

بررسی اثر عصاره‌ی آبی‌الکلی گیاه بیلهر (*Dorema aucheri*) بر سطوح تستوسترون، FSH سرم و تعداد اسپرم موش صحرایی نر مدل دیابتی نیکوتین‌آمید - STZ

دکتر اکرم آهنگرپور^۱، علی اکبر عروجن^۲، حمید حیدری^۳

نویسنده‌ی مسوول: اهواز، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، دانشکده‌ی پزشکی، گروه فیزیولوژی aliakbar_oroojan@yahoo.com

دریافت: ۹۱/۱۱/۱۵ پذیرش: ۹۲/۴/۲۴

چکیده

زمینه و هدف: بیماری دیابت می‌تواند سبب اختلالات جنسی در بیماران شود. با توجه به تأثیر گیاه بیلهر بر هورمون‌های جنسی در مطالعات اخیر، تصمیم به بررسی اثر عصاره‌ی آبی‌الکلی این گیاه بر سطوح تستوسترون، FSH سرم، مورفولوژی بیضه و تعداد اسپرم موش‌های مدل دیابتی نیکوتین‌آمید - STZ (ستریپتوزوسین) گرفته شد.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی ۴۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار (۱۵۰ تا ۲۵۰ گرم) استفاده شد. برای ایجاد مدل دیابتی، ۱ دوز نیکوتین‌آمید (۱۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) و STZ (۶۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) به‌صورت داخل صفاقی به حیوانات تزریق گردید. حیوانات به ۶ گروه ۷ تایی؛ کنترل، دیابتی، دیابتی + گلی‌بنکلامید (۰/۶ میلی‌گرم در کیلوگرم) و غلظت‌های مختلف ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره‌ی آبی‌الکلی تقسیم شدند. عصاره‌ها به‌صورت ۵ روز در هفته، به‌مدت ۳ هفته، گاواژ شدند. ۲۴ ساعت بعد از آخرین گاواژ تحت یک بیهوشی عمیق با اتر و خونگیری از قلب حیوان، سطوح تستوسترون و FSH سرم مورد سنجش قرار گرفت. سپس مورفولوژی بیضه و در نهایت تعداد اسپرم دم اپیدیدیم حیوانات اندازه‌گیری شد. داده‌ها با استفاده از روش آماری ANOVA یکطرفه مقایسه گردید و مقادیر P کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار تلقی شد.

یافته‌ها: سطح تستوسترون سرم در گروه دیابتی افزایش معنی‌داری را در مقایسه با سایر گروه‌ها ($P=0/05$) به استثنای گروه کنترل از خود نشان داد. غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره‌ی بیلهر افزایش معنی‌داری در تعداد اسپرم‌ها در مقایسه با گروه‌های دیابتی ($P=0/03$) و دیگر گروه‌ها ($P<0/05$) ایجاد نمود.

نتیجه‌گیری: نتایج بیانگر این مطلب بود که عصاره‌ی آبی‌الکلی گیاه بیلهر منجر به بهبود روند تولید اسپرم و افزایش تعداد اسپرم‌ها در موش‌های صحرایی می‌شود و این اثر احتمالاً به دلیل حضور فلاونوئیدهای موجود در این گیاه صورت گرفته است.

واژگان کلیدی: بیلهر، نیکوتین‌آمید، STZ، تعداد اسپرم، موش صحرایی

مقدمه

ناباروری به عنوان یکی از مسایل مهم در زندگی زوجین ناباروری مربوط به مردان می‌شود. شایع‌ترین علت ناباروری شناخته شده است. براساس آمارهای موجود ۳۵ درصد موارد مردان، عدم توانایی آنان در تولید تعداد کافی اسپرم‌های سالم

۱- دکترای تخصصی فیزیولوژی، دانشیار دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، مرکز تحقیقات دیابت

۲- دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی، گروه فیزیولوژی، کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز

۳- دانشجوی دکترای تخصصی فیزیولوژی، گروه فیزیولوژی، کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز

فلاونوئیدهای موجود در عصاره‌ی هیدروالکلی بیلهر بر هورمون‌های جنسی موثر می‌باشند (۵). جهت ایجاد دیابت در حیوانات از مدل‌های مختلفی استفاده می‌شود یکی از این مدل‌ها که در نهایت منجر به ایجاد دیابت نوع ۲ می‌گردد، مدل نیکوتین آمید - STZ است (۶). امروزه این مدل به دلیل نشان دادن اثرات محافظتی بر روی سلول‌های بتای پانکراس و ایجاد یک دیابت خفیف در مقایسه با مدل‌های دیابتی دیگر از جمله مدل دیابت ایجاد شده توسط STZ به تنهایی، بسیار مورد توجه قرار گرفته است (۷). همچنین این مدل دارای ویژگی‌های مشابه دیابت نوع ۲ در انسان، مانند هایپرگلیسمی متوسط پایدار، عدم تحمل گلوکز و تحریک زیاد انسولین توسط گلوکز می‌باشد (۸). بنابراین با توجه به شیوع بیشتر دیابت نوع ۲ و تاثیر منفی آن بر تعداد اسپرم‌ها و اثر گیاه بیلهر بر هورمون‌های جنسی به‌ویژه تستوسترون (۵) و حضور فلاونوئیدها و عملکرد این ترکیبات در افزایش تعداد اسپرم‌ها، تصمیم به بررسی اثر عصاره‌ی آبی‌الکلی این گیاه بر مورفولوژی بیضه، تعداد اسپرم و سطوح تستوسترون و FSH سرم در موش صحرایی نر مدل نیکوتین آمید - STZ گرفته شد.

