فصلنامه یافته‌های زیست‌شناسی
جلد 7، شماره 4

بررسی اثر کافور بر محور هورمونی هیپوفیز -گناد واسپرماتوژنز در موش کوچک آزمایشگاهی نر بالغ نژاد Balb/C

مریم عابدینی[1*]، وحیدحمایت خواه جهرمی[2]، محسن فروزان فر[3]، مریم خاوریان[4]

تاریخ دریافت: 90/5/28 تاریخ پذیرش: 90/9/30

چکیده

کافور، یکی از گیاهان تیره برگ بو است که دارای اثرات فیزیولوژیکی متعددی است. طبق تحقیقات انجام شده، این گیاه احتمالاً در کنترل نیروی جنسی مؤثر است. در این تحقیق اثر کافور برمحور هورمونی هیپوفیز -گناد و روند اسپرماتوژنز مورد بررسی قرار گرفته است. پارامترهای بررسی شده شامل تعداد سلول‌های سرتولی، لایدیگ، اسپرم و غلظت هورمون‌های تستوسترون FSH و LH می‌باشد. حیوانات مورد آزمایش 36 سر موش کوچک آزمایشگاهی نر بالغ با میانگین وزن 1 ± 34 گرم و محدوده سنی 10 هفتگی بودند. حیوانات، به 9 گروه 4تایی تقسیم شدند. گروه کنترل که هیچ تزریقی انجام نشد. گروه شم که روغن زیتون به عنوان حلال کافور تزریق شد. گروه‌های تجربی 1، 2 و3 که محلول کافور با دوزهای 5، 20و50 میلی گرم بر کیلوگرم دریافت کردند. گروه‌ها به دو صورت تیمار و پس از تیمارطبقه بندی شدند. گروه تیمار یک روز و گروه پس از تیمار یک هفته پس از آخرین روز تزریق تشریح شدند. تزریق به صورت درون صفاقی به مدت 14 روز و روزانه 0/02 سی سی انجام شد. پس از انجام تزریقات، موش‌ها توزین شدند. پس از تشریح و خونگیری از بطن قلب و تهیه مقاطع بافتی پارامترها اندازه گیری شدند. نتایج نشان می‌دهد که تعداد سلول‌های لایدیگ و اسپرم و غلظت هورمون‌های تستوسترون، FSH و LH در گروه‌های تجربی در سطح 0/05 > P افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل نشان می‌دهد. نابراین، باتوجه به افزایش هورمون‌های مذکور و افزایش تعداد سلول‌های لایدیگ و اسپرم می‌توان نتیجه‌گیری کرد که کافور احتمالاً بر روند اسپرماتوژنز اثر تحریکی داشته و باعث افزایش آن گردیده است.

کلمات کلیدی: کافور، لایدیگ، تستوسترون، اسپرم، FSH

*1- دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم Abedini_2010@yahoo.com
2- عضو هیات علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم
3- عضو هیات علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت
4- کارشناس ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

امروزه مسئله مهمی که محققان با آن روبرو هستند درمان ناباروری است. داروهای شیمیایی و گیاهی بسیاری برای این هدف مهم مورد بررسی قرار می‌گیرند. اما به دلیل اثبات عوارض جانبی داروهای شیمیایی تمرکز بر روی داروهای گیاهی بیشتر شده است. علاوه بر هورمون‌های تستوسترون، LH و FSH، سن و حرارت محیط، نوع تغذیه و دارو نیز بر میزان اسپرماتوژنز و باروری مؤثر است (1). کافور به عنوان یک داروی گیاهی مورد توجه بسیاری از محققین قرار دارد. کافور از تیره برگ بو است و در تمام قسمت‌های گیاه، اسانس سینامالدهید پراکنده است(2). محققان تحقیقات گسترده‌ای روی این گیاه انجام داده اند. کافور، باعث تحریک سطح LH سرم می‌شود. در رحم نیز اثرات تحریکی ملایمی دارد(3). کافورخالص اثرسمیت روی ورم ملتحمه چشم دارد وحتی منجر به سوراخ شدن قرنیه می‌شود (4). کافور، بلوغ را در جنس نر به تأخیر می‌اندازد. همچنین باعث کاهش وزن پروستات و افزایش وزن بیضه می‌شود(5). کافور مواد اکسیدانی آزاد می‌کند و بر مغز، کبد و کلیه اثر می‌گذارد. همچنین به راحتی از سد جفتی عبور کرده و بر رشد و نمو جنین اثر می‌گذارد(6). محرک‌های جنسی به دست آمده از کافور برای بیضه مخرب است و ترشح شیر را نیز کم می‌کند(7). کافور، اثر تشنج زایی بر سیستم عصبی مرکزی دارد(8). کافور، یک اثر عمیق و وابسته به دوز روی آناتومی گنادها در هر دو جنس دارد و تکوین اووسیت و اسپرماتوسیت را مهار می‌کند(9). بنابراین باتوجه به اثرات فیزیولوژی متعدد کافور، جا دارد در مورد اثر آن بر سیستم باروری نیز پژوهش هایی انجام شود. هدف از تحقیق حاضر، بررسی اثر کافور بر محور هورمونی هیپوفیز-گناد و اسپرماتوژنز در موش کوچک آزمایشگاهی نر بالغ است.

