مقاله تحقیقی

مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی بابل
دوره پانزدهم، شمارهٔ ۲، اسفند۱۳۹۱، صفحه ۴۴-۳۸

مطالعه اثر محافظتی عصاره لیپیدیوم ساتیوم بر اسپرماتوژنز در بیضه رت دیابتی شده با استرپتوزوتوسین

معصومه فغانی (PhD)[۱]، فهیمه محمد قاسمی(PhD) [۱*]، گیتی کیاهی (MSc)[۲]

۱- مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان
۲- آموزش و پرورش شهرستان انزلی

دریافت: ۹۱/۳/۲۱، اصلاح: ۹۱/۴/۱۴، پذیرش: ۹۱/۶/۸

خلاصه

سابقه و هدف: اختلال در باروری یکی از عوارض دیابت می باشد. دیابت، استرس اکسیداتیو و مرگ سلولی در بیضه ایجاد می کند. لیپیدیوم ساتیوم یا شاهی، گیاهی با خواص ضد دیابتیک می باشد. این مطالعه به منظور بررسی اثر حفاظتی عصاره لیپیدیوم ساتیوم بر اثرات دیابتیک و تخریبی ناشی از استرپتوزوتوسین در بیضه رت انجام شد.

مواد و روشها: در این مطالعه تجربی ۳۶ رت بالغ بطور تصادفی به شش گروه شش تائی تقسیم شدند. گروه ۱ یا کنترل، نرمال سالین و گروههای ۲ و ۳ به ترتیب ۲۰۰ mg/kg و ۴۰۰، عصاره لیپیدیوم ساتیوم دریافت نمودند. گروه ۴ ۶۵ mg/kg استرپتوزوتوسین جهت القاء دیابت و گروه ۵ و ۶ علاوه بر ۶۵ mg/kg استرپتوزوتوسین، به ترتیب ۲۰۰ mg/kg و ۴۰۰ عصاره لیپیدیوم ساتیوم دریافت نمودند. استرپتوزوتوسین بصورت تک دوز و عصاره لیپیدیوم ساتیوم و نرمال سالین به مدت ۲۱ روز، روزی یکبار تجویز شد. ۲۲ روز پس از شروع آزمایشات حیوانات تشریح و بیضه آنها مورد ارزیابی هیستولوژیک و مورفومتریک قرار گرفت.

یافته ها: درمان با استرپتوزوتوسین باعث اختلال اسپرماتوژنز و کاهش معنی دار ضخامت اپی تلیوم ژرمینال (۷۰/۸±۴/۶۵µ) در مقایسه با گروه کنترل (۹۵/۶۰±۶/۸۷ µ) شد (p<۰/۰۵). درمان با عصاره لیپیدیوم ساتیوم به میزان ۲۰۰ mg/kg و ۴۰۰ به ترتیب باعث کاهش معنی دار ضخامت اپی تلیوم ژرمینال به ۷۰/۲۰±۷/۵۶ µ و ۷۷/۵۰±۶/۱۲ در مقایسه با گروه کنترل شد (p<۰/۰۵).

نتیجه گیری: نتایج مطالعه نشان داد که استفاده از عصاره لیپیدیوم در دوزهای ۴۰۰ mg/kg و۲۰۰ بر روی بافت بیضه اثر توکسیک دارد و نمی تواند اسپرماتوژنز را در بیضه دیابتیک ناشی از استرپتوزوتوسین محافظت نماید.

واژه های کلیدی: لیپیدیوم ساتیوم، هیستومورفومتری، اسپرماتوژنز، دیابت، استرپتوزوتوسین.

مقدمه

گیاه لپیدیوم ساتیوم (Lipidium Sativum, LS) از خانواده Brassicaceae می‌باشد (۱). این گیاه در مازندران تره تیزک و در سایر مناطق ایران شاهی گفته می‌شود. ترکیبات شیمیایی موجود در دانه گیاه شامل مقدار زیادی گلوکوزینولاتها (۲) و همچنین کاروتنوئیدهایی مانند لوتئین و بتاکاروتن است (۳). دانه شاهی به عنوان گیاه دارویی آشنا در زمینه کنترل دیابت، فشارخون و بیماری کلیه است (۴). عصاره آبی دانه گیاه اثر دیورتیک در رت‌ها دارد و بدون اینکه بر سطح انسولین پلاسما تأثیر بگذارد سبب کاهش گلوکز خون در رتهای دیابتی و سالم می شود (۵و۶). عصاره گیاه می‌تواند کبد را از آسیبی که توسط بعضی مواد شیمیایی مانند ccl۴ وارد می‌شود محافظت نماید که به توانایی گیاه در مهارکردن پراکسیده شدن لیپیدها در کبد مربوط می باشد (۷). عصاره دانه اثر ضد التهاب نیز دارد. ویژگیهای دارویی این گیاه همانند داروهای ضد التهاب بدون استرادیول (NSAID) است، یکی از مهمترین مکانیزمهایی که در فعالیت ضد التهابی NSAID موثر است ناشی از مهار سنتز پروستاگلاندین است. پیشنهاد شده که فعالیت ضد التهاب عصاره LS به علت مهار سنتز پروستاگلندین است (۸). اثر دانه گیاه در موارد سرطانهای ریوی روده بزرگ و سیستم لنفاتیک بررسی شده است (۱۱-۹). فعالیت آنتی اکسیدانی شاهی به دلیل وجود ترکیبات فنولی آن است (۱۲). دیابت یکی از مهمترین بیماریهایی است که سلامت جامعه جهانی را تهدید می کند و به سرعت در حال افزایش است (۱۳). در ایران شیوع بیماری صرفنظر

