

بررسی اثر عصاره هیدروالکلی گیاه خوشاریزه (*Echinophora platyloba* L.) بر غلظت سرمی تستوسترون و گنادوتروپین‌ها در موش صحرایی نر القا شده با تتراکلرید کربن دکتر ناصر میرازی^۱، الهام نور بار^۲، مریم سلیمانی^۲

نویسنده‌ی مسئول: دکتر ناصر میرازی، گروه زیست شناسی، دانشکده‌ی علوم پایه، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران mirazi205@gmail.com
دریافت: ۹۵/۱۲/۸ پذیرش: ۹۶/۳/۲۱

چکیده

زمینه و هدف: تتراکلرید کربن یکی از سموم شیمیایی است که در صنایع بهداشتی به‌طور وسیعی استفاده می‌شود. هدف از مطالعه‌ی حاضر بررسی اثر عصاره‌ی گیاه خوشاریزه بر غلظت سرمی هورمون تستوسترون و گنادوتروپین‌ها در موش‌های صحرایی نر بالغ القا شده با CCL_4 می‌باشد. روش بررسی: در این مطالعه‌ی تجربی، ۴۹ سر موش صحرایی نر بالغ و در محدوده‌ی وزنی ۲۲۰ تا ۲۵۰ گرم به‌طور تصادفی به ۷ گروه ۷ سری، شامل کنترل (۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم سالین نرمال روزانه درون صفاقی)، شاهد (۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم تتراکلرید کربن نسبت ۱:۱ با روغن زیتون تک دوز و درون صفاقی)، شم (۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم روغن زیتون تک دوز و درون صفاقی)، کنترل مثبت (۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره‌ی خوشاریزه روزانه و داخل صفاقی) و تیمارهای ۱ و ۲ و ۳ (۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم تتراکلرید کربن ۱:۱ با روغن زیتون تک دوز و عصاره‌ی خوشاریزه با دوزهای ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم طی چهار روز متوالی و درون صفاقی) تقسیم شدند. سطوح سرمی هورمون تستوسترون، LH و FSH اندازه‌گیری شد. یافته‌ها: CCL_4 سبب افزایش معنادار سطح سرمی LH و FSH و همچنین کاهش معنادار تستوسترون در گروه شاهد نسبت به گروه کنترل شد ($P < 0.001$). عصاره‌ی خوشاریزه با دوزهای ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، سبب افزایش معنادار سطح سرمی تستوسترون و کاهش معنادار میزان هورمون‌های FS و LH نسبت به گروه شاهد گردید ($P < 0.001$). نتیجه‌گیری: عصاره‌ی هیدروالکلی خوشاریزه باعث افزایش سطح سرمی تستوسترون و کاهش میزان هورمون‌های LH و FSH، در موش‌های مسموم شده با تتراکلرید کربن می‌شود. واژگان کلیدی: خوشاریزه، LH و FSH، تستوسترون، تتراکلرید کربن، موش صحرایی

مقدمه

شرایط آندوکرینی طبیعی افراد، لازمه‌ی تولیدمثل موفق آنها است. هیچ کدام از سیستم‌های آندوکرینی در مهره داران، به پیچیدگی سیستم تولیدمثل نیست (۱). تحقیقات نشان داده است که ۲۰ درصد جمعیت جهان از اختلالات جنسی رنج می‌برند. بسیاری از اختلالات جنسی مانند فقدان میل جنسی، ناتوانی جنسی، ناباروری و سایر موارد، ریشه در عدم تعادل مواد شیمیایی و هورمون‌ها در بدن دارد (۲). عوامل محیطی مضر دستگاه تولیدمثل شامل حرارت، اشعه‌های یونیزه، فلزات

۱- دکترای تخصصی فیزیولوژی، دانشیار گروه زیست شناسی، دانشکده‌ی علوم پایه، دانشگاه بوعلی سینا، همدان

۲- کارشناس ارشد فیزیولوژی، گروه زیست شناسی، دانشکده‌ی علوم پایه، دانشگاه بوعلی سینا، همدان

سنگین، آفت کش ها، حلال های شیمیایی، مواد مخدر، سیگار، الکل، داروها و افزودنی های غذایی می باشند. یکی از موادی که امروزه در برخی پاک کننده های آلی، سفیدکننده ها، مواد شوینده، حشره کش ها و مواد خاموش کننده در آتش نشانی استفاده می شود، تتراکلرید کربن است (۳). این ماده معمولاً از طریق استنشاق، بلع یا جذب از طریق پوست وارد بدن می شود (۴). پس از ورود به بدن در بافت هایی نظیر کبد، بیضه، کلیه، شش و مغز ذخیره می شود و از طریق تولید گونه های فعال اکسیژن (ROS) سمیت خود را اعمال می کند (۵). ROS عوامل اکسیده کننده ی فعالی هستند که به رده رادیکال های آزاد تعلق دارند. تولید ROS موجب آسیب DNA سلول ها می شود. در مطالع های اثرات تخریبی تتراکلرید کربن بر بافت بیضه با افزایش پراکسیداسیون لیپیدها نشان داده شده است (۶). غشای پلاسمایی اسپرم ها حاوی مقادیر زیادی از اسیدهای چرب غیر اشباع است. بنابراین بسیار مستعد آسیب های پراکسیداتیو می باشد. پراکسیداسیون لیپیدها موجب تخریب ساختار لیپیدها در غشای اسپرم ها می شود که این اثر با کاهش تحرک و آسیب بخش های غشایی اسپرم ها همراه است (۷). به طور کلی، آنتی اکسیدان ها ترکیباتی هستند که مانع تشکیل ROS و پراکسیداسیون لیپیدها می شوند. بنابراین، استفاده از تخریب کنندگان ROS ها می تواند موجب تقویت عملکرد اسپرم ها گردد. یکی از غنی ترین گنجینه های آنتی اکسیدانی، گیاهان دارویی هستند (۸). گرایش عمومی جوامع به استفاده از داروها و درمان های گیاهی و به طور کلی فرآورده های طبیعی به ویژه در طی سال های اخیر رو به افزایش بوده و مهم ترین علل آن اثبات اثر مخرب و جانبی داروهای شیمیایی و ایجاد آلودگی های زیست محیطی است که کمره ی زمین را تهدید می کند. مواد موثر موجود در گیاهان به دلیل همراه بودن آنها با مواد دیگر پیوسته از یک حالت تعادل بیولوژیک برخوردار می باشند، لذا در بدن انباشته نمی شوند و اثر جانبی

