

ارزیابی بافت شناسی اثر میوه کدو تنبل بر لوله های اسپرم ساز در اثر تجویز اتانول در رت

آرش اسفندیاری^{*}، حامد قائدی^۱

(۱) گروه علوم پایه، دانشکده دام پزشکی، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۶/۱۶

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۳/۲۴

چکیده

مقدمه: بنا بر تحقیقات گذشته، کدو تنبل هورمون های جنسی را در جنس نر افزایش می دهد. هدف از این تحقیق بررسی اثرات کدو تنبل بر تغییرات هیستومورفومتریک بیضه در اثر تجویز اتانول در رت های نر نژاد ویستار بوده است.

مواد و روش ها: تعداد ۲۰ رت نر نژاد ویستار انتخاب شده و بعد از چک کردن سلامت آن ها، به طور اتفاقی به ۴ گروه ۵ تایی به قرار زیر تقسیم می شوند: ۱- گروه کنترل، ۲- گروه آزمایشی ۱ که ۱ میلی گرم بر گرم اتانول ۲۰ درصد دریافت کردند (داخل صفاقی به مدت یک ماه هر روز)، ۳- گروه آزمایشی ۲ که ۱ میلی گرم بر گرم اتانول ۲۰ درصد دریافت کردند (داخل صفاقی به مدت یک ماه هر روز) و هر روز میوه کدو تنبل به میزان ۲۰ درصد با وعده غذایی دهانی دریافت نمودند، ۴- گروه آزمایشی ۳ که ۱ میلی گرم بر گرم اتانول ۲۰ درصد دریافت کردند (داخل صفاقی به مدت یک ماه هر روز) و هر روز میوه کدو تنبل به میزان ۸۰ درصد با وعده غذایی دهانی دریافت نمودند.

یافته های پژوهش: نتایج نشان داد که ضخامت دیواره لوله های اسپرم ساز، وزن بیضه ها، تعداد سلول های اسپرماتوژنیک در گروه آزمایشی ۱ کاهش یافتند. به علاوه، همه این پارامترها در گروه آزمایشی ۳ نسبت به گروه آزمایشی ۱ افزایش یافتند. این کاهش پارامترها در گروه آزمایشی ۱ نسبت به گروه کنترل دارای اختلاف معنی دار بود. اما همه پارامترها در گروه آزمایشی ۳ بدون اختلاف معنی دار با گروه کنترل و با اختلاف معنی دار با گروه آزمایشی ۱ افزایش داشته است.

بحث و نتیجه گیری: می توان نتیجه گیری کرد که کدوتنبل با دوز بالا (۸۰ درصد) احتمالاً از کاهش سلول های اسپرماتوژنیک که به دنبال مصرف الکل ایجاد می شوند، جلوگیری می کند. اما دوز پایین کدو تنبل (۲۰ درصد) باعث جلوگیری از اثرات تخریبی الکل نمی شود.

واژه های کلیدی: کدو تنبل، اتانول، هیستومورفومتریک، رت

* نویسنده مسئول: گروه علوم پایه، دانشکده دام پزشکی، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران

Email: Esfandiari.arash@gmail.com

Copyright © 2018 Journal of Ilam University of Medical Science. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution international 4.0 International License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits copy and redistribute the material, in any medium or format, provided the original work is properly cited.

مقدمه

گیاهان دارویی از منابع طبیعی مهم دنیا به شمار می آیند. با افزایش میزان استفاده از گیاهان در درمان بیماری ها، نیاز به تحقیق برای به دست آوردن داده های علمی و کلینیکی راجع به خصوصیات دارویی و درمانی این گیاهان، مکانیسم عمل آن ها، بر هم کنش آن ها با داروها و شناسایی اثرات نامطلوب احتمالی بیشتر احساس می شود. از طرف دیگر تولید مثل فرآیندی است که در پستانداران تحت تاثیر محورهای عصبی و هورمونی متعددی قرار دارد. اهمیت تولید مثل و درمان اختلالات ناباروری با روش های متعدد کلینیکی و سنتی از دیرباز مورد توجه بوده است. در این میان استفاده از گیاهان دارویی موثرتر و با موفقیت هایی همراه بوده است. در این میان کدو تنبل از گیاهان علفی و یکساله بوده که در صد گرم از گوشت میوه کدو تنبل به طور خام: ۹۲ گرم آب، ۱/۵ گرم پروتئین، ۰/۱ گرم چربی، ۰/۶ گرم املاح معدنی، ۵/۴ گرم کربوهیدرات، ۰/۸ گرم کربن، ۰/۷ گرم فیبر، ۲۱ میلی گرم کلسیم، ۳۷ میلی گرم روی، ۴۵ میلی گرم سلنیوم، ۱۵ میلی گرم منیزیم، ۴۴ میلی گرم فسفر، ۰/۸ میلی گرم آهن، ۵/۹ میلی گرم سدیم، ۳۴۰ میلی گرم پتاسیم، ۰/۲۵ میلی گرم مس، ۱۸ میلی گرم سولفور، ۵ میلی گرم کلر، ویتامین آ ۱۷۰۰ واحد بین المللی، تیامین ۰/۰۷ میلی گرم، ریوفلاوین ۰/۱۱ میلی گرم، نیاسین ۰/۶ میلی گرم و ویتامین سی ۲۰ میلی گرم وجود دارد (۲،۱). تحقیقات گذشته ثابت کرده است که گوشت میوه کدو تنبل دارای خواص متعدد از جمله جلوگیری از زخم معده، ضد آنمی، کاهش کلسترول، سنتز پروتئین و نوکلئیک اسید و رشد و بازسازی سلول ها، درمان دیابت و خاصیت آنتی باکتریالی است (۱۱-۳). اسپرماتوزن و تولید آندروژن از عملکردهای بیضه بوده، که در این میان تبدیل اسپرماتوگونی به اسپرماتوزوآ در درون لوله های اسپرم ساز صورت می گیرد. هم چنین تولید آندروژن توسط سلول های بینابینی در بین لوله های اسپرم ساز در بیضه انجام می گیرد (۱۲). گوشت میوه کدو تنبل با توجه به وجود اسیدهای چرب غیر اشباع، ویتامین های

