

ارزیابی اثر عصاره هیدروالکلی سیر بر مولفه های هورمونی، کلینیکال پاتولوژی و هیستوپاتولوژی بافت بیضه در خروس

پیمان آزرده دست^۱، مجید غلامی آهنگران^۲، الهام مقتدایی خوراسگانی^۳

۱- دانش آموخته دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران.

۲- بخش علوم درمانگاهی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران. mgholami6@gmail.com

۳- بخش پاتوبیولوژی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۹/۵/۲۰ تاریخ پذیرش: ۹۹/۶/۳۰

چکیده

زمینه و هدف: استفاده از سیر به عنوان یک داروی تقویت کننده جنسی در طب سنتی رایج است. سیر دارای ترکیبات آنتی اکسیدانی فراوانی است. لذا هدف از این مطالعه بررسی تاثیر عصاره هیدروالکلی سیر بر میزان هورمون های متابولیک و تستوسترون و نیز بافت شناسی بیضه در خروس می باشد.

روش کار: در این مطالعه تجربی از تعداد ۱۰۸ خروس نژاد گلپایگانی استفاده شد. خروس ها به ۴ گروه شامل کنترل و تحت درمان با دوزهای ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ میلی-گرم در لیتر عصاره هیدروالکلی سیر تقسیم شدند. تجویز عصاره به مدت ۱۴ روز و به شکل آشامیدنی انجام گرفت. در پایان آزمایش، میزان تستوسترون، T3 و T4 سرمی و نیز شاخص های ارزیابی کبد، پروفایل لیپیدی سنجیده و بافت بیضه از لحاظ تغییرات هیستولوژی مورد بررسی قرار گرفت.

یافته ها: سطح سرمی تستوسترون، T3 و T4 در گروه تحت درمان با دوز ۱۵۰۰ میلی گرم در لیتر عصاره سیر افزایش معنی داری داشت ($p < 0/05$). اگرچه میزان آنزیم های کبدی در گروه های مختلف، اختلاف معنی داری را نشان نداد اما میزان تری گلیسیرید و کلسترول در گروه های دریافت کننده غلظت های مختلف عصاره سیر کاهش نشان داد. در گروه های تحت درمان با دوز ۱۰۰۰ و ۵۰۰ میلی گرم در لیتر عصاره سیر، تعداد لوله های اسپرم ساز و تعداد اسپرم نرمال نسبت به سایر گروه ها بیشتر بود. نتیجه گیری: ترکیبات بیولوژیک موجود در سیر با تغییرات فیزیولوژیک و هورمونی قادر به افزایش قدرت باروری از طریق افزایش تراکم مجاری اسپرم ساز و افزایش جمعیت اسپرم نرمال هستند.

واژه های کلیدی: عصاره سیر، خروس، تستوسترون، بیضه.

مقدمه

صرفه نیست. به نظر می رسد که هر دو جنس مرغ و خروس در ارتباط با کاهش باروری، دخالت داشته باشند اما این مساله عمدتاً مربوط به خروس است زیرا باروری می تواند با استفاده از تلفیح مصنوعی و جایگزینی خروس های مسن با خروس های جوان در گله های تجاری حفظ و افزایش داده شود. هم چنین در گله های با جفت گیری طبیعی، یک خروس به طور متوسط با ۱۰-۸ مرغ جفت گیری می کند؛ بنابراین تاثیر خروس در باروری کل گله بسیار زیاد است. تاثیر

بهره وری در خروس های ماکیان از زمان بلوغ جنسی آغاز می شود و پس از آن وزن بیضه ها افزایش می یابد به گونه ای که در خروس های بالغ، وزن بیضه ها به ۱۰ برابر می رسد (۵). در گله های خروس مولد معمولاً در آغاز دوره تولید مثلی سطوح بالای باروری دیده می شوند، اما توان باروری به سرعت کاهش می یابد. معمولاً میزان باروری با گذشت دو سوم دوره تولید افت می کند و نگهداری و بهره برداری از این خروس ها از نقطه نظر اقتصادی خیلی پایین است و به

شود (۲۴). اگر چه مکانیسم اثر گذاری سیر بر پارامترهای هورمونی و کلینیکال پاتولوژی به خوبی مشخص نیست اما به نظر می رسد سیر با فعالیت آنتی اکسیدانی بالا مانع از اثرات عوامل اکسیدان و رادیکال های آزاد اکسیژن بر سلول های اسپرم و اسپرم ساز می گردد به طوری که حسینی و خاکی در سال (۲۰۱۴) اثر عصاره آبی سیر بر روی مورفولوژی، تحرک، غلظت و فعالیت آنتی اکسیدانی اسپرم در موش صحرایی مورد ارزیابی قرار دادند. در آن مطالعه غلظت اسپرم، حرکتی و مورفولوژی اسپرم بررسی و فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) اندازه گیری شد. نتایج حاصل نشان داد سیر با افزایش SOD خون باعث کاهش وابسته به دوز درصد اسپرم های طبیعی و غلظت اسپرم شد. لذا به نظر می رسد سیر با افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی می تواند اثرات مفیدی را بر ساختار ریخت شناسی بافت اسپرم ساز داشته باشد (۱۳). هم چنین در مطالعه دیگری اثرات حفاظتی سیر در مقابل اثرات سمیت کادمیوم در موش مورد مطالعه قرار گرفته است و نشان داده شده است که سیر می تواند به دلیل افزایش دفاع آنتی اکسیدانی و کلاته کردن فلزات در کاهش آسیب ناشی از سموم بر بافت بیضه مفید باشد (۱۶). با این که خروس ۶۰ درصد اندکی از جمعیت گله مرغ مادر را تشکیل می دهد اما در ۵۰ درصد از ژنتیک نتاج سهیم هستند. بنابراین، کاهش عملکرد تولید مثلی خروس ۶۰ها موجب کاهش نرخ تولید مثل گله می شود. مطالعات مختلف نشان داده است که مولفه های مختلفی نظیر وزن بدن، سن، فصل و نور و تغذیه بر تولید مثل و باروری تأثیر دارند. با توجه به این که وراثت پذیری صفات تولید مثلی نسبتاً پایین است، فاکتورهای غیر ژنتیکی هم چون تغذیه اثرات مهم تری بر عملکرد تولید مثلی طیور دارند (۵). هدف از این مطالعه بررسی اثرات عصاره سیر بر فراسنجه های

