بررسی اثر عصاره تخم کدو تنبل (*Cucurbita pepo*) و 17β-استرادیول برروی محور HPG در ماهی گورامی سه خال (*Trichogaster trichopterus*)

طاهره ناجی*[1]، همایون حسین زاده صحافی[2] و سیما امیدی[3]

۱و ۳- واحد علوم دارویی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲- موسسه تحقیقات شیلات، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۹۰/۸/۲۵ تاریخ پذیرش: ۹۰/۱۱/۱۵

چکیده

در این تحقیق اثر عصاره کدو تنبل (*Cucurbita pepo*) و17β- استرادیول (E_2) برروی محور HPG در جنس نر ماهی گورامی سه خال مورد ارزیابی قرار گرفت. هدف از انجام این پژوهش، بررسی تاثیر عصاره کدو تنبل بر سطوح هورمون‌های جنسی و نیزبررسی تغییرات بافت کبد بود.بدین منظور۱۰۰ قطعه ماهی نر نابالغ با میانگین وزنی ۰/۵±۲/۵ گرم در ۱۰ گروه تیمار مورد ارزیابی قرار گرفتند.ماهیان در گروه‌های مختلف تحت تیمار، با عصاره تخم کدو تنبل وE_2 بطور جداگانه (۱۰،۲۰، ۳۰و ۵۰ میلی گرم در هرکیلوگرم وزن ماهی) و نیز دو گروه به عنوان کنترل در نظر گرفته شد.کنترل ۱ دریافت کننده ۲۰ میکرولیترمتا نول و کنترل ۲ بدون تزریق بودند.۲۰ روز پس از پایان آزمایش ماهیان تشریح شدند. هورمون‌های استرادیول و تستوسترون و همچنین یون Ca^{+2} مورد ارزیابی قرار گرفت.بررسی حاصل از مقایسه سطح هورمون‌های استرادیول و تستوسترون و همچنین یون Ca^{+2} اختلاف معنی‌داری را در تیمارهای I و II با، تستوسترون(۱/۱)، استرادیول (0/83)، یون Ca^{+2} (۱۹/۷۳)، تیمارIII با تستوسترون (۱/۳۴)، استرادیول (۱/۳۹۶)، یونCa^{+2} (۲۰/۶۵)، تیمار IV با تستوسترون (۱/۸)، استرادیول (۱/۶۸۲)، یون Ca^{+2} (۲۲/۸۶)، تیمار v باتستوسترون (۰/۸۸)، استرادیول (۲/۵۵)، یون Ca^{+2} (۲۴/۴۳)،تیمارVI با، تستوسترون (۰/۹۱)، استرادیول (۳/۵۴)، یون Ca^{+2} (۲۷/۱۵)،تیمارVII با،تستوسترون (۰/۹۷)، استرادیول(۴/۴۱)،یون Ca^{+2} (۳۰/۸۰)، تیمار VIII با تستوسترون(۱/۰۸)، استرادیول(۶/۴۵)، یون Ca^{+2} (۳۵/۳۲) که به ترتیب دریافت کننده دوزهای ۱۰،۲۰،۳۰ و۵۰ میلی گرم در هر کیلوگرم عصاره تخم کدو تنبل و ۱۰،۲۰، ۳۰و۵۰ میلی گرم در هر کیلوگرم E_2 بودند. در مقایسه با گروه شاهد، تستوسترون (۰/۷۸)، استرادیول (۰/۵۲)، یون Ca^{+2} (۱۶/۴۶)اختلاف معنی‌داری نشان داد.($P<0/05$). نتایج حاکی از تاثیر گذاری بیشتر تیمارVI وVIII بر سطح هورمون‌های تستوسترون و استرادیول و همچنین یون Ca^{+2} در مقایسه با سایر تیمارها و نیز تیمار کنترل در ماهی گورامی سه خال نر بود. به طور کلی می‌توان نتیجه گرفت که عصاره کدوتنبل احتمالا می‌تواند سبب القای رسیدگی جنسی در جنس مذکرگردد.

واژگان کلیدی:

