بررسی اثر عصاره هیدروالکلی پوست گیاه لیمو آب (*Citrus aurantifolia*) بر هورمون های محور هیپوفیز- گناد و اسپرماتوژنز در موش صحرایی نر بالغ

وحید حمایت خواه جهرمی[1*]، محسن فروزانفر[2]، مهسا فرجمند[1] و حسین کارگرجهرمی[1]

[1] جهرم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم، گروه زیست شناسی

[2] مرودشت، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت، گروه زیست شناسی

تاریخ دریافت: ۸۹/۹/۱ تاریخ پذیرش: ۹۲/۳/۲۱

چکیده

لیموآب یکی از مهمترین گیاهانی است که در درمان بیماری‌های مختلف استفاده می‌شود. این مطالعه، برای بررسی اثرات عصاره لیموآب روی هورمون‌های گنادی–هیپوفیزی و اسپرماتوژنز در موش‌های صحرایی نر بالغ انجام شد. پوست لیموترش خشک گردید و بعد از تهیه عصاره از آن جهت تزریق استفاده شد. موش‌های گروه کنترل آب آشامیدنی شهر دریافت کردند. آزمایش در دو دوره تیمار و پس از آن انجام شد. در دوره تیمار موش‌های گروه تجربی غلظت های ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن حیوان، عصاره هیدروالکلی را به مقدار ۱ سی سی و به مدت ۲ هفته به صورت درون صفاقی دریافت کردند و دوره پس از تیمار به مدت ۱ هفته بدون تزریق انجام گردید. پایان هر دوره موش ها به کمک اتر بیهوش شده و پس از خونگیری از قلب آنها تشریح شدند. تعداد سلول های سرتولی و لایدیگ در مقاطع بافتی هرگروه شمارش گردید. همچنین غلظت هورمون های تستوسترون، LH و FSH به روش الیزا اندازه‌گیری شد. نتایج این مطالعه نشان داد که تعداد سلول های سرتولی و لایدیگ کاهش معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) در گروه های تجربی در مقایسه با گروه کنترل دارد. هم چنین نتایج نشان داد که غلظت هورمون LH در گروه های تجربی در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) پیدا کرده است. ولی اختلاف معنی‌داری در غلظت هورمون‌های تستوسترون وFSH مشاهده نشد. می توان چنین نتیجه گیری کرد که پوست لیموترش موجب کاهش تعداد سلول های لایدیگ در لوله های منی ساز شده و با تاثیر بر محور هورمونی هیپوفیز- گناد باعث کاهش غلظت هورمون LH در موش صحرایی نر بالغ گردیده است.

واژه های کلیدی: پوست لیموترش، موش صحرایی نر، تستوسترون، LH ، FSH

* نویسنده مسئول، تلفن : ۳۳۳۱۰۱۹ ۰۷۹۱ ، پست الکترونیکی: hemayatkhahr@jia.ac.ir

مقدمه

گیاه لیمو آب (Citrus aurantifolia) از خانواده مرکبات (Rutaceae) گیاهی به صورت درختچه‌ای به ارتفاع ۶-۳ متر است. میوه لیموترش با پوست نازک، صاف و به رنگ سبز مایل به زرد قسمت دارویی گیاه را تشکیل می‌دهد. این گیاه در مناطق مختلف جنوب و جنوب شرقی ایران نظیر بندرعباس، میناب، جهرم و شیراز به طور فراوان کاشت می‌شود (۸).

مهمترین ترکیبات لیموترش و پوست آن فلاونوئیدها، مونوترپن‌ها و کومارین است. فلاونوئیدها که نقش اصلی در این پژوهش دارد. متعلق به دسته ای از مواد طبیعی به نام فیتواستروژن‌ها با ساختمان فنلی است و بهترین خواص توصیف شده همه گروه‌های فلاونوئیدی خواص آنتی اکسیدانی آنها است (۴). هم چنین دارای خاصیت ضد آلرژی، ضد التهابی و ضد سرطانی می‌باشد (۴). تحقیقات

Archive of SID

www.SID.ir

زیادی روی لیموترش و ترکیبات موثر آن انجام شده است که از جمله می‌توان به تاثیر *limonen* این گیاه علیه تومورهای معده، ریه و پوست اشاره نمود (۱۴). همچنین خاصیت ضد ویروسی، ضد باکتریایی و ضد لاروی آن نیز به اثبات رسیده که نتیجه آن دال بر وجود سیترال و کومارین در ترکیبات بوده است (۶و۱۲). با توجه به اینکه مطالعات اندکی در مورد اثرات این ماده بر روی سیستم تولید مثلی انجام شده است، بنابراین در تحقیق حاضر به بررسی اثر عصاره پوست گیاه لیموترش بر روی اسپرماتوژنز و میزان هورمون های تستوسترون، LH و FSH در موش‌های صحرایی نر پرداخته شده است.

