Arshive of SID

Medical Journal
of
Tabriz University of Medical Sciences and Health Services

Original Article

The study of the protective effect of Avicennia marina leaf hydro-alcoholic extract on spermatogenesis and the serum level of testosterone and LH&FSH in male rats induced with carbon tetra chloride

Zohreh Soleimani*, Naser Mirazi, Sayyedeh Nahid Movasagh, Maryam Gholami

Department of biology, School of Basic Sciences, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran
*Corresponding author; E-mail: zohre.solymani@gmail.com

Received: 21 October 2015 Accepted: 2 January 2016 First Published online: 5 February 2018
Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2018 April-May;40(1):29-37

Abstract

Background: Poisoning with tetra carbon chloride produces free radicals in the body tissues including testes. In this research the protective effect of Avicennia marina leaf extract on the rat's spermatogenesis and the serum level of testosterone and LH&FSH induced with carbon tetra chloride are studied.

Methods: In this experimental study, 42 rats were divided into six groups including control group(receiving saline normal), sham(receiving olive oil), group induced by CCl_4 (receiving 2ml/kg carbon tetra chloride with 1:1 percent and olive oil featured as single dose), and experiment groups 1, 2, and 3(receiving 2ml/kg carbon tetra chloride with 1:1 percent and olive oil featured as single dose and the extract with daily dosages of 200mg/kg, 400mg/kg, and 800mg/kg). Two hours after injecting carbon tetra chloride, the extract was injected into peritonea once every 24 hours for 96 hours.

Results: The normal and disable sperms in the group induced by CCl_4 shows a significant reduction ($P<0.001$). The level of testosterone hormone, FSH and LH in the experiment groups shows a significant increase in comparison to the group induced by CCl_4 group ($P<0.001$).

Conclusion: Avicennia marina leaf extract has protective effect against toxic effects of carbon tetra chloride because it contains anti-oxidants.

Keywords: Avicennia Marina, Spermatogenesis, Carbon Tetra Chloride, Rat

How to cite this article: Soleimani Z, Mirazi N, Movasagh S.N, Gholami M. [The study of the protective effect of Avicennia marina leaf hydro-alcoholic extract on spermatogenesis and the serum level of testosterone and LH&FSH in male rats induced with carbon tetra chloride]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2018 April-May;40(1):29-37. Persian.

© 2018 The Author(s). This is an Open Access article published by Tabriz University of Medical Sciences under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

www.SID.ir

Arshive of SID

مقاله پژوهشی

بررسی اثر حفاظتی عصاره هیدروالکلی برگ گیاه حرا (Avicennia marina. L) بر روند اسپرم سازی و سطح سرمی هورمون‌های تستوسترون، FSH و LH القاء شده با تتراکلریدکربن در موش‌های صحرایی نر

زهره سلیمانی*، ناصر میرازی، سیده ناهید موثق، مریم غلامی

گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران
*نویسنده مسؤول؛ ایمیل: zohre.solymani@gmail.com

دریافت: ۱۳۹۴/۷/۲۹ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۰/۱۲ انتشار برخط: ۱۳۹۶/۱۱/۱۶
مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی تبریز ۱۳۹۷ فروردین و اردیبهشت؛ ۴۰(۱):۲۹-۳۷

چکیده

زمینه: مسمومیت با تتراکلریدکربن سبب تولید رادیکال‌های آزاد در بافت‌های بدن از جمله بیضه می‌گردد. در این مطالعه اثر محافظتی عصاره برگ گیاه حرا بر روند اسپرم‌سازی و سطح سرمی هورمون‌های تستوسترون، FSH و LH موش‌های صحرایی القاء شده با تتراکلریدکربن بررسی می‌گردد.

روش‌کار: در این بررسی تجربی تعداد ۴۲ سر موش صحرایی به شش گروه کنترل (دریافت‌کننده سالین نرمال)، شم (دریافت‌کننده روغن زیتون)، شاهد (دریافت‌کننده مقدار ۲ml/kg ترا کلریدکربن با درصد ۱:۱ با روغن زیتون به صورت تک دوز) و تیمار ۱ ، ۲ و ۳ (دریافت‌کننده مقدار ۲ml/kg تتراکلریدکربن با درصد ۱:۱ با روغن زیتون به صورت تک دوز و عصاره با دوزهای ۲۰۰mg/kg، ۴۰۰mg/kg و ۸۰۰mg/kg روزانه) تقسیم شدند. دریافت عصاره به صورت تزریق داخل صفاقی و دو ساعت پس از تزریق تتراکلریدکربن به مدت ۴ روز و ۲۴ ساعت یک بار ساعت انجام شد. بعد از پایان آزمایشات داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه بین آزمودنی ANOVA مورد ارزیابی قرار گرفت و معیار اختلاف معنی‌دار بین آنها با $P<0/05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: نتایج به دست آمده از این مطالعه حاکی ازآن است که تعداد اسپرم‌ها و تحرک آنها در گروه دریافت‌کننده تتراکلرید کربن کاهش معناداری پیدا می‌کند ($P<0/001$). سطح هورمون های تستوسترون، FSH و LH در گروه‌های تیمار نسبت به گروه دریافت‌کننده تتراکلرید کربن افزایش معناداری داشتند ($P<0/001$).

نتیجه‌گیری: عصاره برگ گیاه حرا دارای اثر محافظتی در برابر اثرات توکسیک تتراکلریدکربن است زیرا حاوی ترکیبات آنتی اکسیدانی است.

