها آورو...موثراست.(۷)

Archive of SID

www.SID.ir

کلرامبوسیل ما ده موثرلـوکران وجزوموسـتا ردهـای نیتروژنـه بوده وبه عنوان یک داروی موثرعلیه بیما ری هـای نئـوپلازی انسانی بکارمی رود.این ماده یـک عامـل آلکیلـه کننـده دو عملکردی از نوع خردلهـا ی نیتروژنـی اسـت. مـدارک دال بروجود اثرنا هنجاری زایی آن درانسان نـشا ندهنـده احتمـال عیور کلرامبوسیل از جفت هستند. *CHL* بطوروسیعی درکبد متابولیزه شده ومتا بولیت آن یعنی فنیل استیک اسید موسـتارد دارا ی فعا لیـت نئـوپلازی اسـت اسـید آمینـو فنـل اسـتیک. کلرامبوسیل ومتابولیت اصلی آن فورا دربدن به انواع مشتقا ت مونوهیدروکسی و دی هیدروکسی تبدیل می گردند.(۸)

دراین پژوهش بـرآنیم کـه اثـر عـصاره آبـی گیـا ه شـاهتره *Fumaria Parviflora* بربافت بیضه وهمچنـین تـد اخـل اثرآن با کلرامبوسیل بربا فت بیضه مورد بررسی قرار دهیم .

مواد وروش ها

دراین پروژه از موش رت نژاد ویستاراستفاده شد بـدلیل ایـن که پیش از این کسی روی این موضوع کار نکـرده بـود نمـی توانستیم روی انسان این موضوع را بررسی کنیم بنـا بـراین از مدل حیوانی استفاده شد وهمچنین بدلیل قا بل دسترس بـودن آن وکوچک بودن و این که دوره اسپرما توژنز کوتاه تری دارد ترجیحا دراین پروژه از این حیوان استفاده شد.

حیوا نات به ٦گروه ۷ تـایی تقـسیم شـدند (دوگـروه کنتـرل وچهار گروه تجربی). درشرایط نوری طبیعی ورطوبت محیط قرار گرفتند آب وغذا دراختیار آنها قرارگرفت میانگین وزنـی آنها بین ۲٤۳-۲۱۵ بود هرکـدام از مـوش هـا پـس از تـوزین درقفس جدا گا نه ای قرارداده شدند وبرایشان کارت شناسایی تهیه شد که روی قفس ها چسبا نـده مـی شـد ودرآن شـماره موش، وزن موش، درصورت لزوم مقدارماده گاواژ شده، سـن وتا ریخ های شروع گاواژ یادداشت می شـد. بـستر آن هـا از تراشه چوب وغذایشان از پلیت های آماده شده بود.قفـس هـا هر ۲ هفته شسته وضد عفونی می شدند.

گروه کنترل: فقط آب مقطر ازطریـق گـاواژ بـه مـدت ۵ روز دریافت کردند.

گروه کنترل ۲: فقط کلرامبوسیل از طریق گاواژ به مدت ۵ روز دریافت کردند. از قرص کلرا مبوسیل با مارک تجا ری لوکران سـاخت کارخـا نـه GiaxoSmithKline اسـتفاده شـد. هرقرص حاوی 2 mg کلرامبوسیل است هربار۵ قرص کـاملا پودرشده درسرم فیزیولـوژی حـل شـده وبـه حجـم 10 ml رسانیده می شد وخوب مخلوط می شد دراین حال هر ml از ایـــن محلـــول حـــاوی 1 mg کلرامبوســـیل بـــود.(غلظت= 1mg/ml).

گـروه تجربـی ۱: فقـط عـصاره آبـی شـاهتره بـا غلـضت 150mg/kg وزن بدن به مدت ۵ روز دریافت کرد ند.

گروه تجربی۲: عصاره آبـی شـاهتره بـا غلظـت 150mg/kg وزن بدن به همراه 10mg/kg وزن بدن کلرامبوسیل از طریق گاواژ به مدت ۵ روز دریافت کرد ند.

