

اثر تزریق داخل صفاقی عصاره هیدروالکلی آویشن کوهی (*Origanum Vulgare*) بر هورمونهای جنسی در موش صحرایی نر نژاد ویستار

علی قربانی رنجبری^{(DVM)*}، نازنین قربانی رنجبری^(MSc)، زهرا قربانی رنجبری^(MSc)، فاطمه جویبار^(PhD)^۲

۱- باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون
۲- گروه فیزیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون

دریافت: ۹۲/۵/۱۲، اصلاح: ۹۲/۶/۱۳، پذیرش: ۹۲/۸/۱۵

خلاصه

سابقه و هدف: آویشن کوهی دارای ترکیباتی با خواص ضدتشنج، ضدقارچ، آنتی اکسیدان، ضدالتهاب، ضدعفونت، ضددیابت، محرک سیستم عصبی مرکزی و محرک تولید هیدروکسیلاز تستوسترون می باشد. لذا هدف از مطالعه حاضر اثر تزریق داخل صفاقی عصاره هیدروالکلی آویشن کوهی (*Origanum Vulgare*) بر هورمونهای جنسی در موش صحرایی نر می باشد.

مواد و روشها: در این مطالعه تجربی، ۶۰ سر موش صحرایی نر با وزن تقریبی ۱۹۰-۲۱۰ گرم در شش گروه ۱۰ تایی به مدت ۲۸ روز مورد مطالعه قرار گرفتند. گروه ها شامل کنترل، شم و گروههای تجربی دریافت کننده دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ mg/kg عصاره هیدروالکلی آویشن کوهی به صورت درون صفاقی بودند. پس از آخرین دوز دریافتی، از تمام گروهها نمونه خونی گرفته شده و بیضه ها خارج شدند. میزان هورمون های تستوسترون، LH و FSH اندازه گیری شد و بیضه ها پس از توزین مورد بررسی های بافت شناسی قرار گرفته و گروهها با هم مقایسه شدند.

یافته ها: نتایج این تحقیق تفاوت معنی داری در وزن بدن و بیضه ها نشان نداد. همچنین میزان هرمون FSH نیز اختلاف معنی داری را نشان نداد. درحالی که میزان میانگین هورمون های LH و تستوسترون در گروه دریافت کننده ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره هیدروالکلی آویشن کوهی به ترتیب ۵۲/۷۵ میلی واحد بر میلی لیتر و ۸/۳۶ نانوگرم بر میلی لیتر بود، در مجموع اختلاف آماری معنی داری بین گروه دریافت کننده ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره هیدروالکلی آویشن کوهی با گروه کنترل و دیگر گروه های مورد بررسی از نظر میزان هورمون های LH و تستوسترون وجود داشت ($p < 0/05$).

نتیجه گیری: نتایج مطالعه نشان داد که عصاره هیدروالکلی آویشن کوهی باعث افزایش تستوسترون بدن و تأثیر روی غلظت هورمون LH در موش صحرایی نر می شود. در نتیجه با افزایش تراکم اسپرم افزایش میزان باروری را سبب می شود.

واژه های کلیدی: آویشن کوهی، اسپرماتوژنز، باروری، تستوسترون، LH.

مقدمه

خانواده Labiatae و سلسله Plantae می باشد (۴). این گیاه در بخش های وسیعی از اروپا خصوصا در جنوب این قاره، شمال آفریقا و نیز قسمت وسیعی از آسیا دیده می شود. در ایران نیز بیشتر در مناطق شمالی، شمال غرب پراکندگی دارد و در مناطق گرم جنوبی یافت نمی شود (۵). در طب سنتی از *Origanum Vulgare* به عنوان ضدعفونی کننده (۶)، ضداسپاسم (۷)، ضدنفخ، ضد کرم و برای رفع ناراحتی های کبدی و صفرا استفاده شده است (۸و۹). همچنین آویشن آنتی اکسیدان قوی در مقابل رادیکال آزاد است و خاصیت آنتی اکسیدان این گیاه قوی تر از میوه ها و سبزیجات است، همچنین اثرات آنتی اکسیدان بیشتری نسبت به ویتامین E دارد (۷). آویشن کوهی محتوی یک درصد اسانس است که قسمت اعظم آن را فنل ها و هیدروکربن های مونوترپنی و الکل ها

