فصلنامه علمی پژوهشی فیزیولوژی و تکوین جانوری
شماره پیاپی 25، جلد 7، شماره 2، بهار93 صفحه 49 تا 58

بررسی اثر عصاره هیدروالکلی دانه کرچک *(Ricinus communis)* بر اسپرماتوژنز در موش سوری

رویا محمدی می آبادی[1]، میترا حیدری نصر آبادی[2]، پروین خدارحمی[3]

1- کارشناسی ارشد زیست شناسی-سلولی تکوینی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد پرند، گروه زیست شناسی جانوری، پرند. ایران. R_mohammadi_m@yahoo.com

2- دانشیار، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد پرند، گروه زیست شناسی جانوری، پرند. ایران.

3- استادیار، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد پرند، گروه زیست شناسی جانوری، پرند. ایران.

تاریخ دریافت: 92/11/24 تاریخ پذیرش:93/2/27

چکیده

زمینه و هدف: تحقیقات گوناگونی برای جلوگیری از افزایش جمعیت صورت می گیرد. گیاه کرچک خواص مختلفی دارد. این پژوهش به اثرات جلوگیری از بارداری دانه کرچک پرداخته است.

مواد و روش ها: 21 سرموش سوری نرنژاد NMRI با وزن تقریبی30-20 گرم به یک گروه کنترل و دو گروه تجربی تقسیم بندی شدند. روزانه به مدت30 روز به گروه‌های تجربی به ترتیب 35 و 45 میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن عصاره هیدروالکلی کرچک و به گروه کنترل نرمال سالین تزریق شد. 10 روز پس از آخرین تزریق موش‌ها جراحی شده نمونه‌گیری ازخون و اندام‌های تولید مثلی انجام شد. از بیضه‌ها برش‌های عرضی 5 میکرون تهیه شده، رنگ آمیزی وشمارش شدند. اندازه‌گیری قطرلوله‌های اسپرم‌ساز و لایه ژرمینال با عدسی 10X و شمارش سلول‌ها با عدسی100X انجام شد. کلیه داده‌ها با روش آماری ANOVA و تست Tukey با سطح معنی داری0/05 >P انجام شد.

یافته‌ها: کاهش معنی‌دار در قطرلوله‌های اسپرم‌ساز در غلظت 45 میلی‌گرم، قطر لایه ژرمینال در گروه‌های تجربی، تعداد اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت اولیه، اسپرماتید، اسپرم و لایدیگ در گروه‌های تجربی نسبت به گروه کنترل دیده شد(0/05 >P). درصد اسپرم‌های متحرک، درصد ماده ژنتیکی اسپرم و زیستایی اسپرم‌ها در گروه‌های تجربی کاهش معنی‌دار را در این گروه‌ها نشان دادند.

واژه‌های کلیدی: کرچک، اسپرماتوژنز، لوله‌های اسپرم ساز.

مقدمه

کرچک (Castor bean)با نام علمی *Ricinus communis* گیاهی یک‌ساله و علفی، حاوی سه دانه بزرگ روغن‌دار، بیضی شکل، دارای پوسته‌ای صاف و براق است. رنگ دانه قرمز یا قهوه ای است. در روغن کرچک اسیدهای چرب به میزان: 87 درصد اسید ریسینولئیک، 7درصد اسید اولئیک، 3 درصد اسید لینولئیک، 2درصد اسید پالمتیک و به مقدار جزئی اسید دی هیدروکسی استئاریک وجود دارد. سموم مهلک ریسینین و ریسین Ricine، در پوسته‌ی دانه وجود داشته که ممکن است به علت فشار زیاد، به روغن منتقل شود. ریسین یک ماده گلیکوپروتئین با اثرسمی به فرمول شیمیایی $C_8H_8N_2O_2$و وزن مولکولی 164/16 است که در برگ و دانه کرچک یافت می‌شود. این پروتئین سمی می تواند باعث آگلوتیناسیون و همولیز گلبول‌های قرمز گردد. جوشانده ریشه و گیاه کرچک همراه با کربنات پتاسیم در درمان کمردرد، سیاتیک و روماتیسم مفید است(1). روغن کرچک به طور عمده از گلیسیریدهای اسید ریسینولئیک تشکیل شده است که پس از هیدرولیز توسط لیپازهای روده کوچک، اسید ریسینولئیک آزاد می‌شود. با اثر تحریکی روی عضلات لوله گوارش سبب تسریع جریان محتوای روده شده و فرصت جذب آب و الکترولیت‌ها را کاهش می‌دهد. تاکنون تحقیقات زیادی برروی گیاه کرچک انجام شده است که می‌توان به برخی از آن‌ها اشاره نمود. فعالیت ضد دیابت عصاره الکلی از ریشه گیاه کرچک که کاهش را در قند خون