گروه تجربی۳: عصاره آبی شـاهتره بـا غلظـت ۲50mg/kg وزن بدن به همراه 10mg/kg وزن بدن کلرامبوسیل از طریق گاواژ به مدت ۵ روز دریافت کرد ند.

گروه تجربی٤: عصاره آبی شـاهتره بـا غلظـت ۳50mg/kg وزن بدن به همراه 10mg/kg وزن بدن کلرامبوسیل از طریق گاواژ به مدت ۵ روز دریافت کرد ند. علـت 10mg/kg وزن بدن کلرامبوسیل مطا لعات قبلی ا ست که نشان داده است کـه این دوز اثرتخریب بربافت بیضه به جای می گذارد.

بررسی های مرفولوژیک وهیستولوژیک

۱۵ روز پس از اولین گاواژ حیوا نات بوسیله کلروفرم بیهوش شدند وپس ازتشریح بیضه ها را کـه درقـسمت تحتـانی بـدن موش قرار دارند خارج کرده وتوسط سرم فیزیولوژی شستشو داده شد، با استفاده ازیک استوانه مدرج 10ml که بـه مقـدار 4cc سرم فیزیولوژی درآن ریخته شده بـود حجـم بیـضه هـا اندازه گیری شدند (هر چقدر سرم درلوله بالا آمد حجم بیضه محسوب می شود).

وبعد بوسیله کولیس قطرکوچک وبزرگ بیضه ها اندازه گیری شدند ، سپس بیضه ها در محلول فیکـساتور بـوئن قـرار داده شدند حداقل ۲٤ ساعت در بوئن با قی مانده بعد از ۲٤ سـا عت بیضه ها را از درون محلـول بـوئن بیـرون آورده مراحـل

Archive of SID

www.SID.ir

آبگیری با درصدهای تصاعدی اتا نول انجام شد. بعد مراحل شفاف سازی با استفاده از الکل مطلق وتولوئن انجام گردید. بعد از مرحله شفاف سازی مرحله قا لب گیری انجام شد ، قالب به مدت ۴۸-۲۴ سا عت درون ظرفی که آغشته به گلیسیرین است دریخچال نگاه داری شد. سپس قالب ها بوسیله میکروتوم با ضخامت 7 میکرون برش داده شد.پس ازآن نمونه ها رنگ آمیزی شدند.بعد بوسیله میکروسکوپ نوری وعدسی مشبک سلول های اجدادی اسپرم (اسپرماتوگونی نوع A ، اسپرماتوگونی نوع B ، اسپرماتوسیت نوع اولیه، اسپرماتوسیت نوع ثانویه، اسپرماتید،اسپرماتوزوآ، سلول های سرتولی، قطرلوله های سمی نیفر، تعداد لوله های سمی نیفر)را شمارش کردیم.

.تجزیه وتحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS 11.5 وآزمون واریانس یک طرفه (One Way Anova) وبه دنبال آن آزمون تکمیلی Tukey انجام گرفت.

نتایج

مقادیرمیانگین همراه با انحراف معیار قطرهای بیضه ها،حجم بیضه ها، تعداد سلول اسپرماتوگونی B,A ، اسپرما توسیت اولیه، اسپرما توسیت ثا نویه، اسپرماتید، اسپرما توزوآ، سلول های سرتولی ، قطرلوله ها سمی نیفروتعداد لوله ها ی سمی نیفردرجدول ا ونمودارهای ۱ تا ۱۲ آورده شده است.

نتایج بررسی های مورفومتریک

مقایسه حجم وقطرکوچک وبزرگ بیضه بین گروهها ی تجربی وگروه کنترل نشان می دهد که دریافت عصاره آبی شاهتره وکلرامبوسیل تغییرمعنی داری درقطربزرگ وحجم بیضه ایجاد نکرده است ولی افزایش معنی داری درگروههای تجربی ۱ تا ٤ درقطرکوچک بیضه ایجاد شده است ولی ($P<0.05$) درگروه کنترل۲ نیزکاهش قطرمعنی داراست.