عصاره تخم کدو تنبل، E_2، ماهی گورامی سه خال

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

میزان شیوع بیماری‌های قلبی عروقی، سرطان‌ها و استئوپروز در کشورهای مختلف متفاوت است. فاکتورهای اتیولوژی زیادی در میزان این تفاوت دخالت دارند که از جمله می‌توان خصوصیات نژادی، رژیم غذایی و نحوه زندگی را نام برد. نقش رژیم غذایی در جوامع عمومی بسیار زیاد است چون غذاها حاوی ترکیبات فعال بیولوژی متفاوت هستند (Mazur, 2000). مثال بارز مواد فعال بیولوژی فیتواستروژن‌ها هستند. فیتواستروژن‌ها ازدسته متابولیت‌های ثانویه گیاهی هستند که ساختار و عملکرد مشابه به ۱۷β- استرادیول دارند و بعلت اثرات سودمند آنها به عنوان اگونیست استروژنیک، یا آنتی استروژنیک در سلامت و بیماری مورد توجه می‌باشند (Adams,1995). این ترکیبات اولین بار در دهه‌ی ۱۹۴۰شناخته شدند. در سال ۱۹۵۴ ، ۵۳ گونه گیاه به عنوان گیاهان دارای فعالیت استروژنی معرفی شدند. در سال ۱۹۷۵ تعداد آنها به ۳۰۰ گونه رسید (Lotke,1998). فیتواستروژن‌ها به سه گروه لیگنان، ایزوفلاون‌ها وکومستان‌ها تقسیم می‌شوند (Korpela,1995) که درغلظت‌های بالا در گیاهان همچون خانواده لگومیناسه یافت می‌شود (Dixon,2004). فیتواستروژن‌ها ازلحاظ فعالیت بیولوژیکی همانند استروژن‌های آندوژنی می‌باشند و منجر به اثرات استروژنیک می‌شوند و به عنوان آنتاگونیست استروژنی، ممکن است رسپتورهای استروژنی را مسدود نموده و از فعالیت استروژنی جلوگیری و منجر به اثرات آنتی استروژنیک شوند(Brzozowski, 1997). استروژن‌ها بطور عمده موجب تکثیر و رشد سلول‌های ویژه‌ای می‌شوند که مسئول پیدایش صفات جنسی ثانویه هستند. سه استروژن ۱۷- بتا استرادیول، استرون و استریول با مقادیر قابل ملاحظه‌ای درپلاسمای افراد مونث وجود دارد. استروژن اصلی مترشحه از تخمدان‌ها ۱۷- بتا استرادیول است. مقادیر اندکی استرون نیز ترشح می‌شود، اما قسمت اعظم استرون در بافت‌های محیطی توسط قشر فوق کلیه و سلول‌های تکای تخمدان‌ها تشکیل می‌شود. قدرت استروژنی بتا استرادیول ۱۲برابر استرون و۸۰ برابر استریول است. درنتیجه اثر استروژنی بتا استرادیول چندین برابر مجموع آثار دو هورمون دیگر است، به همین سبب، بتا استرادیول به عنوان استروژن اصلی درنظر گرفته می‌شود(Anstead, 1997).

دانه‌های کدوتنبل به عنوان یک دیورتیک ضعیف بوده و بی اختیاری ادرار را در کودکان درمان می‌کند (Dreikorn,2002) همچنین از دانه‌های کدو تنبل برای جلوگیری از سرطان معده، به عنوان ملین و نیز درمان بیماری‌های ریوی استفاده می‌شود(Lamg,1996). همچنین در درمان و جلوگیری از بیماری‌های قلبی ـ عروقی، کاهش کلسترول نیز کاربرد دارد(Murkouiz,2004).

مهم ترین ترکیبات عصاره تخلیص شده تخم کدو تنبل حاوی روغن چرب اشباع نشده، ویتامین E و فیتواسترول می‌باشد (Gliessman,1998).علاوه براین ترکیبات، حاوی مواد معدنی، پیگمان‌ها و ترکیبات فنولیک نیز می‌باشد(Ellworth,1970). امروزه روغن تخم کدو تنبل بعنوان درمان رایج و موثر در بزرگی خوش خیم پروستات BPH(Benign Prostatic Hyperplasia) (می‌باشد (Bancroft, 1996).

Mendiol و همکاران (2006) گزارش کردند که عصاره کدو تنبل باعث بهبود هورمون‌های مترشحه از بافت بیضه می‌شود و به همین دلیل احتمالا در ناباروری جنس مذکرمی تواند اثر بخش می‌باشد. Bearden و همکاران (2005) گزارش گردند که عصاره کدو تنبل شمار اسپرم‌های غیر طبیعی را کاهش می‌دهد و در پیشگیری و درمان ناباروری جنس مذکر می‌تواند اثر بخش باشد.

با توجه به نتایج مطالعات انجام شده، تحقیق حاضر برمبنای استفاده از عصاره تخم کدو تنبل و E_2 برروی محور هیپوتالاموس ـ هیپوفیز ـ گناد در جنس نر ماهی گورامی سه خال (*Trichogaster trichopterus*) انجام شده است.

