

## اثر سیر بر آسیب‌های بیضه‌ای ناشی از دیابت شیرین در موش‌های صحرائی نر

اکرم عبدالله‌نژاد<sup>۱</sup>، دکتر علی گل<sup>۱</sup>، دکتر شهریار دبیری<sup>۲</sup>، دکتر عبدالرضا جوادی<sup>۲</sup>

۱) گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه شهید باهنر کرمان، ۲) گروه پاتولوژی، دانشکده‌ی پزشکی افضلی‌پور، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، نشانی مکاتبه‌ی نویسنده‌ی مسئول: کرمان، انتهای بلوار ۲۲ بهمن، مجتمع دانشگاه شهید باهنر کرمان، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی، دکتر علی گل؛ e-mail: agol@mail.uk.ac.ir

### چکیده

**مقدمه:** دیابت شیرین با تغییرات بافتی بیضه همراه است. در مطالعه‌ی حاضر هر دو اثر پیشگیری‌کننده و درمانی سیر بر آسیب بیضه‌ای در موش‌های صحرائی نر دیابتی شده با استروپتوزوتوسین (STZ) بررسی شد. مواد و روش‌ها: ۴۰ سر موش صحرائی نر از نژاد ویستار به ۵ گروه تقسیم شدند. ۱) گروه طبیعی (N)، ۲) گروه طبیعی + سیر (N+G)، ۳) گروه دیابتی (D)، که دیابت از طریق تزریق داخل صفاقی (۶۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) استروپتوزوتوسین ایجاد شد. ۴) گروه دیابتی + دریافت سیر قبل از دیابتی شدن (D+Gb)، که دریافت سیر به مدت سه هفته قبل از تزریق STZ آغاز شد و آن برای سه هفته‌ی دیگر ادامه یافت. ۵) گروه دیابتی + دریافت سیر بعد دیابتی شدن (D+Ga)، که دریافت سیر به مدت سه هفته بعد از تزریق STZ وجود داشت. آب سیر با دوز ۱ میلی‌لیتر به ازای هر صد گرم وزن بدن توسط گاواژ به موش‌های صحرائی خورانده شد. آسیب بیضه‌ای با استفاده از رنگ آمیزی هماتوکسیلین - انوزین بررسی شد. یافته‌ها: موش‌های دیابتی کاهش چشمگیری در قطر و تعداد سلول‌های زاینده‌ی توبول سمینفروس نشان دادند. سیر به طور قابل توجهی تغییرات مورفولوژیک ایجاد شده به وسیله دیابت و کاهش سلول‌های زاینده را کم کرد. گروه دریافت‌کننده‌ی سیر قبل از تزریق STZ (D+Gb) نسبت به گروه دریافت‌کننده‌ی سیر بعد از تزریق STZ (D+Ga) بهبودی بیشتری را در عوارض ناشی از دیابت نشان دادند. نتیجه‌گیری: در این مطالعه برای اولین بار نشان داده شد که مصرف آب سیر دارای هر دو اثر پیشگیری‌کننده و درمانی بر کاهش آسیب‌های بیضه‌ای در موش‌های صحرائی نر دیابتی می‌باشد.

واژگان کلیدی: سیر، آسیب‌های بیضه‌ای، دیابت، موش صحرائی نر

دریافت مقاله: ۸۷/۱۲/۱۹ - دریافت اصلاحیه: ۸۸/۳/۱۷ - پذیرش مقاله: ۸۸/۳/۲۱

### مقدمه

و کاهش کارایی دفاع‌های آنتی‌اکسیدانی وجود دارد. فرایندی که به صورت ابتدایی شروع می‌شود و زمینه‌ی بیماری را فراهم می‌کند. در بیماری دیابت، اکسیداسیون لیپیدها، پروتئین‌ها و DNA با گذشت زمان افزایش می‌یابد. موتاسیون DNA میتوکندری در بافت‌های افراد دیابتی گزارش شده است که نشان‌دهنده‌ی آسیب میتوکندری مرتبط با استرس اکسیداتیو است.<sup>۱</sup> دیابت شیرین اثرهای عملکردی و ساختاری متنوع بر سیستم تولید مثل نر دارد. کاهش تولید

دیابت شیرین یک حالت از افزایش قند مزمن است که علت مهم بیماری‌های میکرو و ماکرواسکولار می‌باشد و تقریباً بر تمام سیستم‌های بدن تاثیر می‌گذارد. شواهد رو به افزایشی حاکی از افزایش استرس اکسیداتیو در افراد دیابتی به واسطه‌ی تولید بیش از حد انواع اکسیژن واکنشی (ROS)<sup>۱</sup>

i- Reactive Oxygen Spcies

هر کیلوگرم وزن بدن به مدت سه ماه، وزن اپی‌دیدیم و سمینال وزیکول را نسبت به موش‌های طبیعی افزایش داده است و همچنین، شمار اسپرم‌ها را نیز به میزان قابل توجهی افزایش می‌یابد.<sup>۱۶</sup> مطالعه‌ی مشابهی نیز نشان داده است که آب پیاز تأثیر شبه‌تستسترونی دارد و وزن وزیکول سمینال را در حیوانات اخته و غیر اخته افزایش می‌دهد.<sup>۱۷</sup> از آنجا که تاکنون اثر درمانی و پیشگیری‌کننده‌ی سیر بر عوارض تولید مثلی ناشی از دیابت بررسی نشده است، بر آن شدیم تا اثر آب سیر را بر بافت بیضه و میزان اسپرماتوژنز بررسی نماییم.

## مواد و روش‌ها

آب سیر بر اساس روشی که پیش‌تر در سال ۲۰۰۵ توصیف شده، تهیه گردید.<sup>۱۳</sup> سیر تازه (با مارک مرحبا) از بازار تره‌بار کرمان خریداری و پس از پوست گرفتن با آب مقطر شستشو داده شد. سپس به قطعات کوچکی برش داده و به ازای هر صد گرم سیر خرد شده ۲۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر به آن اضافه گردیده و با استفاده از مخلوط‌کن به خوبی مخلوط شد. مخلوط حاصل توسط کاغذ صافی صاف و آب سیر فوراً به لوله‌های آزمایش منتقل شد تا در دمای ۱۰- درجه سانتیگراد منجمد و تا زمان استفاده که ۴ روز به طول انجامید در فریزر در دمای مذکور نگهداری می‌شود. برای ایجاد دیابت از استرپتوزوتوسین (STZ)<sup>۱</sup> ساخت شرکت سیگمای آمریکا به صورت تزریق داخل صفاقی با دوز ۶۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به موش‌های صحرایی استفاده شد. سه روز پس از تزریق برای اطمینان از دیابتی شدن خونگیری از گوشه‌ی چشم انجام شد. حیواناتی که میزان قند خون آنها بیشتر از ۳۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بود به عنوان دیابتی در نظر گرفته شدند.

**اندازه‌گیری گلوکز:** غلظت گلوکز توسط روش گلوکز اکسیداز (GOD-PAP) با استفاده از کیت‌های شرکت پارس آزمون ایران و با استفاده از دستگاه اتوآنالیزور RA1000 ساخت شرکت تکنیکون آمریکا و غلظت در ۵۴۶ نانومتر اندازه‌گیری شد.