نتا یج بررسی های هیستولوژیک

میانگین قطرلوله های سمی نیفردر٦ گروه اختلاف معنی داری وجود ندارد، ازلحا ظ تعداد لوله ها ، بین گروههای کنترل وتجربی۱ اختلاف معنی داری وجود دارد.

ازلحاظ تعداد سلول های سرتولی، بین گروه های کنترل وتجربی اختلاف معنی داروجود دارد واین اختلاف بین گروه های کنترل وگروه های تجربی3,4 است.

ازلحاظ میانگین تعداد اسپرماتوگونی B,A بین گروههای کنترل وتجربی اختلاف معنی داری وجود ندارد.

ازلحاظ تعداد اسپرما توسیت اولیه، بین میانگین گروههای کنترل ومیانگین گروههای تجربی اختلاف معنی داری وجود ندارد ولی بین میانگین گروههای کنترل وگروه تجربی ۱ ، این اختلاف معنی داراست.

ازلحاظ تعداد اسپرماتوسیت ثانویه، اختلاف معنی داردر٦ گروه مشا هده نشد.

ازلحاظ تعداد اسپرماتید ها، اختلاف بین گروههای کنترل وتجربی معنی داراست واین اختلاف بین کنترل ها وگروه ٤ است.

ازلحاظ اسپرماتوزوئید ها، نیزوضع به همین منوال است.

Archive of SID

www.SID.ir

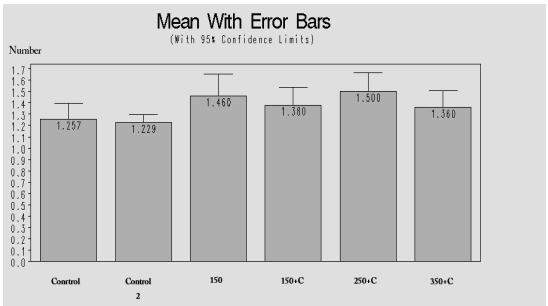
جدول شماره ۱: میانگین وانحراف معیارموارد بررسی شده درگروه های کنترل وتجربی

گروه	کنترل	کنترل۲	تجربی ۱	تجربی ۲	تجربی ۳	تجربی ٤
حجم بیضه	1/25±0/15	1/22±0/07	1/46±0/26	1/38±0/22	1/50±0/35	1/36±0/20
قطرکوچک بیضه	11/71±0/30	10/96±0/42	10/98±0/42	11/54±0/30	11/68±0/43	11/95±0/48
قطربزرگ بیضه	19/19±0/68	18/48±0/49	18/53±0/93	19/11±0/73	19/52±1/10	19/00±0/83
اسپرماتوگونی A	4/53±1/76	4/46±1/73	5/73±1/87	۷۲/۱±۲٥/٤	۱۳/۲±٦۲/۳	۰۲/۲±٤٦/۳
اسپرماتوگونی B	4/47±2/31	4/57±2/29	۳٦/۲±۷۱/4	٤٤/۲±۲۲/٤	۹۸/۱±٤٥/۳	۲۷/۲±۷۹/۳
اسپرماتوسیت اولیه	8/39±2/89	7/88±3/34	15/20±8/98	6/79±3/33	9/88±6/32	6/94±5/15
اسپرماتوسیت ثانویه	11/16±3/65	10/85±3/50	20/86±9/43	9/73±3/05	15/35±9/21	9/90±7/64
اسپرماتید	19/54±7/67	23/81±26/52	24/11±8/48	20/61±7/75	12/49±6/31	8/86±4/94
اسپرماتوزوآ	18/16±8/75	19/47±7/95	26/15±9/81	20/37±8/03	13/82±7/24	8/65±6/30
سلول سرتولی	2/79±1/51	3/16±1/39	3/24±1/69	٤۷/۱±۰۸/۳	۳٥/۲±٤۹/٤	۲۱/۲±۳۷/٤
قطرلوله های سمی نیفر	69/64±11/20	69/87±10/70	70/84±10/22	71/23±10/85	69/18±11/45	69/76±10/38
تعداد لوله های سمی نیفر	3/03±0/59	3/54±0/89	6/56±2/19	4/46±1/88	3/65±0/47	4/00±0/82

نتایج بصورت MEAN ±SD شده است.

