تاثیر عصاره هیدروالکلی چای کوهی(Stachys lavandulifolia vahl) بر محور هورمونی هیپوفیز-گناد و تغییرات بافت بیضه در موش صحرایی نر بالغ

مختار مختاری[1*]، سعید خاتم ساز[1]، فاطمه رحمانی[1]

۱) گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کازرون، کازرون، ایران

تاریخ دریافت: ۹٤/٦/۱۷ تاریخ پذیرش: ۹٤/۱۰/۱۵

چکیده

مقدمه: چای کوهی گیاهی از خانواده نعنائیان و دارای ترکیبات فلاونوئیدی می باشد. هدف از این تحقیق بررسی تاثیر عصاره هیدروالکلی چای کوهی بر محور هورمونی هیپوفیز-گناد و تغییرات بافت بیضه در موش صحرایی نر بالغ است.

مواد و روش ها: در این مطالعه تجربی ۵۰ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار به پنج گروه ده تایی تقسیم شد، گروه کنترل رژیم معمولی دریافت کردند، گروه شاهد، آب مقطر و گروه های تجربی روزانه به ترتیب ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن، عصاره هیدروالکلی چای کوهی به صورت داخل صفاقی دریافت کردند. در پایان روز سی ام از حیوانات خون گیری به عمل آمد و هورمون های LH، FSH، تستوسترون و دی هیدروتستوسترون اندازه گیری شد. هم چنین از بافت بیضه مقاطع بافتی تهیه شد. داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS و آزمون های آماری ANOVA و تست توکی تجزیه و تحلیل گردید.

یافته های پژوهش: غلظت سرمی هورمون های LH و FSH در گروه تجربی دریافت کننده دوز حداکثر عصاره در مقایسه با گروه های کنترل و شاهد، افزایش معنی داری نشان داد($P<0.05$). غلظت سرمی هورمون تستوسترون در دوز حداکثر عصاره و هورمون دی هیدروتستوسترون در دوزهای متوسط و حداکثر عصاره در مقایسه با گروه های کنترل و شاهد، کاهش معنی داری نشان داد($P<0.05$). بررسی بافت شناسی بیضه نشان داد تعداد سلول های اسپرماتوسیت در لوله های اسپرم ساز در دوز حداکثر در مقایسه با گروه های کنترل و شاهد کاهش معنی داری را نشان می دهد($P<0.05$).

بحث و نتیجه گیری: بر اساس نتایج حاصله عصاره هیدروالکلی چای کوهی باعث کاهش میزان هورمون های تستوسترون، دی هیدرو تستوسترون می شود. احتمالاً آپی ژنین موجود در عصاره نیز موجب اختلال در عملکرد سیستم تولید مثلی جنس نر می شود.

واژه های کلیدی: چای کوهی، هیپوفیز-گناد، تستوسترون، دی هیدروتستوسترون، رت

*نویسنده مسئول: گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کازرون، کازرون، ایران

Email: Mokhtar_Mokhtary@Yahoo.Com

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-09-22]

[DOI: 10.18869/acadpub.sjimu.24.6.77]

مقدمه

محور هیپوتالاموس–هیپوفیز–گناد، به عنوان یکی از اصلی ترین و حساس ترین محورهای بدن به شمار می رود. فرآیند تولید مثل خود شامل مجموعه ای از وقایع فیزیولوژیکی است که به طور مستقیم تحت تاثیر فعالیت این محور قرار دارد. مسائل مربوط به باروری و ناباروری یکی از مسائل پیچیده در علم پزشکی است. در هر اجتمایی تقریباً ۱۳ درصد افراد، نابارور هستند که در این بین اصلی ترین ناباروری در مردان، عدم توانایی آنان در تولید اسپرم های سالم و فعال است(۱). اسپرم سازی در بیضه تحت کنترل هورمون های تستوسترون مترشحه از آن صورت می گیرد و فعالیت ترشحی بیضه ها خود تحت کنترل محور هیپوتالاموس–هیپوفیز–بیضه می باشد(۲). تستوسترون آندروژن اصلی خون است که از سلول های لایدیگ در بافت بیضه ترشح می شود و ترشح آن توسط هورمون LH که از سلول های هیپوفیز قدامی ترشح می شود، کنترل می گردد. هم چنین سلول های سرتولی در پاسخ به FSH، پروتئین های اتصالی به آندروژن(ABP) تولید وترشح می نماید(۳). اختلال در سطح سرمی هورمون LH و FSH می تواند منجر به اختلال در سطح سرمی هورمون تستوسترون گردد که نتیجه آن می تواند ایجاد تغییراتی در اسپرماتوژنز باشد(۴). 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 اثرات گیاهان مختلف، بر روی باروری پستانداران آزمایشگاهی شده است و از نتایج حاصل از این مطالعات، اطلاعات ارزشمندی به دست آمده است(۵).

یکی از انواع گیاهان مورد استفاده در طب سنتی کشورمان گیاه چای کوهی یا(Stachys Lavandulifolia Vahl) است. این گیاه در مناطق مختلف ایران، با نام های متفاوتی شناخته می شود. در زبان ترکی به این گیاه توکلیجه می گویند. در گویش بختیاری، لولوپشمکی، در استان کهگیلویه و بویراحمد، پشموک و در گویش لرستانی کلکنه نامیده می شود.

