Archive of SID

بررسی اثر عصاره هیدرواتانولی میوه گیاه هل سبز (Elettaria cardamomum L.) بر سطح سرمی گنادوتروپین ها و تستوسترون در موش‌های صحرایی بالغ نرنژاد ویستار القا شده با استات سرب

الهام رضایی[۱]، حسین وزینی[۲*]، مجید پیرستانی[۳]

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد همدان، همدان، ایران.
۲. استادیار، گروه پرستاری، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد همدان، همدان، ایران.
۳. استادیار، گروه انگل شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: عوارض قرار گرفتن در معرض سرب بر روی تولید مثل بسیار گسترده است. میوه گیاه هل سبز دارای خواص دارویی متعددی است. این مطالعه به منظور تعیین اثر عصاره هیدرواتانولی میوه گیاه هل سبز (Elettaria cardamomum L.) بر هورمون های جنسی در موش‌های صحرایی بالغ نر القا شده با استات سرب انجام شد.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، ۳۶ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۵۰ - ۲۲۰ گرم و به صورت تصادفی به شش گروه شش تایی تقسیم شدند. گروه کنترل دریافت کننده سرم فیزیولوژی به میزان ۰/۵ میلی لیتر، گروه دریافت کننده عصاره ۴۰۰ میلی گرم به ازا هر کیلوگرم وزن بدن، گروه دریافت کننده استات سرب به میزان ppm ۵۰۰ محلول در آب آشامیدنی و گروه های تجربی دریافت کننده استات سرب به میزان ppm۵۰۰ + عصاره در دوزهای ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی گرم به ازا هر کیلوگرم وزن بدن به صورت خوراکی بودند. مدت زمان انجام آزمایش ۲۸ روز بود. درمان با عصاره به مدت یک هفته انجام شد. در پایان پس از بیهوش کردن موش ها، خون گیری مستقیم از قلب جهت اندازه گیری سطح سرمی هورمون های تستوسترون، FSH و LH انجام و داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS و روش آماری ANOVA با سطح معنی داری P<۰/۰۵ بررسی شد.

یافته ها: میانگین سطح سرمی هورمون تستوسترون در گروه های تجربی دریافت کننده استات سرب + عصاره در هر سه دوز افزایش معنی دار (P<۰/۰۰۱) و میانگین سطح سرمی هورمون های FSH و LH کاهش معنی دار (P<۰/۰۰۱) نسبت به گروه دریافت کننده استات سرب نشان داد. اثربخشی کاملاً وابسته به دوز بود.

نتیجه گیری: مطالعه حاضر نشان می دهد که عصاره هیدرواتانولی میوه گیاه هل سبز قادر است روی سطح سرمی تستوسترون و گنادوتروپین ها اثر معنی داری داشته باشد. بررسی مکانیسم های دخیل نیاز به مطالعات دقیق‌تری دارد.

کلمات کلیدی: هل سبز، استات سرب، LH، FSH، تستوسترون

نویسنده مسئول: حسین وزینی
آدرس: ایران، همدان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد همدان
ایمیل: hossein_vazini@yahoo.com

Downloaded from goums.ac.ir at 14:39 +0430 on Wednesday May 24th 2017

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from goums.ac.ir at 14:39 +0430 on Wednesday May 24th 2017

مقدمه

فلز سرب در حال حاضر کاربرد بسیار وسیعی در صنایع مختلف دارد. حتی مقدار اندک سرب هم سمی است. به گونه ای که سبب اثرات سوء فراوان بر ساختارهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی می شود. اثرات این فلز سمی و خطرناک به تدریج و در زمان های طولانی ظاهر می شود (۱). شواهد نشان می دهد مسمومیت ناشی از سرب تقریباً تمام جنبه های تولید مثلی را تحت تأثیر قرار می دهد. سرب سبب افزایش سرطان پروستات از طریق رادیکال های آزاد در کارگران کارخانه ها و معادنی که در معرض تماس طولانی با آن هستند، می شود. افزایش سرب خون مردان بیش از ۷۰-۶۰ میلی گرم بر کیلوگرم موجب کاهش تعداد و تحرک اسپرم، کاهش تراکم اسپرم در مایع منی و تولید اسپرم های ناهنجار می شود. بیماری زایی سرب از طریق ایجاد استرس اکسیداتیو رخ می دهد (۲).

مسائل مربوط به باروری و ناباروری یکی از مسائل پیچیده در علم پزشکی است. در هر اجتماعی تقریباً ۱۳ درصد افراد، نابارور هستند که در این بین شایع ترین علت ناباروری در مردان، عدم توانایی آنان در تولید تعداد کافی اسپرم سالم و فعال است. اسپرم سازی در بیضه، تحت کنترل هورمون تستوسترون مترشحه از آن صورت می گیرد و فعالیت ترشحی بیضه ها خود نیز تحت کنترل محور هیپوتالاموس- هیپوفیز- بیضه می باشد (۳). با توجه به آثار سوء و عوارض جانبی داروهای شیمیایی، امروزه استفاده از طب سنتی به خصوص گیاه درمانی مد نظر قرار گرفته است (۴). در سال های اخیر توجه زیادی به مطالعه اثرات گیاهان مختلف بر روی باروری پستانداران آزمایشگاهی شده و از نتایج حاصل از این مطالعات اطلاعات ارزشمندی به دست آمده است (۵). تاکنون تحقیقات بسیاری با استفاده از عصارهای گیاهی مختلف بر روی محور هورمونی هیپوفیز گناد و بافت بیضه انجام شده است. عصاره هایی مثل عصاره رزماری (۶)، عصاره الکلی آب بشقابی (۷)، عصاره الکلی دانه شوید (۸)، سبب کاهش ترشح تستوسترون و گاهی کاهش LH و در نتیجه کاهش صفات ثانویه جنسی می شوند و اکثریت آ ن ها کاهش تراکم اسپرم و نهایتاً کاهش باروری را به دنبال دارند. عصاره هایی مانند زعفران (۹)، عصاره دانه هویج (۱۰)، عصاره الکلی گیاه شاهتره (۱۱)، عصاره سیر (۱۲)، سبب افزایش میزان تستوسترون و LH و گاهی FSH شده و نقش مؤثری در سیستم هیپوتالاموس هیپوفیز گناد داشته و در نهایت با افزایش تعداد اسپرم، افزایش تحرک و زنده ماندن اسپرم بر اسپرماتوژنز تأثیر داشته اند.