www.SID.ir

ناشتا نشان داده است(24). عصاره پوسته دانه کرچک در حیوانات آزمایشگاهی اثرات محرک سیستم عصبی مرکزی را نشان داده است(4). هم‌چنین اثرات آنتی اکسیدانی (31)، اثرات ضدالتهابی (14) و فعالیت ضد میکروبی(۲۵،۱۵) آن نیز بررسی شده است. مطالعاتی نیز در مورد اثرات این گیاه در جلوگیری از باروری انجام گرفته از جمله:.Okwuasaba و همکارانش عصاره متانولی کرچک را برای جلوگیری از بارداری در جنس ماده بررسی کردند(23). هم‌چنین Goncim در2010 نشان داد که استفاده یک دانه کرچک در طی چرخه قاعدگی کاهش توسعه فولیکولی و جلوگیری از تخمک گذاری را به دنبال دارد(11). اثرعصاره اتانولی از ریشه گیاه کرچک نیز در موش صحرایی نر به مدت 60 روز در غلظت های50 و100 میلی‌گرم برکیلوگرم وزن بدن توسط لوله گذاری در معده همراه با کاهش شدید تعداد اسپرم، تغییر در تحرک، مورفولوژی اسپرم، کاهش در سطح فروکتوز و تستوسترون بود(26). مطالعه دیگری کاهش قابل توجهی در وزن اندام‌های تناسلی، عملکرد اسپرم و سطح سرمی تستوسترون نشان داد. هم‌چنین اختلال در لوله منی ساز و فرسایش اپی‌تلیوم ژرمینال نشان داده شد(32). با توجه به مطالعات صورت گرفته در این پژوهش بررسی اثر عصاره هیدرو الکلی دانه کرچک بر اسپرماتوژنز انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها

حیوانات

در این پژوهش 21 سرموش سوری نر نژاد NMRI از حیوان خانه دانشگاه علوم پزشکی ایران خریداری و به مدت یک هفته در شرایط دمایی طبیعی و روشنایی/ تاریکی مناسب با دسترسی آزاد به آب و غذا درون قفس های مخصوص که کف آن تراشه های چوب پوشیده شده بود در حیوان خانه دانشگاه آزاد اسلامی واحد پرند جهت سازگاری با محیط نگه‌داری شدند. بعد از زمان تطابق به صورت تصادفی به یک گروه کنترل و دو گروه تجربی که هر کدام شامل 7 سر موش بود تقسیم‌بندی شدند.

عصاره گیری(روش پرکولاسیون)

برای این پژوهش200گرم از دانه‌های خشک شده گیاه کرچک بعد از تهیه به وسیله آسیاب برقی با دورمتوسط پودرگردید. از اتانول 96٪ به عنوان حلال استفاده شد، بعد از استخراج عصاره محلول داخل بالن ریخته و بالن برای تغلیظ به دستگاه روتاری منتقل شد. عمل تقطیر در خلاء با دور30 درجه و دمای 50 درجه سانتی‌گراد انجام گرفت، در پایان از دانه های آسیاب شده 60 سی سی عصاره به‌دست آمد(3)

گروه‌ها

گروه های تجربی به ترتیب35 و 45 میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن عصاره هیدروالکلی گیاه کرچک و گروه کنترل نرمال سالین به مدت 30 روز به صورت درون صفاقی دریافت کردند(علت استفاده از این غلظت ها کاهش عوارض جانبی و کاهش مرگ و میر در حیوانات بوده است). 10 روز پس از آخرین تزریق ابتدا نمونه‌های هر گروه با استفاده از کلروفرم بیهوش سپس جراحی شدند، بیضه‌ها و اپی‌دیدیم خارج و با سرم فیزیولوژی شستشو با کولیس اندازه‌گیری شدند، وزن آن‌ها نیز توسط ترازوی دیجیتال با دقت 0/01mg اندازه گرفته شد. پس از آن جهت انجام مراحل بعدی به آزمایشگاه بافت شناسی منتقل شدند. پس از جدا کردن بیضه‌ها از بدن جانور و شستشو با سرم فیزیولوژی و انجام مراحل آماده‌سازی بافت برش‌گیری با میکروتوم انجام شد(ضخامت برش ها5 میکرون) و با هماتوکسیلین- ائوزین رنگ‌آمیزی شدند. سپس هر یک از گروه‌ها با استفاده از میکروسکوپ نوری (Olympus,Japan) مطالعه شدند.

بررسی پارامترهای اسپرمی

اپی‌دیدیم با نوک سرنگ انسولین از بیضه جدا و در 5 میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی به صورت قطعات کوچک برش

Archive of SID

www.SID.ir

زده و به مدت 5 دقیقه در انکوباتور 37 درجه سانتی‌گراد با CO_2 5٪ قرار داده شد تا اسپرم‌ها از توبول‌های اپی-دیدیمی خارج شوند. با استفاده از ملانژور گلبول‌های سفید سوسپانسیون اسپرمی را 20 برابر رقیق و یک قطره از سوسپانسیون حاصل را روی لام هماتوسیتومتر نئوبار قرار داده و پس از 2 دقیقه (برای ته نشینی)اسپرم‌ها را در چهارخانه بزرگ اطراف لام(4 میلی‌متر مربع) شمارش شد. سپس عددحاصل در50000 ضرب و تعداد اسپرماتوزوئیدها در یک میلی لیتر محاسبه شد.

تعیین درصدتحرک اسپرم(Motility of sperms)

برای مشخص کردن تحرک اسپرم در یک میدان دید اسپرم مورد بازبینی و مطالعه قرارگرفتند. اسپرم‌هایی که به طرف جلوحرکت می‌کنند دارای حرکت پیش رونده و بعد از آن حرکت نیمه متحرک و بعدحرکت درجا و بدون حرکت هستند. براساس تحرک اسپرم درصد تحرک اسپرم ثبت گردید.