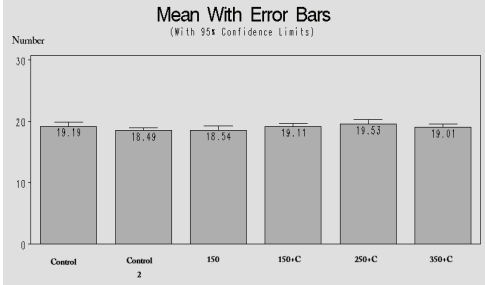
Archive of SID

www.SID.ir

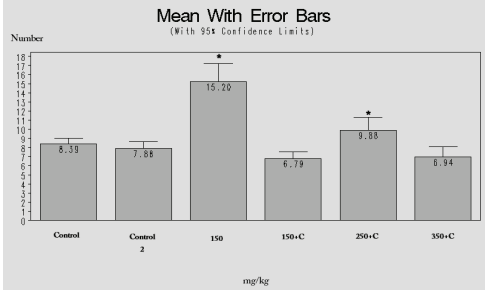


نمودارا: مقایسه میانگین وانحراف معیار حجم بیضه درگروه

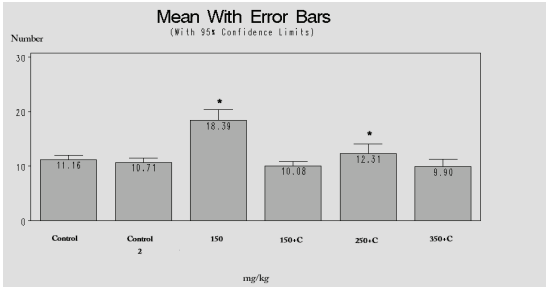
نمودار۲: مقایسه میانگین وانحراف معیار قطرکوچک بیضه درگروه های کنترل و گروه



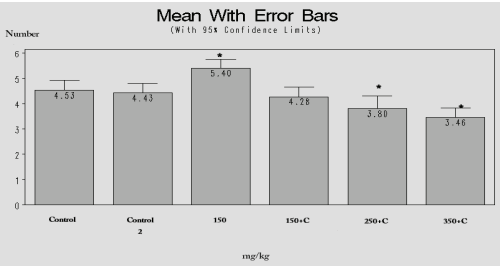
نمودار۳: مقایسه میانگین وانحراف معیارقطربزرگ بیضه درگروه های کنترل وگروه های تجربی



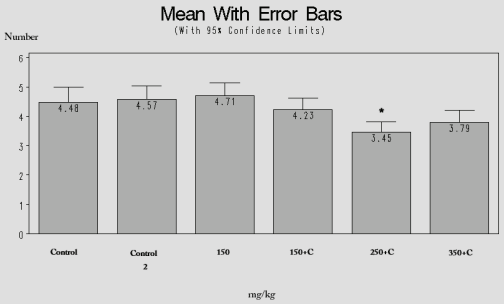
نمودار٤: مقایسه میانگین وانحراف معیارتعداد سلول های اسپرماتوسیت اولیه درگروه های کنترل وگروه های تجربی



نمودار٥: مقایسه میانگین وانحراف معیارتعداد سلول های اسپرماتوسیت ثانویه درگروه های کنترل وگروه های تجربی