▣ این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی به شماره ۳/۱۳۲/۱۲۸۴۵پ دانشگاه علوم پزشکی گیلان می باشد.

* مسئول مقاله:
آدرس: رشت، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشکده پزشکی، تلفن: ۰۱۳۱-۶۶۹۰۰۹۹
e-mail: parsahistolab@gmail.com

[DOR: 20.1001.1.15614107.1391.15.2.6.7]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.15.2.38]

از نوع آن حدود ۶-۵٪ است و تقریبا ۴ میلیون فرد مبتلا یا مستعد ابتلا به آن در کشور وجود دارد (۱۴). ناباروری یکی از مهمترین مشکلات سلامتی در جوامع توسعه یافته و در حال توسعه است. اختلال در باروری یکی از عوارض دیابت است (۱۶و۱۵)، دیابت، استرس اکسیداتیو و مرگ سلولی در بیضه ایجاد می نماید (۱۷). استرس اکسیداتیو ناشی از دیابت با مشکلات عروقی، اختلال اندوتلیالی و نوروپاتی در بافت نعوظی ارتباط دارد (۱۵). از علایم دیگر دیابت می توان به آتروفی بیضه، کاهش وزن بدن و اندام های جنسی و نیز کاهش تعداد اسپرم در بیضه و اپیدیدم اشاره نمود (۱۶و۶).

اهمیت گیاهان دارویی و مشتقات آنها از سالیان گذشته در درمان بیماریهای مختلف از جمله دیابت بر همگان آشکار است و در سالیان اخیر به جهت جلوگیری از اثرات سوء داروهای شیمیایی، تحقیقات متعددی برای جایگزینی داروهای گیاهی انجام شده است (۱۸و۱۴). لپیدیوم ساتیوم (شاهی) گیاهی آشنا در زمینه کنترل دیابت است، از آنجاییکه تاکنون تحقیقی بر روی اثر این گیاه بر روند اسپرماتوژنز و بافت بیضه انجام شد، لذا این مطالعه به منظور بررسی اثر حفاظتی عصاره هیدروالکلی دانه لپیدیوم ساتیوم در دوزهای mg/kg ۴۰۰ و۲۰۰ به مدت ۲۱ روز بر تخریب ناشی از درمان با استرپتوزوسین در بیضه رت بالغ انجام شد.

مواد و روشها

در این مطالعه تجربی از ۳۶ رت نر بالغ نژاد ویستار با وزن ۲۰±۲۲۰ استفاده شد. حیوانات از موسسه رازی کرج خریداری شده و برای تطابق با محیط ۲ هفته در قفس‌های خود (در هرقفس ۶ حیوان) با دسترسی آزادانه به آب و غذا و شرایط محیطی استاندارد نگهداری شدند. سپس حیوانات به طور تصادفی به ۶ گروه کنترل، کنترل تحت درمان با عصاره LS در دوز mg/kg ۲۰۰، کنترل تحت درمان با عصاره LS در دوز mg/kg ۴۰۰، دیابتی، دیابتی تحت درمان با عصاره LS در دوز دوز mg/kg ۲۰۰ و دیابتی تحت درمان با عصاره LS در دوز mg/kg ۴۰۰ تقسیم شدند. با توجه به گزارشات موجود چون از دوزهای متفاوتی از عصاره لپیدیوم ساتیوم استفاده شده بود لذا بر آن شدیم تا از دوز mg/kg ۲۰۰ و ۴۰۰ آن استفاده نمائیم (۱۱و۶). القای دیابت در حیوانات در گروه های دیابتی با استفاده از یک تک دوز استرپتوزوتوسین (Streptozotocin, Sigma) به میزان mg/kg ۶۵ در ۰/۱ میلی لیتر بافر سدیم سیترات بصورت داخل صفاقی صورت گرفت (۶) و بعد از ۳ روز با استفاده از دستگاه IME-DC Gmbh (Germany)، اندازه گیری قند خون انجام گرفت و افزایش قند خون بیشتر از ۱۶/۵mmol/l ملاک برای دیابتی شدن قرار داده شد (۶). درمان با عصاره به مدت ۲۱ روز بصورت داخل صفاقی یک هفته بعد از تزریق استرپتوزوسین و تائید ایجاد دیابت انجام شد. ۲۴ ساعت پس از پایان درمان (روز۲۲) حیوانات با اتر بیهوش شدند و بیضه راست آنان از حفره شکمی خارج و از بافتهای اطراف جدا شد و برای ثبوت در محلول فرمالدئید با فری ۱۰٪ قرار داده شد.