چای کوهی گیاهی شکوفه دار و بومی ایران است. این گیاه متعلق به خانواده لامیاسه(نعنائیان) و راسته لامیالس و حاوی در حدود ۲۰۰ جنس و ۳۰۰۰ گونه می باشد. جنس استاکیس بیش از ۲۷۰ گونه دارد(۶). این جنس ۳۴ گونه در ایران دارد که از این میان ۱۳ گونه بومی می باشد(۷). چای کوهی، گیاهی علفی، پایا با بوته های کوتاه به ارتفاع ۲۰ تا۶۰ سانتی متر و ساقه های کرکدار است. گل های معطر این گیاه به صورت سنبله ای از گل های ریز صورتی مایل به سرخ رنگ می باشد که در میان کاسبرگ هایی با رنگ سبز روشن نقره ای، به صورت فشرده و پشم گونه در قسمت انتهایی ساقه قرار دارند. برگ های این گیاه بیضوی، دراز و دندانه دار، با رگه های برجسته منتهی به دمبرگ دراز هستند. گل های معطر آن به رنگ صورتی ارغوانی و سفید مایل به زرد است و به صورت فشرده و پشم گونه در قسمت انتهایی ساقه قرار دارند(۸). بررسی های فیتوشیمیایی نشان می دهد عصاره گیاه دارای دو گلیکوزید ایریدوئیدی و یک گلیکوزید فلاونوئیدی و یک گلیکوزید فنیل اتانوئیدی است. هم چنین تست های کیفی مربوط به فلاونوئیدها، آلکالوئیدها و ساپونین ها روی عصاره گیاه مثبت بوده است. فعالیت آنتی اکسیدانی قابل توجه عصاره این گیاه، موید وجود ترکیبات گلیکوزیله فنولی در آن است(۹). هم چنین در یک تحقیق مقدار آپی ژنین چای کوهی، در دو نوع عصاره آبی و هیدروالکلی با هم مقایسه شد و نتایج نشان داد که میزان آپی ژنین در عصاره هیدروالکلی بیشتر است(۸). ترکیبات فلاونوئیدی در عصاره ممکن است باعث افزایش بیان ژن تنظیم کننده حاد استروئید(STAR) گردند و یا با بلوک کانال های کلسیمی مانع بیان ژن STAR گردیده و کاهش تستوسترون را باعث شوند(۱۰). ساپونین ها(که در چای کوهی وجود دارند) با مهار مسیر آنزیمی سنتز تستوسترون در بیضه و قشر آدرنال و یا به دلیل تداخل با انتشار LH منجر به کاهش هورمون تستوسترون می گردد(۱۱). از گیاه چای کوهی در طب سنتی برای درمان سردرد، دردهای عصبی و بیماری های مختلف استفاده می شود، هم چنین این گیاه مقوی دستگاه گوارش است و برای درمان درد و التهاب کاربرد دارد(۱۲). جوشانده برگ ها و گل های این گیاه توسط مردم استان چهارمحال و بختیاری برای درمان عفونت

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-09-22]

[DOI: 10.18869/acadpub.sjimu.24.6.77]

پوست، شروع عادت ماهیانه و ضدباکتری کاربرد دارد. هم چنین مردم استان ایلام، از این گیاه به عنوان بادشکن، آرام بخش، مقوی قلب، برای دردهای روماتیسمی، سوء هاضمه و سردرد استفاده می کنند(۱۳). مصرف جوشانده چای کوهی به شیوه سنتی می تواند باعث کاهش علائم خستگی و تهوع ناشی از دیسمنوره اولیه شود(۱۴). عصاره هیدروالکلی چای کوهی دارای اثرات ضد دردی و ضد التهابی است و احتمالاً می تواند جایگزین خوبی برای داروهای ضد التهابی و ضد دردی باشد. وجود ترکیبات فلاونوئیدی، ایریدوئیدی و ساپونین ها در عصاره این گیاه موجب استفاده از آن در طب سنتی به عنوان ضد درد و ضد التهاب شده است(۹). تحقیقات نشان می دهد تزریق عصاره چای کوهی به موش های باردار باعث اختلال در رشد جنین و ایجاد ناهنجاری در جنین شده و این ناهنجاری ها با افزایش دوز عصاره، افزایش می یابد. احتمالاً دو ترکیب آپی ژنین و آلفاپینن در ایجاد اثرات تراتوژنیک موثر می باشند(۱۵).

با توجه به این که گیاه چای کوهی در مناطق مختلف کشور برای درمان دردها و ناراحتی های گوناگون مصرف می شود و تاکنون تاثیر عصاره این گیاه بر فعالیت تولید مثلی در جنس نر و عملکرد بیضه بررسی نشده است، لذا این پژوهش با هدف بررسی تاثیر احتمالی عصاره هیدروالکلی چای کوهی بر میزان هورمون های تولید مثلی و سلول های جنسی نر در بافت بیضه انجام شده است.

مواد و روش ها

در این مطالعه تجربی از ۵۰ سر موش صحرایی نر بالغ(Rat) از نژاد ویستار، با وزن تقریبی ۲۱۰-۲۰۰ گرم و سن ۳-۲/۵ ماه استفاده شد که از موسسه واکسن و سرم سازی رازی شیراز خریداری گردید. پس از انتقال به خانه پرورش حیوانات دانشگاه آزاد اسلامی کازرون تحت شرایط ثابت ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند. به منظور سازش حیوانات با محیط آزمایشگاه، آزمایش ها یک هفته پس از استقرار حیوانات در محیط انجام شد. پروتکل این تحقیق بر اساس قوانین بین المللی در مورد حیوانات آزمایشگاهی انجام گردید و در کمیته اخلاق دانشگاه به تصویب رسید. حیوانات به طور تصادفی در ۵ گروه ۱۰ تایی شامل گروه کنترل، گروه شاهد و ۳ گروه تجربی قرار گرفتند و در قفس های جداگانه در محیط حیوان خانه نگهداری شدند. گروه اول به عنوان گروه کنترل، به جز آب و غذای کافی هیچ ماده دارویی دریافت نکرد. گروه دوم به عنوان گروه شاهد، روزانه ۰/۲ میلی لیتر آب مقطر به عنوان حلال عصاره به صورت تزریق داخل صفاقی دریافت کرد. گروه های تجربی، روزانه به ترتیب مقادیر ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم، به ازای وزن بدن(۸) عصاره هیدروالکلی چای کوهی به صورت تزریق داخل صفاقی دریافت کردند.