کلید واژه‌ها: گیاه حرا، اسپرماتوژنز، تتراکلریدکربن، موش صحرایی

نحوه استناد به این مقاله: سلیمانی ز، میرازی ن، موثق س.ن، غلامی م. بررسی اثر حفاظتی عصاره هیدروالکلی برگ گیاه حرا (Avicennia marina. L) بر روند اسپرم‌سازی و سطح سرمی هورمون‌های تستوسترون، FSH و LH القاء شده با تتراکلریدکربن در موش‌های صحرایی نر. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی تبریز. ۱۳۹۷؛ ۴۰(۱):۲۹-۳۷

حق تألیف برای مؤلفان محفوظ است.
این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی تبریز تحت مجوز کریتیو کامنز (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0) منتشر شده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

www.SID.ir

Arshive of SID

مقدمه

اختلال در تولید و عملکرد اسپرم و آسیب در روند اسپرماتوژنز، از شایع ترین علل ناباروری مردان به شمار می‌رود. تروما یا نقص‌های آناتومیکی در سیستم تناسلی و یا استفاده از برخی از داروها برای درمان بیماری‌ها، باعث اختلال در تولید اسپرم و در نهایت منجر به عقیمی در مردان می‌شود (۲-۱). تتراکلرید کربن (CCl_4) که در صنایع بهداشتی بکار می‌رود موجب اختلال در عملکرد بافت بیضه و هورمون‌های آندروژنیک می‌شود. این ترکیب به صورت فرم اصلی (parent chemical) موجب تضعیف سیستم عصبی می‌شود (۴ و۳). مطالعات مختلف نشان داده‌اند که مسمومیت با تتراکلرید کربن سبب تولید نسل رادیکال-های آزاد در بسیاری از بافت‌ها ازجمله کبد، قلب، ریه، بیضه، مغز و خون می شود (۳). گام‌های اولیه در آسیب بافت ناشی از تتراکلرید کربن به وسیله سیتوکروم P_{450} انجام می‌شود (۵). تتراکلرید کربن تحت اثر آنزیم‌های سیتوکروم P_{450} به محصولات سمی و واکنشگر تری کلرومتیل (CCl_3^0) تبدیل می‌شود (۶). تری کلرومتیل می‌تواند به ماکرومولکول‌ها متصل شود یا به غشاء لیپیدی اسیدهای چرب حمله کند، همچنین می‌تواند با اکسیژن تقابل پیدا کند و به صورت رادیکال آزاد ($CCl_3O_2^0$) پراکسی تری کلرومتیل در آمده که نسبت به رادیکال CCl_3 بسیار واکنش پذیرتر است و سبب ایجاد تخریب های مشابهی می‌شود. بسیاری از مواد بیولوژیکی از قبیل غشاء لیپیدی، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلوئیک از طریق رادیکال‌های تری کلرومتیل به عنوان آسیب شناخته می-شوند (۵). بسیاری از ترکیبات گیاهی از جمله پلی‌فنل‌ها دارای خواص آنتی‌اکسیدانی هستند. ترکیبات پلی‌فنلی به خصوص فلاونوییدها اثر حفاظتی در برابر آسیب‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد دارند (۸ ,۷). گیاهان مانگرو که مجموعه‌ای از گیاهان شورپسند و مقاوم به نمک دریا بوده و در قالب جنگل‌های جزر ومدی دریایی به صورت پراکنده در بعضی نقاط دنیا شکل گرفته-اند دارای انواع ترکیبات شیمیایی و بیولوژیکی می‌باشند (۸). عنصر اصلی سازنده جنگل‌های مانگرو گونه‌ای به نام Avicennia marina می‌باشد که از مقاوم‌ترین گونه‌های مانگرو موجود در جهان است (۱۱-۹). داشتن حدود ۳۴۹ متابولیت و ترکیبات گیاه حرا را به یک منبع غنی تبدیل کرده است (۸). برخی ترکیبات بیولوژیک فعال از جمله فلاونوییدها، ترپنوییدها، آلکالوییدها و لیپیدها در برگ گیاه حرا شناسایی شده است (۱۳ ,۱۲). ترکیبات و مشتقات شناسایی شده از فلاونوئیدهای موجود در سر شاخه‌ها و برگ‌های گیاه حرا دارای مواد جاروب کننده رادیکال‌های آزاد می-باشد (۹). پوشش انبوه گیاه حرا با داشتن یک تاریخچه طولانی از اثرات درمانی در مرز جنوبی ایران حائز اهمیت بوده و بررسی هرچه بیشتر خصوصیات بالقوه‌اش از ارزش بالایی برخوردار است (۱۴). این گیاه دارای فعالیت‌های مختلف بیولوژیکی می‌باشد و در مصر به طور سنتی برای درمان بیماری‌های پوستی به کار می‌رود. از فعالیت‌های بیولوژیکی آن می‌توان به درمان رماتیسم، ضد سرطان، ضد میکروبی و ضد توموری اشاره کرد (۱۳ ,۱۲). باتوجه به ترکیبات بیولوژیکی فعال موجود در گیاه حرا، وجود اکوسیستم بسیار غنی مانگرو و نحوه‌ی رویش منحصر به فرد این گیاه در جنوب ایران بر آن شدیم عصاره برگ گیاه حرا در روند اسپرماتوژنز موش‌های صحرایی نر که با CCl_4 القاء شده اند و تأثیر آن در پیشگیری از اثرات سوء CCl_4 بر بافت بیضه را مورد بررسی قرار دهیم.

