

تأثیر عصاره هیدروالکلی دانه خاکشیر بر تغییرات بافتی بیضه، پارامترهای اسپرمی و میزان سطح تستوسترون در موش‌های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوتوسین

وحید نجاتی^۱، فرشته خانسی^{۲*}

چکیده

زمینه و هدف: استفاده از گیاهان دارویی در درمان دیابت از اهمیت بالینی ویژه‌ای برخوردار است. در افراد مبتلا به دیابت، تغییرات تولیدمثلی در جنس مذکر گزارش شده است. مطالعه حاضر با هدف تعیین اثر دانه خاکشیر بر میزان غلظت سرمی تستوسترون، هیستولوژی و پارامترهای اسپرمی در بافت بیضه انجام شد.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، ۲۴ سر موش صحرایی نر به‌طور تصادفی به ۳ گروه تقسیم شدند: گروه کنترل سالم (C)؛ کنترل دیابتی (D) و گروه دیگر دیابتی تحت تیمار که عصاره خاکشیر (DK) را با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بر وزن بدن دریافت کردند. گروه‌های دیابتی با تزریق داخل صفاقی استرپتوزوتوسین (با دوز ۶۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) دیابتی شدند و بعد از اتمام دوره تیمار به مدت ۴۲ روز، خونگیری از قلب برای تعیین سطح تستوسترون انجام شد. سپس تمامی موش‌ها کشته شده و پس از تشریح، اسپرم‌ها از دم اپیدیدیم جمع‌آوری و پارامترهای آنها از قبیل تعداد و مورفولوژی اسپرم مورد ارزیابی قرار گرفت. در ادامه، نمونه‌های بیضه به داخل فرمالین منتقل و با هماتوکسیلین - ائوزین و سودان بلاک B رنگ‌آمیزی شدند. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از آزمون‌های آماری واریانس یک‌طرفه، توکی و Post Hoc صورت گرفت. سطح معنی‌داری، $p \leq 0/05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: در این بررسی، خاکشیر باعث کاهش معنی‌داری در ضخامت بافت بینابینی لوله‌های منی‌ساز ($p \leq 0/001$) و اسپرم‌های بدشکل شد ($p \leq 0/001$). همچنین افزایش معنی‌داری ($p \leq 0/05$) در قطر لوله‌های منی‌ساز، ضخامت اپی‌تلیوم، سطح تستوسترون ($p \leq 0/001$)، ضریب اسپرمیونز ($p \leq 0/001$) و تعداد اسپرم ($p \leq 0/001$) نسبت به گروه دیابتی مشاهده گردید.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد خاکشیر دارای اثرات مثبتی در درمان آثار تخریبی ناشی از دیابت در بافت بیضه می‌باشد.

کلید واژه‌ها: دیابت ملیتوس؛ خاکشیر؛ موش‌ها؛ بیضه.

^۱استادیار بافت و جنین‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

^۲کارشناس ارشد بافت و جنین‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

* نویسنده مسئول مکاتبات:

فرشته خانسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران؛

آدرس پست الکترونیکی:

f.khaneshi@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۱/۹/۱۶

تاریخ پذیرش: ۹۱/۱۲/۱۷

لطفاً به این مقاله به‌صورت زیر استناد نمایید:

Nejati V, Khaneshi F. The effect of hydroalcoholic extract of *Descurainia sophia* seed on the changes of testis sperm parameters, and testosterone level in rats with streptozotocin-induced diabetes.

Qom Univ Med Sci J 2014;8(5):26-33. [Full Text in Persian]