بررسی ماده ژنتیکی اسپرم و ارزیابی میزان آسیب رشته DNA رنگ‌آمیزی آکریدین اورانژ

اکریدین اورانژ یک رنگ فلورسنت جهت تمایز DNA دو رشته ای سالم ازDNA تک رشته ای دناتوره شده می باشد. در این رنگ آمیزی که با استفاده از محیط اسیدی میزان مقاومت DNA به دناتوره شدن سنجیده می‌شود، اکریدین اورانژ در واکنش با مولکول DNA دو رشته‌ای رنگ سبز درخشان، با مولکول DNA تک رشته‌ای رنگ قرمز، باDNA حدواسط (نیمه بالغ) رنگ زرد تا نارنجی ایجاد می‌کند. در پایان رنگ آمیزی درصد اسپرم‌ها با DNA دناتوره تک رشته ای (قرمز رنگ)، وحالت حد واسط (زرد رنگ) تعیین گردید(25).

بررسی زیستایی اسپرم‌ها جهت تعیین درصد اسپرماتوزوئیدهای زنده (viability)

برای بررسی زیستایی اسپرم‌هااز تکنیکENT استفاده شد. در این تکنیک از دو رنگ ائوزین و نیگروزین (به عنوان رنگ زمینه جهت سهولت در تشخیص اسپرم های رنگ گرفته) استفاده شد. پس ازآن درصد اسپرماتوزوئیدهای زنده با میکروسکوپ نوری وبزرگنمایی40 بررسی شدند. در این تکنیک اسپرم‌های مرده صورتی رنگ ولی اسپرم های زنده بی‌رنگ مشاهده می‌شوند.

شمارش سلولی

بعد از آماده شدن لام‌ها اندازه‌گیری و شمارش‌های سلولی از بافت بیضه بدین ترتیب انجام شد. قطر لوله های اسپرم‌ساز توسط صفحه مدرج که بر روی عدسی چشمی میکروسکوپ قرار گرفت با عدسی10 اندازه گیری شد. هم‌چنین تعداد سلول‌های ژرمینال، تعداد اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت اولیه، اسپرماتید، اسپرم‌ها و سلول‌های لایدیگ، درهر لام در20 میدان دید متفاوت با عدسی100 میکروسکوپ نوری شمارش شدند. **تحلیل آماری** کلیه آنالیزهای آماری با استفاده از نرم افزارSPSS16 انجام شد. جهت تجزیه وتحلیل آماری از روش آماری ANOVA و تست Tukey استفاده گردید. سطح معنی‌داری$p<0/05$ در نظر گرفته شد. داده‌ها به صورت Mean±Sd نشان داده شده است.

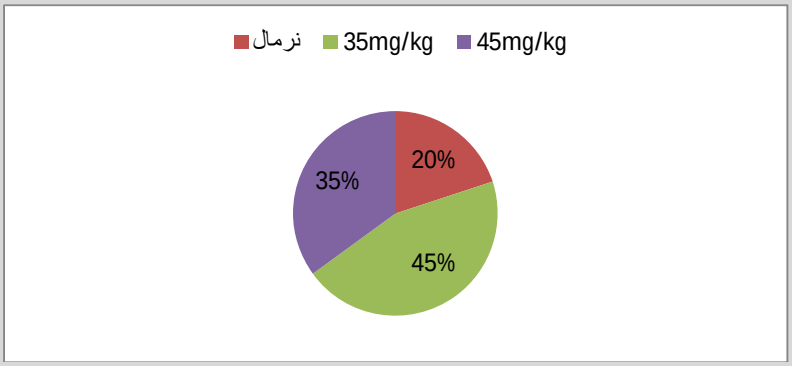
نتایج

بررسی‌های مورفومتریک استفاده از عصاره در اندازه اپی‌دیدیم‌ها در گروه کنترل(3/54± 28/34) و کاهش معنی‌داری را در گروه‌های تجربی به ترتیب (0/68 ±11/23) و (3/15 ±10/20)نسبت به گروه کنترل نشان داد($p<0/05$)، در وزن بیضه‌ها نیز در گروه‌های تجربی به ترتیب (0/01 ±0/11) و (0/01 ±0/10)نسبت به گروه کنترل (0/01±0/14)اختلاف معنی‌دار بود. در بررسی-های هیستولوژیک قطر لوله‌های اسپرم‌ساز کاهش معنی-دار تنها در گروه تجربی دو غلظت 45 mg/kg (10/25±69/6) نسبت به گروه کنترل(7/13±86/3) نشان داد($p<0/05$). اما قطر لایه ژرمینال در هر دو غلظت35 و45mg/kg وزن بدن (گروه های تجربی یک و دو) به

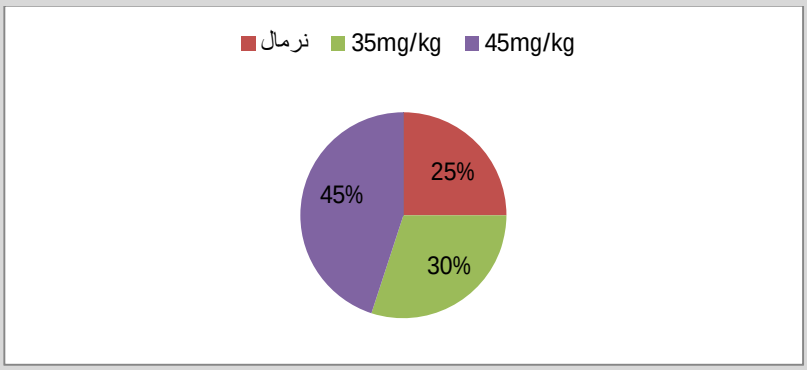
Archive of SID

www.SID.ir

ترتیب (19/64±0/85)و (17/55±1/59) کاهش معنی داری را نسبت به گروه کنترل(27/26±2/60) نشان داد($p<0/05$) (نمودار1 تا 3).