تستوسترون،<sup>۲</sup> تحلیل غدد ضمیمه تولید مثلی،<sup>۳</sup> کاهش میل جنسی<sup>۴</sup> و رفتارهای جنسی در افراد مبتلا به دیابت گزارش شده است.<sup>۴</sup> دیابت همچنین بر اسپرماتوژنز تأثیر می‌گذارد.<sup>۴</sup> کیفیت پایین مایع سمینال در افراد دیابتی نیز گزارش شده است که شامل کاهش حرکت اسپرم،<sup>۵</sup> کاهش شمار اسپرم<sup>۶</sup> و افزایش اسپرم‌های ناهنجار است.<sup>۸،۷</sup>

برخی گزارش‌های متناقض نیز مبنی بر این که تعداد و غلظت اسپرم‌ها طی دیابت افزایش می‌یابد نیز وجود دارد.<sup>۷-۹</sup> مطالعه‌های مورفومتری تغییرات چشمگیر در قطر توپول سمینیفروس و مهار اسپرماتوژنز در مراحل اسپرماتوسیتی II و III را در توپول‌های کوچک حیوانات دیابتی نشان داده‌اند. مراحل دیگر اسپرماتوژنز، شامل مراحل IX-XI نیز در حیوانات دیابتی متأثر می‌شوند. همچنین، ۴ هفته بعد از ایجاد دیابت سلول‌های زاینده دژنره شده در مراحل مختلف تکوین را می‌توان مشاهده کرد.<sup>۴</sup>

گیاهان دارویی سال‌های زیادی است که در سراسر جهان برای درمان و پیشگیری از دیابت استفاده می‌شوند اما تنها اثرات تعدادی از آنها به طور علمی بررسی شده است.<sup>۱۰</sup> گیاهان دارویی روش‌های درمانی مفیدی هم در سیستم‌های مدرن و هم سنتی هستند. اما تردید در مورد کفایت و سالم بودن عناصر کاهنده‌ی قندخون به صورت خوراکی باعث شده که تلاش برای یافتن جایگزینی از منابع صناعی و گیاهی برای درمان دیابت به راه افتد،<sup>۱۱</sup> به خصوص در کشورهای فقیر که انسولین به راحتی در دسترس نیست، به جای آن از بعضی از گیاهان دارای خاصیت هیپوگلیسمیک استفاده می‌شود.<sup>۱۲</sup> گونه‌های آلیوم مانند سیر و پیاز به عنوان ماده‌ی غذایی، ادویه، چاشنی و داروی محلی مصرف می‌شوند. سیر با نام علمی *Allium sativum* متعلق به خانواده‌ی *Liliaceae* توجه ویژه‌ای را در میان گیاهان جدید بخود جلب کرده است زیرا در سراسر جهان گسترده شده و در دسترس است.<sup>۱۳</sup> پاسخ‌های بیولوژیک سیر شامل کاهش عوامل خطرزای قلبی - عروقی، سرطان، تحریک فعالیت‌های ایمنی، افزایش سمیت‌زدایی ترکیبات خارجی، اثر ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی آن است.<sup>۱۴</sup> از طرف دیگر، تیمار موش‌های صحرایی دیابتی با عصاره‌ی *Coeculus hirsutus* باعث افزایش وزن و قطر بیضه و قطر توپول‌های سمینیفروس گشته است و همچنین اسپرماتوژنز را تسریع کرده است.<sup>۱۵</sup> گزارش شده که افزودن عصاره‌ی سیر به آب آشامیدنی موش‌های نر با دوز روزانه ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای

i- Streptozotocin

**اندازه‌گیری قطر توبول‌های سمینیفروس:** قطر توبول سمینیفروس با استفاده از روش سیگ سوادمانی و همکاران (سال ۲۰۰۵) اندازه‌گیری شد.<sup>۱۸</sup> ۲۵ توبول به طور تصادفی در هر برش عرضی بیضه انتخاب و میانگین قطر توبولی با اندازه‌گیری قطر کوچک و بزرگ هر توبول با استفاده از یک میکرومتر کالیبره شده‌ی و متصل به چشمی میکروسکوپ و با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد.

$$\sqrt{L \times B} = \text{میانگین قطر}$$

L: طول (قطر بزرگ) و B: عرض (قطر کوچک).

**شمارش سلول‌های سرتولی:** با توجه به راهنمایی‌های یک پاتولوژیست مجرب ۲۵ توبول در هر گروه در هر برش عرضی بیضه انتخاب شدند و سپس در زیر میکروسکوپ تعداد سلول‌های سرتولی شمارش شد. میانگین این تعداد برای هر گروه محاسبه گردید.

**بررسی اسپرما توژنز:** طبق روش گانلی و همکاران در سال ۲۰۰۷ اسپرما توژنز بررسی شد.<sup>۱۹</sup> در هر برش عرضی ۱۰ فیلد میکروسکوپ مورد بررسی قرار گرفت. سپس با توجه به تعداد توبول‌های فاقد اسپرما توزا و اسپرما تید یا دارای مقادیر کم و یا متوسط علامت‌های + و - به گروه‌ها داده شد.

متغیرهای مورد بررسی در این آزمایش شامل وزن، طول، قطر و حجم بیضه، قطر توبول سمینیفروس و میانگین تعداد سلول‌های سرتولی در ۲۵ توبول مختلف بودند. همچنین بررسی‌های توصیفی مانند تعداد اسپرما توسیت‌های I و II، تعداد اسپرما تیدها، دسته‌جات اسپرمی لومینال، ضخامت غشای پایه، آتروفی توبول‌ها و حضور اجسام ائوزینوفیل و لوکوسیت‌ها در بافت بیضه مورد توجه قرار گرفت. بررسی بیوشیمیایی نیز شامل اندازه‌گیری میزان قند سرم بود.

**تجزیه و تحلیل آماری:** محاسبه‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه‌ی ۱۵ انجام شد و برای مقایسه‌ی میانگین بین گروه‌ها از آنالیز واریانس یک طرفه و در مواردی که پاسخ معنی‌داری دیده شد، از پس‌آزمون توکی کرامر برای یافتن جایگاه اختلاف استفاده شد.  $p < 0.05$  از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته و مقادیر به صورت (میانگین  $\pm$  خطای معیار) بیان شدند.

**گروه‌های آزمایش:** حیوانات مورد مطالعه، ۴۰ سر موش صحرایی از نژاد ویستار با میانگین وزن (۲۷۰-۲۳۰ گرم) بودند. حیوانات، از حیوانخانه‌ی دانشگاه شهید باهنر کرمان تهیه و به مدت ۷ روز برای تطابق با محیط حیوانخانه در دمای ۲۲ تا ۲۵ درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شدند. موش‌های صحرایی به ۵ گروه ۸ تایی به طور تصادفی تقسیم شدند. (۱) N (گروه طبیعی): که آب مقطر به میزان ۱ میلی‌لیتر به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدن توسط گاواژ به مدت ۶ هفته دریافت کردند، (۲) N+G (گروه طبیعی + سیر): که آب سیر به میزان ۱ میلی‌لیتر به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدن (۰/۴ گرم سیر به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدن)<sup>۱۳</sup> توسط گاواژ به مدت ۶ هفته، (۳) D (گروه دیابتی)، (۴) D+Gb (گروه دیابتی + دریافت سیر قبل): که آب سیر را به مدت ۳ هفته قبل از شروع دوره دریافت کردند. در پایان هفته‌ی سوم STZ به صورت داخل صفاقی به موش‌ها تزریق شد و دریافت سیر در آنها به مدت سه هفته‌ی دیگر ادامه یافت. (۵) D+Ga (گروه دیابتی + دریافت سیر بعد): این گروه به مدت سه هفته از شروع دوره فقط آب و غذای معمولی جوندگان استفاده کردند و در پایان هفته‌ی سوم با تزریق STZ دیابتی شدند. این گروه سه روز پس از تزریق به مدت سه هفته آب سیر دریافت کردند. مدت آزمایش برای هر گروه ۶ هفته بود. در پایان، پس از کشتن موش‌ها، شکم آنها باز و بیضه‌ی راست خارج و توزین شد. سپس بیضه از قسمت وسط با یک ضربه‌ی اسکالپل به صورت عرضی به دو نیم شد و تا زمان انجام بررسی‌های بافتی در فرمالین ۱۰٪ نگهداری شد. بیضه‌ی چپ نیز خارج و طول و قطر آن با استفاده از کولیس با دقت ۰/۱ میلی‌متر اندازه‌گیری شد. حجم بیضه با قراردادن آن داخل استوانه‌ی مدرجی حاوی مقدار مشخصی آب اندازه‌گیری شد. به این ترتیب که بیضه در آب فرو رفته و به میزان حجم آن مقدار آب داخل استوانه بالا آمده و سپس توسط پیپتی با دقت ۰/۱ میلی‌لیتر، افزایش حجم اندازه‌گیری شد.