آ، سی و ای، پتاسیم، کلسیم، فسفر، منیزیم و... هم چنین خاصیت آنتی اکسیدانی و تولید اسپرم و تستوسترون می تواند سبب افزایش اسپرماتوزن و تولید آندروژن ها گردد. از طرفی با توجه به اثرات تخریبی مصرف الکل در فرآیند تولید مثل و ایجاد نارسایی و مرگ سلول های جنسی، مورفولوژی ناقص اسپرم ها، پاره شدن غشا میتوکندری ها و تغییرات ساختاری غدد ضمیمه جنسی و کاهش تستوسترون (۱۷-۱۳)، لذا بر آن شدیم که در تحقیق حاضر با مصرف الکل و ایجاد تخریب در بافت لوله های اسپرم ساز، اثرات جلوگیری کننده و بهبود دهنده گوشت میوه گیاه کدو تنبل را با مشاهده هیستولوژیک و مورفومتریک لوله های اسپرم ساز مورد ارزیابی قرار دهیم. هدف از این پژوهش مشخص کردن اثرات احتمالی خوردن گوشت میوه کدو تنبل در رت های نر بالغ و بررسی اثرات جلوگیری کننده و بهبود دهنده آن بر تخریب های ناشی از مصرف الکل در شاخص های فرآیند اسپرماتوزن، وزن بیضه و تغییرات هیستولوژیکی و هیستومورفومتریکی لوله های اسپرم ساز می باشد تا در صورت موثر بودن گوشت میوه کدو تنبل در محافظت و پیشگیری و حتی درمان اثرات تخریبی الکل بر بیضه و روند اسپرماتوزن نتایج آن مورد استفاده مراکز درمانی آندوکربینی و تولید مثلی قرار گیرد.

مواد و روش ها

در این تحقیق ۲۰ سر رت نر بالغ نژاد ویستار با سن ۲ ماه و وزن ۲۵۰-۲۲۰ گرم از مرکز حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی شیراز تهیه گردیدند. حیوانات در دمای 22 ± 3 درجه سانتی گراد و در شرایط نوری ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی ابتدا به مدت ۲ هفته سازگار شده و آن گاه جهت انجام پژوهش مورد استفاده قرار گرفتند. در طول انجام آزمایش آب و غذا به طور آزاد در دسترس حیوانات بوده و تهویه توسط فن انجام گرفته و اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی بر پایه اصول استاندارد بین المللی (۱۸) و هم چنین بر اساس قانون مراقبت و کار کردن با حیوانات آزمایشگاهی از کمیته اخلاق کار پژوهش در دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون رعایت گردید. بعد از مشاهده

مقاطع بافتی توسط دوربین مخصوص Dino-Eye-AM 423 مورد بررسی مورفومتری قرار گرفته و از آن ها عکسبرداری به عمل آمد. در هر اسلاید ۴ نقطه به صورت راندوم انتخاب و ضخامت دیواره لوله های اسپرم ساز و قطر لوله های اسپرم ساز مورد مورفومتری قرار گرفت. هم چنین جهت شمارش سلول های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت اولیه، اسپرماتید و لیدینگ از هر لام پنج لوله اسپرم ساز به طور اتفاقی انتخاب و سلول های مورد نظر شمارش و میانگین آن ها ثبت گردید. نتایج حاصل از این تحقیق توسط برنامه کامپیوتری SPSS vol.16 و تست آماری One Way ANOVA و تست تکمیلی توکی مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت ($P \leq 0.05$).