Archive of SID

www.SID.ir

مواد و روش‌ها

این تحقیق از بهمن لغایت اسفند ماه ۱۳۸۹درآزمایشگاه ماهی شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم دارویی انجام گرفت. بدین منظور E2 با درجه خلوص ۸۰ درصد از شرکت داروسازی ابوریحان تهیه شد. همچنین عصاره گیری از تخم کدو تنبل با استفاده از روش خیساندن (Maceration) و با به کار بردن حلال متانول انجام شد. پس از کلر زدایی آب آکواریوم‌ها ۱۰۰ عدد ماهی در ۱۰ گروه مجزا و هر گروه شامل ۱۰ عدد ماهی در آکواریوم به ابعاد ۶۰×۴۰×۳۰ سانتی متر و در ۴۰ لیتر آب رها سازی شدند. سازگار سازی ماهیان با محیط طی مدت ۴۸ ساعت انجام گرفت. فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب قبل از شروع آزمایش، در زمان آزمایش و در پایان کار اندازه گیری شد. نوسان دما در ۲۶± ۳ درجه سانتی گراد، pH (۷/۴ـ۵/۸)، درجه سختی(۱۰۰ـ۵۰) میلی گرم در لیتر کلسیم کربنات تنظیم گردید و تغذیه با استفاده از غذای غنی شده (tetra vegetable) انجام شد. آزمایش‌ها در ۱۰ گروه، شامل ۸ گروه تیماری عصاره کدو تنبل و نیز E2 به طور جداگانه (۳۰،۲۰،۱۰و۵۰ میلی گرم در هر کیلوگرم وزن بدن ماهی) و دو گروه شاهد (متانولی و دست نخورده) انجام شد(Ng *et al.*, 1997). پس از بیهوش کردن ماهی‌ها تزریق با استفاده از عصاره آویشن با نام تجاری $PI_{۲۲۲}$ (تهیه شده از شرکت پارس ایمن دارو) در عضله ی زیر باله پشتی به میزان ۲۰ میکرو لیتر صورت گرفت (Naji *et al.*,2008). برای انجام تزریق، عصاره کدو تنبل وE2 به طور جداگانه در متانول حل شد. تزریق در هر ماهی به میزان ۲۰ میکرو لیتر و فاصله تزریق در گروه‌های دریافت کننده عصاره کدو تنبل و E2 یک روز در میان انجام گرفت. پس از انجام تزریق ها، ماهی‌ها هر ۲۴ ساعت یکبار بررسی شدند. در پایان روز بیستم از هر تیمار تعداد ۱۰ عدد ماهی جدا و بیهوش شدند. برای اندازه گیری سطوح استروئیدی هورمون‌های استرادیول و تستوسترون و یون $Ca^{۲+}$ (با توجه به کوچک بودن اندازه ماهیان امکان تهیه خون به روش متداول خونگیری وجود نداشت) به روش له کردن، بافت‌های نمونه‌های هر تیمار جداگانه له شده و مایعات بافتی توسط دستگاه سانتریفوژ یخچال دار با دور ۳۰۰۰ rpm به مدت ۵ دقیقه جداسازی گردید. اندازه گیری هورمون‌های استرادیول و تستوسترون با واحد نانو گرم در میلی لیتر با روش Radio immunoassay بر اساس واکنش رقابتی بین هورمون موجود در نمونه با هورمون نشاندار شده با ید رادیو اکتیو ۱۲۵ جهت اتصال به آنتی بادی ضد هورمون در فاز جامد بود. پرتودهی حاصل از اتصال با گاما کا نتر LMB ساخت فنلاند اندازه گیری شد. میزان پرتودهی در این واکنش‌ها با غلظت هورمون رابطه عکس دارد. برای کالیبره کردن و کنترل تست‌های فوق از استانداردها و کنترل تجارتی استفاده شد.جهت اندازه گیری یون Ca^{+2}، کلسیم در مجاورت متیل تیمول بلو ایجاد رنگ می‌کند و غلظت آن متناسب با مقدار یون Ca^{+2} است. کلسیم با اتو آنالایزر Technicon و در طول موج ۶۲۰ نانو متر اندازه گیری شد. جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها و بررسی معنی‌دار بودن اختلاف مشاهده شده در تیمارهای مختلف از نرم افزار SPSS و روش آماری t-test، آنالیز واریانس یکطرفه (One-Way ANOVA) و Duncan استفاده شد. برای ترسیم نمودار از نرم افزار Excel استفاده گردید.

نتایج

در بررسی نتایج حاصل از مقایسه سطوح استروئیدهای جنسی،میزان تستوسترون ماهیان تحت تیماربا عصاره کدو تنبل در مقایسه با گروه کنترل وگروه‌های تحت تیمار بتا استرادیول افزایش یافت و در بین تیمارهای عصاره کدوتنبل، مقدار این هورمون در تیمار چهارم با دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم بیشتر از سه تیمار دیگر بود. از تیمار اول تا تیمار چهارم به تدریج با افزایش دوز۵۰ـ۱۰میلی گرم بر کیلوگرم که به آنها تزریق شده بود، میزان تستوسترون از ۰/۹۷۲ تا ۱/۷۹۶ افزایش یافت و در مقایسه با یکدیگر ارتباط معنی‌داری مشاهده شد($P< ۰/۰۵$). جدول (۱)میزان تستوسترون را در تیمارهای مختلف نشان می‌دهد.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱ـ مقایسه میانگین هورمون تستوسترون درتیمارهای مختلف ماهی گورامی سه خال