**بررسی بافتی:** بافت بیضه به وسیله‌ی روش‌های بافت‌شناسی معمول آماده شد و در بلوک‌های پارافین محصور شد. از بلوک‌ها برش‌های عرضی با ضخامت ۳-۵ میکرومتر به دست آمد. برش‌ها روی اسلایدهای شیشه‌ای مستقر، پارافین‌زدایی و آب‌دهی مجدد شدند. سپس اسلایدها توسط روش هماتوکسیلین و ائوزین (H&E) به منظور بررسی میکروسکوپی رنگ‌آمیزی شدند.

## یافته‌ها

دیواره نسبت به گروه D کاهش یافته بود اما در گروه D+Gb این کاهش ضخامت بیشتر بود. دستجات اسپرمی در بخش لومینال توبول سمینیفروس در گروه دیابتی نسبت به گروه N و N+G کاهش چشمگیری یافته بود. در گروه D+Gb این تعداد نسبت به گروه D افزایش یافته بود. همچنین تعداد دستجات اسپرمی در گروه D+Gb نسبت به گروه D+Ga بیشتر بود. با توجه به بررسی‌های انجام شده مشخص شد که میزان آتروفی توبول‌های سمینیفروس در موش‌های صحرایی دیابتی افزایش شدیدی می‌یابد اما با مصرف سیر از میزان این آسیب‌ها کاسته می‌شود و علاوه بر آن، مصرف سیر قبل از تزریق STZ موجب کاهش بیشتر شدت آسیب‌ها می‌شود و همانگونه که در تصویر ۱ مشخص است از میزان فضای بینابینی در توبول‌ها کاسته می‌شود. اجسام ائوزینوفیل در هر سه گروه D، D+Gb و D+Ga مشاهده شد. وجود لوکوسیت‌ها در گروه‌های D و D+Ga در فضای بینابینی توبول‌های سمینیفروس مشاهده شد اما در گروه D+Gb این پدیده یافت نشد (جدول ۱).

جدول ۱ تغییرات بافت بیضه را در گروه‌های مورد بررسی نشان می‌دهد. بافت بیضه در گروه N با لایه‌ی آلژوژینه پوشیده شده بود و مجموعه‌های سلولی توبول سمینیفروس مشاهده شدند. ساختار بافت‌شناسی در گروه غیر دیابتی تیمار شده با آب سیر (N+G) مشابه گروه N بود. این ساختار در موش‌های صحرایی دیابتی تخریب شده بود و کاهش قابل توجهی در مجموعه‌های سلولی وجود داشت. تعداد سلول‌های اسپرماتوژنیک در گروه D+Gb در مقایسه با گروه D افزایش چشمگیری یافته و در ساختار توبول سمینیفروس بهبود حاصل شده بود (تصویر ۱). در گروه D+Ga تعداد سلول‌های اسپرماتوژنیک نسبت به گروه دیابتی افزایش یافته اما از گروه D+Gb کمتر بود. همچنین، ساختار توبول سمینیفروس در گروه D+Ga بهبودی کمتری نسبت به گروه D+Gb داشت (تصویر ۲). افزایشی در ضخامت دیواره‌ی توبول سمینیفروس در گروه دیابتی نسبت به گروه N و N+G دیده شد. در گروه D+Ga ضخامت

جدول ۱- مقایسه‌ی تغییرات بافتی بیضه در گروه‌های مختلف

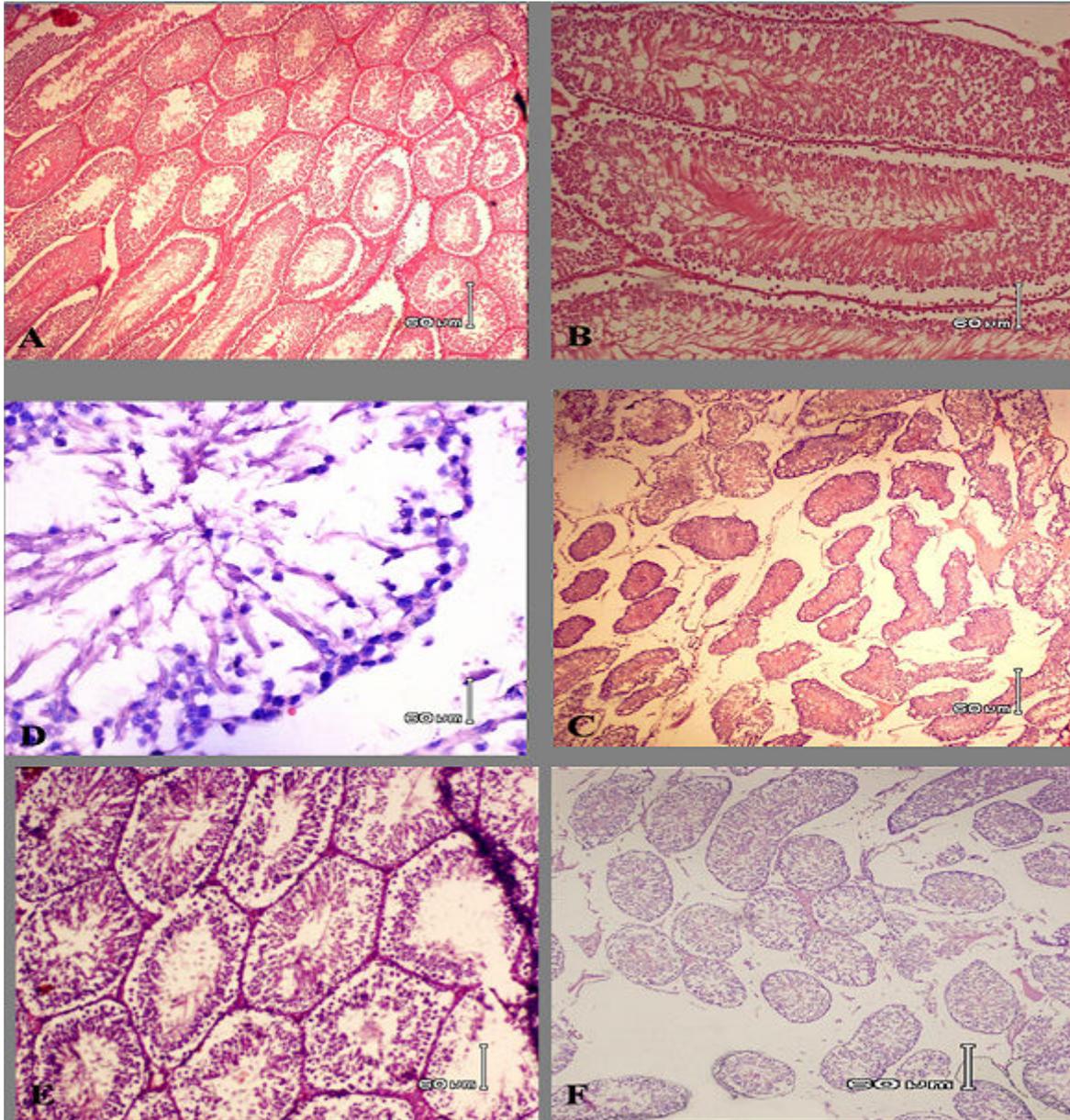
پارامترها	گروه‌های مورد بررسی	N	N+G	D	D+Gb	D+Ga
کاهش تعداد اسپرماتوسیت‌های I و II	-	-	+	++++	+	+++
کاهش تعداد اسپرماتیدها	-	-	-	++++	+	+++
کاهش تعداد دستجات اسپرمی لومینال	-	-	-	++++	+	+++
افزایش ضخامت غشای پایه	-	-	-	++	+	+
آتروفی توبول‌ها	-	-	-	++++	+	++
وجود اجسام ائوزینوفیل	-	-	-	+	+	+
وجود لوکوسیت	-	-	-	-	+	+

