Quarterly of the Horizon of Medical Sciences
Volume 20, Issue 1, 2014
Pages: 49-55
Type: Original Research

Effect of Hydroalcoholic Extract of *Plantago major* Leaf on the Testis Morphology, Sperm Parameters and Testosterone Level in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats

Nejati V.[1] ***PhD*****, Khanshi F.*** ***PhD***

*Comparative Histology Department, Veterinary Medicine Faculty, Urmia University, Urmia, Iran
[1]Biology Department, Science Faculty, Urmia University, Urmia, Iran

Abstract

Aims: Diabetes can cause sexual dysfunction in people. The aim of this study was to investigate the effect of leaf extract of plantain (*Plantago major*) on testis morphology, sperm parameters and serum testosterone levels in the diabetic rats.

Materials & Methods: 24 male rats were randomly divided into three control (C; received normal saline), diabetic (DP) that received 100mg/kg of body weight of extract daily for 42 days intraperitoneally and the diabetic control (D) groups. After treatment, blood samples were collected to determine serum testosterone immediately. Sperms were collected from the epididym tail and sperm count and morphology were evaluated. Tissue sections were prepared from testis and Hematoxylin-Eosin and Oil-Red-Oil staining were done and the slides were examined by light microscope. Data was analyzed by ANOVA test.

Findings: Treatment with plantain leaf extract significantly increased serum testosterone level significantly in DP group compared to group D ($p<0.05$), but there was no significant difference between C and DP groups. The number of Leydig cells in the DP group was significantly increased compared to group D ($p<0.05$), whereas no significant difference was seen between C and DP groups. Treatment with plantain leaf extract significantly increased sperm count and decreased the level of abnormal sperm in DP group compared with group D ($p<0.001$), but no significant difference was seen between DP and C groups.

Conclusion: Plantain increases the fertility of diabetic patients by increasing spermatogenesis.

Keywords
Leydig Cells (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68007985);
Rat (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68051381);
Diabetes;
Plantain;
Sperm

* Corresponding Author
Tel: +984412752740
Fax: +984412753172
Address: Biology Department, Science Faculty, Kilometer 11th of Sarv Road, Daneshgah Boulevard, Urmia University, Urmia, Iran. Postal Code: 5756151818
f.khaneshi@yahoo.com
Received: June 21, 2013 Accepted: March 1, 2014 ePublished: April 1, 2014

اثر عصاره هیدروالکلی برگ بارهنگ بر شکل بیضه، پارامترهای اسپرمی و سطح تستوسترون در موش‌های نر دیابتی‌شده با استرپتوزوتوسین

وحید نجاتی PhD
گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
فرشته خانشی* PhD
گروه بافت‌شناسی مقایسه‌ای، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

چکیده
اهداف: ابتلا به دیابت، سبب اختلالات جنسی در افراد می‌شود. هدف از این مطالعه، بررسی اثر عصاره برگ بارهنگ بر مورفولوژی بافتی بیضه، پارامترهای اسپرمی و غلظت سرمی تستوسترون در موش‌های صحرایی دیابتی‌شده بود.
مواد و روش‌ها: ۲۴ سر موش صحرایی نر به‌طور تصادفی به سه گروه کنترل (C؛ دریافت‌کننده نرمال‌سالین)، دیابتی (DP) که عصاره برگ بارهنگ را با دوز ۱۰۰میلی‌گرم‌برکیلوگرم وزن بدن به‌طور روزانه به‌مدت ۴۲ روز و به روش داخل صفاقی دریافت کردند و کنترل دیابتی (D)تقسیم شدند. پس از اتمام تیمار، برای تعیین غلظت سرمی تستوسترون بلافاصله خون‌گیری انجام شد. اسپرم‌ها از دم اپیدیدیم جمع‌آوری و تعداد و شکل اسپرم‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت. مقاطع بافتی از بیضه تهیه و رنگ‌آمیزی‌های هماتوکسیلین- ائوزین و اُیل- رِد- اُیل انجام شد و اسلایدها با میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفتند. داده‌ها با استفاده از آزمون واریانس یک‌طرفه تحلیل شدند.
یافته‌ها: تیمار با عصاره برگ بارهنگ در گروه DP باعث افزایش معنی‌داری در غلظت سرمی تستوسترون نسبت به گروه D شد ($p<۰/۰۵$)، اما بین گروه‌های C و DP اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده نشد. تعداد سلول‌های لایدیگ در گروه DP افزایش معنی‌داری نسبت به گروه D داشت ($p<۰/۰۵$)، درحالی‌که بین گروه C و DP اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. تیمار با عصاره برگ بارهنگ در گروه DP باعث افزایش معنی‌داری در تعداد اسپرم و کاهش معنی‌داری در درصد اسپرم‌های غیرطبیعی نسبت به گروه D شد ($p<۰/۰۰۱$)، اما بین گروه DP و C اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد.
نتیجه‌گیری: بارهنگ با افزایش اسپرماتوژنز موجب افزایش باروری در موش‌های دیابتی می‌شود.
کلیدواژه‌ها: بیضه، موش، دیابت، بارهنگ، اسپرم