مواد و روشها

در این مطالعه از ۳۵ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار و در محدوده وزنی ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم و در سن ۸۰ تا ۹۰ روز که از موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی شیراز تهیه گردیده بود استفاده شد. حیوانات به مدت ۲ هفته جهت سازگاری با محیط در حیوان خانه دانشگاه نگهداری شدند. دوره نوری- تاریکی برای حیوانات به صورت ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی در نظر گرفته شد. درجه حرارت محیط ۲۴-۲۲ درجه سانتی گراد و رطوبت ۵۵-۵۰ درصد انتخاب و در طول مدت آزمایش غذا و آب کافی در اختیار موش‌ها قرار گرفت. حیوانات مورد مطالعه شامل گروه‌های کنترل و تجربی بودند. در هرگروه به طور تصادفی ۱۰ سر موش قرار گرفت. کف قفس حیوانات با خاک اره و تراشه چوب پوشیده و هفته‌ای۲ بار شستشو و ضد عفونی می‌گردید. دوره آزمایش در دو دوره تیمار و پس از آن تنظیم شده بود. در دوره تیمار موش‌های گروه تجربی مقادیر۱۰۰،۵۰ و۱۵۰میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره هیدروالکلی پوست لیموترش به مدت ۲ هفته روزانه ۱ سی سی به صورت درون صفاقی دریافت کردند و دوره پس از تیمار یک هفته بدون تزریق در نظر گرفته شد. در طی آزمایش موش های گروه کنترل از آب آشامیدنی شهر و غذای مخصوص موش استفاده کردند. طرز تهیه عصاره پوست لیموترش به این صورت بود که بعد از تهیه مستقیم لیموترش از باغات جهرم، به دقت شسته شده و پوست خشک شده آن توسط آسیاب برقی پودر گردیده و ۱۰۰ گرم پودر لیموترش را در ۱۰۰۰ سی سی هیدروالکل ۵۰ درصد حل گردید و به روش پرکولاسیون عصاره‌گیری انجام شد (۳). از ۱۰۰ گرم پودر خشک شده عصاره ۲۳/۲ گرم عصاره به دست آمد. جهت جلوگیری از آلودگی، عصاره در یخچال نگهداری می‌شد. بعد از اتمام تزریقات، از قلب جانور خونگیری به عمل آمده و بعد از سانتریفیوژ کردن خون، غلظت هورمون‌های تستوسترون، LH و FSH به روش الیزا اندازه‌گیری شد. در مرحله بعد بیضه‌ها خارج و با نرمال سایلین شستشو و بعد از اندازه گیری وزن بیضه‌ها به وسیله ترازوی دقیق آنالیتیکال نمونه‌ها در ثابت کننده فرمالین قرار گرفت. بعد از تهیه بلوک‌های پارافینی، برش‌گیری و رنگ‌آمیزی (هماتوکسیلین – ائوزین)، برش های بافتی به ضخامت ۵ میکرون با دستگاه میکروتوم تهیه و نمونه‌ها جهت مطالعات میکروسکوپی نوری آماده شدند.

جدول۱ - نتایج اثر عصاره پوست لیمو ترش بر میانگین وزن بدن (gr) در گروه های تجربی و کنترل($\overline{X} \pm SE$)

گروه های مختلف / دوره آزمایش	کنترل	گروه تجربی با دوز حداقل عصاره (۵۰mg/kg)	گروه تجربی با دوز متوسط عصاره (۱۰۰mg/kg)	گروه تجربی با دوز حداکثر عصاره (۱۵۰mg/kg)
تیمار	۲۵۴/۳۰ ± ۴/۲۸ a	۲۳۵/۲۰ ± ۲۰/۰۱ a	۲۳۴/۶۰ ± ۱۴/۷۶ a	۲۲۷/۲۰ ± ۲۷/۰۸ a
پس از تیمار	۲۵۴/۳۰ ± ۴/۲۸ a	۲۴۹/۲۰ ± ۱۲/۱۷ a	۲۷۴/۶۰ ± ۱۵/۸۶ a	۲۳۲/۴۰ ± ۵/۷۰ a

* سطح معنی دار ($P<۰/۰۵$) $Duncan^{a,b}$

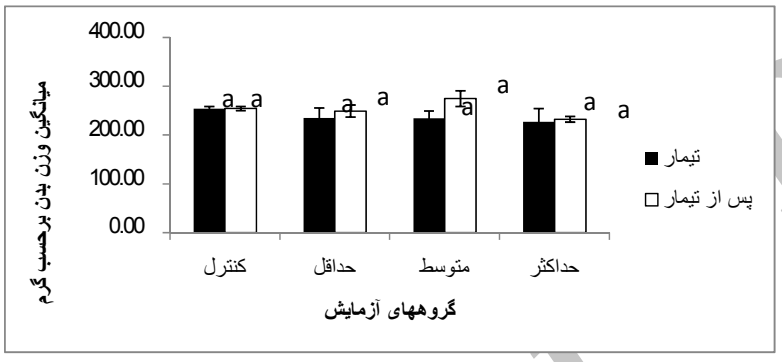
Archive of SID
www.SID.ir

در مطالعات میکروسکوپی، تعداد سلولهای سرتولی و لایدیگ شمارش گردید (۶). اطلاعات حاصله به کمک نرم افزار SPSS، آنالیز واریانس یک طرفه ANOVA و آزمون Duncan مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج

نتایج وزن بیضه در گروه تجربی در مقایسه با گروه کنترل اختلاف معنی داری را نشان نداد (جدول ۱).