N=طبیعی، N+G=طبیعی + سیر، D=دیابتی، D+Gb=دیابتی+سیر قبل، D+Ga=دیابتی+سیر بعد، -:طبیعی، +:خفیف، ++:متوسط، +++:شدید، ++++:بسیار شدید

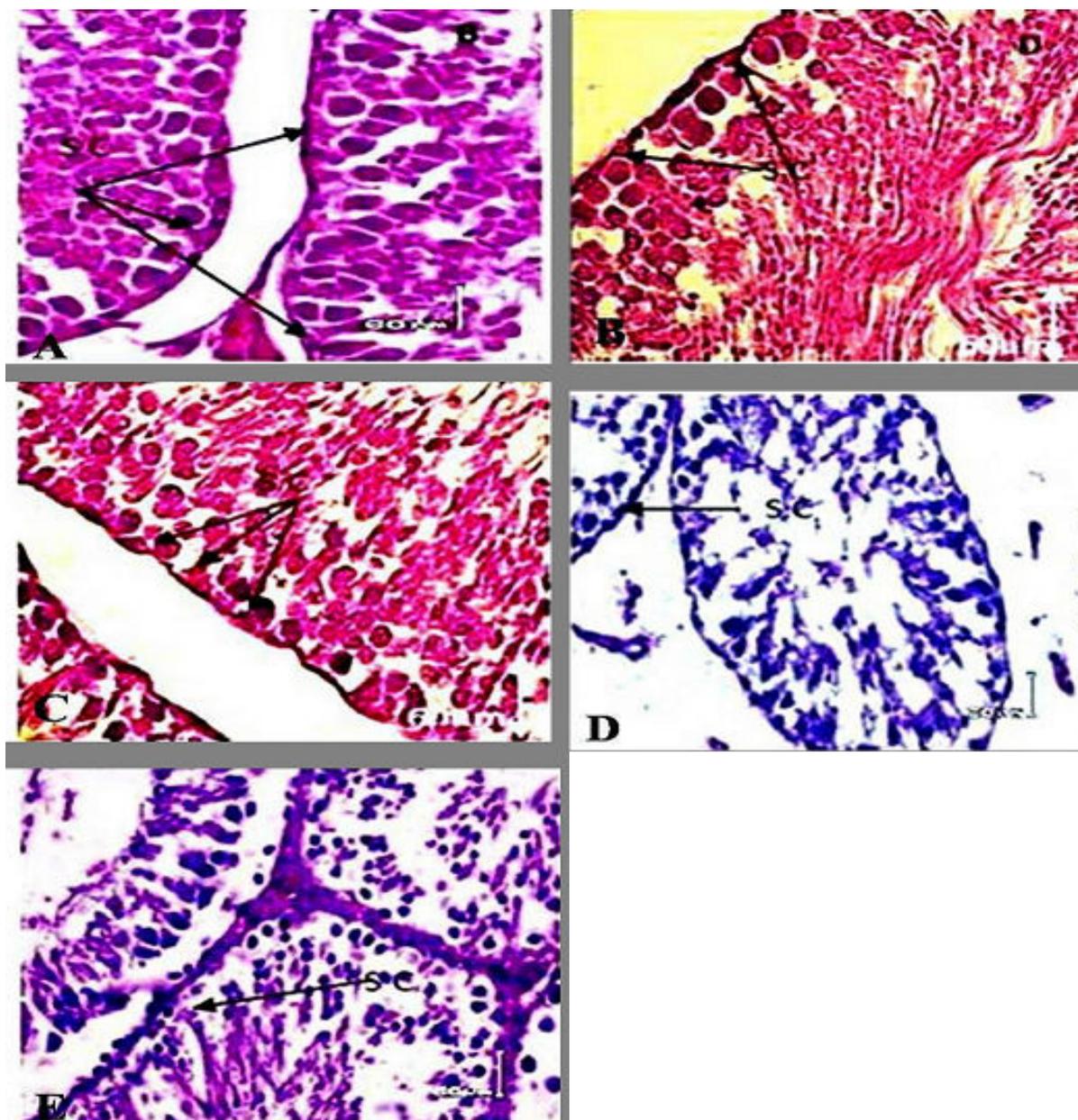
کاهش معنی‌داری در گروه D+Ga نسبت به گروه‌های N و N+G مشاهده شد ( $p < 0.0001$ ). میانگین وزن بیضه افزایش معنی‌داری را در گروه N+G نسبت به گروه N نشان داد ( $p < 0.0001$ ).

کاهش معنی‌داری در قطر بیضه در گروه D نسبت به گروه‌های N، N+G، D+Gb و D+Ga مشاهده شد

جدول ۲، تغییرات مورفولوژیک بافت بیضه در گروه‌های مختلف نشان داده شده است. کاهش معنی‌داری در وزن بیضه در گروه D نسبت به گروه‌های N، N+G، D+Gb و D+Ga مشاهده شد ( $p < 0.0001$ ). کاهش معنی‌داری در گروه D+Gb نسبت به گروه‌های N ( $p < 0.05$ ) و N+G و افزایش معنی‌داری نسبت به گروه D+Ga مشاهده شد ( $p < 0.0001$ ).



تصویر ۱- فتومیکروگراف از برش عرضی بیضه. تصاویر A, B, C, D, E و F نشان‌دهنده‌ی توبول‌های سمینیفروس هستند. A: طبیعی، B: طبیعی + سیر، افزایش قابل توجه دسته‌های اسپرمی در لومن C و D: دیابتی، چروکیده شدن توبول‌ها، افزایش فضای بینابینی، کاهش شدید تعداد سلول‌های زاینده و وجود نقاط خالی داخل توبول E: دیابت + سیر قبل، افزایش قطر توبولی و کاهش چشمگیر فضای بینابینی نسبت به گروه دیابتی، افزایش قابل توجه رده‌های سلول‌های زاینده نسبت به گروه دیابتی F: دیابت + سیر بعد، افزایش قطر توبولی نسبت به گروه دیابتی و کاهش فضای بینابینی، افزایش رده‌های سلول‌های زاینده که نسبت به گروه قبل این افزایش کمتر است، Scale Bar 60µm.