مسائل مربوط به باروری و ناباروری یکی از مسائل پیچیده در علم پزشکی است. در هر اجتماعی تقریباً ۱۳ درصد افراد نابارور هستند که در این بین اصلی ترین علت ناباروری در مردان، عدم توانایی آنان در تولید اسپرم های سالم و فعال است (۱). اسپرم سازی در بیضه تحت کنترل هورمون تستوسترون مترشحه از آن صورت میگیرد و فعالیت ترشعی بیضه ها خود تحت کنترل محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-بیضه می باشد (۲). با توجه به آثار سوء داروهای شیمیایی، امروزه استفاده از طب سنتی به خصوص گیاه درمانی مد نظر قرار گرفته است. در سال های اخیر توجه زیادی به مطالعه اثرات گیاهان مختلف بر روی باروری پستانداران آزمایشگاهی شده است و از نتایج حاصل از این مطالعات اطلاعات ارزشمندی بدست آمده است (۳). آویشن کوهی *Origanum Vulgare* یکی از گیاهان

۵- گروه تجربی (۳): حیوانات این گروه روزانه مقدار ۳۰۰ mg/kg

عصاره به صورت تزریق درون صفاقی دریافت کردند.

۶- گروه تجربی (۴): حیوانات این گروه روزانه مقدار ۴۰۰ mg/kg

عصاره به صورت تزریق درون صفاقی دریافت کردند.

در پایان روز ۲۸ آزمایش، وزن موشها اندازه گیری و پس از آن حیوانات تحت بی هوشی با اتر قرار گرفتند و پس از باز کردن قفسه سینه خون گیری از ناحیه بطنی قلب انجام شد و نمونه های خونی بدست آمده در هر مورد به مدت ۱۵ دقیقه به دور ۳۰۰۰ سانتریفوژ شد تا سرم از لخته جدا شود. بعد از جداسازی سرم خون از لخته به وسیله سمپلر نمونه ها تا زمان انجام سنجش های هورمونی در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی گراد منجمد و نگهداری شدند. اندازه گیری هورمونی به روش معمول آزمایشگاهی یعنی رادیوایمونواسی (RIA) انجام و هورمون های LH، FSH و تستوسترون اندازه گیری شدند (۱۵ و ۱۶). آماده سازی و تهیه مقاطع بافتی با استفاده از رنگ آمیزی هماتوکسیلین-اوتوین انجام شد. مقاطع بافتی تهیه شده از بیضه های راست و چپ با استفاده از میکروسکوپ و فوتومیکروگراف بررسی شد. داده ها با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (تست Tukey) تجزیه و تحلیل و $p < 0.05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد میانگین غلظت پلاسمایی هورمون LH در گروه تجربی ۴ با دوز ۴۰۰ mg/kg/day: $52/75 \pm 3/63$ میلی واحد بر میلی لیتر نسبت به گروه کنترل $42 \pm 2/53$ میلی واحد بر میلی لیتر افزایش داشته است ($p < 0.05$). غلظت پلاسمایی هورمون FSH در گروه های تجربی ۱، ۲، ۳ و ۴ به ترتیب با دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ mg/kg/day نسبت به گروه کنترل اختلاف معنی داری را نشان نمی دهد. میانگین غلظت پلاسمایی هورمون تستوسترون در گروه های تجربی ۱، ۲ و ۳ به ترتیب با دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ mg/kg/day) اختلاف معنی داری را نسبت به گروه کنترل نشان نمی دهد. ولی میانگین غلظت پلاسمایی هورمون تستوسترون در گروه تجربی ۴ با دوز ۴۰۰ mg/kg/day: $8/36 \pm 0/13$ نانوگرم بر میلی لیتر نسبت به گروه کنترل $7/33 \pm 0/10$ نانوگرم بر میلی لیتر) افزایش داشت ($p < 0.05$) (جدول ۱). میانگین وزن بدن از لحاظ آماری اختلاف معنی داری را نداشتند. اما میانگین وزن بیضه چپ و راست در گروه تجربی ۱ و ۲ از لحاظ آماری اختلاف معنی داری را نسبت به گروه کنترل و شم نشان داد (جدول ۲).