همچنین در گروه تجربی در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌داری (P<۰/۰۵) در غلظت هورمون LH مشاهده گردید (جدول ۲) و اختلاف معنی‌داری در غلظت هورمون‌های تستوسترون و FSH در گروه تجربی در مقایسه با گروه کنترل مشاهده نگردید (جدول۳ و ۴).

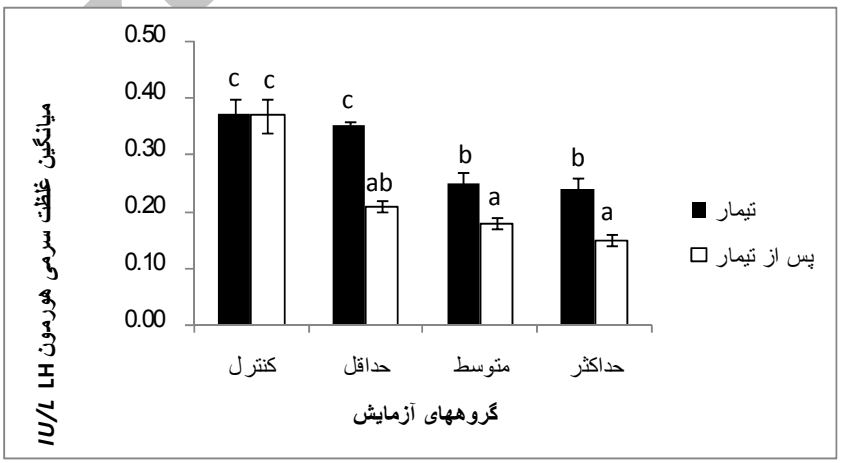


نمودار ۱ - مقایسه میانگین وزن بدن برحسب گرم در گروههای مختلف بعد از انجام آزمایش گروههای دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی داری را با هم نشان نمی‌دهند.

جدول۲ – نتایج اثر عصاره پوست لیمو ترش بر غلظت هورمون LH (IU/L) در گروه های تجربی و کنترل($\overline{X} \pm SE$)

گروه های مختلف / دوره آزمایش	کنترل	گروه تجربی با دوز حداقل عصاره (۵۰mg/kg)	گروه تجربی با دوز متوسط عصاره (۱۰۰mg/kg)	گروه تجربی با دوز حداکثر عصاره (۱۵۰mg/kg)
تیمار	۰/۳۷± ۰/۰۳ c	۰/۳۵ ± ۰/۰۱ c	۰/۲۵ ± ۰/۰۲* b	۰/۲۴ ± ۰/۰۲* b
پس از تیمار	۰/۳۷± ۰/۰۳ c	۰/۲۱ ± ۰/۰۱* ab	۰/۱۸ ± ۰/۰۱* a	۰/۱۵ ± ۰/۰۱* a

* سطح معنی دار (P<۰/۰۵) $Duncan^{a,b}$



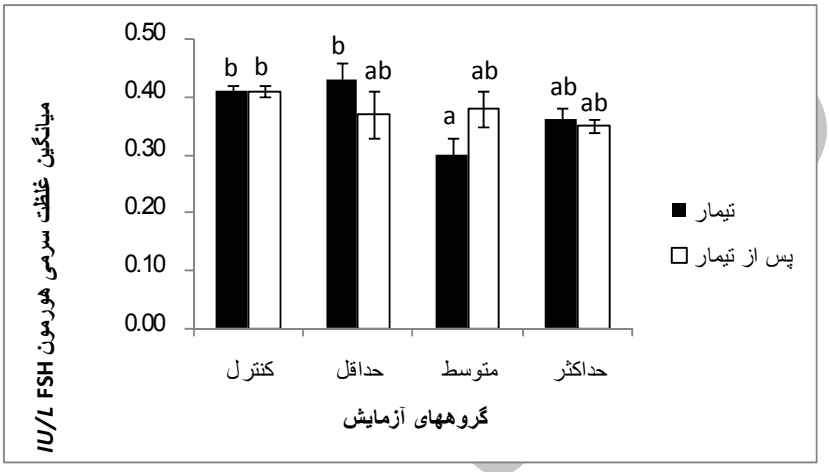
نمودار۲ - مقایسه میانگین غلظت پلاسمایی هورمون LH برحسب IU/L در گروههای مختلف گروههای دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی داری را با هم نشان نمی دهند

www.SID.ir

جدول۳ – نتایج اثر عصاره پوست لیمو ترش بر غلظت هورمون FSH (IU/L) در گروه های تجربی و کنترل($\overline{X} \pm SE$)

گروه های مختلف / دوره آزمایش	کنترل	گروه تجربی با دوز حداقل عصاره (۵۰mg/kg)	گروه تجربی با دوز متوسط عصاره (۱۰۰mg/kg)	گروه تجربی با دوز حداکثر عصاره (۱۵۰mg/kg)
تیمار	۰/۴۱ ± ۰/۰۱ b	۰/۴۳ ± ۰/۰۳ b	۰/۳۰± ۰/۰۳* a	۰/۳۶ ± ۰/۰۲ ab
پس از تیمار	۰/۴۱ ± ۰/۰۱ b	۰/۳۷ ± ۰/۰۴ ab	۰/۳۸ ± ۰/۰۳ ab	۰/۳۵ ± ۰/۰۱ ab

* سطح معنی دار ($P<0/05$) Duncan[a,]



نمودار ۳ - مقایسه میانگین غلظت پلاسمایی هورمون FSH برحسب IU/L در گروههای مختلف گروههای دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی داری را با هم نشان نمی دهند.