مطالعه بافتی بیضه: پس از گذشت سه روز و اطمینان از ثبوت بافتها نمونه‌ها برای مطالعه با میکروسکوپ نوری، پاساژ بافتی شدند جهت به حداکثر رساندن تعداد لوله های سمی نیفروس مورد بررسی، بیضه ها بصورت عمودی در پارافین قالبگیری شدند. سپس با استفاده از دستگاه میکروتوم دوار (Letiz,German) مقاطعی با ضخامت ۵ میکرون با فاصله ۵۰ میکرون برداشته شد. از هر حیوان ۴ اسلاید انتخاب شد و به روش هماتوکسیلین و ائوزین رنگ‌آمیزی شد و با میکروسکوپ نوری (Olympus) مطالعه شد. به منظور مطالعات مورفومتریک پارامترهای لوله سمی نیفروس قطر لومن، ضخامت اپی تلیوم ژرمینال و همچنین قطر لوله سمی نیفروس محاسبه گردید. بدین منظور از گریدهای مدرج خطی که بر روی لنز چشمی نصب شده بود و بصورت میکرون قابل اندازه گیری بود، استفاده گردید. ابتدا قطر کوچک d1 و سپس قطر بزرگ d2 در هر لوله سمی نیفروس اندازه گیری و میانگین آنها محاسبه شد. قطر لومن و اپی تلیوم ژرمینال نیز به صورت مشابهی بدست آمد. در هر حیوان حداقل ۲۰ لوله سمی نیفروس ارزیابی و مورد بررسی آماری قرار گرفت.

نتایج ریخت‌شناسی میکروسکوپ نوری در نمونه‌های مورد مطالعه با هم مقایسه شد. اطلاعات با استفاده از آزمون واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی تجزیه تحلیل شدند و $p<0/05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در مطالعه بافت شناسی در گروه کنترل نرمال اسپرماتوژنز فعال در لوله‌های سمی نیفر در مراحل مختلف همراه با اسپرمهای بالغ یا در حال بلوغ مشاهده شد. در این لوله‌ها اپی تلیوم از ضخامت قابل توجهی برخوردار بود و انواع سلولهای زایا، شامل اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت اولیه، اسپرماتوسیت ثانویه، اسپرماتیدهای جوان گرد و اسپرماتیدهای بالغ دراز یا اسپرماتوزوئید و همچنین سلولهای سرتولی مشاهده شد. در بافت بینابینی بافت همبندی سست همراه با عروق خونی، اعصاب، سلولهای بافت همبندی و همچنین سلولهای لیدیگ بصورت تکی و یا تجمعات سلولی با هسته گرد قابل مشاهده بودند (شکل ۱). در گروههای نرمال تحت تیمار شاهی با دوزهای mg/kg ۲۰۰ و mg/kg ۴۰۰ به مدت ۳ هفته کاهش پارامتر های لوله‌های سمی نیفروس مشاهده شد. در گروه کنترل دیابتی اگر چه سازمانبندی لوله‌های سمی نیفروس طبیعی بود ولی کلیه پارامترهای کمی، لوله‌های سمی نیفروس شامل قطر لوله، قطر لومن و همچنین ضخامت اپی‌تلیوم ژرمینال به طور معنی‌دار کاهش یافت. در رت‌های دیابتی که عصاره دریافت کردند نیز قطر لوله های سمی نیفروس و ضخامت اپی تلیوم ژرمینال در مقایسه با گروه دیابتی کنترل به طور معنی‌داری کاهش داشت، ولی در قطر لومن تفاوت معنی دار دیده نشد.

اثر بر قطر لوله‌های سمی نیفروس: در رت‌های نرمال میانگین قطر لوله‌های سمی نیفر در گروه تحت درمان با LS دوز mg/kg ۲۰۰ در مقایسه با گروه کنترل ۱۶/۷۴±۲۵۸/۴ در مقابل ۱۲/۰۴±۲۰۷ میکرومتر و در گروه تحت درمان با LS دوز mg/kg ۴۰۰ در مقایسه با گروه کنترل ۱۶/۷۴±۲۵۸/۴ در مقابل ۱۹/۸۴±۲۰۸ میکرومتر بود (شکل ۱) که هر دو در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌داری داشتند ($p<0/001$). در رتهای دیابتی که به عنوان گروه کنترل مثبت در نظر گرفته شدند قطر لوله‌های سمی نیفروس نسبت به گروه کنترل نرمال ۱۶/۷۴±۲۵۸/۴ در مقابل ۱۲/۳۶±۲۱۶/۴ میکرومتر بود که کاهش معنی‌داری داشتند ($p<0/001$) (شکل۱). در رت‌های دیابتی که عصاره نیز دریافت کردند، قطر لوله‌های سمی نیفروس در گروه تحت درمان با LS در دوز mg/kg۲۰۰ در مقایسه با گروه کنترل دیابتی ۱۲/۳۶±۲۱۶/۴ در مقابل ۱۳/۹۱±۱۸۸ میکرومتر و در گروه تحت درمان با LS در دوزmg/kg ۴۰۰ در مقایسه با گروه کنترل دیابتی