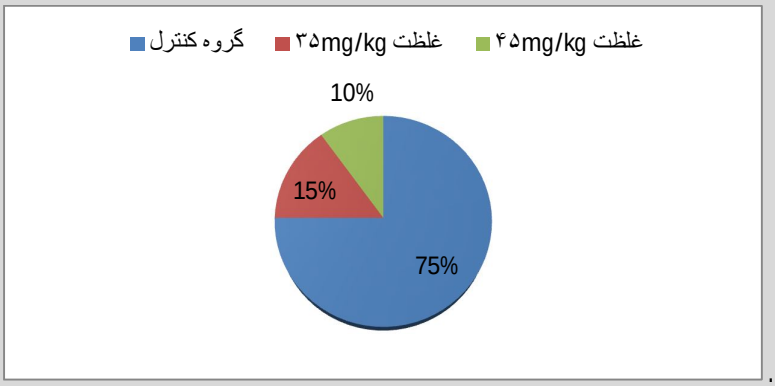
نمودار1- مقایسه درصد اسپرم‌های قرمز رنگ (DNA دناتوره تک رشته ای)درگروه کنترل و گروه‌های تجربی. (گروه‌های تجربی افزایش نسبت به گروه کنترل دارد($p<0/05$).



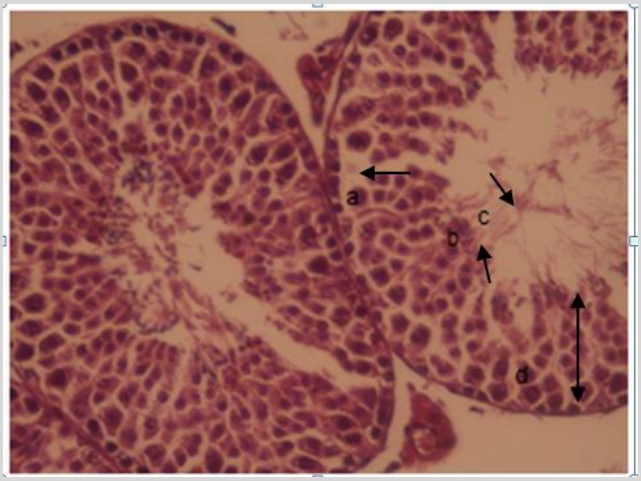
نمودار2- مقایسه درصد اسپرم‌های زرد رنگ(DNAحد واسط) درگروه کنترل و گروه های تجربی. (گروه‌های تجربی افزایش نسبت به گروه کنترل دارد($p<0/05$).

در بررسی پارامترهای اسپرم بین گروه های کنترل و تجربی درصد اسپرم‌های متحرک، میانگین شمارش اسپرمی با لام نئوبار(جداول1و2)کاهش معنی‌دار بین گروه‌های تجربی نسبت به گروه کنترل نشان داد. اما بررسی ماده ژنتیکی اسپرم(نمودار1و2) افزایش معنی‌دار بین گروه‌های تجربی نسبت به گروه کنترل نشان داد($p<0/05$). اختلاف درصد اسپرم‌های زنده نیز در گروه‌های تجربی نسبت به گروه کنترل معنی‌دار بود(نمودار3).هم‌چنین مشاهدات نشان دادند که شمارش تعداد سلول‌های رده اسپرمی: اسپرماتوگونی‌ها، تعداد اسپرماتوسیت اولیه، تعداد اسپرماتیدها، تعداد اسپرم‌ها و تعداد سلول های لایدیگ کاهش معنی‌داری را نسبت به گروه کنترل نشان دادند(جدول 3 و اشکال 1-3). در سنجش هورمون‌های جنسی کاهش معنی‌دار بین گروه-های تجربی و گروه کنترل مشاهده شد.

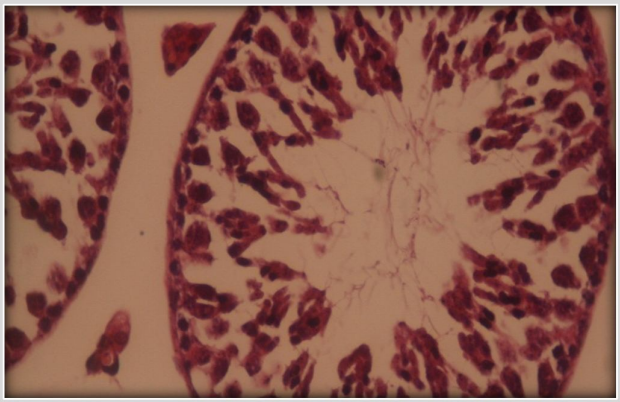
www.SID.ir



نمودار3- مقایسه درصد اسپرم‌های زنده در گروه کنترل و گروه‌های تجربی.
(گروه‌های تجربی کاهش نسبت به گروه کنترل دارد($p<0/05$).