گیاه هل سبز با نام علمی *Elettaria cardamomum* گیاهی علفی، چندساله و همیشه سبز است. این گیاه متعلق به تیره زنجبیل می باشد (۱۲). میوه هل سبز غنی از روغن های فرّار است که عمدتاً شامل ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی نظیر کاتچین، گالیک اسید، کوئرستین می باشد. نشاسته، پروتئین، واکس ها و استرول ها، ویتامین E ترکیبات دیگر موجود در عصاره هل سبز می باشد. همچنین عصاره میوه این گیاه حاوی اسانس بوده که مقدار آن بین ۴ تا ۸ درصد متفاوت است. اسانس هل شامل بیش از ۲۰ ترکیب می باشد که مهم ترین آن ها را ۱ و ۸ سینئول (به مقدار ۲۰ تا ۶۰ درصد) و آلفاترپینول استات (۲۰ تا ۵۳ درصد) تشکیل می دهد. از دیگر ترکیبات مهم اسانس هل می توان به لینالیل استات، بورنئول، آلفاترپینئول و کامفور اشاره نمود. میوه هل همچنین حاوی روغن، نشاسته و ترکیب های هیدروکربنی می باشد (۱۳). بنابراین در مطالعه حاضر به بررسی اثر حفاظتی عصاره هیدرواتانولی میوه گیاه هل سبز (*Elettaria cardamomum* L.) بر هورمون های جنسی در موش‌های صحرایی بالغ نر القا شده با استات سرب پرداخته شد.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from goums.ac.ir at 14:39 +0430 on Wednesday May 24th 2017

روش بررسی

آماده سازی گیاه و تهیه عصاره

گیاه هل در اوایل فصل تابستان ۱۳۹۴ از مرکز گیاهان دارویی ابن سینا سازمان جهاد کشاورزی استان همدان (پس از تأیید توسط کارشناس همان مرکز) خریداری گردید. از آنجا که گیاه تهیه شده حالت تازه و تر داشت، چند روزی در سایه و هوایی معمولی قرار گرفته و کاملاً خشک شد. سپس برگ‌های خشک شده با آسیاب برقی پودر شدند. برای عصاره گیری، بعد از آسیاب کردن گیاه خشک شده، آن را در داخل ظروف مخصوص ریخته و در ۳۰۰ گرم/لیتر اتانول ۸۰ درصد به مدت ۴۸ ساعت نگه داشته شد. پس از فیلتر کردن، اتانول از محلول به وسیله دستگاه روتاری برداشته شد. باقی مانده عصاره جمع آوری شده و با ترازوی دیجیتال توزین شد. در مرحله بعد عصاره خشک وزن شده را در آب مقطر دایونیزه حل نموده و دوزهای مناسب از عصاره را تهیه کردیم. جهت تهیه عصاره با غلظت مورد نظر ۸ گرم از عصاره خشک شده را در ۲۰ میلی لیتر آب مقطر دوبار تقطیر ریخته و کاملاً توسط دستگاه همزن برقی به هم زده شد. این محلول دارای غلظت ۴۰۰ میلی گرم در هر میلی لیتر می باشد. از این محلول دوزهای ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، تهیه و پس از فیلتر نمودن با فیلیتر سر سرنگی با منافذ ۰/۲۲ میکرومتری، به حیوانات تحت آزمایش مطابق پروتکل مورد نظر گاواژ گردید. حیوانات گروه کنترل نیز به میزان حجم عصاره، سرم فیزیولوژی استریل گاواژ شدند.

نحوه ایجاد مسمومیت با استات سرب

پس از طی یک هفته مدت زمان سازگاری حیوانات با محیط جدید، از استات سرب جهت ایجاد مسمومیت در موش ها از طریق خوراندن آن در آب آشامیدنی استفاده گردید. مدت زمان آزمایش ۲۸ روز بود و درمان با عصاره در هفته ی آخر آزمایش شروع شد. در این روش ابتدا استات سرب تولیدی شرکت Sigma-Aldrich خریداری شد. سپس مقدار ۱ میلی گرم آن در دو لیتر آب آشامیدنی حل گردید (محلول حاصله ۰/۵ میلی گرم در لیتر یا ۵۰۰ قسمت در میلیون می باشد). محلول حاوی استات سرب روزانه تهیه و در آب آشامیدنی حل شده و در اختیار حیوانات قرار داده می شد (۱۴).

حیوانات

در این بررسی تجربی از ۳۶ سر موش صحرایی (رت) نر نژاد ویستار بالغ ۸ هفته ای در محدوده وزنی ۲۵۰ -۲۲۰ گرم از انستیتو پاستور تهران خریداری شدند. تمامی رت‌ها به مدت یک هفته جهت عادت پذیری در حیوان خانه دانشگاه بوعلی سینا همدان با دسترسی آزاد به آب و غذا و ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی قرار گرفتند و با دمای حدود ۲۵-۲۲ درجه سانتی‌گراد و رطوبت مناسب در قفس‌های استاندارد نگهداری شدند. حیوانات دسترسی کامل و بدون محدودیت به آب (لوله کشی) و غذای مخصوص موش (تهیه شده از شرکت خوراک دام پارس) داشتند. این مطالعه تحت اصول کمیته اخلاق کار با حیوانات در دانشگاه بوعلی سینا همدان انجام گرفته است.