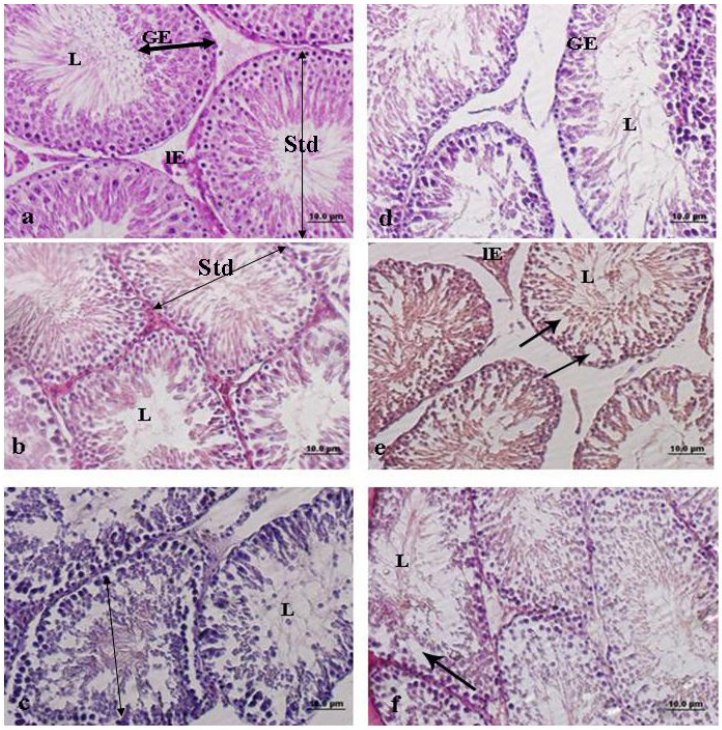
[DOR: 20.1001.1.15614107.1391.15.2.6.7]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.15.2.38]

۲۱۶/۴±۱۲/۳۶ در مقابل ۱۸۰/۴۰±۸/۲۶ میکرومتر بود (شکل ۱) که کاهش معنی‌داری هم نسبت به گروه کنترل دیابتی و هم نسبت به گروه کنترل نرمال داشتند (p<۰/۰۰۱) (جدول ۱). به طور کلی در رت‌های تحت درمان ترکیبی مصرف عصاره نتوانست باعث بهبود یا افزایش قطر لوله های سمی نیفروس در مقایسه با مصرف تنهای استرپتوزوتوسین شود بلکه بصورت معنی داری سبب کاهش قطر لوله‌های سمی نیفروس شد.

اثر برضخامت اپی تلیوم ژرمینال: نتایج نشان داد که در همه گروههای تحت درمان با لیپیدیوم ساتیوم ضخامت اپی‌تلیوم ژرمینال کاهش یافت. میانگین ضخامت اپی تلیوم ژرمینال در گروه تحت درمان با LS در دوز ۲۰۰mg/kg در مقایسه با گروه کنترل ۹۵/۶۰±۶/۸۷ در مقابل ۷۰/۲۰±۷/۵۶ میکرومتر و در گروه تحت درمان با LS در دوز ۴۰۰mg/kg در مقایسه با گروه کنترل ۹۵/۶۰±۶/۸۷ در مقابل ۷۷/۵۰±۶/۱۲ میکرومتر بود (شکل ۱) که هر دو در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌داری داشتند (p<۰/۰۰۱) (جدول ۱).

در گروه کنترل دیابتی کاهش معنی‌داری در ضخامت اپی تلیوم ژرمینال در مقایسه با گروه کنترل۹۵/۶۰±۶/۸۷ در مقابل ۷۰/۸۰±۴/۶۵ (شکل۱) دیده شد (p<۰/۰۰۱). در رت‌های دیابتی تحت درمان با LS در دوز ۲۰۰mg/kg در مقایسه با گروه کنترل دیابتی ضخامت اپی‌تلیوم ژرمینال ۷۰/۸۰±۴/۶۵ در مقابل ۵۶/۶۰±۹/۸۳ میکرومتر بود (شکل ۱) که هم نسبت به گروه کنترل دیابتی و هم گروه کنترل نرمال کاهش معنی‌داری دیده شد (p<۰/۰۰۱). در گروه درمان ترکیبی با استرپتوزوتوسین و LS با دوز ۴۰۰mg/kg ضخامت اپی‌تلیوم ژرمینال ۶۰/۸۰±۴/۵۴ میکرومتر بود (شکل ۱)، که در این گروه نیز، هم نسبت به گروه کنترل دیابتی و هم گروه کنترل نرمال کاهش معنی داری دیده شد (p<۰/۰۰۱) (جدول ۱). نتایج نشان داد که تیمار رتهای دیابتی با LS نتوانست باعث بهبودی و یا افزایش ضخامت اپی‌تلیوم ژرمینال در مقایسه با گروه دیابتی درمان نشده گردد.

