مجلـــه‌ی علمـــی، پژوهشـــی دانشـگاه علـــوم پزشـــکی زنجـــان
دوره‌ی ۲۵، شمـاره‌ی ۱۰۹، خرداد و تیر ۱۳۹۶، صفحات ۵۰ تا ۶۲

بررسی اثر عصاره‌ی هیدرو الکلی موسیر بر روی بیضه و فرایند اسپرماتوژنز در موش سوری نژاد Balb/C

ساره کاظمیان[۱]، دکتر اکبر کریمی[۲]، دکتر علی اصغر پیله وریان[۳]، علیرضا قندی[۴]

نویسنده‌ی مسئول: گروه علوم پایه، دانشگاه پیام نور واحد اصفهان، اصفهان Kazemiansareh@yahoo.com

دریافت: ۹۴/۱۰/۲۱ پذیرش: ۹۵/۴/۲۰

چکیده

زمینه و هدف: *در طب سنتی از موسیر به‌عنوان ماده‌ی غذایی موثر در تقویت قوای جنسی مردان یاد شده است. با توجه به مشکلات باروری ناشی از اختلالات تولید اسپرم در برخی از مردان و لزوم یافتن روش‌های درمانی در دسترس، موثر و کم خطر، تحقیق حاضر به منظور "بررسی اثر عصاره‌ی هیدروالکلی موسیر بر روی بیضه و فرایند اسپرماتوژنزی در موش سوری نژاد Balb/C" صورت گرفت.*

روش بررسی: *در این مطالعه‌ی تجربی، تعداد ۶۰ سر موش سوری نر بالغ با میانگین وزن ۱±۲۳ گرم انتخاب شد و به پنج گروه مساوی کنترل، شاهد و سه گروه تجربی تقسیم بندی شد. به گروه‌های تجربی ۰/۵ میلی لیتر عصاره‌ی هیدروالکلی موسیر با دوزهای ۴۰۰،۲۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم/روز به صورت یک روز در میان و تا ۱۳ جلسه تزریق شد. گروه کنترل هم حجم گروه تجربی سرم فیزیولوژی دریافت نمود. گروه شاهد دریافتی نداشت. بعد از جداسازی بیضه، ارزیابی داده‌های وزن بیضه، تعداد سلول‌های جنسی، قطر خارجی و داخلی توبول‌ها، مساحت و تراکم لایه‌ی ژرمینال با تحلیل واریانس یک طرفه آنوا و آزمون‌های توکی و دانت انجام شد.*

یافته‌ها: *بررسی‌ها وجود تفاوت معنی‌دار افزایشی در تعداد اسپرماتوگونی‌ها، اسپرماتوسیت‌های اولیه، اسپرماتیدها، قطر داخلی و خارجی توبول‌ها و مساحت لایه‌ی ژرمینال بین گروه‌های تجربی با گروه کنترل را نشان داد. همچنین مقایسه‌ی نسبت وزنی بافت بیضه بین گروه‌های تجربی سوم و کنترل و مقایسه‌ی قطر داخلی توبول‌ها بین گروه‌های تجربی اول و سوم تفاوت معنی‌دار افزایشی را نشان داد.*

نتیجه گیری: *عصاره‌ی هیدروالکلی موسیر با افزایش سلول‌های جنسی در بافت بیضه، به تقویت قوای جنسی موش سوری نر کمک می کند.*

واژگان کلیدی: موسیر، موش سوری، اسپرماتوژنز، ناباروری، بیضه

مقدمه

عدم توانایی در داشتن یک فرزند یک رویداد غم انگیز برای میلیون‌ها نفر در زندگی مشترکشان است. براساس آمارهای سازمان بهداشت جهانی WHO، ۱۰ تا ۱۵ درصد از زوج‌ها برخی از انواع مشکلات ناباروری را در زندگی مشترکشان تجربه کرده‌اند که حدود ۴۰ درصد از آن‌ها به‌علت فاکتورهای مردانه بوده است. باروری در مردان شامل توانایی در تولید اسپرم نرمال به تعداد کافی، همراه با توانایی و تمایل در برقراری رابطه‌ی جنسی است. برخی از عوامل مختلف

۱- کارشناسی ارشد زیست شناسی، گروه علوم پایه، دانشگاه پیام نور واحد اصفهان، اصفهان
۲- دکترای علوم جانوری، استادیار گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور واحد اصفهان، اصفهان
۳- دکترای فیزیولوژی جانوری، دانشیار گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور واحد اصفهان، اصفهان
۴- کارشناس ارشد مهندسی برق، گروه مهندسی برق، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان

Archive of SID
www.SID.ir

در بروز ناباروری در مردان عبارتند از اختلالات ژنتیکی؛ انسداد مجرای تناسلی، واریکوسل، کاهش تولید اسپرم، کاهش پارامترهای اسپرم با کیفیت، اختلال در نعوظ و ناتوانی جنسی مرد است. مطالعات نشان می‌دهد که پارامترهای اسپرم در ۲۵ تا ۴۰ درصد از مردان زیر حد استاندارد می‌باشد (۱). عوامل متعددی می‌توانند تولید اسپرم را تحت تاثیر قرار دهند و در بروز ناباروری دخیل باشند. از میان این عوامل می‌توان به‌مصرف داروهای مخصوص در شیمی درمانی سرطان‌ها، آنتی‌بیوتیک‌ها، مواد سمی، آفت کش‌ها، تشعشعات، استرس، آلودگی هوا و عدم دریافت کافی ویتامین‌ها اشاره نمود. مشخص شده است که این عوامل می‌توانند با ایجاد رادیکال‌های آزاد و اکسیداسیون سلول‌های ژرمینال جنسی در بافت بیضه غلظت اسپرم را کاهش دهند. تحقیقات نشان می‌دهند که استفاده از آنتی اکسیدانت‌ها و ویتامین‌های A و E و C از طریق کاهش آسیب‌های ایجادشده توسط رادیکال‌های آزاد و تقویت و استحکام سدخونی اسپرم‌ها می‌تواند در درمان و ترمیم DNA بیضه‌ای و ناباروری مردان موثر واقع گردد (۲). در کشور ما در مطالعه‌ای که بر روی ۱۲۰۰۰ زوج انجام گرفت نشان داد که حدود یک چهارم از زوج‌های ایرانی ناباروری اولیه را در طول زندگی مشترکشان تجربه می‌کنند. مطالعات دیگری نشان می‌دهد که میزان ناباروری در کشور ما بالاتر از استانداردهای جهانی است و شواهد جدید نشان دهنده‌ی آن است که در سال‌های اخیر کیفیت اسپرم در مردان بیش از پیش کاهش یافته است (۳). در بین روش‌های مختلف درمان، استفاده از گیاهان دارویی یکی از روش‌هایی است که در بین ملت‌های مختلف برای مواجهه با این مشکل انتخاب شده است. این گیاهان در درمان اختلالات تولید اسپرم، سرد مزاجی، ضعف و سستی جنسی در طرفین و مشکل نعوظ به کار برده شده است. استفاده از گیاهان دارویی یک گزینه‌ی مقرون به صرفه و در دسترس را در اختیار همه زوج‌های نابارور قرار می‌دهد (۱). در سال‌های اخیر در مراکز پژوهشی و دانشگاهی کشورمان مطالعات متعددی بر روی برخی از گیاهان و خواص آن‌ها در درمان ناباروری صورت گرفته است. پیاز و زنجبیل، سیر، روغن ذرت و بادام زمینی، زیتون، شوید، سداب، کرچک، کنگر، گزنه، گلپر، آب بشقابی، بومادران، شاهتره، مغز گردو، هویج و نخود از جمله گیاهانی هستند که در مراکز تحقیقاتی کشورمان بر روی خواص ضد ناباروری آن‌ها مطالعاتی صورت گرفته است. تا زمان انجام این تحقیق مطالعه‌ای در این زمینه بر روی گیاه موسیر صورت نگرفته است و در مطالعاتی که بر روی سیر (گیاه هم خانواده‌ی موسیر با ترکیبات مغذی مشابه) انجام شده، نتایج مشابه‌ای به دست آمده است. در مطالعه‌ای که به‌منظور بررسی اثر سیر خام و سیر پخته بر تغییرات هیستوپاتولوژیک وهیستومورفومتریک بیضه و اپیدیدیم و روند اسپرماتوژنز بر روی ۴۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار صورت گرفت، نشان داده شد که تجویز سیر پخته ضمن تاثیرگذاری بر تکثیر سلول‌های جنسی در توبول بیضه و اپیدیدیم، روند اسپرماتوژنز را نسبت به گروه کنترل سرعت می‌بخشد (۴). مطالعه‌ای که به‌منظور بررسی اثر عصاره‌ی هیدروالکلی سیر بر وزن بیضه و اسپرماتوژنز در ۵۶ موش صحرایی نر بالغ تحت شیمی درمانی با داروی سیکلوفسفامید انجام گرفت نشان داد که تجویز عصاره‌ی سیر علاوه بر متاثر کردن ساختار مجاری اسپرم ساز، بر تکثیر توبول‌های بیضه و افزایش سلول‌های جنسی نیز اثر می‌گذارد و روند اسپرماتوژنز را در گروه‌های تجربی دریافت کننده‌ی سیکلوفسفامید بهبود می‌بخشد (۵). مطالعه‌ای که به‌منظور ارزیابی تاثیر عصاره‌ی سیر بر اسپرماتوژنز و هورمون‌های جنسی در ۵۰ سر موش نر کوچک آزمایشگاهی تحت استرس گرمایی صورت گرفت نشان داد که عصاره‌ی سیر با دوز ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم/روز می‌تواند تعدیل کننده‌ی اثر منفی استرس