روش بررسی

تهیه‌ی عصاره آبی‌الکلی: در مطالعه‌ی تجربی حاضر پس از جمع‌آوری و خشک نمودن گیاه و تایید توسط متخصص فارماکوگنوزی عضو هیات علمی دانشگاه علوم پزشکی اهواز، توسط آسیاب برقی به پودر تبدیل شد. جهت تهیه‌ی عصاره‌ی آبی‌الکلی (۴۰-۶۰) آب و اتانول (۹)، مقدار ۳۰۰ گرم از پودر گیاه بیلهر در ۱۲۰۰ میلی‌لیتر طی ۷۲ ساعت آب و اتانول مخلوط گردید؛ سپس با عبور از صافی به مدت ۲۰ دقیقه با دور ۳۰۰۰ سانتریفوژ شد. در نهایت محلول رویی عصاره پس از خشک شدن در دمای آزمایشگاه به پودر تبدیل شده و تا زمان مصرف در دمای

و فعال است (۱). یکی از مهم‌ترین اختلالات شایع اندوکراین که حدود ۳۰۰ میلیون نفر از مردم جهان را به خود درگیر کرده است، دیابت می‌باشد. دیابت بر دو نوع ۱ و ۲ است که در حدود ۹۰ تا ۹۵ درصد موارد، دیابت قندی از نوع ۲ می‌باشد (۲). دیابت نوع ۲ شدیداً در جوامع بشری در حال افزایش است. این بیماری در حالتی که قند ناشتا و یا تست تحمل گلوکز دچار نقص شود، در بدن ایجاد می‌گردد. افزایش قند ناشتا با افزایش پایه، برون‌ده کبدی کنترل نشده، که نتیجه آن مقاومت کبدی نسبت به عمل انسولین می‌باشد، همراه است (۳). بیماری دیابت سبب اختلالات جنسی در مردان و زنان می‌شود. حدود ۹۰ درصد از بیماران دیابتی نقص در فعالیت‌های جنسی را به صورت کاهش میل جنسی و کاهش قدرت باروری تجربه می‌کنند (۱). همچنین این بیماری بر اسپرم‌سازی تاثیر گذاشته و اثر خود را به صورت کاهش در حرکت و تعداد اسپرم و افزایش ایجاد اسپرم‌های ناهنجار اعمال می‌نماید (۴). از دیرباز استفاده از گیاهان دارویی به منظور افزایش باروری و برطرف کردن مواردی از جمله ناتوانی جنسی، اولیگواسپرما، حرکت کند اسپرم مورد توجه بوده است (۱). بیلهر (*Dorema aucheri*) گیاهی است چند ساله که در نواحی سردسیر و ارتفاعات مناطق الوند، کرند، اصفهان، کهگیلویه و بویراحمد می‌روید. گونه‌های جنس دورما از تیره چتریان با داشتن صفات بسیار واضح در گل و میوه به‌خوبی از سایر جنس‌های تیره چتریان قابل تشخیص می‌باشند. از این جنس گیاه دو گونه *Dorema aucheri* و *Dorema ammoniacum* بومی ایران هستند. گیاه بیلهر دارای فلاونوئیدهایی است که از دسته‌ای از ترکیبات فیتواستروژنی می‌باشند و خواص استروژنی و غیراستروژنی دارند. فیتواستروژن‌ها ترکیبات مشتق از گیاهانی می‌باشند که عملاً ساختمانی مشابه استروژن داشته و می‌توانند بر روی هورمون‌های جنسی موثر باشند و همچنین دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی، ضدآلرژی، ضدالتهابی و ضدسرطانی هستند.

۴ درجه‌ی سانتی‌گراد مورد نگه‌داری قرار گرفت (۱۰).
ایجاد مدل دیابتی: برای ایجاد مدل دیابتی، ابتدا نیکوتین‌آمید (۱۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) (تهیه شده از شرکت سیگما) به صورت داخل صفاقی به موش‌ها تزریق گردید و ۱۵ دقیقه بعد، یک دوز STZ یا استرپتوزوسین (۶۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) (تهیه شده از شرکت سیگما) حل شده در نرمال سالین به صورت داخل صفاقی به حیوان تجویز شد. برای اطمینان از دیابتی شدن حیوان، میزان قند خون، ۷۲ ساعت پس از تزریق STZ مورد ارزیابی قرار گرفت. موش‌هایی که قند ناشتای آن‌ها به بیشتر از ۲۵۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر رسیده بود به عنوان دیابتی در نظر گرفته شدند (۱۱).