مواد و روش ها

در این تحقیق تجربی حیوان مورد آزمایش 36 سر موش کوچک آزمایشگاهی نر بالغ نژاد Balb/C بود که از خانه حیوانات دانشگاه علوم پزشکی شیراز خریداری شد. وزن موش‌ها 1 ± 34 گرم و سن آن‌ها 10 هفته بود. درجه حرارت محیط در طول مدت آزمایش، 2 ± 23 درجه سانتی گراد و دوره روشنایی-تاریکی به صورت 12 ساعت روشنایی و 12 ساعت تاریکی تنظیم شد. تغذیه حیوان توسط غذای مخصوص موش و آب آشامیدنی حیوانات آب لوله کشی شهر بود. حیوانات به مدت دو هفته جهت سازگاری با محیط در حیوان خانه دانشگاه آزاد اسلامی جهرم نگه داری شدند. پودر کافور از مراکز فروش داروهای گیاهی در شیراز تهیه گردید. 10 گرم از این پودر برداشته و به آن 100 سی سی هیدروالکل 70٪ اضافه شد. سپس آن را در بن ماری با حرارت 40 درجه سانتی گراد گرم کرده تا تبخیر شود. رسوب حاصله را صاف کرده و راندمان محصول محاسبه شد. از 10 گرم پودر ناخالص حدود 7/1 گرم پودر خالص حاصل شد. پودر خالص کافور در روغن زیتون حل و غلظت‌های 5، 20 و 50 میلی گرم بر کیلو گرم تهیه شد. دوز کشنده کافور در روش تزریق درون صفاقی 3000 mg/kg است (10). به گروه کنترل تزریقی انجام نشد. گروه شم، حلال کافور یعنی روغن زیتون را دریافت کرد و گروه‌های تجربی 1، 2و3 که به ترتیب دوزهای 5، 20و 50 میلی گرم بر کیلو گرم دارو دریافت کردند. تزریق روزانه به روش درون صفاقی و به مقدار 0/02 سی سی انجام شد. همه حیوانات 14 روز دارو دریافت کردند. حیوانات به دو گروه 4 تایی تقسیم شدند. گروه تیمار که یک روز پس از آخرین روز تزریق تشریح شدند و گروه پس از تیمار که یک هفته دوره استراحت داشتند و پس از 21 روز تشریح شدند. حیوانات پس از اتمام تزریقات توزین شدند. سپس تشریح و خونگیری از بطن قلب انجام شد. نمونه‌های سرم جهت تعیین غلظت هورمون‌های تستوسترون، LH و FSH به روش الیزا بررسی شد. جهت شمارش سلول‌های لایدیگ و اسپرم، بافت بیضه ابتدا خارج گردید و پس از شستشو با سرم فیزیولوژی و توزین، در تثبیت کننده فرمالین قرار داده شد. پس از تهیه قالب‌های پارافینی، برش‌هایی به ضخامت 5 میکرون از