Archive of SID

www.SID.ir

گرمـایی بـر میـزان ترشـح هورمـون هـای LH، FSH و تـستوسترون گـردد و ترشـح ایـن هورمـون‌هـا را بـه‌صـورت معنی‌داری افزایش دهد (P<۰/۰۵) (۶). تحقیق حاضر کـه بـه منظور ارزیابی اثر عصاره‌ی هیدروالکلی موسیر بر روی فرایند اسپرماتوژنز و وزن بیضه در مـوش سـوری بـه روش تجربـی انجام شد در راستای سلسله تلاش‌هایی اسـت کـه در جهـت یـافتن روش‌هـای درمـانی گیـاهی در داخـل کـشور صـورت می‌گیرد. موسیر ایرانی بـا نـام علمـی *آلیـوم هیرتیفلیـوم بـاس* (*Allium hirtifolium Boiss*) گیـاهی چنـد سـاله از خانواده‌ی الیاسه (Alliaceae) است. ایـن گیـاه بـومی ایـران بوده و به‌صـورت وحـشی در مراتـع و کوهـستان‌هـای ایـران می‌روید. توده‌های موسیر ایرانی بر اساس منطقه‌ی رویشگاهی آن‌ها از نظر ژنتیکی متنـوع هـستند و ایـن تفـاوت‌هـا هـم در ویژگی‌های مورفولوژیکی و هم در درصد ترکیبـات شـیمیایی وجود دارد. موسیر ایرانی با انواع شـالوت (Shallot) بـا نـام علمی *آلیـوم سـیپا وار اسـکالونیکم* (*Allium Cepa Var. ascalonicum*) متفاوت است (گیاه پیازی هم خـانواده کـه در ترجمه و محاوره به اشتباه یکسان منظـور مـی‌شـود). ایـن تفاوت علاوه بـر مورفولـوژی (رنـگ و شـکل پیـاز و ...) در توزیـع جغرافیـایی و محـل رویـش آن‌هـا نیـز مـشهود اسـت (۸و۷). در طب سنتی از موسیر به‌عنوان گیاهی با طبیعت گـرم و خشک یاد می‌شود که در درمان بیماری‌ها از قبیل مـشکلات و عفونت‌های دستگاه گوارشی و کاهنده‌ی دردهـای مفاصـل، رفع امراض عصبی، تقویت کننده‌های طحال، دافـع انگـل‌هـا، ضد سـموم گزنـدگان، ضـدعفونی کننـده‌ی زخـم‌هـا و التیـام دهنده‌ی آن‌ها، جلوگیری از سفید شدن و ریـزش مـو، درمـان بیخوابی، رفع مشکلات جنسی و تقویت کننده قوای مردانگـی و تقویت پوست صورت استفاده می‌شود (۹). مطالعات جدید نیز خواص موسیر را در درمـان دیابـت و بهبـود عـوارض آن (۱۰)، ترمیم زخم (۱۱)، حفاظت از کبد (۷)، تقویـت حافظـه (۱۲)، بهبود وتقویت قلب و عروق و فاکتورهای خونی (۱۳)، تقویت سیستم ایمنی (۱۴) نشان می‌دهند. همچنـین مطالعـات مشابه‌ای اثرات ضد رگزایی موسیر در درمان سـرطان‌هـا (۱۵) خواص ضد قارچ (۱۶)، خواص ضد باکتری (۱۷) و خـواص ضد میکروبی (۱۸) موسیر را تایید می‌کنند.

روش بررسی

تعداد ۶۰ مـوش کوچـک سـوری نـژاد Balb/C بـا وزن ۱±۲۳ گرم از مرکز پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانـشکده‌ی داروسازی دانشگاه اصفهان تهیه گردید. موش‌هـا بـه ۵ گـروه ۱۲ تایی شامل گروه‌های کنتـرل، شـاهد و سـه گـروه تجربـی تقسیم شدند. محل نگهداری حیوانـات بخـش لانـه حیوانـات دانشکده‌ی داروسازی دانشگاه اصفهان بـود کـه دارای شـرایط نگهداری مناسب از نظر رطوبت، دما و نور طبیعی بود (مطابق با راهنمای انستیتوی ملی سلامت). نمونه‌ها بـرای رسـیدن بـه شـرایط سـازگاری بـا محـیط بـه مـدت ۱۰ روز و بـا امکـان دسترسی آزاد به آب و غذا در محل نگهداری شدند.

در این تحقیق عمل عصاره‌گیـری از پیـاز خـشک موسـیر بـه روش ماسراسـیون انجـام گرفـت. بـدین‌منظـور مقـدار یـک کیلوگرم موسیر خـشک محـصول منطقـه‌ی کوهرنـگ اسـتان چهارمحـال و بختیـاری بـا راهنمـایی کارشناسـان کـشاورزی انتخاب گردید. موسیرها با آسیاب برقی آسیاب شـد و سـپس پودر به‌دست آمـده بـا الـک نـرم الـک شـد. بـر روی مقـدار ۳۵۰ گرم پودر الک شده، ۲۵۰ سی‌سی الکل طبی بـا خلـوص ۹۶ درصد ریخته شد و بـه‌منظـور جلـوگیری از تبخیـر الکـل درب ظرف مسدود گردیـد. ظـرف بـه‌مـدت ۴ شـبانه روز در دمای اتاق نگهداری شد و در طی این مـدت بـه فاصـله‌هـای زمانی ۲ تا ۳ ساعت مخلوط به کمک ابزار پلاستیکی هـم زده شد. سپس محتویات بشر با کاغذ صافی صـاف شـد. محلـول صاف شده به‌منظور جداسازی الکـل موجـود در آن بـه‌مـدت