اثر بر قطر لومن: نتایج بررسی قطر لومن در این مطالعه نشان داد که در رت‌های دریافت کننده عصاره LS با دوز ۲۰۰ mg/kg و ۴۰۰ کاهش معنی داری در مقایسه با گروه کنترل به ترتیب ۱۵۰±۹/۳۵ در مقابل ۱۱۷/۶۰±۹/۸۱ و ۱۵۰±۹/۳۵ در مقابل ۱۱۳/۰۰±۷/۵۴ دیده شد (p<۰/۰۰۱) (جدول ۱ و شکل ۱). علاوه بر این قطر لومن در رت‌های کنترل دیابتی در مقایسه با گروه کنترل ۱۵۰±۹/۳۵ در مقابل ۱۰۹/۸۰±۸/۲۵ نیز کاهش یافته بود (p<۰/۰۰۱). در گروههای درمان ترکیبی دریافت کننده عصاره LS با دوزmg/kg ۲۰۰ و ۴۰۰ لومن نیز اختلاف معنی داری در قطر لومن هر دو گروه نسبت به گروه کنترل دیده شد (p<۰/۰۰۱) (شکل ۱) ولی این تفاوت نسبت به گروه کنترل دیابتی وجود نداشت (جدول۱).



شکل ۱. لوله های سمی نیفروس در رت های نرمال و دیابتی. a: لوله های سمی نیفروس در رت های نرمال، ضخامت اپی تلیوم ژرمینال،قطر لوله سمی نیفرو قطر لومن نسبت به دو گروه دیگر بیشتر است. b: لوله های سمی نیفروس در رت های نرمال دریافت کننده شاهی با دوز ۲۰۰، ضخامت اپی تلیوم ژرمینال،قطر لوله سمی نیفرو قطر لومن کمتر شده است. c: لوله های سمی نیفروس در رت های نرمال دریافت کننده شاهی با دوز ۴۰۰، ضخامت اپی تلیوم ژرمینال،قطر لوله سمی نیفرو قطر لومن کمتر شده است. d: لوله های سمی نیفر در رت های کنترل دیابتی،ضخامت اپی تلیوم ژرمینال، قطر لوله سمی نیفر و قطر لومن نسبت به کنترل نرمال کمتراست. e: لوله های سمی نیفر در رت های دیابتی دریافت کننده شاهی با دوز ۲۰۰،ضخامت اپی تلیوم ژرمینال، قطر لوله سمی نیفر کمتر شده است. f: لوله های سمی نیفر در رت های دیابتی دریافت کننده شاهی با دوز ۴۰۰، به ریزش سلولی در این گروه قابل توجه است. اپی تلیوم ژرمینال (GE)، لومن (L)، فلش های دو طرفه در تصاویر a و b و c نمایانگر قطر لوله سمی نیفروس (std) هستند. سلول های لیدیگ (LE)، پیکانها حفرات ایجاد شده در اپی تلیوم زرمینال را نمایش می دهند. رنگ آمیزی H&E ، بزرگنمائی ۲۰۰، بار: ۱۰۰ µm

[DOR: 20.1001.1.15614107.1391.15.2.6.7]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.15.2.38]

جدول ۱. اثر عصاره هیدروالکلی لیپیدیوساتیوم و استرپتوزوتوسین بر پارامترهای موفومتریک لوله سمی نیفروس بیضه رت بالغ

گروه	قطر لوله سمی نیفروس µm	ضخامت اپی‌تلیوم ژرمینال µm	قطر لومن µm
کنترل نرمال	۲۵۸/۴± ۱۶/۷۴ [b]	۹۵/۶۰± ۶/۸۷ [b]	۱۵۰ ±۹/۳۵ [b]
کنترل دیابتی	۲۱۶/۴ ±۱۲/۳۶ [a]	۷۰/۸۰±۴/۶۵ [a]	۱۰۹/۸۰±۸/۲۵ [a]
نرمال و دوز ۲۰۰ mg/kg عصاره	۲۰۷±۱۲/۰۴ [a]	۷۰/۲۰ ±۷/۵۶ [a]	۱۱۷/۶۰±۹/۸۱ [a]
نرمال و دوز ۴۰۰ mg/kg عصاره	۲۰۸±۱۹/۸۴ [a]	۷۷/۵۰±۶/۱۲ [a]	۱۱۳/۰۰±۷/۵۴ [a]
دیابتی و دوز ۲۰۰ mg/kg عصاره	۱۸۸/۰±۱۳/۹۱ [ab]	۵۶/۶۰±۹/۸۳ [ab]	۱۲۶/۴۰±۱۴/۷۷ [a]
دیابتی و دوز ۴۰۰ mg/kg عصاره	۱۸۰/۴۰±۸/۲۶ [ab]	۶۰/۸۰±۴/۵۴ [ab]	۱۱۹/۶۰±۸/۷۹ [a]