خروس در باروری گله به دو عامل فعالیت جفت گیری و کیفیت اسپرم بستگی دارد. هم چنان که خروس مسن می شود، میزان تستوسترون و LH پلاسمای خروس ها با افزایش سن کاهش می یابد و مقدار منی و تعداد اسپرماتوزوآ در هر بار جفت گیری کاهش می یابد. هم چنین با افزایش سن خروس، توانایی باروری اسپرماتوزوآها نیز کاهش می یابد (۸، ۱۴). آگاهی از فراسنجه های تولید مثلی خروس برای تشخیص مشکلات باروری در گله و بکارگیری تکنیک های نوین و طبیعی مانند استفاده از گیاهان دارویی می تواند از بروز خسارت های مربوط به کاهش باروری و کاهش جوجه در آوری جلوگیری کند (۱۱، ۱۲). سیر با نام علمی *Allium sativum* از تیره سوسنیان است که با پیاز هم خانواده است (۱۳). سیر یکی از گیاهانی است که دارای تاریخچه طولانی در علم پزشکی است. استفاده از آن به عنوان گیاه دارویی و طعم دهنده غذا بسیار متداول است (۱۶). سیر دارای ترکیبات مختلف از جمله ویتامین ها، الیسین - اجوئن و ترکیبات گوگرد دار و آنتی اکسیدان ها می باشد. آلیسین در ترکیب دارویی نقش اساسی دارد و اغلب خواص دارویی سیر ناشی از تجزیه آلیسین است. تا کنون خواص ضد باکتریایی، ضد ویروسی، ضد سرطانی و ضد انگلی آن در مطالعات مختلف مورد تایید قرار گرفته است (۲۶، ۱۰). میر فردی و همکاران در طی تحقیقی بیان داشتند که عصاره هیدروالکلی سیر در موش های صحرایی نر بالغ تحت درمان با داروی شیمی درمانی سیکلوفسفامید سبب افزایش وزن بدن، وزن بیضه ها و اسپرماتوزن نسبت به گروه کنترل می شود (۱۷). هم چنین اثرات محافظتی سیر بر موش های دیابتی شده با استرپتوزوسین نشان داد عصاره سیر باعث افزایش ظرفیت تام آنتی اکسیدانی، افزایش سطح سرمی تستوسترون سرم و بهبود پارامترهای اسپرم می

شدند و تحت تیمار های مختلف قرار گرفتند. به منظور بررسی اثرات عصاره بر پارامترهای تولید مثلی، تمامی خروس ها به ۴ گروه ۹ تایی و ۳ تکرار شامل گروه کنترل و گروه های تجربی دریافت کننده عصاره با دوز ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۱۵۰۰ میلی گرم در لیتر تقسیم شدند. عصاره سیر به مدت ۱۴ روز در آب آشامیدنی در گروه های تجربی استفاده شد (۸).

خون گیری و آزمایشات بیوشیمیایی

در پایان دوره آزمایش تمامی خروس ها خونگیری شده و پس از آسان کشی بافت بیضه جدا سازی شد و در فرمالین ۱۰ درصد جمع آوری گردید. نمونه های خون با ماده ضد انعقاد جهت تهیه پلاسما و بدون ماده ضد انعقاد جهت تهیه سرم جمع آوری شدند. نمونه های سرم ها جهت اندازه گیری فاکتورهای بیوشیمیایی آماده شدند. برای جداسازی پلاسما نمونه های خون در ۳۰۰۰ دور به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شده و نمونه های پلاسما در تیوب های ۰/۵ میلی لیتری نگهداری و در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی گراد تا زمان سنجش تستوسترون نگهداری شد. آزمونهای اسپاراتات آمینوترانسفراز (AST)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، تری گلیسیرید (TG) و کلسترول (CHL) به روش اسپکتروفتومتری و توسط کیت های پارس آزمون سنجش شد. اندازه گیری نمونه تستوسترون به روش الیزا توسط با کیت های خریداری شده از شرکت AMSBIO (مخصوص سنجش تستوسترون پرندگان) انجام و در مورد هورمون های T3 و T4 از روش الیزا و کیت های پیشتاز طب استفاده شد. علاوه بر آن بیضه ها با استفاده از پنس و قیچی به شکل کامل از بدن خارج شده و نمونه های بافتی از بیضه ها در فرمالین ۱۰ درصد (Merck, Germany) جمع آوری شد. از نمونه های بلوک های پارافینی تهیه گردید و از بلوک های بافتی به دست آمده با استفاده از میکروتوم (Leica,

سرمی و ساختار بافت شناسی بیضه در خروس های بالغ می باشد.

مواد و روش ها

عصاره گیری

در این پژوهش عصاره ی سیر تازه تهیه شده در مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه آزاد شهرکرد به شیوه ماسراسیون تهیه گردید. جهت تهیه عصاره سیر، مقدار ۱۵۰۰ گرم سیر تازه خریداری و پوسته های خارجی با دست جدا و به قطعات کوچک خرد شد. سیرهای خرد شده در یک ظرف شیشه ای ۵ لیتری ریخته شد و اتانول ۷۰ درصد (مرک آلمان) به آن اضافه شد تا کل سیر در حلال اتانول به مدت ۴۸ ساعت در دمای آزمایشگاه غوطه ور گردد. برای جداسازی ناخالصی های حاصل از گیاه له شده، محلول به دست آمده با کاغذ صافی واتمن عبور صاف و محلول حاوی سیر به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۴۰ تا ۴۵ درجه سانتی گراد نگهداری و مجدداً صاف گردید. فرآورده حاصل به دستگاه تقطیر در خلا روتاری (استریک، ایتالیا) منتقل شد. در نهایت عصاره حاصل در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد خشک گردید (۹). به این ترتیب میزان عصاره به دست آمده از ۱۵۰۰ گرم سیر معادل ۳۵۰ گرم بود. این عصاره جامد و به رنگ طلایی تا قهوه ای بوده و قابل انحلال در آب می باشد. عصاره به دست آمده با دوزهای ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ میلی گرم در لیتر آب آشامیدنی طیور به مدت ۱۴ روز مورد استفاده قرار گرفت (۱۲).