روش‌کار

در این بررسی تعداد ۴۲ سر موش صحرایی نر از انیستیتو پاستور تهران تهیه شد و به مدت یک هفته در حیوان خانه در دمای ۲±۲۳ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۷۰-۶۵ درصد و میزان نور (۱۲ ساعت روشنایی، ۱۲ ساعت تاریکی) قرار داده و آب و غذا به میزان کافی در اختیار حیوانات قرار داده شد تا به وزن دلخواه حدود ۲۵۰-۲۲۰ گرمی برسند. در نهایت با توجه به مطالعات انجام گرفته به شش گروه کنترل، شم، دریافت‌کننده CCl_4، تیمار ۱، ۲ و ۳ به طور تصادفی تقسیم شدند (هر گروه ۷ سر) (۱۵). گروه‌های تیمار توسط تتراکلریدکربن مقدار ۲ml/kg تتراکلرید کربن با درصد ۱:۱ با روغن زیتون القاء شدند و دو ساعت بعد به ترتیب با عصاره هیدروالکلی برگ گیاه حرا با دوز ۲۰۰mg/kg، ۴۰۰mg/kg و ۸۰۰mg/kg به مدت ۴ روز هر ۲۴ ساعت یکبار به روش تزریق داخل صفاقی درمان شدند **(۱۵)**. گروه دریافت‌کننده CCl_4، مقدار ۲ml/kg تتراکلریدکربن با درصد ۱:۱ با روغن زیتون به صورت تک دوز منفرد دریافت نمودند (۱۶). گروه کنترل و شم به ترتیب سالین نرمال روزانه و روغن زیتون (تک دوز) به میزان ۲ml/kg و به طور داخل صفاقی دریافت کردند. دلیل استفاده روغن زیتون در این مطالعه بررسی اثر آن بر شاخص‌های باروری به تنهایی می‌باشد و همچنین به عنوان حلال تتراکلرید کربن نیز استفاده گردید. بعد از پایان آزمایشات، حیوانات به روش اخلاقی 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 پس از ورود خون به داخل سر سوزن، پیستون سرنگ را به آرامی کشیده تا خون وارد سرنگ شود، سپس سرم آن جداسازی شد و سرم آن جهت اندازه‌گیری هورمون تستوسترون، FSH و LH بکار برده شد. پروتکل انجام کار این تحقیق و انجام کلیه آزمون‌ها بر روی حیوانات مورد آزمایش بر اساس قوانین بین‌المللی و کمیته اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه بوعلی سینا با شماره ۱۵۲-۴۸ صورت پذیرفت. بعد از پایان آزمایشات، حیوانات بیهوش شدند و

www.SID.ir

Arshive of SID

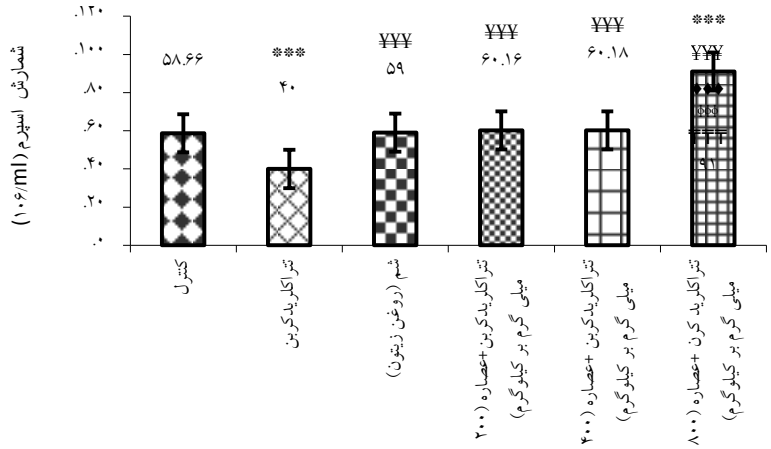
به دقت اندام‌های تناسلی دو طرف شامل بیضه، اپیدیدیم و وازودفران خارج گردید. بلافاصله پس از جدا کردن اپیدیدیم از بافت بیضه قسمت انتهایی اپیدیدیم (دم) در سرم فیزیولوژی با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از قطعه قطعه کردن اپیدیدیم و خروج اسپرم‌ها یک قطره از محلول حاصل روی لام نئوبار قرار داده و تعداد اسپرم‌ها و تحرک آنها در زیر میکروسکوپ به طور تقریبی تخمین زده شد و در صد آن‌ها تعیین، و سپس میانگین محاسبه گردید (۱۷). جهت مقایسه داده‌های حاصل از بررسی تاثیر عصاره هیدروالکلی برگ گیاه حرا بر شاخص‌های باروری در موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار از آزمون ANOVA استفاده می‌کنیم. لازم به ذکر است چنانچه داده‌ها نرمال باشد از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه بین آزمودنی و چنانچه نرمال نباشند از معادل ناپارامتری آن یعنی آزمون کروسکال – والیس استفاده می‌شود. به همین منظور ابتدا با استفاده از آزمون کولموگروف – اسمیرنوف وضعیت نرمال بودن داده‌ها بررسی شد و در طی این بررسی که برای هر یک از گروه‌های بالا به صورت جداگانه انجام گرفت نرمال بودن داده‌ها توسط این آزمون تائید گردید. در نهایت جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون آماری تحلیل واریانس یک طرفه بین آزمودنی و برای مقایسات دو به دو از آزمون تعقیبی Tukey استفاده شد. در این مطالعه ابتدا گیاه حرا از منطقه قشم تهیه و شناسایی علمی آن توسط کارشناس گیاه شناس دانشگاه بوعلی سینا انجام گرفت. برگ‌های گیاه حرا شسته ، کاملا در سایه خشک شده و به صورت پودر درآورده شد. سپس پودر آن (۱۸۰ گرم) را در ۵۶۰ سی سی الکل اتانول ۹۶ درصد شناور نموده و پس از آن که به مدت ۲۴ ساعت بر روی شیکیر قرار گرفت محلول رویی با کاغذ صافی جدا شد و مجددا بر روی تفاله‌های گیاه ۲۵۰ سی‌سی اتانول ۷۵ درصد ریخته شد و پس از طی ۲۴ ساعت اختلاط بر روی شیکر محلول رویی جدا و دو محلول با هم مخلوط شدند. محلول حاصل به وسیله دستگاه روتاری (شرکت مهندسی تسلا –نمایندگی رسمی IKA آلمان، تهران، شهرک غرب، بلوار فرحزادی، خیابان ناخدا همتی، پلاک ۵۱) در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد تغلیظ شد تا الکل آن کاملا بازیافت شود و عصاره هیدروالکلی به دست آید عصاره هیدروالکلی به پتری دیش انتقال یافت و سپس در آون و در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد خشک شد و پس از تراشیده شدن در ظروف شیشه‌ای سر سمباده‌ای در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد جهت آنالیز در فریزر نگه‌داری شد (۱۸).