برای آماده سازی عصاره هیدروالکلی، اندام هوایی گیاه چای کوهی از بازار یاسوج خریداری و توسط متخصص گیاه شناس مرکز تحقیقات جهاد کشاورزی یاسوج با کد هرباریوم ۲۰۷۱ مورد شناسایی و تائید قرار گرفت. بعد از گذراندن مراحل خشک کردن در سایه در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد، ۵۰ گرم از پودر خشک شده گیاه را به محلول ۱ لیتری الکل ۷۵ درصد اضافه کرده و به مدت ۴۸ ساعت در محل تاریکی قرار دادیم. سپس محلول به دست آمده را دو بار از کاغذ صافی عبور داده و ماده حاصله را در دستگاه روتاری(تقطیر در خلاء) با دمای ۳۸ درجه سانتی گراد قرار دادیم تا الکل آن خارج شود. در مرحله بعد مایع باقی مانده در ته ظرف را در انکوباتور در دمای ۳۸ درجه سانتی گراد قرار دادیم تا خشک شود(۱۶) و سپس با حل کردن در آب مقطر سه غلظت از آن جهت پژوهش تهیه گردید. مدت زمان تزریق ها ۳۰ روز بود. یک روز پس از آخرین مرحله تزریق، وزن موش ها اندازه گیری و پس از آن حیوانات تحت بیهوشی با اتر قرار گرفتند و پس از باز کردن قفسه سینه خون گیری از ناحیه بطن قلب انجام شد. لوله های حاوی خون در دستگاه سانتریفیوژ به مدت ۱۵ دقیقه و با دور ۳۰۰۰، سانتریفیوژ شدند. سرم خون بعد از جداسازی از لخته تا زمان انتقال به آزمایشگاه جهت سنجش هورمون های مورد نظر در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد در یخچال نگهداری شد. اندازه گیری هورمون های LH، FSH، تستوسترون و دی هیدروتستوسترون، به روش آزمایشگاهی رادیوایمونواسی(RIA) انجام شد.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-09-22]

[DOI: 10.18869/acadpub.sjimu.24.6.77]

هم چنین در پایان دوره آزمایش، بیضه حیوانات به وسیله پنس و قیچی از بدن آن ها خارج شده و در محلول فیکساتور فرمالین قرار گرفت. سپس از بیضه حیوانات، مقاطع بافتی تهیه گردید و پس از رنگ آمیزی به روش هماتوکسین–ائوزین مطالعات بافتی با استفاده از میکروسکوپ نوری و فتومیکروگراف صورت گرفت. محاسبات آماری بر اساس برنامه آماری SPSS و با استفاده از آزمون های تی تست و آنووا و به دنبال آن آزمون تکمیلی توکی انجام گرفت. اختلاف در سطح $P<0.05$ معنی دار در نظر گرفته شد و تجزیه و تحلیل داده ها انجام شد.

یافته های پژوهش

میانگین و انحراف معیار غلظت هورمون های LH، FSH، تستوسترون و دی هیدروتستوسترون در گروه های مختلف آزمایش در جدول شماره ۱ نشان داده شده است. در بررسی تاثیر مقادیر مختلف عصاره هیدروالکلی چای کوهی بر غلظت سرمی هورمون های LH و FSH افزایش معنی داری در گروه تجربی ۳ که دریافت کننده میزان حداکثر عصاره بود در مقایسه با گروه های کنترل و شاهد مشاهده شد($P<0.05$). غلظت سرمی هورمون تستوسترون در گروه تجربی ۳ در مقایسه با گروه های کنترل و شاهد کاهش معنی داری را نشان داد($P<0.05$). هم چنین غلظت سرمی هورمون دی هیدروتستوسترون در گروه های تجربی ۲ و ۳ در مقایسه با گروه های کنترل و شاهد کاهش معنی داری را نشان داد($P<0.05$). در جدول شماره ۲ مقایسه میانگین و انحراف معیار تعداد سلول های جنسی اندازه گیری شده در گروه های مختلف آزمایش نشان داده شده است. در این جدول میانگین تعداد سلول های اسپرماتوگونی، اسپرماتید، سرتولی ولایدیگ در گروه های تجربی نسبت به گروه های کنترل و شاهد اختلاف معنی داری نشان نداد. ولی میانگین تعداد سلول های اسپرماتوسیت در گروه تجربی ۳ که ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن عصاره چای کوهی دریافت کردند نسبت به گروه های کنترل و شاهد کاهش معنی داری را نشان داد($P<0.05$). نتایج حاصل از مطالعات بافتی نشان داد در گروه کنترل کلیه لوله های اسپرم ساز دارای شکلی گرد، با تراکم سلولی زیاد و آرایش مرتب بودند. در لوله های اسپرم ساز تمایز سلولی از اسپرماتوگونی تا اسپرم بالغ با نظم و آرایش مرتب وجود داشت(تصویر شماره ۱). بررسی فتومیکروگراف تهیه شده از لوله های اسپرم ساز گروه های تجربی ۱ و تجربی ۲ و مقایسه آن با گروه کنترل نشان داد که تغییرات بافتی در لوله های اسپرم ساز از نظر تعداد سلول ها، فضای بینابینی و تراکم سلول های درون لوله انجام نگرفته است(تصاویر شماره ۲ و ۳). اما بررسی میکروگراف تهیه شده از لوله های اسپرم ساز گروه تجربی ۳ که حداکثر دوز عصاره را دریافت کرده بودند و مقایسه آن با گروه کنترل نشان دهنده تغییرات بافتی در این گروه بود. به طوری که لوله های اسپرم ساز نسبت به گروه کنترل کمی مورفولوژی طبیعی خود را از دست داده بودند و ظاهر آن ها کمی از حالت مدور خارج شده بود و تعداد سلول های اسپرماتوسیت کاهش معنی داری را نشان داد(تصویر شماره ۴).