مقدمه

دیابت شیرین یک اختلال درون‌ریز بوده که به‌وسیله هیپرگلیسمی مزمن در پی نتیجه نقص در تولید انسولین و یا مقاومت به آن ایجاد می‌شود (۱). دیابت در کشورهای در حال توسعه از جمله ایران رو به افزایش است. حدود ۹۰٪ از افراد مبتلا به دیابت از اختلالات مختلف تولیدمثلی رنج می‌برند که کاهش میل جنسی و ناتوانی در باروری از آن‌جمله محسوب می‌گردد. همچنین ابتلا به این بیماری با محدودیت‌های تولیدمثلی همراه است (۲). در بررسی‌ها، کاهش تولید تستوسترون و اختلال در فرآیند اسپرماتوزن، در افراد مبتلا به دیابت گزارش شده است (۳). تحقیقات نیز نشان می‌دهد در بیماری دیابت کاهش تعداد اسپرم (۴)، افزایش اسپرم‌های ناهنجار (۵)، کاهش رفتار جنسی و میل جنسی باعث ناباروری در فرد می‌شود (۶، ۷). بنابراین، استفاده از گیاهان دارویی به‌علت داشتن عوارض جانبی کم، از گذشته تاکنون همواره مورد توجه بوده است. از موارد استفاده از گیاهان دارویی در بیماری دیابت می‌توان به استفاده از عصاره آب سیر اشاره نمود که دارای اثرات درمانی و پیشگیری‌کننده بر آسیب‌های بافتی بیضه در موش‌های دیابتی شده بوده و از کاهش میزان اسپرماتوزن جلوگیری می‌کند (۸). همچنین در گزارشها آمده است عصاره دانه هویج در موش‌های صحرایی نر بالغ می‌تواند باعث افزایش تستوسترون و اسپرماتوزن در بافت بیضه شود (۹). در مطالعه حاضر گیاه مورد ارزیابی، خاکشیر با نام علمی *Descurainia sophia* از تیره چلیپائیان است. همچنین از خاکشیر می‌توان به‌عنوان تب‌بر، بازکننده اشتها، ضد کرم و برطرف‌کننده سوءهاضمه استفاده نمود. سوری و همکاران در طی مطالعه خود با اندازه‌گیری فنل تام نشان دادند خاکشیر دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بوده و این خاصیت با داشتن قابلیت پاک‌سازی رادیکال‌های آزاد، سلول‌ها را از آسیب‌های اکسیداتیو حفظ می‌کند (۱۰، ۱۱). همچنین تحقیقات نشان داده است خاکشیر به دلیل داشتن ترکیبات سیانید، در زایمان و افزایش میل جنسی تأثیر دارد (۱۲). نتایج دیگر مطالعات نیز نشان می‌دهد در خاکشیر ترکیبات گلیکوزید سولفور دسکورینوزید و ترکیبات فنلی، در مجاورت هم، بر روی یکدیگر اثر آنتاگونیسم دارویی دارند (۱۳). این مطالعه با هدف تعیین اثر عصاره دانه خاکشیر بر تغییرات

بافت بیضه، برخی فاکتورهای اسپرمی و غلظت سرمی تستوسترون در موش‌های صحرایی دیابتی انجام شد.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی، از ۲۴ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن متوسط ۲۳۰-۲۰۰ گرم که از مرکز نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه ارومیه تهیه شده بود، استفاده گردید. حیوانات در طول مطالعه دسترسی کافی به آب و غذا به‌صورت یکسان داشتند. همچنین سیکل نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی در دمای ۲۵-۲۰ درجه سانتیگراد برای آنها تأمین شد. دانه خاکشیر پس از بررسی و تأیید گروه علوم گیاهی دانشکده علوم دانشگاه ارومیه، به‌وسیله هاون پودر شد. سپس در درون ارلن یک لیتری ریخته و بر روی آن الکل اتیلیک ۹۶٪ اضافه شد (۲۴ گرم به ازای ۲۰ میلی‌لیتر الکل اتیلیک) و به مدت ۲۴ ساعت روی دستگاه شیکر قرار گرفت. عصاره به‌وسیله دستگاه روتاری (جهت حذف الکل) تغلیظ شد و در دستگاه آون (جهت خشک شدن) به مدت ۲۴ ساعت با دمای ۵۰ درجه سانتیگراد قرار داده شد (۱۴).

دیابت نوع ۱ در موش‌ها با تزریق داخل صفاقی استروپتوزوتوسین خریداری شده از شرکت سیگمای آمریکا، پس از حل شدن در بافر سترات (pH=۵/۴) ایجاد شد، که شواهد دال بر دیابتی شدن؛ بروز علائمی مانند پرنوشی، پرادراری و کاهش وزن بدن بود. علاوه بر آن، در روزهای سوم، هفتم با استفاده از دستگاه گلوکومتر، غلظت گلوکز سرم با خونگیری از دم موش اندازه‌گیری شد (۱۵). در صورتی که بعد از یک هفته تزریق استروپتوزوتوسین، غلظت گلوکز به بالاتر از ۳۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر می‌رسید، حیوان دیابتیک در نظر گرفته می‌شد (۱۶). در ادامه، با استفاده از گلوکومتر (On Call EZ, SD, USA) میزان قند خون حیوان اندازه‌گیری شد.