جدول۴ – نتایج اثر عصاره پوست لیموترش بر غلظت هورمون تستوسترون(ng/ml) در گروه های تجربی و کنترل($\overline{X} \pm SE$)

گروه های مختلف / دوره آزمایش	کنترل	گروه تجربی با دوز حداقل عصاره (۵۰mg/kg)	گروه تجربی با دوز متوسط عصاره (۱۰۰mg/kg)	گروه تجربی با دوز حداکثر عصاره (۱۵۰mg/kg)
تیمار	۱/۷۲ ± ۰/۱۱ ab	۴/۸۰ ± ۰/۲۳* d	۲/۲۴ ± ۰/۴۷ b	۱/۰۴ ± ۰/۰۲ a
پس از تیمار	۱/۷۲ ± ۰/۱۱ ab	۲/۰۲ ± ۰/۱۲ ab	۲/۰۲ ± ۰/۳۱ ab	۳/۴۰ ± ۰/۶۰* c

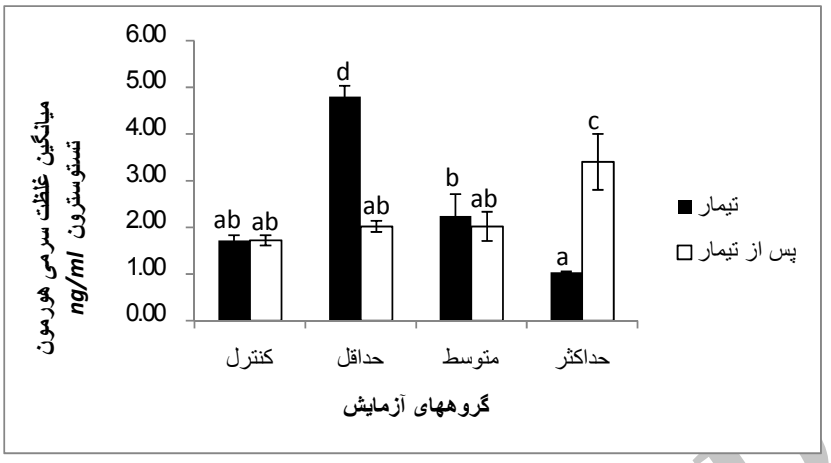
* سطح معنی دار ($P<0/05$) Duncan[a,b]

جدول۵ - نتایج اثر عصاره پوست لیمو ترش بر تعداد سلولهای لایدیگ در گروه های تجربی و کنترل($\overline{X} \pm SE$)

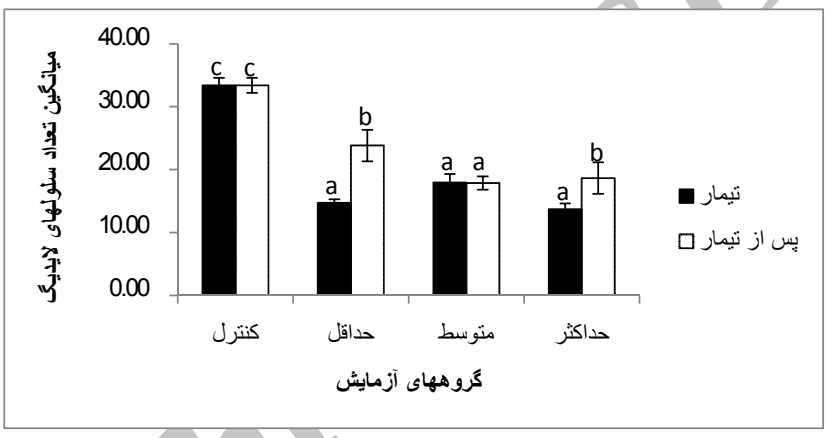
گروه های مختلف / دوره آزمایش	کنترل	گروه تجربی با دوز حداقل عصاره (۵۰mg/kg)	گروه تجربی با دوز متوسط عصاره (۱۰۰mg/kg)	گروه تجربی با دوز حد اکثر عصاره (۱۵۰mg/kg)
تیمار	۳۳/۴۰ ± ۱/۲۰ c	۱۴/۷۴ ± ۰/۵۸* a	۱۷/۹۹ ± ۱/۳۳* a	۱۳/۷۱ ± ۰/۹۱* a
پس از تیمار	۳۳/۴۰ ± ۱/۲۰ c	۲۳/۸۳ ± ۲/۵۰* b	۱۷/۸۸ ± ۱/۰۶* a	۱۸/۶۶ ± ۲/۵۰* b

* سطح معنی دار ($P<0/05$) Duncan[a,b]

Archive of SID
www.SID.ir



نمودار ۴ - مقایسه میانگین غلظت پلاسمایی هورمون تستوسترون برحسب ng/ml در گروههای مختلف گروههای دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی داری را با هم نشان نمی دهند



نمودار ۵ - مقایسه میانگین تعداد سلولهای لایدیگ در گروههای مختلف گروههای دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی داری را با هم نشان نمی دهند

نتایج حاصل از تعداد سلول های سرتولی و لایدیگ کاهش معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) را در گروه‌های تجربی در مقایسه با گروه کنترل نشان داد (جدول ۵ و ۶).