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۰۳/۲۱
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۱۲/۱۰
*نویسنده مسئول: f.khaneshi@yahoo.com

مقدمه
ناباروری و مشکلات مربوط به آن، از مسایل مهم در زندگی زوجین است[1]. شایع‌ترین علت ناباروری مردان، عدم توانایی آنان در تولید اسپرم‌های سالم و فعال به تعداد کافی است[2, 3]. ابتلا به دیابت، سبب اختلالات جنسی در افراد می‌شود و در ۹۰٪ بیماران دیابتی، میل جنسی و قدرت باروری کاهش می‌یابد[4]. در حیوانات آزمایشگاهی نیز با استفاده از داروی استرپتوزوتوسین برای القای دیابت، نقص در فعالیت بافت بیضه و تجزیه آن مشاهده می‌شود[5]. بیماری دیابت اثرات منفی متنوعی بر عملکرد و ساختار سیستم تولیدمثلی جنس نر دارد و موجب کاهش تولید تستوسترون و فرآیند اسپرماتوژنز می‌شود[6, 7]. همچنین کاهش تعداد اسپرم و افزایش اسپرم‌های ناهنجار در افراد دیابتی گزارش شده است[8, 9].
طی سالیان متمادی، در سراسر جهان برای درمان و پیشگیری از دیابت و عوارض ناشی از آن گیاهان دارویی استفاده می‌شود، اما تنها اثرات تعداد کمی از گیاهان به‌طور علمی بررسی شده است. استفاده از گیاهان دارویی که بر افزایش باروری و نیز درمان عدم تعادل هورمونی، ناتوانی جنسی، ضعف جنسی، اولیگواسپرمیا، حرکت کُند اسپرم، التهاب پروستات، واریکوسل و غیره تاثیر مثبت دارد، از دیرباز مورد توجه بوده است[10]. از جمله گیاهان مورد استفاده در درمان دیابت گونه‌های آلیوم (*alluim*) متعلق به خانواده لیلیاسیائه (Liliaceae) است. عصاره آبی سیر از این خانواده، اثر درمانی و پیشگیری بر آسیب‌های بافتی بیضه در موش‌های دیابتی‌شده دارد و از کاهش میزان اسپرماتوژنز و تخریب بافتی بیضه جلوگیری می‌کند[11]. پیاز نیز به‌عنوان آنتی‌اکسیدان، با کاهش رادیکال‌های آزاد در موش‌های دیابتی می‌تواند تعداد اسپرم را افزایش دهد[12]. در حال حاضر، طب گیاهی سهم عمده‌ای در تهیه داروهای تجاری دارد[11].
در این پژوهش از بارهنگ کبیر (*Plantago major*) از خانواده پلانتاجیناسیائه (Plantaginaceae) که دارای خواص درمانی گسترده در طب سنتی و حاوی متابولیت‌های ثانویه‌ای مانند ویتامین ث و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی است، استفاده شده است[13, 14]. پژوهش‌ها نشان داده‌اند که بارهنگ دارای خاصیت هیپوگلایسمی و کاهنده قند خون است[15]. همچنین این گیاه با دارابودن گلیکوزیداز فنولی به‌عنوان عامل ضدسرطان قوی، در مهار کارسینومای سینه موثر است. گلیکوزیداز فنولی با تاثیر بر بافت بیضه موجب افزایش اسپرماتوژنز در موش‌های صحرایی نر می‌شود[16]. از آنجا که مواد فلاونوتیدی و آنتی‌اکسیدانی موجب ازبین‌بردن رادیکال‌های آزاد در بیماران دیابتی می‌شوند، این مطالعه با هدف بررسی اثر عصاره برگ بارهنگ بر مورفولوژی بافتی بیضه، پارامترهای اسپرمی و غلظت سرمی تستوسترون در موش‌های صحرایی نر دیابتی‌شده با استروپتوزوتوسین انجام شد.

مواد و روش‌ها
این مطالعه تجربی آزمایشگاهی در گروه زیست‌شناسی دانشگاه ارومیه انجام شد. در این مطالعه از ۲۴ سر موش صحرایی نر ویستار

با وزن متوسط ۲۰۰ تا ۲۳۰گرم (مرکز نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه ارومیه؛ ایران) استفاده شد. حیوانات در اتاقی با حرارت ۲±۲۴°C و تحت شرایط نوری ۱۴ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت تاریکی نگهداری شدند. رژیم غذایی معمولی (پلت) در اختیار موش‌ها به‌طور یکسان قرار گرفت و در طول مدت آزمایش طبق دستورالعمل‌های بین‌المللی مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی، با آنها رفتار شد. موش‌ها به‌طور تصادفی به ۳ گروه هشت‌تایی تقسیم شدند. به موش‌های صحرایی سالم گروه کنترل (C) معادل حجم عصاره تزریقی به سایر گروه‌ها، سرم فیزیولوژی تزریق شد. موش‌های صحرایی دیابتی گروه دوم (DP) عصاره برگ بارهنگ را با دوز ۱۰۰میلی‌گرم‌برکیلوگرم وزن بدن (پس از بررسی غلظت‌های مختلف به‌صورت آزمایشی) به‌طور روزانه به‌مدت ۴۲ روز با سرنگ انسولین و به روش داخل صفاقی در شرایط استریل دریافت کردند. موش‌های صحرایی دیابتی گروه سوم (D) نیز به‌عنوان کنترل دیابتی در نظر گرفته شدند.