آماده‌سازی حیوانات: تعداد ۴۲ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار در محدوده‌ی وزنی ۱۵۰ تا ۲۵۰ گرم تهیه شده از مرکز تکثیر و نگه‌داری حیوانات دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز استفاده گردید و در سیکل روشنایی- تاریکی ۱۲ ساعته نگهداری شدند، همچنین دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند. سپس حیوانات به صورت تصادفی به ۶ گروه (۱) کنترل (بدون دریافت دارو و عصاره)، (۲) دیابتی (دریافت‌کننده‌ی نیکوتین‌آمید - STZ)، (۳) کنترل مثبت (دیابتی دریافت‌کننده‌ی گلی‌بنکلامید ۰/۶ میلی‌گرم در کیلوگرم تهیه شده از شرکت سیگما) (۱۲)، ۴، ۵ و ۶ به ترتیب دریافت‌کننده غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره‌ی آبی‌الکلی گیاه بیلهر تقسیم شدند و در هر گروه تعداد حیوانات ۷ سر بود. غلظت‌های مختلف عصاره‌ی این گیاه و گلی‌بنکلامید (۰/۶ میلی‌گرم در کیلوگرم) به‌صورت ۵ روز در هفته، به مدت ۳ هفته، روزانه (۱۳) به حیوانات از طریق گاواژ داده شد.

بررسی‌های آزمایشگاهی: یک روز بعد از آخرین گاواژ حیوانات تحت یک بیهوشی عمیق با اتر قرار گرفتند (۱۴). در این پژوهش اصول اخلاقی بر اساس پروتکل‌های اخلاقی راهنمای مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی منتشر

شده توسط موسسه‌ی ملی سلامت رعایت گردید و در طول مدت جراحی حیوانات در بیهوشی عمیق باقی مانده و کلیه‌ی مراحل جراحی بدون درد انجام پذیرفت. پس از خونگیری از قلب حیوانات سطوح تستوسترون و FSH سرم به ترتیب با استفاده از کیت‌های اندازه‌گیری هورمون الیزا (تهیه شده از شرکت DRG Instruments GmbH آلمان) با حساسیت سنجش هورمونی ۰/۰۸۳ (نانوگرم در میلی‌لیتر) و RIA (رادایمونواسی) (تهیه شده از شرکت Padyab Teb Diagnostics ایران با حساسیت سنجش هورمونی ۰/۰۹ (میلی واحد بین المللی در میلی‌لیتر)) اندازه‌گیری شد. سپس بیضه حیوان جدا شده و وزن، قطر کوچک و قطر بزرگ آن مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. همچنین حجم بیضه با استفاده از فرمول $V=(d^2/4 \times \pi)L \times K$ محاسبه گردید. در این فرمول V حجم بیضه، d قطر کوچک بیضه، L قطر بزرگ بیضه، $\pi=3/14$ و $k=0/9$ (ضریب ثابت) می‌باشد (۱۵). پس از مشاهدات ماکروسکوپی، جهت شمارش اسپرم‌ها در همه گروه‌ها قسمت دمی اپیدیدیم به‌وسیله‌ی قیچی جدا، و درون ۳ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی قرار داده شد؛ سپس جهت تخلیه‌ی اسپرم‌ها، قطعات را با پنس فشرده نموده تا اسپرم درون آن‌ها به داخل سرم تخلیه گردد. پس از هم‌زدن مخلوط و همگن کردن آن، توسط پیت ملائزور مخصوص گلبول سفید به مقدار ۰/۵ واحد از مخلوط کشیده و به‌وسیله‌ی سرم فیزیولوژی به ۱۰ رسانده شد؛ سپس قطره‌ای بر روی لام نئوبار قرار داده، با استفاده از خانه‌های مربوط به شمارش گلبول‌های سفید شمارش اسپرم‌ها به‌طور دقیق انجام پذیرفت. **بررسی‌های آماری:** داده‌ها با استفاده از روش آماری ANOVA یکطرفه به‌صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار، مورد مقایسه قرار گرفتند. از آزمون تعقیبی -LSD- جهت به‌دست آوردن اختلاف بین گروه‌ها استفاده شد؛ همچنین مقادیر P کمتر از ۰/۰۵ در تمام آزمایش‌ها معنی‌دار تلقی شد.

یافته‌ها

کوچک، بزرگ و حجم بیضه اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های مورد آزمایش نشان نداد (جدول ۱).

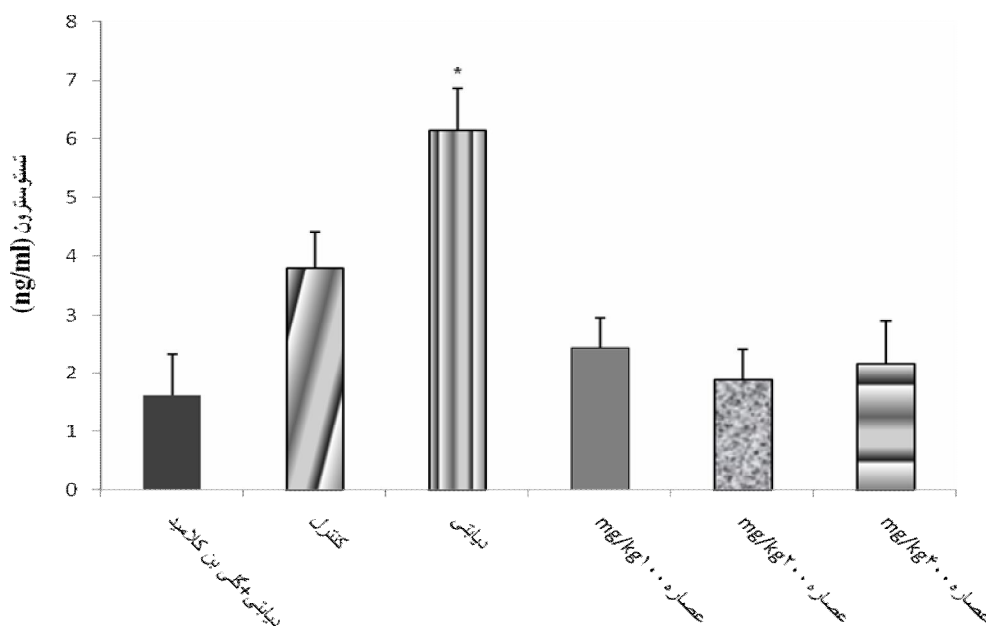
نتایج حاصل از بررسی وزن حیوان، وزن بیضه، قطر