طراحی مطالعه و گروه بندی

حیوانات به طور تصادفی در ۶ گروه ۶ تایی به صورت زیر تقسیم شدند:

گروه کنترل: بدون هیچ نوع درمان یا تیماری با دریافت سرم فیزیولوژی به میزان ۰/۵ میلی لیتر به صورت گاواژ

گروه شاهد: با ایجاد مسمومیت با استات سرب به ۰/۵ میلی گرم در یک لیتر (۵۰۰ ppm) در آب آشامیدنی به مدت ۲۸ روز

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from goums.ac.ir at 14:39 +0430 on Wednesday May 24th 2017

گروه دریافت کننده دوز متوسط عصاره هیدروالکلی میوه گیاه هل سبز (گروه کنترل مثبت): همانند گروه کنترل دریافت آب معمولی و علاوه بر آن دریافت عصاره هیدروالکلی میوه گیاه هل سبز به میزان ۴۰۰ میلی گرم به ازا هر کیلوگرم وزن بدن

گروه تیمار یک: دریافت کننده استات سرب (ppm ۵۰۰) + درمان با عصاره هیدروالکلی میوه گیاه هل سبز به میزان ۲۰۰ میلی گرم به ازا هر کیلوگرم وزن بدن

گروه تیمار دو: دریافت کننده استات سرب (ppm ۵۰۰) + درمان با عصاره هیدروالکلی میوه گیاه هل سبز به میزان ۴۰۰ میلی گرم به ازا هر کیلوگرم وزن بدن

گروه تیمار سه: دریافت کننده استات سرب (ppm ۵۰۰) + درمان با عصاره هیدروالکلی میوه گیاه هل سبز به میزان ۸۰۰ میلی گرم به ازا هر کیلوگرم وزن بدن

مدت زمان آزمایش ۲۸ روز بود. گروه های ۴ تا ۶ عصاره را به مدت یک هفته به صورت خوراکی (گاواژ) دریافت کردند.

خون‌گیری و تهیه سرم

خون گیری در حالت ناشتا به صورت مستقیم از قلب توسط سرنگ استریل cc ۵ انجام گرفت، حیوانات توسط اتر بی‌هوش شدند، سپس توسط اسکالپل و قیچی جراحی پوست ناحیه قفسه‌ی سینه حیوان کنار زده شد. بعد از مشاهده‌ی قلب، سرنگ را وارد بطن چپ کرده و خون گیری انجام شد. بلافاصله پس از پایان خون گیری، لوله‌ها درون دستگاه سانتریفیوژ قرار داده شد. دستگاه بر روی زمان ۱۰ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه تنظیم شد. سرم نمونه لخته جداسازی شد و تا سنجش هورمونی در دمای ۲۰ درجه سانتی گراد برای اندازه گیری غلظت سرمی هورمون های استروژن، تستوسترون، FSH و LH نگهداری شدند. اندازه گیری هورمونی بر اساس روش های معمول آزمایشگاهی یعنی استفاده از رادیوایمنواسی با استفاده از کیت های هورمونی (شرکت کاوشیار) انجام شد.

تجزیه و تحلیل آماری

در این مطالعه از نرم افزار SPSS 20 برای آنالیز داده ها مورد استفاده قرار گرفت. جهت تعیین نرمال بودن داده ها از آزمون کولموگروف- اسمیرنوف استفاده شد. توزیع داده های مورد بررسی همه نرمال بودند. آزمون آماری مورد استفاده ANOVA یک طرفه بین آزمودنی بوده و تست Tukey's برای آنالیز تفاوت بین دو گروه به کار گرفته شد. نتایج به صورت means±SD ارائه گردید و ارزش P کمتر از ۰/۰۵ به عنوان سطح معنی داری تفاوت های آماری در این تحقیق، در نظر گرفته شد.

یافته ها

بررسی سطح سرمی تستوسترون در گروه های مورد آزمایش از موش های نر بالغ القاء شده با استات سرب، بر اساس نمودار ۱ مقایسه میانگین سطح سرمی تستوسترون در گروه های مورد بررسی نشان داد که در گروه دریافت کننده استات سرب در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی دار ($P<۰/۰۰۱$) سطح سرمی تستوسترون رخ داده است. در گروه های تجربی دریافت کننده عصاره با افزایش دوز، شاهد افزایش سطح سرمی تستوسترون و نزدیک شدن میانگین به گروه کنترل بودیم. در مقایسه میانگین سطح سرمی تستوسترون گروه دریافت کننده عصاره با دوز متوسط (گروه کنترل مثبت) با گروه کنترل تفاوت معنی داری مشاهده نشد ($P>۰/۰۵$).

بررسی سطح سرمی FSH در گروه های مورد آزمایش، از موش های نر بالغ القاء شده با استات سرب بر اساس نمودار ۲ مقایسه میانگین سطح سرمی FSH در گروه های مورد بررسی نشان داد که در گروه دریافت کننده استات سرب در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی دار

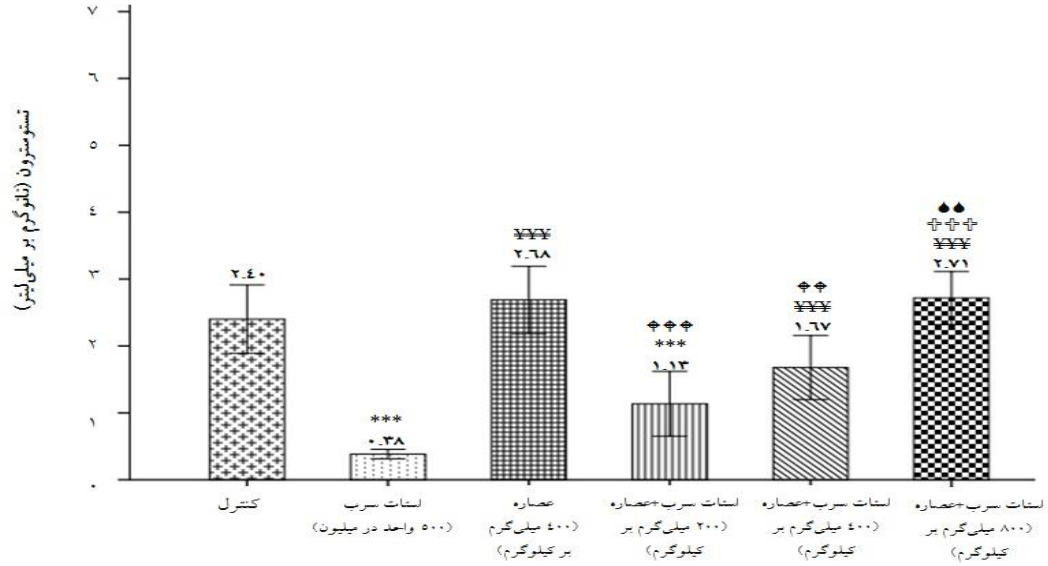
www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from goums.ac.ir at 14:39 +0430 on Wednesday May 24th 2017

(P<۰/۰۰۱) سطح سرمی FSH رخ داده است. متناسب با افزایش دوز کاهش میزان سطح سرمی FSH را شاهد بودیم. به طوری که در گروه تجربی دریافت کننده بالاترین دوز عصاره (۸۰۰ میلی گرم به ازا هر کیلوگرم وزن بدن) تفاوت معنی داری با گروه کنترل مشاهده نشد (P>۰/۰۵). تفاوت دو گروه کنترل و کنترل مثبت از لحاظ آماری معنی دار نبود (P>۰/۰۵).