نمونه‌های بارهنگ از حومه شهرستان ارومیه (استان آذربایجان غربی) در مهر ماه سال ۱۳۸۹ جمع‌آوری شد و مورد بررسی و تایید گروه سیستماتیک دانشکده علوم دانشگاه ارومیه قرار گرفت. ابتدا برگ‌های گیاه بارهنگ در سایه، خشک و پس از پودرشدن در درون ارلن یک‌لیتری ریخته شد و به آن الکل اتیلیک ۹۶٪ اضافه گردید (۲۴گرم به ازای هر ۲۰۰سی‌سی الکل اتیلیک) و به‌مدت ۲۴ ساعت روی دستگاه شیکر قرار گرفت. عصاره بارهنگ توسط دستگاه روتاری (برای حذف الکل) تغلیظ شده و به‌منظور خشک‌شدن، در دستگاه آون به‌مدت ۲۴ ساعت با دمای ۵۰°C قرار داده شد[17].

برای ایجاد دیابت نوع I از استروپتوزوتوسین (Sigma؛ ایالات متحده) استفاده شد. دوز داروی به‌کار برده شده برای دیابتی‌کردن موش‌های صحرایی ۶۵میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن بود که پس از حل‌کردن در بافر سیترات (pH=۵/۴) به‌صورت داخل صفاقی به آنها تزریق شد[18]. در طول ۵ روز پس از تزریق استرپتوزوتوسین وضعیت ظاهری حیوان و میزان مصرف آب نسبت به گروه کنترل مقایسه و در روزهای سوم و هفتم غلظت گلوکز سرم با خونگیری از دم موش و با استفاده از دستگاه گلوکومتر (On-Call®EZ؛ ایالات متحده) اندازه‌گیری شد تا از ایجاد بیماری اطمینان حاصل شود. موش‌هایی که ۷ روز پس از تزریق استرپتوزوتوسین، دارای غلظت گلوکز بالاتر از ۳۰۰میلی‌گرم‌بردسی‌لیتر بودند دیابتی در نظر گرفته شدند[19].

پس از اتمام دوره تیمار بلافاصله خونگیری از قلب حیوانات مورد آزمایش انجام شد و نمونه‌های خونی به لوله‌هایی حاوی هپارین منتقل و پس از سانتریفیوژ در ۳۰۰۰rpm برای ۱۰ دقیقه، غلظت سرمی تستوسترون اندازه‌گیری شد. پس از آسان‌کشی موش‌ها، ناحیه تحتانی دم اپیدیدیم به ظرف محتوی سرم فیزیولوژی منتقل و اسپرم‌ها جداسازی شد. سوسپانسیون اسپرمی حاصله به نسبت ۱:۱۰۰ برای محاسبه تعداد اسپرم در زیر میکروسکوپ نوری با لام نئوبار و پیپت ملانژور مورد بررسی قرار گرفت[20]. به‌منظور بررسی شکل اسپرم یک قطره از سوسپانسیون فوق روی لام قرار داده شد. پس از خشک‌شدن در محیط آزمایشگاه روی آن متانول ریخته شد تا تثبیت شود. برای رنگ‌آمیزی روی نمونه‌ها ائوزین ریخته شد و برای مطالعه برای هر موش ۱۰ لام به روش فوق و در هر لام ۷ میدان با بزرگنمایی ۴۰۰برابر به شکل تصادفی انتخاب شد و از لحاظ خصوصیات مورفولوژیک از قبیل دو سر–، دو دم– و بی‌دم‌بودن (اسپرم‌های غیرطبیعی) مورد ارزیابی قرار گرفت[21]. بافت‌های بیضه به‌منظور تثبیت به ظروف حاوی فرمالین ۱۰٪ انتقال داده شدند. پس از تثبیت نمونه‌ها و تهیه مقاطع بافتی، رنگ‌آمیزی‌های هماتوکسیلین– ائوزین (H&E) و اُیل– رِد– اُیل (Oil-Red-Oil) انجام شد و اسلایدها با میکروسکوپ نوری مورد مطالعه و بررسی قرار گرفتند. برای شمارش سلول‌های لایدیگ با بزرگ‌نمایی ۱۰۰۰برابر مقاطع بافتی تهیه شد. اندازه‌گیری قطر لوله‌های منی‌ساز توسط روش سودمانی انجام گرفت[22].