جدول شماره ۱. میانگین و انحراف معیار غلظت سرمی هورمون های LH، FSH، تستوسترون و دی هیدروتستوسترون پس از دریافت مقادیر مختلف عصاره هیدروالکلی چای کوهی در مقایسه با گروه های کنترل و شاهد

گروه ها	میزان عصاره چای کوهی(mg/kg)	LH (mIu/ml)	FSH (mIu/ml)	تستوسترون (ng/ml)	دی هیدروتستوسترون (ng/ml)
کنترل		۷/۶۰±۰/۱۸	۳/۱۷±۰/۲۸	۴/۸۶±۰/۱۷	۶۰/۶۷±۱/۹۵
شاهد		۷/۴۴±۰/۲۴	۳/۴۴±۰/۲۴	۴/۹۱±۰/۱۸	۵۷/۷۴±۱/۶۸
تجربی ۱	۵۰	۷/۳۰±۰/۲۳	۳/۳۶±۰/۳۳	۴/۶۵±۰/۱۷	۵۴/۶۷±۲/۰۵
تجربی ۲	۱۰۰	۸/۰۴±۰/۳۹	۴/۱۳±۰/۳۱	۴/۲۲±۰/۱۴	۴۹/۹۳±۱/۸۵*
تجربی ۳	۲۰۰	۱۰/۸۷±۰/۷۰*	۵/۹۵±۰/۲۸*	۳/۰۱±۰/۵۴*	۴۵/۹۶±۱/۳۲*

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-09-22]

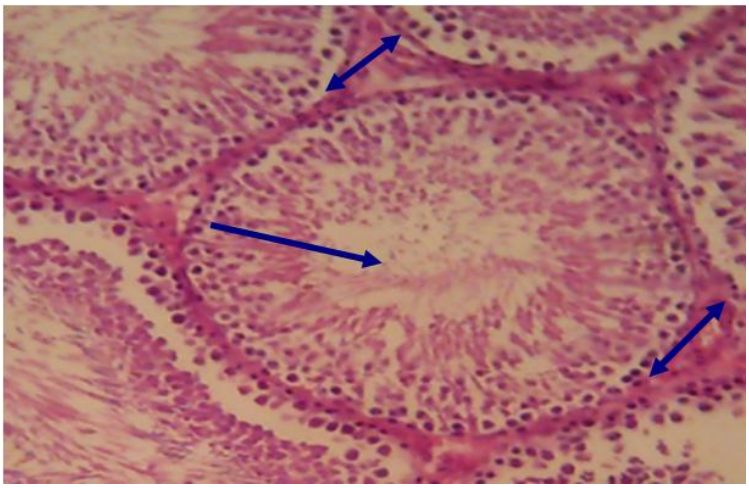
[DOI: 10.18869/acadpub.sjimu.24.6.77]

جدول شماره ۲. میانگین و انحراف معیار تعداد سلول های دودمان اسپرم، سرتولی و لایدیگ در یک لوله سمینیفر پس از دریافت مقادیر مختلف عصاره هیدروالکلی چای کوهی در مقایسه با گروه های کنترل و شاهد

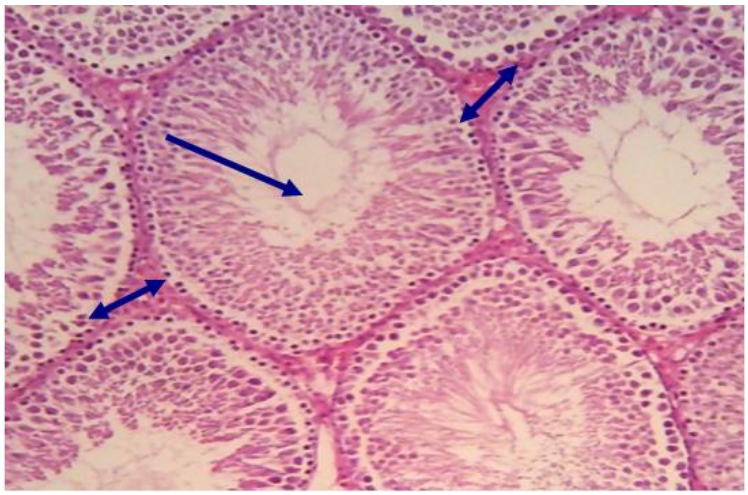
گروه ها	میزان عصاره چای کوهی(mg/kg)	سلول های اسپرماتوگونی	سلول های اسپرماتوسیت	سلول های اسپرماتید	سلول های سرتولی	سلول های لایدیگ
کنترل		۴۹/۴۰±۳/۵۲	۵۴/۴۰±۳/۸۴	۱۸۸/۵۰±۵/۱۳	۱۴/۹۶±۰/۳۹	۱۶/۳۱±۰/۳۷
شاهد		۴۸/۵۰±۳/۳۳	۵۵/۸۰±۲/۰۸	۱۸۷/۸۶±۱۲/۱۰	۱۴/۷۷±۰/۴۱	۱۶/۲۲±۰/۳۹
تجربی ۱	۵۰	۴۷/۵۰±۲/۶۰	۵۳/۹۰±۳/۰۰	۱۸۷/۴۷±۱۶/۵۶	۱۴/۶۲±۰/۵۵	۱۵/۱۷±۰/۵۰
تجربی ۲	۱۰۰	۴۶/۹۰±۸/۳۴	۵۰/۳۰±۳/۰۰	۱۸۷/۲۰±۱۳/۴۷	۱۴/۷۰±۰/۳۱	۱۵/۸۴±۰/۴۴
تجربی ۳	۲۰۰	۴۶/۹۰±۲/۵۱	۴۰/۴۰±۳/۳۸*	۱۸۵/۷۴±۱۳/۲۲	۱۴/۳۵±۰/۳۹	۱۵/۲۹±۰/۳۳

مقادیر براساس انحراف معیار ± میانگین ارائه شده است. سطح اختلاف معنی دار $P<0.05$ است.