Archive of SID

www.SID.ir

حدود ۱۰ روز در دمای اتاق به صورت در باز نگهداری شد تا مقدار باقیماندهی محلول در ظرف به حدود ۶ سیسی برسد. سپس مقدار ۵۰ سیسی سرم بر روی محلول باقیمانده در ظرف ریخته شد. جهت یکنواخت شدن محلول از دستگاه شیکر و همزن التراسوند استفاده شد. محلول به دست آمده جهت یکنواختی کامل و جداسازی ذرات نامحلول (مواد موسیلاژی عصارهی موسیر) باقیمانده با کاغذ صافی، تصفیه گردید. با توجه به اختلاف وزن بین مادهی خشک باقیمانده و مادهی اولیه مقدار مادهی حل شده محاسبه شد. با افزودن سرم فیزیولوژی به محلول بهدست آمده محلولهایی با غلظت سرمی ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میلیگرم برکیلوگرم/روز به دست آمد. عصارههای تهیه شده در طی ۲۶ روز متوالی و در ۱۳ جلسه بهصورت یک روز در میان جهت تزریق به موشها به روش درون صفاقی استفاده شد. ساعت تزریق روزانه بهطور یکسان برای تمامی روزهای تزریق ساعت ۱۳/۳۰ منظور گردید. به گروه اول (گروه کنترل) هیچ تزریقی انجام نشد. گروه دوم (گروه شاهد) در هر جلسه تزریق مقدار ۰/۵ سیسی سرم فیزیولوژی دریافت نمود. گروه سوم (گروه تجربی ۱) در هر جلسه تزریق ۰/۵ سیسی از محلول عصارهی هیدروالکلی موسیر با دوز ۲۰۰ میلیگرم برکیلوگرم/روز را دریافت نمود. گروه چهارم (گروه تجربی ۲) در هر جلسه تزریق ۰/۵ سی سی از محلول عصارهی هیدروالکلی موسیر با دوز ۴۰۰ میلیگرم برکیلوگرم/روز را دریافت نمود. گروه پنجم (گروه تجربی ۳) در هر جلسه تزریق ۰/۵ سیسی از محلول عصارهی هیدروالکلی موسیر با دوز ۸۰۰ میلیگرم بر کیلوگرم/روز را دریافت نمود.

بهمنظور تازه تر بودن عصارههای تهیه شده عمل عصارهگیری در دو مرحله با فاصلهی زمانی ۱۲ روز به روش مشابه و با موسیرهای خشک یکسان انجام گرفت. عصارهی تهیه شده در مرحلهی اول برای ۷ جلسه تزریق و عصارهی تهیه شده در مرحلهی دوم برای ۶ جلسه تزریق استفاده شد. بهمنظورحذف یا کاهش تلفات موشها و اطمینان از سلامت عصاره و نبود الکل در آنها، عصارههای آماده شده در هر دو مرحله دو روز قبل از شروع تزریق با آن عصاره ابتدا بر روی دو موش که در قفس جداگانهای بدین منظور نگهداری میشد تست گردید. رفتار حیوانات بعد از دریافت عصاره و سلامت آنها تا دو روز مورد ارزیابی قرار گرفت. بعد از اطمینان از نبود رفتار غیرعادی در حیوان و سالم ماندن آنها عصارهها برای تزریق نهایی استفاده شد. سه روز بعد از آخرین جلسهی تزریق موشها جهت تشریح و برداشتن بافت بیضه آماده شدند. ابتدا از هر گروه تعداد ۱۰ موش بهصورت کاملا تصادفی انتخاب شد و سپس کار برداشت بیضه با رعایت اصول اخلاقی کار با حیوانات انجام گرفت. بعد از جداسازی بافتهای بیضه راست و چپ، با دقت وزن آنها با ترازوی دیجیتال اندازهگیری شد. بیضهها ابتدا با سرم فیزیولوژی شسستسو داده شدند و سپس بهمنظور فیکس شدن بافت بهصورت جداگانه در ظرفهای شیشهای درب دار کوچک محتوی ۵ میلیلیتر فرمالین ۱۰ درصد قرار داده شدند. سپس مقاطع رنگ آمیزی شده از بافت بیضهی راست تهیه گردید.از تعداد ۵۰ لام رنگآمیزی شده که هر لام حاوی ۴ برش عرضی از بافت بیضه بود توسط میکروسکوپ نوری و با بزرگنمایی ×۴۰۰ از مقطع میانی هر لام تعداد سه میدان دید تصویربرداری شد (بههمین روش تصاویری با بزرگنمایی ×۱۰۰ نیز تهیه گردید). با استفاده از تصاویر دارای بزرگنمایی ×۴۰۰ تعداد اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیتهای اولیه، اسپرماتید هر میدان دید به دقت شمارش گردید و با استفاده از تصاویر دارای بزرگنمایی ×۱۰۰ و به کمک نرمافزار موتیک نسخه ۳/۲ بهصورت تصادفی از هر میدان دید مساحت دو مقطع لوله سمینیفر اندازهگیری و ثبت شد. (بههمین روش مساحت مقطع فضای لومن نیز اندازهگیری شد). سپس از مساحتهای

Archive of SID

www.SID.ir

اندازه‌گیری شده شعاع دایره‌ی معادل محاسبه گردید. (دایره‌ی معادل، دایره‌ای است که دارای مساحت معادل با مقدار اندازه‌گیری شده باشد.) در نهایت داده‌های حاصل از شمارش تعداد سلول‌های جنسی و اندازه‌گیری‌های ابعادی لوله‌های اسپرم ساز توسط نرم‌افزار SPSS و با روش آزمون تحلیل واریانس یک طرفه‌ی آنوا و تست‌های توکی و دانت تحلیل شد. در این تحقیق به‌منظور افزایش دقت در مقایسه‌های ابعادی مقاطع لوله‌های اسپرم ساز از روش اندازه‌گیری کامپیوتری مساحت مقاطع (با استفاده از تصاویر گرفته شده از مقاطع) و محاسبه شعاع دایره معادل آن‌ها استفاده گردید. این روش در مقایسه با روش مرسوم در مطالعات مشابه که اندازه‌گیری قطر کوچک و بزرگ مقاطع است (مقاطع لوله‌های اسپرم ساز با تقریب زیادی به‌صورت بیضی در نظر گرفته می‌شود) دارای دقت و اعتبار بیشتری می‌باشد.

یافته ها

نتایج حاصل از بررسی وزن بیضه‌ها: ارزیابی تفاوت میانگین نسبت‌های وزنی وزن بیضه‌ها به وزن موش وجود تفاوت معنی‌دار به‌صورت افزایشی وابسته به دوز بین گروه شاهد و گره تجربی ۳ را نشان داد ($P<۰/۰۵$). در حالی که بین سایر گروه‌ها تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید (جدول ۱).

ارزیابی تغییرات تعداد اسپرماتوگونی‌ها: بررسی تفاوت میانگین تعداد اسپرماتوگونی‌ها مشخص نمود که بین میانگین تعداد اسپرماتوگونی‌ها در گروه شاهد و کنترل با کلیه‌ی گروه‌های تجربی تفاوت معنی‌داری به‌صورت افزایشی وابسته به دوز وجود دارد ($P<۰/۰۵$) در حالی که بین سایر گروه‌ها تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (جدول ۱).

ارزیابی تغییرات تعداد اسپرماتوسیت‌های اولیه: بررسی تفاوت میانگین تعداد اسپرماتوسیت‌های اولیه مشخص نمود که بین میانگین‌های تعداد اسپرماتوسیت‌های اولیه در گروه شاهد و کنترل با کلیه‌ی گروه‌های تجربی تفاوت معنی‌داری به صورت افزایشی وابسته به دوز وجود دارد ($P<۰/۰۵$) در حالی که بین سایر گروه‌ها تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (جدول ۱).