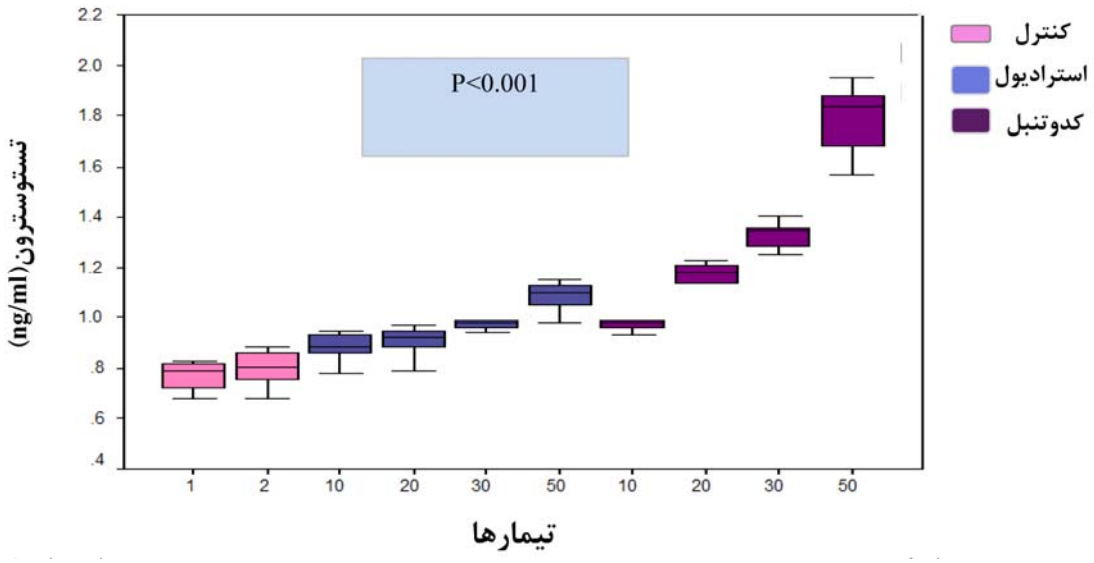
شماره تیمار	تیمارها	میانگین هورمون تستوسترون	P-value
I	کدو تنبل ۱۰	۰/۹۷۲±۰/۰۲۲	
II	کدو تنبل ۲۰	۱/۱۴۶±۰/۱۰۳	<۰/۰۰۱*
III	کدو تنبل ۳۰	۱/۳۴۴±۰/۰۴۹	
IV	کدو تنبل ۵۰	۱/۷۹۶±۰/۱۲۱	
V	E2،۱۰	۰/۸۸۰±۰/۰۵۸	
VI	E2،۲۰	۰/۹۰۹±۰/۰۵۵	<۰/۰۰۱*
VII	E2،۳۰	۰/۹۷۳±۰/۰۱۸	
VIII	E2،۵۰	۱/۰۸۲±۰/۰۶۰	
IX	کنترلI متانول ۲۰ µL	۰/۷۶۹±۰/۰۵۹	۰/۲۸۴**
X	کنترل IIشاهد، بدون تزریق	۰/۸۰۰±۰/۰۶۶	

توضیح: واحد تیمارهای I تا VIII بر حسب mg/kg می‌باشد.

* ANOVA

** t-test

داده‌ها نشان داد که میزان تستوسترون در گروه‌های تحت تیمار با ۱۷β‌ـ استرادیول به مقدارخیلی جزئی بیشتر از گروه‌های کنترل بود و تقریبا در یک سطح قرار داشتند و اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها در سطح (P<۰/۰۰۱) وجود داشت(شکل ۱).



شکل۱ـ نمودار مقایسه میانگین هورمون تستوسترون بین تیمارهای مختلف کدوتنبل و ۱۷β‌ـ استرادیول و کنترل‌ها در ماهی گورامی سه خال

(آنتیک ها نشان دهنده انحراف معیار است)

نتایج حاکی از آن بود که میزان استرادیول در ماهیان تحت تیمار با ۱۷β‌ـ استرادیول در مقایسه با گروه کنترل و گروه‌های تیمار با عصاره کدو تنبل افزایش یافت و بین تیمارهای ۱۷β‌ـ استرادیول مقدار این هورمون در تیمار چهارم با دوز ۵۰ میلی گرم برکیلو گرم خیلی بیشتر از سه تیمار دیگر بود. بین تیمار اول تا تیمار جهارم که به ترتیب دوز ۵۰-۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم ۱۷β‌ـ استرادیول که به آنها تزریق شده بود، به تدریج میزان استرادیول از ۵۵/ ۲ تا ۶/۴۵ افزایش

www.SID.ir

یافت و در مقایسه با یکدیگر ارتباط معنی‌داری مشاهده شد(P<۰/۰۵). جدول (۲) میزان استرادیول را در تیمارهای مختلف نمایش می‌دهد.