بحث و نتیجه گیری

در عصر حاضر با توجه به اثرات درمانی و تأثیرات قابل توجه گیاهان دارویی نسبت به داروهای شیمیایی بررسی اثر این گیاهان در دستور کار محققین قرار گرفته است. از آنجایی که یکی از مهمترین مشکلات در جوامع افزایش رشد جمعیت است به همین منظور بررسی روی اثرات گیاهان دارویی ضروری می‌باشد زیرا بعضی از گیاهان دارویی نقش مهمی بر روی کاهش تولیدمثل ایفا می‌کنند (۱)

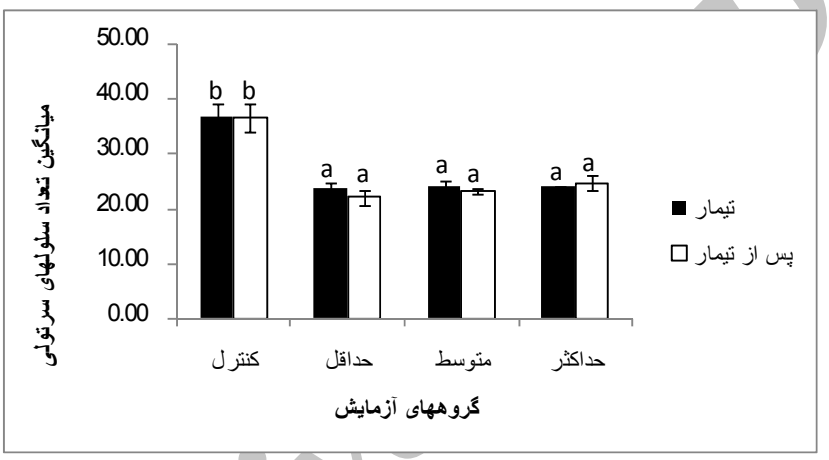
مدت‌هاست که مشخص شده باروری مردان با غلظت اسپرم متناسب است. حد بحرانی تعداد اسپرم که برای بروز حاملگی ضروری است،۲۰ میلیون اسپرم در هر میلی متر مکعب مایع منی است و مردانی که تعداد اسپرم آنها از ۲۰ میلیون اسپرم در میلی‌لیتر کمتر است میزان باروری آنها کاهش می‌یابد. بقای نسل، انسان را به این سمت می‌کشاند که تاثیرمواد مختلف بر سیستم‌های بدن از جمله سیستم تولیدمثلی را که ادامه نسل، به آن وابسته است بررسی نماید (۷، ۹ و ۱۵).

www.SID.ir

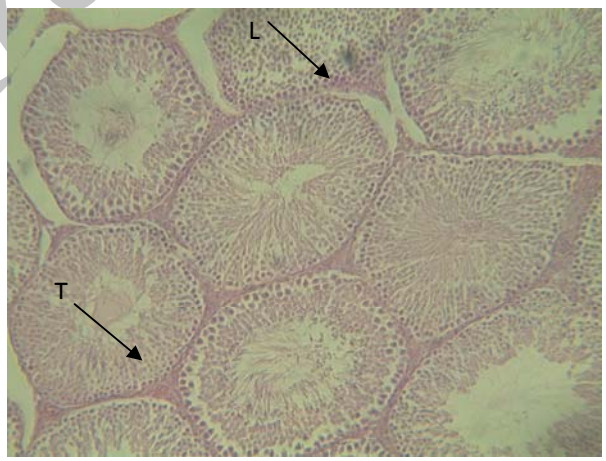
جدول۶ - نتایج اثر عصاره پوست لیمو ترش بر تعداد سلولهای سرتولی در گروه های تجربی و کنترل($\overline{X} \pm SE$)

گروه های مختلف / دوره آزمایش	کنترل	گروه تجربی با دوز حداقل عصاره (۵۰mg/kg)	گروه تجربی با دوز متوسط عصاره (۱۰۰mg/kg)	گروه تجربی با دوز حداکثر عصاره (۱۵۰mg/kg)
تیمار	۳۶/۶۰ ± ۲/۵۶ b	۲۳/۵۸ ± ۱/۰۸* a	۲۴/۱۰ ± ۱/۱۲* a	۲۳/۹۴ ± ۰/۲۹* a
پس از تیمار	۳۶/۶۰ ± ۲/۵۶ b	۲۲/۰۹ ± ۱/۳۵* a	۲۳/۲۷ ± ۰/۶۱* a	۲۴/۸۲ ± ۱/۳۰* a

* سطح معنی دار ($P<۰/۰۵$) $Duncan^{a,b}$

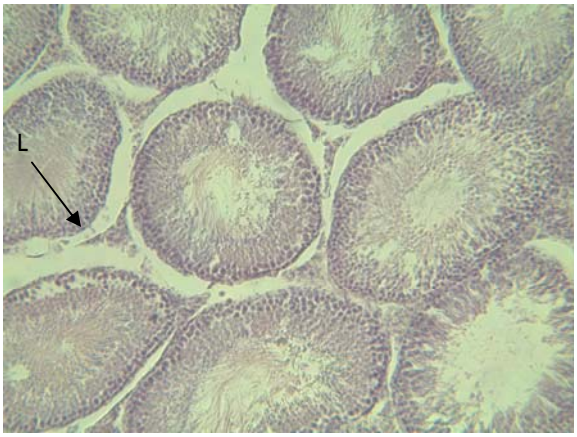


نمودار ۶ - مقایسه میانگین تعداد سلولهای سرتولی در گروههای مختلف گروههای دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی داری را با هم نشان نمی دهند.