جدول ۱: اثر عصاره‌ی آبی‌الکلی گیاه بیلهر بر وزن بدن و پارامترهای بیضه موش‌های صحرایی گروه‌های مختلف مطالعه داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف استاندارد میانگین بیان شده‌اند ($n=7$ تعداد موش‌ها در هر گروه)

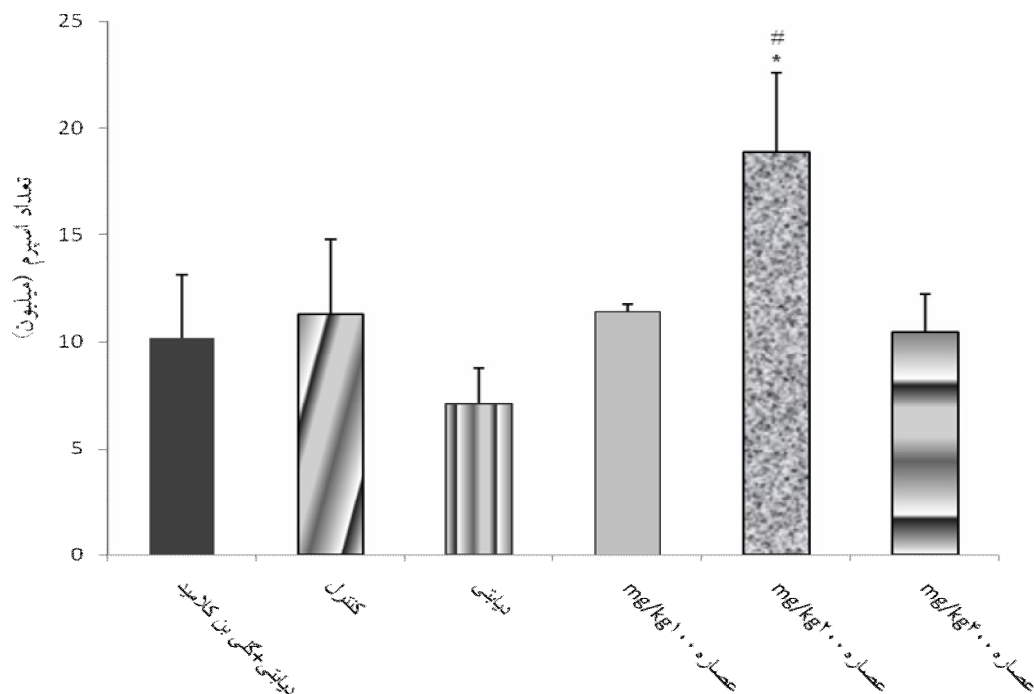
گروه	وزن موش (g)	وزن بیضه (g)	قطر کوچک (mm)	قطر بزرگ (mm)	حجم (cm ³)
دیابتی + گلی‌بنکلامید	24.0 ± 12.7	1.35 ± 0.13	1.07 ± 0.11	2.07 ± 0.37	1.8 ± 0.47
کنترل	26.4 ± 9.34	1.44 ± 0.2	1.12 ± 0.2	2.0 ± 0.77	1.77 ± 0.1
دیابتی	24.7 ± 6.17	1.38 ± 0.06	1.1 ± 0.31	2.0 ± 0.6	1.75 ± 0.13
عصاره‌ی آبی الکلی 100 mg/kg	25.4 ± 11.76	1.44 ± 0.1	1.1 ± 0.31	2.1 ± 0.63	1.81 ± 0.14
عصاره‌ی آبی الکلی 200 mg/kg	25.4 ± 11.08	1.42 ± 0.1	1.1 ± 0.4	2.06 ± 0.75	1.9 ± 0.16
عصاره‌ی آبی الکلی 400 mg/kg	25.3 ± 17.46	1.44 ± 0.07	1.16 ± 0.24	2.02 ± 0.73	1.92 ± 0.13

مختلف عصاره، کنترل و دیابتی دریافت کننده‌ی گلی‌بنکلامید ۰/۶ میلی‌گرم در کیلوگرم از خود نشان داد ($P=0.05$) (نمودار ۱).