بررسی بافت شناسی بیضه نشان داد که میانگین تعداد سلول های سرتولی، لایدیگ، اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت و اسپرماتید در گروه های مختلف آزمایش اختلاف معنی داری نسبت به گروه کنترل و شم نداشتند. همچنین بین گروه شم و کنترل نیز هیچ تغییر معنی داری در پارامترهای مذکور وجود نداشت. اما می توان بصورت کلی بیان نمود که تغییرات بافتی در لوله های اسپرم ساز در گروه های تجربی نسبت به گروه کنترل از نظر تعداد انجام گرفته و با افزایش همراه بوده است؛ اما این امر در تمامی اسلایدها قابل مشاهده نیست. همچنین تغییرات بافتی در لوله های اسپرم ساز در گروه های تجربی نسبت به گروه کنترل از نظر اندازه فضای بینابینی و ساختار لوله های اسپرم ساز انجام نگرفته است (شکل ۱ و ۲).

تشکیل می دهند. بطور کلی اسانس آویشن کوهی دارای ۲۵ ترکیب مانند ۲۶/۹ درصد تیمول، ۴۰/۷٪ کارواکرول، ۷/۳٪ گاما ترپینین می باشد (۱۲-۱۰). همچنین دارای سینئول می باشد که با القای آنزیم هیدروکسیلاز تستوسترون باعث افزایش آندروژن ها و افزایش آندروژن ها باعث افزایش غلظت اسپرم می شود (۱۳). لذا با توجه به وسعت گسترده مصرف این گیاه در رژیم غذایی، صنایع غذایی، دارویی و بررسی های اندک در زمینه تاثیر عصاره هیدروالکلی آویشن کوهی بر فعالیت تولیدمثل جنس نر و عملکرد بیضه، در تحقیق حاضر اثر عصاره هیدروالکلی گیاه دارویی آویشن کوهی بر پارامترهای عملکرد محور هورمونی هیپوفیز - گناد و تغییرات بافتی بیضه در موشهای صحرایی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روشها

عصاره گیری گیاه آویشن کوهی: گیاه آویشن کوهی در فصل بهار از کوه های اطراف شیراز جمع آوری و در سایه و در جریان هوای آزاد خشک شد. پس از خشک شدن و تمیز کردن گیاه، آنرا توسط آسیاب برقی پودر، سپس به ازای ۱۰۰ گرم پودر آویشن 1000cc هیدروالکل ۵۰٪ اضافه نموده و به مدت ۷۲ ساعت در دمای آزمایشگاه در دستگاه پرکولاتور نگهداری شد. بعد از گذشت ۷۲ ساعت، شیر دستگاه پرکولاتور را باز کرده و قطره قطره عصاره را جمع آوری کرده و همزمان از بالا بوسیله قیف جداکننده قطره قطره محلول هیدروالکل اضافه شد تا زمانی که عصاره بدست آمده دیگر رنگی از گیاه نداشته باشد. عصاره بدست آمده را بوسیله دستگاه روتاری یا بن ماری (water bath) تغلیظ کرده و عصاره تغلیظ شده را برای خشک کردن بمدت ۲۴ ساعت در دستگاه دسیکاتور قرار گرفت که به ازای ۱۰۰ گرم گیاه، ۲۱ گرم عصاره خشک کریستالی حاصل شد (۱۴).

گروه های مورد آزمایش: حیوانات مورد استفاده در این تحقیق موش صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۱۰-۱۹۰ گرم و سن ۳-۲/۵ ماه بودند که از موسسه تحقیقات و سرم سازی رازی کرج تهیه و به خانه پرورش حیوانات دانشگاه آزاد کازرون منتقل شدند. حیوانات در درجه حرارت ثابت محیط (25 ± 2 درجه سانتیگراد) و دوره نوری دوازده ساعت تاریکی و دوازده ساعت روشنائی قرار داشتند. آب و غذا در تمام طول آزمایش بدون هیچ محدودیتی در اختیار آنها قرار گرفت. قفسه نگهداری حیوانات از جنس پلی کربنات بود که هفته ای دوبار ضدعفونی و خرده های چوب آن هر سه روز یکبار تعویض شد. به منظور سازش حیوانات با محیط آزمایش، تمام آزمایشها یک هفته پس از استقرار حیوانات در محیط آزمایش، انجام شد. در این تحقیق حیوانات به ۶ گروه ده تایی زیر تقسیم شدند:

۱- گروه کنترل (A): در این گروه کلیه شرایط با سایر گروه ها یکسان

بود با این تفاوت که حیوانات این گروه هیچ ماده یا دارویی را دریافت نکردند.