گروه بندی

در مجموع ۱۰۸ خروس ۳۲ هفته ای نژاد گلپایگانی برای این مطالعه مورد استفاده قرار گرفت. خروس ها با شرایط ظاهری سالم و میانگین وزن مشابه (180 ± 80 گرم) در سالن پرورش طیور تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد برای مدت ۱۴ روز نگهداری

عصاره سیر با دوز پایین، و متوسط و در بین گروه‌های دوز متوسط و دوز بالا وجود ندارد، بعلاوه سه گروه دوز پایین، متوسط و بالا با گروه کنترل اختلاف معنی‌داری را نشان داد ($p \leq 0.05$). از نظر میزان کلاسترول بین گروه‌های دریافت کننده عصاره سیر دوز پایین، متوسط و کنترل و نیز بین گروه‌های دوز متوسط و بالا اختلاف معنی‌داری وجود ندارد. بعلاوه در بین گروه کنترل و دریافت کننده دوز پایین و متوسط با گروه دریافت کننده دوز بالا اختلاف معنی‌دار دیده می‌شود ($p < 0.05$).

نتایج هیستوپاتولوژی بیضه

گروه کنترل از بافت سالم و یکنواختی برخوردار بود که همه رده‌های سلولی در لوله‌های اسپرم ساز قابل مشاهده است (شکل ۱). عمده تغییرات مشاهده شده در گروه‌های مختلف به صورت تغییر شکل لوله‌ها، کاهش جمعیت سلول‌های دیواره لوله‌ها، بی‌نظمی آرایش سلولی، جدا شدن سلول‌ها از یکدیگر بود. به طوری که در گروه اول و تجویز عصاره با دوز ۵۰۰ میلی‌گرم این بی‌نظمی و کاهش جمعیت سلولی بیشتر مشهود بود (شکل ۲). با افزایش دوز عصاره سیر در گروه‌های دوم و سوم بی‌نظمی سلولی کاهش و افزایش سلول‌های اسپرماتوگونی و رده‌های دیگر سلولی بیشتر مشهود بود. ضخامت اپیتلیوم ژرمینال در گروه اول (دریافت کننده عصاره با غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم) نسبت به ۲ گروه دیگر روند رو به کاهش را نشان داد. هم‌چنین بی‌نظمی در شکل توپول‌ها در گروه‌های دوم و سوم دیده نشد. مقاطع بافت بیضه و لوله‌های اسپرم ساز در گروه‌های تحت مطالعه در اشکال ۱ تا ۴ نشان داده شده است.

(Germany) برش‌هایی عرضی با ضخامت ۷ میکرومتر تهیه شد. در مرحله بعد با استفاده از رنگ آمیزی هماتوکسیلین-انوزین (Sigmam, USA) رنگ آمیزی و قرائت شد.

تحلیل آماری

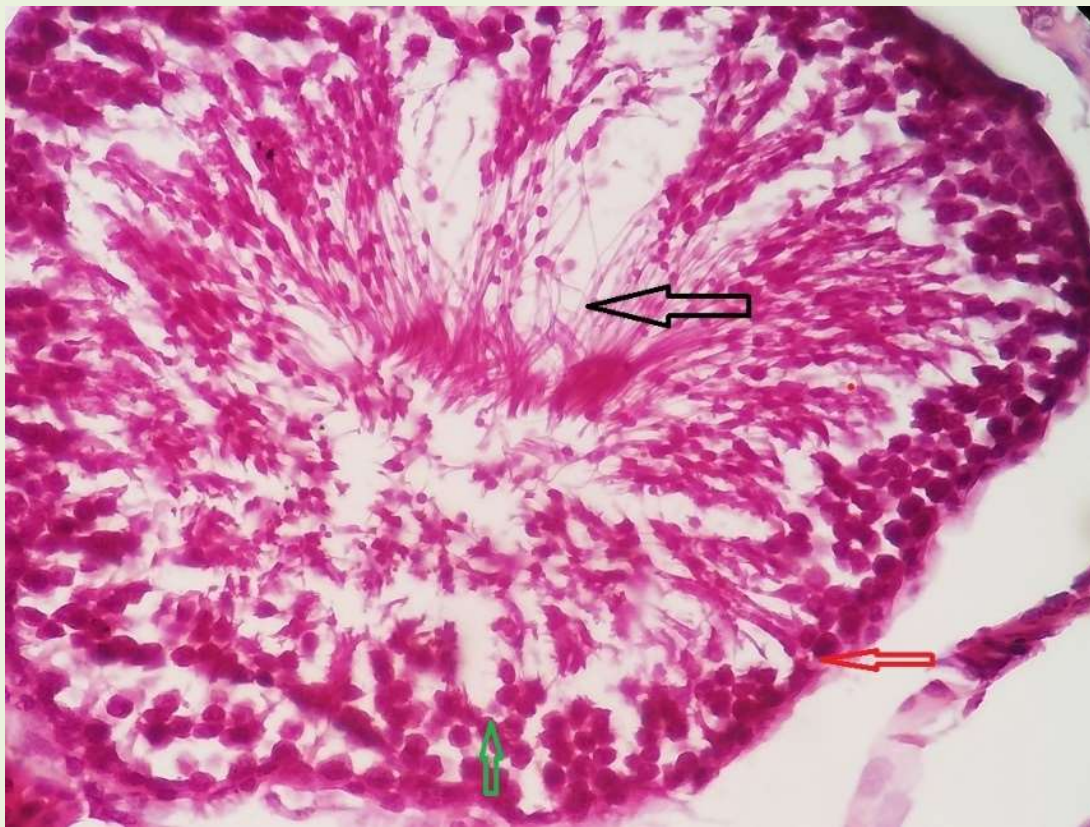
میانگین متغیرهای مورد بررسی بین گروه‌های تجربی و کنترل با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه ANOVA و آزمون تعقیبی TUKEY در سطح اطمینان ۹۵ درصد انجام شد. تفاوت‌ها در صورتی که $p \leq 0.05$ باشد معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج

تأثیر دوزهای ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ میلی‌گرمی در لیتر آب آشامیدنی از عصاره هیدروالکلی سیر بر فاکتورهای خونی و هیستوپاتولوژی بافت بیضه در خروس‌های ماکیان در جدول ۱ ارائه شده است. آنالیز آماری در جدول ۱ نشان می‌دهد که میزان هورمون T3 تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های دریافت کننده عصاره سیر با دوز متوسط و بالا و نیز بین گروه کنترل و دوز پایین وجود ندارد ($p \leq 0.05$). در مورد هورمون T4 تفاوت معنی‌داری در بین گروه‌های دریافت کننده دوز متوسط و بالا و نیز بین گروه‌های کنترل و دوز پایین وجود ندارد ($p \leq 0.05$). در خصوص مقدار هورمون تستوسترون مشاهده می‌شود که اختلاف معنی‌داری در بین گروه دریافت کننده عصاره سیر دوز بالا با سایر گروه‌ها مشاهده می‌گردد. بعلاوه دوز پایین، متوسط و کنترل اختلاف معنی‌داری را نسبت به هم نشان نمی‌دهند. میزان آنزیم‌های کبدی (AST & ALT) در گروه‌های مختلف دریافت کننده عصاره سیر اختلاف معنی‌داری ندارد. آنالیز آماری در مورد تری‌گلیسیرید TG نشان داد که اختلاف معنی‌داری در بین گروه‌های دریافت کننده

جدول ۱ - مقایسه میانگین متغیرهای مورد بررسی در گروه‌های تجربی و کنترل

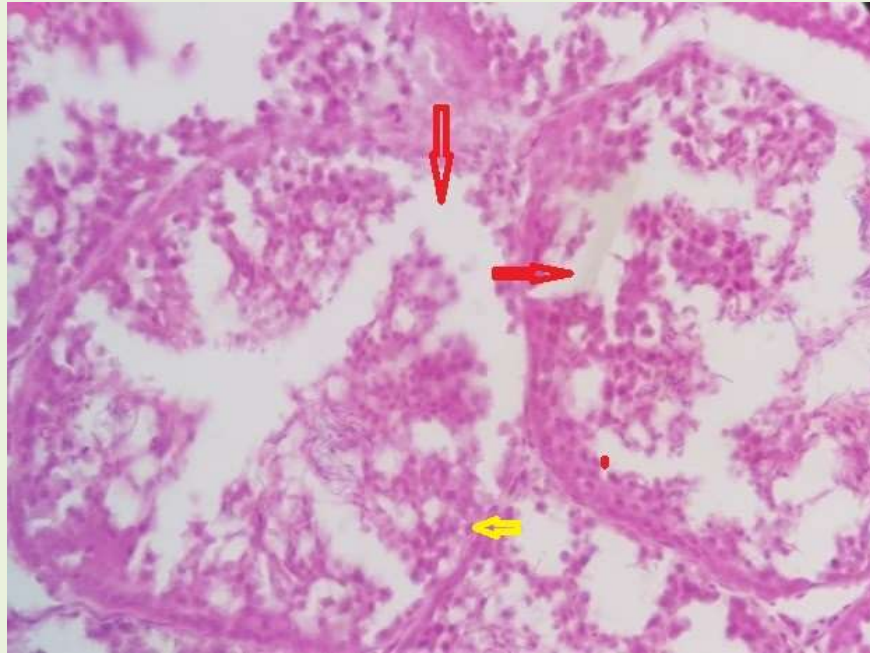
کلینیکال پاتولوژی				هورمونی		مولفه	
کلیسترول (mg/dl)	تری گلیسرید (mg/dl)	ALT (U/L)	AST (U/L)	تستوسترون (nmol/L)	T4(μ g/dl)	T3 (ng/ml)	گروه
۱۳۱±۱۹ ^a	۱۰۱±۹ ^b	۴/۸±۱/۹ ^a	۱۷۷±۳۰ ^a	۱/۳±۰/۶ ^b	۲۴/۶±۷/۷ ^b	۲/۰±۰/۵ ^b	دوز پایین (ppm۵۰۰)
۱۱۱±۱۴ ^b	۹۳±۱۲ ^{bc}	۶/۷±۱/۹ ^a	۲۲۴±۵۳ ^a	۱/۹±۰/۵ ^b	۴۴/۲±۱۲/۵ ^a	۴/۰±۱/۳ ^a	دوز متوسط (ppm۱۰۰۰)
۸۶±۱۰ ^b	۷۶±۱۳ ^c	۷/۰±۲/۴ ^a	۲۱۵±۵۵ ^a	۳/۰±۰/۶ ^a	۴۸/۸±۱۰/۹ ^a	۴/۲±۱/۵ ^a	دوز بالا (ppm۱۵۰۰)
۱۳۹±۳۴ ^a	۱۳۴±۱۸ ^a	۵/۴±۲/۳ ^a	۱۷۰±۴۳ ^a	۰/۹±۰/۱ ^b	۱۷/۶±۵/۰ ^b	۱/۶±۰/۴ ^b	کنترل