بررسی سطح سرمی LH در گروه های مورد آزمایش از موش های نر بالغ القاء شده با استات سرب، بر اساس نمودار ۳ مقایسه میانگین سطح سرمی LH در گروه های مورد بررسی، همانند تغییراتی بود که در مورد مقایسه تغییرات سطح سرمی FSH رخ داد.



نمودار شماره ۱ بررسی سطح سرمی تستوسترون در گروه‌های مورد آزمایش از موش های نر بالغ القاء شده با استات سرب

* بیان‌گر معناداری نسبت به گروه کنترل، ¥ بیان‌گر معناداری نسبت به گروه دریافت کننده استات سرب بیان‌گر معناداری نسبت به گروه دریافت کننده عصاره ۴۰۰mg/kg ☥ بیان‌گر معناداری نسبت به گروه دریافت کننده استات سرب + عصاره دوز ۲۰۰ mg/kg♦، بیان‌گر معناداری نسبت به گروه دریافت کننده استات سرب + عصاره دوز ۴۰۰ mg/kg، (***:P<0.001)، (¥¥¥:P<0.001)، (♦♦:P<0.01)،(☥☥☥:P<0.001) (♦♦:P<0.01) (♦♦♦:P<0.001)

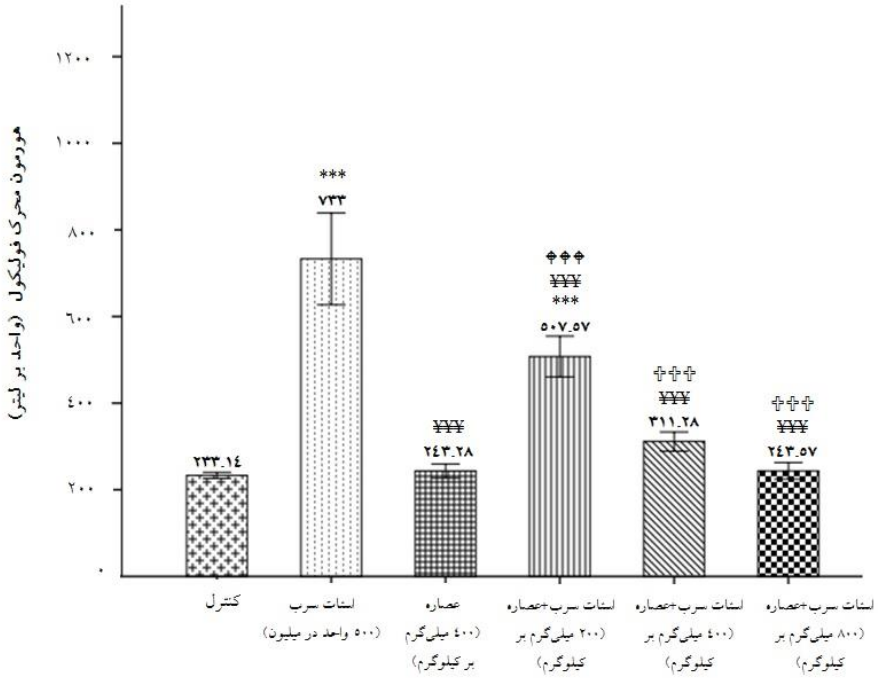
www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from goums.ac.ir at 14:39 +0430 on Wednesday May 24th 2017

جدول شماره ۱ بررسی توزیع نرمال داده‌های مربوط به سطح سرمی تستوسترون در گروه‌های مورد آزمایش از موش های نر بالغ القاء شده با استات سرب

گروه‌ها	Z کولموگروف اسمیرنوف	P-value
کنترل	۰/۴۹۷	۰/۹۶۶
استات سرب	۰/۵۱۱	۰/۹۵۶
عصاره (۴۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم)	۰/۴۳۳	۰/۹۹۲
استات سرب+عصاره (۲۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم)	۰/۵۵۱	۰/۹۲۲
استات سرب+عصاره (۴۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم)	۰/۳۸۸	۰/۹۳۶
استات سرب+عصاره (۸۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم)	۰/۲۱۲	۰/۹۴۷



نمودار شماره ۲ بررسی سطح سرمی FSH در گروه‌های مورد آزمایش از موش های نر بالغ القاء شده با استات سرب

.* بیان‌گر معناداری نسبت به گروه کنترل، ¥ بیان‌گر معناداری نسبت به گروه دریافت کننده استات سرب بیان‌گر معناداری نسبت به گروه دریافت کننده عصاره ✞۴۰۰mg/kg بیان‌گر معناداری نسبت به گروه دریافت کننده استات سرب + عصاره دوز ۲۰۰mg/kg(***:P<0.001)، (¥¥¥:P<0.001) (✞✞✞:P<0.001) (✞✞:P<0.01) (✞✞✞:P<0.001)،