۲- گروه شم (B): حیوانات این گروه روزانه مقدار ۰/۲ میلی لیتر آب

مقطر به صورت تزریق درون صفاقی دریافت کردند.

۳- گروه تجربی (۱): حیوانات این گروه روزانه مقدار ۱۰۰ mg/kg

عصاره گیاه آویشن کوهی به صورت تزریق درون صفاقی دریافت کردند.

۴- گروه تجربی (۲): حیوانات این گروه روزانه مقدار ۲۰۰ mg/kg

عصاره به صورت تزریق درون صفاقی دریافت کردند.

جدول ۱. مقایسه میانگین غلظت پلاسمایی هورمون FSH, LH و در گروه های تجربی دریافت کننده مقادیر مختلف عصاره نسبت به گروه کنترل در پایان آزمایش

غلظت پلاسمایی هورمون	(mIU/ml) LH	(MIU/ML) FSH	تستوسترون (NG/ML)
گروه های آزمایش	Mean±SD	Mean±SD	Mean±SD
کنترل	۴۲±۲/۵۱	۲۶/۱۲±۱/۴۱	۷/۳۳±۰/۱۰
شم	۴۰/۶۰±۲/۲	۲۴/۷۵±۱/۵۰	۷/۳۸±۰/۱۶
گروه تجربی ۱ (mg/kg/day)۱۰۰	۴۳/۵±۱/۱۱	۲۴/۷۸±۱/۳۵	۷/۴۰±۰/۲۹
گروه تجربی ۲ (mg/kg/day)۲۰۰	۴۴/۲۵±۱/۵۲	۲۴/۶۲±۱/۸۸	۷/۴۳±۰/۰۹
گروه تجربی ۳ (mg/kg/day)۳۰۰	*۵۱/۸۷±۲/۵۵	۲۸/۲۵±۱/۰۸	۷/۴۵±۰/۰۶
گروه تجربی ۴ (mg/kg/day)۴۰۰	*۵۲/۷۵±۳/۵۰	۲۹/۷۵±۲/۲۵	*۸/۳۶±۰/۱۳

* نشان دهنده اختلاف معنادار گروه های تیمار شده نسبت به گروه کنترل و شم می باشد (P<۰/۰۵). از آنالیز واریانس یک طرفه (تست Tukey) استفاده شده است.

جدول ۲. مقایسه میانگین وزن بدن و وزن بیضه چپ و بیضه راست در گروه های تجربی دریافت کننده مقادیر مختلف عصاره نسبت به گروه کنترل در ابتدا و انتهای آزمایش

گروه های آزمایش	وزن بدن (گرم) ابتدای آزمایش	وزن بدن (گرم) انتهای آزمایش	وزن بیضه چپ (گرم)	وزن بیضه راست (گرم)
گروه های آزمایش	Mean±SE	Mean±SE	Mean±SE	Mean±SE
کنترل	۱۹۵/۲۵±۳/۳۴	۲۰۵±۲/۲۹	۱/۲۵±۰/۰۵	۱/۲۳±۰/۰۴
شم	۱۹۸/۶۲±۵/۵۹	۲۰۷/۳۷±۸/۰۹	۱/۲۶±۰/۰۶	۱/۲۴±۰/۰۶
گروه تجربی ۱ (mg/kg/day)۱۰۰	۱۹۶/۷۸±۴/۲۹	۲۰۰/۸۷±۴/۰۶	*۱/۱۶±۰/۰۵	*۱/۱۱±۰/۰۵
گروه تجربی ۲ (mg/kg/day)۲۰۰	۱۹۲±۲/۵۴	۱۹۴/۳۷±۲/۲۹	*۱/۱۱±۰/۰۴	*۱/۰۹±۰/۰۴
گروه تجربی ۳ (mg/kg/day)۳۰۰	۱۹۲/۶۲±۲/۷۵	۱۹۹/۱۲±۵/۶۴	۱/۲۸±۰/۰۳	۱/۲۸±۰/۰۵
گروه تجربی ۴ (mg/kg/day)۴۰۰	۱۹۵±۳/۶۹	۱۹۴/۶۲±۶/۱۰	۱/۲۳±۰/۰۷	۱/۲۳±۰/۰۷