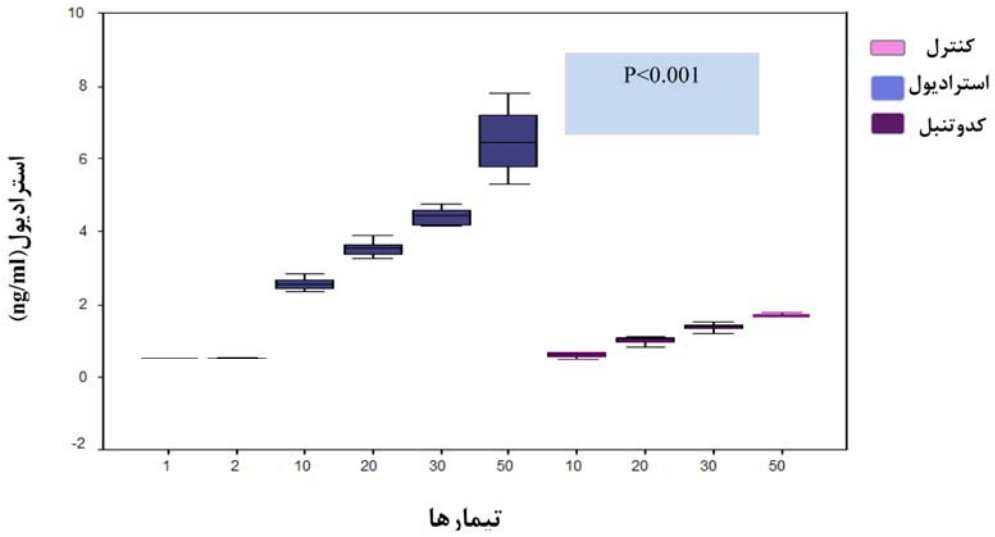
جدول ۲ـ مقایسه میانگین استرادیول درتیمارهای مختلف در ماهی گورامی سه خال

شماره تیمار	تیمارها	میانگین استرادیول	P-value
I	کدو تنبل ۱۰	۰/۶۲۱±۰/۰۷۳	
II	کدو تنبل ۲۰	۱/۰۳۲±۰/۱۱۳	<۰/۰۰۱*
III	کدو تنبل ۳۰	۱/۳۹۶±۰/۱۰۶	
IV	کدو تنبل ۵۰	۱/۶۸۲±۰/۰۶۸	
V	E2،۱۰	۲/۵۵۰±۰/۲۱۹	
VI	E2،۲۰	۳/۵۴۰±۰/۲۲۳	<۰/۰۰۱*
VII	E2،۳۰	۴/۴۱۰±۰/۲۱۹	
VIII	E2،۵۰	۶/۴۵۰±۰/۸۱۹	
IX	کنترلI متانول ۲۰ µL	۰/۵۱۷±۰/۰۹	۰/۲۸۱**
X	کنترل IIشاهد، بدون تزریق	۰/۵۲۳±۰/۰۱۴	

توضیح: واحد تیمارهای I تا VIII بر حسب mg/kg می‌باشد.

* ANOVA

** t-test



شکل ۲ـ نمودار مقایسه میانگین استرادیول بین تیمارهای مختلف کدو تنبل وβ۱۷ـ استرادیول و کنترل‌ها در ماهی گورامی سه خال

(آنتیک ها نشان دهنده انحراف معیار است)

یافته‌ها نشان داد که میزان استرادیول در گروه‌های تحت تیمار با عصاره کدو تنبل در مقایسه با گروه‌های کنترل به مقدار جزیی بیشتر بود (شکل ۲). اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها در سطح (P<۰/۰۰۱) وجود دارد.

نمونه‌ها پس از ۱۰ روز تزریق عصاره کدوتنبل و نیز تزریق بتا استرادیول به طورجداگانه، برای تعیین میزان یون کلسیم مورد ارزیابی قرار گرفتند. همانگونه که نتایج ارائه شده در جدول (۳) نشان می‌دهد، یون کلسیم ماهیان تحت تیمار با بتا

www.SID.ir

استرادیول در مقایسه با گروه کنترل وگروه‌های تحت تیمار با عصاره کدوتنبل افزایش یافت و بین تیمارهای دریافت کننده β۱۷ـ استرادیول مقدار این یون در تیمار چهارم با دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم بسیار بیشتر از سه تیمار دیگر بود. از تیمار اول تا چهارم که دوز ۵۰ـ۱۰میلی گرم بر کیلوگرم به آنها تزریق شده بود، مقدار یون کلسیم از ۲۴/۴۳۰ تا۳۵/۳۲۰میلی گرم بردسی لیتر افزایش یافت که در مقایسه با یکدیگر ارتباط معنی‌داری مشاهده شد (P<۰/۰۵).