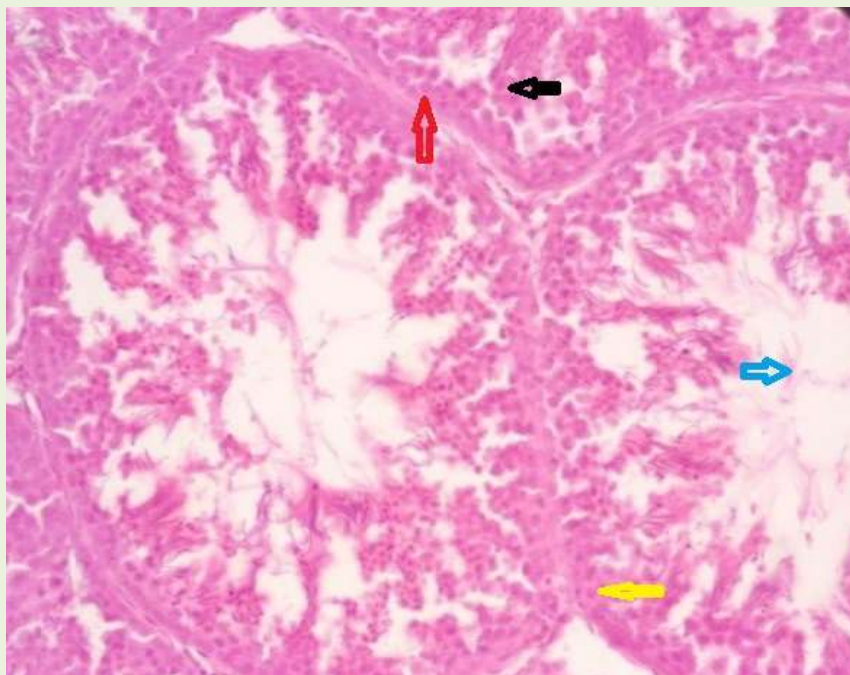
شکل ۱- مقطع هیستوپاتولوژیک لوله‌های اسپرم ساز بافت بیضه خروس

در گروه شاهد: همه رده‌های سلولی در لوله‌ها قابل مشاهده است اسپرماتوگونی (پیکان قرمز)، اسپرماتید آغازی (پیکان سبز)، اسپرماتید تاخیری (پیکان

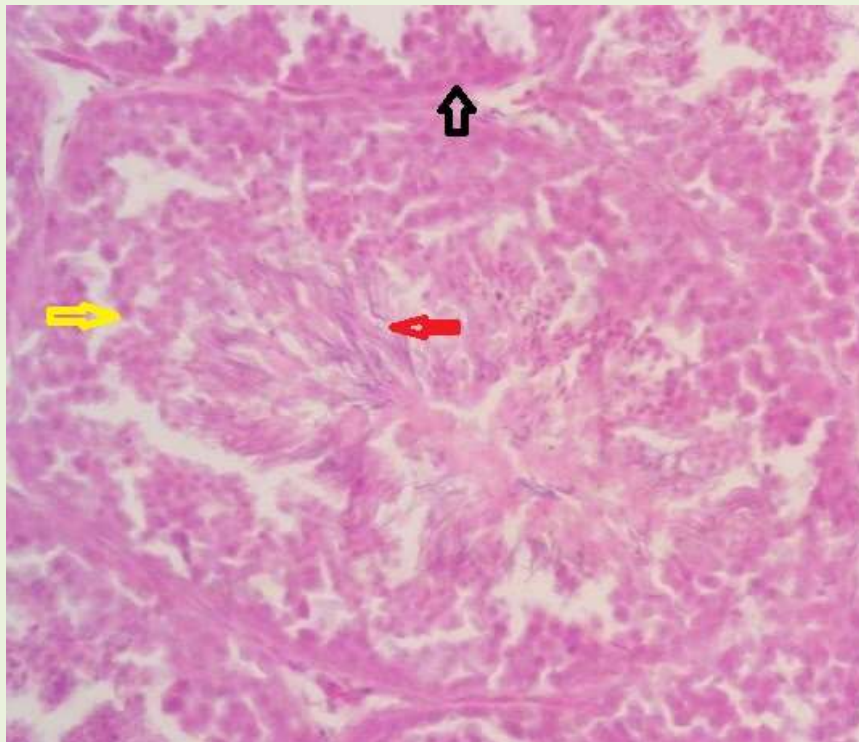
مشکی) (رنگ آمیزی هماتوکسیلین-انئوزین -X۴۰۰)



شکل ۲- مقطع هیستوپاتولوژیک لوله های اسپرم ساز بافت بیضه خروس در گروه دریافت کننده دوز ۵۰۰ میلی گرم)
 سلول های رده اسپرماتوژنز به طور منظم کنار هم نیستند و گسستگی در رده سلولی و عدم انسجام در سلول ها دیده شد (پیکان قرمز) و شکل سلول ها متغییر است (پیکان زرد). (بزرگنمایی ۴۰۰×، رنگ آمیزی هماتوکسیلین-انوزین)



شکل ۳- مقطع هیستوپاتولوژیک لوله های اسپرم ساز بافت بیضه در خروس در گروه دریافت کننده دوز ۱۰۰۰ میلی گرم)
 سلول های رده اسپرماتوژنز به طور منظم تری نسبت به گروه ۱ کنار هم قرار گرفته ضخامت اپیتلیوم افزایش داشته و رده های سلولی شامل سلول سرتولی (پیکان زرد) سلول اسپرماتید آغازی (پیکان مشکی) سلول اسپرماتید تاخیری (پیکان آبی) و سلول های لایه ژرمینال نیز به تعداد زیاد دیده می شود (پیکان قرمز). (بزرگنمایی ۴۰۰×، رنگ آمیزی هماتوکسیلین-انوزین)



شکل ۴- مقطع هیستوپاتولوژیک لوله‌های اسپرم ساز بافت بیضه خروس در گروه دریافت کننده دوز ۱۵۰۰ میلی گرم سلولهای رده اسپرماتوژنز نسبت به گروه دوم دارای انسجام و نظم بیشتری بوده، ضخامت اپیتلیوم نسبت به گروه دوم افزایش یافته، سلول‌ها شامل اسپرماتوگونی (پیکان مشکی) اسپرماتید آغازی (پیکان زرد) اسپرماتید تاخیری (پیکان قرمز) وارد شده اند. (بزرگنمایی ۴۰۰× رنگ آمیزی هماتوکسیلین-انوزین)

بحث و نتیجه گیری

ارزیابی لوله‌های اسپرم ساز (فراسنجه‌های ریخت شناسی و ریخت سنجی) و اندازه گیری قطر لوله‌های اسپرم ساز و ضخامت بافت پوششی لوله‌های اسپرم ساز، راهکاری ساده برای پایش تغییر اسپرم‌سازی است (۱۵). در این مطالعه یافته‌های کیفی بافت شناختی بافت بیضه تأییدی بر داده‌های کمی شد که عصاره گیاه سیر در دوزهای متوسط (۱۰۰۰ میلی گرم) و بالا (۱۵۰۰ میلی گرم) و با تأثیر قابل توجه تر در دوز بالا سبب افزایش مقدار قابل توجهی هورمون تستوسترون و نیز شاخص‌های هورمونی موثر بر فعالیت بیضه‌ها نظیر هورمون‌های تیروئیدی گردید. هم چنین نتایج آنالیز آماری نشان داد که در بخش آنزیم‌های کبدی تأثیر قابل توجهی بر مقدار AST و ALT نداشته است و علت انتخاب در