برای محاسبه ضخامت اپیتلیوم لوله‌های منی‌ساز از اسپرماتوگونی‌های موجود در زیر دیواره لوله‌های منی‌سازِ یک طرف لوله تا جایی که اسپرماتیدها وجود داشتند، با عدسی مدرج (برحسب میکرومتر) محاسبه شد. تنها لوله‌های منی‌ساز با مقطع گرد یا نزدیک به گرد مورد بررسی قرار گرفتند[23]. برای تعیین ضریب اسپرمیوژنز در هر میدان دید میکروسکوپی با توجه به تعداد لوله‌های منی‌ساز فاقد اسپرم یا واجد اسپرم علامت‌های منفی و مثبت به گروه‌ها داده شد[24]. محاسبه ضخامت بافت بینابینی نیز با عدسی مدرج (برحسب میکرومتر) انجام شد[23]. اندازه‌گیری هورمون تستوسترون نیز با روش الایزا با استفاده از کیت اختصاصی (Diaplus؛ ایالات متحده) صورت گرفت.

داده‌ها در نرم‌افزار SPSS 16 و با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه تحلیل شدند. از آزمون‌های تعقیبی توکی برای تشخیص معنی‌داری اختلاف میانگین‌ها استفاده شد.

یافته‌ها

قطر لوله‌های منی‌ساز، ضخامت اپیتلیوم و ضریب اسپرمیوژنز در گروه D در مقایسه با گروه‌های C و DP به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (p<۰/۰۵). بین گروه C و DP اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نشد. ضخامت بافت بینابینی مابین لوله‌ها در گروه دیابتی در مقایسه با گروه‌های C و DP افزایش معنی‌داری نشان داد (p<۰/۰۰۱) ولی اختلاف آماری معنی‌داری بین گروه‌های C و DP وجود نداشت. تیمار با عصاره برگ بارهنگ در گروه DP باعث افزایش معنی‌داری در غلظت سرمی تستوسترون نسبت به گروه D شد (p<۰/۰۵)، اما بین گروه‌های C و DP اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده نشد. تعداد سلول‌های لایدیگ در گروه DP

افزایش معنی‌داری نسبت به گروه D داشت ($p<۰/۰۵$)، در حالی‌که بین گروه C و DP اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. تیمار با عصاره برگ بارهنگ در گروه DP باعث افزایش معنی‌داری در تعداد اسپرم و کاهش معنی‌داری در درصد اسپرم‌های غیرطبیعی نسبت به گروه D شد ($p<۰/۰۰۱$)، اما بین گروه DP و C اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۱).

جدول ۱) مقایسه میانگین قطر لوله‌های سمینیفروس، ضریب اسپرمیوژنز، ضخامت بافت بینابینی، ضخامت اپیتلیوم، سطح سرمی تستوسترون، میانگین تعداد اسپرم و اسپرم‌های غیرطبیعی در گروه‌های مختلف آزمایشی

گروه کنترل (C)	گروه دیابتی (D)	گروه عصاره (DP)
قطر لوله‌های سمینیفرس (میکرومتر)		
۲۱۱/۷۵±۱/۷۰	۱۶۵/۷۵±۲/۲۱*	۲۱۰/۲۵±۱/۷۰
ضریب اسپرمیوژنز (٪)		
۹۴/۷۵±۰/۹۵	۶۶/۲۵±۱/۵۰*	۹۳/۷۵±۰/۵۰
ضخامت بافت بینابینی (میکرومتر)		
۷/۱۳±۰/۱۰	۱۹/۵۷±۰/۰۶**	۶/۹۵±۰/۰۵
ضخامت اپیتلیوم (میکرومتر)		
۴۴/۰۰±۰/۸۱	۳۴/۰۲±۰/۹۵*	۴۳/۰۰±۰/۸۱
تعداد اسپرم ($\times ۱۰^{۶}$)		
۴۹/۷۰±۱/۱۷	۳۰/۷۹±۱/۱۱**	۴۹/۰۰±۱/۷۷
اسپرم غیرطبیعی (٪)		
۱۱/۳۱±۰/۲۳	۱۸/۵۰±۰/۷۵**	۱۰/۸۷±۰/۲۵
تستوسترون (نانوگرم/میلی‌لیتر)		
۰/۷۸±۰/۰۲	۰/۴۸±۰/۰۱*	۰/۷۹±۰/۰۱

*$p<۰/۰۵$ (نسبت به گروه‌های C و DP)؛ **$p<۰/۰۰۱$ (نسبت به گروه‌های C و DP)

در گروه C، لوله‌های منی‌ساز از لحاظ ظاهری کاملاً سالم بودند و تمامی رده‌های سلولی اسپرماتوژنز وجود داشتند (شکل ۱، A)، اما در گروه D کاهش رده‌های سلولی اسپرماتوژنز مشاهده شد (شکل ۱، B). در گروه DP وضعیت ظاهری لوله‌های منی‌ساز طبیعی بود و تمامی رده‌های سلولی به‌طور کامل در کنار هم به‌صورت منظم مشاهده شد (شکل ۱، C). سلول‌های لایدیگ در گروه‌های C (شکل ۱، D) و DP (شکل ۱، F) حالت طبیعی داشتند ولی وضعیت این سلول‌ها در گروه D (شکل ۱، E) غیرطبیعی بود. بررسی‌های بافتی با رنگ‌آمیزی اُیل- رِد- اُیل با نتایج حاصل از سنجش غلظت سرمی تستوسترون همخوانی داشت.