به بار نمی آورند. از این رو امتیاز و برتری قابل ملاحظه ای نسبت به داروهای شیمیایی دارند. در این رابطه تنها مورد استثنا گیاهان سمی هستند که هرگز نباید بدون تجویز دقیق پزشک مصرف شوند (۹). عصاره های گیاهی متعددی بر عملکردهای ارگانیسم بدن به ویژه فعالیت سیستم تولیدمثلی و بافت بیضه موثر است. گیاه خوشاریزه نمونه ای از این گیاهان است که دارای خاصیت آنتی اکسیدانی می باشد و موجب کاهش استرس های اکسیداتیو می گردد. گیاه خوشاریزه با نام علمی *Echinophora platyloba* L گیاهی مرتعی و خوراکی است که به صورت خودرو در ایران وجود دارد. این گیاه متعلق به خانواده چتریان (Umbelliferae) است. اندام های هوایی این گیاه در اغلب نقاط به صورت تر و خشک جهت معطر کردن لبنیات (ماست و دوغ) مصرف می شود. عرق حاصل از این گیاه جهت معطر کردن محیط خانه و به عنوان ضد سردی مصرف می شود. خوشاریزه گیاهی پایا، دارای بن کرکینه پوش، رنگ سبز مات متمایل به زرد، محکم و خاردار، ساقه منفرد و از پایین منشعب، دارای شاخه های شیاردار ضخیم، محکم و سفت و بسیار منشعب با شاخک های درهم شده است (۱۰). خوشاریزه با نام های محلی نظیر تیغ توراغ، خارمشک، کوجنگ، کوه زنگ، کراوی، فیاله و کشندور شناخته می شود (۱۱). جنس خوشاریزه در ایران ۴ گونه علفی معطر دارد که دو گونه ی آن فقط مختص ایران هستند. دو گونه ی دیگر علاوه بر ایران در سواحل مدیترانه، سوریه و ارمنستان می روید (۱۲). خوشاریزه گیاهی علفی، یک ساله و معطر است که به ارتفاع حدود ۳۰ تا ۱۰۰ سانتی متر در نواحی مرکزی و غرب ایران می روید و به ویژه در ارتفاعات ۱۵۰۰ متری لرستان به ویژه اشترانکوه، کوه کلا، گرین کوه و سفید کوه به فراوانی یافت می شود. این گیاه دارای خاصیت ضدقارچی و همچنین ضدباکتری است. خوشاریزه گیاهی معطر، دارای طعمی دلپذیر و سبب تحریک بعضی از ریز

حیوانات‌ها به‌طور کاملاً تصادفی در ۷ گروه ۷ سری دسته‌بندی شدند. گروه‌ها شامل:

گروه یک (کنترل سالم): روزانه میزان ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم سالی‌ن نرمال دریافت کردند.

گروه دو (شاهد): مقدار میلی‌گرم بر کیلوگرم ۲ تراکلرید کربن با درصد ۱:۱ با روغن زیتون به صورت تک دوز و تزریق درون صفاقی دریافت کردند.

گروه سه (شم): میزان ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم روغن زیتون به صورت تک دوز و درون صفاقی دریافت کردند.

گروه چهار (کنترل مثبت): میزان ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره‌ی خوشاریزه به صورت روزانه و داخل صفاقی دریافت کردند.

گروه‌های پنج و شش و هفت (تیمارهای ۱ و ۲ و ۳): دو ساعت پس از تزریق درون صفاقی مقدار ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم تراکلرید کربن با درصد ۱:۱ با روغن زیتون به صورت تک دوز، به ترتیب عصاره‌ی خوشاریزه با دوزهای ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم را به صورت تزریق داخل صفاقی و به مدت چهار روز متوالی دریافت کردند.

جمع‌آوری گیاه: اندام هوایی گیاه خوشاریزه در خرداد ماه ۱۳۹۴ از دشت‌های اطراف همدان جمع‌آوری شد و توسط متخصص گیاه‌شناسی دانشکده‌ی علوم پایه دانشگاه بوعلی‌سینا شناسایی و تایید گردید. پس از یک شست و شوی ساده جهت رفع گردوغبار موجود، گیاه در دمای محیط و در سایه خشک گردید.