یافته های پژوهش

نتایج نشان دادند که میانگین وزن بیضه راست و چپ، در گروه آزمایشی مصرف کننده الکل و هم چنین گروه آزمایشی ۲ (مصرف کننده الکل و ۲۰ درصد کدو تنبل) در مقایسه با گروه کنترل دارای کاهش معنی داری بود ($P \leq 0.05$) اما در گروه آزمایشی ۳ (مصرف کننده الکل و ۸۰ درصد کدو تنبل) این کاهش جبران شده و فاقد اختلاف معنی دار با گروه کنترل بود ($P \geq 0.05$). هم چنین تعداد سلول های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت اولیه، اسپرماتید و لیدینگ یا بینابینی در گروه های آزمایشی ۱ و ۲ کاهش معنی داری نسبت به گروه کنترل داشته ($P \leq 0.05$) اما در گروه آزمایشی ۳ این کاهش به حداقل رسیده به طوری که فاقد اختلاف معنی دار با گروه کنترل بود ($P \geq 0.05$) (جدول شماره ۱). از طرفی اندازه گیری ضخامت دیواره لوله های اسپرم ساز نشان داد که میانگین و انحراف معیار ضخامت دیواره در گروه های کنترل، آزمایشی ۱، ۲ و ۳ به ترتیب $۴۲ \pm ۶/۳۳/۸۵$ ، $۴۳ \pm ۲/۶۴$ و $۵۷ \pm ۰/۶۶/۴۴$ و $۷۰ \pm ۷/۳۳/۸۵$ میکرومتر بود. هم چنین میانگین قطر لوله های اسپرم ساز و انحراف معیار آن ها در گروه های ذکر شده به ترتیب $۲۰۷ \pm ۲/۱۸۰$ ، $۱۸۱ \pm ۴/۱۵۶$ ، $۳۶ \pm ۵/۱۶۰$ و $۲۲ \pm ۶/۱۷۸$ میکرومتر بود. در مجموع مشاهده شد که کلیه پارامترهای مورد ارزیابی در گروه های مصرف

سلامت عمومی حیوانات به چهار گروه پنج تایی به قرار: ۱- گروه کنترل (دریافت کننده آب و غذای فشرده) ۲- گروه آزمایشی ۱ مصرف کننده اتانول (مرک-آلمان) به میزان ۱ میلی گرم بر گرم (معادل ۱/۲۵ میلی لیتر بر کیلوگرم وزن بدن) به طریق داخل صفاقی به مدت یک ماه، ۳- گروه آزمایشی ۲ که ۱ میلی گرم بر گرم اتانول (معادل ۱/۲۵ میلی لیتر بر کیلوگرم) دریافت کردند (داخل صفاقی به مدت یک ماه هر روز) و هر روز میوه کدو تنبل به میزان ۲۰ درصد با وعده غذایی دهانی دریافت نمودند، ۴- گروه آزمایشی ۳ که ۱ میلی گرم بر گرم اتانول (معادل ۱/۲۵ میلی لیتر بر کیلوگرم) دریافت کردند (داخل صفاقی به مدت یک ماه هر روز) و هر روز میوه کدو تنبل به میزان ۸۰ درصد با وعده غذایی دهانی دریافت نمودند. هم چنین برای تهیه گوشت میوه کدو تنبل ابتدا پوست آن را کنده، تخم ها را خارج و گوشت میوه را به قطعات کوچک تقسیم و به مدت ۱۰ روز در حرارت اتاق خشک کرده و آن را با آسیاب برقی پودر می کنیم، سپس بر اساس ۲۰ و ۸۰ درصد با غذای پلت معمولی مخلوط و در اختیار حیوانات قرار می دهیم. چون هر رت بالغ روزانه ۲۵ گرم غذا مصرف می کند، به ترتیب ۵ و ۲۰ گرم از غذای مورد نظر را پودر میوه کدو تنبل انتخاب کرده و ۲۰ و ۵ گرم غذای معمولی به ازای هر رت در اختیار حیوانات قرار می دهیم. بعد از انجام آزمایش مورد نظر، رت ها با تزریق ۸۰ میلی گرم بر کیلوگرم کتامین هیدروکلراید و ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم زایلوزین به طریق داخل صفاقی بیهوش و از طریق شکاف ناحیه پایینی شکم، بیضه ها را خارج و بعد از شستشو با آب مقطر و تمیز کردن خون و جدا کردن بافت های اضافی و خشک کردن آن با گاز استریل، بیضه ها را با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ وزن کرده و با سوزن بر روی لایه البوزینه تعدادی سوراخ ایجاد (جهت نفوذ بهتر ماده ثابت کننده) و سپس به ظروف حاوی فرمالین ده درصد انتقال می دهیم. سپس مراحل آگیری، جایگزینی و قالب گیری انجام و قالب های پارافینی از آن ها تهیه و برش هایی به ضخامت ۵ میکرومتر تهیه و با رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین رنگ شدند. سپس

اسپرماتوگونی ها کوچکترند. سلول های بینابینی (لایدیگ) نیز در فضای میان لوله های اسپرم ساز قرار گرفته و اغلب از لحاظ اندازه کوچک بوده و شکل کروی یا بیضوی دارند. هسته در این سلول ها قابل تشخیص و سیتوپلاسم اسیدوفیلیک آن ها قابل مشاهده است (شکل شماره ۱ و ۲). اما در گروه های آزمایشی ۱ و ۲ تراکم سلول های اسپرماتوژنیک و لایدیگ به صورت قابل محسوس کاهش یافته و بعضاً در بین این سلول ها واکوئل هایی نیز مشاهده گردید (شکل شماره ۳ و ۴). اما در گروه آزمایشی ۳ که به صورت هم زمان الکل و کدو تنبل با دوز بالا (۸۰ درصد ماده غذایی) مصرف کرده بودند روند جبرانی افزایش سلول های اسپرماتوژنیک و لایدیگ مشهود بوده و واکوئل ها ناپدید و نظم استقرار سلول ها به حالت طبیعی برگشته بود (شکل شماره ۵).