همه مقادیر بر اساس میانگین± انحراف معیار بیان شده اند، کلیه مقادیر بر اساس واحد میکرومتر است.

a: معنی دار با گروه کنترل $p< ۰/۰۰۱$ ، b: معنی دار با گروه کنترل دیابتی $p<۰/۰۰۱$

بحث و نتیجه گیری

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که درمان با عصاره لیپیدیوم ساتیوم به میزان ۲۰۰ mg/kg و ۴۰۰ به مدت ۲۱ روز اثرات تخریبی بر روی اسپرماتوژنز دارد و با کاهش اسپرماتوژنز و پارامترهای کمی لوله های سمی نیفروس همراه است در نتیجه احتمالا می تواند فرد را در معرض اختلالات باروری قرار دهد. به عبارت دیگر دارای اثر توکسیک بر بافت بیضه می باشد. این که چرا LS باعث کاهش اسپر ماتوژنز شده مشخص نیست. احتمالا به طور غیر مستقیم توانسته است محور هیپوفیز- گناد- هیپوتالاموسی hpg را تغییر می دهد که در تعاقب آن اسپرماتوژنز تحت تاثیر قرار خواهد گرفت. در مطالعه Martinez و همکارانش در رتهایی که توسط استروئید درمانی هیپرپلازی پروستات در آنها القا شده بود با مصرف خوراکی Lepidium latifolium 0/86 mg/kg که دارای اثرات مشابهی با LS می باشد به مدت ۶ ماه کاهش سایز پروستات در آنها مشاهده شد (۱۹). sharief مشاهده کرد که افزودن دانه lepidium sativum به رژیم غذایی موشهای ماده اثر ضد بارداری دارد (۲۰) که اینها خود ناشی از تاثیر LS بر محور hpg می باشد، هر چند که در این مطالعه مقادیر گنادوتروپین های FSH و LH، را اندازه گیری شد. مکانیسم احتمالی دیگر در روند کاهش اسپرماتوژنز در این مطالعه تاثیر مستقیم و توکسیک LS بر خود بافت بیضه می باشد. تحقیقات نشان داد که استرول ها، فلاوونوئیدها، تانن ها، ساپونین، گلیکوزیدهای سیانوژنیک از جمله ترکیبات موجود در این گیاه می باشد (۵). وجود ۴ نوع فلاوونوئید در عصاره دانه شاهی از جمله کوئرستین ۳-o دی بتا گلوکو پیرانوزیل گزارش شده است (۲۱). چنین ترکیبات مشابهی در سایر گیاهان مانند گیاه سداب (۲۲) و شوید (۲۳) نیز وجود دارد. استفاده از سداب و شوید سبب آتروفی بیضه و کاهش تعداد اسپرم شده است (۲۳). احتمال داده میشود که اثرات این گیاهان بر بافت بیضه به علت وجود کوئرستین و فلاوونوئید می باشد. احتمالا کوئرستین و فلاوونوئیدها موجب مهار همانند سازی DNA و کاهش سلول های اسپرماتوسیت می شود (۲۲). همچنین mazaro نشان داده است که فیتو استرول ها سبب کاهش وزن بیضه ها و کاهش ذخیره اسپرم اپی دیدیم می شوند (۲۴) بنابراین هر چند که عصاره LS می تواند دارای خواص هیپو گلیسمیک باشد و در انسانها نیز این خاصیت به خوبی نیز نشان داده شده است (۲۵) ولیکن بر اسپرماتوژنز اثرات نامناسبی دارد.

در این مطالعه درمان با تک دوز mg/kg ۶۵ استرپتوزوتوسین نیز با کاهش روند اسپرماتوژنز همراه بود. استرپتوزوتوسین بدلیل القای دیابت منجر به تخریب اسپرماتوزنز می شود. که می تواند ناشی از تاثیر آن بر ترشح گنادوتروپینها باشد یا ناشی از افزایش میزان آسیبهای اکسیداتیو استرسی سلولها بوده و یا ناشی از تغییرات مورفولوژیک بافت بیضه باشد که در این راستا نشان داده شده است استرپتوزوتوسین باعث کاهش و کوچکتر شدن سلولهای لیدیگ می شود که سلولهای کلیدی در تولید هورمون تستوسترون و لازمه اسپرماتوزنز هستند (۲۷ و ۲۶و۱۵). نشان داده شد که کاهش انسولین در رت های دیابتی به طور مستقیم بر اپی تلیوم لوله‌های سمی نیفروس اثر ندارد و این اثر را بوسیله تغییر در سطح FsH سرم انجام می‌دهد. کاهش انسولین سبب کاهش سطح FSH می‌شود و کاهش FSH بر فعالیت اپی تلیوم لوله‌های سمی نیفروس اثر می‌گذارد (۲۵). Bansal آتروفی سلولهای بیضه را از جمله مشکلات مردان دیابتی می‌داند (۲۸و۱۶).