تصویر ۲- فتومیکروگراف از برش عرضی توبول سمینیفروس. تصاویر A, B, C, D و E نشان دهنده‌ی سلول‌های سرتولی هستند. A: طبیعی، B: طبیعی + سیر، تعداد سلول سرتولی افزایش کمی نسبت به طبیعی داشت، C: دیابتی، کاهش شدید تعداد سلول‌های سرتولی، D: دیابت + سیر قبل، افزایش تعداد سرتولی نسبت به گروه دیابتی، E: دیابت + سیر بعد، افزایش تعداد سرتولی نسبت به گروه دیابتی که نسبت به گروه قبل این افزایش کمتر است، Se: سلول سرتولی، Scale Bar 60.

گروه  $D+Ga$  و  $(p<0/0001)$  و  $(p<0/0001)$  کاهش معنی‌داری در گروه  $D+Gb$  نسبت به گروه  $N$  و افزایش معنی‌داری نسبت به گروه  $D+Ga$  مشاهده شد. به علاوه، کاهش معنی‌داری در طول بیضه در گروه  $D+Ga$  نسبت به گروه‌های  $N$  و  $N+G$  ( $p<0/0001$ ) مشاهده شد.

گروه  $D+Gb$  در گروه  $N+G$  ( $p<0/0001$ ) کاهش معنی‌داری در قطر بیضه در گروه  $D+Ga$  نسبت به گروه‌های  $N$  و  $N+G$  مشاهده شد. همچنین کاهش معنی‌داری در طول بیضه در گروه  $D$  نسبت به گروه‌های  $N$ ،  $N+G$ ،  $D+Gb$

D+Ga نسبت به گروه N ( $p < 0.01$ ) و N+G ( $p < 0.05$ ) مشاهده شد.

کاهش معنی‌داری در حجم بیضه در گروه D نسبت به گروه‌های N، N+G، D+Gb ( $p < 0.0001$ ) و D+Ga ( $p < 0.01$ ) مشاهده شد. کاهش معنی‌داری نیز در گروه

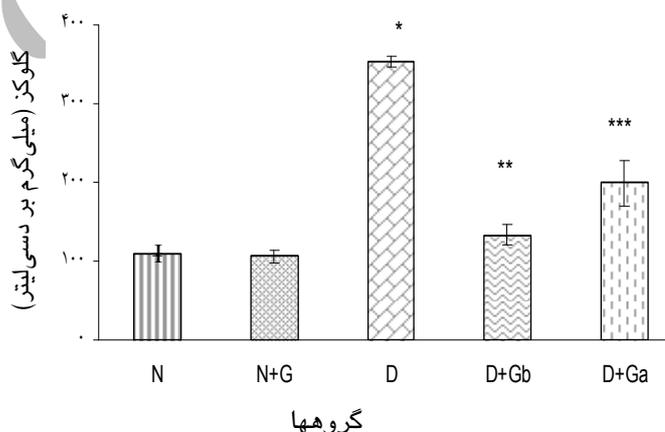
جدول ۲- مقایسه‌ی وزن، قطر، طول و حجم بیضه در گروه‌های مختلف

متغیرها	*N	N+G	D	D+Gb	D+Ga
وزن بیضه (گرم)	۱/۲۳±۰/۰۷۳	۱/۵۰±۰/۰۸۳	۰/۶۷±۰/۰۵۵	۱/۱۱±۰/۰۱۱	۱/۰۹±۰/۰۵۷
قطر بیضه (میلی‌متر)	۱۲/۵۶±۰/۰۴۹	۱۲/۶۸±۰/۰۳۷	۸/۶۲±۰/۰۶۹	۱۱/۶۸±۰/۰۶۵	۱۱/۵۰±۰/۰۱۰۳
طول بیضه (میلی‌متر)	۲۳/۹۳±۱/۰۰۵	۲۳/۷۵±۰/۰۷۰	۱۸/۸۱±۰/۰۶۵	۲۲/۳۷±۱/۰۱۸	۲۰/۳±۱/۰۰۹
حجم بیضه (سانتی‌متر مکعب)	۱/۷۲±۰/۰۲۲	۱/۶۴±۰/۰۳۲	۰/۷۱±۰/۰۱۵	۱/۴۳±۰/۰۲۸	۱/۲۴±۰/۰۰۹

\*N=نرمال، N+G=نرمال+سیر، D=دیابتی، D+Gb=دیابتی+سیر قبل، D+Ga=دیابتی+سیر بعد. † اختلاف معنی‌دار ( $p < 0.05$ ) در مقایسه با گروه N، ‡ اختلاف معنی‌دار ( $p < 0.05$ ) در مقایسه با همه‌ی گروه‌ها، § اختلاف معنی‌دار ( $p < 0.05$ ) در مقایسه با گروه‌های N، N+G و D+Ga، ¶ اختلاف معنی‌دار ( $p < 0.05$ ) در مقایسه با گروه‌های N و N+G، || اختلاف معنی‌دار ( $p < 0.05$ ) در مقایسه با گروه‌های N+G و D+Ga، \*\* اختلاف معنی‌دار ( $p < 0.05$ ) در مقایسه با گروه‌های N و D+Ga.

گروه D+Gb نسبت به گروه‌های N و N+G مشاهده نشد. گروه D+Ga افزایش معنی‌داری را در مقایسه با گروه‌های N و N+G نشان داد ( $p < 0.01$ ).

نمودار ۲ میانگین قطر توپول سمینیفروس را در گروه‌های مختلف مورد مطالعه نشان می‌دهد. کاهش معنی‌داری در گروه D در مقایسه با گروه‌های N، N+G و D+Gb ( $p < 0.0001$ ) و D+Ga ( $p < 0.05$ ) مشاهده شد. همچنین گروه D+Gb افزایش معنی‌داری را در مقایسه با گروه D+Ga ( $p < 0.01$ ) از خود نشان داد. کاهش معنی‌داری نیز در گروه D+Ga در مقایسه با گروه‌های N و N+G دیده شد ( $p < 0.0001$ ). نمودار ۳ میانگین تعداد سلول‌های سرتولی را در گروه‌های مورد بررسی نشان می‌دهد. کاهش معنی‌داری در گروه D در مقایسه با گروه‌های N، N+G و D+Gb و D+Ga مشاهده شد ( $p < 0.0001$ ). علاوه بر آن، گروه D+Gb از یک سو کاهش معنی‌داری در مقایسه با گروه‌های N و N+G ( $p < 0.0001$ ) و از سوی دیگر افزایش معنی‌داری در مقایسه با گروه D+Ga در مقایسه با گروه‌های N و N+G ( $p < 0.0001$ ) مشاهده شد ( $p < 0.0001$ ).