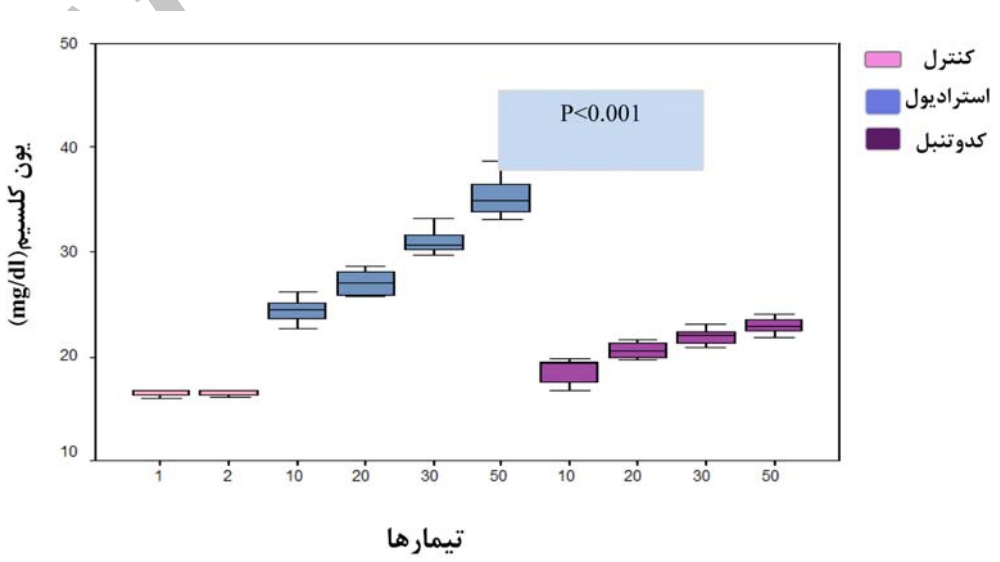
جدول۳ـ مقایسه میانگین یون کلسیم درتیمارهای مختلف در ماهی گورامی سه خال

شماره تیمار	تیمارها	میانگین یون کلسیم	P-value
I	کدو تنبل ۱۰	۱۸/۸۱۰±۱/۱۱۳	
II	کدو تنبل ۲۰	۲۰/۶۵۰±۰/۶۸۸	<۰/۰۰۱
III	کدو تنبل ۳۰	۲۱/۹۰۰±۰/۶۶۰	
IV	کدو تنبل ۵۰	۲۲/۸۶۰±۰/۷۲۳	
V	E2،۱۰	۲۴/۴۳۰±۱/۱۱۴	
VI	E2،۲۰	۲۷/۱۵۰±۱/۱۷۴	<۰/۰۰۱
VII	E2،۳۰	۳۰/۸۰۰±۱/۳۳۲	
VIII	E2،۵۰	۳۵/۳۲۰±۱/۸۸۴	
IX	کنترلI متانول ۲۰ µL	۱۶/۴۴±/۲۸۰	۰/۷۵۰
X	کنترل IIشاهد، بدون تزریق	۱۶/۴۸±۰/۲۷۴	

توضیح: واحد تیمارهای I تا VIII بر حسب mg/kg می‌باشد.

* ANOVA
** t-test

نتایج حاصل نشان داد که که میزان یون کلسیم در گروه‌های تحت تیمار با عصاره کدو تنبل به مقدار جزئی بیشتر از گروه‌های کنترل بود (شکل ۳). اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها در سطح (P<۰/۰۰۱) تایید شد.



شکل ۳ـ نمودار مقایسه میانگین یون کلسیم بین تیمارهای مختلف کدو تنبل و β۱۷ـ استرادیول وکنترل‌ها در ماهی گورامی سه خال