* نشان دهنده اختلاف معنی دار گروه های تیمار شده نسبت به گروه کنترل و شم می باشد (P<۰/۰۵). از آنالیز واریانس یک طرفه (تست Tukey) استفاده شده است



شکل ۲: دریافت کننده 300 mg/kg عصاره هیدرو الکلی آویشن کوهی (رنگ آمیزی هماتوکسیلین - انوزین، بزرگنمایی ۴۰×)



شکل ۱: بافت بیضه در گروه کنترل و گروه ۳ تجربی

بحث و نتیجه گیری

در مطالعه حاضر میانگین غلظت پلاسمایی هورمون LH در گروه های تجربی دریافت کننده مقادیر مختلف عصاره هیپروالکلی آویشن کوهی نسبت به گروه کنترل افزایش یافته و همچنین میانگین غلظت پلاسمایی هورمون LH در گروه های تجربی ۱ و ۲ و ۳ نسبت به گروه کنترل تغییر معنی داری نشان نداده است ولی میانگین غلظت پلاسمایی هورمون LH در گروه تجربی ۴ دریافت کننده 400 mg/kg/day عصاره آویشن کوهی نسبت به گروه کنترل دارای اختلاف معنی دار بود. مطالعات نشان می دهد که ترشح هورمون LH تحت تأثیر عواملی چون LHRH، پناسیم و سروتونین می باشد. دخالت مستقیم گیرنده های سروتونین بر ترشح LH در موش های صحرایی، مورد تأیید قرار گرفته است (۱۷). از طرفی آویشن باعث کاهش تعداد گیرنده های آندروژنی در سلول های گنادوتروپ می شود؛ بنابراین احتمالاً فیدبک منفی تستوسترون بر این سلول ها کاهش و ترشح LH افزایش می یابد (۱۸). Selvage و همکاران با استفاده از آنتاگونیست های LHRH و مهار ترشح LH نشان دادند فاکتور آزاد کننده کورتیکوتروپین (CRF) بدون تأثیر بر هیپوفیز عملکرد سلول لایدیگ را تحت تأثیر قرار می دهد. یک مسیر عصبی بین مغز و بیضه ها وجود دارد که تحریک این مسیر توسط CRF باعث تداخل در ترشح تستوسترون می شود (۱۹). با توجه به مطالب بالا احتمالاً عصاره آویشن کوهی با اثر گذاشتن بر روی اعصاب سمپاتیک و در نتیجه افزایش تعداد گیرنده های سلول های لایدیگ باعث افزایش تستوسترون و تأثیر روی غلظت هورمون LH می شود. غلظت پلاسمایی هورمون تستوسترون در گروه های تجربی ۱ تا ۴ نسبت به غلظت پلاسمایی آن در گروه کنترل افزایش یافته است که این افزایش در گروه های تجربی ۱ تا ۳ معنی دار نبوده اما در گروه تجربی ۴ معنی دار می باشد. هورمون های استروئیدی برخلاف هورمون های پپتیدی که در کیسه های ترشعی انباشته می شوند فقط متناسب با نیاز ساخته و ترشح می شوند. همچنین در سنتز هورمون های استروئیدی دو عامل جذب و در دسترس بودن کلسترول داخل سلولی و تبدیل کلسترول به پرگنولون موثر است (۲۰). سینئول موجود در عصاره آویشن کوهی با القاء P450 (آنزیم کلسترول دسمولاز) باعث افزایش تبدیل کلسترول به پرگنولون در میتوکندری می شود که باعث افزایش سنتز استروئیدها از جمله تستوسترون می شود (۲۱).