یافته‌ها

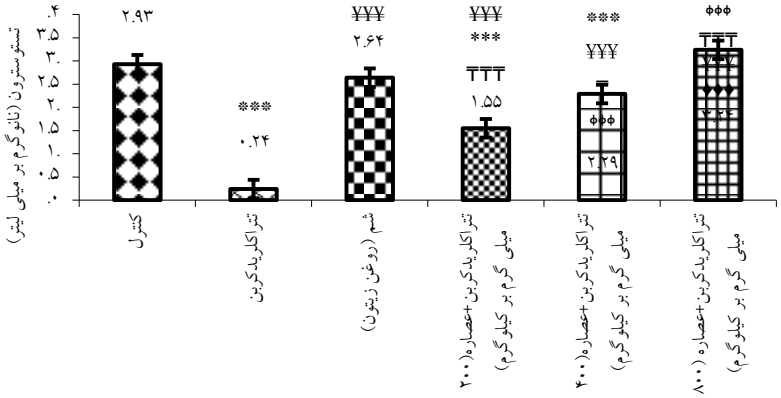
نتایج به دست آمده از این مطالعه حاکی از آن است که تعداد اسپرم‌ها در گروه دریافت‌کننده CCl_4 کاهش معنی‌داری پیدا می‌کند (P<۰/۰۰۱). از طرفی مقایسه بین گروه شم (دریافت‌کننده روغن زیتون) و گروه‌های تیمار ۱و۲و۳ با گروه دریافت‌کننده CCl_4 بیان‌گر اختلاف معنادار بین آن‌ها بوده است و دریافت عصاره منجر به افزایش معنادار تعداد اسپرم‌ها نسبت به گروه دریافت‌کننده CCl_4 شده است. در نهایت مقایسه بین گروه تیمار ۳ با گروه‌های کنترل، شم (دریافت‌کننده روغن زیتون) و گروه‌های تیمار۱و۲ بیان‌گر افزایش معنادار تعداد اسپرم در گروه تیمار ۳ نسبت به گروه‌های فوق‌الذکر می‌باشد (نمودار ۱). در بررسی داده‌های حاصل از سنجش میزان تستوسترون، نشان داده شد سطح سرمی هورمون تستوسترون در گروه دریافت‌کننده تتراکلرید کربن نسبت به سایر گروه‌ها کاهش معناداری پیدا کرده است (P<۰/۰۰۱). مقایسه بین گروه‌های تیمار۱و۲و۳ با گروه دریافت‌کننده CCl_4 بیان‌گر اختلاف معنادار بین آن‌ها بوده و دریافت عصاره هیدروالکلی برگ گیاه حرا در دوزهای ذکر شده منجر به افزایش معنادار تستوسترون نسبت به گروه دریافت‌کننده CCl_4 شده است (نمودار ۲). بررسی نتایج آنالیز هورمونی در رابطه با هورمون‌های گونادوتروپین FSH و LH نشان داد مقایسه بین گروه دریافت‌کننده CCl_4 با گروه کنترل بیانگر اختلاف معنادار بین آن‌ها بوده و دریافت CCl_4 منجر به افزایش معنادار FSH و LH نسبت به گروه کنترل شده است. مقایسه بین گروه تیمار ۱و۲ با گروه‌های کنترل، شم (دریافت‌کننده روغن زیتون) بیان‌گر اختلاف معنادار بین آن‌ها بوده و دریافت عصاره هیدروالکلی برگ گیاه حرا ۲۰۰mg/kg و ۴۰۰mg/kg منجر به افزایش معنادار FSH و LH نسبت به گروه‌های فوق شده است. در نهایت مقایسه گروه تیمار ۳ با سایرین گروه‌ها (گروه‌های کنترل، شم، دریافت‌کننده تتراکلرید کربن، تیمار ۱ و تیمار ۲) بیان‌گر اختلاف معنادار بین آن‌ها بوده و دریافت عصاره هیدروالکلی برگ گیاه حرا ۸۰۰mg/kg منجر به افزایش معنادار FSH و LH نسبت به گروه‌های فوق شده است (نمودار ۳ و نمودار ۴). علاوه بر این نتایج این مطالعه نشان داد نسبت وزن بیضه به وزن بدن (Gonadosomatic index, GSI) در حیوانات القاء شده با تتراکلریدکربن به طور معنی‌داری کمتر از گروه‌های کنترل و تیمار شده با عصاره گیاه حرا بود (P<0.001). و دریافت عصاره برگ گیاه حرا در دوزهای ۲۰۰mg/kg، ۴۰۰mg/kg و ۸۰۰mg/kg منجر به افزایش معنادار نسبت وزن بیضه به وزن بدن در مقایسه با گروه دریافت‌کننده CCl_4 بوده است (نمودار ۵).

www.SID.ir

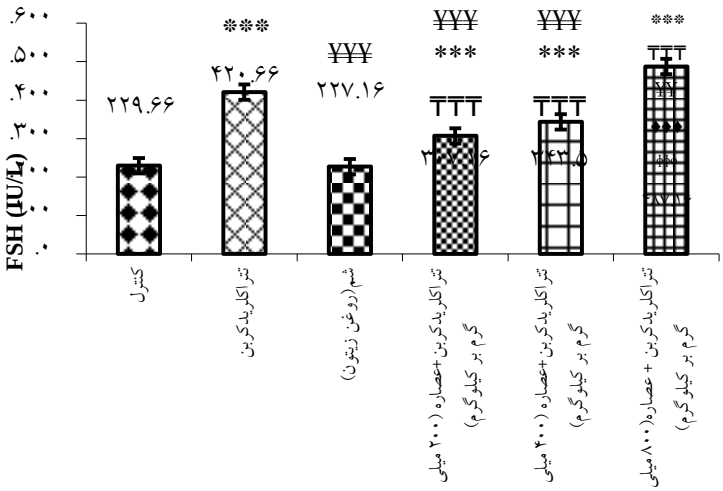
Arshive of SID



نمودار ۱: بررسی داده‌های حاصل از شمارش اسپرم در موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار .* بیان‌گر معناداری نسبت به گروه کنترل، ¥بیان‌گر معناداری نسبت به گروه دریافت کنندهccl_4 بیان‌گر معناداری نسبت به گروه شم (دریافت کننده روغن زیتون)ϕبیان‌گر معناداری نسبت به گروه دریافت کننده دوز ۴۰۰mg/kg، ♦بیان‌گر معناداری نسبت به گروه دریافت کننده دوز ۲۰۰mg/kg، (***:P<0.001)، (¥¥¥:P<0.001) (ϕϕϕ:P<0.001:ŦŦŦ)، (P<0.001) (P<0.001:♦♦♦)