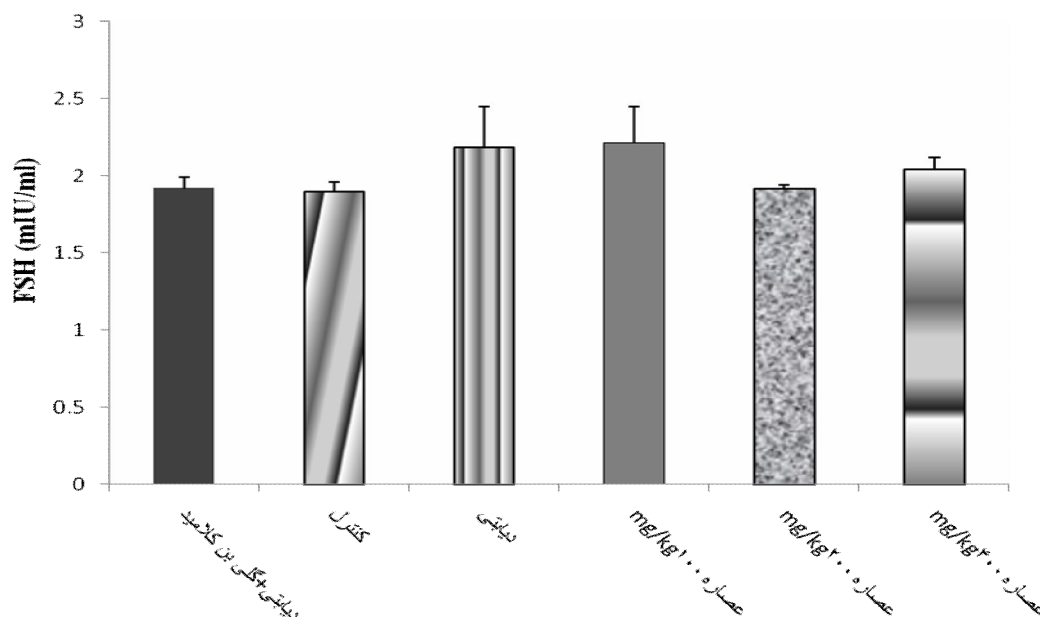
اما سطح تستوسترون سرم در گروه مدل دیابتی (6.15 ± 0.72) افزایش معنی‌داری را در مقایسه با گروه‌های غلظت‌های



نمودار ۱: مقایسه‌ی میانگین سطح تستوسترون (ng/ml) سرم موش‌های صحرایی گروه‌های مختلف مورد مطالعه داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف استاندارد میانگین بیان شده‌اند. اختلاف میان گروه دیابتی با سایر گروه‌ها معنی‌دار است ($P=0.05$). ($n=7$ تعداد موش‌ها در هر گروه)



نمودار ۲: مقایسه‌ی میانگین تعداد اسپرم موش‌های صحرایی گروه‌های مختلف مورد مطالعه داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف استاندارد میانگین بیان شده‌اند ($n=7$ تعداد موش‌ها در هر گروه) اختلاف بین گروه 200 mg/kg با گروه‌های 100 mg/kg و 300 mg/kg کنترل و دیابتی+گلی بن کلازید معنی‌دار است ($P < 0.05$).[#] اختلاف بین گروه 200 mg/kg با گروه دیابتی معنی‌دار است ($P = 0.03$).



نمودار ۳: سطح FSH (mIU/ml) سرم موش‌های صحرایی گروه‌های مختلف مورد مطالعه داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف استاندارد میانگین بیان شده‌اند ($n=7$ تعداد موش‌ها در هر گروه)

نتایج به دست آمده از میانگین شمارش اسپرم موش‌ها مشخص نمود که در گروه دریافت‌کننده‌ی غلظت ۲۰۰ میلی گرم در کیلوگرم از عصاره‌ی آبی الکلی گیاه بیلهر افزایش معنی داری در تعداد اسپرم‌ها ($18/9 \pm 3/72$ میلیون)، در مقایسه با گروه‌های دیابتی دریافت‌کننده‌ی گلی بنکلامید ($0/6$ میلی گرم در کیلوگرم) ($10/2 \pm 2/93$) ($P=0/03$)، کنترل ($11/28 \pm 3/51$) ($P=0/03$)، دیابتی ($7/08 \pm 1/66$) ($P=0/03$)، دریافت‌کننده‌ی غلظت ۱۰۰ میلی گرم در کیلوگرم ($11/42 \pm 0/39$) ($P=0/05$) و دریافت‌کننده‌ی غلظت ۴۰۰ میلی گرم در کیلوگرم ($10/47 \pm 1/8$) ($P=0/02$) ایجاد شده است (نمودار ۲). در ارتباط با سطح FSH سرم حیوانات، نتایج به دست آمده بیانگر این مطلب بود که مدل دیابتی و غلظت‌های مختلف عصاره‌ی استفاده شده در این بررسی هیچ گونه تفاوت معنی داری را مابین تمام گروه‌ها ایجاد نمودند (نمودار ۳).

بحث

نتایج مطالعه حاکی از عدم تاثیر عصاره‌ی آبی الکلی گیاه بیلهر بر وزن حیوان، وزن بیضه، قطر کوچک، بزرگ و حجم بیضه در موش‌های دیابتیک بود. القای دیابت نوع دو توسط نیکوتین آمید-STZ نشان داد که این مدل منجر به افزایش سطح تستوسترون سرم می‌گردد؛ همچنین غلظت ۲۰۰ میلی گرم در کیلوگرم از عصاره‌ی آبی الکلی گیاه بیلهر منجر به بهبود روند اسپرماتوژنز شده که نتیجه‌ی آن به صورت افزایش در تعداد اسپرم‌ها نمایان گردید. در بررسی که آذری نیوشان و همکاران انجام دادند اثرات عصاره‌ی هیدروالکلی ۱۰۰ میلی گرم در کیلوگرم بیلهر بر گنادوتروپ‌ها به صورت افزایش در سطح سرمی هورمون تستوسترون و کاهش دی‌هیدروتستوسترون در موش‌های سالم مشخص گردیده است اما غلظت‌های بالای این عصاره (۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم در کیلوگرم) کاهش معنی داری را در سطح سرمی تستوسترون