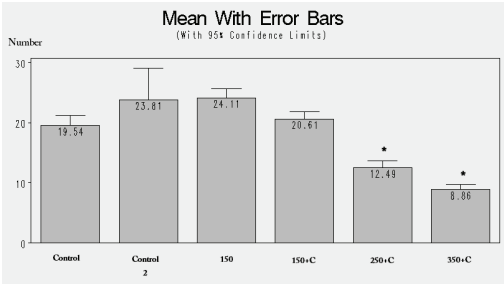


نمودار٦: مقایسه میانگین وانحراف معیارتعداد اسپرماتوگونی نوعA درگروه های کنترل وگروه های تجربی

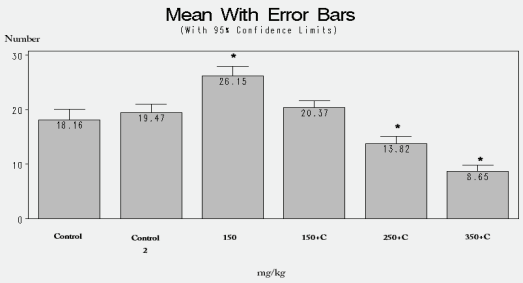


نمودار۷: مقایسه میانگین وانحراف معیارتعداد اسپرماتوگونی نوعB درگروه های کنترل وگروه های تجربی

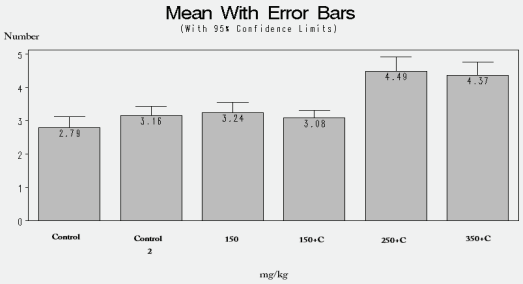
www.SID.ir



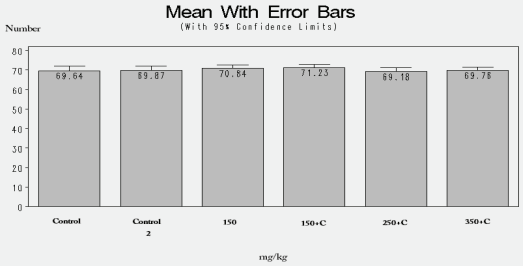
نمودار۸: مقایسه میانگین وانحراف معیارتعداد اسپرماتیددرلوله های اسپرم ساز درگروه های کنترل وگروه های تجربی



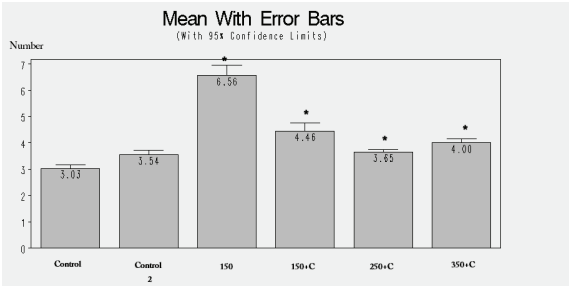
نمودار۹: مقایسه میانگین وانحراف معیارتعداد اسپرماتوروآ درگروه های کنترل وگروه های تجربی



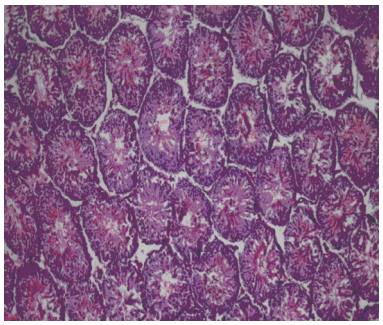
نمودار۱۰: مقایسه میانگین وانحراف معیارتعداد سلول های سرتولی درگروه های کنترل وگروه های تجربی



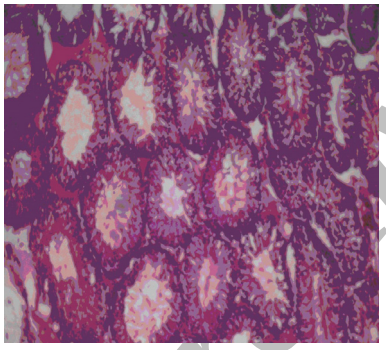
نمودار۱۱: مقایسه میانگین وانحراف معیار قطرلوله های سمی نیفردرگروه های کنترل وگروه های تجربی