علامت * نشان دهنده اختلاف معنی دار گروه تجربی با گروه های کنترل و شاهد است.



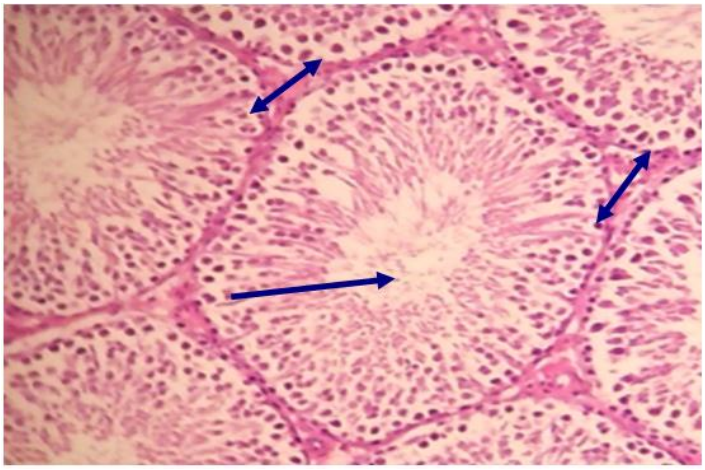
تصویر شماره ۱. بافت بیضه در گروه کنترل(هماتوکسین-ائوزین بزرگ نمایی ۱۰۰X)(لوله های اسپرم ساز با تراکم زیاد به صورت مدور دیده می شوند. به منظم بودن و متراکم بودن سری های مختلف سلول ها توجه شود)



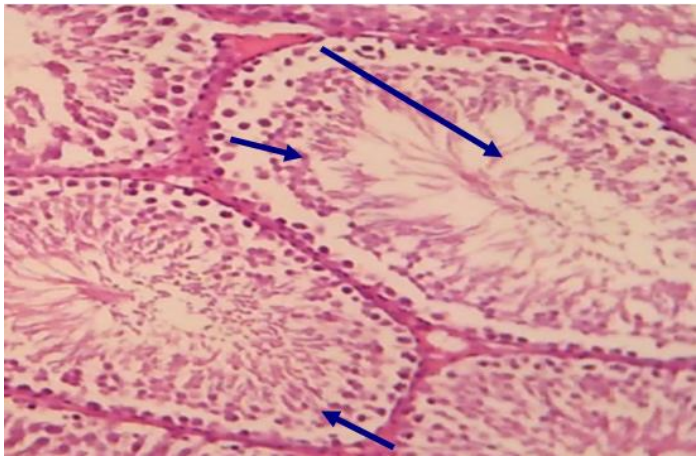
تصویر شماره ۲. بافت بیضه در گروه تجربی۱ دریافت کننده ۵۰ mg/kg (هماتوکسین-ائوزین بزرگ نمایی ۱۰۰X)(تغییرات بافتی از نظر تعداد، ساختار و شکل لوله های اسپرم ساز نسبت به گروه کنترل صورت نگرفته است. سری های مختلف سلولی مرتب هستند.)

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-09-22]

[DOI: 10.18869/acadpub.sjimu.24.6.77]



تصویر شماره ۳. بافت بیضه در گروه تجربی۲ دریافت کننده mg/kg ۱۰۰ (هماتوکسین-ائوزین بزرگ نمایی X۱۰۰)(تغییرات بافتی از نظر تعداد، ساختار و شکل لوله های اسپرم ساز نسبت به گروه کنترل صورت نگرفته است)



تصویر شماره ٤. بافت بیضه در گروه تجربی۳ دریافت کننده mg/kg ۲۰۰ (هماتوکسین-ائوزین بزرگ نمایی X۱۰۰)(لوله های اسپرم ساز ساختار طبیعی خود را از دست داده اند و تراکم سلول های اسپرماتوسیت کاهش معنی داری را نشان می دهد)

بحث و نتیجه گیری

هدف از این پژوهش بررسی تاثیر عصاره هیدروالکلی چای کوهی بر غلظت سرمی هورمون های LH، FSH، تستوسترون، دی هیدروتستوسترون و تغییرات بافت بیضه در موش های صحرایی نر بالغ است. شواهد نشان می دهد مهم ترین ترکیبات موجود در گیاه چای کوهی شامل فلاونوئید، فنیل ۱ اتانوئید گلیکوزید، فنولیک اسید،، مونوترپن، دی ترپن ساپونین و سزکوئی ترپن ها می باشد(۱۲،۱۷).

فلاونوئیدها جز دسته ای از ترکیبات به نام فیتواستروژن ها به شمار می آیند. فیتواستروژن ها ترکیبات طبیعی مشتق از گیاهانی می باشند که عملاً ساختمانی مشابه استروژن دارند و بر هورمون های جنسی موثر بوده و هم چنین دارای خاصیت آنتی اکسیدانی، ضد آلرژی، ضدالتهابی و ضد سرطانی هستند(۱۸،۱۹).