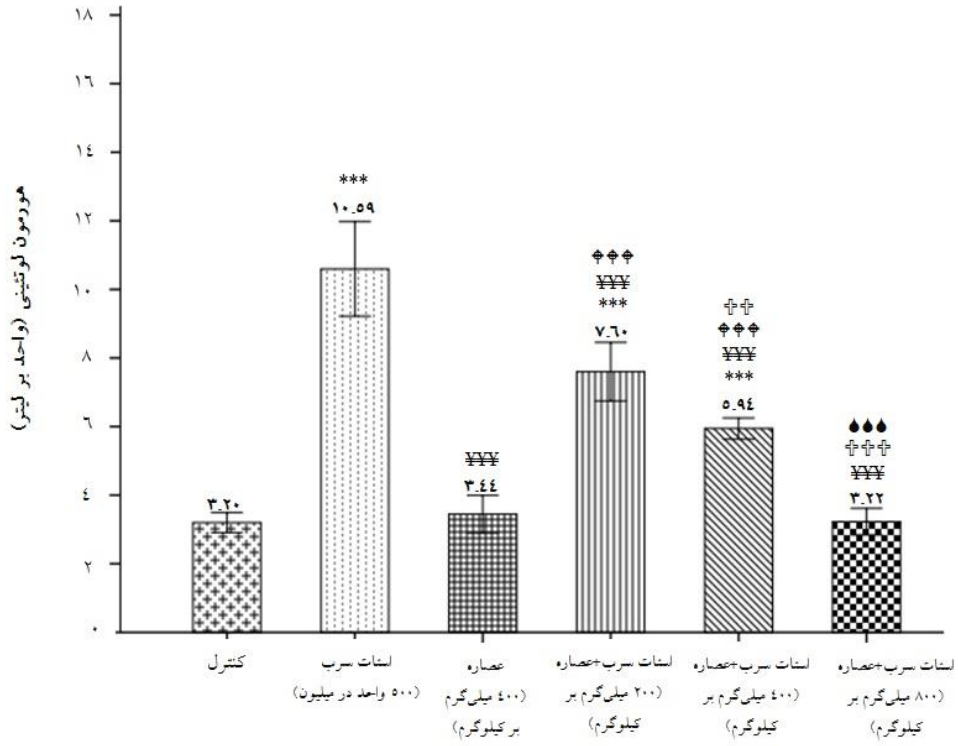
www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from goums.ac.ir at 14:39 +0430 on Wednesday May 24th 2017

جدول شماره ۲ بررسی توزیع نرمال داده های مربوط به سطح سرمی FSH در گروه های مورد آزمایش از موش های نر بالغ القاء شده با استات سرب

گروهها	Z کولموگروف اسمیرنوف	P-value
کنترل	۰/۵۳۰	۰/۹۴۱
استات سرب	۰/۸۲۲	۰/۵۱۰
عصاره (۴۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم)	۰/۵۱۵	۰/۹۵۳
استات سرب+عصاره (۲۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم)	۱/۰۵	۰/۲۱۴
استات سرب+عصاره (۴۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم)	۰/۴۴۹	۰/۸۲۳
استات سرب+عصاره (۸۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم)	۰/۳۱۸	۰/۵۱۸



نمودار شماره ۳ بررسی سطح سرمی LH در گروه‌های مورد آزمایش از موش های نر بالغ القاء شده با استات سرب

.* بیان‌گر معناداری نسبت به گروه کنترل، ¥ بیان‌گر معناداری نسبت به گروه دریافت کننده استات سرب بیان‌گر معناداری نسبت به گروه دریافت کننده عصاره ✝۴۰۰mg/kg بیان‌گر معناداری نسبت به گروه دریافت کننده استات سرب + عصاره دوز ♦،۲۰۰ mg/kg بیان‌گر معناداری نسبت به گروه دریافت کننده استات سرب + عصاره دوز ۴۰۰ mg/kg، (***:P<0.001)،(¥¥¥:P<0.001) ، (♦♦♦:P<0.001) (✝✝✝:P<0.001)،(✝✝:P<0.01)، (♦♦♦:P<0.001).

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from goums.ac.ir at 14:39 +0430 on Wednesday May 24th 2017

جدول شماره ۳ بررسی توزیع نرمال داده های مربوط به سطح سرمی LH در گروه های مورد آزمایش از موش های نر بالغ القاء شده با استات سرب

گروه‌ها	Z کولموگروف اسمیرنوف	P-value
کنترل	۰/۳۲۰	۱
استات سرب	۰/۵۸۴	۰/۸۸۴
عصاره (۴۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم)	۰/۹۲۲	۰/۳۶۳
استات سرب+عصاره (۲۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم)	۰/۴۷۱	۰/۹۷۹
استات سرب+عصاره (۴۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم)	۰/۸۳۴	۰/۱۲۳
استات سرب+عصاره (۸۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم)	۰/۲۱۶	۰/۷۵۴

بحث و نتیجه گیری

با توجه به نتایج این مطالعه غلظت سرمی هورمون تستوسترون در گروه تجربی دریافت کننده استات سرب نسبت به گروه کنترل کاهش معناداری نشان داد. غلظت این هورمون در گروه های تجربی سه گانه دریافت کننده عصاره هیدروالکلی میوه گیاه هل سبز با دوزهای ۲۰۰ تا ۸۰۰ میلی گرم به ازا هر کیلوگرم وزن بدن افزایش معنی داری نسبت به گروه دریافت کننده استات سرب نشان داد. همچنین غلظت سرمی هورمون های LH و FSH در گروه تجربی دریافت کننده استات سرب نسبت به گروه کنترل دارای افزایش معنی دار بود. در گروه های تجربی سه گانه غلظت این دو هورمون کاهش معنی داری نسبت به گروه دریافت کننده استات سرب و نزدیکی میانگین غلطت را به میانگین گروه کنترل شاهد بودیم.