جدول ۱: مقایسه‌ی میانگین و انحراف معیارهای فاکتورهای بررسی شده در غلظت‌های مختلف عصاره‌ی هیدروالکلی موسیر (Mean±S.E)

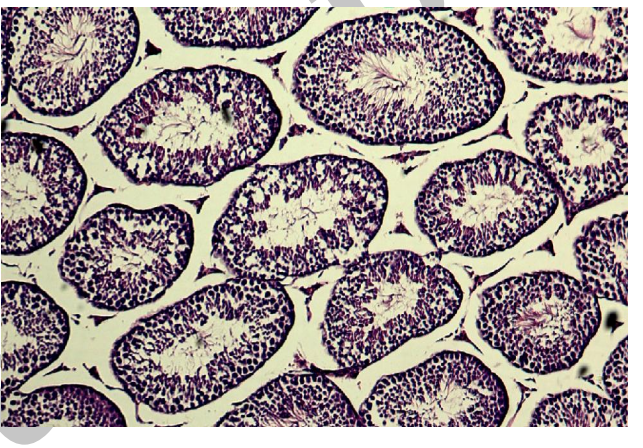
	گروه کنترل	گروه شاهد	گروه تجربی ۱	گروه تجربی ۲	گروه تجربی ۳
وزن موش	۲۶/۵±۱/۱۲۸	۳۰/۴±۰/۷۷۷	۲۸/۴±۰/۷۱۸	۲۷/۳±۰/۷۴۶	۲۸/۳±۱/۰۹۶
وزن بیضه‌ها	۰/۲۱۶±۰/۰۱۱۹۴	۰/۲۲۹±۰/۰۰۲۷۷	۰/۲۵۳±۰/۰۱۰۱۲	۰/۲۴۹±۰/۰۰۸۸۸	۰/۲۸۳±۰/۰۱۷۵۸*
اسپرماتوگونی	۳۰/۴±۱/۷۴۶	۲۸/۹±۲/۰۶۳	۴۳±۲/۹۹۳*	۵۱±۳/۵۸۷*	۵۳/۵±۳/۰۷*
اسپرماتوسیت	۲۰/۳±۱/۸۶۸	۲۲/۹±۱/۷۴۱	۴۴/۷±۴/۹۹۵*	۴۸/۸±۶/۵۱۶*	۵۶/۵±۸/۷*
اسپرماتید	۴۲/۲±۲/۸۵۱	۳۸/۲±۲/۷۱۱	۷۱/۷±۴/۸۶*	۷۳/۱±۶/۳۴۸*	۸۳/۲±۱۰/۰۵۳*
قطر خارجی	۱۴۳/۱۰۵±۲/۱۳	۱۳۹/۷۳۵±۱/۵۶	۱۶۲/۴۷۵±۳/۱۱***	۱۶۵/۶۱۲±۴/۶۱***	۱۷۲/۰۳۶±۳/۶۲***
قطر داخلی	۷۴/۷۹۲±۱/۹۳	۷۰/۷۵±۰/۷۸	۸۶/۳۷۹±۲/۵**	۹۰/۷۴۶±۲/۴۲**	۹۵/۷۹۵±۲/۴۴**
مساحت لایه ژرمینال	۱۱۶۹۱±۳۹۱	۱۱۴۱۱±۲۸۶	۱۴۸۸۹±۵۸۰**	۱۵۱۷۲±۹۷۳**	۱۶۰۸۰±۶۶۸**
تراکم لایه ژرمینال	۷۹۶۲±۴۱۶	۷۹۸۴±۵۶۸	۱۰۸۰۸±۸۵۰	۱۲۰۱۳±۱۴۵۵	۱۲۱۵۸±۱۳۳۱

**** تفاوت معنی دار در سطح P< ۰/۰۵، ** تفاوت معنی دار در سطح P<۰/۰۱، *** تفاوت معنی دار در سطح P<۰/۰۰۱***

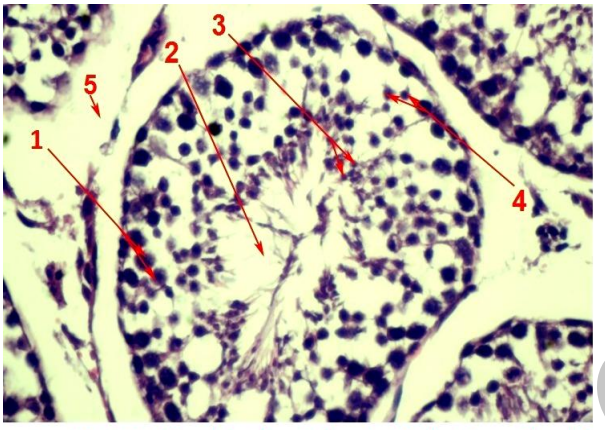
Archive of SID
www.SID.ir

ارزیابی تغییرات تعداد اسپرماتیدها: بررسی تفاوت میانگین تعداد اسپرماتیدها بین گروه‌ها مشخص نمود که بین میانگین‌های تعداد اسپرماتیدها در گروه شاهد و کنترل با کلیه گروه‌های تجربی تفاوت معنی‌داری به‌صورت افزایشی وابسته به دوز وجود دارد ($P<0/05$) در حالی که بین سایر گروه‌ها تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (جدول ۱).

ارزیابی تغییرات قطر خارجی لوله‌های سمینیفر: بررسی تفاوت میانگین قطرهای خارجی بین گروه‌ها نشان داد که بین میانگین قطرهای خارجی در گروه شاهد و کنترل با کلیه‌ی گروه‌های تجربی تفاوت معنی‌داری به‌صورت افزایشی وابسته به دوز وجود دارد ($P<0/001$). در حالی که بین سایر گروه‌ها تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (جدول ۱). همچنین بررسی‌ها افزایش تعداد سلول‌های جنسی مقطع عرضی بافت بیضه در گروه‌های تجربی نسبت به مقطع مشابه در گروه کنترل را نشان داد (شکل‌های ۱ تا ۴).

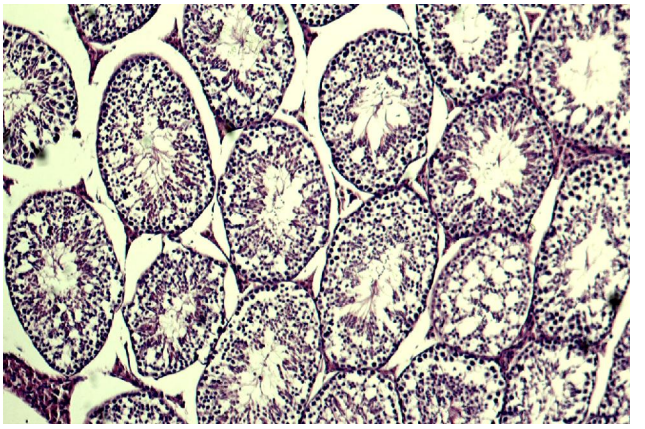


***شکل ۱: مقطع عرضی بافت بیضه گروه** کنترل **با بزرگنمایی** ×۱۰۰*

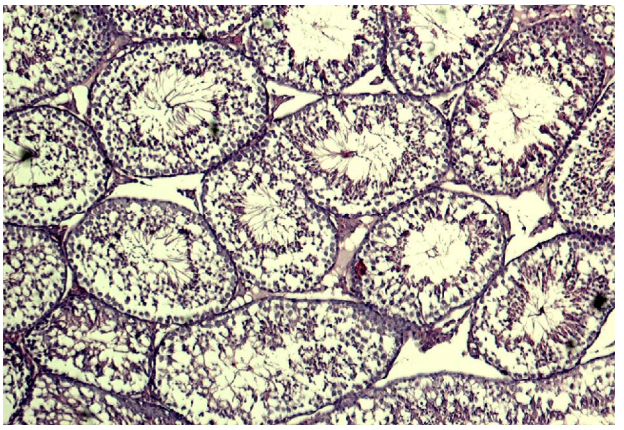


1-اسپرماتوسیت اولیه 2-فضای لومن 3-اسپرماتید 4-اسپرماتوگونیا 5-فضای بینابینی

***شکل ۲: مقطع عرضی بافت بیضه گروه** کنترل **با بزرگنمایی** ×۴۰۰*



***شکل ۳: مقطع عرضی بافت بیضه گروه تجربی ۱ با بزرگنمایی** ×۱۰۰*



***شکل ٤: مقطع عرضی بافت بیضه گروه تجربی ۳ با بزرگنمایی** ×۱۰۰*

هر یک از تصاویر یک میدان دید کامل را در بزرگنمایی ذکر شده نشان می‌دهد. افزایش تعداد سلول‌های جنسی مقطع عرضی بافت بیضه در گروه‌های تجربی نسبت به مقطع مشابه در گروه کنترل به وضوح قابل مشاهده است.