در این مطالعه، ۲۴ سر موش نر بالغ نژاد ویستار به‌طور تصادفی به ۳ گروه ۸ تایی تقسیم شدند. گروه اول به‌عنوان گروه کنترل (C) سالم در نظر گرفته شد که معادل حجم عصاره تزریقی با نرمال سالین تیمار شدند؛ گروه دوم موش‌های صحرایی دیابتی بودند که عصاره دانه خاکشیر (DK) را با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم

وزن بدن (پس از بررسی غلظت‌های مختلف به صورت آزمایشی) به مدت ۴۲ روزه روش داخل صفاقی در شرایط استریل دریافت کردند؛ به گروه سوم (D) نیز به عنوان کنترل دیابتی فقط نرمال سالین تزریق شد. پس از اتمام دوره تیمار به منظور اندازه‌گیری غلظت سرمی تستوسترون، بلافاصله خونگیری از قلب حیوانات انجام شد و نمونه‌های خونی به لوله‌های حاوی هپارین منتقل و پس از سانتریفوژ (با دور ۳۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه) سرم آنها جدا گردید، سپس تمامی موش‌ها آسان‌کشی شده و پس از تشریح ناحیه تحتانی، دم اپیدیدیم خارج و به ظرف محتوی سرم فیزیولوژی منتقل شد، پس از قطعه قطعه کردن دم و خارج کردن اسپرم‌ها، قطعات باقیمانده بافت از سوسپانسیون جدا و سوسپانسیون اسپرمی حاصله به نسبت ۱:۱۰۰ جهت محاسبه تعداد اسپرم در زیر میکروسکوپ نوری با استفاده از لام نئوبار و پیت ملاژور و جهت احتمال کاهش خطا، در عدد ۱۰^۶ ضرب شد (۱۷). جهت بررسی شکل اسپرم نیز یک قطره از محلول فوق روی لام قرار گرفت و پس از تهیه گسترش و خشک شدن در محیط آزمایشگاه، روی آن متانول ریخته شد تا تثبیت گردد. روی نمونه‌ها نیز ائوزین ریخته شد و جهت بررسی هر نمونه، ۱۰ لام به روش فوق به شکل تصادفی انتخاب و از لحاظ خصوصیات مورفولوژیکی مورد ارزیابی قرار گرفت (۱۸). بافت‌های بیضه به منظور تثبیت به ظروف حاوی فرمالین ۱۰٪ انتقال داده شدند. پس از تثبیت، نمونه‌ها و تهیه مقاطع بافتی، رنگ‌آمیزی با هماتوکسیلین - ائوزین و سودان بلاک B انجام گرفت، سپس اسلایدها با میکروسکوپ نوری بررسی شدند. برای اندازه‌گیری قطر لوله‌های منی‌ساز از روش سودمانی استفاده گردید (۱۹). ضخامت اپی‌تلیوم لوله‌های منی‌ساز، (از اسپرماتوگونی‌های

موجود در زیر دیواره لوله‌های منی‌ساز یک طرف لوله تا جایی که اسپرماتیدها وجود داشت) بر اساس میکرومتر با عدسی مدرج محاسبه شد که در نتیجه لوله‌های منی‌ساز با مقطع گرد یا نزدیک به گرد مورد بررسی قرار گرفت (۲۰). همچنین برای تعیین ضریب اسپرمیوژن در هر میدان دید میکروسکوپی با توجه به تعداد لوله‌های منی‌ساز فاقد اسپرم یا واجد اسپرم، علامت‌های منفی و مثبت به گروه‌ها داده شد (۲۱). محاسبه فضای بافت بینابینی نیز با عدسی مدرج بر اساس میکرومتر انجام گرفت (۲۰). هورمون تستوسترون با روش الیزا و با استفاده از کیت شرکت دیپالاس اندازه‌گیری شد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ و آزمون‌های آماری واریانس یک‌طرفه، توکی و Post Hoc تجزیه و تحلیل شدند. سطح معنی‌داری، $p \leq 0.05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در این مطالعه، فضای بافت بینابینی مابین لوله‌های منی‌ساز در گروه دیابتی در مقایسه با گروه‌های کنترل و دیابتی تحت درمان با عصاره دانه خاکشیر، افزایش معنی‌داری نشان داد. در گروه تحت درمان با خاکشیر نیز در مقایسه با گروه کنترل، افزایش فضای بافت بینابینی مشاهده شد که از لحاظ آماری معنی‌دار نبود (جدول شماره ۱).

ضخامت اپی‌تلیوم، قطر لوله‌های منی‌ساز و ضریب اسپرمیوژن گروه دیابتی نسبت به گروه کنترل سالم، کاهش معنی‌داری داشت، در حالی که فاکتورهای فوق‌الذکر در موش‌های دیابتی که با عصاره دانه خاکشیر تیمار شده بودند نسبت به گروه دیابتی، افزایش معنی‌داری نشان داد، همچنین بین گروه کنترل سالم و گروه دریافت‌کننده دانه خاکشیر، اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول شماره ۱).