همچنین سینئول با القاء آنزیم هیدروکسیلاز تستوسترون باعث افزایش آندروژن ها می شود. باتوجه به نتایج این مطالعه که تجویز عصاره آویشن کوهی باعث افزایش میزان هورمون LH نسبت به گروه کنترل شده است؛ بنابراین افزایش غلظت تستوسترون سرم در نتیجه افزایش میزان LH مورد انتظار است. مطالعات نشان داده اند که ترشح تستوسترون از سلول های لایدیگ معمولاً توسط کنترل اولیه LH هیپوفیز تنظیم می شود و ساخت آن در بیضه بعد از فعالیت این

سلول ها از طریق مسیر غیر وابسته به غده هیپوفیز (مسیری بین مغز و بیضه) کنترل و تنظیم می شود و همچنین بقای گیرنده های LH در گنادها توسط اعصاب سمپاتیک کنترل می شود (۲۲). همچنین معلوم شده که پپتیدهای مشابه فاکتور آزادکننده کورتیکوتروپین (CRF)، اوپیوئیدها، کاتکولامین ها و فاکتور رشد می توانند استروئید سازی را در بیضه بدون وابستگی به گنادوتروپین تنظیم کنند و شواهد نشان می دهد ACTH تولید استروئیدهای قشر فوق کلیه را تحریک و همچنین فعالیت آنزیم های آزادکننده کلسترول از LDL را زیاد می کند و احتمالاً به این ترتیب منجر به افزایش رهاسازی و سنتز تستوسترون می شود (۲۳). چندین نوع از گیرنده های کاتکولامین ها در گنادها بر روی سلولهای عروقی و اندوکرینی شناسایی شده اند (۲۲ و ۱۹).

علاوه بر این در مطالعه حاضر عصاره هیپروالکلی آویشن کوهی هیچ تغییر معنی داری در وزن بدن و وزن بیضه ها ایجاد نکرد. مطالعات نشان می دهد کاهش FSH باعث کاهش اندازه و وزن بیضه ها می شود و به طور معکوس درمان با FSH این دو فاکتور را افزایش می دهد (۲۴ و ۲۵). پس احتمالاً عدم تغییر وزن بیضه با توجه به عدم تأثیر عصاره بر غلظت پلاسمایی هورمون FSH قابل انتظار می باشد. یافته ها نشان می دهد هر عاملی که باعث کاهش تعداد سلول های جنسی، سرتولی و لایدیگ شود، اندازه و وزن بیضه را کاهش می دهد (۲۶).

با توجه به نتایج بافتی در مطالعه حاضر که هیچ گونه تغییری در بافت های بیضه ای مشاهده نشده است، عدم تغییر وزن بیضه ها قابل انتظار خواهد بود. همچنین احتمالاً طول مدت آزمایش کمتر از آن بوده که منجر به اختلاف معنی داری در وزن بیضه ها گردد. نتیجه گیری کلی اینکه عصاره آویشن کوهی با اثر گذاشتن بر روی اعصاب سمپاتیک و در نتیجه افزایش تعداد گیرنده های سلول های لایدیگ باعث افزایش تستوسترون بدن و تأثیر روی غلظت هورمون LH می شود. ماده سینئول موجود در عصاره آویشن کوهی با القاء P450 (آنزیم کلسترول دسمولاز) باعث افزایش تبدیل کلسترول به پرگنولون در میتوکندری می شود که باعث افزایش سنتز استروئیدها از جمله تستوسترون می شود. احتمالاً افزایش میزان تستوسترون تحت تأثیر عصاره آویشن کوهی باعث افزایش در تراکم اسپرم شده است.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از آقای رضا قربانی به جهت پشتیبانی مالی، بخش فارماکولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون و راهنمایی های اساتید ارجمند خانم سارا ورزندیان، شیدا اسماریان و آقای علی کریمی ریاست محترم دانشکده دامپزشکی تشکر و قدردانی می گردد.

Effects of Intraperitoneal Injection of Extracts of *Origanum Vulgare* on Gonadotropin and Testosterone Hormones in Male Wistar Rats

A. Ghorbani Ranjbary (DVM)^{1*}, N. Ghorbani Ranjbary (MSc)¹, Z. Ghorbani Ranjbary (MSc)¹,
F. Jouibar (PhD)²

1. Young Researchers and Elite Club, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran

2. Department of Physiology, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran

J Babol Univ Med Sci; 16(4); Apr 2014; pp: 57-63

Received: Aug 4th 2013, Revised: Sep 4th 2013, Accepted: Nov 6th 2013.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: *Origanum Vulgare* contains chemical materials, that has anticonvulsant, antifungal, antioxidant, anti-inflammatory, anti-infection and antidiabetic properties, it stimulates central nervous system and production of testosterone hydroxylase. The purpose of the study was to evaluate the effect of intraperitoneal injection of extracts of *Origanum Vulgare* on gonadotropin and testosterone hormones in male rats.