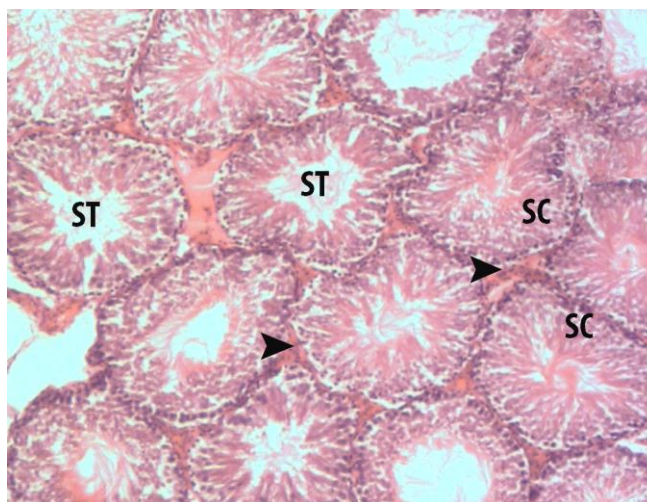
کننده الکل و مصرف کننده الکل و دوز پایین کدو تنبل (۲۰ درصد) دارای کاهش معنی داری نسبت به گروه کنترل بودند اما این پارامترها با افزایش دوز کدو تنبل به میزان ۸۰ درصد غذای دریافتی حیوانات به سمت نرمال سوق پیدا کرده به طوری که فاقد اختلاف معنی دار با گروه کنترل بود. مطالعه هیستولوژیک مقاطع لوله های اسپرم ساز نیز تاییدکننده مطالعات مورفومتریک بود به طوری که در گروه کنترل تراکم سلول های اسپرماتوژنیک حالت نرمال داشته به نحوی که سلول های اسپرماتوگونی شکل تقریباً کروی داشته و اغلب بر روی غشای پایه لوله های اسپرم ساز قرار داشتند. سلول های اسپرماتوسیت اولیه نیز که در لایه داخلی تر از اسپرماتوگونی ها و به سمت مرکز لوله واقع اند، ظاهری تقریباً کروی یا بیضی شکل داشته و هسته کاملاً مشخص و دانه‌داری دارند. اسپرماتیدها کروی، با هسته مشخص و از نظر اندازه از

جدول شماره ۱. میانگین و انحراف معیار وزن بیضه ها، تعداد سلول های اسپرماتوگونی، تعداد سلول های اسپرماتوسیت اولیه،

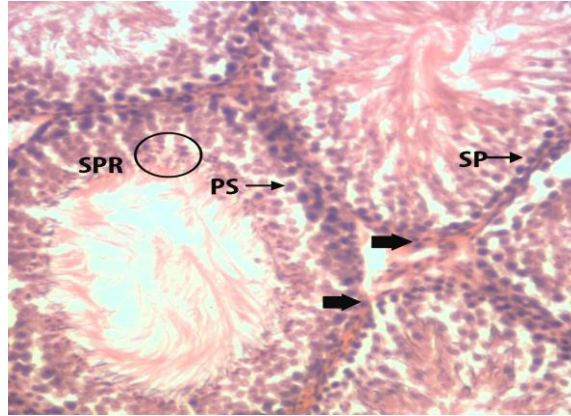
تعداد سلول های اسپرماتید و سلول های لایدیگ در گروه های کنترل و آزمایشی ۱، ۲ و ۳

میانگین تعداد سلول های لایدیگ و انحراف معیار	میانگین تعداد سلول های اسپرماتید و انحراف معیار	میانگین تعداد سلول های اسپرماتوسیت اولیه و انحراف معیار	میانگین تعداد سلول های اسپرماتوگونی و انحراف معیار	میانگین وزن بیضه چپ و انحراف معیار	میانگین وزن بیضه راست و انحراف معیار	
۱۱±۱	۱۶۹/۶۶±۴/۵۰	۸۲±۲	۶۹/۶۶±۲/۰۸	۱/۵۰±۰/۱۰	۱/۳۶±۰/۱۵	گروه کنترل
*۵/۶۶±۲/۵۱	*۶۲۲±۵/۲۹	*۵۸/۳۳±۳/۷۸	*۴۳±۳	*۰/۷۶±۰/۰۵	*۰/۷۳±۰/۰۵	گروه آزمایشی ۱
*۵/۶۶±۰/۵۷	*۶۲۴/۳۳±۱/۵۲	*۲±۲	*۴۴/۶۶±۰/۵۷	*۰/۸۴±۰/۰۳	*۰/۷۸±۰/۷۶	گروه آزمایشی ۲
۱۰/۶۶±۱/۵۲	۱۶۷/۳۳±۳/۰۵	۷۸±۲	۶۶/۶۶±۴/۱۶	۱/۴±۱	۱/۱±۱	گروه آزمایشی ۳