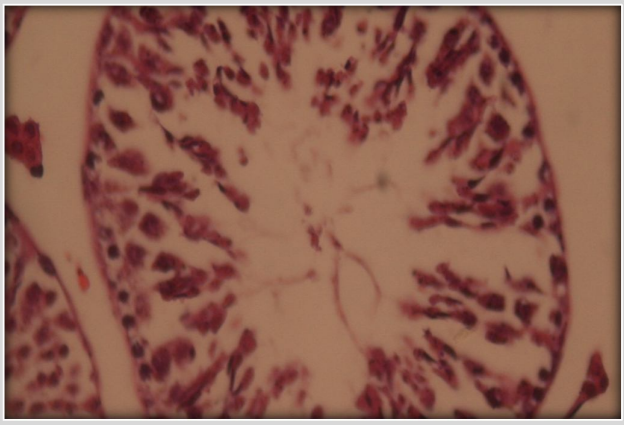


شکل1- فتومیکروگراف از بافت بیضه و لوله‌های سمینیفر در گروه کنترل با بزرگنمایی40x(رنگ آمیزی هماتوکسیلین - ائوزین).
a:سلول های اسپرماتوگونی،b: سلول‌های اسپرماتید (درحال تبدیل شدن به اسپرماتوزوئیدها)،c : سلول‌های اسپرماتوزوئید،d : سر فلش‌ها و لایه ژرمینال



شکل 2- فتومیکروگراف از بافت بیضه و لوله‌های سمینیفر در گروه تجربی یک با بزرگنمایی ٤٠x(رنگ آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین).
در این گروه تجربی کاهش تراکم سلول های اسپرمی نسبت به گروه کنترل دیده می شود.

www.SID.ir



شکل 3- فتومیکروگراف از بافت بیضه و لوله‌های سمینیفر در گروه تجربی دو با بزرگنمایی x٤٠(رنگ آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین) در این گروه تجربی کاهش تراکم سلول‌های اسپرمی نسبت به گروه کنترل دیده می شود.

جدول 1- اثر غلظت های مختلف عصاره کرچک بر میانگین واختلاف از معیار تعداد سلول های رده اسپرمی

تعدادسلول‌ها / گروه‌ها	تعداد اسپرماتوگونی	تعداد اسپرماتوسیت اولیه	تعداد اسپرماتید	تعداد اسپرم	تعداد لایدیگ
گروه کنترل	11/3533±1 /2834	7/6100±1/1449	10/1150±1/3208	12/9233±1/8930	0/9000±0/2415
غلظت35 (mg/kg)	5/4083±0/8273*	3/6017±0/6291*	4/6817±1/1363*	4/1017±0/9115*	0/6100±0/1397*
غلظت45 (mg/kg)	5/0650±0/8515*	2/4800±0/6562*	3/3183±0/3890*	3/0533±0/7355*	0/2967±0/5007*

علامت * کاهش معنی‌دار را در گروه‌های تجربی دریافت کننده عصاره نسبت به گروه کنترل نشان می دهد.

بررسی پارامترهای اسپرمی

نتایج به صورت درصد بیان شده است.درصد تحرک اسپرم ها در غلظت های 35 و mg/kg45 (گروه های تجربی) نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری داشته است(جدول2). میانگین شمارش اسپرمی اختلاف معنی دار را بین گروه های تجربی نسبت به گروه کنترل نشان می دهد(جدول3).

جدول 2- اثر عصاره هیدروالکلی کرچک بر درصد اسپرم‌های متحرک و غیر متحرک

اسپرم / گروه ها	بدون حرکت	با حرکات درجا و آهسته	نیمه متحرک	با حرکات پیش رونده
کنترل	%15	%10	%20	%55
غلظت35 mg/kg	%40	%15	%30	%15
غلظت mg/kg45	%60	%15	%15	%10

www.SID.ir

جدول 3- اثر عصاره هیدروالکلی کرچک بر میانگین شمارش اسپرمی با لام نئوبار تعداد اسپرم‌ها در یک میلی لیتر

گروه ها	میانگین شمارش اسپرمی با لام نئوبار
گروه کنترل	2350000
غلظت35mg/kg	1200000
غلظت45mg/kg	850000