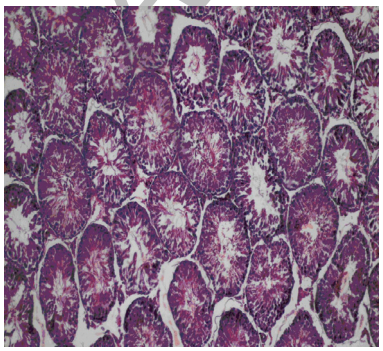
نمودار۱۲: مقایسه میانگین وانحراف معیارتعداد لوله های سمی نیفردرگروه های کنترل وگروه های تجربی



تصویر۱: قسمتی از لوله های منی ساز بافت بیضه موش رت نردر گروه کنترل (بزرگنمایی عدسی۱۰)



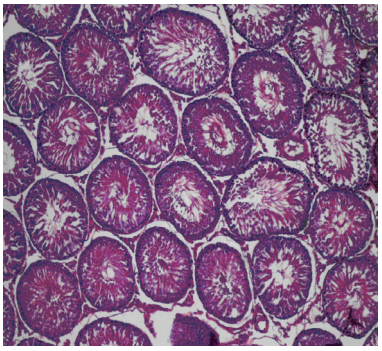
تصویر۲: قسمتی از لوله ها ی منی ساز بافت بیضه موش رت نر گروه کنترل۲ (بزرگنمایی عدسی۱۰)



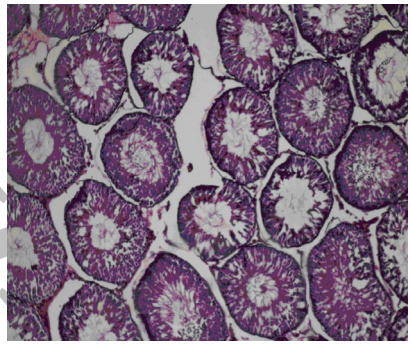
تصویر۳ قسمتی از لوله های منی ساز بافت بیضه موش رت نردرگروه تجربی ۱ (بزرگنمایی عدسی ۱۰)

Archive of SID

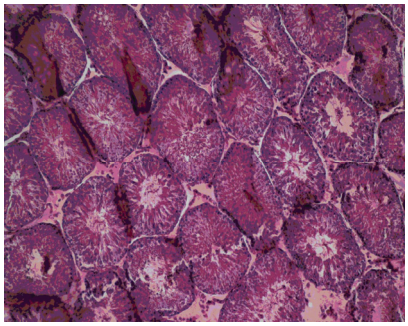
www.SID.ir



تصویر٤: قسمتی از لوله های منی ساز بافت بیضه موش رت درگروه تجربی۲ (بزرگنمایی عدسی۱۰)



تصویر٥ : قسمتی از لوله های من ساز بافت بیضه موش رت نر در گروه تجربی ۳ (بزرگنمایی عدسی ۱۰)



تصویر٦ : قسمتی از لوله های منی ساز بافت بیضه موش رت نردر گروه تجربی ٤ (بزرگنمایی عدسی ۱۰)

بحث ونتیجه گیری

نشان داده شده است که کلرامبوسیل جزوعوامل آلکیله کننده وازدسته موستاردهای نیتروژنه است. کلرامبوسیل بطور وسیعی درکبد متابولیزه شده و متابولیت آن یعنی فنیل استیک اسید موستارد دارای فعالیت نئوپلازی است نشان داده شده است که صدمات ناشی ازکلرامبوسیل دربیضه ها چند گانه است (کاهش تعداد اسپرم،اسپرم ناقص)(۹)

شاهتره دارای موادی نظیرمواد رزینی، املاح معدنی، موسیلاژ، اسید فوماریک وآلکالوییدی است.(۱۰،۱۱)