تهیه‌ی عصاره: به منظور استخراج عصاره، ابتدا گیاه توسط آسیاب برقی پودر شد و پودر حاصل به مدت یک هفته در اتانول ۸۰ درصد قرار گرفت. سپس محلول رویی با استفاده از کاغذ صافی، فیلتر شد و محلول صاف شده توسط دستگاه روتاری تغلیظ گردید. پس از حذف حلال، عصاره‌ی حاصله برای تغلیظ بیشتر به مدت یک هفته زیر هود قرار داده شد و عصاره‌ی خشک به دست آمد و تا زمان مصرف در فریزر با

زنده‌های تخمیری می‌شود (۱۳). علاوه بر این بررسی‌ها نشان داده است که این گونه، دارای ترکیبات آلکالوئید، فلاونوئید و ساپونین است. همچنین یکی از مهم‌ترین ترکیبات ترپنی شناسایی شده در اسانس این گیاه، ترانس-بتا-اوسیمین با ۶۷/۹ درصد می‌باشد. در طب سنتی از گیاه خوشاریزه به عنوان تقویت کننده‌ی معده (۱۲) و آنتی اسپاسمودیک در اختلالات قاعدگی (۱۴) استفاده می‌شود. اثر ضدقارچی این گیاه نیز بررسی شده و مشخص شده است که عصاره‌ی گیاه دارای اثر ضدقارچ *کاندیدا/آلبیکنس* می‌باشد (۱۱).

کومارین‌ها، پلی استلین‌ها، فلاونوئیدها، سزکویی ترپن‌ها و فتالیدها از جمله ترکیبات شیمیایی مهم این خانواده هستند (۱۵). از آنجا که تاکنون در مورد تاثیر گیاه خوشاریزه بر تغییرات هورمونی گنادوتروپین‌ها و استروئیدی مطالعه‌ای صورت نگرفته است، بر آن شدیم مطالعه‌ی حاضر را به منظور بررسی اثر عصاره‌ی هیدروآتانولی گیاه خوشاریزه (EPE) بر غلظت سرمی هورمون تستوسترون و گنادوتروپین‌ها در موش‌های صحرایی نر بالغ القا شده با CCL₄ به انجام برسانیم.

روش بررسی

برای انجام این مطالعه‌ی تجربی از ۴۹ سر موش صحرایی نر بالغ و در محدوده‌ی سنی ۴ ماهه نژاد ویستار (با وزن ۲۲۰ تا ۲۵۰ گرم) استفاده شد که از انستیتو پاستور تهران خریداری شده بودند. حیوانات در حیوان‌خانه‌ی دانشگاه بوعلی سینا در دمای کنترل شده 23 ± 2 درجه‌ی سانتی‌گراد و شرایط نور ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی و دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند. پروتکل انجام این تحقیق و انجام کلیه‌ی آزمون‌ها بر روی حیوانات مورد آزمایش بر اساس قوانین بین‌المللی و کمیته‌ی اخلاق پزشکی کار با حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه بوعلی سینا همدان با مجوز شماره ۴۸-۱۵۲-۱۳۹۲ صورت پذیرفت.

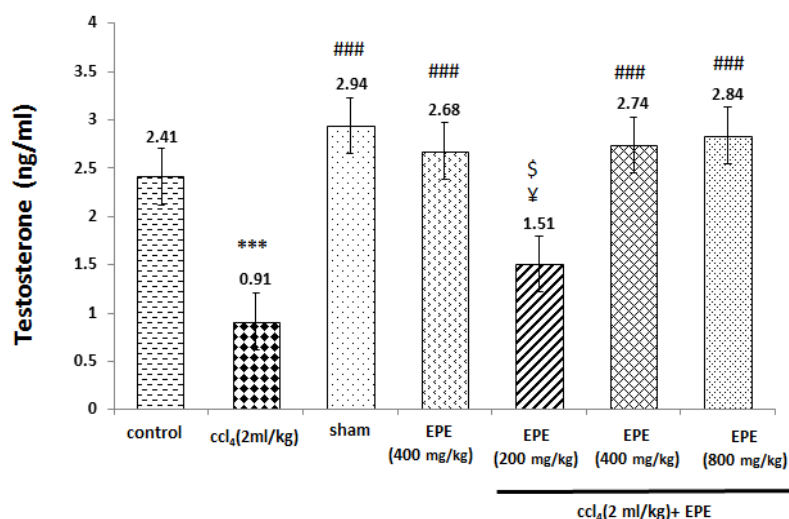
شد. سطح معنی‌داری $P < 0/05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

داده‌های حاصل از سنجش میزان تستوسترون در نمودار ۱ آمده است، تجزیه و تحلیل آماری این داده‌ها نشان داد که در مقایسه گروه دریافت‌کننده تتراکلیدکربن با گروه کنترل و گروه شم (دریافت‌کننده روغن زیتون)، تتراکلیدکربن منجر به کاهش معنادار میزان هورمون تستوسترون شده است ($P < 0/001$). سطح سرمی تستوسترون در موش‌های مسموم دریافت‌کننده عصاره خوشاریزه در هر سه دوز ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نسبت به گروه کنترل، اختلاف معناداری از خود نشان نداد ($P > 0/05$). حال آنکه سطح سرمی تستوسترون در گروه‌های دریافت‌کننده دوز ۴۰۰ و ۸۰۰ عصاره نسبت به گروه شاهد (دریافت‌کننده تتراکلیدکربن) افزایش معناداری داشته است ($P < 0/001$).

دمای ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد. غلظت‌های مناسب عصاره قبل از تجویز به حیوانات تهیه شد. خون‌گیری و سنجش هورمونی: ۲۴ ساعت بعد از تجویز آخرین دوز و پس از القای بیهوشی با اتر، از بطن چپ موش‌ها خون‌گیری به عمل آمد. جهت جداسازی سرم، خون جمع‌آوری شده با دور ۴۰۰۰ در دقیقه و به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید، سپس سرم جدا شده جهت اندازه‌گیری هورمون‌های تستوسترون، FSH و LH به آزمایشگاه منتقل شد. سنجش هورمون هورمون‌های تستوسترون، FSH و LH با کیت الیزا انجام شد.