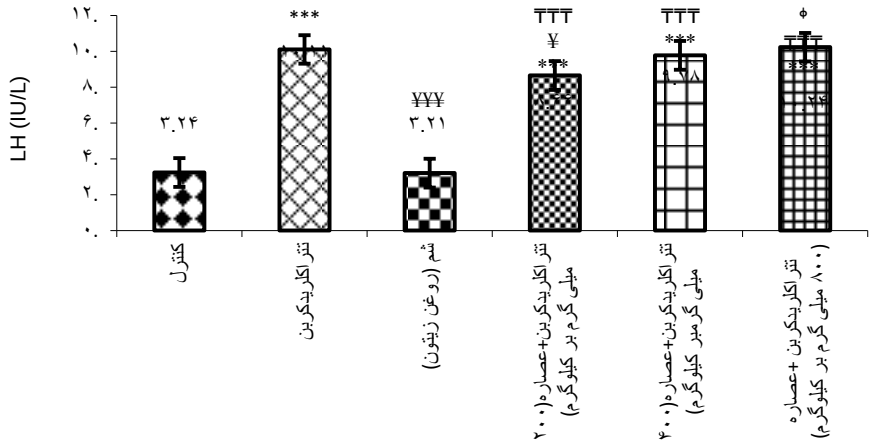
نمودار ۲: بررسی داده‌های حاصل ازسنجش میزان تستوسترون در موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار. .* بیان‌گر معناداری نسبت به گروه کنترل، ¥بیان‌گر معناداری نسبت به گروه دریافت کنندهccl_4 بیان‌گر معناداری نسبت به گروه شم (دریافت کننده روغن زیتون)ϕبیان‌گر معناداری نسبت به گروه دریافت کننده دوز ۲۰۰mg/kg، ♦بیان‌گر معناداری نسبت به گروه دریافت کننده دوز ۴۰۰mg/kg، (***:P<0.001)، (¥¥¥:P<0.001)، (ϕϕϕ:P<0.001:ŦŦŦ)(P<0.001)(P<0.05:Ŧ)، (P<0.001:♦♦♦)



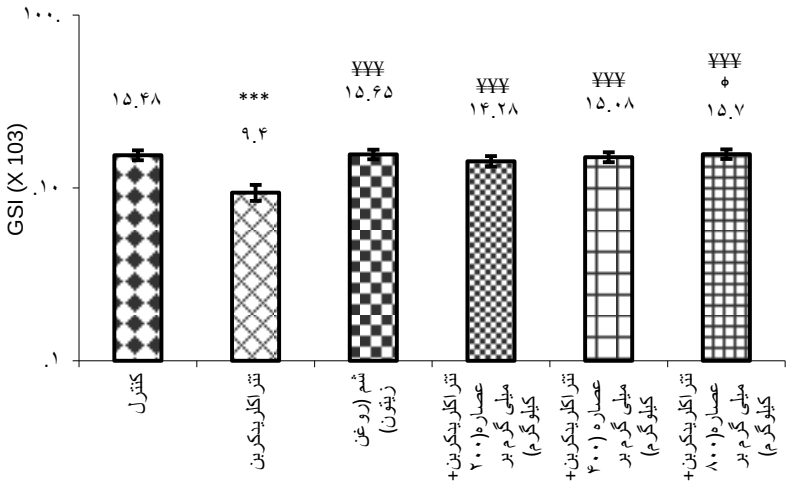
نمودار ۳: داده‌های حاصل از سنجش میزان FSHدر موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار. * بیان‌گر معناداری نسبت به گروه کنترل، ¥بیان‌گر معناداری نسبت به گروه دریافت کننده ccl_4 بیانگر معناداری نسبت به گروه شم (دریافت کننده روغن زیتون)ϕبیان‌گر معناداری نسبت به گروه دریافت‌کننده دوز ۲۰۰mg/kg، ♦بیانگر معناداری نسبت به گروه دریافت‌کننده دوز ۴۰۰mg/kg، (***:P<0.001)، (¥¥¥:P<0.001)، (¥¥:P<0.01) (ϕϕϕ:P<0.001:ŦŦŦ)، (P<0.001)، (P<0.001:♦♦♦)

www.SID.ir

Arshive of SID



نمودار ۴: بررسی داده‌های حاصل از سنجش میزان LHدرموش‌های صحرایی نر نژاد ویستار.* بیانگر معناداری نسبت به گروه کنترل، ¥ بیانگر معناداری نسبت به گروه دریافت کنندهccl_4 بیانگر معناداری نسبت به گروه شم (دریافت کننده روغن زیتون)ϕبیانگر معناداری نسبت به گروه دریافت کننده دوز ۲۰۰mg/kg، (***:P<0.001)، (P<0.001)(ϕ:P<0.05،τττ)(¥:P<0.05)،(¥¥¥:P<0.001)



نمودار ۵: بررسی داده‌های حاصل از **سنجش GSI در موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار .* بیانگر معناداری نسبت به گروه کنترل، ¥ بیانگر معناداری نسبت به گروه دریافت کنندهccl_4ϕ بیانگر معناداری نسبت به گروه دریافت کننده دوز ۲۰۰mg/kg، (***:P<0.001)، (¥¥¥:P<0.001)، (ϕ:P<0.05)،**