از خود نشان دادند. بنابراین در ارتباط با مکانیسم این اثر عصاره می‌توان چنین بیان نمود که این تاثیر احتمالا به دلیل حضور ترکیبات فلاونوئیدی در گیاه بیلهر بوده که با ممانعت از آنزیم‌های مشارکت کننده در متابولیسم تستوسترون مانند آروماتاز و ۵ آلفا ردوکتاز باعث افزایش در سطح سرمی تستوسترون و کاهش در دی‌هیدروتستوسترون سرم شده است همچنین با توجه به حضور ترکیبات کومارینی موجود در عصاره‌ی بیلهر و خاصیت آنتی‌آندروژنی آن‌ها در غلظت‌های بالای عصاره، می‌توان کاهش در سطح سرمی تستوسترون را در این غلظت‌ها انتظار داشت (۵). نتایج حاصل از اندازه‌گیری سطح FSH در مطالعه‌ی حاضر نشان داد که مدل دیابتی و غلظت‌های مختلف عصاره‌ی گیاه بیلهر تاثیری بر این هورمون نداشته است و مطابق با نتایج میزان FSH سرم در پژوهش آذر نیوشان و همکاران (۵) بر موش‌های سالم می‌باشد. در ارتباط با تاثیر مدل دیابتی نیکوتین آمید-STZ بر سطح تستوسترون مقاله‌ای یافت نشد و با توجه به اثر تستوسترون بر تحریک اسپرماتوژنز از طریق گیرنده‌های موجود در سلول‌های سرتولی (۱۶) و افزایش سطح تستوسترون و عدم افزایش در تعداد اسپرم موش‌های مدل نیکوتین آمید-STZ در این بررسی می‌توان چنین پیشنهاد نمود که احتمالا این مدل دیابتی از طریق اثر برگیرنده‌های موجود در سلول‌های سرتولی مانع تاثیر تستوسترون بر اسپرماتوژنز می‌گردد. بنابراین تستوسترون به دنبال جبران این اثر جهت انجام اسپرماتوژنز و بالا بردن تعداد اسپرم‌ها افزایش می‌یابد. اما با توجه به تاثیر احتمالی نیکوتین آمید-STZ بر گیرنده‌های موجود در سلول‌های سرتولی در نهایت تحریک اسپرماتوژنز توسط تستوسترون انجام نشده و تولید اسپرم کم می‌شود که این یافته نیازمند تحقیقات بیشتری در این زمینه می‌باشد. در این مطالعه مشخص گردید که عصاره‌ی آبی الکلی گیاه بیلهر در موش‌های دیابتی نوع ۲ مدل نیکوتین آمید-STZ منجر به بهبود روند تولید اسپرم شده که طی آن غلظت ۲۰۰ میلی گرم در کیلوگرم

هورمون تستوسترون در حیوانات گروه دیابتی دریافت‌کننده‌ی گلی‌بنکلامید (۰/۶ میلی‌گرم در کیلوگرم) در مقایسه با گروه دیابتی تقریباً مشابه با عصاره‌ی به‌کار برده شده بود. اما تغییرات ایجاد شده در تعداد اسپرم‌ها در مقایسه با غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم چندان چشمگیر نبود. بنابراین با توجه به نتایج حاصله این دارو تمایل به بهبود مختصر وضعیت اسپرماتوزن موش‌های صحرایی دیابتی داشته است. در مطالعه‌ای که ربانی و همکاران (۲۳) بر مدل دیابتی نوع ۲ نیکوتین آمید - STZ انجام دادند، مشخص شد که غلظت‌های ۰/۵ و ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم گلی‌بنکلامید به‌صورت خوراکی به مدت ۴ هفته بعد از ایجاد دیابت در موش‌های صحرایی، تأثیر معنی‌داری بر وزن بیضه و تعداد اسپرم‌ها نداشته است که با نتایج به‌دست آمده از گروه دیابتی دریافت‌کننده‌ی گلی‌بنکلامید پژوهش حاضر مطابقت دارد.

نتیجه‌گیری

در مجموع می‌توان چنین بیان نمود که القای دیابت نوع ۲ توسط مدل دیابتی نیکوتین آمید - STZ منجر به اختلال در روند تولید اسپرم و به دنبال آن کاهش تعداد اسپرم‌ها شده در حالی که درمان توسط عصاره‌ی آبی‌الکلی گیاه بیلهر در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم منجر به بهبود این اختلال می‌گردد و تعداد اسپرم‌ها را در موش‌های صحرایی به طور چشمگیری افزایش می‌دهد و علت این امر می‌تواند ناشی از حضور فلاونوئیدهای موجود در این گیاه باشد. همچنین نتایج اثر مدل دیابتی نیکوتین آمید - STZ برافزایش سطح تستوسترون سرم و کاهش تعداد اسپرم در این مطالعه جالب توجه بوده، نیازمند تحقیقات بیشتری در این زمینه می‌باشد.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از طرح تحقیقاتی دانشجویی به شماره‌ی ۹۱۵۵۰ می‌باشد. بدین‌وسیله از معاونت