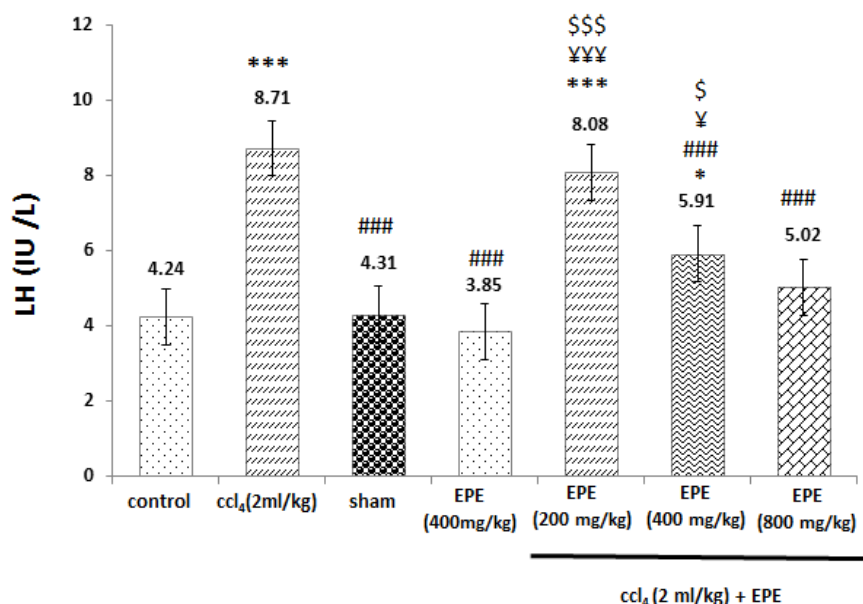
روش آنالیز آماری: تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه‌ی ۲۳ انجام شد. نرمال بودن توزیع داده‌ها، با استفاده از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف، بررسی و تایید شد. سپس از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه جهت معنی‌دار بودن میانگین‌ها و از آزمون تعقیبی توکی (Tukey) جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده



نمودار ۱: مقایسه‌ی سطح سرمی هورمون تستوسترون در گروه‌های مورد مطالعه. (کنترل: دریافت‌کننده‌ی ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم سالین نرمال، شم: دریافت‌کننده‌ی ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم روغن زیتون، EPE عصاره‌ی خوشاریزه) * بیانگر معناداری نسبت به گروه کنترل، # بیانگر معناداری نسبت به گروه دریافت‌کننده تتراکلیدکربن، ¥ بیانگر معناداری نسبت به گروه شم، \$ بیانگر معناداری نسبت به گروه کنترل مثبت (دریافت‌کننده‌ی عصاره). ($P < 0/001$: ###), ($P < 0/05$: \$), ($P < 0/05$: ¥), ($P < 0/05$: \$).

نسبت به گروه کنترل داشت ولی این معناداری در سطح $P < 0/05$ بود. گروه مسموم + دوز ۸۰۰ عصاره اختلاف معناداری را نسبت به گروه کنترل از خود نشان نداد ($P > 0/05$). مقایسه گروه‌های دریافت‌کننده تتراکلید کربن + عصاره (۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) با گروه شاهد (دریافت‌کننده تتراکلید کربن) بیانگر این است که تجویز عصاره خوشاریزه در دوزهای ۴۰۰ و ۸۰۰ سبب کاهش سطح سرمی هورمون LH شده است ($P < 0/001$).

بررسی سطح سرمی هورمون LH در نمودار ۲ ارائه گردیده است. در بررسی این داده‌ها، با مقایسه بین گروه دریافت‌کننده تتراکلید کربن با گروه کنترل و گروه شم، تتراکلید کربن با اطمینان ۹۹ درصد منجر به افزایش میزان هورمون LH شده است. سطح سرمی هورمون LH در گروه مسموم (دریافت‌کننده تتراکلید کربن) + عصاره ی خوشاریزه (۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) افزایش معناداری را نسبت به گروه کنترل نشان داد ($P < 0/001$). میزان LH در گروه مسموم + دوز ۴۰۰ عصاره نیز افزایش معناداری را