www.SID.ir

ارزیابی تغییرات قطر داخلی لوله‌های سمینیفر: بررسی تفاوت میانگین قطرهای داخلی (قطر فضای لومن) بین گروه‌ها مشخص نمود که بین میانگین قطرهای داخلی در گروه شاهد و کنترل با کلیه‌ی گروه‌های تجربی تفاوت معنی‌داری به صورت افزایشی وابسته به دوز وجود دارد ($P<۰/۰۱$) همچنین بین گروه‌های تجربی۱ و تجربی۳ نیز تفاوت معنی‌داری وجود داشت ($P<۰/۰۵$) (جدول ۱).

ارزیابی تغییرات مساحت لایه‌های ژرمینال: بررسی تفاوت میانگین مساحت لایه‌های ژرمینال بین گروه‌ها مشخص نمود که بین مساحت‌های لایه‌های ژرمینال در گروه شاهد و کنترل با کلیه‌ی گروه‌های تجربی تفاوت معنی‌داری به‌صورت افزایشی وابسته به دوز وجود دارد ($P<۰/۰۱$) در حالی که بین سایر گروه‌ها تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (جدول ۱).

ارزیابی تغییرات تراکم سلول‌های جنسی لایه‌های ژرمینال: تراکم لایه‌ی ژرمینال برای هر نمونه از تقسیم کردن مجموع سلول‌های جنسی آن نمونه بر مساحت محاسبه شده برای آن نمونه به دست آمد. بررسی تفاوت میانگین تراکم لایه‌های ژرمینال بین گروه‌ها تفاوت معنی‌داری را نشان نداد (جدول ۱).

بحث

نتایج تحقیق حاضرنشان داد که تزریق درون صفاقی عصاره‌ی موسیر باعث افزایش معنی‌دار در تعداد سلول‌های جنسی بافت بیضه (اسپرماتوگونی‌ها، اسپرماتوسیت‌های اولیه، اسپرماتیدها) می‌شود و این افزایش وابسته به دوز است. بنا بر نتایج مطالعات قبلی صورت گرفته بر روی ترکیبات و اجزای موثره‌ی موجود در موسیر می‌توان ادعا نمود که یکی از دلایل عمده‌ی این پدیده به خاطر ترکیبات آنتی اکسیدانی متنوع و غنی موسیر است که با مهار و حذف رادیکال‌های آزاد، از فرایند اسپرماتوزنز در مقابل آسیب اکسیداتیو محافظت می‌نمایند. اگر چه ممکن است منابع مغذی موجود در موسیر و ترکیبات شیمیایی آن با تاثیر بر عوامل کنترل کننده‌ی فرآیند اسپرماتوژنز به صورت غیر مستقیم روند اسپرم‌زایی را تسریع کرده باشند. تشخیص دقیق مکانیسم‌های این پدیده نیازمند مطالعات تکمیلی بیشتری است. مطالعات نشان می‌دهد که موسیر دارای دو گروه از ترکیبات مهم سولفوری و غیرسولفوری است که آلیسین (دیلیل دی تیوسولفینات)، سافونین، ساپوجنین، آجوین، دیلیل دی سولفید، دلیل تری سولفید و اس آلیل سستین از جمله ترکیبات سولفوری موسیر هستند. همچنین آنتی اکسیدان‌ها و مواد با ارزشی همچون ویتامین‌ها (A,B,C,E،...)، موادمعدنی (آهن، مس، فسفر، کلسیم، سدیم، منیزیم، روی، منگنز، سلنیوم)، اسیدهای چرب ضروری (لینولنیک اسید، لینولئیک اسید، پالمیتیک اسید، پالمیتولئیک اسید، استئاریک اسید و اولئیک اسید)، پروتئین، فیبرو فلاونوئیدها (کوئرستین و کامفرول) از ترکیبات عمده‌ی غیرسولفوری موسیر هستند (۸و۷).

تمامی مولکول‌های موجود در بدن جانداران شامل: لیپیدها، پروتئین‌ها، اسید نوکلئیک و کربوهیدرات‌ها قابلیت آن را دارند که در معرض آسیب های اکسیداتیو قرار بگیرند (۱۹). به‌طور طبیعی یک تعادل بین غلظت اجزای اکسیژن فعال و سیستم تمیز کاری آنتی اکسیدانی در سیستم تناسلی مرد وجود دارد (۲۰)، اما تولید مقادیر زیادی از ROS به‌وسیله گلبول‌های سفید و اسپرم نابالغ می‌توانند مکانیسم‌های دفاعی آنتی اکسیدانی اسپرم و مایع سمینال را در هم بشکنند و به اسپرم نرمال به وسیله‌ی تحریک پراکسیداسیون چربی (لیپید) صدمه زده و موجب استرس اکسیداتیو در منی و ایجاد آسیب اکسیداتیو در غشای پلاسمایی اسپرم و از دست رفتن DNA آن شود (۱۸). اسیدهای چرب پلی انوئیک و فسفولیپیدها اجزا اصلی تشکیل دهنده‌ی غشای اسپرم هستند و در برابر اکسیداتیوها بسیار آسیب‌پذیر می‌باشند (۲۱). گیاهان دارای

Archive of SID

www.SID.ir

مقادیر زیادی از مولکول‌های به دام اندازنده‌ی رادیکال‌های آزاد هستند.که برخی از آن‌ها شامل: ترکیبات فنولی (اسید فنولیک، فلانوئیدها، کینون‌ها، کومارین‌ها، لیگنان‌ها، استیل بن‌ها و تانن‌ها)، ترکیبات نیتروژن دار (آلکالوئیدها، آمین‌ها و تبالائین‌ها)، ویتامین‌ها (C,E،...)، ترینوییدها- (کاروتنوئیدها و ...) (۱۹). استرس اکسیداتیو در سیستم تناسلی مردان نشان می‌دهد که چندین آنتی اکسیدان برای دفاع علیه رادیکال‌های آزاد اکسیژن فعال مورد نیاز است. به نحوی که آنتی اکسیدان‌های مختلف بر روی رادیکال‌های مختلف و با مکانیزم‌های مختلف عمل می‌کنند (۱۸).