اندازه گیری این دو فاکتور کبدی بررسی اثرات سمیت در دوزهای بالای عصاره بود. هم چنین استفاده از عصاره سیر در دوز بالا باعث کاهش قابل توجه مقدار تری گلیسیرید و کلسترول نسبت به گروه‌های کنترل گردید. اندازه گیری تری گلیسیرید و کلسترول با توجه به پژوهش‌های پیشین (در مورد اثرات مثبت سیر در کاهش لیپیدها) به عنوان یک کنترل مثبت بر تایید روند سایر فاکتورهای مورد سنجش قرار گرفت. مقایسه داده‌ها با نتایج هیستوپاتولوژی نشان می دهد که با افزایش دوز عصاره سیر (دوزهای متوسط و بالا) بی‌نظمی سلولی کاهش و افزایش سلول‌های اسپرماتوگونی و رده‌های دیگر سلولی بیشتر می شود. در این مطالعه علاوه بر ارزیابی میزان آنزیم‌های کبدی،

بر روی اثر سیر خام و سیر پخته بر تغییرات هیستوپاتولوژیک و هیستومورفومتریک بیضه و اپیدیدیم و اثر بر روند اسپرماتوژنز در موش صحرایی نر انجام دادند. نتایج حاکی از آن است که میزان تکثیر سلول‌های جنسی در گروهی که غذای حاوی ۱۵ درصد سیر پخته مصرف کردند، افزایش معنی‌داری داشته است در حالی که این اثرات از سیر خام حاصل نشده است (۴). علاوه بر این‌ها، میرفردی و همکاران در سال (۲۰۱۲) مطالعاتی بر روی اثر عصاره هیدروالکلی سیر بر وزن بیضه و اسپرماتوژنز در موش صحرایی بالغ تحت شیمی درمانی داروی سیکلوفسفامید انجام دادند و نشان دادند داروی سیکلوفسفامید به تنهایی موجب کاهش وزن بدن، کاهش وزن بیضه‌ها و کاهش اسپرماتوژنز نسبت به گروه کنترل می‌شود و در گروه‌هایی که سیکلوفسفامید به همراه عصاره سیر داده شد با افزایش دوز عصاره سیر، وزن بدن، وزن بیضه‌ها و اسپرماتوژنز نسبت به گروه تجربی افزایش یافت. به نظر می‌رسد ترکیبات موجود در عصاره سیر موجب مهار تولید متابولیت‌های فعال حاصل از داروی سیکلوفسفامید و اثرات مخرب این متابولیت‌ها می‌شود (۱۷). اگرچه در خصوص مکانیسم دقیق اثر گذاری سیر بر فاکتورهای تولید مثلی اطلاعاتی موجود نیست اما به نظر می‌رسد سیر از چندین مکانیسم مختلف باعث افزایش روند اسپرم‌زایی و بهبود ناباروری می‌گردد. سیر حاوی ترکیبات فلاونوئیدها، ویتامین‌ها، ترکیبات فروکتوز و گوگرد است. این ترکیبات می‌توانند در خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد کمک کنند. وجود ویتامین‌های C و E در سیر به عنوان آنتی‌اکسیدان‌های قوی، DNA اسپرم را در مقابل عوامل اکسیدان محافظت می‌کنند (۷). هم‌چنین ترکیبات گوگرد موجود در سیر، با تأثیر مستقیم بر متابولیسم سیتوکروم P450، گلوکوتایون-ترانسفراز و مهار کاسپاز ۳، با کاهش پراکسیداسیون

میزان هورمون تستوسترون و ساختار بافت‌شناسی بیضه به سنجش هورمون‌های تیروئیدی T3 و T4 نیز پرداخته شد. قبلاً به تأثیر متقابل هورمون‌های تیروئیدی و غدد جنسی در پرندگان به پرداخته شده است (۵). هیپوتیروئیدیسم باعث کاهش تولید تخم مرغ، وزن تخم مرغ، ضخامت پوسته‌ی تخم مرغ و افزایش وزن تخمدان‌ها می‌شود. عموماً در خروس‌ها پس از تیروئیدکتومی کاهش اندازه‌ی بیضه‌ها و کیفیت مایع منی یا توقف تولید اسپرم روی می‌دهد و بدون شک تغذیه بر نوسانات روزانه‌ی غلظت پلاسمایی T3 و T4 موثر است (۱۴، ۸). در مطالعه اخیر نیز مشاهده شده است هم‌زمان با افزایش هورمون تستوسترون در جوجه‌های تیمار شده با غلظت‌های ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ قسمت در میلیون، میزان هورمون‌های T3 و T4 نیز افزایش یافته است که نشان از تأثیر سیر بر متابولیسم پایه بدن می‌باشد. در این مطالعه مشخص نیست که تأثیر سیر بر متابولیسم ناشی از تأثیر مستقیم بر هورمون‌های تیروئیدی است یا در اثر تقابلی است که هورمون تستوسترون بر هورمون‌های تیروئیدی دارد. به هر حال در این مطالعه نیز رابطه مثبت غلظت تستوسترون و میزان هورمون‌های T3 و T4 در خروس مورد اثبات قرار گرفت. تاکنون هیچ مطالعه‌ای در خصوص نقش عصاره هیدروالکلی سیر بر بافت‌شناسی بیضه و اندازه‌گیری هورمونی در خروس مشاهده نگردیده اما مطالعات مشابه در سایر حیوانات آزمایشگاهی صورت گرفته است. عبدالله نژاد و همکاران در سال (۲۰۰۹) مطالعاتی بر روی نقش پیشگیرانه و درمانی سیر روی اپیتلیوم سمینال وزیکول موش صحرایی دیابتی انجام دادند که نتایج نشان داد سیر به طور قابل توجهی تغییرات مورفولوژیکی ایجاد شده به وسیله دیابت را در اپیدیدیم سمینال وزیکول موش‌های صحرایی تخفیف می‌دهد (۱). بهرامی و همکاران در سال (۱۳۹۲) تحقیقاتی