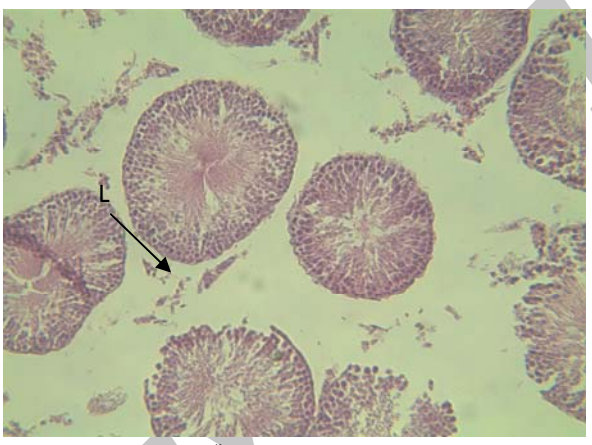


تصویر۱- فتومیکروگراف از برش عرضی لوله های منی ساز در گروه کنترل بزرگنمایی :x ۱۰ رنگ آمیزی: هماتوکسیلین – ائوزین T : توبول L : سلول بینابینی

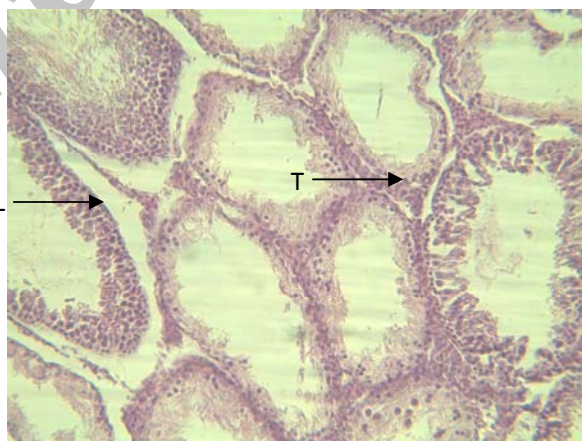
www.SID.ir



تصویر۲- فتو میکروگراف از لوله های منی ساز در گروه تجربی با دوز حداقل (۵۰mg/kg) بزرگنمایی :x ۱۰ رنگ آمیزی: هماتوکسیلین – ائوزین L : سلول بینابینی



تصویر۳- فتومیکروگراف از لوله های منی ساز در گروه تجربی با دوز متوسط (۱۰۰mg/kg) بزرگنمایی :x ۱۰ رنگ آمیزی: هماتوکسیلین – ائوزین L : سلول بینابینی



تصویر۴- فتومیکروگراف از برش عرضی لوله های منی ساز در گروه تجربی با دوز حداکثر عصاره (۱۵۰mg/kg) بزرگنمایی :x ۱۰ رنگ آمیزی: هماتوکسیلین – ائوزین T : توبول L : سلول بینابینی

Archive of SID
www.SID.ir

در تحقیق حاضر اثر عصاره پوست لیموترش بر اسپرماتوژنز و مقدار هورمون‌های FSH ، LH و تستوسترون در موش صحرایی نر مورد بررسی قرار گرفته است. نتایج حاصل از تزریق عصاره نشان داد تعداد سلول های لایدیگ و سرتولی در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌داری (P<۰/۰۵) پیدا کرده است (جدول و نمودار ۵ و ۶). گزارش‌های موجود، حاکی از این است که روند اسپرماتوژنز به یک سری تداخل‌های سلول به سلول بستگی دارد (۱۳). در این میان می‌توان به تداخل عمل سلول‌های لایدیگ و سرتولی اشاره نمود. تحقیقات نشان می‌دهد که فقدان سلول‌های لایدیگ و کاهش ترشح اکسی توسین توسط سلول‌های لایدیگ به افزایش تخریب اسپرماتوسیت‌ها منجر می‌شود. همچنین با توجه به اینکه تمایز و ترشحات سلول‌های لایدیگ توسط لوله های منی ساز کنترل می‌شود و برعکس، عمل تکثیر سلول‌های زاینده در لوله‌های اسپرم ساز را سلول‌های لایدیگ کنترل می-کنند، باید پذیرفت که کاهش معنی دار انواع سلول‌های زاینده در لوله‌های منی‌ساز باعث مهار سلول‌های لایدیگ و مهار این سلول‌ها نیز به نوبه خود باعث کاهش پیشرفت روند اسپرماتوژنز شده است (۱۰). نتایج این تحقیق نشان داد که غلظت هورمون LH در گروه های تجربی در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌داری (P<۰/۰۵) پیدا کرده است (جدول و نمودار ۲) که به نظر می رسد به دلیل کاهش GnRH از هیپوتالاموس می‌باشد(۱۰). همانگونه که ذکر شد در این گیاه ترکیباتی از جمله فلاونوئیدها و مونوترپن‌ها موجود می‌باشد. فلاونوئیدها جزء دسته‌ای از ترکیبات به نام فیتواستروژن‌ها هستند (۱۰). فیتواستروژن‌ها ترکیبات طبیعی مشتق از گیاهانی می‌باشند که عملاً ساختمانی مشابه استروژن دارند و می‌توانند بر محور هورمون‌های جنسی موثر باشند. همچنین دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی، ضدآلرژی، ضد التهابی و ضد سرطانی هستند(۴) و میانگین غلظت پلاسمایی هورمون FSH به جز گروه تجربی با دوز متوسط عصاره در دوره تیمار (جدول و نمودار۳) در بقیه گروه‌ها نسبت به گروه کنترل اختلاف معنی‌داری نداشته است که می تواند به علت اثرات تعدیلی اینهیبین، اکتیوین و فولیستاتین باشد به استثنای مکانیسم فیدبکی که به وسیله استروئیدهای بیضه اعمال می‌گردد، با تاثیر مرکزی بر هورمون آزاد کننده گنادوتروپین در تعدیل و تنظیم هورمون محرکه فولیکولی نقش ایفا می‌نماید و همچنین عدم تغییرات هورمون محرکه فولیکولی ناشی از آهسته‌تر بودن کلیرانس متابولیکی آن نسبت به هورمون LH نیز می باشد (۲).