www.SID.ir

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج به دست آمده از مقایسه سطح استروئیدهای خونی وکلسیم بین تیمارهای مختلف نشان داد کـه در تیمارهـای دریافت کننده عصاره کدو تنبل میزان تستوسترون بیشتر از تیمارهای دریافت کننده β۱۷ـ استرادیول و گروه شاهد بود. علاوه بر این در تیمارهای دریافت کننده عصاره کدوتنبل، بتدریج با افزایش دوز میزان تـستوسترون نیـز افـزایش یافـت، نتایج حاصل از مقایسه گروه‌های شاهد ۱و۲ که به ترتیب دریافت کننده۲۰µL متانول ودست نخـورده بودنـد، اخـتلاف معنی‌داری از نظر سطح استروئیدهای خونی و Ca^{+2} نشان نداد($P\geq ۰/۰۵$). این امر بیانگر بی تاثیر بودن ترکیـب‌هـای بـه کار رفته بر سطح استروئیدها و Ca^{+2} بود. بررسی نتایج حاکی از آن است که تیمارهـای عـصاره کـدوتنبل از نظـر سـطح هورمون تستوسترون دارای اختلاف معنی‌دار آماری نسبت به تیمارهای E2 و گروه‌های شاهد بودند($P<۰/۰۵$). این نتیجه نشان داد که عصاره کدو تنبل توانایی القای جنسی در ماهی گورامی را دارا می‌باشد. عصاره کدوتنبل آنزیم α۵ـــردوکتاز را مهار می‌کند و مانع از تبدیل تستوسترون به دی هیدروتستوسترون مـی‌شـود(Akang,2010 Abdel-Rahman,2006). بررسی نتایج بدست آمده از مقایسه سطح هورمون استرادیول و یون Ca^{+2} بین تیمارهای مختلف نشان داد که تیمارهـای دریافت کننده E2 ازنظر سطح هورمون استرادیول یون Ca^{+2} دارای اختلاف معنی‌دار آماری نسبت بـه تیمارهـای عـصاره کدوتنبل وگروهها کنترل بودند($P<۰/۰۵$).برطبق مطالعاتی که Sudha (1987) Couch و همکاران در سال ۲۰۰۱ انجـام دادند سطوح استروئیدی β۱۷ـ استرادیول و پروژسترون را در بافت تخمدان و لنف خونی نوعی خرچنگ بـه نـام *Scylla serrata* بررسی کرده و ارتباط آن را با مرحله زرده سازی در کبد و افزایش وزن کبد سنجیدند و گزارش نمودنـد کـه در شروع زرده سازی سطوح هر دو استروئید به شدت در بافت‌ها افزایش یافت و لی سطح استرادیول بیـشتر در سـلول‌هـای کبدی و سطح پروژسترون در تخمدان زیاد شده بود. در مطالعاتی مشابه Hobby& Pankhurst در سـال ۱۹۹۷ بـر روی دو نوع ماهی دریایی *Pangrus auratus* و*Chromis dispilus* انجـام دادنـد و بـا اسـتفاده از پلاسـمای ماهیـان، سـطوح اسـترادیول را بـه عنـوان شـاخص مهـم غیرمـستقیم در رونـد زرده سـازی انـدازه گیـری نمودنـد. مطالعـاتی کـه Mugiya و Yeo در سال ۱۹۹۷ برروی ماهی انجام دادند، نشان داد در روند زرده سازی در کبد که به بوسیله استرادیول القا می‌شود، سطح کلسیم پلاسما یک فاکتور مهم می‌باشد. در مطالعات مشابه که توسط Persson در همان سـال انجـام شد، حاکی از این بود که در زمان زرده سازی در کبد ماهی، کلسیم پلاسـما در بـالاترین سـطح قـرار دارد. در مطالعـات مشابه توسط Sumpter و همکاران در سال ۱۹۹۵ و سپس توسط Folmar در سـال ۱۹۹۶و پـس از آن توسـط Tyler و همکاران در سال ۱۹۹۶ انجام گرفت، همگی حاکی از آن بود که ویتلوژنین عموما در ماهی نر یافـت نمـی شـود ولـی در معرض استروژن القا می‌شود. در مطالعه حاضر در کبد ماهی‌هایی که تحـت تیمـار بـا β۱۷ـــ اسـترادیول بودنـد سـاختن ویتلوژنین القا شد و به تدریج با افزایش دوز استرادیول، سطح هورمون‌هـای اسـتروژنیک بـالا رفتـه و میـزان زرده زایـی افزایش یافت. نتیجه این بررسی با نتایج سـایر مطالعـات بدسـت آمـده در القـای ویتلـوژن در کبـد مطابقـت دارد. کبـد ماهی‌های نر گورامی سه خال وقتی در معرض استروژن قرار گرفتند، زرده سازی در آنها صورت گرفت. از آنجایی کـه در روند زرده زایی حضور یون Ca^{+2} بعنوان یک شاخص مهم تایید شده است سطوح یون کلـسیم در تیمارهـای اسـترادیول بیشترین سطح را نسبت به گروه‌های تحت تیمار باعصاره کدوتنبل و گروه شاهد داشت.

به طور کلی می‌توان نتیجه گرفت که عصاره کدو تنبل احتمالا مـی‌توانـد سـبب القـای رسـیدگی جنـسی در جـنس مذکرگردد و همچنین بنظر می‌رسد که در باروری جنس مذکر نیز مفید باشد. علاوه بر این کبد جـنس مـذکر وقتـی در معرض استروژن به ویژه در دوزهای بالا قرار می‌گیرد، سطح کلسیم افزایش یافته و زرده سازی صورت می‌گیرد.

Archive of SID

www.SID.ir

منابع

Abdel-Rahman, M. K. 2006.African *Cucurbita pepo L.propertis* of seed and variability in fatty acid composition of seed oil. Phytochemistry, 1(1):33-40.

Adams, N.R.1995.Detection of the effect of phytoestrogens on sheep and cattle. J. Anim Sci., 73:1509-1515.

Akang, E. N. 2010. The effect of fluted pumpkin (*Telferia occidentalis*) seed oil (FPSO) on testis and semen parameters. Agriculture and Biology Journal of North America, 45:2151-2155.

Anstead, G.M. & Burgess, H.1997.The estradiol pharmacophore: ligand structure-estrogen receptor binding affinity relationship and a model for the receptor binding site. Steroids, 62:268-303.

Bancroft, D., Stevents, A. &Tuner, R. 1996. Theory practice of histological techniques. 4th Ed. Williams & Wilkins. London.

Bearden, H.J. & Fuquay, J.W.2005. Applied animal reproduction. 4th Ed. Prentice Hall. New Jersey.

Brzozowski, A.M., Joannou, G.E. & Reeder, A.Y. 1997.Molecular basis of agonist and antagonist in the estrogen receptor.Nature, 389:753-758.