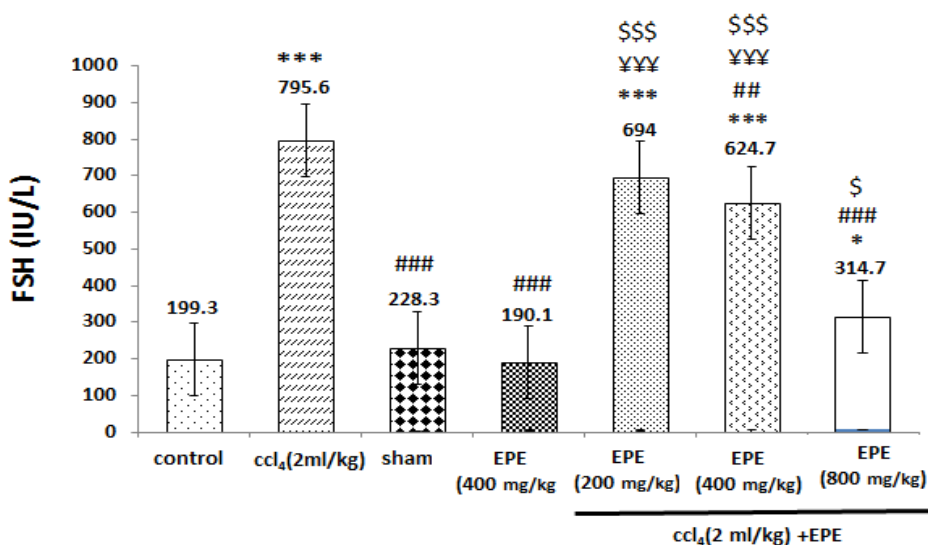
نمودار ۲: مقایسه سطح سرمی هورمون LH در گروه‌های مورد مطالعه. (کنترل: دریافت‌کننده ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم سالین نرمال، شم: دریافت‌کننده ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم روغن زیتون، EPE عصاره خوشاریزه) * بیانگر معناداری نسبت به گروه کنترل، # بیانگر معناداری نسبت به گروه دریافت‌کننده تتراکلید کربن، ¥ بیانگر معناداری نسبت به گروه شم، \$ بیانگر معناداری نسبت به گروه کنترل مثبت (دریافت‌کننده عصاره). ($P < 0/05$): *, ($P < 0/001$): **, ($P < 0/001$): ###, ($P < 0/05$): ¥, ($P < 0/001$): ¥¥¥, ($P < 0/05$): \$, ($P < 0/001$): \$\$\$).

گروه‌های کنترل و شم شده است ($P < 0/001$). مقایسه بین گروه دریافت‌کننده تتراکلید کربن + عصاره هیدروالکلی خوشاریزه در سه دوز تیمار با گروه کنترل، بیانگر اختلاف

نمودار ۳ سطح سرمی هورمون FSH را گزارش می‌دهد. با توجه به این نمودار، تتراکلید کربن منجر به افزایش معنادار میزان هورمون FSH موش‌های گروه شاهد، در مقایسه با

FSH شده است. تیمار موش‌های مسموم با هر سه دوز نیز سبب کاهش سطح سرمی هورمون FSH نسبت به گروه شاهد شده است، این کاهش در دوزهای بالا (۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) معنادار بود ($P < 0.001$).

معنادار بین آن‌ها بوده است. به طوری که گروه‌های مسموم دریافت‌کننده‌ی عصاره‌ی خوشاریزه با دوز ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم با اطمینان ۹۹ درصد ($P < 0.001$) و گروه مسموم دریافت‌کننده‌ی دوز ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره با اطمینان ۹۵ درصد ($P < 0.05$) منجر به افزایش میزان



نمودار ۳: مقایسه‌ی سطح سرمی هورمون FSH در گروه‌های مورد مطالعه. (کنترل: دریافت‌کننده‌ی ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم سالیین نرمال، شم: دریافت‌کننده‌ی ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم روغن زیتون، EPE عصاره خوشاریزه) * بیانگر معناداری نسبت به گروه کنترل، # بیانگر معناداری نسبت به گروه دریافت‌کننده‌ی تراکلرید کربن، ¥ بیانگر معناداری نسبت به گروه شم، \$ بیانگر معناداری نسبت به گروه کنترل مثبت (دریافت‌کننده‌ی عصاره). ($P < 0.05$), ($P < 0.001$), ($P < 0.001$), ($P < 0.05$), ($P < 0.001$), ($P < 0.05$), ($P < 0.001$).

بحث

به دلیل دارا بودن خاصیت آنتی اکسیدانی می‌توانند عامل حفاظتی مناسبی در برابر داروهای شیمیایی مضر باشند (۱۷). از طرف دیگر امروزه استفاده از داروهای گیاهی به دلیل عوارض جانبی کمتر معمول شده است. مصرف برخی گیاهان دارویی می‌تواند در باروری عمومی و رفع مواردی از قبیل عدم تعادل هورمونی، تعداد کم اسپرم، حرکت کند اسپرم تاثیر مثبت داشته باشد (۳). اساس بیوشیمیایی سمیت تراکلریدکربن مربوط به تولید رادیکال‌های آزاد و گونه‌های

نتایج این مطالعه نشان داد که تزریق یک نوبت تراکلریدکربن سبب کاهش سطح سرمی تستوسترون و افزایش هورمون‌های LH و FSH می‌شود. تیمار با عصاره خوشاریزه به صورت وابسته به دوز، سبب افزایش تستوسترون و کاهش گنادوتروپین‌ها می‌شود. تحقیقات نشان داده‌اند که عصاره‌های گیاهی متعددی بر عملکردهای ارگانیکی بدن به ویژه فعالیت سیستم تولیدمثلی و بافت بیضه موثر است (۱۶). گیاهان دارویی که دارای ترکیبات فلاونوئیدی هستند