ویتامین E آنتی اکسیدانت بوده و از زیان القا شده به وسیله‌ی رادیکال آزاد به غشای سلولی حساس جلوگیری می‌کند (۲۱). ویتامین E نقش اساسی در حفظ حیات اسپرماتیدها دارد و اجازه می‌دهد که سلول‌های اپی تلیال اپیدیدیم شکل نهایی ساختاری خود را به‌دست آورند (۲۲). مطالعه‌ی دیگری نشان داد که ویتامین E و سلنیوم اثر حفاظتی در برابر استرس اکسیداتیو حاصل از دیابت دارند (۲۳). ویتامین C یکی از ترکیبات اصلی بافت پروستات است که در مایع منی وجود دارد، این ویتامین به‌همراه ویتامین E و عنصر روی برای تشکیل اسپرم لازم می‌باشد (۲۱) در یک مطالعه‌ی مروری افزایش وابسته به دوز تحرک اسپرم با ویتامین C در تحقیقات ورما و کانوار بررسی شد (۱۸). مطالعات اخیر نشان می‌دهند که برخی از بیماری‌ها مثل دیابت وهمچنین فاکتورهای محیطی شامل قرار گرفتن در معرض مواد شیمیایی مختلف، گرما، تشعشع و آفت کش‌ها ممکن است بر روی اسپرماتوژنز اثرات منفی داشته باشند. فلزات سنگین و برخی عناصر نیز بر این فرآیند موثر می‌باشند (۲۱). یک مطالعه نشان داد ویتامین C پراکسیداسیون چربی و تولید فراوان ROS بعد از تزریق سرب را کاهش می‌دهد و به‌طور قابل ملاحظه‌ای شمار اسپرم‌ها و درصد اسپرم‌های سالم را افزایش می‌دهد (۲۴).

مطالعات دیگری اثر حفاظتی ویتامین E را بر استرس اکسیداتیو ناشی از میدان الکترومغناطیس ۱/۵ تسلا و موش در معرض آلایندگی محیطی کادمیوم، نشان دادند (۲۶و ۲۵). رتینوئیک اسید که محصول متابولیسم ویتامین A است برای اسپرماتوژنز نرمال در جنس‌نر ضروری است. رتینوئیک اسید بر هر دو گروه سلول‌های سرتولی و جنسی اثر می‌گذارد و اسپرماتوگونی‌های تمایز نیافته را در مسیر تمایز و در نهایت مرحله‌ی اولیه تقسیم سلولی میتوز قرار می‌دهد (۲۷). روی با غلظت بالا در مایع منی وجود دارد و کمبود آن باعث ضعف پروستات، کاهش اسپرماتوژنز و نازایی در مرد و زن می‌شود. روی یک جزء تشکیل دهنده‌ی آنزیم سوپراکسید دیسموتاز است که می‌تواند سلول‌های بدن را از آسیب اکسیداتیو محافظت کند. سلنیوم جزء سازنده‌ی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی سلنوپروتئین است که از تجزیه‌ی اکسیداتیو غشای سلول‌ها جلوگیری کرده و اسپرماتوزوا را در طول روند تکامل اسپرم محافظت می‌کنند. آنزیم‌های وابسته به روی و سلنیوم می‌توانند در خنثی سازی رادیکال‌های آزاد کمک کنند. یک دوز روزانه ۲۰۰ میلی‌گرم روی موفولوژی اسپرم و تحرک آن را بهبود می‌بخشد که در نتیجه باعث افزایش نرخ آبستنی در شرکای جنسی مردان نابارور می‌شود. مصرف همزمان ویتامین E می‌تواند عملکرد سلنیوم را بهبود بخشد. همچنین سلنیوم می‌تواند ذخایر سلول‌های سرتولی و اسپرماتوزا را افزایش دهد (۲۸). تزریق ۰/۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم سلنیوم برخی از پارامترهای اسپرم موش را بهبود بخشید و این اثر وابسته به دوز بود (۲۹). کمبود روی در مردان بالغ می‌تواند تعداد اسپرم‌ها را کاهش دهد. ولی مقدار کافی روی قدرت تحرک اسپرم را افزایش می‌دهد و اسپرماتوژنز را تنظیم می‌کند (۳۰). آهن نیز می‌تواند پارامترهای اسپرم را بهبود ببخشد و سطح سرمی FSH, LH و T را افزایش دهد (۳۱). لازم به ذکر است، اثرات کمبود آهن بر اسپرماتوژنز برگشت پذیر است

Archive of SID

www.SID.ir

(۳۲). مطالعات نشان می‌دهد که جانوران محروم از اسیدهای چرب ضروری، عقیم می‌شوند و این فرایند در جنس‌نر سریع‌تر رخ می‌دهد (۳۳).

فلاونوئیدها به‌علت ساختار فنولی ویژه به‌عنوان برداشت کننده‌های رادیکال آزاد قوی عمل می‌کنند و با خاصیت آنتی‌اکسیدانی خود در پلاسما به‌عنوان مهار کننده‌های آنزیم اورنیتین کربوکسیلاز، پروتئین کیناز و کالمودولین عمل می‌کنند. طبیعت فنولی فلاونوئیدها باعث جمع‌آوری رادیکال‌های آزاد مثل سوپراکسید و رادیکال‌های هیدروکسیل می‌شود. کوئرستین نیز که از فلاونوئیدها است دارای اثر آنتی‌اکسیدانی است و از اکسیداسیون لیپوپروتئین‌ها با دانسیته پایین (LDL) جلوگیری می‌کند (۳۳). کوئرستین دارای خواص آنتی اکسیدانی قوی است و مدت‌های طولانی در درمان حیوانات دیابتی استفاده شده و نشان داده شده که می‌تواند استرس اکسیداتیو را کاهش دهد (۳۴). کوئرستین دارای اثرات مثبت روی اندام‌های تناسلی (بیضه‌ها، اپیدیدیم، لوله‌های منی، غده پروستات و کیسه منی)، هورمون‌های جنسی (تستوسترون، LHوFSH)، کیفیت اسپرم (غلظت اسپرم، زیست پذیری و تحرک) به‌صورت وابسته به دوز و طول دوره‌ی درمان است (۳۴). مشتقات گلیکوزیدی کامفرول به واسطه‌ی تشکیل کمپلکس‌های شلاته کننده رادیکال‌های آزاد، مهار تشکیل آنزیم‌های پراکسیداتیو مثل سیکلواکسیژناز به خصوص در سیستم‌های بیولوژیک، جاروبگری رادیکال‌های DPPH، مهار کننده ی گزانتین اکسیداز و مهار واکنش‌های اتو اکسیداسیون دارای اثر آنتی اکسیدانی است (۳۳). آلیسین یک ترکیب سولفوری که دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی است و نشان داده شده است که دارای پتانسیل‌های بالقوه‌ای در سلامتی انسان است. آلیسین خواص ضد پلاکت، کاهنده‌ی چربی و بهبود دهنده‌ی گردش خون دارد. همچنین دارای خواص ضد باکتری، ضد سرطان، خاصیت محافظت کبدی و عصبی و دارای خاصیت حفاظت شیمیایی است (۷). بخش غیر قندی ساپونین نیز دارای خاصیت آنتی اکسیدانی است که می‌تواند مزایای دیگری از جمله کاهش ریسک ابتلا به بیماری‌های قلبی و سرطان را در پی داشته باشد. مطالعات، نشان دهنده‌ی خواص ضد سرطانی، محرک سیستم ایمنی، اثر کاهندگی کلسترول خون و موثر در سلامت استخوان برای ساپونین است.از طرفی مطالعات متعدد صورت گرفته نیز اثرات درمان با عصاره‌ی موسیر بر روی عوامل مضر بر روی فرایند اسپرماتوژنز مثل بیماری دیابت را نشان می‌دهد. عصاره‌ی موسیر سطح گلوکز خون را در موش دیابتی کاهش داد و موجب شد که سطح آسیب وارده به عملکرد بیضه‌ها کاهش یافته و شاخص گنادی و کیفیت اسپرم بهبود یابد (۳۵). مطالعات مشابهی که بر روی سیر انجام گرفت، نشان داد تجویز این ماده‌ی غذایی که دارای ترکیبات مغذی مشابه موسیر است، ضمن تاثیرگذاری بر تکثیر سلول‌های جنسی در توبول بیضه و اپیدیدیم، روند اسپرماتوژنز را نسبت به‌گروه کنترل سرعت می بخشد (۶و ۵و ۴). افزایش دوز تزریقات به ۴۰۰ و۸۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم/روز اگرچه به صورت وابسته به دوز تفاوت ملموسی در میانگین شاخص‌های اندازه‌گیری شده فرایند اسپرماتوژنز (تعداد اسپرماتوگونی‌ها، تعداد اسپرماتوسیت‌های اولیه، تعداد اسپرماتیدها) موش سوری نسبت به دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم/روز ایجاد می‌کند، اما این تفاوت از نظر تحلیل آماری به روش آنوا به صورت وابسته به دوز قابل اغماض بوده و معنی‌دار نیست که این موضوع می‌تواند نشان دهنده‌ی اشباع فاکتورهای موثر ناشی از عصاره‌ی موسیر در بدن موش بوده و یا نشان دهنده اثر فاکتورهای مهاری این عصاره در دوزهای بالاتر باشد.