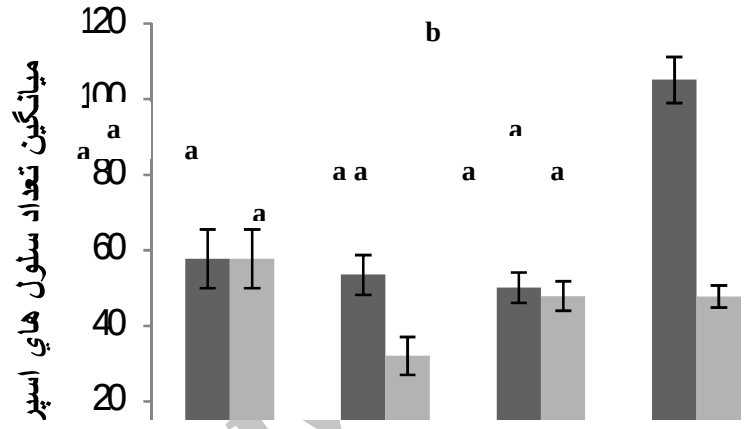
Archive of SID

www.SID.ir

بافت تهیه شد و پس از رنگ آمیزی به روش هماتوکسیلین -ائوزین، مطالعات بافتی انجام شد. داده‌ها با استفاده از برنامه SPSS و آزمون‌های آنالیز واریانس یک طرفه، دانکن و T-test تفسیر شد. برای مقایسه میانگین ها، سطح معنی‌دار $P < 0/05$ قرار داده شد. برای شمارش اسپرم از نرم افزار Dinocapture استفاده شد.

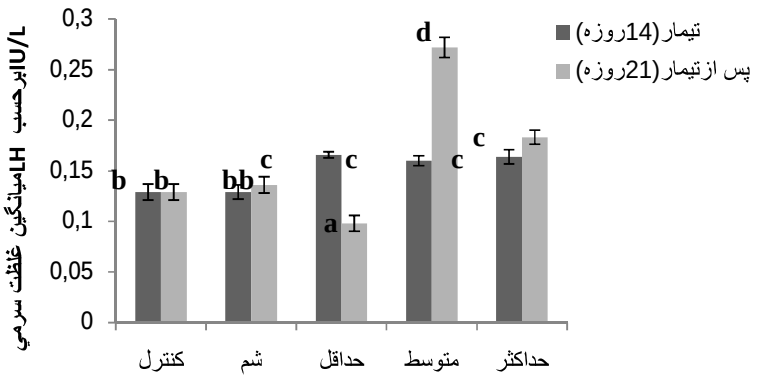
نتایج

براساس نتایج به دست آمده، مقایسه میانگین تعداد سلول‌های اسپرم و لایدیگ در گروه‌های تجربی با گروه‌های کنترل، افزایش معنی‌داری را در سطح $P < 0/05$ نشان می‌دهد (شکل 1). همچنین مقایسه غلظت هورمون‌های LH، FSHوتستوسترون در گروه‌های تجربی با گروه‌های کنترل نشان‌دهنده افزایش معنی‌دار در سطح $P < 0/05$ است (شکل‌های 2، 3 و 4).



شکل 1: اثر کافور بر میانگین تعداد سلول‌های اسپرم

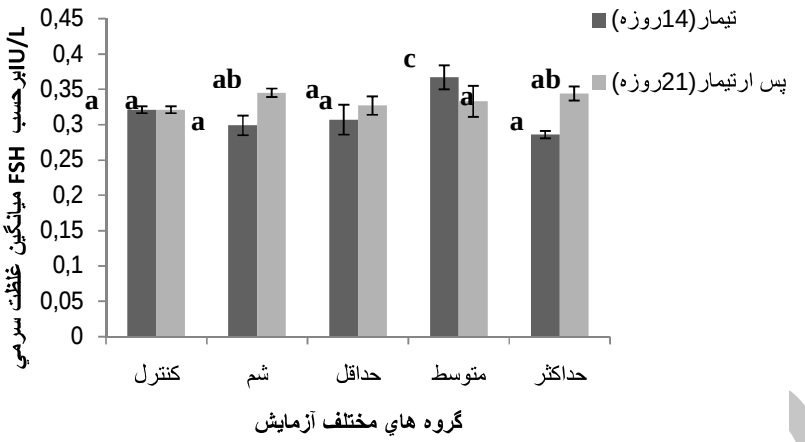
حرف b نشان‌دهنده اختلاف معنی دار گروه تجربی با گروه کنترل در سطح $P < 0/05$ است.



شکل 2: اثر کافور بر غلظت سرمی هورمون LH

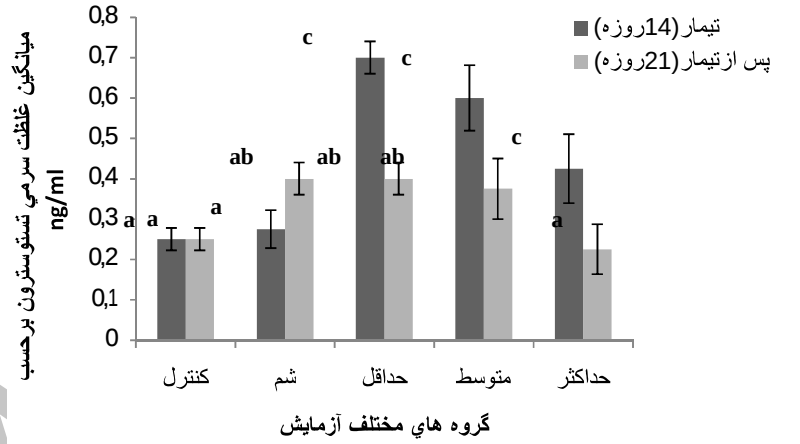
حرف a و c و d نشان‌دهنده اختلاف معنی دار گروه‌های تجربی در مقایسه با گروه کنترل در سطح $P < 0/05$ است.