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد غلظت سرمی هورمون های LH و FSH در گروه تجربی ۳ که دریافت کننده دوز حداکثر عصاره است، نسبت به گروه های کنترل و شاهد افزایش معنی داری را نشان می دهد($P<0.05$). یکی از عوامل اثرگذار بر محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گناد، نیتریک اکساید(NO)

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-09-22]

[DOI: 10.18869/acadpub.sjimu.24.6.77]

است که این مولکول فعال باعث افزایش ترشح گنادوتروپین ها و هورمون LH می شود(۲۰). ترشح این ناقل عصبی خود تحت تاثیر عوامل مختلفی افزایش می یابد. یکی از این عوامل نوراپی نفرین(NE) می باشد. این ماده با فعال سازی سنتز نیتریک اکساید سبب تحریک LHRH و افزایش ترشح LH می شود(۲۱). هورمون LHRH نیز علت احتمالی دیگر در کاهش میزان ترشح تستوسترون در دوزهای بالا است. مطالعات انجام شده روی موش های صحرایی نشان داده است که افزایش ترشح این هورمون از یک سو موجب افزایش هورمون های FSH و LH شده و از طرفی با کاهش گیرنده های LH موجود در بیضه از سنتز و ترشح تستوسترون ممانعت می کند(۲۲). هورمون لپتین نیز به واسطه سنتز نیتریک اکساید عصبی باعث افزایش ترشح FSH می شود(۲۳).

در مطالعه حاضر کاهش معنی داری در میانگین غلظت پلاسمایی هورمون تستوسترون و دی هیدروتستوسترون در گروه تجربی ۳ که حداکثر میزان عصاره را دریافت نمودند نسبت به گروه های کنترل و شاهد مشاهده شد. هم چنین نتایج به دست آمده در این تحقیق نشان داد، میانگین غلظت سرمی هورمون دی هیدروتستوسترون در گروه تجربی ۲ که دریافت کننده دوز متوسط عصاره است نسبت به گروه کنترل کاهش یافته است($P<0.05$). علت کاهش تستوسترون در گروه تجربی ۳ با وجود افزایش هورمون LH، را می توان به افزایش احتمالی لپتین نسبت داد. زیرا این هورمون به عنوان عاملی در جهت افزایش استروژن ها و کاهش آندروژن ها عمل می کند(۲۴). هم چنین فیتواستروژن هایی مانند فلاونوئیدها و کومارین ها با مهار آنزیم 17β-hydroxysteroid 17–β–HSD5 (dehydrogenase type 5) باعث کاهش آندروژن ها و در نهایت کاهش سطح استروژن می شوند(۲۵).

پلی فنل هایی هم چون آپی ژنین اثر مهاری بر فعالیت سیتوکروم P۴۵۰ دارند. آپی ژنین باعث کاهش ترشح تستوسترون در سلول های قشر آدرنال انسان می گردد. فیتواسترول های موجود در عصاره با کاهش فعالیت سیتوکروم P۴۵۰ (آنزیم کلسترول دسمولاز) باعث کاهش تبدیل کلسترول به پرگننولون در میتوکندری می شود که این روند سبب کاهش سنتز استروئیدها از جمله تستوسترون می شود(۲۶،۲۷). از آن جایی که آنزیم های P۴۵۰ می توانند با اتصال به پروژسترون باعث تولید آندروژن توسط سلول های لایدیگ شوند(۲۸). احتمالاً عصاره چای کوهی به دلیل داشتن فیتواسترول هایی مانند فلاونوئیدها و فلاوون ها با مهار عملکرد سیتوکروم P۴۵۰ در سلول های لایدیگ و جلوگیری از عملکرد طبیعی هورمون های استروئید جنسی موجب توقف واکنش های فوق شده و میزان تستوسترون در دوز دریافت کننده حداکثر عصاره کاهش می یابد.

هم چنین فیتواسترول ها دارای اثر مهاری بر روی فعالیت آنزیم ۵–آلفا ردوکتاز می باشد. کاهش فعالیت این آنزیم باعث کاهش غلظت پلاسمایی هورمون دی هیدرو تستوسترون(شکل فعال تستوسترون در بافت ها) می شود، علاوه بر این فیتواسترول ها باعث کاهش حساسیت بافت ها به آندروژن ها و به دنبال آن کاهش فعالیت آندروژن ها، از جمله تستوسترون از طریق مهار آنزیم های آروماتاز و ۵–آلفا ردوکتاز می شوند(۲۹).

با کاهش میزان هورمون دی هیدروتستوسترون در فرآیند اسپرماتوژنز بی نظمی ایجاد می شود و باعث اختلال در تعداد و عملکرد سلول های بافت بیضه خواهد شد. در دوز بالای مصرف آپی ژنین در موش صحرایی، تراکم اسپرم کاهش یافته و اسپرم های غیرطبیعی، عمدتاً بی نظم بودند. احتمالاً آپی ژنین موجود در عصاره دارای اثرات مخرب بر سیستم تولید مثل موش نر بالغ است(۳۰). بررسی حاصل از نتایج تاثیر مقادیر مختلف عصاره چای کوهی نشان داد مصرف این عصاره در دوزهای مختلف تغییر معنی داری در تعداد سلول های اسپرماتوگونی، اسپرماتید، سرتولی ولایدیگ موجود در بافت بیضه ایجاد نمی کند. ولی میانگین تعداد سلول های اسپرماتوسیت در گروه تجربی ۳ که حداکثر میزان عصاره را دریافت کردند نسبت به گروه های کنترل و شاهد کاهش معنی داری را نشان داد($P<0.05$). آپی ژنین از طریق القاء سریع فعالیت کاسپاز ۳ و کاهش پتانسیل ترانس ممبران موجب بالا رفتن گونه های فعال اکسیژن، تولید و انتشار سیتوکروم C از میتوکندری به داخل سیتوزول و

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-09-22]

[DOI: 10.18869/acadpub.sjimu.24.6.77]

به دنبال آن القای پردازش پروکاسپاز ۹ و نهایتاً آپوپتوز می گردد(۳۱). احتمالاً این خصوصیت آپی ژنین در این آزمایش یکی از عواملی است که باعث آسیب رساندن به سلول های اسپرماتوسیت در گروه تجربی ۳ با دریافت حداکثر دوز عصاره می شود.