جدول شماره ۱: مقایسه میانگین قطر لوله‌های سمینی‌فروس ضریب اسپرمیوژن ضخامت بافت بینابینی و ضخامت اپی‌تلیوم در گروه‌های مختلف آزمایشی

گروه‌ها	کنترل (C)	دیابتی (D)	دیابتی + عصاره (DK)
متغیر	میانگین ± انحراف معیار	میانگین ± انحراف معیار	میانگین ± انحراف معیار
قطر لوله‌های سمینی‌فروس (میکرومتر)	۲۱۱/۷۵ ± ۱/۷۰	*۱۶۵/۷۵ ± ۲/۲۱	۲۰۹/۷۵ ± ۱/۷۰
ضریب اسپرمیوژن (درصد)	۹۴/۷۵ ± ۰/۹۵	**۶۶/۲۵ ± ۱/۵۰	۹۳/۲۵ ± ۰/۰۹
ضخامت بافت بینابینی (میکرومتر)	۷/۰۵ ± ۰/۰۵	**۱۹/۵۰ ± ۱/۲۹	۶/۶۲ ± ۰/۱۸
ضخامت اپی‌تلیوم (میکرومتر)	۴۴ ± ۰/۸۱	۳۴/۲ ± ۰/۹۵	۴۲/۵۰ ± ۰/۵۷

* اختلاف معنی‌دار ($p \leq 0.05$) با گروه‌های کنترل دیابتی (C) و دیابتی درمان‌شده با خاکشیر (DK)

** اختلاف معنی‌دار ($p \leq 0.01$) با گروه‌های کنترل دیابتی (C) و دیابتی درمان‌شده با خاکشیر (DK)

نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده است.

کنترل سالم، افزایش معنی داری نشان دادند، درحالی که در گروه دیابتی تیمار شده با عصاره دانه خاکشیر، تعداد اسپرم‌ها افزایش و درصد بدشکلی، کاهش معنی داری یافته بود. در گروه درمان شده با عصاره در مقایسه با گروه کنترل سالم، اختلاف معنی داری مشاهده نشد (جدول شماره ۲).

میزان غلظت سرمی تستوسترون در گروه دیابتی در مقایسه با گروه‌های کنترل و دیابتی تحت درمان با خاکشیر، کاهش معنی داری داشت، اما بین گروه کنترل و دیابتی تحت درمان با خاکشیر، اختلاف معنی داری مشاهده نشد (جدول شماره ۲). تعداد کلی اسپرم‌ها، کاهش و اسپرم‌های بدشکل نسبت به گروه

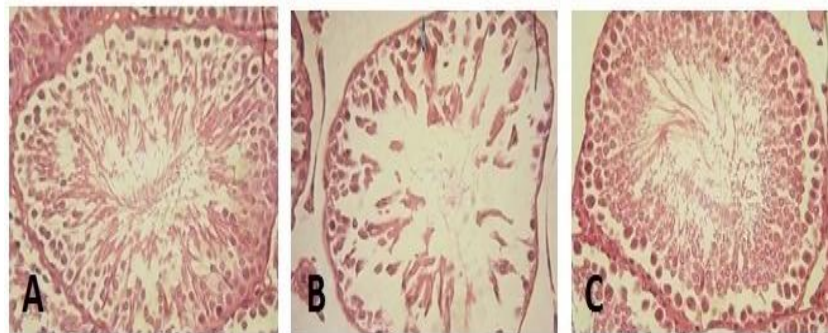
جدول شماره ۲: مقایسه میانگین غلظت سرمی تستوسترون، تعداد اسپرم و درصد اسپرم‌های بدشکل در گروه‌های مختلف آزمایشی

متغیر	گروه‌ها	کنترل (C)	دیابتی (D)	دیابتی + عصاره (DK)
تعداد اسپرم $\times 10^6$		۲۰۸ ± ۱/۸	۶۰/۷۵ ± ۴/۹**	۲۰۸/۲۵ ± ۰/۹۵
اسپرم‌های بدشکل (۰/۰)		۱۱/۳۱ ± ۰/۲۳	۱۸/۳۰ ± ۰/۵۷**	۱۰/۵۰ ± ۰/۴۰
تستوسترون (نانوگرم بر میلی لیتر)		۰/۷۹ ± ۰/۰۰۹	۰/۴۸ ± ۰/۰۱۲**	۰/۷۷ ± ۰/۰۱۸

** اختلاف معنی دار ($p \leq 0.01$) با گروه‌های کنترل دیابتی (C) و دیابتی درمان شده با خاکشیر (DK). نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار بیان شده است.

به طوری که بسیاری از سلول‌ها در محل طبیعی نبودند (شکل شماره ۱: B)، درحالی که در گروه دیابتی درمان شده با عصاره دانه خاکشیر از لحاظ ساختاری، رده‌های سلولی وضعیت طبیعی داشته و به طور منظم در کنار همدیگر قرار داشتند و هیچ گونه آسیبی در اتصال مابین سلول‌ها و سایر بخش‌های بیضه و لوله‌های منی‌ساز مشاهده نشد (شکل شماره ۱: C).