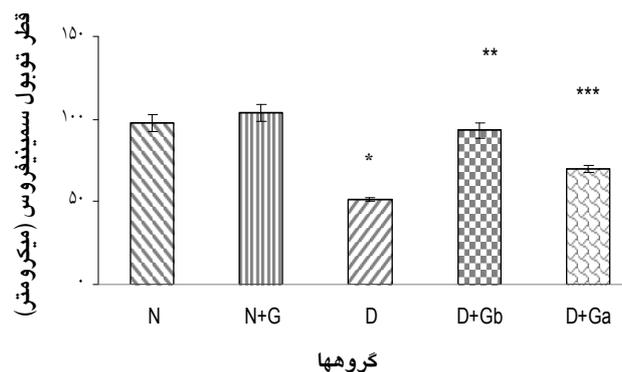
نمودار ۱- مقایسه‌ی میانگین  $\pm$  خطای معیار سطح سرمی گلوکز در گروه‌های مختلف. \* افزایش معنی‌دار ( $p < 0.0001$ ) در مقایسه با تمامی گروه‌ها. \*\* کاهش معنی‌دار در مقایسه با گروه D+Ga ( $p < 0.05$ ). \*\*\* افزایش معنی‌دار در مقایسه با گروه‌های N و N+G ( $p < 0.01$ ). N=طبیعی، N+G=طبیعی+سیر، D=دیابتی، D+Gb=دیابتی+سیر قبل، D+Ga=دیابتی+سیر بعد.

نمودار ۱ میانگین میزان گلوکز را در گروه‌های مختلف مورد بررسی نشان می‌دهد. افزایش معنی‌داری در گروه D نسبت به گروه‌های N، N+G، D+Gb و D+Ga مشاهده شد ( $p < 0.0001$ ). گروه D+Gb کاهش معنی‌داری را نسبت به گروه D+Ga ( $p < 0.05$ ) نشان داد. اختلاف معنی‌داری در

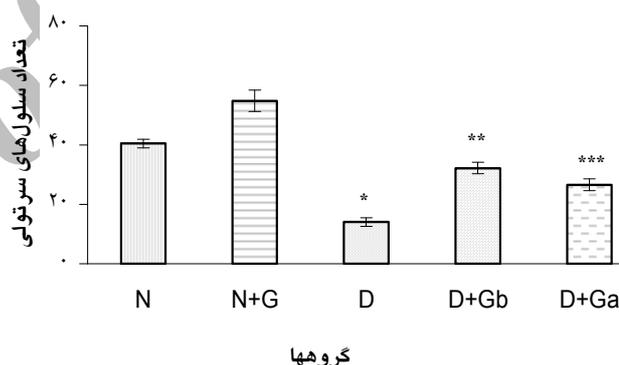
اسپرمتوژنیک و سلول‌های سرتولی بهبود می‌بخشد. جالب توجه است که این بهبودی در گروهی که قبل از تزریق STZ سیر دریافت کرده بودند چشمگیرتر از گروهی بود که بعد از تزریق STZ سیر دریافت کردند.

دیابت شیرین تغییرات بافتی بیضه‌ای را از طریق ایجاد مرگ سلولی آپوپتوزی، آتروفی توپول‌های سمینیفروس، کاهش قطر توپول و کاهش مجموعه‌های سلولی اسپرمتوژنیک ایجاد می‌کند.<sup>۱۹،۲۰</sup> آتروفی توپول‌های سمینیفروس و کاهش سلول‌های اسپرمتوژنیک نشانه‌های مورفولوژیک اختلال در اسپرمتوژنز هستند.<sup>۲۱،۲۰</sup> گونه‌های اکسیژن واکنشی با ایجاد استرس اکسیداتیو، آسیب‌های سلولی را از طریق چند سازوکار شامل پراکسیداسیون لیپید و آسیب اکسیداتیو پروتئین‌ها و DNA پیش می‌برند.<sup>۲۲</sup> سلول‌های اسپرم پستانداران دارای مقادیر بالایی اسیدهای چرب غیراشباع، پلاسمالوژن و اسفنگومیلین است. که سوبستراهای مهم در عمل اکسیداسیون به شمار می‌روند.<sup>۲۳</sup>

در حالت طبیعی، سازوکارهای آنتی‌اکسیدانی در بافت‌های تولیدمثلی حضور دارند و از بروز آسیب اکسیداتیو در سلول‌های گنادی و اسپرمتوزای بالغ جلوگیری می‌کنند.<sup>۲۴،۲۵</sup> از طرف دیگر، فعالیت آنتی‌اکسیدانی ذاتی سیر، عصاره‌ها و برخی ترکیبات آن به طور گسترده در محیط‌های آزمایشگاهی و موجودات زنده به اثبات رسیده است.<sup>۲۶</sup> مشخص شده که مصرف سیر سطح سرمی پتانسیل آنتی‌اکسیدانی کل را افزایش می‌دهد. توانایی عصاره‌ی سیر کهنه در کاهش سطح  $H_2O_2$  به صورت آزمایشگاهی نیز اثبات شده است.<sup>۲۶</sup> به تازگی گزارش شده است که مصرف سیر به میزان ۳٪ وعده غذایی به مدت ۲ هفته تولید  $H_2O_2$  را در کلیه کاهش می‌دهد.<sup>۲۶</sup> عصاره‌ی سیر فعالیت سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، گلوکاتایون پراکسیداز و کاتالاز (CAT) را در سلول‌های اندوتلیال عروق در محیط کشت افزایش می‌دهد.<sup>۲۶</sup> همچنین، آب سیر عملکرد کلیوی و کبدی را که در دیابت به واسطه‌ی افزایش رادیکال‌های آزاد مختل می‌شود، بهبود می‌بخشد.<sup>۱۳</sup> در مطالعه‌ی حاضر آب سیر سبب محافظت سلول‌های زاینده در موش‌های صحرایی نر شد که می‌تواند بازتاب نقش آنتی‌اکسیدانی آن باشد.<sup>۲۶</sup>



نمودار ۲- مقایسه‌ی میانگین  $\pm$  خطای معیار میانگین قطر توپول سمینیفروس (در ۲۰ توپول مختلف) در گروه‌های مختلف. \* اختلاف معنی‌دار با گروه‌های N، N+G، D+Gb و (p<۰/۰۰۱) D+Ga، \*\* اختلاف معنی‌دار با گروه D+Ga (p<۰/۰۰۱)، \*\*\* اختلاف معنی‌دار با گروه‌های N و N+G (p<۰/۰۰۱)، N=طبیعی، N+G=طبیعی+سیر، D=دیابتی، D+Gb=دیابتی+سیر قبل، D+Ga=دیابتی+سیر بعد.



نمودار ۳- مقایسه‌ی میانگین  $\pm$  خطای معیار میانگین تعداد سلول‌های سرتولی (در ۲۰ توپول سمینیفروس) در گروه‌های مختلف مورد بررسی. \* اختلاف معنی‌دار با گروه‌های N، N+G، D+Gb و (p<۰/۰۰۱) D+Ga، \*\* اختلاف معنی‌دار با گروه N و N+G (p<۰/۰۰۱)، D+Ga، \*\*\* اختلاف معنی‌دار با گروه‌های N و N+G (p<۰/۰۰۱)، N=طبیعی، N+G=طبیعی+سیر، D=دیابتی، D+Gb=دیابتی+سیر قبل، D+Ga=دیابتی+سیر بعد.