میانگین غلظت پلاسمایی هورمون تستوسترون به جز در گروه تجربی با دوز حداقل در دوره تیمار و گروه تجربی با دوز حداکثر در دوره پس از تیمار در بقیه گروه های دریافت کننده عصاره پوست گیاه لیموترش نسبت به میانگین غلظت پلاسمایی هورمون تستوسترون در گروه کنترل تغییر معنی داری نشان نداده است اما افزایش کمی که در این دو گروه مذکور مشاهده شده است (جدول و نمودار ۴) ممکن است به دلیل وجود ترکیبات فلاونوئیدی موجود در پوست گیاه باشد چرا که فلاونوئیدها با ممانعت از فعالیت آنزیم‌های مداخله‌گر در متابلیسم تستوسترون مانند آروماتاز باعث افزایش سطح سرمی هورمون تستوسترون می‌گردند. تحقیقات نشان داده است که در پوست گیاه، فلاونوئیدها مانع از عملکرد ۵ آلفا ردوکتاز می گردند پس بدین ترتیب از تبدیل تستوسترون به دی-هیدرو تستوسترون ممانعت به عمل می‌آورند و در نتیجه میزان هورمون تستوسترون افزایش می‌یابد.(۲) بعلاوه احتمال دارد که تستوسترون از بقیه بافتها ترشح شده باشد. مثلاً احتمال دارد از لایه رتیکولاریس بخش قشری آدرنال که آندروژنهایی مثل تستوسترون را ترشح می‌کند به علت تحریک پذیری این ناحیه، تستوسترون اضافی از این ناحیه ترشح شده باشد.(۵)

اثر فیتواستروژن‌ها بر LH و FSH در رت‌ها بحث برانگیز است. برخی تحقیقات نشان داده اند که فیتواستروژن‌ها بر

Archive of SID

www.SID.ir

خصوصیات اسپرم اثر گذار نیستند. از طرف دیگر نتایج برخی مطالعات حاکی از آن است که تعداد و تحرک اسپرم وابسته به دوزهای فیتواستروژن، کاهش نشان داده است. همچنین مشاهده شده است که برخی فیتواستروژن‌ها مثل زارالنون (Zearalenone) اثر رقابتی دارد اما برخی مثل ژنستین (Genestin) اثر افزایشی نشان می‌دهد. گزارش شده است که اثر رژیم فیتواستروژن مستقل از تغییرات محور هیپوفیز – گناد است و امکان دارد اثر مستقیم بر گناد داشته و باعث تغییرات سطح هورمون ها شود (۱۱). مقایسه مطالعات مختلف ممکن است بیانگر تفاوت نوع ترکیبات شیمیایی– گیاهی، سن حیوان آزمایش شده و نوع فیتواستروژن مطالعه شده در هر پژوهشی باشد و از نتایج حاصله به نظر می‌رسد که عصاره هیدروالکلی پوست لیموترش از طریق کاهش هورمون‌های LH و کاهش تعداد سلول‌های بینابینی، احتمالاً عامل تغییر دهنده پتانسیل تولید مثلی جنس نر باشد و ممکن است مهار تکثیر سلولی را موجب گردیده و در نتیجه باعث کاهش روند اسپرماتوژنز شده است. به هر حال لازم است تحقیقات گسترده‌تری در این زمینه انجام گیرد. پیشنهاد می‌شود در پژوهش‌های بعدی اثرات گیاه در دراز مدت نیز بررسی شود.

سپاسگزاری

بدین وسیله از تمامی همکارانی که ما را در اجرای این تحقیق یاری رسانده اند تشکر و قدردانی می گردد.