www.SID.ir



شکل 3: اثر کافور بر میانگین غلظت سرمی هورمون FSH

حرف c نشان‌دهنده اختلاف معنی دار گروه تجربی در مقایسه با گروه کنترل در سطح $P < 0/05$ است.



شکل 4-مقایسه میانگین غلظت سرمی تستوسترون در گروه‌های مختلف آزمایش با گروه کنترل

حرف c نشان‌دهنده اختلاف معنی دار در سطح $P < 0/05$ است.

www.SID.ir

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج تحقیق نشان می‌دهد که تعداد سلول‌های لایدیگ و اسپرم و هم چنین غلظت هورمون‌های FSH، تستوسترون و LH در گروه‌های تجربی در مقایسه باگروه کنترل افزایش داشته است (شکل‌های 1، 2، 3 و 4).

ترشح هورمون پرولاکتین توسط کافور مهار می‌شود. این هورمون وابسته به غلظت عمل می‌کند. افزایش پرولاکتین منجر به کاهش حساسیت سلول‌های لایدیگ شده و در نتیجه ترشح تستوسترون کاهش می‌یابد از آنجا که کافور باعث مهار پرولاکتین می‌شود در نتیجه حساسیت سلول‌های لایدیگ افزایش یافته و ترشح تستوسترون بالا می‌رود (11و12).

مهار پرولاکتین توسط کافور باعث توقف تولید اکسید نیتریک می‌شود. در نتیجه روی هیپوتالاموس اثر مهاری گذاشته و ترشح GnRH هم مهار می‌شود. به منظور جبران این کمبود، مکانیسم فیدبک منفی راه اندازی شده و کلسترول از بافت بیضه نفوذ کرده و به پرگننولون تبدیل می‌شود و استروئیدوژنز رخ می‌دهد(13).

یکی از ترکیبات درون کافور، سینامالدهید است. این ماده باعث افزایش ترشح نوراپی نفرین شده و نوراپی نفرین، ترشح اکسید نیتریک را تحریک می‌کند. نوراپی نفرین آزادسازی LH را به واسطه اکسید نیتریک زیاد می‌کند(14و15).

افزایش استروئیدوژنز توسط کلسترول احتمالاً باعث مهار ترشح اینهیبین توسط سرتولی می‌شود. بنابراین ترشح FSH افزایش می‌یابد(1). هورمون FSH با اتصال به گیرنده‌های اختصاصی خود در سلول‌های سرتولی و تحریک تولید CAMP باعث فعال شدن پروتئین کینازها و فسفریله شدن پروتئین‌های درون سلولی می‌شود. در نتیجه باعث افزایش پروتئین‌های متصل شونده به آندروژن می‌شود(16).

FSH همچنین از طریق ایجاد اثرات میتوژنیک باعث افزایش فعالیت سلول‌های سرتولی می‌شود. بنابراین کافور احتمالاً بر افزایش فعالیت سلول سرتولی اثر گذاشته است(17و18).

تنظیم اسپرماتوژنز به وسیله عملکرد هورمون‌های FSH وتستوسترون بر روی سلول‌های سرتولی رخ می‌دهد. همان طور که تستوسترون برای اسپرماتوژنز ضروریست، عمل FSH نیز از طریق افزایش ترشح آن توسط سلول‌های سرتولی باعث افزایش بازده اسپرماتوژنز می‌شود. هم چنین بین سلول‌های سرتولی و لایدیگ و سلول‌های زایا ارتباط وجود دارد(19).

کافور بر سطح استرادیول سرم و سطح اینهیبین B اثر می‌گذارد. پس کافور بر میزان کلسترول و ترشح تستوسترون، همچنین میزان ترشح اینهیبین B و در نتیجه ترشح هورمون FSH مؤثر است (20).

کافور در دوز پایین باعث افزایش اسپرماتوژنز و در دوز بالا باعث کاهش آن می‌شود(21). باکاهش دوز امکان سمیت هم کاهش می‌یابد.