بحث و نتیجه گیری

در این پژوهش بررسی اثر عصاره هیدروالکلی کرچک بر اسپرماتوژنز روشن ساخت که دریافت درون صفاقی عصاره دانه کرچک با غلظت های 35 و45 میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به مدت 30 روز به موش‌های سوری نر سبب کاهش قابل ملاحظه‌ای در شاخص‌های باروری مثل: کاهش سلول‌های رده اسپرمی در گروه‌های دریافت کننده عصاره نسبت به گروه کنترل دارد. از آن‌جا که اسپرماتوژنز فرآیندی است که توسط تغییر سنتز آندروژنی و تستوسترون مترشحه از سلول‌های لایدیگ فعال می‌شود، به نظر می‌رسد عصاره نام برده با تاثیر بر اندام‌های تولیدمثلی سبب اختلال در سنتز آندروژنی و به موجب آن اختلال در فرآیند اسپرماتوژنز می‌گردد. اندازه بیضه به شدت باتعدادسلول‌های سرتولی و تولیداسپرم مرتبط است، مهاراسپرماتوژنز از طریق برداشتن هیپوفیز باعث کاهش محسوس دروزن بیضه‌هامی‌شود. هم‌چنین قطرلوله‌های اسپرم‌سازیکی دیگرازشاخص‌های تعیین کننده اندازه بیضه‌ها است. به علت وجود این نکته که کاهش تعداد اسپرم موجب کاهش وزن بیضه‌ها می‌گردد، است. این کاهش نسبت به گروه کنترل دربیضه‌های گروه‌های تجربی معنی‌دار بود(27 ،8). تحقیق حاضر نشان داد که قطر لایه ژرمینال در گروه‌های تجربی نسبت به گروه کنترل معنی‌دار بوده است. در این پژوهش تعداد سلول‌های اسپرماتید و اسپرم مانند دیگر رده های اسپرمی در گروه های تجربی دریافت کننده عصاره کاهش یافته است. بنابراین می توان گفت که عصاره دریافتی در کاهش تعداد سلول‌های اسپرم موثر است(داده‌ها در قسمت نتایج نشان داده شده اند)، به نظر می رسد علت این کاهش‌ها در ترکیبات و موادی است که در دانه گیاه کرچک وجود دارد. براساس مطالعات انجام شده روند پیچیده اسپرماتوژنز وگذر ازسلول‌های ژرمینال تا رسیدن به مرحله بلوغ سلول‌های جنسی درگرو مصون ماندن از ضایعات پاتولوژیک وسیتوتوکسیکی است که این پدیده را مورد تهدید قرار می‌دهد(۱۶،۵). ماده سمی موجود در دانه کرچک نوعی ماده پروتئینی توکسالبومین به نام ریسین و ریسینین است، که در زمان عصاره‌گیری به عصاره نیز منتقل شده و جزءفیتوتوکسین‌ها طبقه‌بندی شمی‌شوند. به‌طورساده مکانیسم اثر این سم‌ها جلوگیری ازساخت پروتئین‌های مورد نیازدرسلول و نتیجتاً مرگ سلول است. مطالعات مشابه هم اثر عصاره دانه کرچک را به فعالیت لیپولیتیکی لکتین در بخش سمی دانه کرچک که همان ریسین است نسبت می‌دهند(12،8 ،6). کلسترول از پیش ماده‌ای برای فرآیند بیوسنتز آندروژنی است که در مطالعات قبلی نشان داده شده است(21). در مطالعه‌ای مکانیسم اثر ریسین را اختلال در روند اسپرماتوژنز ذکر کرده‌اند، در این مطالعه ذکر شده است که سلول‌های سرتولی به خاطر حضور گلیکوکونجوکیت‌های (glycoconjugates) ریسین هدف مناسبی برای ریسین هستند، مطالعات دیگر نیز این مسئله را تایید نموده است(13،7). به طور معمول غشای پلاسمایی اپیکال سلول‌های سرتولی و سلول‌های اطراف و اسپرماتیدها در تشکیل اسپرم دخالت دارند، اختلال در سلول‌های سرتولی باعث انتشار سلول‌های نابالغ در مقاطع

Archive of SID

www.SID.ir

بافتی بیضه می‌گردد. این امکان وجود دارد که استفاده از عصاره می‌تواند درعملکرد سلول‌های سرتولی اختلال ایجاد کرده و یا مستقیماً روی سلول‌های لیدیگ اثر بگذارد و در نتیجه باعث ازهم گسیختگی سلول‌های زایای اولیه وکاهش درتعداد رده‌های اسپرمی-شود(۱۸،۱۰). آنالوگ اسید استیک از گوسیپول (gossypol) که ترکیب آلدئید سمی و رنگدانه پلی فنولیک در پنبه دانه است منجر به کاهش در تعداد میکروتوبول‌ها در اسپرماتوسیت‌ها و اسپرماتیدها می-گردد(15). اثر عصاره دانه کرچک نیز می‌تواند به علت اختلال در عملکرد سلول‌های سرتولی و لایدیگ باشد عملکرد عصاره در این سلول‌ها مشابه گوسیپول است که به علت به‌هم ریختگی سلول‌های زایای اولیه، کاهش در تعداد سلول‌های زایا را به دنبال دارد(29). به نظر می‌رسد که همین اختلال و کاهش سلول‌های رده اسپرمی در مورد این پژوهش نیز صادق باشد. روغن دانه کرچک به طورعمده ازتری‌گلیسیریدها یا اسیدریسینولئیک تشکیل شده است که پس ازهیدرولیز توسط لیپازهای روده کوچک، اسیدریسینولئیک آزاد می‌شود. اسید ریسینولئیک موجود در دانه جزئ اسیدهای چرب غیراشباع است. سلول‌های چربی می‌توانند اسیدهای چرب را در فرآیندی که با انسولین سرعت می‌گیرد، از گلوکز سنتز نمایند. انسولین برداشت گلوکز به داخل سلول‌های چربی را از طریق افزایشی در سنتز لیپوپروتئین لیپاز تحریک می‌کند. چربی‌های ذخیره شده توسط مکانیسم‌های هومورال و عصبی به حرکت در می‌آیند. این امر منجر به آزاد شدن اسیدهای چرب و گلیسرول به داخل خون می‌شود(2)، شاید بتوان گفت که افزایش وزن حیوانات در گروه‌های دریافت عصاره نیز به دلیل افزایش اسیدهای چرب در بدن حیوانات باشد. اسیدریسینولئیک باعث اسپرم‌کشی نیز می‌شود و احتمالاً این اثر در اسپرم در بیضه و اپیدیدیم ازطریق ممانعت ازاعمال استروئیدوژنزاست. هورمون‌های استروئیدی محلول در چربی هستند. کاهش وزن بیضه واپیدیدیم باکاهش سطح سرمی هورمون تستوسترون همراه بوده است (28). این پژوهش کاهش معنی‌داری در سطح تست های هورمونی بین گروه تجربی و کنترل در گروه های تجربی نشان داد(نتایج اعلام نشده است)، در پژوهش‌های دیگر نیز کاهش سطح تستوسترون سرم به علت جلوگیری ازترشح پروتئین متصل شونده به آندروژن مشاهده شده بود(32، 22). با توجه به کاهش غلظت سرم‌های خون در گروه‌های تجربی به نظر می‌آید که این کاهش وابسته به غلظت عصاره باشد و با افزایش غلظت عصاره اختلاف معنی‌داری بین سطح غلظت سرم نسبت به گروه کنترل داشته باشد. به طورکلی هورمون FSHباعث تسریع در تقسیم سلول تحریک و تبدیل سلول‌های اسپرماتوگونی به سلول‌های اسپرماتوزوئید می-شود، FSH با اتصال به سلول‌های سرتولی سبب تحریک آدنیلات سیکلاز و افزایش cAMP و باعث ساخت و ترشح ABP(پروتئین متصل شونده به آندروژن) می‌شود. این پروتئین با اتصال به تستوسترون، آندروژن را جهت فرآیند اسپرم‌زایی به درون لوله‌های اسپرم‌ساز هدایت می‌کند. با کاهش غلظت FSH این عمل کاهش یافته و در نتیجه میزان اسپرم‌های موجود با کاهش مخصوصی همراه خواهد بود. FSH فعالیت آروماتاز را در سلول‌های سرتولی تحریک می‌کند(30). این هورمون در تبدیل سلول‌های پیش ساز جنسی به اسپرماتوگونیا دخیل است(19). عامل دیگری که می‌تواند در فرآیند تولید اسپرم موثر باشد هورمون تستوسترون بوده که در نتیجه تحریک هورمون LH و از سلول‌های لایدیگ بیضه ترشح می شود، به نظر می‌رسد که کاهش سطح تستوسترون آزاد به علت افزایش تولید گلوبولین متصل کننده هورمون جنسی SHBG توسط کبد است(20). کاهش سطح تستوسترون و FSH که در سطح سلول‌های