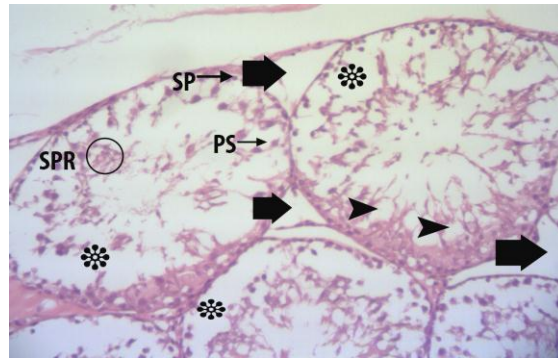
* دارای اختلاف معنی دار $P \leq 0.05$



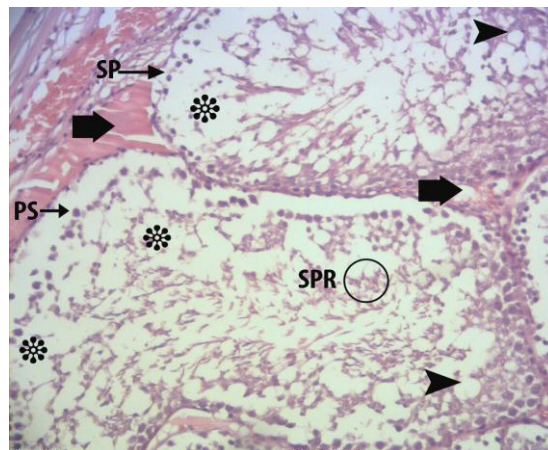
شکل شماره ۱. لوله های اسپرم ساز در گروه کنترل. لوله های اسپرم ساز (ST)، سلول های اسپرماتوژنیک (SC) و سلول های لایدیگ (نوکل فلاش) (بزرگ نمایی $\times 300$)



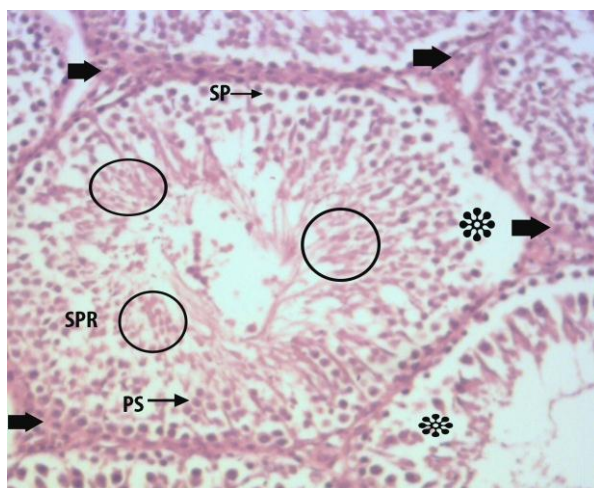
شکل شماره ۲. لوله اسپرم ساز در گروه کنترل. اسپرماتوگونی (SP)، اسپرماتوسیت اولیه (PS)، اسپرماتید (SPR دایره) و سلول های لایدیگ (فلش های ضخیم) (بزرگ نمایی $\times 750$).



شکل شماره ۳. لوله های اسپرم ساز در گروه مصرف کننده الکل، تراکم کم در دیواره لوله های اسپرم ساز و از بین رفتن سلول های اسپرماتوژنیک (ستاره ها). اسپرماتوگونی (SP)، اسپرماتوسیت اولیه (PS)، اسپرماتید (SPR دایره)، کاهش سلول های لایدیگ در بین لوله های اسپرم ساز (فلش های ضخیم) و واکوئل ها (سر فلش ها) (بزرگ نمایی $\times 750$).



شکل شماره ۴. لوله های اسپرم ساز در گروه مصرف کننده الکل و کدو تنبل 20% درصد، تراکم کم در دیواره لوله های اسپرم ساز و از بین رفتن سلول های اسپرماتوژنیک (ستاره ها). اسپرماتوگونی (SP)، اسپرماتوسیت اولیه (PS)، اسپرماتید (SPR دایره)، کاهش سلول های لایدیگ در بین لوله های اسپرم ساز (فلش های ضخیم) و واکوئل ها (سر فلش ها) (بزرگ نمایی $\times 750$).



شکل شماره ۵. لوله های اسپرم ساز در گروه الکل-کدو تنبل ۸۰ درصد، تراکم نرمال در دیواره لوله های اسپرم ساز: اسپرماتوگونی (SP)، اسپرماتوسیت اولیه (PS)، اسپرماتید (SPR) دایره ها) و سلول های لایدیگ (فلش های ضخیم) (بزرگ نمایی ۷۵۰×).

بحث و نتیجه گیری

تغییرات هستیتولوژیک و مورفومتریک لوله های اسپرم ساز تحت تاثیر اتانول و عصاره کدو تنبل در این مطالعه، بررسی شد. تجویز اتانول باعث کاهش ضخامت دیواره لوله های اسپرم ساز، کاهش تعداد سلول های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت اولیه، اسپرماتید، لیدیگ و هم چنین باعث کاهش وزن بیضه های راست و چپ شد. هم چنین واکوتل در دیواره لوله های اسپرم ساز مشاهده گردید. البته بعد از تجویز عصاره کدو تنبل با دوز پایین (۲۰ درصد ماده غذایی) و دوز بالا (۸۰ درصد ماده غذایی) مشاهدات نشان دادند که، دوز پایین کدو تنبل تاثیری در روند بهبود و یا جلوگیری از آثار تخریبی الکل نداشته ولی دوز بالای کدو تنبل باعث بهبود و جلوگیری از اثرات تخریبی الکل شده و کلیه پارامترهای مورد نظر را به سمت نرمال سوق داده بود. تحقیقات گذشته نشان می دهد که الکل دارای اثرات سمی بر ساختارهای سلولی بیضه بوده و هم چنین باعث مرگ سلولی در سلول های اسپرماتوژنیک می شود (۲۰، ۱۹). نتایج این تحقیقات تایید کننده روند کاهش تعداد سلول های اسپرماتوژنیک در لوله های اسپرم ساز و متعاقب آن کاهش ضخامت دیواره این لوله ها در تحقیق حاضر می باشد. به دلیل وجود روی، کلسیم و دیگر ترکیبات