بحث

عصاره برگ بارهنگ توانست در بهبود بافت بیضه از طریق کاهش تعداد اسپرم‌های غیرطبیعی و آتروفی لوله‌های منی‌ساز و همچنین افزایش فرآیند اسپرماتوژنز و افزایش تعداد سلول‌های لایدیگ و تستوسترون موثر واقع شود.

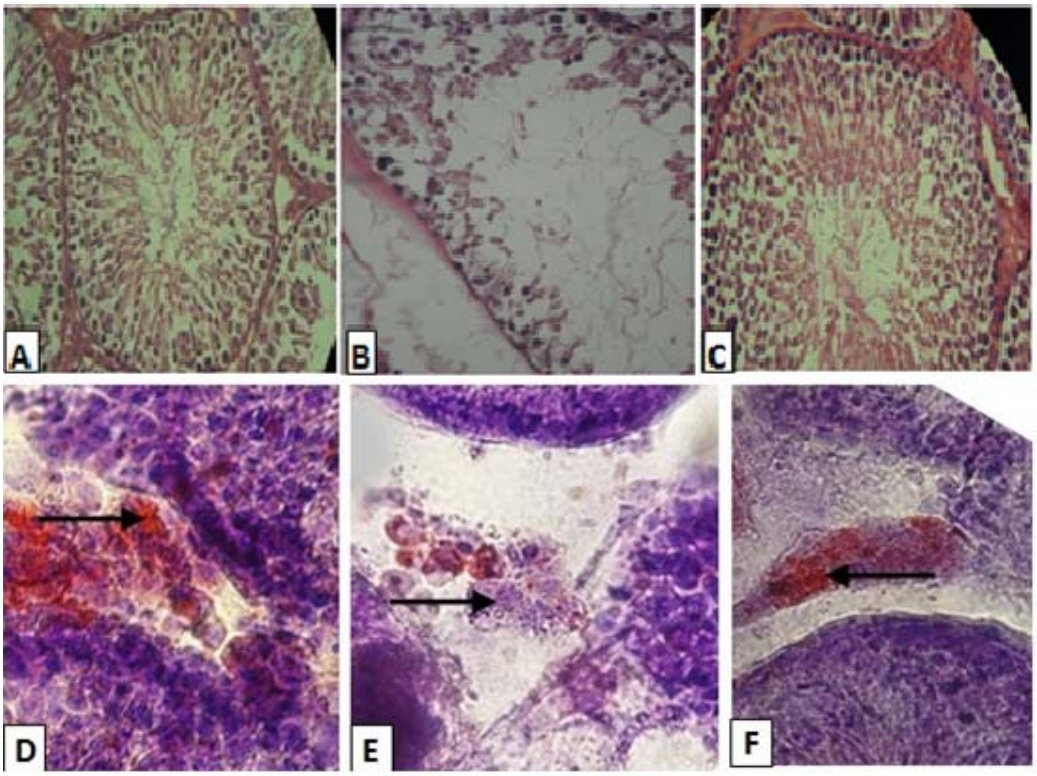
دیابت تغییرات بافتی بیضه‌ای را از طریق ایجاد آپوپتوزیس، آتروفی لوله‌های منی‌ساز، کاهش قطر لوله‌های منی‌ساز وکاهش مجموعه سلولی اسپرماتوژنز ایجاد می‌کند[25] و اثرات زیان‌آوری بر تولید اسپرم‌های طبیعی و اسپرماتوژنز دارد[26]. نقش مهم گونه‌های فعال اکسیژن در ایجاد مشکلات و ناهنجاری‌های بافت بیضه در موش‌های صحرایی دیابتی‌شده، گزارش شده است[27]. آسیب‌دیدگی DNA ناشی از رادیکال‌های آزاد می‌تواند فرآیند آپوپتوزیس سلول‌های جنسی را سرعت بخشیده و باعث کاهش در تعداد سلول‌های جنسی شود که در نهایت، منجر به ناباروری می‌شود[28]. در پژوهش حاضر نیز کاهش تعداد اسپرم در گروه دیابتی وجود داشت، درصورتی‌که در گروه تیمارشده با عصاره افزایش چشم‌گیری در تعداد اسپرم مشاهده شد که این یافته با نتایج بررسی تاثیر پیاز در موش‌های دیابتی سازگار بود. آب پیاز می‌تواند با کاهش گونه‌های فعال اکسیژن بر سلامتی کلی اسپرم در موش‌های دیابتی موثر واقع شود[12]. همچنین با توجه به وجود رابطه بین میزان گونه‌های فعال اکسیژن و تعداد اسپرم‌های ناهنجار[29]، احتمال می‌رود که بارهنگ نیز از طریق کاهش گونه‌های فعال اکسیژن موجب کاهش تعداد اسپرم‌های ناهنجار و تولید طبیعی آنها شود.