در گروه کنترل سالم، هیچ گونه ضایعه خاصی در لوله‌های منی‌ساز دیده نشد و تمامی رده‌های سلولی اسپرماتوژنز در داخل لوله‌ها به صورت منسجم و در کنار هم مشاهده شدند (شکل شماره ۱: A). اما در گروه دیابتی درمان نشده، برخی از سلول‌های رده اسپرماتوژنز در لوله‌ها وجود نداشت و در ارتباطات بی-سلوله، سلول‌های رده اسپرماتوژنز دچار آسیب شده،



شکل شماره ۱: برش عرضی از بافت بیضه با بزرگنمایی $400\times$ و رنگ آمیزی H&E در گروه‌های مختلف آزمایشی

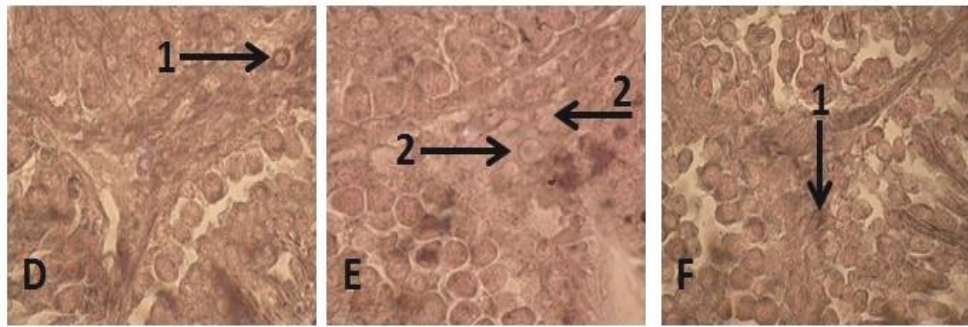
شکل A: در مقطع عرضی لوله‌های منی‌ساز گروه کنترل سالم در رده‌های سلولی، هیچ گونه ضایعه‌ای مشاهده نمی‌گردد.

شکل B: مقطع عرضی لوله‌های منی‌ساز گروه دیابتی را نشان می‌دهد که کاهش ضخامت اپی‌تلیومی قابل مشاهده است. همچنین سلول‌های موجود در رده اسپرماتوژنز تا حد زیادی ارتباطات خود را از دست داده و انسجام لازم مابین این سلول‌ها وجود ندارد.

شکل C: مقطع عرضی از لوله‌های منی‌ساز در گروه دیابتی تحت درمان با خاکشیر می‌باشد. در این شکل عصاره دانه خاکشیر توانسته بافت بیضه را از آسیب بافتی محافظت کند، همان‌طور که دیده می‌شود سلول‌های رده اسپرماتوژنز به طور کامل و منظم در کنار یکدیگر قرار دارند.

نتیجه سنتز تستوسترون دچار نقص گردید (شکل شماره ۲: E). در گروه تیمار با عصاره دانه خاکشیر، سلول‌های لایدیگ تیره‌رنگ شده و سنتز تستوسترون به حالت طبیعی رسید که نشان‌دهنده عملکرد طبیعی سلول‌های لایدیگ در این گروه بود، همچنین تمامی یافته‌های حاصل از رنگ‌آمیزی سودان بلاک با یافته‌های هورمون تستوسترون همخوانی داشت (شکل شماره ۲: F).

در رنگ‌آمیزی سودان بلاک B، سلول‌های لایدیگ در بافت بیضه گروه کنترل سالم دارای سیتوپلاسمی تیره‌رنگ بودند که نشانگر تولید تستوسترون (بروز هورمون‌های استروئیدی) بود (شکل شماره ۲: D). در گروه دیابتی، سیتوپلاسم برخی از سلول‌های لایدیگ واکوئله شده و دارای رنگ روشن بودند که بیانگر اختلال در عملکرد سلول‌های لایدیگ این گروه بود و در



شکل شماره ۲: بافت بیضه (سلول‌های لایدیگ) با بزرگنمایی $1000\times$ و رنگ آمیزی سودان بلاک B در گروه‌های مختلف آزمایشی

شکل D: نشان‌دهنده مقطع بافتی از سلول‌های لایدیگ است که سیتوپلاسم این سلول‌ها تیره‌رنگ می‌باشد (فلش ۱).

شکل E: سلول‌های لایدیگ در گروه دیابتی را نشان می‌دهد (فلش ۲)، سیتوپلاسم این سلول‌های آسیب‌دیده واکوئله شده است. همچنین سیتوپلاسم برخی از سلول‌ها روشن بوده که این خود نشانگر آسیب این سلول‌ها از لحاظ عملکردی است.

شکل F: گروه دیابتی درمان‌شده با خاکشیر را نشان می‌دهد که سلول‌های لایدیگ سیتوپلاسم به‌صورت تیره‌رنگ قابل مشاهده است و مشابه گروه کنترل سالم می‌باشد.