افزایش گردش خون در بیضه می شوند. با افزایش جریان خون به بیضه ها آنزیم گلوکوتائون پراکسیداز بافتی افزایش می یابد که نقش این آنزیم در محافظت از اسپرم در بافت بیضه و اپیدیدیم ثابت شده است (۲۱). در مطالعه اخیر نیز افزایش تراکم سلول های پیش ساز اسپرم در مجاری اسپرم ساز و از طرفی افزایش معنی دار تعداد مجاری اسپرم ساز در تیمارهای تحت درمان با غلظت های ۱۵۰۰ و ۲۰۰ قسمت در میلیون سیر می تواند ناشی از افزایش خون رسانی و نیز محافظت پیش سازهای اسپرم در مقابل عوامل اکسیدانی گردد که به شکل معمول به دنبال فعالیت های متابولیکی در بدن تولید می شوند. آنزیم آنتی اکسیدان گلوکوتائون پراکسیداز از اسپرم در برابر آسیب رادیکال های آزاد محافظت می کند و منجر به بلوغ و تکامل نهایی اسپرم می شود (۲). به هر حال افزایش لوله های اسپرم ساز و سلول های پیش ساز اسپرم بالغ در مجاری ممکن است از اثرات غیر مستقیم سیر به دنبال افزایش تحریک ترشح تستوسترون باشد چراکه نقش تستوسترون در بلوغ و تکامل سلول های اسپرم ساز بخوبی اثبات شده است (۲۰).

با توجه به نتایج این مطالعه، می توان بیان کرد که عصاره ی سیر سبب افزایش هورمون تستوسترون، افزایش فعالیت متابولیکی بدن و بهبود شاخص های مربوط به سلامت اسپرم و افزایش باروری در خروس گردد که این امر می تواند موجب افزایش نرخ باروری تخم مرغ های نطفه دار و نهایتاً افزایش جوجه در آوری گردد. بنابراین استفاده از عصاره سیر در دوزهای بالای ۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر آب آشامیدنی، راندمان تولید مثلی را در خروس ها افزایش می دهد.

لپیدها اثر محافظتی بر اسپرماتوزن دارند و اسپرماتوزن را بهبود می بخشند (۱۸). در مطالعه ای توسط اسدپور و همکاران نشان داده شد که سیر به دلیل وجود ویتامین E دارای فعالیت آنتی اکسیدانی است که از تشکیل پراکسیداز جلوگیری می کند (۳). هم چنین، نتایج مطالعه ای توسط نصر نشان داد که خواص آنتی اکسیدانی سیر می تواند باعث کاهش سمیت داروهای مضر بر روی بافت بیضه و افزایش اسپرماتوزن و باروری در انسان شود (۱۹). علاوه بر فعال سازی مکانیسم آنتی اکسیدانی، سیر دارای ترکیبات فیتواستروژن است که تأثیر مستقیمی بر استروژن دارد. این ماده پیش ساز تولید تستوسترون است، بنابراین ممکن است سلول های جنسی و هورمون های جنسی را تحریک کند (۲۳، ۲۰). افزایش میزان هورمون تستوسترون به دنبال استفاده از غلظت های مختلف سیر در خروس های گلپایگانی در مطالعه اخیر می تواند به دلیل وجود ترکیبات فیتواستروژن موجود در سیر باشد که به عنوان یک ترکیب پیش ساز در مسیر تولید تستوسترون فعالیت می کند. نتایج مطالعه اخیر در خصوص افزایش هورمون تستوسترون با نتایج حاصل از مطالعه ای توسط Oi و همکاران هم خوانی دارد که نشان داد مکمل سیر باعث افزایش ترشح LH از غده هیپوفیز می شود و این هورمون ترشح تستوسترون را تحریک می کند (۲۰). مطالعات بعدی نشان داده است سیر به دلیل وجود ترکیبات گوگردار بر محور هیپوتالاموس-هیپوفیز تأثیر می گذارد و باعث ترشح هورمون جنسی LH می شود. هورمون LH، سلول های لیدینگ بیضه را تحریک به ترشح تستوسترون می کند (۲۳). علاوه بر آن، ترکیبات گوگردار باعث کاهش رادیکال های آزاد اکسیژن، تقویت سد خونی و