تغییرات فراساختاری سلول‌های دیواره لوله‌های منی‌ساز در بافت بیضه در موش‌های صحرایی نر دیابتی با تغییر در میزان هورمون‌های دخیل در فرآیند اسپرماتوژنز می‌تواند موجب اختلال در روند اسپرماتوژنز و در نتیجه کاهش باروری شود[30]. مطالعات هیستومورفومتری و هیستولوژیکی تغییرات بافتی وسیعی را در گروه دیابتی نشان داد؛ با توجه به اینکه آتروفی لوله‌های منی‌ساز نیز نشانه اختلال‌های مورفولوژیک و اسپرماتوژنز در بافت بیضه است[31] و ارتباط مثبتی بین قطر لوله‌های منی‌ساز و فعالیت اسپرماتوژنز وجود دارد[32]، کاهش قطر لوله‌های منی‌ساز و فرآیند اسپرماتوژنز در گروه دیابتی کاملاً طبیعی به‌نظر می‌رسید که نشان‌دهنده آتروفی لوله‌های منی‌ساز بود، درحالی‌که در گروه تیمارشده با عصاره برگ بارهنگ افزایش قطر لوله‌های منی‌ساز و بهبود فرآیند اسپرماتوژنز در این گروه مشاهده شد. به‌طوری‌که کاهش آتروفی لوله‌های منی‌ساز نشان‌دهنده تاثیر مثبت برگ بارهنگ در بافت بیضه بود. یافته‌های مورفولوژی پژوهش حاضر با نتایج *تورک* و همکاران در مورد تاثیر آب انار در بافت بیضه موش‌های دیابتی سازگار است. آب انار نیز می‌تواند با افزایش فرآیند اسپرماتوژنز و قطر لوله‌های منی‌ساز سبب کاهش عوارض ناشی از دیابت شود[33].

براساس نتایج مطالعات، در بیماری دیابت کاهش تولید تستوسترون دیده می‌شود[30]. کاهش قابل توجه تستوسترون می‌تواند یکی از علل تغییرات مشاهده‌شده در بافت بیضه باشد[34]. این کاهش موجب آسیب سلول‌های بافت بینابینی و تحلیل اپیتلیوم زاینده لوله‌های منی‌ساز می‌شود[33]. کاهش ضخامت بافت بینابینی در

گروه دیابتی تیمارشده با برگ عصاره بارهنگ نشان داد که بارهنگ توانسته آثار تخریبی ناشی از دیابت را بهبود بخشد. همچنین *ضخامت* اپیتلیوم در گروه تیمارشده با برگ بارهنگ نسبت به گروه دیابتی افزایش نشان داد. با افزایش سلول‌های لایدیگ در گروه تحت درمان در این پژوهش در مقایسه با گروه دیابتی، می‌توان اینگونه نتیجه گرفت که احتمالاً ترکیبات فنولی موجود در بارهنگ سبب مهار آسیب سلول‌های لایدیگ در حضور رادیکال‌های آزاد می‌شود و از کاهش سنتز تستوسترون جلوگیری می‌کند و تغییرات بافتی بیضه را به حداقل می‌رساند.

افزایش غلظت سرمی تستوسترون در گروه تیمارشده با برگ بارهنگ در رنگ‌آمیزی اُیل- رِد- اُیل نیز تایید شد. در گروه دیابتی سیتوپلاسم سلول‌های لایدیگ روشن‌تر شد که نشان‌دهنده کاهش تولید تستوسترون توسط سلول‌های لایدیگ است. اما در گروه تیمارشده با بارهنگ سیتوپلاسم سلول‌های لایدیگ به‌علت افزایش ترشح تستوسترون قرمزتر مشاهده شد. در مطالعات نشان داده شده که کاهش میزان آندروژن‌های بیضه‌ای بعد از دیابتی‌شدن به دلیل کاهش تبدیل پرگننولون و پروژسترون به تستوسترون است. بنابراین دیابت علاوه بر تاثیر مستقیم بر بافت بیضه می‌تواند با اثر بر گنادوتروپین‌های هیپوفیزی در بیوسنتز و تولید تستوسترون اختلال ایجاد کند[35]. پژوهش حاضر نشان داد که گیاه بارهنگ از طریق تاثیر مستقیم بر بافت بیضه و حفظ غلظت سرمی تستوسترون سبب محافظت بافت بیضه در موش‌های صحرایی نر دیابتی شده و عوارض ناشی از دیابت را کاهش می‌دهد. از آنجاکه به‌منظور روشن‌شدن مکانیسم عمل این ترکیبات بر سیستم تولیدمثلی نیاز به تحقیقات بیشتری در این زمینه است، پیشنهاد می‌شود بررسی‌های سیتولوژیکی بیشتری در این زمینه انجام گیرد.