مطالعات نشان می دهد فلاونوئید ها در غلظت های بالا(۵۰ تا ۲۵۰میکرومول) باعث مسمومیت سلولی، آسیب به DNA و مرگ برنامه ریزی می شود(۳۲). آسیب به سلول های DNA توسط ترکیبات فلاونوئیدی در دوز بالا و شکستن آن مانع از تقسیم میتوز می گردد، احتمالاً وجود این ترکیبات در دوز بالا دلیلی برای کاهش تعداد سلول های اسپرماتوسیت است. با توجه به این که سلول های اسپرماتوگونی پس از طی نمودن تقسیمات میتوز و میوز متوالی به سلول های اسپرماتوسیت اولیه، ثانویه و اسپرماتید تبدیل می شوند و به احتمال زیاد پس از تحمل تغییرات مورفولوژیک به سلول اسپرم تبدیل می شوند(۳۳). اثرات فیتواستروژن ها بر سنتز DNA و فعالیت تیروزین کینازها نشان می دهد که Apigenin و Luteolin (موجود در عصاره چای کوهی) سنتز DNA القاء شده توسط استرادیول را مهار می کنند و از این طریق دارای خواص ضد تکثیر سلولی می باشند(۳۴).

نتایج این بررسی نشان داد که عصاره هیدروالکلی چای کوهی در دوز های بالا باعث افزایش میزان هورمون های LH، FSH و کاهش میزان هورمون های تستوسترون و دی هیدروتستوسترون می شود که این تغییر در میزان هورمون ها احتمالاً به علت وجود ترکیبات فلاونوئیدی موجود در عصاره می باشد. هم چنین این عصاره در دوز بالا باعث کاهش تعداد سلول های اسپرماتوسیت در بافت بیضه شد. احتمالاً وجود ترکیب آپی ژنین می تواند یکی از دلایل کاهش تراکم سلول های بافت بیضه باشد. مطالعات بیشتر در این زمینه و بررسی بیشتر ترکیبات سازنده گیاه چای کوهی پیشنهاد می شود.

سپاسگزاری

بدین وسیله از زحمات مسئولان و کارکنان محترم دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون و هم چنین پرسنل آزمایشگاه تشخیص طبی دکتر قوامی شیراز صمیمانه سپاسگزاری می شود.

References

1. Aitken RJ. The Amoroso lecture. The human spermatozoona cell in crisis? J Reprod Fertil 1999;115: 1-7.
2. Ranjbar A. Human physiology endocrinology and reproduction. 1th ed. Tehran Ilia Publication. 2007; P.22-4.
3. Goel N, Bale TL. Organizational and activational effects of testosterone on asculinization of female physiological and behavioral stress responses. Endocrinology 2008;149: 6399-405.
4. Zitzmann M. Effects of testosterone replacement andits pharmacogenetics on physical performance and metabolism. Asian J Androl 2008;10:364-72.
5. Parandin R, Ghorbani R, Sadeghipour Roodsari HR. [Effects of alcoholic extract of Achillea Millefolium flowers on fertility parameters in male Rats]. J Shahid Sadoughi Uni Med Sci 2011; 19:84-93. (Persian)
6. Mabberley David J . The plant book. 3th ed. Cambridge Cambridge Uni Publication.2008;P.208-9.
7. Mozaffarian V. Dictionary of Iranian plants names. Tehran Farhang Moaser Publication. 2007;P.131-3.
8. Jafarzadeh L ,Asgari A, Golshaniranpoor F, KheiriS, ParvinN, Rafieian M. et al. [Abortificcient effects of stachys lavandulifolia Vahl in Mice]. J Shahrekord Uni Med Sci 2010; 11:26-31.(Persian)
9. Nasri S ,Ramezanghorbani A ,Kamalinejad M. [Analgesic and Anti-inflammatory effects of hydroalcoholic extract of Stachys lavandulifolia vahls aerial parts in male Mice]. Armaghandanesh 2011;16: 161-71.(Persian)
10. Espenser JPE. The interactions of flavonoids within neural signalling pathways. Gen Nutr2007; 2: 257-73.
11.Pindea MH, Dooley MP. Mc mcdonalds veterinary endocrinology and reproduction. 5th ed. USA Wileyblackwell Publication. 2003;P.234-6.
12. Sadrmomtaz A, Meshkatalsadat MH, Taherparvar P. Comparison of volatile components of stachys lavandulifolia vahl

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-09-22]

[DOI: 10.18869/acadpub.sjimu.24.6.77]