از این عصاره بیشترین تأثیر را در مقایسه با سایر گروه‌ها داشته است. بنابراین با توجه به نتایج حاصل از اثرات این عصاره می‌توان چنین پیشنهاد نمود که احتمالاً این عصاره اثر نیکوتین آمید - STZ را از گیرنده‌های موجود بر سلول‌های سرتولی برداشته و منجر به تحریک تولید اسپرم توسط تستوسترون شده است. بنابراین با توجه به عدم نیاز به افزایش جبرانی سطح تستوسترون سرم جهت ایجاد اسپرماتوزن، در نهایت از غلظت این هورمون در مقایسه با گروه دیابتی کاسته شده و تعداد اسپرم‌ها نیز افزایش می‌یابد. یکی از مهم‌ترین ترکیبات موجود در گیاه بیلهر فلاونوئیدها می‌باشند (۵). در بسیاری از پژوهش‌ها مشخص گردیده است که این ترکیبات منجر به افزایش در تعداد اسپرم‌ها می‌گردد (۱۷ و ۱۸). بنابراین با توجه به نتایج بررسی حاضر و عملکرد عصاره‌ی آبی‌الکلی گیاه بیلهر بر افزایش تعداد اسپرم‌ها می‌توان چنین پیشنهاد نمود که این عملکرد احتمالاً ناشی از فلاونوئیدهای موجود در این گیاه می‌باشد. در بررسی علی و همکاران این موضوع به اثبات رسید که دیابت نوع دو (غیر وابسته به انسولین) منجر به کاهش بسیار زیادی در تعداد و غلظت اسپرم‌ها می‌شود (۱۹). کوماکی و همکاران و ماه و همکاران در تحقیق خود به این نتیجه رسیدند که دیابت نوع دو موجب کاهش در سطح سرمی تستوسترون شده که به دنبال آن کاهش در میزان اسپرماتوزن را به‌وجود می‌آورد (۲۰ و ۲۱). بنابراین نتایج حاصل از کاهش تعداد اسپرم‌های موش‌های صحرایی دیابتی نوع ۲ مدل نیکوتین‌آمید - STZ در مقایسه با گروه کنترل در بررسی حاضر، تأییدکننده یافته‌های ماه، علی و کوماکی می‌باشد. یکی از داروهای ضد دیابتی گلی‌بنکلامید بوده که از داروهای سولفونیل اوره‌ها می‌باشد و با اثر بر روی سلول‌های بتا در جزایر پانکراس و بافت‌های دیگر مثل کبد، عضله و چربی میزان قند خون را کاهش می‌دهد و به دنبال آن بهبود وضعیت بیماران دیابتی را منجر می‌شود (۲۲). در بررسی حاضر تمایل به افزایش در تعداد اسپرم و کاهش در میزان

اجرای این طرح تحقیقاتی را پرداخت نمودند، قدردانی می‌شود.

پژوهشی و کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز که هزینه‌های

References

- 1- Gholam Hosseini B, Khaki A, Ahmadi Ashtiani HR, et al. Treatment effect of onion on spermatogenesis in streptozotocin-induced diabetic rat. *J Med Plants*. 2009; 8: 153-161.
- 2- Ashok k tiwari, Madhusudana Rao J. Diabetes mellitus and multiple therapeutic approaches of phytochemical: present status and future prospects. *Current Science*. 2002; 283: 30- 38.
- 3- Daily G. New strategies for basal insulin treatment in type 2 diabetes mellitus. *Clin Ther*. 2004; 6: 889-901.
- 4- Taghavi MM, Mahmoudian AR, Pourmasumi S, Jafari Naveh HR, Alavi H. The effect of Angi Pars as an herbal medicine on sperm count and the ratio of testis weight to body weight in diabetic rats. *J Mazandaran Univ Med Sci*. 2011; 24: 68-75.
- 5- Azarnioushan F, Khatamsaz S, Sadeghi H. The effect of hydro alcoholic extract of *Dorema aucheri* on blood concentration of gonadotropin and androgen hormones in adult male rats. *Armaghan Danesh*. 2009; 14: 63-70.
- 6- Chou TW, Ma CY, Cheng HH, Chen YY, Lai MH. A rice bran oil diet improves lipid abnormalities and suppress hyperinsulinemic responses in rats with streptozotocin/nicotinamide-induced type 2 diabetes. *J Clin Biochem Nutr*. 2009; 45: 29-36.
- 7- Shimizu R, Sakazaki F, Okuno T, Nakamuro K, Ueno H. Difference in glucose intolerance between C57BL/6J and ICR strain mice with streptozotocin/nicotinamide-induced diabetes. *Biomed Res*. 2012; 33: 63-66.
- 8- Satheesh MA, Pari L. Effect of pterostilbene on lipids and lipid profiles in streptozotocin-nicotinamide induced type 2 diabetes mellitus. *J Appl Biomed*. 2008; 6: 31-37.
- 9- Khouri V, Nayeypour M, Mirabbasi A. Ouabaine like effects of ethanoloic extract of aerial parts of *Urtica dioica L.* on isolated rabbit atrioventricular node: potential role as an anti-arrhythmic plant. *J Med Plants*. 2008; 7: 24-32.
- 10- Ahangarpour A, Oroojan AA. Effect of Crust and Seed's Aqueous Extract and hydro-alcoholic extracts of crust, seed and pulp of citrullus colocynthis on lipid's factors and hepatic enzyme in fructose-fed male rats. *J Babol Univ Med Sci*. 2012; 14: 53-60.
- 11- Shirwaikar A, Rajendran K, Punitha I.S.R. Antidiabetic activity of alcoholic stem extract of *Coscinium fenestratum* in streptozotocin-nicotinamide induced type 2 diabetic rats. *J Ethnopharmacol*. 2005. 97: 369-374.
- 12- Chika A, Bello SO. Antihyperglycaemic activity of aqueous leaf extract of *Combretum micranthum* (Combretaceae) in normal and