در این مطالعه درمان ترکیبی عصاره LS در دوزهای ۲۰۰ و ۴۰۰ همراه با STZ نیز با تغییرات تخریبی شدیدتر در اسپرماتوزنز همراه بود که با توجه به نتایج به دست آمده دور از انتظار نیز نبود. چرا که هم مصرف تنهایی عصاره و هم مصرف تنهای STZ خود باعث اختلال اسپرماتوزنز شدند.

بطور کلی نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد درمان با عصاره لپیدیوم ساتیوم به میزان mg/kg ۲۰۰ و ۴۰۰ به مدت ۲۱ روز اثرات تخریبی بر روی اسپرماتوژنز دارد، درمان با تک دوز mg/kg ۶۵ استرپتوزوسین نیز خود با کاهش روند اسپر ماتوژنز همراه است و درمان ترکیبی عصاره LS در دوزهای ۲۰۰ و ۴۰۰ همراه با mg/kg ۶۵ استرپتوزوسین باعث اختلال شدیدتر اسپرماتوزنز می شود. به عبارت دیگر نه تنها LS اسپرماتوزنز را در بیضه دیابتیک القاء شده با استرپتوزوتوسین محافظت نمی کند بلکه اختلالات بیشتری را هم سبب می شود. شاید LS در دوزهای دیگر و پایین تر بتواند در برقراری بهتر اسپرماتوزنز موثر باشد. لذا انجام آزمایشات دیگر در این راستا به صورت وابسته به دوز و یا وابسته به زمان و همچنین بررسی مکانیسم های مولکولی از جمله مواردی است که برای مطالعات بعدی پیشنهاد می شود.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه و رئیس مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی گیلان جهت تامین هزینه های مربوط به این تحقیق قدردانی و تشکر می گردد.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1391.15.2.6.7]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.15.2.38]

Study of the Protective Effect of Lepidium Sativum on Spermatogenesis in Diabetic Rat Testis Induced by Streptozotocin

M. Faghani (PhD) [1], F. Mohammadghasemi (PhD) [1*], G. Keiahi (MSc) [2]

1. Cellular and Molecular Research Center, Faculty of Medicine, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran
2. Education Department of Anzali, Guilan, Iran

J Babol Univ Med Sci; 15(2); Mar 2013; pp: 38-44

Received: Jun 10th 2012, Revised: Jul 4th 2012, Accepted: Aug 29th 2012.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: One of the side effects of diabete is subfertility. Diabete induces oxidative stress and cellular death in testis. Lepidium sativum is a plant with antidiabetic effects. The aim of this study was to investigate the protective effects of lepidium sativum (LS) extract on diabetic and injured rat testis induced by streptozotocin (STZ).

METHODS: In this experimental study, 36 adult rats were used. They were randomly divided into 6 groups. Group 1 (control) received normal saline. Groups 2 and 3 received 200 and 400 mg/kg, LS respectively. Group 4 received 65mg/kg, STZ for induction of diabetes. Groups 5 and 6 received 200 or 400 mg/kg LS plus STZ. STZ were administered in a single dose. LS extract and normal saline were administered once daily for 21 consecutive day. On the 22nd day after the experiment all animals were dissected and their testis were analyzed for histologic and morphometric studies.

FINDINGS: STZ induced spermatogenesis impairment and a significant decrease in germinal epithelial height 70.8 ± 4.65 µ compared to control 95.60± 6.87 µ ($p<0.05$). Treatment with 200 and 400 mg/kg LS reduced germinal epithelial height to 70.20 ± 7.56 and 77.5± 6.12 µ respectively ($p<0.05$).

CONCLUSION: Administration of LS in doses of 200 and 400 mg/kg for 21 days has toxic effects on testis. Therefore it cannot protect spermatogenesis in diabetic testis induced by STZ.

KEY WORDS: *Lepidium sativum, Histomorphometric, Spermatogenesis, Diabete, Streptozotocin.*

*Corresponding Author;
Address: Cellular and Molecular Research Center, Faculty of Medicine, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran
Tel: +98 131 6690099
E-mail: parsahistolab@gmail.com

[DOR: 20.1001.1.15614107.1391.15.2.6.7]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.15.2.38]

References

1.Sharma S, Agarwal N. Nourishing and healing prowess of garden cress (lipidium sativum linn.)- A review. Indian J Nat Prod Resour 2011;2(3):292-7.

2.Maier UH, Gundlach H, Zenk MH. Seven imidazole alkaloids from lepidium sativum. Phytochemistry 1998;49(6): 1791-5.

3.O'Neill ME, Carroll Y, Corridan B, et al. A European carotenoid database to assess carotenoid intakes and its use in a five-country comparative study. Br J Nutr 2001;85(4):499-507.

4.Jouad H, Haloui M, Rhiouani H, El Hilaly J, Eddouks M. Ethnobotanical survey of medicinal plants used for the treatment of diabetes, cardiac and renal disease in north centre region of morocco (fez_boulemane). J Ethnopharmacol 2001; 77(2-3):175-82.