استات سرب باعث افزایش عملکرد کمپلکس آنزیمی سیتوکروم P_{450} موجود در میتوکندری می شود و خود نیز توسط این کمپلکس تجزیه شده و ایجاد رادیکال های آزادی می کند که این رادیکال ها با اتصال به اسیدهای چرب موجود در ساختار غشای اندامک های درون سلولی مانند لیزوزوم ها باعث از هم گسیختگی غشایی این اندامک ها و آزاد شدن مقدار بالایی از آنزیم های هضم کننده شده که این آنزیم ها با حمله به سلول موجبات آپوپتوز یا مرگ سلولی را فراهم می آورند (۱۵). همچنین رادیکال های آزاد قادرند به غشای پلاسمایی سلول حمله کرده و با پراکسیداسیون لیپیدهای غشا باعث از هم گسیختگی ساختار غشا شده و مرگ سلول ها را موجب شوند (۱۶). استات سرب با ایجاد اثر تخریبی بر سلول های سرتولی مستقر در لوله های سمینی فر و افزایش آپوپتوز این نوع سلول ها منجر به کاهش انتقال تستوسترون می شود (۱۷). علاوه بر این مطالعات پیشین ثابت کرده اند که سرب با اثرتخریبی بر سلول های لیدیگ سبب کاهش تولید تستوسترون در سرم خون می شود (۲۰-۱۸). قرار گرفتن در معرض استات سرب منجر به مهار عملکرد بیضه می شود که این مسأله در هنگام کاهش میزان تستوسترون کاملاً مشهود است .این نقص می تواند به علت کاهش تعداد محل های اتصال هورمون LH در سلول های لایدیگ باشد که توسط تحقیقات قبلی کاملاً اثبات شده است (۲۲-۲۰). کاهش تستوسترون از یک سو و کاهش تعداد محل های اتصال هورمون LH از سویی دیگر با اعمال بازخورد منفی در محور هیپوفیز- گناد شده و منجر به افزایش سطح سرمی هورمون LH می شود (۲۲). از طرفی تخریب سلول های سرتولی با اعمال بازخورد منفی سبب افزایش سطح هورمون

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from goums.ac.ir at 14:39 +0430 on Wednesday May 24th 2017

FSH می شود و به این شکل گنادها تلاش می کنند با افزایش سطح هورمون های LH وFSH آسیب وارده توسط استات سرب را تعدیل کرده و مانع از ایجاد اختلال در تولید هورمون تستوسترون و روند اسپرماتوژنز شوند (۲۳). استات سرب به طور مستقیم با کاهش فعالیت گیرنده های سلول های بینابینی در بافت بیضه، منجر به کاهش ترشح هورمون تستوسترون می شود. این امر اثر بازخورد منفی تستوسترون را بر هیپوفیز کاهش داده و باعث افزایش ترشح هورمون LH از سلول های لوتئوتروپ در بخش قدامی هیپوفیز می شود (۲۴).

به طور کلی، براساس کنترل هورمونی تستوسترون، ساخت این هورمون تحت کنترل هورمون LH بوده و همچنین سطح هورمون LH نیز به مقدار هورمون تستوسترون در خون وابسته است. به طوری که با افزایش هورمون LH سطح هورمون تستوسترون افزایش می یابد تا توسط مکانیزم فیدبک منفی افزایش تستوسترون سطح هورمونی LH در خون را کاهش و تنظیم کند. ولی به سبب اثر کاهشی استات سرب بر تولید تستوسترون، این فیدبک منفی مختل شده و منجر به افزایش هورمون LH در خون می شود. هم زمان با افزایش LH هورمون FSH نیز افزایش می یابد (۲۶-۲۵).

استات سرب باعث ایجاد رادیکال های آزاد می شوند که این ترکیبات موجب آسیب اکسیداتیو اسیدهای نوکلئیک، پروتئین ها و لیپید گردیده و باعث پراکسیداسیون چربی های غیراشباع در غشاهای سلولی، افزایش نفوذپذیری عروق ریز و ایجاد ادم، اختلال در عملکرد میتوکندری و دیگر اندامک ها می شوند لذا بالقوه سمی هستند (۲۷).

سوری و همکاران در سال ۲۰۰۳ در تحقیقی تحت عنوان ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی ۲۵ دانه گیاه مورد استفاده در طب سنتی ایران، میزان فعالیت آنتی اکسیدان بر مبنای درصد مهاراکسیداسیون لینولئیک را در دانه ۲۵ گیاه بررسی کردند و متوجه شدند که هل دارای خواص آنتی اکسیدانی و حاوی ماده ای به نام کوئرستین است (۲۸). کوئرستین آنتی اکسیدانی فاقد هیدرات کربن می باشد. به همین دلیل دارای اثرات قوی تری نسبت به انواع گلیکوزید می باشد (۲۹). در گذشته مطالعاتی پراکنده در مورد اثرات کوئرستین بر فرآیند اسپرماتوژنز انجام شده است و اثرات مثبت آن در یاخته های زایای بیضه رت های دیابتی مشاهده شده است (۳۱ و ۳۰).

Yoo و همکاران در سال ۲۰۰۰ فعالیت به دام اندازی رادیکال های آزاد را در روغن دانه انگور بررسی کردند و مشخص گردید روغن دانه انگور با تخریب رادیکال های آزاد، وزن بدن، وزن بیضه و غلظت سرمی هومون LH را افزایش می دهند. آن ها ثابت کردند که حضور آنتی اکسیدان های قوی مانندکوئرستین باعث تخریب رادیکال های آزاد و بهبود عملکرد اندام تولیدمثلی است. همچنین نشان دادند که کوئرستین به دلیل داشتن دو گروه هیدروکسیل (OH) مجاور هم باعث افزایش قدرت احیاکنندگی و در نتیجه افزایش قدرت آنتی اکسیدانی این ماده شده است (۳۲).کوئرستین سلول ها را از آسیب ناشی از مواد شمیایی و سمی محافظت می کند. این ماده توان آنتی اکسیدانی پلاسما را افزایش می دهد و سبب پایداری ژنومی می شود. همچنین با جمع آوری رادیکال های آزاد مانع آسیب به ژنوم و ایجاد جهش در آن می شود. احتمال تأثیر کوئرستین به علت اثرات آنتی اکسیدانی خود برروی تعداد گیرنده های هورمونی LH و یا افزایش حساسیت آن ها و همچنین بهبود، نگهداری و افزایش توانایی های سلول های لایدیگ می رود که در نتیجه آن ترشح هورمون تستوسترون افزایش یافته است (۳۳). از آن جایی که عصاره میوه گیاه هل سبز سرشار از کوئرستین است احتمالاً بخشی از اثرات ساماندهی در وضعیت هورمون های جنسی را بتوان به حضور این ماده نسبت داد.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from goums.ac.ir at 14:39 +0430 on Wednesday May 24th 2017