عصاره ی خوشاریزه، سبب افزایش تعداد اسپرم‌ها نیز می‌شود. وجود ترکیبات موثری نظیر ساپونین، کومارین، پلی استیلن و ترکیبات فنلی مثل فلاونوئید در عصاره ی خوشاریزه به اثبات رسیده است (۱۵ و ۲۰). ساپونین دارای اثرات ضد دیابتی و ضد التهابی قوی می باشد و در درمان برخی از بیماری‌های قلبی و عروقی کاربرد دارد (۱۳). همچنین گزارش شده است که ساپونین گونه‌های واکنشگر اکسیژن فعال (ROS) را نیز سرکوب می‌کند (۲۱). بنابراین انتظار می‌رود خوشاریزه به دلیل داشتن ساپونین بتواند از ایجاد استرس اکسیداتیو در بافت بیضه جلوگیری کند. فلاونوئیدها به دلیل خواص مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد، آنتی اکسیدان‌های موثری هستند. در نتیجه ممکن است بافت‌ها را در برابر رادیکال‌های آزاد و پراکسیداسیون لیپیدی محافظت کنند (۲۲). طبق نتایج احمدی و همکاران تجویز عصاره ی گیاه مریم گلی قادر است ضمن تاثیرگذاری تحریکی بر مجاری اسپرم ساز، بر تکثیر سلولی توپول‌های بیضه نیز اثر گذاشته و میزان اسپرماتوژنز و تولید هورمون تستوسترون را افزایش دهد. یکی از ترکیبات اصلی موجود در این گیاه فلاونوئید و ساپونین است (۲۳). پس احتمالاً خوشاریزه نیز به دلیل داشتن ترکیبات فلاونوئید و ساپونینی توانسته است موجب افزایش تولید تستوسترون در گروه‌های تیمار شده با عصاره شود.

آنتی اکسیدان‌ها مواد حیاتی هستند که دارای توانایی برای محافظت از بدن در برابر خسارت ناشی از استرس اکسیداتیو ناشی از رادیکال‌های آزاد می‌باشند (۲۴). از آنجا که پژوهش‌ها بیانگر اثر افزایش‌دهی ضد اکسیدان‌ها بر فعالیت سلول‌های لیدیگ بوده و استفاده از آنتی اکسیدان‌ها مثل ویتامین C، ویتامین E، گلوکاتایون و کوآنزیم Q تاثیرات مفیدی در درمان ناباروری مردان دارد (۲۳). از آنجایی که گیاه خوشاریزه نیز دارای خاصیت آنتی اکسیدانی می‌باشد (۱۲)، پس به احتمال قوی می‌تواند از استرس اکسیداتیو در بیضه موش صحرایی جلوگیری کند. از این رو، عصاره ی خوشاریزه

اکسیژن فعال در بافت‌ها می باشد که هرگاه به مقدار زیادی تولید شود، موجب تکه تکه شدن و آسیب به میتوکندری و غشای اسپرم و از دست رفتن عملکرد طبیعی اسپرم می‌شود (۱۸). طبق گزارش سلیمانی و همکاران تزریق درون صفاقی تراکلرید کربن سبب مسمومیت بافت بیضه شده و منجر به تغییرات روند اسپرماتوژنز، کاهش معنادار تعداد اسپرم و تغییر در سطح هورمون‌های جنسی (کاهش تستوسترون و افزایش هورمون‌های گنادوتروپ) می‌گردد (۳). نتایج مطالعه‌ی حاضر نیز ایجاد سمیت در بافت بیضه را به دنبال تزریق درون صفاقی تراکلرید کربن تایید می‌کند. به طوری که تزریق تراکلرید کربن در گروه شاهد سطح سرمی تستوسترون را به طور معناداری نسبت به گروه کنترل کاهش می‌دهد. این کاهش هورمون تستوسترون با افزایش معنادار هورمون‌های LH و FSH همراه است. پس می‌توان اطمینان حاصل کرد استفاده ی تراکلرید کربن نیز با ایجاد همین تغییرات هورمونی، مدل مناسبی جهت مطالعه‌ی حاضر است.

تستوسترون آندروژن اصلی خون است که از سلول‌های لیدیگ در بافت بیضه ترشح می‌شود و ترشح آن توسط هورمون LH که از سلول‌های هیوفیز قدامی ترشح می‌شود، کنترل می‌گردد. اختلال در سطح سرمی هورمون LH و FSH می‌تواند منجر به اختلال در سطح سرمی هورمون تستوسترون شده که در نتیجه سبب ایجاد تغییراتی در اسپرماتوژنز باشد (۱۶). تجویز دوزهای مختلف خوشاریزه سبب افزایش معنادار هورمون تستوسترون نسبت به گروه دریافت کننده‌ی تراکلرید کربن شده است. مطالعات قبلی نشان داده اند که هورمون تستوسترون با اثر بر سلول‌های سرتولی و ترشح پروتئین‌های متعددی نظیر فاکتور رشد و ترانسفرین نقش ویژه‌ای در تغذیه‌ی سلول‌های جنسی در حال تقسیم، تقسیم سلول‌های جنسی و در نهایت تولید اسپرم دارند (۱۹). به این ترتیب با توجه به نقش هورمون تستوسترون واضح است افزایش این هورمون در اثر استفاده از

گروه دریافت‌کننده‌ی تتراکلریدکربن نیز از دیگر نتایج این پژوهش بوده است که با نتایج مطالعه‌ی حاضر هم‌خوانی ندارد. از محدودیت‌های این پژوهش (فضای محدود آزمایشگاه و محل نگهداری حیوانات و...) بود، همچنین جهت انجام آزمایش‌های تکمیلی و اندازه‌گیری بقیه پارامترهای مورد مطالعه، نیاز به اعتبارات بیشتر مالی بود که در کل پروژه‌ی مذکور را با مشکلات عدیده‌ای همراه کرد. امید است با مرتفع شدن این مسائل بتوان در مطالعات تکمیلی نتایج بهتر و کامل‌تری را حاصل نمود. از آنجایی که جداسازی ترکیبات مختلف این گیاه و استفاده از این ترکیب‌ها به طور جداگانه می‌تواند سهم هر یک از آن‌ها را در بهبود سمیت ناشی از تتراکلرید کربن بهتر مشخص کند، لذا جهت بررسی کامل تر اثرات خوشاریزه، پیشنهاد می‌شود مطالعه عملی و بالینی بیشتری جهت مشخص شدن مکانیسم و اثرات واقعی درمان با خوشاریزه به عمل آید تا نتایج قابل قبول‌تری در این خصوص ارائه شود.