موجود در میوه گیاه کدو تنبل که باعث افزایش تقسیم سلولی، بالا رفتن روند اسپرماتوژنز و افزایش تراکم سلولی در بیضه ها می شود می توان گفت احتمالاً گوشت میوه گیاه کدو تنبل بر تقسیمات سلولی بیضه ها اثر گذاشته و باعث افزایش وزن بیضه ها شده است برای تکمیل روند اسپرمیوژنز نیاز به افزایش کلسیم درون سلولی می باشد و از آن جا که کلسیم یکی از عناصر مهم گوشت میوه کدو تنبل است و علاوه بر این وجود فیبر موجود در گوشت میوه کدو تنبل باعث افزایش جذب کلسیم می شود. پس احتمال می رود که گوشت میوه کدو تنبل باعث تشدید روند اسپرماتوژنز شود (۲۱، ۲۲).

با توجه به وجود کلسیم در گوشت میوه کدو تنبل و عمل هورمون FSH بر روی سلول های سرتولی به واسطه یون کلسیم و به علاوه نقش مهم سلول های سرتولی در تغذیه اسپرم ها و روند اسپرماتوژنز، می توان اثرات مثبت کدو تنبل بر روی روند اسپرماتوژنز را توجیه کرد. بنا بر این می توان چنین نتیجه گرفت که یون کلسیم به عنوان مولکولی تنظیم کننده در جهت عملکرد سلول های سرتولی عمل کرده و علاوه بر این فعالیت هورمون FSH نیز تحت کنترل یون کلسیم بر روی سلول های سرتولی صورت می پذیرد (۲۲). اسیدهای چرب غیر اشباع موجود در گوشت میوه کدو

تنبل باعث مهار فعالیت ۵-آلفا ردوکتازو از طرفی باعث فعالیت آنزیم ۱۷-بتا هیدروکسی استروئید دهیدروژناز شده، از آن جا که این هورمون در تولید هورمون تستوسترون دخیل است، بنا بر این احتمال می رود که میزان هورمون تستوسترون افزایش یابد (۲۶-۲۳). در تحقیق حاضر افزایش سلول های لیدیگ بعد از مصرف دوز بالای کدو تنبل تاییدکننده افزایش تستوسترون بوده که این هورمون جهت روند اسپرماتوژنز لازم می باشد (۲۷). وجود ترکیبی هم چون روی در گوشت میوه کدو تنبل باعث افزایش تستوسترون از طریق بیوستنز ۱۷-بتا هیدروکسی استروئید دی دهیدروژناز می شود (۲۸، ۲۹). پتاسیم موجود در گوشت میوه کدو تنبل می تواند سبب بلوکه شدن گیرنده های بتا آدرنرژیک شود. بنا بر این از طریق افزایش میزان c-AMP به عنوان پیام آور ثانویه باعث افزایش روند استروئیدوژنز می شود و این روند را تقویت می کند (۲۱). مطالعات اخیر نشان داده است که ترکیبات موجود در گوشت میوه گیاه کدو تنبل مانند اسید پالمیتیک و لینولئیک و روی از طریق افزایش فعالیت سیتوکروم پی ۴۵۰ باعث افزایش تبدیل کلسترول به پرگنولون و در نتیجه احتمالاً باعث افزایش ترشح هورمون تستوسترون گردند (۳۰). اسیدهای چرب غیر اشباع سنتز تستوسترون را از سلول های لیدیگ تحریک می کند (۲۶-۲۳). که این یافته ها تاییدکننده نتایج حاصل از تحقیق حاضر می باشد که با مصرف دوز بالای کدو تنبل سلول های لیدیگ افزایش یافته و روند کاهشی و مرگ سلول های اسپرماتوژنیک کاهش یافته است. با توجه به کاهش تراکم سلول های دیواره لوله های منی ساز و کاهش تعداد سلول های اسپرماتوژنیک به نظر می رسد که روند اکسیداتیو استرس در بیضه ها در اثر الکل ایجاد شده و از طرف دیگر این روند کاهشی در تراکم و تعداد سلول ها می تواند در اثر افزایش آنزیم سیتوکروم هپاتیک پی ۴۵۰ باشد که سبب تحریک مرگ سلولی و بافتی می گردد (۱۹، ۲۰). در مطالعه حاضر کاهش وزن بیضه ها در گروه مصرف کننده الکل مشاهده گردید،