با توجه به افزایش غلظت هورمون‌های تستوسترون، LH و FSH و افزایش تعداد سلول‌های لایدیگ و اسپرم و نقش این هورمون‌ها در فرآیند تقسیم سلول‌های جنسی می‌توان نتیجه‌گیری کرد که کافور احتمالاً بر روند اسپرماتوژنز و میزان باروری مؤثر است و در دوز پایین منجر به افزایش اسپرماتوژنز می‌گردد.

Archive of SID

www.SID.ir

منابع

1- Johnson L. Factors affecting spermatogenesis in the stallion. *Theriogenology*. 1997;48(7): 1199-1216.

2- Zargari A. Medicinal herb. Tehran. *Tehran University Press*. 1376;4: 335-344.

3-Seidlova WD, Christoffel J, Rimoldi G, Jarry H, et al. Comparison of effects of estradiol whith those of octylmethoxycinnamate and 4-methylbenzylidene camphor on fat tissue,lipids and pituitary hormones.*Toxicol Appl Pharmacol*. 2006;214(1): 1-7.

4- Lim GS, Chen YF, Liu L, Hauang SM, et al. Camphor-related salf-inflicted keratoconjuctivitis complicating delusions of parasitosis.*Cornea*. 2006;25(10): 1254-1256.

5-Durrer, S., Ehnes, C., Fuetsch, M., Maerkel, K, et al. Estrogen sensitivity of target genes and experssion of nuclear receptor co-regulators in rat prostate after pre-and postnatal exposure to the ultraviolet filter 4-methylbenzylidene camphor.*Environ Health Perspect*. 2007;115(1): 42-50.

6-Nikravesh MR and Jalali M. The effect of camphor on the male mice reproductive system.*Urology*. 2004;1(4): 268-272.

7-William ,C. The Physiomedical Dispensatory. 1869. 7

8-Vereshchagin AP and Dionesov SM. The influence of nociceptive stimuli on the convulsant action of camphor. *Bulletin Of Experimental Biology And Medicine*. 2004;49(3): 268-270.

9-Kunz PY, Gries T and Fent K. The uv filter 3-benzylidene camphor adversely affects reproduction in fathead minnow(Pimephales promelas).*Toxicology sciences*. 2006;93(2): 311-321.

10-Siegel E and Wason S. Camphor toxicity.pediatric clinics of north america. *National Poison Center*. 1986;33: 375-379.

11-Lergo MB, Bouhdibo MP and Peyrat JS. Peripheral effect of prolactin in reproduction function.J *Gynecol Obstet Biol Reprod*(Paris). 1989;18(1): 39-45.

12- Hussein MO and Zipfw B. Characteristics of prolactin modulate induction of LH, hCG receptor. *J Androl*. 1987;8(6): 388-92.

13-Punta KD, Joshi AR, Sanyal, A and Dighe RR. Nitricoxide inhibits leydig cell steridogenesis. *Endocrinology*. 1996;133: 5337-5343.

14- Paivzi N and Ellendorff F. Further evidence on dual effects of norepinephrine on LH secretion. *Neuro Endocrinolog*. 1982;35(1): 48-55.

15- Sato Y and Tsukanmamoto T. Effects of nitric oxide stimulation on the brain. *Drugs Today*. 2000;36(2-3): 38.

16-Williams. Text book of endocrinology by sanuders company. 2002;81-235.

17- Werbach M. Healing with food. *Harper Collins/New* York. 1993.443.

18-Sharpe RM, Maddoeks S and Kerr JB. Cell-cell intractions in the control of spermatogenesis as studied using leydig cell destruction and testosterone replacement.*American Journal Of Anatomy*. 1990;188: 3-20.

19-Griswold MD. The central role of sertoli cells in spermatogenesis: *Cell Developmental Biology*. 1998;9: 411-416.

20-Janjua NR, Mogensen B, Andersson, AM, Petersen JH, et al. Henriksen. Systemic absorption of the sunscreens benzophenone-3,octylmethoxycinnamate and 3-(4-methyl-benzylidene)camphor after whole-body topical application and reprodutive hormone levels in humans. *J Invest Dermatol*. 2004;123(1): 57-61.

21-Jamshidzadeh A, Sajedianfard,J, Nekooeian A, Tavakoli F, et al. Effects of camphor on sexual behaviors in male rats. *Iranian Journal Of Pharmaceutical Sciences*.2006;2(4): 209-214.

Archive of SID

www.SID.ir