نتیجه گیری

از نتایج تحقیق حاضر مشخص می‌شود که تیمار با عصاره‌ی خوشاریزه، منجر به افزایش معنادار سطح سرمی تستوسترون می‌گردد و از روند اسپرماتوژنز توسط تتراکلریدکربن جلوگیری می‌کند. همچنین تجویز عصاره‌ی گیاه خوشاریزه به موش‌های مسموم گروه‌های دریافت‌کننده دوزهای ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، سبب کاهش معنادار میزان هورمون‌های FSH و LH نسبت به گروه دریافت‌کننده‌ی تتراکلریدکربن می‌گردد.

با تقویت سیستم دفاع آنتی اکسیدانی علاوه بر اینکه موجب کاهش استرس‌های اکسیداتیو می‌گردد، می‌تواند موجب افزایش فعالیت سلول‌های لیدیگ و افزایش ترشح تستوسترون و نیز افزایش اسپرماتوژنز شود. بر اساس نتایج حاصل از سنجش هورمونی، تجویز عصاره‌ی خوشاریزه همچنین سبب کاهش معنادار سطح سرمی FSH و LH نسبت به گروه دریافت‌کننده‌ی تتراکلریدکربن شده است که در توجیه این مسئله احتمالاً اثر فیدبک منفی افزایش سطح سرمی تستوسترون و اسپرماتوژنز موجب کاهش در سطح سرمی LH و FSH شده است (۲۳). در مورد FSH احتمالاً مکانیسم فیدبکی فقط توسط استروئیدهای بیضه اعمال نمی‌شود بلکه اینهیپین، اکتیوین و فولیستاتین هم با تاثیر مرکزی بر روی تولید GnRH در تنظیم غلظت FSH نقش دارند و ممکن است که تغییرات FSH ناشی از اثرات تعدیلی این عوامل باشد (۲۴).

غلظت سرمی هورمون FSH در هر سه گروه تیمار شده با عصاره‌ی خوشاریزه نسبت به گروه شاهد کاهش داشته که این کاهش در دوزهای ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم معنادار است. نتایج پژوهش سلیمانی با هدف بررسی اثر گیاه حرا بر روند اسپرماتوژنز موش‌های القا شده با تتراکلرید کربن، نشان داد تیمار با عصاره‌ی برگ گیاه حرا به دلیل وجود ترکیبات فلاونوئیدی و اثرات آنتی اکسیدانی منجر به افزایش معنادار سطح سرمی هورمون تستوسترون و حفاظت از بافت بیضه در برابر اثرات توکسیک تتراکلرید کربن می‌شود (۳) که این نتایج با نتایج حاصل از مطالعه‌ی حاضر هم‌خوانی دارد. با این حال افزایش معنادار سطح سرمی هورمون‌های FSH و LH در گروه‌های مسموم دریافت‌کننده‌ی عصاره برگ حرا نسبت به

References

- 1- Pourahmadi M , Bagheri M, Karimi Jashni H , Kargar Jahromi H, Zarei S. The effect of

hydroalcoholic extract urtica dioica on concentrations of sex hormones in adult male rats. *J Jahrom Univ Med Sci*. 2013; 10: 29-34.

- 2- Mokhtari M, Abedinzade M, Naseran N. Effect of walnut (*Juglans regia*) extract on serum LH, FSH and testosterone levels in adult male rat. *J Ardabil Univ Med Sci*. 2011; 12: 157-165.
- 3- Soleimani Z, Mirazi N. Study of *Avicennia marina* hydroethanolic extract effects on spermatogenesis in male rats induced with carbon tetrachloride. *Armaghane-Danesh*. 2015; 20: 677-88.
- 4- Saber, saker and Hawazen A, Lamfon. Protective effect of rosemary leaves extract on carbone tetrachloride induced nephrotoxicity in albino rats. *Life Sci J*. 2012; 9: 779-85.
- 5- El-mohsen A, Abdelaziz SA. The protective effect of date seeds on nephrotoxicity in rats. *Int J Pharmaceutic Sci*. 2014; 26: 62-68.
- 6- Sonmez M, Turk G, Ceribasi S, et al. Quercetin attenuates carbon tetrachloride-induced testicular damage in rats. *aNDROLOGIa*. 2014; 46: 848-58.
- 7- Sikka SC. Oxidative stress and role of antioxidants in normal and abnormal sperm function. *Front Biosci*. 1996; 1: e78-86.
- 8- Aitken RJ, Clarkson JS. Cellular basis of defective sperm function and its association with the genesis of reactive oxygen species by human spermatozoa. *J Reprod Fertil*. 1987; 81: 459-69.
- 9- Sadat Sadr M, Najafian M, Zareian M, Kargar H. Effect of broccoli (*Brassica Oleracea*) hydro-alcoholic extract on concentration of LH, FSH and Testosterone hormones in male adult rats. *Jentashapir*. 2013; 4: 101-10.
- 10- Mirghazanfari SM, Hosseinzadeh L, Shokoohinia Y, Aslany M, Kamali-Nejad M. Acute and subchronic toxicological evaluation of *Echinophora platyloba* DC (*Apiaceae*) total extract in wistar rats. *Clinics (Sao Paulo)*. 2012; 67: 497-502.
- 11- Delaram M, Kheiri S, Hodjati M. Comparing the effects of *Echinophora-platyloba*, fennel and placebo on pre-menstrual syndrome. *J Reprod Infertil*. 2011; 12: 221-226.
- 12- Pass M, Rashidipour M, Talei Gh, Doosty B. Chemical compositions, antibacterial and antioxidant properties of *Echinophora cinerea* essential oil. *J Herbal Drug*. 2012; 3: 67-74.
- 13- Zarali M, Hojjati M, Tahmouzi Didehban S, Jooineh H. Evaluation of chemical composition and antibacterial activities of *Echinophora cinerea* Boiss and *Stachys lavandulifolia* Vahl essential oils in vitro. *JFST*. 2016; 52: 1-10.
- 14- Aqababa H, Golkary H, Zarei A, Changizi-Ashtiyani S. Effect of aerial parts extract of *Echinophora Platyloba*.L on liver and kidney function tests in obese hypercholesterolaemia rats. *J Shahid Sadoughi Univ Med Sci*. 2016; 23: 943-56.
- 15- Heidarian E, Saffari J, Jafari-Dehkordi E. Hepatoprotective action of *Echinophora platyloba* DC leaves against acute toxicity of acetaminophen in rats. *J Dietary Sup*. 2014; 11: 53-63.
- 16- Mirchenari M, Mokhtari M, Shariati M. The effect of hydroalcoholic extract of *salvia officinalis* on gonadotropin, and sex steroids in adult diabetic male rat. *J Shahid Sadoughi Univ Med Sci*. 2016; 23: 1018-27.