که می تواند نشانه کاهش استروئیدوژنز باشد (۲۰). از طرفی پتاسیم موجود در گوشت میوه کدو تنبل می تواند سبب بلوک کردن گیرنده های بتا آدرنرژیک شده و از طریق افزایش میزان c-AMP باعث افزایش روند استروئیدوژنز شود و کمبود وزن بیضه را جبران کند (۲۱). وجود ترکیباتی هم چون آسکوربیک اسید (ویتامین سی)، ویتامین ای، روی، منگنز، سلنیوم در گوشت میوه کدو تنبل که دارای خواص آنتی اکسیدانی یا ضد سرطانی هستند و از آن جایی که خواص آنتی اکسیدانی باعث مهار سوپر اکسید و رادیکال های هیدروکسیل می شوند و از سرطانی شدن سلول ها و بافت ها از جمله بافت بیضه جلوگیری می کنند. در نتیجه اسپرماتوژنز به طور طبیعی صورت می گیرد و اختلالی در این روند ایجاد نمی شود. از طرف دیگر آنتی اکسیدان های قوی دارای اثرات شبه ویتامینی در بدن هستند که باعث افزایش سطح تستوسترون و کاهش سطح استروژن می گردند (۲۲، ۲۸) که می تواند باعث تحریک اسپرماتوژنز شود. با مصرف کدو تنبل همراه با اثرات کاهشی الکل بر تراکم و تعداد سلول های اسپرماتوژنیک مشاهده گردید که این روند کاهشی جبران شده و به سمت نرمال سوق پیدا کرده است که می تواند به علت خاصیت آنتی اکسیدانی کدوتنبل باشد. با توجه به نتایج به دست آمده از این تحقیق می توان اظهار کرد که الکل باعث اثرات تخریبی بر ساختار سلولی لوله های اسپرم ساز در اثر اکسیداتیو استرس شده و مشاهدات میکروسکوپی نشان داد که مصرف عصاره کدوتنبل باعث بهبود اثرات تخریبی در دیواره لوله های اسپرم ساز شده و اثرات تخریبی الکل را خنثی کرده است. البته جهت تایید خواص آنتی اکسیدانی گوشت میوه کدو تنبل اندازه گیری آنزیم های مربوطه جهت مطالعات آینده پیشنهاد می گردد.

سپاسگزاری

از دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون جهت حمایت های علمی کمال سپاس را دارم.

References

1. Yong M, Ning H, Liu H. Exploitation and composition of pumpkin powder. *Food Sci Technol* 2006; 6: 299-301.
2. Caniço F, Ramalho M, Lima G, Quedas F. Study the evolution of texture and color *Curcubita* spp. postharvest and over time. *J Food Technol Biotechnol Nut Portugal* 2012; 13: 53-58.
3. Sentu S, Debjani G. Effect of ripe fruitpulp extract of *cucurbita pepo* Linn in aspirin induced gastric and duodenal ulcer in Rats. *Ind J Exp Biol* 2008; 46: 639-45.
4. Zhang Y, Shen X, Zhu L. The recent research development of natural hypoglycemic food pumpkin. *Food Sci Technol* 2002; 6: 68-70.
5. Bai X, Zhang X. Protective effect of compound pumpkin powder on diabetic Rats kidney. *Herald Med* 2006; 6: 616-7.
6. Jie S, Guoyou Y, Peng Du, Lanying C. Optimization of extraction technique of polysaccharides from pumpkin by response surface method. *J Med Plants Res China* 2011; 5: 2218-22.
7. Cunha A. *Plantas e produtos vegetais em fitoterapia*. 4th ed. Fundacao Calouste Gulbenkian Publication. 2012; P.213.
8. Nkang A, Omokaro A, Egbe A, Amanke G. Variation of fatty acid proportion during desiccation of *Telferia occidentalis* seeds harvested at physiological and agronomic maturity. *African J Biotechnol* 2003; 2:33-9.
9. Kazemi S, Asgari S, Moshtaghian SJ, Rafieian M, Mahzooni P. Preventive effect of pumpkin *Cucurbita pepo* l. on diabetic index and histopathology of pancreas in alloxan-induced diabetes in Rats. *J Isfahan Med Sch* 2011; 28: 872-81.
10. Akang EN, Oremosu AA, Dosumu OO, Noronha CC, Okanlawon AO. The effect of fluted pumpkin *Telferia occidentalis* seed oil on testis and semen parameters. *Agric Biol J N Am* 2010; 1:697-703.
11. Mayor L, Moreira R, Sereno AM. Shrinkage, density, porosity and shape changes during dehydration of pumpkin. *J Food Eng* 2011; 103: 29-37. doi:10.1016/j.jfoodeng.2010.08.031
12. Rueysheng W, Shuyuan Y, Chiiruey T, Chawnsang C. Androgen receptor roles in spermatogenesis and fertility lessons from testicular cell specific androgen receptor knockout mice. *Endocrine Rev* 2009; 30:119-32. doi: 10.1210/er.2008-0025
13. Eid NA, Shibata MA, Ito Y, Kusakabe K, Hammad H, Otsuki Y. Involvement of fas system and active caspases in apoptotic signally in testicular germ cellsof ethanol-treated rats. *Int J Androl* 2002; 25:159-67.
14. Florek E, Marszalek A. An experimental study of the influences of tobacco smoke on fertility and reproduction. *Hum Exp Toxicol* 1999; 18: 272-8. doi:10.1191/096032799678840039.
15. Villalta J, Balleca JL, Nicolas JM, Martinez de Osaba MJ, Antunez E, et al. Testicular function in asymptomatic chronic alcoholics: relation to ethanol intake. *Alcohol Clin Exp Res* 1997; 21:128-33.
16. Gomes IC, Cagnon VH, Carvalho CA, Luca IM. Stereology and ultrastructure of the seminal vesicle of C57/BL/6J mice following chronic alcohol ingestion. *Tissue Cell* 2002; 34:177-86. doi: 10.1016/S0040-8166(02)00029-0.
17. Favaro WJ, Cagnon VH. Immunolocalization of androgen and oestrogen receptors in the ventral lobe of Rat prostate after long term treatment with ethanol and nicotine. *Int J Androl* 2008; 31: 609-18. doi: 10.1111/j.1365-2605.2007.00817.x.
18. Particia VT. The calam/acmal standards of veterinary care and laboratory animal welfare. *Can Vet J* 2008; 49: 86-8.
19. Elsokkary GH. Quantitative study on the effects of chronic ethanol administration the testis of adult male Rats. *Neuroendocrinol Lett* 2001; 22: 93-9.
20. Zhu Q, Meisinger J, Emanuele NV, Emanuele MA, Lapaglia N, Thiel DH. Ethanol exposure enhances apoptosis within the testes. *Alcohol Clin Exp Res* 2000; 24: 1550-6.
21. Naves WB, Johnson L, Porter JC, Parker CR JR, Petty CS. Leydig cell numbers daily sperm production and serum gonadotropin levels in aging men. *J Clin Endocrinol Metab* 1984; 55: 756-63. doi: 10.1210/jcem-59-4-756
22. Han MS, Lim YM, Quan W, Kim JR, Chung KW, Kang M, et al. Lysophosphatidyl choline as an effector of fatty acid induced insulin resistance. *J Lipid*