## بحث

مطالعه‌ی حاضر نشان داد که دیابت شیرین در موش‌های صحرایی نر باعث تغییر در بافت بیضه می‌شود و درمان با سیر، این تغییرات را از طریق حفاظت توپول‌های سمینیفروس، جلوگیری از کاهش مجموعه‌های سلولی



تیمار موش‌های دیابتی با آب انار، حرکت اسپرم، تراکم سلولی اسپرماتوژنیک، قطر توبول سمینیفروس و ضخامت لایه‌ی سلول‌های زاینده را افزایش داد و اسپرم‌های ناهنجار در مقایسه با گروه شاهد کاهش یافت. این عمل با کاهش چشمگیر در سطح مالون‌دی‌آلدهید و افزایش گلوکوتایون، فعالیت گلوکوتایون پراکسیداز، کاتالاز و سطح ویتامین C انجام شد.<sup>۲۵</sup> از آنجا که سیر نیز باعث کاهش سطح مالون‌دی‌آلدهید و افزایش فعالیت آنزیم‌های ذکر شده می‌شود<sup>۲۶</sup> و نیز دارای مقادیری ویتامین C است،<sup>۲۷</sup> ممکن است مشابه آب انار، اثر حفاظتی خود را از این طریق انجام داده باشد. یافته‌های ما همچنین با گزارش‌های قبلی در مورد تأثیر پیشگیری‌کننده‌ی ملاتونین به عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی در جلوگیری از آتروفی توبول سمینیفروس، دژنره شدن سلول‌های زاینده و افزایش ضخامت دیواره‌ی توبول سمینیفروس مطابقت دارد.<sup>۱۹</sup> ملاتونین سیستم آنتی‌اکسیدانی داخلی را تحریک می‌کند و فعالیت گلوکوتایون پراکسیداز، گلوکوتایون S-ترانسفراز، سوپراکسید دیسموتاز و دیگر تیول‌ها را در خون، کبد و کلیه افزایش می‌دهد.<sup>۲۸</sup> همچنین، فعالیت گلوکوتایون پراکسیداز و کاتالاز را در بیضه افزایش می‌دهد.<sup>۲۹</sup>

در سال ۲۰۰۸ گزارش شد که عصاره‌ی اتانولی ریزوم با نام علمی *Curculigo orehioides* باعث افزایش اسپرماتوژنز در بیضه‌ی موش‌های صحرایی آلبینو می‌گردد.<sup>۴۰</sup> این گیاه دارای گلیکوزیدهای فنول و فنولیک است که دارای خواص آنتی‌اکسیدانی هستند.<sup>۴۱</sup> با توجه به اثر گفته شده در مورد گلیکوزیدهای فنولیک موجود در ریزوم و با توجه به این‌که این ترکیب در سیر نیز وجود دارد، می‌توان گفت این ترکیب یکی از اجزای فعال و مؤثر سیر در افزایش اسپرماتوژنز است.<sup>۲۷</sup>

به طور کلی، بر اساس یافته‌های این مطالعه که اولین گزارشی است که نشان‌دهنده‌ی بهبود آسیب‌های بافتی ناشی از دیابت توسط سیر در بیضه است، عوارض ناشی از دیابت در بیضه در گروه تیمار شده با سیر قبل از تزریق STZ به مراتب کمتر از گروهی بود که آن را بعد از تزریق STZ دریافت کردند.

دیگر سازوکار محافظتی سیر می‌تواند مشابه گیاه *Coeculus hirsutus* در خاصیت کاهندگی گلوکز خون و تحریک ترشح انسولین توسط آن باشد.<sup>۱۵،۲۷</sup> ضخیم شدن غشای پایه توبول‌های سمینیفروس (STBM)<sup>i</sup> نقش مهمی در اسپرماتوژنز دارد. دیابت، ضخامت STBM را افزایش می‌دهد<sup>۲۸،۷</sup> که با کاهش میزان تولید اسپرم و کاهش کلی اندازه‌ی توبول‌های سمینیفروس همراه است. از طرف دیگر، ارتباط مثبتی بین قطر توبولی و فعالیت اسپرماتوژنی وجود دارد.<sup>۲۹</sup> همچنین کاهش در تعداد سلول‌های سرتولی منجر به کاهش در تعداد اسپرماتوگونی می‌شود. سلول‌های سرتولی از طریق تأمین حمایت فیزیکی، تغذیه‌ای و سیگنال‌های هورمونی لازم برای اسپرماتوژنز موفق نقش حیاتی در اسپرماتوژنز بازی می‌کنند.<sup>۳۰</sup> بنابراین هنگام کاهش تعداد سلول‌های سرتولی به شدت از تعداد سلول‌های زاینده کاسته می‌شود.<sup>۳۱</sup> در مطالعه‌ی حاضر، دیابت باعث کاهش تعداد سلول‌های سرتولی و به دنبال آن کاهش تعداد سلول‌های زاینده شد.

گزارش شده است که اندازه‌ی بیضه به شدت با تعداد سلول‌های سرتولی و تولید اسپرم مرتبط است<sup>۳۲-۳۴</sup> به طوری که اندازه‌ی بیضه منعکس‌کننده‌ی تعداد سلول‌های زاینده‌ی موجود در آن است.<sup>۳۲</sup> مهار اسپرماتوژنز از طریق برداشتن هیپوفیز باعث کاهش محسوس در وزن بیضه می‌شود. از آنجا که تعداد سلول‌های زاینده‌ی محدودی می‌توانند به وسیله یک سلول سرتولی محافظت شوند، تکثیر تعداد سلول زاینده در هر بیضه به تعداد سلول سرتولی در آن بستگی دارد.<sup>۳۲</sup> همچنین، قطر توبول‌های سمینیفروس یکی دیگر از شاخص‌های تعیین‌کننده‌ی اندازه‌ی بیضه است. با توجه به کاهش عوامل ذکر شده، دلایل کاهش قطر، طول و حجم بیضه واضح است. آب سیر با جلوگیری از کاهش شدید در اندازه‌ی قطر توبول سمینیفروس، تعداد سلول سرتولی و میزان اسپرماتوژنز سبب جلوگیری از کاهش قطر، طول و حجم بیضه می‌شود.

در مطالعه‌ی حاضر، بررسی با میکروسکوپ نوری نشان داد که ضخامت غشای پایه‌ی توبول سمینیفروس در بیضه موش‌های صحرایی دیابتی افزایش می‌یابد اما مصرف سیر از این مسأله جلوگیری به عمل آورد. به طور کلی، یافته‌های ما با مطالعه‌ی تورک و همکاران سازگار است. در آن مطالعه