Archive of SID

www.SID.ir

سرتولی دارای گیرنده هستند، احتمالاً باعث کاهش عملکرد سلول‌های سرتولی و عدم حمایت فیزیکی و شیمیایی آن‌ها از اسپرماتوگونی‌ها و تکامل آن‌ها می-شود(17). احتمالاً علل ذکر شده هم باعث اختلاف معنی‌دار هورمون‌های جنسی در گروه‌های دریافت عصاره نسبت به گروه کنترل بوده است. آتروفی لوله‌های اسپرم‌ساز و کاهش سلول‌های رده اسپرمی نشانه‌های مورفولوژیک اختلال دراسپرماتوژنزهستند(9). در گروه تحت درمان با عصاره هیدروالکلی کرچک کاهش اسپرماتیدها و بافت بیضه طبیعی بود، در گروه کنترل بافت بیضه با توبول‌های اسپرم‌ساز متعدد حاوی سلول‌های اسپرم در تمام مراحل اسپرماتوژنز، اسپرماتوسیت اولیه و اسپرماتید قابل مشاهده بود. هم‌چنین در بررسی دم اپیدیدیم کمترین تحرک اسپرم و بیشترین تعداد در گروه تحت درمان با عصاره دیده شده بود(10). کاهش در قابلیت زیستایی و زنده ماندن اسپرم -ها ممکن است به دلیل عمل اسپرم‌کشی عصاره باشد. عصاره باعث کاهش درتمام سلول‌های رده اسپرمی و هورمون‌های جنسی نسبت به گروه کنترل می‌گردد. ازاین رو از این گیاه می‌توان به عنوان عامل پیشگیری ازبارداری جنس نر با منشا طبیعی استفاده کرد.

منابع

1-ای.ا.وایس. 1370. دانه‌های روغنی. ترجمه: فرشته ناصری. ناشر: معاونت فرهنگی آستان قدس رضوی. چاپ اول.

2-کلی، رابرت.، کارنیرو، خوزه.، کوئیرا، جان.، کالوی، لوئیز. 1378. بافت شناسی پایه. ترجمه شارقی قهرمان، مهران.، ریاضی اصفهانی، محمد.، بهادری، مسلم. نشر کتب دانشگاهی فصل ششم.

3- شریعتی، مهرداد .، اسفندیاری، آرش .، مدرسی، مهرداد .، رحمانی، زهرا.1390. اثر ضد باروری عصاره آبی الکلی برگ گیاه پونه درموش صحرایی نر بالغ. مجله دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی سبزوار. دوره 19، شماره1، صفحات:41-34.

4. Anete. C., Ferraz, Miriam Elizabeth M.(1999). Pharmacological evaluation of ricinine, a central nervous system stimulant ricinine isolated from *Ricinus communis.* Pharmacology Biochemistry and Behavior , 63(3); 367-375.

5.Agarwal, A., Nallella, K. P., Allamaneni, SS., Said, TM. (2004). Role of antioxidants in treatment of male infertility an overview of the literature. ReprodBiomed Online, 8(6); 616-627.

6.Al-Tahan, F. J., Al-Shaha, O. M. S. (1990). A primary study on castor beans cultivated in iraq and it's content of the toxic substance ricin. The Proceeding of the 2nd Technical Education Conference,Baghdad, Iraq. pp. 227-240.

7.Arenas, M., I,Madrid, J. F., Bethencourt, F. R., Fraile, B., Paniagua, R. (1998). Lectin histochemistry of the human testis. J. Histochemistry, 21; 332-342.

8.Berndtson, W. E., Igboeli, G., Parker, W. G. (1987). The numbers of sertoli cell in mature Holstein bulls and their relationship to quantitative aspects of sperm autogenesis. BiolReprod, 37; 60-67.

9.Cameron, D. F., Murray, F. T., Drylie, D. D. (1985). Imterstitial compartment pathology and spermatogenic disruption in testes from impotent men. Anat Rec, 213; 53-62.