بحث

با توجه به اینکه میان ROS و نسبت اسپرم‌های ناهنجار، ارتباط معنی‌داری وجود دارد (۲۸)، بنابراین ایجاد اسپرم‌های غیرطبیعی در گروه دیابتی و بهبود یافتن آن با خاکشیر در این مطالعه، نشان‌دهنده کاهش ROS و ارتباط اسپرم‌های غیرطبیعی و ROS می‌باشد. همچنین گزارش شده است بروز استرس اکسیداتیو و افزایش رادیکال‌های آزاد منجر به کاهش سنتز و ترشح تستوسترون نمی‌شود (۲۹). کاهش میزان هورمون تستوسترون نیز منجر به تولید ناکافی اسپرماتوزوئیدها می‌گردد. تستوسترون به‌عنوان یک هورمون آندروژن در تکامل، تکثیر و تمایز اسپرماتیدهای گرد متمایل به کشیده نقش اساسی ایفا کرده (۳۰) و عملکرد میل جنسی را نیز تقویت می‌کند (۳۱).

در واقع، سالم بودن سلول‌های زایا و توانایی آنها برای تقسیم میتوز، وابسته به ترشح هورمون تستوسترون به‌وسیله سلول‌های لایدیگ می‌باشد (۳۲). در تحقیق حاضر، میزان هورمون تستوسترون در موش‌های مبتلا به دیابت کاهش نشان داد، درحالی‌که در گروه تحت تیمار افزایش مشاهده شد. بنابراین، اختلال در بیوسنتز تستوسترون می‌تواند اثر مضر بر باروری داشته باشد (۳۳). افزایش سطح سرمی تستوسترون در گروه تیمار شده با دانه خاکشیر به‌وسیله رنگ‌آمیزی سودان بلاک B نیز تأیید شده است. در این گروه، سیتوپلاسم سلول‌های لایدیگ تیره‌تر مشاهده می‌شوند که این مسئله خود نشان‌دهنده افزایش تولید تستوسترون می‌باشد، درحالی‌که در گروه دیابتی، سیتوپلاسم این سلول‌ها روشن‌تر و واکوئله بوده که خود نشان‌دهنده کاهش تولید تستوسترون به‌وسیله سلول‌های لایدیگ است.

در این مطالعه، دانه خاکشیر سطح سرمی تستوسترون را افزایش داد که در نتیجه موجب افزایش تعداد اسپرم در رت‌های مبتلا به دیابت شد. همچنین مطالعات مورفومتریک نشان داد قطر لوله‌های منی‌ساز، ضخامت اپی‌تلیوم، ضریب اسپرمیوژنز و بافت بینابینی مابین لوله‌های منی‌ساز در گروه تحت تیمار افزایش یافته، به‌طوری‌که بین گروه دیابتی و گروه تحت درمان، اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. آتروفی لوله‌های منی‌ساز و کاهش تراکم سلولی اسپرماتوژنیک در دیابت، نشان‌دهنده اختلالات مورفولوژیکی در اسپرماتوژنز و مرگ سلول جنسی می‌باشد (۲۲، ۲۳). در این بیماری افزایش ضخامت غشای پایه لوله‌های اسپرم‌ساز باعث کاهش اسپرم‌سازی می‌شود (۲۴). همچنین تعداد اسپرم، یک شاخص مهم مربوط به باروری مرد بوده که می‌تواند در عملکرد سیستم تولیدمثلی تغییر ایجاد کند (۲۵). با توجه به نتایج تحقیقات، این بیماری دارای اثر زیان‌آور بر تولید اسپرم‌های طبیعی و اسپرماتوژنز است (۲۶). همچنین در یافته‌های مطالعه حاضر، آثاری از ضخیم‌شدگی ناشی از دیابت در لوله‌های اسپرم‌ساز گروه تحت تیمار مشاهده نشد که این موضوع نشان‌دهنده افزایش تعداد اسپرم و ضریب اسپرمیوژنز می‌باشد. از طرف دیگر، گزارش شده است ارتباط مثبتی بین قطر لوله‌های منی‌ساز و فعالیت اسپرماتوژنز وجود دارد (۲۵). بنابراین، افزایش قطر لوله‌های منی‌ساز و ضریب اسپرمیوژنز در گروه تحت تیمار با دانه خاکشیر، امری کاملاً طبیعی به‌نظر می‌رسد، که این یافته‌ها با نتایج Turk و همکاران در مورد آب انار همخوانی داشت (۲۷).