افزایش قطر داخلی و خارجی لوله‌های سمینیفر به همراه افزایش سلول‌های جنسی موید این نکته است که عصاره‌ی

Archive of SID

www.SID.ir

موسیر به صورت وابسته به دوز موجب سرعت بخشیدن به فرایند تمایز سلولی و افزایش تولید و تجمع اسپرم در فضای لومن شده است. بررسی‌های مساحت و تراکم لایه‌ی ژرمینال نیز وجود تفاوت معنی‌دار و وابسته به دوز در اندازه‌ی مساحت لایه‌ی ژرمینال و عدم وجود تفاوت معنی‌دار تراکم لایه‌ی ژرمینال در گروه‌های تجربی نسبت به گروه‌های کنترل و شاهد را نشان داد. این بررسی نشان داد که با سرعت گرفتن روند تمایز سلولی، لایه‌ی ژرمینال وسعت بیشتری یافته و این گسترش مساحت تا حد کمی به علت افزایش تعداد سلول‌های جنسی بوده است به نحوی که افزایش تعداد سلول‌های جنسی در لایه‌ی ژرمینال موجب افزایش معنی‌دار تراکم لایه‌ی ژرمینال (فشرده شدن سلول‌های جنسی در لایه‌ی ژرمینال) نشده است. افزایش معنی‌دار وزن بیضه در گروه تجربی ۳ نسبت به گروه شاهد و افزایش نسبی و وابسته به دوز میانگین وزن بیضه‌ها نیز می‌تواند ناشی از تغییرات مورفولوژیک بافت بیضه و همچنین افزایش تعداد اسپرم باشد. به‌طور کلی وزن و اندازه‌ی بیضه ارتباط مستقیمی با عملکرد آن دارد. به‌طوری که کاهش وزن باعث نقصان در عمل اسپرماتوژنز و تولید هورمون در بیضه می‌شود. نتایج آنالیز آماری کلیه‌ی فاکتورهای اندازه‌گیری شده در این آزمایش (تعداد اسپرماتوگونی‌ها، تعداد اسپرماتوسیت‌های اولیه، تعداد اسپرماتیدها، قطر داخلی و خارجی توبول‌ها و مساحت لایه‌ی ژرمینال) موید یکدیگر بوده و همگی نشان دهنده‌ی اثر مثبت عصاره‌ی موسیر بر فرایند اسپرماتوژنز در موش سوری بودند.

نتیجه‌گیری

تزریق درون صفاقی عصاره‌ی موسیر با دوز ۲۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم/روز به‌مدت ۱۳ جلسه می‌تواند تفاوت معنی‌داری در شاخص‌های اسپرماتوژنز (تعداد سلول‌های جنسی، مساحت فضای لومن و لایه‌ی ژرمینال و وزن بیضه) موش سوری ایجاد کند که نشان دهنده افزایش معنی‌دار در سرعت فرایند اسپرماتوژنز و افزایش حجم اسپرم تولیدی است. بنا بر نتایج حاصله می‌توان گفت تزریق درون صفاقی عصاره‌ی هیدروالکلی گیاه موسیر با تاثیرات مثبت بر روند اسپرماتوژنز عامل تقویت کننده‌ی پتانسیل تولید مثلی در جنس نر موش سوری است. با توجه به نتایج این تحقیق و تحقیقات مشابه پیشنهاد می‌گردد تا ضمن انجام مطالعات تکمیلی در جهت شناخت هر چه بیشتر خواص دارویی موسیر و گیاهان هم خانواده‌ی آن در درمان مشکلات ناباروری مردان، از تجویز خوراکی این ماده غذایی ارزشمند در رژیم‌های غذایی که به منظور بهبود توان باروری در مردان داده می‌شود استفاده گردد.

تقدیر و تشکر

این مقاله بر اساس نتایج تحقیقات پایان نامه کارشناسی ارشد دانشجویی در اردیبهشت ماه ۱۳۹۴ در دانشگاه پیام نور واحد اصفهان تهیه شده است. از کلیه‌ی همکارانی که ما را در انجام این تحقیق یاری رساندند، کمال تشکر را داریم.

References

1- Mohammadi F, Nikzad H, Taherian A, Amini Mahabadi J, Salehi M. Effects of herbal medicine on male infertility. *Anatomical sciences*. 2013; 10: 3-16.

2- Khaki A, Nouri M, Fathi Azad F, Khaki AA. Evaluation of *Zingiber Officinalis* and *Allium* Cepa on Spermatogenesis in Rat. *J Tabriz Univ Med Sci*. 2008; 30: 53-8.

3- Vahidi S, Ardalan A, Mohammad K.

Archive of SID

www.SID.ir

The prevalence of primary infertility in the Islamic Republic of Iran in the years 2004. *Asia pac J Public Health.* 2009; 21: 287-93.

4- Bahrami KH, Mahjor AA, Johary H, Bahrami R, Bahrami A. Comparative study on histopa-tological and histomorphometric effect of raw and cooked garlic on spermatogenesis in testis and epidydims of rats. *J Fasa Univ Med Sci*. 2014; 3: 371.

5- Mirfard M, Johari H, Mokhtari M1, Hematkhah V, Jamali H, Allahverdi Gh. The effect of hydro-alcoholic garlic extract on testis weight and spermatogenesis in mature male rats under chemotherapy with cyclopho-sphamide. *J Fasa Univ Med Sci*. 2011; 1: 123-30.

6- Modaresi M, Mohajer M. The effect of garlic extract on spermatogenesis and sexual hormones in heat-stressed male mice. *J Zanjan Univ Med Sci*. 2015; 23: 88-97.

7- Moradi Y, Moradi-Sardareh H, Ghasemi H, Mohamadi N, Nabi Moradi M, Hosseini-Zijoud S. Medicinal properties of persian shallot. *Eur J Exper Biol*. 2013; 3: 371-79.

8- Ebrahimi R, Zamani Z, Kashi A, Gabbari A. Comparison of fatty acids, mineral elements of 17 Iranian *Shallot Landraces (Allium hirti-folium Boiss.*).*Iran J Food Sci Technol*. 2008; 5: 61-8.

9- Haji Sharifi A. The secrets of medicinal plant [computer programme]. Shafa first volume.

10- Fakhrabadi Sh. Effect of *Allium hirtifolium* extract on some biochemical factors and the pancreatic, hepatic and nephrotic tissues in streptozotocin-induced diabetes male rats. [MA Dissertation]. Ferdowsi University of Mashhad. 2015.

11- Ghodrati Azadi H, Fathi B, Kazemi Mehrjerdi H, Maleki M, Shaterzadeh H, Abyazi M, Macroscopic evaluation of wound healing activity of the Persian shallot *(Allium hirti-folium*) in rat. *Iran J Vet Sci Technol* 2011; 3: 31-8.