10. Ekwere, O. E., Thecla, R., Okwuasaba, McNeil, F. K. (2011). The effect of *Ricinuscommunis*-linn (RICOM 1013-J) on semen parameters: A comparative study. JPCS, 1; 7-11.

11. Goncim, H.Y., Mador, E.S. (2010). Ogunranti. *Ricinus communis* var Minor inhibits follicular development and possibly ovulation in human subjects as shown by ultrasound follicle tracking. clinical Medicine Insights: Reproductive Health, 4; 35-38.

12. Gruenwald, J., Brendler, T., Jaenicke, C. (2000). PDR for herbal medicines.(Book) Medical Economics Company, Inc. P. 159.

13. Gheri, G., Sgambati, E., Thyrion, G. D., Vichi, D., Orlandini, G. E. (2004). The oligosaccharidic content of the glycoconjugates of the prepubertal descended and undescended testis: lectinhistochemical study. Ital. J. Anat. Embryol, 109 (2); 69-84.

14. Ilavarasan, R., Mallika, M., Venkataraman, S. (2006). Anti-inflammatory and free radical scavenging activity of *Ricinus communis* root

Archive of SID

www.SID.ir

478–480.
15. Islam, T., Bakshi, H., Sam, S., Sharma, E., Hameed, B., Rathore, B. (2010). Assessment of antibacterial potential of leaves of *Ricinus communis* against pathogenic and dermatophytic bacteria. In International Journal of Pharma Research and Development-Online, 1(12); 54-60.
16. Kalla, N. R., Weinbaeur, G. F., Rovan, E., Frick, J. (1983). Effect of gossipol on testicular testosterone production in vitro. J Androl, 4; 331-335.
17. Karen, A. L., Tankarel, De. G., Nina, A. (2005). The role of androgens in sertoli cell proliferation and functional maturation: studies in mice with total or sertoli cell-selective ablation of the androgenreceptor. university of edinburgh.Endocrinology, 146(6); 2674-2683.
18. Lumbard, S., Helmy, E.M., Pieroni, G. (2001). Lipolytic activity of ricin from *Ricinus sanguineus* and *Ricinus communis* on neutral lipids. Biochem. J, 358; 773–781.
19. Lee, V.W.K., Burger, H.G. (1983). Pitutary testicular axis during pubertal development, In: the pituitary and testis, clinical and experimental studies, Eds, de kretserD.m; Burger H.G. Hudson B; Heidel berg Springer_verlag, 44-70.
20. Laaksonen, D. E., Niskanen, L., Punnonen, K. (2004). Testosterone and sex hormone-binding globulin predictthe metabolic syndrome and diabetes in middle-aged men. Diabetes Care, 27; 1036- 1041.
21. Murray, K. R., Granner, K. D., Mayes, A. P., Rodwell, W. V. (2003). Harper's Illustrated Biochemistry, 26th Edition. Lange Medical Books, McGraw-Hill Boston, Toronto, New Jersey P. 111.
22. Mustafa, A., Jasim, Farid, J. O., Tahan, Al. (2012). Study of the effect of decorticated and defatted Castor seeds (*Ricinus communis* Linn.) on testosterone level and testicular architecture of male mice. JCSC, 12(2); 176-180.
23. Okwuasaba, F.K., Das, S. C., Isichei, C.O., Ekwenchi, M.M., Onoruvwe, O., Olayinka, A.O. (1997). Pharmacological studies on the antifertility effects of RICOM-1013-J from extract. In Journal of Ethnopharmacology, 103; *Ricinus communis* var minorand preliminary clinical studies on women volunteers. In Phytotherapy Research, 11(8); 547-551.
24. Poonam,Sh., Prachi, A., Murali, Y. K., Tandon, V. (2008). Antidiabetic activity of 50% ethanolic extract of *Ricinus communis* and its purified fractions. Food and Chemical Toxicology, 46(11); 3458-3466.
25. Ross, I.A. (2001). Medicinal plants of the world: chemical constituents, traditional and modern medicinal uses, vol. 2, 1st edition. Totowa, New Jersey, USA: Humana Press. p.375-380. ISBN 0-89603-877-7.
26. Sandhyakumary, K. (2003). Antifertility effects of *Ricinus communis* Linn. On rats. Phytothor.Res. 17(5); 508-511.
27. Slegtenhorst-Eegdeman, K. E., De Rooi, JDG., Verhoef-post, M.,Van de kant, Hj., Bakker, CE., Oostra, BA. (1998). Macroorchidism in FMRI Knochout mice is caused by increased sertoli cell proliferaction during testicular development. Endocinology, 139; 159-162.
28. Setty, BS., Riar, SS., Kar, AB. (1977). Androgenic control of epididymal function in rhesus monkey and rabbit. FertSteril, 22; 674-681.
29. Tanphaichitr, N., Sobhon, P., Taluppeth, N., Chalermisarachai, P. (1978). Basic nuclear proteins in testicular cells and ejaculated spermatozoa in man. Exp. Cell Res, 117; 347–356.
30. VanDamm, M.P., Robertson, D.M., Marana, R., Ritzen, E.M., Dicfalusy, E. (1979). A sensitive and specific in vitro bioassay method for the measurement of follicle- stimulating hormone activity. ActaEndocrinol, 91;224.
31. Williamson, E.M. (2002). In Major herbs of ayurveda, 1st edition. London, UK: Churchill Livingstone, p. 252-254.
32. Raji, Y. KoladeOloyo, A. (2006). Effect of methanol extract of *Ricinus communis* seed on reproduction of male rats. Asian Journal of Andrology, 8; 115–121.

.
.

Archive of SID

www.SID.ir