مطالعات قبلی ثابت کردند که کوئرستین به طور غیرمستقیم (تأثیر بر گیرنده های تستوسترون) با افزایش ترشح تستوسترون موجب بهبود کمی و کیفی سلول های زایا در بیضه و همچنین اپیدیدیم شده است و هم به طورمستقیم با خنثی سازی استرس اکسیداتیو و بی اثر کردن رادیکال های آزاد در رشد، نگهداری، سلامت و عملکرد سلول های زایا به ویژه تعداد و تحرک اسپرم ها مؤثر بوده است (۳۴). نتیجه پژوهش حاضر نیز نشان می دهد که احتمالاً کوئرستین به عنوان یک آنتی اکسیدان قوی موجب افزایش ترشح هورمون تستوسترون شده و این افزایش هورمونی خود موجب بهبود وضعیت پارامترهای سلول‌های زایا شده است. افزایش تستوسترون با ایجاد بازخورد منفی و نیز افزایش بقای سلول های لایدیگ از یک سو و بالا رفتن شمار گیرنده های LH از سویی دیگر موجبات نزدیکی میانگین سطح سرمی هورمون LH به حالت طبیعی را فراهم آورده است.

مطالعات نشان داده که آسیب سلولی ناشی از استرس ها و مواد شیمیایی و داروها با تولید رادیکال های آزاد، سبب فعال کردن کاسکادها می گردد. کاسکادها و کاسپازها از فعال کننده های مرگ برنامه ریزی شده سلول (آپوپتوزیس) هستند(۳۵). ویتامین E یا آلفاتوکوفرول، تانن و گالیک اسید از ترکیبات شناخته شده در عصاره میوه گیاه هل سبز است (۳۶).

ویتامین E یکی از آنتی اکسیدان های قوی و شناخته شده است که به علت حلالیت در چربی به راحتی از غشا عبور کرده و می تواند مانع از اثرات تخریبی رادیکال های آزاد بر روی سلول های بافت بیضه شود (۳۷). ثابت شده است که تانن و گالیک اسید به سبب وجود خاصیت آنتی اکسیدانی قوی، می توانند با افزایش پایداری و بالا بردن شانس بقا در سلول های آسیب دیده بافت بیضه از جمله سلول های سرتولی و ایجاد بازخورد منفی، باعث کاهش سطح سرمی FSH و بازگشت آن به حالت نرمال شوند(۳۸).

بر طبق نتایج تحقیق حاضر، عصاره ی هیدروالکلی میوه گیاه هل سبز احتمالاً با مکانیسم حذف و خنثی سازی رادیکال های آزاد، سبب کاهش میزان اثرات تخریبی سرب بر بیضه و افزایش ترشح تستوسترون و به دنبال آن بازگرداندن سطح سرمی هورمون های LH و FSH به حالت طبیعی گردید و همچنین توانست اثرات حفاظتی قابل توجهی را از خود نشان دهد. با توجه به اثرات جانبی داروها می‌توان عصاره این گیاه را به عنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی و ایمن‌تر در نظر گرفت.

تقدیر و تشکر

این مقاله برگرفته از پایان نامه کارشناسی ارشد در رشته زیست شناسی جانوری ـ سلولی و تکوینی دانشکده علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی واحد همدان با شماره کد طرح و کد اخلاق ۱۷۱۳۰۵۳۱۹۳۲۰۱۵ است که با حمایت های مالی و معنوی حوزه محترم معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد همدان به انجام رسیده است. لذا نویسندگان مقاله کمال تشکر و قدردانی را از این معاونت محترم و کلیه افرادی که در اجرای این تحقیق ما را یاری کردند، دارند.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from goums.ac.ir at 14:39 +0430 on Wednesday May 24th 2017

References

1.Tong S, Von Schirnding YE, Prapamontol T. Environmental lead exposure: a public health problem of global dimensions. Bull World Health Organ 2000; 78: 1068–77.

2. Bjelakovic G, Nikolova D, Gluud LL, Simonetti RG, Gluud C. Mortality in randomized trials of antioxidant supplements for primary and secondary prevention: systematic review and meta-analysis. JAMA. 2007; 297 (8): 842–57.

3. Aitken R. The Amoroso lecture. The human spermatoa zoon-a cell in crisis? J Reprod Fertil. 2008;115(1): 1-7.

4. Ranjbar A. Human physiology: endocrinology & reproa duction. 1st ed. Tehran: Ilia publication; 2007. (Persian)

5. Parandin RGR. Effects of alcoholic extract of Achillea Millefolium flowers on fertility parameters in male rats. Journal of shahid sadoughi university of medical sciences. 2011;19(1):84-93. (Persian)

6. Heidari M AF, Ghaffari-Novin M, Vaezi GH, Keramati K, Rajaei F. Antiandrogenic effects of Rosmarinus officinalis extract on the reproductive tract of male rats. Tehran Univera sity Medical Journal. 2012;65(3):26-31. (Persian)

7. Jasemi M, Saki GH, Rahimi F. The effect of Centella Asiata ica alcoholic extract on the serum levels of testesterone, FSH and LH in male wistar rat. Journal of Sabzevar university of medical sciences. 2011;16(1): 6-11. (Persian)

8. Salamatmanesh M, Shiravi A, Heydari nasrabady M. The effect of (Anethum graveolens) seed alcoholic extract on spermatogenesis in male wistar rats. Journal of animal biola ogy. 2009;1(2): 23-30. (Persian)

9. Modaresi M, Messripoor M, Asadi M, Morghmaleki MKH. The effect of Saffron extract on testis tissue. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants. 2013;24(2):237- 243. (Persian)

10. Mohammad Nouri, Arash Khaki, Fatemeh Fathi Azar, Rashidi MR. The Protective Effects of Carrot Seed Extract on Spermatogenesis and Cauda Epididymal Sperm Reserves in Gentamicin Treated Rats. Yakhteh Medical Journal. 2012;11(3):327-332. (Persian)

11. Naseri M, Heydari nasrabadi M, Khodarahmi P, Ahmadi F, Mojibi P, Abotalebei H. Study of the Effect of Fumaria parviflora Alcoholic Extract on Spermatogenesis in Male Rats. New Cellular and Molecular Biotechnology Journal. 2011;1(2):61-5. (Persian)

12. Mirfard M, Johari H, Mokhtari M, Hematkhah V, Jamali H, Allahverdi Gh. The Effect of Hydro-Alcoholic Garlic Exa tract on Testis Weight and Spermatogenesis in Mature Male
Rats under Chemotherapy with Cyclophosphamide. Journal of Fasa University of Medical Sciences. 2011;3(2):67-74. (Persian)

13. Sutherland N. Plantas descritas originalmente de Honduras y sus nomenclaturas equivalentas actuals. Ceiba 2006: 42(1): 1–71.