نتیجه گیری

با توجه به نتایج مطالعه حاضر به نظر می‌رسد دانه خاکشیر می‌تواند از طریق تأثیر بر بافت بیضه و کاهش ROS باعث افزایش عملکرد آن و با افزایش میزان اسپرماتوژنز، تولید تستوسترون و بهبود فاکتورهای اسپرمی موجب افزایش باروری در بیماری دیابت گردد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از معاونت پژوهشی و آموزشی دانشگاه ارومیه (به شماره ۰۲۹/ع/۹۰) که در تأمین هزینه‌های این مطالعه ما را یاری کردند، قدردانی می‌گردد.

همچنین کاهش قابل توجه تستوسترون می‌تواند یکی از علل تغییرات بافتی مشاهده شده در بافت بیضه باشد (۳۴)، که این کاهش موجب آسیب سلول‌های بینابینی و تحلیل اپی‌تلیوم زاینده لوله‌های اسپرم‌ساز می‌شود (۳۵). در این پژوهش افزایش تستوسترون در گروه تحت تیمار منجر به کاهش ضخامت بافت بینابینی مابین لوله‌ها و افزایش ضخامت اپی‌تلیوم شد. با توجه به یافته‌های به دست آمده در این تحقیق می‌توان نتیجه گرفت خاکشیر به علت داشتن ترکیبات آنتی‌اکسیدانی با کاهش رادیکال‌های آزاد، ROS و با اثر بر لوله‌های منی‌ساز بافت بیضه، روند اسپرماتوژنز را تحت تأثیر قرار داده و موجب بهبودی بافت بیضه می‌شود.

References:

1. Nathan DM. Long-term complications of diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1993;328(23):1676-85.
2. Jiang GY. Practical diabetes. Beijing: People's Health Publishing House 1996. p. 295.
3. Kar A, Choudhary BK, Bandyopadhyay NG. Preliminary studies on the inorganic constituents of some indigenous hypoglycemic herbs on oral glucose tolerance test. *J Ethnopharmacol* 1999;64(2):179-84.
4. Murray FT, Cameron DF, Orth JM, Katovich MJ. Gonadal dysfunction in the spontaneously diabetic BB rats: Alteration of the testes morphology, serum testosterone and LH. *Horm Metab Res* 1985;17(10):495-501.
5. Vignon F, Le Faou A, Montagnon D, Pradignac A, Cranz C, Winiszewsky P, et al. Comparative study of semen in diabetic and healthy men. *Diabete Metab* 1991;17(3):350-4.
6. Soudamani S, Yuvaraj S, Rengarajan S, Sivakumar R, Malini T, Balasubramanian K. Effects of streptozotocin in diabetes and insulin replacement on androgen and estrogen receptor concentrations in the epididymis of Wistar rats. *JER* 2006; 10(1):59-61.
7. Baccetti B, Lamarca A, Piomboni P, Capitani S, Bruni E, Petranglia F. Insulin dependent diabetes in men is associated with hypothalamo-pituitary derangement and with impairment in semen quality. *Hum Reprod* 2002;17(10):2673-7.
8. Abdullah Nejad A, Goals A, Dabiri SH, Javadi AB. Effects of garlic juice on diabetes-induced testicular damage in rats. *Iran J Endocrinol Metab* 2009;11(4):443-53. [Full Text in Persian]
9. Noori M, Khaki SH, Fathiazar F, Rashidi M. The protective effects of carrot seed extract on spermatogenesis and cauda epididymal sperm reserves in gentamicin treated rats. *Cell J (Yakhteh)* 2009;3:327-33. [Full Text in Persian]
10. Soury E, Amm G, Farsam H, Barazandeh Tehrani M. Screening of antioxidant activity and phenolic content of 24 medicinal plant extracts. *DARU* 2008;16(2):83-7.
11. Mathew S, Abraham TE. In vitro antioxidant activity and scavenging effects of cinnamomumverum leaf extract assayed by different methodologies. *Food Chem Toxicol* 2006;44(2):198-206.
12. Mohamadiniya N, Rezaei MA, Loripoor M, Vazirinejad R. Assessment of the effect of sisymbrium consumption on spontaneous labor in Nulipars. *Zahedan J Res Med Sci* 2008;10(2):84-79. [Full Text in Persian]