بحث

در سال‌های اخیر، توجه چشمگیری به داروهای گیاهی در مباحث جهانی سلامت و بهداشت شده است. استفاده از گیاهان دارویی در بسیاری از کشورهای توسعه یافته و در حال توسعه به سرعت در حال افزایش است (۱۹). تاکنون تحقیقات بسیاری با استفاده از عصاره‌های گیاهی مختلف بر روی محور هورمونی هیپوفیز گناد و بافت بیضه انجام شده است. عصاره‌هایی مانند عصاره زعفران، عصاره دانه هویج، عصاره الکلی گیاه شاهتره، عصاره سیر، عصاره مرزنجوش، عصاره زنجبیل، عصاره لوبیا مخملی سبب افزایش میزان تستوسترون و LH و گاهی FSH شده و نقش موثری در محور هیپوتالاموس – هیپوفیز –گناد داشته و در نهایت با افزایش تعداد اسپرم، افزایش تحرک و زنده ماندن اسپرم بر اسپرماتوژنز تاثیر داشته‌اند (۱). فرایند اسپرماتوژنز به طور عمده توسط هورمون‌های استروئیدی جنسی کنترل می‌شود. این هورمون ها از جمله تنظیم کننده‌های کلیدی رشد، توسعه و تولید مثل در مهره‌داران می‌باشند (۲۱ و ۲۰). عملکرد صحیح روند اسپرماتوژنز مستلزم عملکرد همزمان فاکتورهای اندوکرین–پاراکرین و میان کنش سلول‌های اسپرماتوژنیک و سرتولی می‌باشد (۲۲). عملکرد سلول‌های سرتولی شامل حمایت و تغذیه سلول‌های زایا در حال توسعه و فاگوسیتوز سلول‌های زایا تخریب شده است و نقش سلول‌های لایدیگ در تولید تستوسترون است (۲۳). هورمون FSH با تنظیم عملکرد سلول‌های سرتولی عمل اسپرماتوژنز را تنظیم می کند و هورمون لوتئینه کننده (LH) فعالیت سلول‌های

www.SID.ir

Arshive of SID

لایدیک را کنترل می‌کند (۲۲). نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که تزریق درون صفاقی تتراکلریدکربن به شدت منجر به تغییرات روند اسپرماتوژنز، کاهش معنادار تعداد اسپرم می‌شود، همچنین در این پژوهش نشان داده شد که تترا کلریدکربن سطح سرمی تستوسترون را به طور معناداری کاهش می‌دهد. در صورتی که این کاهش هورمون تستوسترون با افزایش معنادار هورمون LH و FSH همراه بوده است. احتمالا در این پژوهش تتراکلرید کربن با اثر بر محور هیپوتالاموس – هیپوفیز و اثر بر سلول‌های لیدیگ و سرتولی منجر به تغییرات روند اسپرماتوژنز می‌گردد. و هچنین این احتمال نیز می‌رود که تترا کلرید کربن با کاهش هورمون تستوسترون از طریق فیدبک منفی منجر به افزایش هورمون LH شده است. به طوری که مطالعات قبلی نشان داده‌اند تتراکلریدکربن پس از گردش در رگ های خونی مغز، از طریق پراکسیداسیون لیپیدی و تخریب غشاء سلولی، سلول‌های مغز منجر به کاهش گلوتاتیون (آنتی اکسیدان ممانعت کننده از آسیب رادیکال‌های آزاد وارده به اجزای سلولی و پراکسیده شدن) می‌شود (۲۴). علاوه بر این تتراکلرید کربن منجر به کاهش وزن بیضه و در نهایت کاهش نسبت وزن بیضه به وزن بدن نیز در حیوانات می‌گردد. اثرات آنتی اکسیدانی عصاره بسیاری از گیاهان از جمله خارمریم، کاسنی، شیرین بیان، همیشه بهار و شاهتره اثبات شده است. برخی عصاره-های خام گیاهی مورد استفاده در طب سنتی، منبعی غنی از ترکیباتی با خواص پیشگیری‌کننده و حفاظت کننده در بافت‌های بدن هستند. Hinneburg و همکاران در سال ۲۰۰۶ فعالیت آنتی-اکسیدانی برخی ازسبزی‌ها و ادویه‌ها (ریحان، برگ بو، جعفری، سروکوهی، تخم بادیان، رازیانه، زیره سبز، هل و زنجبیل) را بررسی کردند و گزارش نمودند که عصاره ریحان قدرت آنتی اکسیدانی قابل توجهی دارد. این نتایج را می‌توان به برگ گیاه حرا نیز تعمیم داد، زیرا خواص آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌باکتریال آن گزارش شده است (۲۵). در مطالعه حاضر تاثیر عصاره هیدروالکلی گیاه حرا بر محور هورمونی هیپوفیز گناد و بافت بیضه موش‌های صحرایی نر بالغ مورد بررسی قرارگرفته است. گیاه حرا با