منابع

1. AbdollahNejad, A., Gol, A., Dabiri, S. (2009). Garlic effects on reproductive complications of diabetes mellitus in male rats. Journal of Shaheed Bahonar University of Kerman. 13(3); 297-307.
2. Amin, A., Hamza, AA. (2006). Effects of roselle and ginger on cisplatin-induced reproductive toxicity in rats. Asian Journal of Andrology, 8(5); 607-12 .
3. Asadpour, R., Azari, M., Hejazi, M., Tayefi, H., Zaboli, N. (2013). Protective effects of garlic aqueous extract (*Allium sativum*), vitamin E, and N-acetylcysteine on reproductive quality of male rats exposed to lead. Veterinary Research Forum, 4(4); 251-257 .
4. Bahrami, K., Mahjoor, A., Gohary, H., Bahrami, R., Bahrami, A. (2014). Comparative study on histopathological and histomorphometric effect of raw and cooked garlic on spermatogenesis in testis and epididymis of rats. Journal of Fasa University of Medical Sciences, 3(4); 371-379.
5. Brace, A., Larry, D. (2002). Cardiovascular benefits of garlic. Journal of Cardiovascular Nursing, 16(4); 33-49.
6. Bramwell, R.K., McDaniel, C.D., Wilson, J.L., Howarth, B. (1996). Age effect of male and female broiler breeders on sperm penetration of the privitelline layer overlaying the germinal disc. Poultry Science, 75; 755-762.
7. Brooks, D.E. (1976). Activity and androgenic control of glycolytic enzymes in the epididymis and epididymal spermatozoa of the rat. Biochem Journal, 156(3); 527-37 .
8. Clark, M. I. (2019). Management of breeding in small poultry production units. Veterinary Reproduction and Obstetrics, 10(1), 526-530.
9. Dehghani-Ashkezari, A., Gholami-Ahangaran, M., Fathi-Hafshejani, E. (2019). The use of garlic extract in reducing the side effects of Eimeria tenella on the growth indices and mucosal tissue of the cecum in broilers. Iranian Journal of Animal Biology, 11(2); 45-53.
10. Farkhondeh, T., Sedighara, P., Bahmani, E., Gholami-Ahangaran, M., Moghtadaei, E. (2010). The anti-parasite activity of garlic tablet on *Limnatis nilotica*. Journal of Herbal Drugs, 1(2); 66-68.
11. Gholami-Ahangaran, M., Ahmadi-Dastgerdi, A., Karimi-Dehkordi, M. (2020). Thymol and carvacrol; as antibiotic alternative in green healthy poultry production. Plant Biotechnology Persa, 2(1); 22-25.
12. Hemmati, S., Gholami-Ahangaran, M., Heidari, B. (2020). The effect of different concentrations of knotgrass (*Polygonum avicular*) extract on biological parameters of sperm fertility in rooster. Iranian Veterinary Journal, 16; 113-123.
13. Hosseini, N., Khaki. A. (2014). Effect of aqueous extract of garlic (*Allium sativum*) on sperms morphology, motility, concentration and its antioxidant activity in rats. Afinidad, 80(566); 201-204 .
14. Karna, K.K., Shin, Y. S., Choi, B. R., Kim, H. K., Park, J. K. (2019). The role of endoplasmic reticulum stress response in male reproductive physiology and pathology: a review. The World Journal of Men's Health, 4, 37-45.
15. Malini, T., Vanithakumari, G. (1991). Antifertility effects of β -sitosterol in male albino rats. Journal of Ethnopharmacology, 35(2); 149-153.
16. Met, W., Mohamed, M.M. (2009). Protective role of garlic against cadmium toxicity in rats: Clinico pathological and histo pathological studies. Journal of Comparative Pathology and Clinical Pathology, 22(3); 114-140 .
17. Mirfardi, M., Johari, H., Mokhtari, M., Hematkhah, V., Jamali, H. Allahverdi, GH. (2011). The effect of hydro-alcoholic garlic

- extract on testis weight and spermatogenesis in mature male rats under chemotherapy with cyclophosphamide. Journal of Fasa University of Medical Sciences, 1(3); 123-13.
18. Moher, D., Liberati, A., Tetzlaff, J., Altman, D.G. (2009). Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. PLoS Medical, 6(7): e1000097.
19. Nasr, A.Y. (2017). The impact of aged garlic extract on adriamycin-induced testicular changes in adult male Wistar rats. Acta Histochemical, 119(6); 648-62 .
20. Oi, Y., Imafuku, M., Shishido C., Kominato, Y., Nishimura, S., Iwai, K. (2001). Garlic supplementation increases testicular testosterone and decreases plasma corticosterone in rats fed a high protein diet. Journal of Nutrition, 131(8); 2150-2156 .
21. Pal, R., Vaiphei, K., Sikander, A., Singh, K., Rana, S.V. (2006). Effect of garlic on isoniazid and rifampicin-induced hepatic injury in rats. World Journal of Gastroenterology. 12(4); 636-639 .
22. Soleimanzadeh, A., Malekifard, F., Kabirian, A.R. (2017). Protective effects of hydro-alcoholic garlic extract spermatogenic disorders in streptozotocin-induced diabetic C57BLMice. Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Science, 90; 8-17.
24. Ultee-van Gessel A.M., Timmerman, M.A., de Jong, F.H. (1988). Effects of treatment of neonatal rats with highly purified FSH alone and in combination with LH on testicular function and endogenous hormone levels at various ages. Journal of Endocrinology, 116(3); 413-420 .
24. Zargari, A. (1997). Medicinal Plant. 6th ed. Tehran: Tehran University Publication, 538.
25. Weber, ND., Hughes, BG. (1992). In vitro virucidal effect of *Allium sativum* (garlic) extracts and compounds. Planta Medicina, 58(5); 417-23.
26. Wilson, H.R., Piesco, N.P., Miller, E.R., Nesbeth, W.G. (1979). Prediction of the fertility potential of broiler breeder males. World's Poultry Science Journal, 35; 95-118.



The Effect of Hydroalcoholic Garlic Extract on Hormonal, Clinical Pathology and Histopathological Components in Roosters

P. Azardeg-Dast¹, M. Gholami-Ahangaran², E. Moghtadaei-Khorasgani³

1. Graduated of Veterinary Medicine Faculty, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.

2. Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran. mgholami6@gmail.com

3. Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.

Received: 2020.10. 8

Accepted: 2020.20.9

Abstract

Introduction & Objective: The use of garlic as a sexual promotor is common in traditional medicine. Garlic has many antioxidant compounds. Therefore, the aim of this study was to evaluate the effect of garlic hydroalcoholic extract on metabolic and testosterone level, and testicular histology in roosters.

Materials and Methods: In this experimental study, 108 roosters of Golpayegani breed were used. Roosters were divided into 4 groups including control and treated with doses of 500, 1000 and 1500 mg hydroalcoholic garlic extract in litter of drinking water. The extract was administered orally for 14 days. At the end of the experiment, serum testosterone, T3 and T4 levels, as well as liver enzymes and lipid profiles were measured and testicular tissue was examined for histological changes.

Results: Serum levels of testosterone, T3 and T4 were significantly increased in the group treated with 1500 mg garlic extract in litter of drinking water ($P < 0.05$). Although the amount of liver enzymes in different groups did not show a significant difference, but the amount of triglycerides and cholesterol in the groups receiving different concentrations of garlic extract decreased. In the treated groups with 1000 and 500 mg of garlic extract, the number of seminiferous tubules and the number of normal sperm were higher than the other groups

Conclusion: The biological compounds in garlic with physiological and hormonal changes are able to increase fertility by increasing the density of seminiferous tubules and increasing the normal sperm population.

Key word: Garlic extract, Rooster, Testosterone, Testis.