شکل ۱) A تا C برش عرضی از بافت بیضه با رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین را با بزرگنمایی ۴۰۰برابر نشان می‌دهند. در شکل A (گروه C) لوله‌های منی‌ساز در کنار یکدیکر قرار گرفته و فضای مابین لوله‌ها در حد طبیعی است. همچنین، بین سلول‌های نسل اسپرماتوژنز و سرتولی اتصال‌های سلولی وجود دارد که باعث می‌شود تمامی سلول‌ها به‌طور منظم در کنار یکدیگر قرار بگیرند. در شکل B (گروه D) تعداد لایه‌های سلول‌های نسل اسپرماتوژنز کاهش قابل‌توجهی یافته و نظم و ارتباط بین سلولی به‌هم خورده است. همچنین اتصال بین سلول‌های رده اسپرماتوژنز و سلول‌های سرتولی دچار آسیب شده که در نتیجه، سلول‌ها از هم جدا شده‌اند و فضای میان لوله‌های منی‌ساز به‌طور چشم‌گیری افزایش یافته که خود نشان از تروفی لوله‌های منی‌ساز است. در شکل C (گروه DP) سلول‌ها به‌صورت منظم در کنار یکدیگر قرار دارند و تمامی سلول‌های اسپرماتوژنز به‌صورت منظم در کنار یکدیگر هستند و فضای مابین لوله‌های منی‌ساز در حد طبیعی است. D تا F برش عرضی از بافت بیضه با رنگ‌آمیزی اُیل- رِد- اُیل را با بزرگنمایی ۱۰۰۰برابر نشان می‌دهند. در شکل D (گروه C) سلول‌های بینابینی پر از ذرات لیپیدی هستند به‌طوری‌که واکوئل‌های قرمزرنگ به مقدار زیادی در سیتوپلاسم این سلول‌ها به چشم دیده می‌شود که نشان‌دهنده تولید هورمون تستوسترون است. در شکل E (گروه D) سنتز هورمون‌های استروئیدی به حداقل رسیده است. در سیتوپلاسم سلول‌های لایدیگ تراکم رنگ قرمز کم و سیتوپلاسم روشن است که دلالت بر کاهش تولید تستوسترون دارد. در شکل F (گروه DP) ذرات لیپیدی در سیتوپلاسم سلول‌های لایدیگ به وضوح دیده می‌شود و سیتوپلاسم قرمز شده که نشان‌دهنده تولید طبیعی تستوسترون است.

نتیجه‌گیری

بارهنگ با تاثیر مستقیم بر بافت بیضه، عوارض ناشی از دیابت را به حداقل رسانده و با بهبود غلظت سرمی تستوسترون و افزایش اسپرماتوژنز موجب افزایش باروری در افراد دیابتی می‌شود.

تشکر و قدردانی: بدین وسیله از معاونت پژوهشی و آموزشی دانشگاه ارومیه که در تامین هزینه‌های این مطالعه یاری کردند، قدردانی می‌شود.

تاییدیه اخلاقی: موردی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

تعارض منافع: موردی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

منابع مالی: موردی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

منابع

1- Jiang GY. Practical diabetes. 1st ed. Beijing: People's Health Publishing House; 1996.

2- Khaki A, Fathiazad F, Nouri M, Khaki AA, ozanci CC, Ghafari-Novin M, et al. The Effects of Ginger on Spermatogenesis and Sperm parameters of Rat. Iranian J Reproduc Med. 2009;7(1):7-12.

3- Brunton L, Chabner B, Knollman B. Goodman and Gilmans the pharmacological basis of therapeutics. 12th ed. New York: McGraw-Hill; 2006.

4- Baynes JW, Thorpe SR. Role of oxidative stress in diabetic complications: a new perspective on an old paradigm. Diabetes. 1999;48(1):1-9.

5- Shrilatha B. Early oxidative stress in testis and epididymal sperm in streptozotocin-induced diabetic mice: its progression and genotoxic consequences. Reprod Toxicol. 2007;23(4):578-87.

6- 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):179-184.

7- Ballester J, Munoz MC, Dominguez J, Rigau T, Gunovart JJ, Rodríguez-Gil JE. Insulin dependent diabetes affects testicular function by FSH- and LH-linked mechanisms. J Androl. 2004;25(5):706-19.

8- 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.

9- 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.

10- Coskun O, Kanter M, Korkmaz A, Oter S. Quercetin, a flavonoid antioxidant, prevents and protects streptozotocin-induced oxidative stress and beta-cell damage in rat pancreas. Pharmacol Res. 2005;51(2):117-23.