i- Seminiferous Tubule Basement Membrane

## References

1. Amaral S, Oliveira PJ, Ramalho-Santos J. Diabetes and the impairment of reproductive function: possible role of mitochondria and reactive oxygen species. *Curr Diabetes Rev* 2008; 4: 46-54.
2. Soudamani S, Yuvaraj S, Rengarajan S, Sivakumar R, Malini T, Balasubramanian K. Effects of streptozotocin-diabetes and insulin replacement on androgen and estrogen receptor concentrations in the epididymis of Wistar rats. *JER* 2006; 10: 59–61.
3. Balasubramanian K, Sivashanmugam P, Thameemdeen S, Govindarajulu P. Effect of diabetes mellitus on epididymal enzymes of adult rats. *Indian J Exp Biol* 1991; 29: 907-9.
4. Ballester J, Munoz MC, Dominguez J, Rigau T, Guinovart JJ, Rodriguez-Gil JE. Insulin-dependent diabetes affects testicular function by FSH- and LH-linked mechanisms. *J Androl* 2004; 25: 706-19.
5. Baccetti B, La Marca A, Piomboni P, Capitani S, Bruni E, Petraglia F et al. Insulin-dependent diabetes in men is associated with hypothalamo-pituitary derangement and with impairment in semen quality. *Hum Reprod* 2002; 17: 2673-7.
6. Murray FT, Cameron DF, Orth JM, Katovich MJ. Gonadal dysfunction in the spontaneously diabetic BB rats: alteration of the testes morphology, serum testosterone and LH. *Horm Metab Res* 1985; 17: 495-501.
7. Vignon F, Le Faou A, Montagnon D, Pradignac A, Cranz C, Winiszewsky P, et al. Comparative study of semen in diabetic and healthy men. *Diabete Metab* 1991; 17: 350-4.
8. Padron RS, Dambay A, Suarez R, Mas J. Semen analyses in adolescent diabetic patients. *Acta Diabetol Lat* 1984; 21: 115-21.
9. Ali ST, Shaikh RN, Siddiqi NA, Siddiqi PQ. Semen analysis in insulin-dependent/non-insulin-dependent diabetic men with/without neuropathy. *Arch Androl* 1993; 30: 47-54.
10. Prevention and treatment of alzheimer's disease with natural therapeutics. Published as a public service by National Diabetes Fund (a Program of Project Cure). P.O. Box 96673. Washington D.C. 20090-6673.
11. Reaven E, Wright D, Mondon CE, Solomon R, Ho H, Reaven GM. Effect of age and diet on insulin secretion and insulin action in the rat. *Diabetes* 1983; 32: 175-80.
12. Sanchez de Medina F, Game MJ, Jimenez I, Jimenez J, Osuna JI, Zarzuelo A. Hypoglycemic activity of juniper "Berries". *Planta Med* 1994; 60: 197-200.
13. El-Demerdash FM, Yousef MI, Abou El-Naga NI. Biochemical study on the hypoglycemic effects of onion and garlic in alloxan-induced diabetic rats. *Food Chem Toxicol* 2005; 43: 57-63.
14. Banerjee SK, Maulik SK. Effect of garlic on cardiovascular disorders: a review. *Nutr J* 2002; 1: 4.
15. Sangameswaran B, Jayakar B. Anti-diabetic and spermatogenic activity of *Cocculus hirsutus* (L) Diels. *Afr J Biotechnol* 2007; 6: 1212-6.
16. Al-Bekairi AM, Shah AH, Qureshi S. Effect of *Allium sativum* on epididymal spermatozoa, estradiol-treated mice and general toxicity. *J Ethnopharmacol* 1990; 29: 117-25.
17. Sharaf A. Some hormone-like properties of *Allium Cepa* L. (onion). *Qualital Plant Mat Veg* 1967; 14: 267-75.
18. Soudamani S, Yuvaraj S, Malini T, Balasubramanian K. Experimental diabetes has adverse effects on the differentiation of ventral prostate during sexual maturation of rats. *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol* 2005; 287: 1281-9.
19. Guneli E, Tugyan K, Ozturk H, Gumustekin M, Cilaker S, Uysal N. Effect of melatonin on testicular damage in streptozotocin-induced diabetes rats. *Eur Surg Res* 2008; 40: 354-60.
20. Cai L, Hales BF, Robaire B. Induction of apoptosis in the germ cells of adult male rats after exposure to cyclophosphamide. *Biol Reprod* 1997; 56(6): 1490-7.
21. Cameron DF, Murray FT, Drylie DD. Interstitial compartment pathology and spermatogenic disruption in testes from impotent diabetic men. *Anat Rec* 1985; 213: 53-62.
22. Giugliano D, Ceriello A, Paolisso G. Oxidative stress and diabetic vascular complications. *Diabetes Care* 1996; 19: 257-67.
23. Aitken RJ, Clarkson JS, Fishel S. Generation of reactive oxygen species, lipid peroxidation, and human sperm function. *Biol Reprod* 1989; 41: 183-97.
24. Chen CS, Chao HT, Pan RL, Wei YH. Hydroxyl radical-induced decline in motility and increase in lipid peroxidation and DNA modification in human sperm. *Biochem Mol Biol Int* 1997; 43: 291-303.
25. Kaemmerer H, Mitzkat HJ. Ion-exchange chromatography of amino acids in ejaculates of diabetics. *Andrologia* 1985; 17: 485-7.
26. Pedraza-Chaverri J, Maldonado PD, Medina-Campos ON, Olivares-Corichi IM, Granados-Silvestre MA, Hernandez-Pando R, et al. Garlic ameliorates gentamicin nephrotoxicity: relation to antioxidant enzymes. *Free Radic Biol Med* 2000; 29: 602-11.
27. Jain RC, Vyas CR. Letter: Hypoglycaemia action of onion on rabbits. *Br Med J* 1974; 2: 730.
28. Rohrbach DH, Martin GR. Structure of basement membrane in normal and diabetic tissue. *Ann NY Acad Sci* 1982; 401: 2203-11.
29. Predes FS, Monteiro JC, Paula TAR, da Matta SLP. Evaluation of rat testes treated with arctium lappa I: Morphometric study. *Braz J Morphol Sci* 2007; 24: 112-117.
30. Okamura M, Watanabe T, Kashida Y, Machida N, Mitsumori K. Possible mechanisms underlying the testicular toxicity of oxfendazole in rats. *Toxicol Pathol* 2004; 32: 1-8.
31. Richburg JH. The relevance of spontaneous- and chemically-induced alternation in testicular germ cell apoptosis to toxicology. *ToxicolLett* 2000; 112-113: 79-86.
32. Berndtson WE, Igboeli G, Parker WG. The numbers of Sertoli cells in mature Holstein bulls and their relationship to quantitative aspects of spermatogenesis. *Biol Reprod* 1987; 37: 60-7.
33. Griswold MD. The central role of Sertoli cells in spermatogenesis. *Semin Cell Dev Biol* 1998; 9: 411-6.
34. Slegtenhorst-Eegdeman KE, de Rooij DG, Verhoef-Post M, van de Kant HJ, Bakker CE, Oostra BA, et al. Macroorchidism in FMR1 knockout mice is caused by increased Sertoli cell proliferation during testicular development. *Endocrinology* 1998; 139: 156-62.
35. Türk G, Sönmez M, Aydın M, Yüce A, Gür S, Yüksel M, et al. Effects of pomegranate juice consumption on sperm quality, spermatogenic cell density, antioxidant activity and testosterone level in male rats. *Clin Nutr* 2008; 27: 289-96.
36. Duda G, Suliburska J, Pupek-Musialik D. Effects of short-term garlic supplementation on lipid metabolism and antioxidant status in hypertensive adults. *Pharmacol Rep* 2008; 60:163-70.

37. Lanzotti V. The analysis of onion and garlic. *J Chromatogr A* 2006; 1112: 3-22.
38. Martinez-Cruz F, Guerrero JM, Osuna C. Melatonin prevents the formation of pyrrolized proteins in human plasma induced by hydrogen peroxide. *Neurosci Lett* 2002; 326: 147-50.
39. Armagan A, Uz E, Yilmaz HR, Soyupek S, Oksay T, Ozcelik N. Effects of melatonin on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in streptozotocin-induced diabetic rat testis. *Asian J Androl* 2006; 8: 595-600.
40. Chauhan NS, Rao ChV, Dixit VK. Effect of *Curculigo orchioides* rhizomes on sexual behaviour of male rats. *Fitoterapia*, 2007; 78: 530-4.
41. Hawland BE, Zebrowski EJ. Some effects of experimentally-induced diabetes on pituitary-testicular relationships in rats. *Horm Metab Res* 1976; 8: 465-9.
42. Oksanen A. Testicular lesions of streptozotocin diabetes rats. *Horm Res* 1975; 6: 138-44.

Archive of SID