12- Jalali R, Bagheri M, Moghimi A. The effect of Iranian shallot or garlic aqueous extracts on learning, memory and serum biochemical variables in fructose-fed wistar rats. *Iran J Basic Med Sci.* 2011; 14: 284-9.

13- Fallahi F, Roghani M, Bagheri. The effect of oral feeding of *Allium ascalonicum L*. on thoracic aorta contractile response in diabetic rats. *J Semnan Univ Med Sci*. 2009; 10: 213-18.

14- Jafariana A, Ghannadib A, Elyasia A. The effects of *Allium hirtifolium Boiss* on cell-mediated immune response in mice. *Iran J Pharmaceutical Res.* 2003; 2: 51-55.

15- Ghodrati Azadi H, Riazi G, Ghaffari M, Ahmadian Sh, Javdani Khalife T. Effects of *Allium hirtifolium* (Iranian shallot) and it's allicin on microtubule and cancer cell lines. *Afr J Biotechnol.* 2009-10; 8: 5030-7.

16- Taran M, Rezaeian M, Izaddoost M. Invitro Antitrichomonas activity of *Allium hirtifolium* (PersianShallot) in comparison with metroni-dazole.*Iran J Pub Health*. 2006; 35: 92-94.

17- Amin M, Jahangirnezhad M, Rasaei N, Pipel-zadeh M, Rafiee M. Evaluation of the effect of Persian shallot *(Allium hirtifolium boiss)* aqueous

Archive of SID
www.SID.ir

extract on mouth bacterial count compared with chlorhexidine mouth rinse. *Afr J Microbiol Res.* 2012; 6: 5809-13.

18- Agarwal A, Nallella K, Allamaneni Sh.Tamer S. Role of antioxidants in treatment of male infertility: an overview of the literature. *Repro Bio Med Online J*. 2004; 8: 616-627.

19- Siahposhan A, Sohangir S. Phenolic compounds and antioxidant activity of methanolic extracts of moosir *(allium hirti-folium boiss)* Bulbs.*Jundishapur Sci Med J*. 2012; 11: 625-34.

20- Amin M, Abasi Montazeri E, Mashhadizadeh M, Farajzadeh Sheikh A, characterization of shallot, an antimicrobial extract of allium ascalonicum. *J Pakistan Med Sci.* 2009; 25: 984-52.

21- Marghmaleki Asadi M. Effect of saffron extract on male reprodactive physiology in mice [MA Dissertation]. University of Payam Noor. 2007.

22- Bensoussan K, Morales CR, Hermo L.Vitamin E deficiency causes incomplete spermatogenesis and affects the structural differentiation of epithelial cells of the epididymis in the rat. 1998; 19: 266-88.

23- Zaker A, Keshavarz M, Muzaffar A, Tkhshid M, Meshkibaf M. Protective effects of vitamin E and selenium on spermatogenesis in adult male rat insulin-resistant. J *Fasa Univ Med Sci.* 2013; 2: 308-13.

24- Acharya UR, Rathore RM, Mishra M. Role of vitamin C on lead acetate induced spermato-genesis in swiss mice.*Environ Toxicol Pharmacol.* 2003; 13: 9-14.

25- Acharya UR, Mishra M, Patro J, Panda MK. Effect of vitamins C and E on spermatogenesis in mice exposed to cadmium. *Repro Toxicol.* 2008; 25: 84-8.

26- Monfared AS, Jorsaraei SG, Abdi R. Protective effects of vitamins C and E on spermatogenesis of 1.5 Tesla magnetic field exposed rats. *J Magnetic Resonance Image.* 2009; 30: 1045-51.

27- Hogarth G, Griswold M. The key role of vitamin A in spermatogenesis. *J Clin Invest.* 2010; 120:950-62.

28- Marin-Guzman J, Mahan D, Pate J. Effect of dietary selenium and vitamin E on spermato-genic development in boars. *J Animal Sci.* 2000; 78: 1537-43.

29- Ghazanfarpoor H, Talebi E, Ghasemi F, Haghighat Jahromi M. The effect of selenium nanoparticles antioxidant on the sperm parameters of mature and adult rats. *J Fasa Univ Med Sci*. 2014; 4: 111-19.

30- Abbasi A, Prasad A, Rabbani P. Experimental zinc deficiency in man: effect on spermato-genesis. *J Transactions assoc Am Physicians.* 1979; 92: 292-302.

31- Soliman A, Yassin M. Intravenous iron replacement therapy in eugonadal males with iron-deficiency anemia: Effects on pituitary gonadal axis and sperm parameters. *Indian J Endocrinol Metab*. 2014; 18: 310-16.

Archive of SID

www.SID.ir

32- Lourdes de Pereira M, Garcia e Costa F. Spermatogenesis recovery in the mouse after iron injury. *J Human Exper Toxicol*. 2003; 22: 275-9.

33- Rashidi M. Phytochemical investigations of the defatted hydroethanol extract of *Echinophora cinerea* aerial parts [Doctoral Dissertation]. Kermanshah University of Medical Sciences and Health Services.2013.

34- Khaki A, Nouri M, Fathiazad F, Ahmadi-Ashtiani HR, Rastgar H, Rezazadeh Sh. Protective effects of quercetin on spermato-genesis in streptozotocin induced diabetic rat. *J Med Plants*. 2009; 8: 57-64.

35- Luangpirom, A; Kourchampa, Watchara, Junai-muang, Tanaree, Somsapt, Sritragool. Effect of shallot (*Allium ascalonicum L.*) bulb juice on hypoglycemia and sperm quality in strepto-zotocin induced diabetic mice. *J Animal Biology & Animal Husbandry*. 2013; 5: 49-54.

Archive of SID

www.SID.ir

The Effect of Hydro-Alcoholic Shallots Extract on Testis and Spermatogenesis in Balb/C Mice

Kazemian S[1], Karimi A[1], Pilevariyan A[1], Ghandi A[2]

[1]Dept. of Biology, Payam Noor University, Isfahan, Iran

[2]Dept. of Electrical Engineering, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran

Corresponding Author: Kazemian S, Dept of Basic Sciences, Payam Noor University, Tehran, Iran

E-mail: Kazemiansareh@yahoo.com

Received: 11 Jan 2016 **Accepted:** 10 Jul 2016

Background and Objective: In traditional medicine, the shallot plant is recognized as an effective food for the amplification of male sexual ability. This study was performed in order to find an available, effective and low-risk treatment for fertility problems due to sperm production disorders.

Materials and Methods: In this experimental study, 60 adult male mice with an average weight of 23±1 grams were selected and randomly divided into 5 equal groups, including a control group, a sham group and 3 experimental groups. The experimental groups received 0.5 ml hydroalcoholic extract of shallot three different doses of 200, 400 and 800 mg/kg/day hydroalcoholic extract of shallot every other day resulting in a total of 13 injections. The sham group received the same volume of normal saline and the control group did not receive anything. After removing the testicles, data was collected on testicular mass, germ cell numbers, external and internal diameter of tubules and germinal layer area and density. The data was evaluated with one-way ANOVA variance analysis and Tukey and Dunnett tests.

Results: Significantly increased spermatogonia, primary spermatocytes, spermatids and internal and external diameters of tubules and germinal layer area were seen in experimental groups compared with controls. Furthermore comparison of testis weight ratio between the third experimental group and controls and comparison of the internal diameter of tubules among the first and third experimental groups showed a significant increase.

Conclusion: The results showed that hydroalcoholic shallot extract increases the number of germ cells in mice testes and helps amplify the sexual ability of male mice.

Keyword: Shallot, Spermatogenesis, Mouse, Testis, Infertility

Archive of SID

www.SID.ir