Couch, E. F., Thornton, J. W., Crews, D. Skipper, J.K., Dotte, A. &Thomas, P. 1987. Changes in estradiol and progesterone immunoreactivity in tissue of the lobster (*Homarus americ*) with Developing and immature ovaries.Comp.Biochem. physiol., 32: 765-771.

Dixon, R.A. 2004.Phytoestrogens.Annual Review of plant Biology, 25: 225-231.

Dreinkorn, K.2002.The role of phytotherapy in treating lower urinary tract symptoms and benign prostatic hyperplasia.World ural.,48:416-423.

Ellsworth, R.K.1970.Simple method for separation of milligram quantities of protochlorophyll a form seed oils in extracts of whole pumpkin seeds.Anal Biochem., 39:540-546.

Folmar, L., Ethan. D., Rodrigue, Z. & Alison, C. 1996. Vitellogenin induction and reduced serum testosterone concentration in feral male carp (*Cyprinus carpio*) captured near a major metropolitan sewage treatment plant. Environmental health perspectives, 6:104-109.

Gliessman, S.R. 1998. Agroecology: Ecologyical processes in sustainable agriculture. CRC Press. USA.

Hobby, A.C. &Pankhurst, N.W.1997. Comparison of mammalian and fish cell line cytotoxicity impact of endpoint and exposure duration.Fish Physioloy and Biochemistry, 16.1:65-75.

Korpela, R. 1995.Role of rye fiber and lactobacillus GG in colonic metabolism. PhD thesis. Kuoplo University, Finland.

Lamg, A.& Foster, S.1984.Encyelopedia of natural in grediencs used in food. 2nd Ed. Wiley. New York.

Lotke, P.S.1998.Phytostrogenes: A potential role in hormone replacement therapy. Prim. Care Update ob/Gyns., 5(6):290-295.

Mazur, W. & Adlercreutz, H.2000.Overview of naturally occurring endocrine-active substances in the human diet in relation to human health. Nutrition, 16(718):654-658.

Marnie, L. & Jobling, S. 1984.Fatty acid synthesis in testes of fat-deficient and fat supplemented in rat. J.Nutr., 107:79-86.

Mendiol, J. & Lubberink, K. 2009. A low intake of antioxidant nutrients is associated with poor semen quality in patients attending fertility clinics. Fertility and Sterility, 93(4) : 1128-1133.

Murkouiz, M. & Liley, N. 2004.Changes in chemical composition of pumpkin seeds, during the roasting for production of pumpkin seed oil part 1:Non-volatile compounds. Food Chem., 84:359-365.

Naji, T., Nejatkhah Manavi, P. & Shirinabady, M. 2008. The role of hormonal treatment of 17β-estradiol valerat in sex differentiation of Rainbow trout(*Oncorhynchus mykiss)*. Journal of Marine Sciences and Technology Research, 3(2): 57-66.

Ng, N.K., Tsi, D. & Munro, A.D. 1997. Induced final maturation and ovulation in a small anabantoid teleost, the dwarf gourami(*Colisa lalia*). The modulatory effects of monoaminergic and opioid drugs on the responsiveness to $LHRH_a$, Aquarium Sciences and Conservation, 1: 199-215.

Nwangwa, E.K. 2007. Effect of aqueous extract of *Telfairia occidentalis* (pumpkin) on hematological parameter of rat. Sci.72:4425-4429.

Oyeyemi, M.O., Burgess, W., Pronek, N. & Walls, S.2008. Sperm morphological studies of the West African Dwarf Buck treated with pumpkin plant (*Cucurbita pepo*).Int. J. Morphol., 26(1):121-126.

Persson, P. & Meyers, S. P. 1997. Esteradiol and nutritional status affect calcium balance,scale and bone resorption and bone formation in Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss)*.J. Comp. Physiol., 167:468-473.

Archive of SID

www.SID.ir

Sudha, Becker,.L.,Hayanes,K,. 2001. 17β-esteradiol and nutritional status effect calcium balance,scale and bone resorption and bone formation in Rainbow trout. Department of Zoology, Invertebra reproduction Department.University of Madras. India.

Sumpter, J.& Jobling, S. 1995. Vitellogen as a biomarker for estrogenic contamination of the aquatic environment.Environment Health Prepective, 3: 103-107.

Tyler, C. & Lubberink, K. 1996. Identification of four ovarian receptor proteins that bind vitellogenin but not other homologous plasma lipoproteins in the Rainbow trout (*Oncorhychus mykiss)*.J. of Comparative Physiology, Biochemical, Systemic and Environmental Physiology, 166:11-20.

Yeo, I.K. & Mugiya,Y.1997.Effect of extracellular calcium Concentrations and calcium antagonists on vitellogenin induction by 17 β-esteradiol in primary hepatocyte culture in Rrainbow trout (*Oncorhynchus mykiss)*.Gen. Com. Endocrinol., 105:294-301.

Archive of SID

www.SID.ir