- 17- Grzegorzczuk I, Matkowski A, Wysokinska H. Antioxidant activity of extracts from in vitro cultures of *Salvia officinalis* L. *Food Chem.* 2007; 104: 536-41.
- 18- Weber LW, Boll M, Stampfl A. Hepatotoxicity and mechanism of action of haloalkanes carbon tetrachloride as toxicological model. *Crit Rev Toxicol.* 2003; 33: 50-114.
- 19- Hosseini SE, Jahandideh A, Mehrabani D. Effect of alcoholic extract of ginger during fetal life and breastfeeding on serum level of testosterone, LH, FSH and spermatogenic cells line in male mature offspring rats. *J Gorgan Uni Med Sci.* 2015; 17: 29-35.
- 20- Eidi A, Olamfar S, Zaringhalam J, Rezazadeh S, Eidi M. Protective effect of walnut (*Juglans regia* L.) extract against ccl4 -induced hepatotoxicity in Rats. *Res Med.* 2011; 35: 87-92.
- 21- Ogbunugafor HA, Eneh FU, Ozumba AN, et al. Physico-chemical and anti-oxidant properties of *Moringa oleifera* seed oil. *Pak J Nutr.* 2011; 10: 409-14.
- 22- Khaki A, Fathiazad F, Nouri M, et al. Anti-oxidative effect of citro flavonoids on spermatogenesis in rat. *African J Pharmacy Pharmacol.* 2011; 5: 721-25.
- 23- Ahmadi R, Balali S, Tavakoli P, Mafi M, Haji GR. The effect of hydroalcoholic leaf extract of *Salvia Officinalis* on serum levels of FSH, LH, testosterone and testicular tissue in rats. (FEYZ). 2013; 17: 225-31.
- 24- Souri E, Amin G, Farsma H, Barazandeh M. Screening of antioxidant activity and phenolic content of 24 medicinal plant extracts. *DARU.* 2008; 16: 83-87.

Effect of Hydroethanolic *Echinophora platyloba* L. Extract on Testosterone and Gonadotropin Serum Levels in Carbon Tetrachloride-Induced Male Rats

Mirazi N¹, Norbar E¹, Soleymani M¹

¹Dept. of Biology, Faculty of Basic Sciences, Bu-Ali Sina University, Hamedan- Iran

Corresponding Author: Mirazi N, Dept. of Biology, Faculty of Basic Sciences, Bu-Ali Sina University, Hamedan-Iran

E-mail: Mirazi205@gmail.com

Received: 26 Feb 2017 **Accepted:** 11 Jun 2017

Background and Objective: Carbon tetrachloride is one of the chemical toxins widely used in hygiene industries. The aim of this study was to investigate the effects of *Echinophora platyloba* extract (EPE) on serum levels of testosterone and gonadotropins in male rats induced with carbon tetrachloride.

Materials and Methods: In this experimental study 49 male Wistar rats (220-250 g) were randomly divided into seven groups (n=7): Control group (2 ml/kg normal saline, daily for 4 days, ip), toxicant group (2 ml/kg CCl₄+olive oil.1:1, single dose ,ip), sham group (2 ml/kg olive oil, single dose, ip), positive control group (400 mg/kg EPE daily for 4 days, ip), toxicant-treated groups 1, 2 and 3 (CCl₄+ olive oil.1:1, single dose and 200 and 400 and 800 mg/kg of EPE, respectively, daily for 4 days, ip). At the end of the treatments, serum testosterone and FSH & LH hormones were measured.

Results: CCL₄ resulted in significantly decreased testosterone and increased FSH & LH serum levels in the toxicant group compared with the control group (P<0.001). EPE treatment with 400 and 800 mg/kg resulted in a significant increase in testosterone and decrease in FSH & LH serum levels compared with the toxicant group (P<0.001).

Conclusion: Hydro-ethanolic *E. platyloba* extract increased serum levels of testosterone and decreased FSH and LH serum levels in male rats induced with CCL₄.

Keywords: *Echinophora platyloba*, FSH & LH, Testosterone, Carbon-tetrachloride, Rat