13. Sun K, Li X, Liu JM, et al. A novel sulphur glycoside from the seeds of *descurainia sophia*. *J Asian Nat Prod Res* 2005;7(6):853-6.
14. Johari H, Sharifi A, Ansari N, Hosseini M, Amiri F. Effect of hydro alcoholic ginger extracts on the body weight, testis weight and spermatogenesis in male rats undergoing chemotherapy with cyclophosphamide. *J Shaheed Sadoughi Univ Med Sci* 2010;(17)5:365-74. [Full Text in Persian]
15. Sancheti S, Sancheti Sh, Bafna M, Seo SY. Antihyperglycemic, antiyper lipidemic, and antioxidant effects of *Chaenomelessinis* fruit extract in streptozotocin induced diabetic rats. *Eur Food Res Technol* 2010;231:415-21.
16. Nasrolahi O, Khaneshi F, Rahmani F, Razi M. Honey and metformin ameliorated diabetes-induced damages in testes of rat; correlation with hormonal changes. *Iran J Reprod Med* 2013;11(12):1013-20.
17. Khaki A, Peyrovi T. Effect of ciprofloxacin on caudal epididymis sperm quality and apoptosis. *Urmia Med J* 2008;19(1):29-35. [Full Text in Persian]
18. Li H, Chen Q, Li S, Yao W, Li L, Shi X, et al. Effect of Cr (VI) exposure on sperm quality: Human and animal studies. *Ann Occup Hyg* 2001;45(7):505-11.
19. Soudmany S, Yuvaraj S, Malini T, Balasubramanian K. Experimental diabetes has adverse effects on the differentiation of ventral prostate during sexual maturation of rats. *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol* 2005;287(2):1281-9.
20. Ashraf H, Khaneshi F, Rafiee Raki F, Nejati V. Evaluation of aqueous extract of *erberis integerrima* root on the testis tissue and testosterone levels in streptozotocine (stz) induced diabetic rats. *Qom Univ Med Sci J* 2013;7(4):28-35. [Full Text in Persian]
21. Khayatnori MH, Khaki A, Safavi A, Sarafinoori H. Effect of growth hormone on the testis and the index spermiogenesis following administration of methotrexate in rat. *J Vet Med (Sanandaj)* 2010;3(9):77-85. [Full Text in Persian]
22. Cameron DF, Murray FT, Drylie DD. Interstitial compartment pathology and spermatogenic disruption in testes from impotent diabetic men. *Anat Rec* 1985;213(1):53-62.
23. Scarano WR, Messias AG, Oliva SU, Klinefelter GR, Kempinas WG. Sexual behavior, sperm quantity and quality after short-term streptozotocin-induced hyperglycaemia in rats. *Int J Androl* 2006;29(4):482-8.
24. Vignon F, Le Faou A, Montagnon D, Pradignac A, Cranz C, Winiszewsky P, et al. Comparative study of semen in diabetic and healthy men. *Diabete Metab* 1991;17(3):350-4.
25. Meistrich ML, Brown CC. Estimation of the increased risk of human infertility from alterations in the semen characteristics. *Ferti Steril* 1983;40(2):220-30.
26. Mosher WD, Pratt WF. Fecundity and infertility in the United States: incidence and trends. *Ferti Steril* 1991;56(3):192-3.
27. Turk G, Sönmez M, Aydın M, Yüce A, Gur S, Yüksel M, et al. Effects of pomegranate juice consumption on sperm quality, spermatogenic cell density, antioxidant activity and testosterone level in male rats. *Clin Nutr* 2008;27(2):289-96.
28. Narayana K, Dsouza UJ, Pao KP. Ribavirin induced sperm shape abnormalities in wistar rat. *Mutat Res* 2002;513(1-2):193-6.
29. Bairy KL, Kumar G, Rao Y. Effect of acyclovir on the sperm parameters of albino mice. *Indian J Physiol Pharmacol* 2009;53(4):327-33.

30. McLachlan RI, Odonnel L, Meachem SJ, Stanton PG, de Kretser DM, Pratis K, et al. Identification of specific sites of hormonal regulation in spermatogenesis in rat, mankeys and men. *Recent Prog Horm Res* 2002;57:149-79.
31. Ewing LL, Keeney DS. Leyding cells, structure and Function. In: Desjardins C, Ewing LL, Editor. *Cell and molecular biology of the testis*. New York: Oxford University Press; 1993. p. 137-165.
32. Shan L, Hardy DO, Catterall JF, Hrdy MP. Effect of Luteinizing hormone (LH) and androgen on study state levels of messenger ribonucleic acid LH receptor, androgen receptor and steroidogenic enzymes in rat leiding cell progenitors in vivo. *Endocrinology* 1995;136:1686-93.
33. Yang J, Zhang Y, Wang Y, Cui S. Toxic effects of zearalenone and alpha-zearalenol on the regulation of steroidogenesis and testosterone production in mouse leydig cells. *Toxicol in vitro* 2007;21(4):558-65.
34. Ozdemin O, Akalin PP, Baspinar N, Hatipoglu F. Pathological changes in the acute phase of streptozotocin-induced diabetic rats. *Bull Vet Inst Pulawy* 2009;53:783-90.
35. Mokhtari M, Shariati M, Champion B. Aqueous extract of fenugreek seeds on hormone testosterone and spermatogenesis in rats. *J Medicinal Herbs* 2006;9(7):25-28. [Full Text in Persian]