منابع

۱. نسیمی، م.، حیدری‌نصرآبادی، م.، و شیروی، ع.، ۱۳۹۱. اثرات عصاره الکلی میوه عروسک پشت پرده (Physalis alkekengi) بر تولید مثل و جنین در موش صحرایی نژاد ویستار. مجله زیست شناسی ایران، دوره ۲۵، شماره ۲، صفحه ۲۸۵-۲۷۴ (۱۰).

2. Azarneoshan, F., Khatamsaz, S., and Sadegh, H., 2009. The effects of hydroalcoholic extract of *Dorema aucheri* on blood concentration of gonadotropin and androgen hormones in adult rats.Armaghan Danesh:14(3)65-70.

3. Dehghani, F., Azizi, M., and Panjehshahin, M. R., 2008. Toxic effects of hydroalcoholic extract of *Citrullus colocynthis* on pregnant mice.Iranian Journal of Veterinary Research, Shiraz University.9: 42-5.

4. Farsam, H., Amanlou, M., Dehpour, A. R., and Jahaniani. F., 2000. Antiinflammatory and analgesic activity of *Biebersleinia multifidia* DS,Rootextracy. J Ethnopharm, 71(3):443-447.

5. Ganong, W. F., 1999. Text book of medical physiology. 19th ed. Translated by Shadan, and Motamedi, F. Vol .1:591

6. Kirbaslar, F. G., Tavman, A., Dulger, B., and Tavman, G. 2009. Antimicrobial activity of turkish citrus peel oil.Pak J Bot, 41(6): 3207-3212.

7. Kuroyangi, M., Ishii, H., Kawahara, N., Sugimoto, H., Yamada, H., Okihara, K., and Shirota, O., 2008. Flavonoid glycosides and limonoid from *Citrus molasses*. J Nat Med Pharmacognosy, 62: 107-111.

8. Leung, A. Y., and Foster, S., 1996. Encyclopedia of common natural ingeredients used in food, drugs and cosmetics.2 th ed, New York. 152-4.

9. Miyake, Y., Yamamoto, K., Tsujihara, N. and Osawa, T., 1998. Protective effects of lemon flavonoids on oxidative stress in diabetic rats. Lipids, 33: 689-695.

10. Norman, J. F., and Way, J. M., 1998. Some ecological observation on the use of date pollen in hypothalamic hormones. Endocrinol. Journal of chemical Ecology, ogy . Vol (2), 532-548.

11. Panjeshahin, M., Dehghani, F., Tahei, T., and Panahi, Z., 2005. The effects of hydroalcoholic extract of *Actindia chinesis* on sperm count and motility, and on the blood levels of estradiol and testosterone in male rats.Archives of Iranian medicine.8(3): 211-216.

12. Salvatore, A., Borkosky, S., Willink, E., and Bardon, A., 2003. Toxic effects of lemon peel constituents on *Ceratitis capitata*2:323-333.

13. Sharp, R. M., 2006. Intratesticular factors controlling testicular function. Biology of reproduction, Edinburgh, Scotland, 30: 29-49.

Archive of SID
www.SID.ir

14. Silalahi, J., 2002. Anticancer and health protective properties of citrus fruit components .department of pharmacy, University of Sumatra Utra, Medan, Indonesia, Asia Pac J clin Nutr 11(1): 79-84.

15. Tsai, B. Y., 2008. Effect of peels of lemon, orange and grapefruit against *Meloidogyne incognita*. Plant Pathol Bull.17:195-201.

The effect of hydro-alcoholic extracts of *Citrus aurantifolia* (bark) on the spermatogenesis and pituitary- gonadal axis hormones in adult male rats

Hemayatkhah Jahromi V.[1], Forozanfar M.[2] , Farajmand M. [1]and Kargar Jahromi H.[1]

[1] Biology Dept., Islamic Azad University, Jahrom Branch, Jahrom, I.R. of Iran

[2] Biology Dept., Islamic Azad University, Marvdasht Branch, Marvdasht, I.R. of Iran

Abstract

Citrus aurantifolia is one of the important herbs which are used in the treatment of various diseases. This investigation was carried out to evaluate the effects of *Citrus aurantifolia* bark on the pituitary-gonadal axis hormones and spermatogenesis in adult male *rats*. The control animals received food and drinking water. The experimental groups were divided into two periods: treatment (by two weeks injection) and post treatment (one week without injection). The hydro-alcoholic extracts *Citrus aurantifolia* at different dose of 50,100 and 150 mg/kg body weight, were injected intraperitoneally for two weeks in the treatment animals. The control group was untreated. After the last injection, the number of Sertoli and Leydig cells was calculated. Also, the hormonal changes were analyzed by ELIZA technique. Statistical analysis of the results revealed a significant decrease ($p \leq 0.05$) on the number of Sertoli and Leydig cells. In addition, the results showed a significance decrease in the level of LH in the treatment group; while the level of testosterone and FSH hormone didn't indicate significant change in the treatment group with respect to the control group. According to the results of this study, the hydro-alcoholic extract of *Citrus aurantifolia* may affect on the pituitary-gonadal axis activity and decrease the level of LH hormone and the number of Leydig cells in adult male *rats*.

Key words: *Citrus aurantifolia* bark, *rat*, testosterone, FSH, LH

Archive of SID

www.SID.ir