وجود دارا بودن ترکیبات متعدد و متفاوت می‌تواند اثرات زیادی را از خود در برابر اثرات اکسیدانی تتراکلرید کربن نشان دهد. نتایج حاصل از این مطالعه نشان دهنده آن است که عصاره حرا منجر به تغییر در عملکرد و ساختار بیضه و محور هورمونی هیپوفیز– گناد در موشهای صحرایی گروه تیمار شده با برگ حرا گردیده است. در مطالعه حاضر گروه دریافت‌کننده عصاره حرا افزایش معنی‌داری در وزن بدن و بیضه داشتند. از آنجایی که وزن بدن و وزن بیضه‌ها تحت تاثیر هورمون تستوسترون می‌باشد با توجه به افزایش قابل ملاحظه هورمون LH در این مطالعه درگروه دریافت‌کننده عصاره حرا و متعاقب آن تأثیر بر سلول‌های لایدیگ و افزایش ترشح هورمون تستوسترون از سلول‌های لایدیگ این مساله کاملا قابل توجیه است. مطالعات قبلی نشان داده اند که هورمون تستوسترون با اثر مستقیم بر سلولهای سرتولی و ترشح پروتئین‌های متعددی نظیر فاکتور رشد و ترانسفرین نقش ویژه‌ای در تغذیه سلولهای جنسی در حال تقسیم، تقسیم سلولهای جنسی و در نهایت تولید اسپرم دارند. به این ترتیب با توجه به نقش مهم هورمون تستوسترون در روند اسپرماتوژنز، واضح است که در صورت افزایش این هورمون، تعداد اسپرم‌ها افزایش می‌یابد. نتایج مطالعه حاضر نیز موید افزایش معنی‌دار تعداد اسپرم‌ها پس از تیمار با عصاره حرا است. در بررسی‌های هورمونی، غلظت هورمون تستوسترون و LH در گروهی که عصاره برگ حرا دریافت کرده بودند در مقایسه با گروه دریافت کننده تتراکلریدکربن افزایش نشان داد. از آنجایی که تستوسترون یک هورمون آندروژنی است که در پاسخ به تحریک با LH مترشحه از غده هیپوفیز توسط سلولهای لایدیگ بیضه تولید می‌شود، احتمال دارد مکانیسمی که بر پایه آن میزان هورمون تستوسترون پس از کاربرد عصاره حرا افزایش یافته است، از طریق تاثیر مستقیم این دارو بر سلول‌های لوتئوتروپ بخش قدامی هیپوفیز و افزایش LH باشد (۲۶). از طرف دیگر، هورمون تستوسترون از طریق مکانیسم فیدبک منفی ترشح هورمون LH را از هیپوفیز قدامی کنترل می‌کند و احتمالا عصاره به طور غیرمستقیم موجب افزایش ترشح هورمون های تحریک-کننده گنادوتروپین از هیپوتالاموس و به دنبال آن افزایش ترشح LH از هیپوفیز قدامی و در نتیجه افزایش تستوسترون می‌شود. از نتایج دیگر مطالعه حاضر این است که با تزریق داخل صفاقی عصاره حرا به موش‌های صحرایی میزان ترشح هورمون FSH افزایش معناداری مشاهده شد. این هورمون از هیپوفیز قدامی ترشح شده مستقیما روی سلول‌های سرتولی اثر می‌گذارد و در آغاز روند اسپرم سازی نقش مهم و اساسی دارد. احتمالا این اثرات به واسطه وجود ترکیبات پلی فنلی به خصوص فلاونوئیدها در گیاه حرا می-باشد. فلاونوئید ها اثرات مهمی در بیوشیمی گیاهی و فیزیولوژی به عنوان آنتی‌اکسیدان‌ها و مهار کننده آنزیم و پیش سازهای مواد سمی هستند. این ترکیبات همچنین به واسطه خاصیت آنتی اکسیدانی قادر به خنثی نمودن رادیکال‌های آزاد موجود در محیط شده و جلوگیری از اثرات مخرب آنها می‌شود (۹). ترکیبات پلی فنلی و فلاونوئیدها، همچنین می‌توانند سلول را در برابر تخلیه گلوتاتیون احیاء، با افزایش ظرفیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی گلوتاتیون، گلوتاتیون ردوکتاز، گلوتاتیون پراکسید و کاتالاز محافظت نمایند (۲۷). از آنجایی که این مطالعه تجربی بر روی گروهی از موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار انجام گردید با محدودیت‌های زمانی مواجه شد. اگر شرایط برای ادامه کار با افزایش زمان درمان فراهم بود قطعاً نتایج قابل قبول‌تری حاصل می‌گردید. لذا به منظور افزایش دقت در این نوع مطالعه پیشنهاد می‌شود در مطالعات دیگر از عصاره با دوز بالاتر استفاده گردد.