5.Patel U, Kulkarni M, Undale V, Bhosale A. Evaluation of diuretic activity of aqueous and methanol extracts of lepidium sativum garden cress (cruciferae) in rats. Trop J Pharm Res 2009;8(3):215-9.

6.Eddouks M, Maghrani M, Zeggwagh NA, Michel JB. Study of the hypoglycaemic activity of Lepidium sativum L. aqueous extract in normal and diabetic rats. J Ethnopharmacol 2005;97(2):391-5.

7.Afaf IA, Nuha H, Mohammed AH. Hepatoprotective effect of lepidium sativum against carbon tetrachloride induced damage in rats. Res J Anim Vet Sci 2008;3:20-3.

8.Rehman NU, Khan AU, Alkharfy KM, Gilani AH. Pharmacological Basis for the Medicinal Use of Lepidium sativum in Airways Disorders. Evid Based Complement Alternat Med 2012;2012:596524. Epub 2012 Jan 15.

9.Brennan P, Hsu CC, Moullan N, et al. Effect of cruciferous vegetables on lung cancer in patients stratified by genetic status: a mendelian randomisation approach. Lancet 2005; 366 (9496):1558-60.

10.Slattery ML, Benson J, Curtin K, Ma KN, Schaeffer D, Potter JD. Carotenoids and colon cancer. Am J Clin Nutr 2000;71(2):575-82.

11.Brown LM, Gridley G, Pottern LM, et al. Diet and nutrition as risk factors for multiple myeloma among blacks and whites in the United States. Cancer Causes Control 2001;12(2):117-25.

12.Chu YF, Wu X, liu RH. Antioxidant and anti proliferative activities of common vegetables. J Agric food chem 2002;50(23):6910-6.

13.Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H. Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. Diabetes Care 2004;27(5):1047-53.

14.Roghani M, Baluchnejadmojarad T, Roghani-Dehkordi F. Antihyperglycemic and antihyperlipidemic effect of chronic administration of hesperetin in diabetic rats. J Babol Univ Sci 2010;12(4):21-6. [in Persian]

15.Ricci G, Catizone A, Esposito R, Pisanti FA, Vietri MT, Galdieri M. Diabetic rat testes: morphological and functional alterations. Andrologia 2009;41(6):361-8.

16.Mallidis C, Green BD, Rogers D, et al. Metabolic profile changes in the testes of mice with streptozotocin-induced type 1 diabetes mellitus. Int J Androl 2009;32(2):156-65.

17.Zhao Y, Tan Y, Dai J, Li B, et al. Exacerbation of diabetes-induced testicular apoptosis by zinc deficiency is most likely associated with oxidative stress, p38 MAPK activation, and p53 activation in mice. Toxicol Lett 2011;200(1-2):100-6.

18. Rezaei Aref T, Minaii Zangii B, latifpour M. Protective effect of Urtica Dioica extract on the damage of rat small intestinal mucosa causes by diabetes. J Babol Univ Sci 2012;14(3):31-7. [in Persian]

19. Martínez Caballero S, Carricajo Fernández C, Pérez-Fernández R. Effect of an integral suspension of Lepidium latifolium on prostate hyperplasia in rats. Fitoterapia 2004;75(2):187-91.

20.Sharief M, Gani ZH. Garden cress lepidium sativum seeds as oral contraceptive plant in mice. Saudi Med J 2004; 25(7):965-6.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1391.15.2.6.7]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.15.2.38]

21.Agarwal J, Verma DL. Antioxidative Activity and Flavonoid Composition from Lepidium sativum. Nat Sci 2011; 9(7):21-5.

22.Ahmadi A, Nasiri Nejad F, Parivar K. Effect of aqueous extract of the aerial part of the Ruta Graveolens on the spermatogenesis of immature balb/C mice. Razi J Med Sci 2007;14(56):13-20. [in Persian]

23.Roessner C, Paasch U, Kratzsch J, Glander HJ, Grunewald S. Sperm apoptosis signalling in diabetic men. Reprod Biomed Online 2012;25(3):292-9.

24.Mazaro R, Di Stasi LC, Filho SA, De Grava Kempinas W. Decrease in sperm number after treatment of rats with Austroplenckia populnea. Contraception 2000;62(1):45-50.

25.Shukla A, Bigoniya P, Srivastava B. Hypoglycemic activity of lepidium sativum linn seed total alkaloid on alloxan induced diabetic rats. Res J Med Plant 2012;6(8):587-96.

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

27. Amaral S, Mota PC, Lacerda B, et al. Testicular mitochondrial alterations in untreated streptozotocin-induced diabetic rats. Mitochondrion 2009;9(1):41-50.

28. Bansal TC, Guay AT, Jacobson J, Woods BO, Nesto RW. Incidence of metabolic syndrome and insulin resistance in a population with organic erectile dysfunction. J Sex Med 2005;2(1):96-103.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1391.15.2.6.7]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.15.2.38]