METHODS: In this experimental study, 60 male Wistar rats with weight approximately 190-120 g, in six groups of 10 animals were studied for 28 days. Groups were included control, positive control (SH) groups receiving 100, 200, 300 and 400 mg/kg extract of *Origanum Vulgare* intraperitoneally. After the last dose, blood samples were taken from all groups and testes were removed from body. Levels of testosterone, LH and FSH were measured and after weighing, histological investigation of the testis was performed and groups were compared together.

FINDINGS: The results of this study showed no significant difference in testes and body weight. Also the FSH hormone levels did not show significant differences. While hormone levels of LH and testosterone in the group receiving 400 mg/kg *Origanum Vulgare* extract was 52.75 mU/ml and 8.36 ng/ml. Overall, the group receiving 400 mg/kg ethanol extracts of wild *Origanum Vulgare* had significant difference with control group and other investigated groups in terms of levels of LH and testosterone hormone ($p < 0.05$).

CONCLUSION: *Origanum Vulgare* extract can increase testosterone and impact on the concentrations of LH in male rats. Thereby increasing the sperm density causes increase in fertility rate.

KEY WORDS: *Origanum Vulgare*, Spermatogenesis, Fertility, Testosterone, LH.

Please cite this article as follows:

Ghorbani Ranjbary A, Ghorbani Ranjbary N, Ghorbani Ranjbary Z, Jouibar F. Effects of intraperitoneal injection of extracts of *Origanum vulgare* on gonadotropin and testosterone hormones in male Wistar rats. J Babol Univ Med Sci 2014;16(4): 57-63.

* Corresponding Author; A. Ghorbani Ranjbary (DVM)