www.SID.ir

Arshive of SID

همچنین پیشنهاد می‌شود در مطالعات دیگر جهت مقایسه و تفسیر بهتر گروهی تحت عنوان عصاره + روغن زیتون نیز کار برده شود.

نتیجه‌گیری

از نتایج تحقیق حاضر نتیجه‌گیری می‌شود که تیمار با عصاره، منجر به افزایش معنادار تعداد اسپرم‌ها، افزایش معنادار نسبت وزن بیضه به وزن بدن و افزایش معنادار سطح سرمی هرمون تستوسترون می‌گردد. احتمالاً ترکیب فلاونوئیدی با توجه به اثرات آنتی اکسیدانی آن می‌تواند از تغییر روند اسپرماتوژنز توسط تتراکلریدکربن جلوگیری کرده و اثر محافظتی خود را اعمال کند. همچنین عصاره گیاه حرا قادر است تا در محور هیپوتالاموسی- هیپوفیزی اثرات تحریکی خود را اعمال نماید.

قدردانی

بدینوسیله از آقای رامتین پاکزاد کارشناس ارشد فیزیولوژی گیاهی که در تهیه عصاره گیاه حرا ما را صمیمانه یاری نمودند کمال تشکر و قدردانی را می‌نماییم.

References

1. Hatami L, Estakhr J. The Effects of Hydroalcoholic Extract of Matricaria Recutita on the Hormonal Pituitary-Testis Axis and Testis Tissue Changes of Mature Male Rats. *Journal of Fasa University of Medical Sciences Spring* 2013; **3**(1): 56-62. (Persian). doi: 10.18869/acadpub.sjimu.24.6.77
2. Faraji Z, Nikzad H, Parivar K, Nikzad M. The effect of aqueous extract of Salep Tubers on the structure of testis and sexual hormones in male mice. *J Jahrom University Medical Sciences* 2013; **11**(1): 61-66. (Persian). doi: 10.18869/acadpub.jmj
3. Abd-Elraheim A El, Muhammad Mahmud AS, Samar AM. The hepato-ameliorating effect of Solanum nigrum against CCl4 induced liver toxicity in Albino rats. *Egypt Acad J Biolog Sci* 2013; **5**(1): 59-66.
4. Rood AS, McGavran PD, Aanenson JW, Till JE. Stochastic estimates of exposure and cancer risk from carbon tetrachloride released to the air from the rocky flats plant. *Risk Anal* 2001; **21**(4): 675-695. doi: 10.1111/0272-4332.214143
5. MAbdel-Kader M, M El-Sayed E, S Kassem S, Shams El- Din M, MHaggag M, El-Hawary Z. Protective and Antioxidant Effects of Cynara Scolymus Leaves against Carbon Tetrachloride Toxicity in Rats. Research *Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences September - October* 2014; **5**(5): 1373.
6. Gangarapu V, Gujjala S, Korivi R, Pala I. Combined effect of curcumin and vitamin E against CCl4induced liver injury in rats. *American Journal of Life Sciences* 2013; **1**(3): 117-124. doi: 10.11648/j.ajls.20130103.17
7. Shafie MM, Forghani AH, Moshtaghiyan J. Anti-inflammatory Effects of Hydro-Alcoholic Extracts of Mangrove (Avicennia marina) and vitamin C on Arthritic Rats. *Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences* 2013; **2**(7): 32-37. doi: 10.1016/0024-3205(83)90934-7
8. Vinod Prabhu V, Guruvayoorappan C. *Phytochemical screening of methanolic extract of mangrove Avicennia marina* (Forssk.) Vierh. Pelagia Research Library, Der Pharmacia Sinica, 2012; **3**(1): 64-70. doi: 10.1615/jenvironpatholtoxicoloncol.v31.i2.90
9. Fathi Moghaddam H, Mokhtari M, Kamaei L, Ahangarpour A. Effects of Avicennia Marina leaves aqueous and hydro alcoholic extract on streptozotocin-induced diabetic male rats. *Rafsanjan University of Medical Sciences* 2011; **10**(4): 245-254. (Persian). doi: 10.18869/acadpub.aums.6.1.41
10. Alizadeh B, Behbahani B, Tabatabaei Yazdi F, Shahidi F, Mohebbi M. Antifungal Effect of Aqueous and Methanolic Avicennia Marina Leaves Extracts on Alternaria Alternata and Penicillium Citrinum. *Rafsanjan University of Medical Sciences* 2013; **12**(12): 1015-1024. (Persian). doi: 10.17795/zjrms-5992
11. Afzal M, Mehdi FS, Abbasi M, Ahmad H, Masood R, Inamullah I, et al. Efficacy of Avicennia marina (Forsk.) Vierh. Leaves extracts against some atmospheric fungi. *African Journal of Biotechnology* 2011; **10**(52): 10790-10794. doi: 10.5897/ajb10.2214
12. Pakia Lincy M, Paulpriya K, Mohan VR. In vitro antioxidant activity of Avicennia marina (Forssk) vierh pneumatophore (Avicenniaceae). *Science Research Reproter* 2013; **3**(2): 106-114. doi: 10.7211/jjsrt.29.125
13. Jain R, Monthkantirat O, Tengamnuay P, De-Eknamkul W, Avicequinone C. Isolated from Avicennia marina exhibits 5a-reductase-type 1 inhibitory activity using an androgenic alopecia relevant cell-based assay system. *Molecules* 2014; **19**(5): 6809-6821. doi: 10.3390/molecules19056809
14. Taherzadeh M, Zandi K, Yaghobi R, Tajbakhsh S and Rastian Z. Antiviral activity of Avicennia marina (Forssk.) Vierh. on Poliovirus in cell culture. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants* 2008; **24**(1): 38-46. (Persian).
15. Karami L, Majd A, Mehrabian S, Nabiuni M, Salehi M, Irian S. Antimutagenic and anticancer effects of Avicennia marina leaf extract on Salmonella typhimurium TA100 bacterium and human promyelocyticleukaemia HL-60 cells: Science Asia

www.SID.ir

Arshive of SID

2012; **38**: 349-355. doi: 10.2306/scienceasia1513-1874.2012.38.349
16. Sanaa Ahmed A, MahaZaki R, Nabawia Ali I, MohgaShafik A, Hayat Mohamed S, Magda Mohamed M. Protective role of Juniperusphoenicea and Cupressussempervirens against CCl4. *World J Gastrointestinal Pharmacology Therapeutics* 2010; **1**(6): 123-131. doi: 10.4292/wjgpt.v1.i6.123
17. Kerishchi Khiabani P, Nasri S. The Effect of Apium graveolens hydroalcoholic Seed Extract on Sperm Parameters and Serum Testosterone Concentration in Mice. *Armaghane-danesh, Yasuj University of Medical Sciences Journal* (YUMSJ) 2014; **19**(7): 592-601. (Persian).
18. Zamani Gandomani M, Forouzandeh Malati E. Antinociceptive Effect of Extract of Mangrove (Avicennia Marina) in Male Rats]. *Medical Journal of Tabriz University of Medical Sciences and Health Services* 2014; **36**(1): 34-39 (Persian).
19. Goel RK, Prabha T, Kumar MM, Dorababu M. Teratogenicity of Asparagus racehorses Willd, Root. *An herbal medicine Indian Jexp Bio* 2006; **44**(7): 503-570. doi: 10.1007/978-0-387-70638-2_164
20. Miura Ch, Miura T. Analysis of spermatogenesis using an Eel model. *Aqua-Bioscience Monographs* 2011; **4**(4): 105-129. doi: 10.5047/absm.2011.00404.0105
21. Nathalie H, Rafael Henrique N, Morgane C, Damien B, Emmanuelle M, Edith Ch, et al. Cyp17a1 and cyp19a1 in the zebrafish are differentially affected by estradiol. *Journal of Endocrinology* 2013; **216**(3): 375-388. doi: 10.1530/joe-12-0509
22. Divya V, Girish Kumar V, Nandel S, Ramchandra S G. Dynamics of spermatogenesis. *Annual Research & Review Biology* 2014; **4**(1): 38-50. doi: 10.9734/arrb/2014/4289
23. Johnson L, Donald L, Thompson Jr, Dickson D, Varner. Role of sertoli cell number and function regulation of spermatogenesis. *Animal Reproducción Science* 2008; **105**: 23-51. doi: 10.1016/j.anireprosci.2007.11.029
24. Pirincciogluı M, Kızıl G, Kızıl M, Kanay Z, Ketani A. The protective role of pomegranate juice against carbon tetrachloride-induced oxidative stress in rats. *Toxicol Ind Health* 2014; **30**(10): 910-918. doi: 10.1177/0748233712464809
25. Hinneburg I, Damien Dorman HJ, Hiltunen R. Antioxidant activities of extracts from selected culinary herbs and spices. *Food Chem* 2006; **97**: 122-129. doi: 10.1016/j.foodchem.2005.03.028
26. Carlson BM. Human embryology and developmental biology. 3rd ed. Philadelphia. Elsevier, 2004; 21-22.
27. Chu Y, Sun J, Wu X, Liu RH. Antioxidant and antiproliferative activities of common vegetables. *J Agric Food Chem* 2002; **50**: 7449-7454. doi: 10.1021/jf0207530

www.SID.ir