obtained by MWHD and HD techniques. Dig J Nanomate Bios 2011; 6:1343-8.
13. Pirbalouti AG, Mohammadi M. Phytochemical composition of the essential oil of different populations of stachys lavandulifolia vahl. Asian Pac J Trop Biomed 2013;3:123-8.
14. Olfati F, Sadeghi T, Azarbaijani S, Hadizadeh M, Hajseyedjavadi E. [Effect of stachys lavandulifolia on fatigue,nausea and and vomiting associated with primary dysmenorrheal]. J Qazvin Uni Med Sci 2011;15:14-9.(Persian)
15. Golshaniranpour F, Jafarzadeh L, Asgari A. [Teratogenic effects of hydroalcohlic extract of Stachys lavandulifolia vahl on the skeletal system and fetal growth in Balb/c Mic]. J Shahrekord Uni Med Sci2012; 14:21-9.(Persian)
16. Vasudevan M, Parle M. Memory enhancing activity of Anwala churna an ayurvedic preparation. Physiol Behav2007; 91:46-54.
17. Sajjadi MH ,Amiri H. Chemical constituents of the Essential oils of different stages of the growth of stachys lavandulifolia vahl. From Iran. Pak J Biol Sci 2007; 10: 2784-6.
18. Panjeshahin M, Dehghani F, Tahei T, Panahi Z. The effects of hydroalcholic extract of Actinidia chinesis sperm count and motility and on the blood levels of estradiol and testosterone in male rats. Arch Iranian Med2005;8:211-6.
19.Farsam H, Amanlou M, Dehpour AR, Jahaniani F. Antiinflammatory and analgesic activity of biebersleinia multifidia DS, Rootextracy. J Ethnopharm 2000; 71:443-7.
20. SatoY, TsukamotoT. Effects of nitric-oxide stimulation on the brain. Drugs Today2000; 36:83-92.
21.Parvizi N, Ellendorff F. Further evidence on dual effects of norepinephrine on LH Secretion. Neuroendocrinology1982; 35: 48-55.
22. Mirdamadi R. Internal Glands. 1th.ed. Tehran Tabib Publication.2001;P.122.
23. Kosiorkorzecka U, Bobowiec R. Leptin effect on nitricoxide and GnRH- induced FSH secretion from ovine pituitary cells in vitro. J Physiol Pharmacol2006; 57:637-47.
24. Barb CR. The brain pituitary adipocyte axis role of leptin in modulating neuroendocrine function. J Anim Sci 1999;77:1249-57.
25. Krazeisen A,Brreitling R, Moller G, Adamski J. Phytoestrogenes inhibit human 17 beta hydroxysteroid dehydrogenase type5. Mol Cell Endocrinol 2001; 171:151-62.
26. Kimura Y, Ito H, Ohnishi R, HatanoT. Inhibitory effects of polyphenols on human cytochrome P450 3A4 and 2C9 activity. Food Chem Toxicol 2010; 48:429-35.
27.GilmanCI, Leusch FD, Breckenridge WC,Maclachy DL. Effects of a phytosterol mixture on male fish plasma lipoprotein fraction and testis P450scc activity. Gen Comp Endocrinol 2003; 130: 172-84.
28. Morrell MJ, Flynn KL, Seale CG, Done S, Paulson AJ, Flaster ER, et al. Reproductive dysfunction in women with epilepsy antiepileptic drug effects on sex-steroid hormones. CNS Spectr 2001; 6: 771-2, 783-6.
29. Khan U, Aslam M, Saeeds A. Effect of beta adrenergic antangonist on the production of testosterone by rat leydig cells . J Ayub Med Coll Abbottabad 2004; 16: 26-8.
30. Li H, Li HB, Zhang M, Yang F, Zhang ZX, Li ZL. Effect of apigenin on the reproductive system in male Mice. Lanzhou Uni China J2010; 2:435-40.
31. Wang IK, Lin-Shiau SY, Lin JK. Induction of apoptosis by apigenin and related flavonoids through cytochrome c release and activation of caspase-9 and caspase-3 in leukaemia HL-60 cells. Eur J cancer 1992; 35:1517-25.
32.Watjen W, Michels G, Steffan B, Niering P,ChovolouY, Kampkotter A, et al. low concentrations of flavonoids is protective in rat H4IIE cells whereas high concentrations cause DNA damage and apoptosis. J Nutr 2005; 135:525-31.
33. White BA. The endocrine and reproductive system In Berne and Levy Physiology. 6th ed. Mosby Canada Publication. 2008; p: 758-65.
34. Zava DT, Duwe G. Estrogenic and antiproliferative properties of genistein and other flavonoids in human breast cancer cells in vitro. Nutr Cancer 1997; 27: 31-40.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-09-22]

[DOI: 10.18869/acadpub.sjimu.24.6.77]

The Effects of Hydro Alcoholic Extract of Stachys lavandulifolia vahl on the Hormonal Pituitary Gonad Axis and Testis Tissue Changes in Adult Male Rat

Mokhtari M[1], Khatamsaz S[1], Rahmani F[1]*

(Received: September 7, 2016 Accepted: January 4, 2017)

Abstract

Introduction: Stachys lavandulifolia is a Plant of the lamiaceas family and have flavonoid compositions. The aim of this study is to investigate the effects of hydroalcoholic extract of stachys lavandulifolia on the hormonal Pituitary-Gonadl axis and testis tissue changes in adult male rat.

Materials & methods: In this experimental study fifty adult male rats of wistar race were divided into 5 groups of ten: The control group received normal diet, shame group took distilled water and experimental groups were intra peritoneal (i.p.) injected by 50, 100, 200 mg per kg body weight extract of stachys lavandulifolia. At the end of the 30th day, blood samples and levels of FSH, LH, testosterone and dihydrotestosterone were measured. Also, from tissue sections of testis tissues were taken. The collected data were analyzed by the SPSS software using ANOVA and t-test.

Findings: A significant increased concentration of LH and FSH hormones was observed in experimental groups receiving the maximum extract in compared with the control and shame groups ($P<0.05$). Concentration of testosterone hormone in maximum dose of extract and DHT hormone in intermediate and maximum doses of extract showed a significant decrease compared to the control and shame groups ($P<0.05$). Also, a histological study of the number of spermatocyte cells in seminiferous tubules of the testis of the maximum dose showed a significant reduction compared to the control and shame groups ($P<0.05$).

Discussion & conclusions: According to the results, stachys lavandulifolia extract reduces the amount of testosterone and DHT hormones. Apigenin in extracts will possibly impair the function of the male reproductive system.

Keywords: Stachys lavandulifolia vahl, Pituitary gonad, Testosterone, Dihydrotestosterone , Rat

1. Dept of Biology, Islamic Azad University, Kazerun Branch, Kazerun, Iran
** Correspondin author Email: Mokhtar_Mokhtary@Yahoo.Com*

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-09-22]

[DOI: 10.18869/acadpub.sjimu.24.6.77]