14. Sharma S, Sharma j, Kaur G. Therapeutic uses of Elettaria cardomum, international journal of drgug research 2011, 102-108.

15. mokhtari M, Jelve S. Effect of Grape seed oil (Vitis vinifera) on serum gonadotropins and testosterone levels in adult rats exposed to lead acetate. Journal of Gorgan University of Medical Sciences 2015: 36-41.(Persian)

16. Nasiri M, Khaki A, Bazi P,Khaki AA ,Sahizadeh R, Roozbehi A. Ultra-structure study of
lead acetate cytotoxic effects on testis in rabbit, armaghan danesh J 2010: 45-53. .(Persian)

17. Gulson BL, Mizon KJ, Korsch MJ, Palmer JM, Donnelly JB. Mobilization of lead from human bone tissue during pregnancy and lactation-a summary of long-term research. J Sci Total Environ 2003 15: 79-104.

18. Henkel R. The impact of oxidants on sperm functions. Andrologia. 2014;37(6):205-6.

19. Allouche L, Hamadouche M, Touabti A. Chronic effects of low lead levels on sperm quality, gonadotropins and testosterone in albino rats. Exp Toxicol Pathol 2009. 61(5): 503-10.

20. Tapisso JT, Marques CC, Mathias Mda L, Ramalhinho Mda G. Induction of micronuclei and sister chromatid exchange in bone- marrow cells and abnormalities in sperm of Algrian mice (Mus spetus)

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from goums.ac.ir at 14:39 +0430 on Wednesday May 24th 2017

exposed to cadmium, lead and zinc. Mutat Res 2009. 678(1): 59-64.

21. Anjum MR, Sainath SB, Suneetha Y, Reddy PS. Lead acetate induced reproductive and paternal mediated developmental toxicity in rats. Ecotoxicol Environ Saf 2011. 74(4): 793-9.

22.Villeda-Hernandez J, Barroso-Moguel R, Méndez-Armenta M, Nava-Ruíz C, Huerta-Romero R, Ríos C. Enhanced gonadal damage regional lipid peroxidation in developing rats exposed to low level lead acetate. Reproduction Res Bull 2008: 247–251.

23.Smooda K. Effect of lead exposure on gonadotropin in rats. J Toxicology Physiological 2015; 44(8): 313-322.

24. Yilmaz B, Canpolat S, Sandal S, Akpolat N, Kutlu S, Ilhan N, et al. Paint thinner exposure inhibits testosterone synthesis and secretion in a reversible manner in the rat. Reprod Toxicol 2006; 22(4): 791-6.

25. Ait HN, Slimani M, Merad-Bodia B, Zaoui C. Reproductive toxicity of lead acetate in adult male rats. Am J Sci Res 2009; 1(3): 38-50.

26. Azizi F, Keshavarz A, Roshanzamir F,Nafarabadi M. Reproductive function in men following exposure to chemical warfare with sulphur. Med War 1995; 11(1): 34-44.

27. Safarinejad MR. Testicular effect of mustard gas. Urology 2001; 58(1): 90-4.

28. Wang C, Zhang Y, Liang J, Shan G, Wang Y, Shi Q. Impacts of ascorbic acid and thiamine supplementation at different concentrations on lead toxicity in testis. Clin Chim Acta 2006; 370(1-2): 82-8.

29. Souri E, Farsam H, Hasani M, Azimi kheirabadi Z. Evaluation of antioxidant activity of 25 plant seeds used in Iranian folk medicine. J of Medicinal Plants. 2003; 2 (8):27-37.

30. Khaki A, Fathiazad F, Nouri M, Khaki AA, Maleki N, Jabbari Khamnei H, Beneficial effects of quercetin on sperm parameters in streptozotocin-induced diabetic male rats. Phytotherapy Reseach.2010;24(9): 1285–1291.(Persian)

31. Coskun O, Kanter M, Korkmaz A, Oter S. Quercetin, a flavonoid antioxidant, prevents and protects streptozotocin-induced oxidative stress and beta-cell damage in rat pancreas. Pharmacol Res. 2005; 51 (2):117 – 123

32. Yoo,J. Y. Shin,D. H. and Min,B. Y. Composition of grape seed oil and effect on spermatogenesis. Korean J. Food Sci,and tech 2010. 16(3) : 257-260.

33. Knekt P, Kumpulainen J, Järvinen R, Rissanen H, Heliövaara M, Reunanen A. Flavonoid intake and risk of chronic diseases. Am J Clin Nutr. 2002; 76(3):560-8.

34. Zohre F, Nasri S ,Kerishchi P. The effect of Quercetin on pituitary–gonadal axis, sperm parameters and testis tissue in male rats. Quarterly Journal of Sabzevar University of Medical Sciences 2015, 377-386.

35. Naziroglu M. Enhanced testicular antioxidant capacity in streptozotocin-induced diabetic rats: protective role of vitamins C and E and selenium. Biol Trace Elem Res 2003;94(1):61-72.

36. Baghy Nia N, Oryan SH, Fani A, Maleky Rad A. The effect of Cardamom- tea watery extract on oxidative stress. Journal of Arak University of Medical Sciences 2009:1-7.

37. Sandamin D. The effect of vitamin E on testis. J Physiol. 2014; 93: 128- 165.

38. Bagchi K, Puri S. Free radicals and antioxidants and their impact on testes. La Revue de sante de la mediterranee onetale. 2005; 4(2): 220-232. .(Persian)

www.SID.ir