Address: Faculty of Veterinary, Kazerun, Iran

Tel: + 98 721 2223330

E-mail: dr_alighorbani87@yahoo.com

References

1. Aitken RJ. The Amoroso lecture. The human spermatozoon--a cell in crisis? *J Reprod Fertil* 1999;115(1): 1-7.
2. Ranjbar A. Human physiology: endocrinology and reproduction. 1st ed. Tehran: Ilia publication 2007; pp: 22-4. [in Persian]
3. Parandin R, Ghorbani R, Sadeghipour Roodsari HR. Effects of alcoholic extract of *Achillea Millefolium* flowers on fertility parameters in male rats. *J Shahid Sadoughi Univ Med Sci* 2011;19(1):84-93. [in Persian]
4. Al-Howiriny T, Alsheikh A, Algasoumi S, Al-Yahya M, El Tahir K, Rafatullah S. Protective effect of *Origanum majorana* L. 'Marjoram' on various models of gastric mucosal injury in rats. *Am J Chin Med* 2009;37(3):531-45.
5. Ghorbani Ranjbary A, Ghorbani Ranjbary N, Asmarian SH, Ghorbani Ranjbary Z. Effect of *origanum vulgare* hydroalcoholic extract on liver enzymes, cholesterol, triglycerides, cholesterol-hdl, cholesterol-ldl, total bilirubin, creatinine, albumin, total protein in rat. *Res J Pharm Biol Chem Sci* 2012;2(5):121-8.
6. Bremness L. The complete book of herbs: a practical guide to growing and using herbs. 5th ed. USA: Seattle Goodwill, WA: Studio 1994; pp: 66-76.
7. Faleiro L, Miguel G, Gomes S, et al. Antibacterial and antioxidant activities of essential oils isolated from *thymbra capitata* L (cav.) and *origanum vulgare* L. *J Agric Food Chem* 2005;53(21):8162-8.
8. Yazdanparast R, Shahriyary L. Comparative effects of *Artemisia dracunculus*, *Satureja hortensis* and *Origanum majorana* on inhibition of blood platelet adhesion, aggregation and secretion. *Vascul Pharmacol* 2008;48(1):32-7.
9. El-Ashmawy IM, El-Nahas AF, Salama OM. Protective effect of volatile oil, alcoholic and aqueous extracts of *Origanum majorana* on lead acetate toxicity in mice. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2005;97(4):238-43 .
10. Novak J, Bitsch C, Langbehn J, et al. Ratios of cis- and trans-sabinene hydrate in *Origanum majorana* L. and *Origanum microphyllum* (Benth) Vogel. *Biochem System Ecol* 2000;28(7):697-704.
11. Fabio A, Corona A, Forte E, Quaglio P. Inhibitory activity of spices and essential oils on psychrotrophic bacteria. *New Microbiology* 2003;26(1):115-20.
12. Hazzit M, Baaliouamer A, Faleiro ML, Miguel MG. Composition of the essential oils of *Thymus* and *Origanum* species from Algeria and their antioxidant and antimicrobial activities. *J Agric Food Chem* 2006;54(17):6314-21.
13. Ozguven M, Tansi S. Drug yield and essential oil of *Thymus vulgaris* L. as influenced by ecological and ontogenetical variation. *Tr J Agr Forestry* 1998; 22:537-42
14. Parvizpur A, Ahamadiani A, Kamalinejad M. Probable role of purinergic system in antinociceptive effects of *trigonella foenum-raecum* leaves extract. 14th International Congress of Geographic Medicine and 15th Iranian Congress of Physiology and Pharmacology; 2001 Nov 5-8. Shiraz- Iran; p: 346.
15. Robb GW, Amann RP, Killian GJ. Daily sperm production and epididymal sperm reserve of pubertal and adult rats. *J Reprod Fertil* 1978;54(1):103-7.
16. Babu S, Satish S, Mohana D, Raghavendra M, Raveesha K. Anti-bacterial evaluation and phytochemical analysis of some Iranian medicinal plants against plant pathogenic *Xanthomonas pathovars*. *J Agr Technol* 2007; 3(2):307-16.
17. Amikishiera AV, Kozolova ON, Serov LI, Naumenko EV. The interaction of GABA – A receptors with the serotonergic system of the brain in regulating the testosterone level by the negative feedback mechanism. *Fizol Zh Im IM Sechenova* 1996;82(10-11):84-90.
18. Wang LG, Liu XM, Kreis W, Budman DR. Down-regulation of prostate-specific antigen expression by finasteride through inhibition of complex formation between androgen receptor and steroid receptor – binding consensus in the promoter of the PSA gene in LNCaP cells. *Cancer Res* 1997;57(4):714-19.
19. Selvage DJ, Rivier C. Importance the paraventricular nucleus of the hypothalamus as a component of a neural – pathway between the brain and testis than modulate testosterone secretion independently of the pituitary. *Endocrinology* 2003;144(2):594-8.

20. Houghton PJ, Zarka R, De las Heras B, Hoult JR. Fixed oil of *Nigella sativa* and derived Thymoquinone inhibit eicosanoid generation in leukocytes and membrane lipid peroxidation. *Planta Med* 1995;61(1):33-6.
21. Ariza-Nieto C, Bandrick M, Baidoo SK, Anil L, Molitor TW, Hathaway MR. Effect of dietary supplementation of oregano essential oils to sows on colostrum and milk composition, growth pattern and immune status of suckling pigs. *J Anim Sci* 2011;89(4):1079-89.
22. Meistrich ML, Kangasniemi M. Hormone treatment after irradiation stimulates recovery of rat spermatogenesis from surviving spermatogonia. *J Androl* 1997;18(1):80-7.
23. Aziz F. *Physiology and endocrinology*. 1st ed. Tehran, Shahid Beheshti University Press 2002; pp: 24- 30. [in Persian]
24. Seiki K, Fujii H, Haruki Y, Enomoto T, Imanishi Y, Tei Y. Effect of progesterone and FSH on testes. *Tokaj Exp Clin Med* 1982;7(1):95-100.
25. Wise T, Lanstra DD, Rohreer GA, Ford JJ. Relationship of testicular iron and ferritin concentrations with testicular weight and sperm production in boars. *J Anim Sci* 2003;81(2):503-11.
26. Dostal LA, Chapin RE, Stefanskis A, Harri S MW, Schwetz BA. Testicular toxicity and reduced Sertoli cell numbers in neonatal rats by di (2-ethylhexyl) phthalate and the recovery of fertility as adults. *Toxicol Appl Pharmacol* 1988;95(1):104-21

Archive of SID