نشان داده شده است که نمونه *F. parviflora* این گیاه دارای فعالیت آنتی کولین استرازی(۱۲)، ضد التهابی وضد درد است. (۱۳)

اثرمحافظت ازمسمومیت کبدی آن نیزنشان داده شده است.(١٤) با توجه به اثرات آنتی اکسیدانی وضد سمیت کبدی آن ما دراین بررسی برآن شدیم که ببینیم ، شاهتره بربافت بیضه ونیزکاهش اثرات سمی کلرامبوسیل چه نقشی دارد.

دوگروه کنترل وچهارگروه تجربی به این منظوردرنظرگرفته شدند.همانطورکه دربخش نتایج آورده شده است استفاده ازشاهتره درقطربزرگ وحجم بیضه ها تغییرمعنی داری ایجاد نکرده است ولی تغییردرقطرکوچک بیضه محسوس است.

ازلحاظ میانگین قطرلوله های سمی نیفربین گروههای کنترل وتجربی اختلاف معنی دارنیست ولی ازلحاظ تعداد، درگروه تجربی ۱ نسبت به سایرگروهها اختلاف معنی داری وجود دارد.

ازلحاظ تعداد سلول های سرتولی ، اختلاف بین گروه های کنترل وگروه های تجربی معنی داراست واین اختلاف بین گروه های کنترل وگروه های 3,4 تجربی است.

ازلحاظ تعداد اسپرماتوگونی های اولیه وثانویه نیزوضع تقریبا به همین منوال است.ولی ازلحاظ اسپرماتید ها واسپرماتوزوئیدها اختلاف بین گروههای کنترل وتجربی معنی داراست.

نتیجه گیری

با عنایت به نتایج فوق، ظاهرا شاهتره اثرحمایتی بر بافت بیضه ودرمقابل اثرات سمی کلرامبوسیل دارد ولی این اثربیضه درمراحل آخری اسپرماتوژنز(اسپرمیوژنز)واضح تراست.

Archive of SID

www.SID.ir

منابع

۱- آخوند زاده وهمکاران، دایره المعارف گیا هان دارویی ایران، جلد اول، انتشارات پژوهشکده گیا هان دارویی، تهران، ایران ۱۳۷۹

۲- (داروهای ژنریک ایران.(1369) . انتشارات داروپخش

۳- قهرما ن ا.(1373) . کورموفیتهای ایران (سیستماتیک گیاهی). جلد دوم. مرکزنشردانشگاهی.صفحه ۱۰۰

٤- کـــا تـــسونگ و همکـــاران. (2001) .مـــروری برفارماکولوژی ترجمه علی رضا منجمی وهمکاران. تهران.ایران . انتشارات تیمورزاده. صفحه 719-711.

۵- مظفریان و. (1375) . فرهنگ نا مهای گیا هان ایران . فرهنگ معا صرصفحه ۲۳۸.

6-Andrew C.(1996). The Encyclopedia of Medicinal Plants.p:211 6-

7- Carol a and et al.(1995). Danid philipson Herbal Medicines . p:127

8- Deng M and et al. Effectes of protopine on proliferation of cultred rabbit aortic vascular smooth muscle cells. Chin pharmacol. Bul l. 17,306-309

9- Gen Pharmacol (1996). Sep; 27 (6) pp: 979-83

10- haq , L.U and et al. (1993),. Medicinal plants of mansehra. Hmdard medicus.pp: 36 , 74 – 79

11- Member of The Scientific Committee.(1996).The British Herbal Medicine.p: 95

12- Suaur and et al .(2002). Direct determination of alkoioid contents in fumaria species of GC- MS Phytochen Anal pp: 363-367

13- Shafizadeh . f .(2002). Popular medicinal plants of lorestan . Tehran hagan publication. pp:128

14- Zargar A.(1989).Medicinal plants. vol . 2 .Tehran university Publication. pp:166-171

Archive of SID

www.SID.ir