11- Abdullahnejad A, Gol A, Dabiri S, Javadi A. Effects of garlic juice on diabetes-induced testicular damage in rats. Iranian Endocr J. 2009;11(4):443-53.

12- Khaki A, Nouri M, Fathi Azad F, Khaki AF. Effects of onion and ginger on spermatogenesis in rats. Med J Tabriz Uni Med Sci. 2008;30(2):53-8.

13- Galvez M, Cordero MC, Cortes F, Ayus MY. Cytotixic effect of Plantago spp. on canceralllins. J Ethopharmacology. 2003;88:125-30.

14- Samuelsen AB. The traditional uses, chemical constituents and biological activities of Plantago major L. A review. J Ethnopharmacol. 2000;71(1):1-21.

15- Noor H, Juing M, Chee BJ, Kueh BL, Othman Z. Medicinal properties of plantago major: hypoglycaemic and male fertility studies. Pertanika J Trop Agric Sci. 2000;23(1):29-35.

16- Chauhan NS, Dixit VK. Spermatogenic activity of rhizomes of CurculigoorchioidesGaertn in male rats. J Appl Res Nat Prod. 2008;1(2):26-31.

17- Nejati V, Khaneshi F. Effects of hydro-alcoholic extract of plantago major leaf on serum level of glucose and insulin, morphology of pancreas and kidney streptozotocin-induced diabetic rats. Qom Uni Med Sci J. 2013:5(29):14-20. [Persian]

18- Sancheti S, Bafna M, Seo SY. Antihyperglycemic, anti hyperlipidemic, and antioxidant effects of Chaenomelessinensisfruit extract in streptozotocin induced diabetic rats. Eur Food Res Technol. 2010;231(3):415-21.

19- Khaneshi F, Nasrolahi O, Azizi Sh, Nejati V. Sesame effects on testicular damage in streptozotocin-induced diabetes rats. Avicenna J Phytomed. 2013;3(4)347-55. [Persian]

20- Khaki A, Peyrovi T. Effect of ciprofloxacin on caudal epididymis sperm quality and apoptosis. Urmia Med J. 2008;19(1):29-35.

21- 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.

22- Soudmani 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.

23- Khayatnouri MH, Safavi SE, Safarmashaei S, Mikailpourardabili B, Babazadeh D. Effect of Saffron on histomorphometric changes of testicular tissue in Rat. Am J Anim Vet Sci. 2011;6:153-9.

24- Shetty G, Wilson G, Huhtaniemi I, Shuttlesworth GA, Reissmann T, Meistrich ML. Gonadotropin-releasing hormone analogs stimulate and testosterone inhibits the recovery of spermatogenesis in irradiated rat. Endocrinology. 2000;141:1735-45.

25- Guneli E, Tugyan K, Ozturk H, Gmustekin M, Cilaker S, Uysal N. Effect of melatonin on testicular damage in Streptozotocin-induced diabetic rats. Eur Surg Res. 2008;40(4):354-60.

26- Mosher WD, Pratt WF. Fecundity and infertility in the United States: incidence and trends. Fertil Steril. 1991;56(2):192-3.

27- Stefanovic A, Stevuljevic JK,Spasic S, Stanojevic NB, Bujisic N. The influence of obesity on the oxidative stress status and the concentration of leptin in type 2 diabetes mellitus patients. Diabetes Res Clin Pract. 2008;79(1):156-63.

28- Agarwal A, Saleh RA, bedaiwy MA. Role of reactive oxygen species in the pathophysiology of human reproduction. Fertil Steril. 2003;79(4):829-43.

29- Narayana K, Dsouza UJ, Pao KP. Ribavirin induced sperm shape abnormalities in Wistar rat. Mutat Res. 2002;513(1):193-6.

30- Kiyanifard D, Hassanzadeh SH, Sadrkhanlor A, Farshid. Study of changes ultrastructure seminiferouse tubule and hormone changes gonadotropin and gonadal in diabetic rats. Urmia Med J. 2010;22(3):239-48.

31- Cai L, Hales BF, RobaireB. Induction of apoptosis in the germ cells of male rats after exposure to cyclophosphamide. Gynecol Reprod Biol. 1997;56(6):1490-7.

32- Predes FS, Monterio JC, Paula TA, Dmatta SLP. Evalution of rat testes treated with arctiumlappa 1: Morphometric study. Braz J Morphol Sci. 2007;24(4):112-7.
33- Turk G, Sonmez M, Aydin M, Yuce A, Yuksel M. 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.
34- Bairy KL, Kumar G, Rao Y. Effect of acyclovir on the sperm parameters of albino mice. Indian j Pharmacol. 2009;53(4):327-33.
35- Ozdemin O, Akalin PP, Baspinar NURI, Hatipoglu FATIH. Pathological changes in the acute phase of streptozotocin-induced diabetic rats. Bull Vet Inst Oulawy. 2009;53(4):783-90.