- Res 2001; 52:1234-46. doi: 10.1194/jlr.M014787.
23. Chung BH, Mitchell SH, Zhang JS, Young CY. Effect of decosahexaenoic and eicosapentaenoic acid on androgen mediated cell growth and gene expression in LNCap prostate cancer cells. *Oncinogenesis* 2001; 22: 1201-06.
24. Kilgour RJ, Pisselet C, Dubois MP, Courot M. Ram Lambs need FSH, LH for normal testicular growth. Sertoli cell number and onset of spermatogenesis. *Reprod Nutr Dev* 1998; 38: 539-50.
25. Ling T, Liao S. Inhibition of steroid 5-alpha -reductase by specific aliphatic unsaturated fatty acids. *Biochem J* 1992; 282: 557-62.
26. Rahman AHMM, Anisuzzaman M, Ferdousahmed A, Rafiul AKM, Naderuzzaman ATM. Study of nutritive value and medicinal uses of cultivated cucurbits. *J Appl Sci Res Bangladesh* 2008; 4: 555-08.
27. Soonlerichard M, Catherine R. Anatomical and functional evidence for a neural hypothalamic-testicular pathway that is independent of the pituitary. *Endocrinology* 2002; 143: 4445-50. doi: 10.1210/en.2002-220392
28. Lafuente A, Marquez N, Perezlorenzo M, Pazo D, Esquifino AI. Cadmium effects on hypothalamic- pituitary- testicular axis in male Rats. *Exp Biol Med* 2001; 226: 605-11.
29. Vooqt PA, de Besten PJ, Kusters GC, Messing MW. Effect of cadmium and zinc steroid level in the sea star *Asterias rubens* L. *Comp Biochem Physiol* 1987; 86: 83-09.
30. Giovenakazawa RA. Traditional medicine in the treatment of enteroparasitosis Spanish. *Rev Gastroenterol Peru* 1996; 16:197-202.

Histological Evaluation of the Effect of Cucurbita pepo L. fruit on Seminiferous Tubules induced by Ethanol Administration in Rats

Esfandiari A^{*}, Ghaedi H¹

(Received: June 14, 2017

Accepted: August 28, 2017)

Abstract

Introduction: According to previous research, Cucurbita pepo L. increases sex hormones in males. The purpose of this study was to survey the effect of Cucurbita pepo on the histomorphometrical changes of testes induced by ethanol administration in male Wistar rats.

Materials & Methods: Twenty male Wistar rats were divided into four groups of five as follows: 1- Control group, 2- Experimental group1 (received 20% ethanol [1 mg/gr, i.p.] for 30 days), 3- Experimental group2 (received 20% ethanol [1 mg/gr, i.p.] along with Cucurbita pepo as 20% of their meal for 30 days), and 4- Experimental group3 (received 20% ethanol (1 mg/gr, i.p.) along with Cucurbita pepo as 80% of their meal for 30 days).

Findings: Results showed that seminiferous tubule wall thickness, weight of the testes, and the number of spermatogenic cells were decreased in the Experimental group1.

However, all these parameters were increased in the Experimental group3 compared to the Experimental group1. These reductions in the Experimental group1 in comparison with the control group were significantly different. However, all these parameters had increased in the Experimental group3 compared to the control group with no significant difference, while they were significantly different from experimental groups 1 and 2.

Discussion & Conclusions: It is concluded that high doses of Cucurbita pepo (80%) may prevent reduced number of spermatogenic cells caused by the consumption of alcohol. However, low doses of Cucurbita pepo (20%) cannot impede the destructive effects of alcohol.

Keywords: Cucurbita pepo L., Ethanol, Histomorphometric, Rat

1. Dept of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran

**Corresponding author Email: Esfandiari.arash@gmail.com*