- alloxan-induced diabetic rats. *J Ethnopharmacol*. 2010; 129: 34-37.
- 13- Yang W, Hu B, Chen G, Bielefeld EC, Henderson D. L-NAC protects hair cells in the rat cochlea from injury of exposure to styrene. *Lin Chung Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi*. 2011; 25: 176-179.
- 14- Malekzade Shiravani S, Karimi Jashni H, Hoshmand F, Haghshenas Emami R, Bagheri M. Effect of plant *Tribulus Terrestris* extract on sperm parameter of male rats. *Iran J Reprod Med*. 2011; 9: 49-50.
- 15- Courtade M, Lagorce C, Bujan L, Caratero C, Mieusset R. Clinical characteristics and light and transmission electron microscopic sperm defects of infertile men with persistent unexplained asthenozoospermia. *Fertil Steril*. 1998; 70: 297-304.
- 16- Molina PE. Endocrine physiology. Third Edition. The Mc Graw-Hill companies. USA; 2010: 196-197.
- 17- Khaki A, Fathiazad F, Ahmadi Ashtiani HR, Rastgar H, Rezazadeh Sh. Effects of *Danae racemosa* on spermatogenesis in rat. *J Med Plants*. 2009; 8: 87-92.
- 18- Malviya N, Jain S, Gupta VB, Vyas S. Recent studies on aphrodisiac herbs for the management of male sexual dysfunction--a review. *Acta Pol Pharm*. 2011; 68: 3-8.
- 19- Ali ST, Rakkah NI. Neurophysiological role of sildenafil citrate (Viagra) on seminal parameters in diabetic males with and without neuropathy. *Pak J Pharm Sci*. 2007; 20: 36-42.
- 20- Mah PM, Wittert GA. Obesity and testicular function. *Mol Cell Endocrinol*. 2010; 316: 180-186.
- 21- Komaki K, Ohno Y, Aoki N. Gonadal hormones and gonadal function in type 2 diabetes model OLETF (Otsuka Long Evans Tokushima Fatty) rats. *Endocr J*. 2005; 52: 345-351.
- 22- Ahmadi Mahmoudabadi N, Madani H, Vahdati A, Mahzouni P. Preventive effect of hydroalcoholic *Cynara Scolymus* extract on appearance of type1 diabetes mellitus in male rats. *Iran J Diabetes Lipid Disord*. 2006; 6: 37-44.
- 23- Rabbani SI, Devi K, Khanam S. Protective role of glibenclamide against nicotinamide-streptozotocin induced nuclear damage in diabetic Wistar rats. *J Pharmacol Pharmacother*. 2010; 1: 18-23.

Effect of Hydro-Alcoholic Extract of *Dorema Aucheri* on Serum Levels of Testosterone, FSH and Sperm Count in Nicotinamide-STZ- Induced Diabetic Rat Models

Ahangarpour A¹, Oroojan AA², Heydari H²

¹Physiology and Diabete Research Center, School of Medicine, Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran

²Dept. of Physiology, Student Research Committee, Ahvaz Jundishapur University of Medical Science, Ahvaz, Iran

Corresponding Author: Oroojan AA, Physiology and Diabete Research Center, School of Medicine, Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran

Email: aliakbar_orojan@yahoo.com

Received: 3 Feb 2013 **Accepted:** 15 Jul 2013

Background and Objective: Diabetes can lead to sexual dysfunction in patients. Recent studies indicate the influence of *Dorema aucheri* on sexual hormones. Therefore, we decided to elicit the effect of hydro-alcoholic extract of *Dorema aucheri* on serum levels of testosterone and FSH, testicular morphology and sperm count of Nicotinamide-STZ (streptozotocin) induced diabetes in rat models.

Materials and Methods: A total of 42 male adult wistar rats weighing 150-250gm were entered into the study. To produce diabetic model, the animals received one dose of nicotinamide 120 mg/kg and STZ 60 mg/kg intraperitoneally. The animals were divided into 6 groups (7 rats in each group): control, diabetic, diabetic+glibenclamid (0.6mg/kg), as well as variant doses of hydro-alcoholic extract of *Dorema aucheri* (100, 200, 400mg/kg). The extracts were gavaged once a day, 5 days per week for 3 weeks. 24 hours after the last gavage under deep anesthesia with ether, blood samples were collected from the heart and then serum levels of testosterone and FSH were measured. Subsequently, testicular morphology and caudal epididymal sperm numbers were determined and counted. The data were statistically analyzed with SPSS by one-way ANOVA whereby $P < 0.05$ was considered as significant.

Results: Serum level of testosterone exhibited a significant increase in diabetic rats compared with all other groups except the control group ($P = 0.05$). The 200mg/kg extract concentration led to a significant increase in sperm counts in comparison with diabetic ($P = 0.003$) and other groups ($P < 0.05$).

Conclusion: The results indicated that hydro-alcoholic extracts of *Dorema aucheri* improve sperm production process and increase sperm counts in rats. This positive effect may originate from the presence of flavonoids in *Dorema aucheri* plant.

Keywords: *Dorema aucheri*, Nicotinamide, STZ, Sperm count, Rat