

تأثیر عصاره آبی-الکلی صمغ آنگوزه بر وزن بدن و بیضه، هورمون تستوسترون و اسپرماتوژنز در رت‌های بالغ ویستار

علیرضا ایوبی^{۱*} - رضا ولی زاده^۲ - جواد آرشامی^۳ - زهرا موسوی^۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۸/۳

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۳/۲۱

چکیده

آنگوزه دارای ترکیباتی مانند سزکویی‌ترین ها و کومارین ها است که در طب سنتی برای درمان اختلالات عصبی، صرع، آسم و بیماری های گوارشی استفاده می‌شود. وجود ترکیبات گوگردی آنگوزه سبب بروز خواص آنتی اکسیدانی مفید می‌شود. به منظور بررسی اثرات سه دوز عصاره آبی-الکلی آنگوزه بر عملکرد تولید مثلی در یک طرح کاملا تصادفی، تعداد ۳۲ سر رت نر بالغ ویستار به طور تصادفی به ۴ تیمار آزمایشی با ۸ تکرار تقسیم شدند. تیمارهای آزمایشی شامل: سطوح صفر (کنترل)، ۷۵، ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی گرم عصاره آنگوزه به ازای هر کیلوگرم وزن بدن رت‌ها بود. عصاره مورد نیاز پس از تیمار بندی رت‌ها، روزانه به داخل صفاق رت‌ها به مدت ۱۴ روز تزریق شد. در روز ۱۵ آزمایش، به منظور سنجش هورمون تستوسترون خونگیری از قلب رت‌ها انجام شد و برای مطالعه فعالیت های اسپرماتوژنز، بیضه راست جدا شد. پس از تحلیل نتایج، تفاوت معنی داری میان وزن بیضه ها در هیچ یک از تیمارها مشاهده نشد. افزایش دوز عصاره آنگوزه، ضخامت لایه های سلولی لوله سمینفروس را کاهش داد. تعداد سلول های لایدیگ و سرتولی تحت تأثیر دوز های ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی گرم عصاره آنگوزه کاهش یافتند. عصاره صمغ آنگوزه سبب کاهش تستوسترون خون در مقایسه با تیمار کنترل شد. نتایج این پژوهش نشان داد که دوز های بالاتر از ۱۵۰ میلی گرم عصاره آنگوزه سبب تخریب بافت اسپرماتوژنز می‌شود.

کلیدواژه: عصاره آنگوزه، تستوسترون، بافت اسپرماتوژنز، رت ویستار.

مقدمه

می باشد. این گیاه از خانواده چتریان است و یک گیاه علفی چند ساله بوده که حدود ۲ متر ارتفاع دارد. صمغ آنگوزه از تیغ زدن ریشه یا قطع ساقه گیاه مولد آنگوزه به نام *Ferula asa-foetida* و طی تابستان به دست می آید و به دو نوع اشکی و توده ای در بازار عرضه می شود (۳). ترکیبات اصلی واجد خواص دارویی آن شامل رزین (۶۴-۴۰٪)، صمغ (۲۵٪) و روغن های ضروری (۱۷-۱۰٪) است (۱۲). بخش رزینی آن شامل فرولیک اسید و استرهای آن، کومارین، سزکویی ترین کومارین ها و سایر ترپنوییدها می باشد (۸) بو و مزه خاص آنگوزه به علت وجود ترکیبات سولفور در صمغ آنگوزه می باشد که شامل دی، تری و تتراسولفیدها هستند (۲). صمغ آن دارای گلوکز، گالاکتوز، رامنوز، پلی ساکاریدها و گلیکوپروتئین ها بوده و روغن های فرار آن از ترکیبات سولفور و ترپنوییدها تشکیل شده است (۹ و ۱۲). آنگوزه در تهیه داروهای ضد قارچ (۱۸ و ۱۷)، ضد تشنج، قاعده آور و مقوی قلب مورد استفاده قرار می گیرد و در رفع بیماری های عصبی و تنفسی نظیر اسپاسم حنجره و آسم و همچنین در رفع بیوست افراد مسن مؤثر می باشد (۱۶). اثرات ضد میکروبی و ضد انگلی برای آنگوزه نیز گزارش شده است (۴). بر اساس گزارشات با وجود اثرات مفید،

استفاده از گیاهان دارویی به صورت خام یا فرآوری شده در طب سنتی و مدرن رو به افزایش است. با مشخص شدن اثرات زیان آور داروهای شیمیایی، مطالعات زیادی در راستای کشف و معرفی افزودنی های ایمن تر به ویژه با منشا گیاهی در سال های اخیر انجام شده است. امروزه ساخت اشکال مختلف داروهای گیاهی و بررسی اثرات فارماکولوژی و درمانی آن‌ها توسط محققین انجام در حال بررسی است. گیاه آنگوزه در اراضی بایر، خشک و آهکی مناطق گرم آسیا می روید و بومی استپ های ایران و بخش هایی از افغانستان

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی دام، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد،

۲- دانشیار فیزیولوژی دام، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد،

۳- استاد تغذیه دام، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد،

۴- استادیار پاتوبیولوژی، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد.

*- نویسنده مسئول: (Email: ayyoubi.ar22@gmail.com)

بلافاصله در محلول فرمالین ۱۰٪ قرار گرفتند تا برای مراحل بعدی و تهیه مقاطع بافتی بیضه و رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین آماده شود.

تهیه عصاره

برای تهیه عصاره آبی-الکلی صمغ گیاه آنگوزه ابتدا ۱۰۰ گرم از آن را آسیاب کرده و با هزار میلی لیتر آب مقطر و متانول به نسبت ۵ به ۱ اضافه شد. پس از گذشت ۴۸ ساعت، محلول حاصل با کاغذ صاف شد. عمل حذف حلال توسط دستگاه روتاری در دمای 45°C انجام شد. پس از حذف حلال، باقیمانده عصاره غلیظ موجود در دستگاه عصاره گیر، در پتری دیش های استریل خشک شد و تا هنگام استفاده در یخچال نگهداری شد.

بررسی هیستولوژی

برای بررسی هیستولوژی، از بیضه های تثبیت شده در محلول فرمالین ۱۰٪ مقاطع بافتی طی مراحل ذیل تهیه شدند. ۱- تثبیت نمونه ها، ۲- آب گیری، ۳- الکل زدایی یا شفاف کردن، ۴- قالب گیری در پارافین، ۵- برش بافتی توسط میکروتوم به مقاطع ۵ میکرون و انتقال روی لام، ۶- رنگ آمیزی با هماتوکسیلین و ائوزین (۷). برای مطالعه بافت بیضه با استفاده از میکروسکوپ نوری، ابتدا ۲۰ عدد لوله اسپرم ساز مدور از مقاطع رنگ آمیزی شده بیضه هر رت انتخاب و سپس قطر لوله اسپرم ساز، لومن، ضخامت لایه های سلولی و تعداد سلول های لایدیگ و سلول های سرتولی اندازه گیری و ثبت شد (۱).

سنجش هورمون تستوسترون

در این مطالعه، برای سنجش تستوسترون از روش الیزا و کیت تشخیص هورمونی مخصوص رت شرکت DRG آلمان استفاده شد. روش اندازه گیری بر اساس راهنمای شرکت سازنده کیت صورت گرفت. به طور خلاصه نمونه ها در چاهک ریخته شدند و سپس محلول های تستوسترون و آنتی تستوسترون به آنها اضافه شد و به مدت ۹۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شدند. چاهک ها سپس با آب بدون یون شستشو و سوبسترا به هر چاهک افزوده شد و برای مدت ۲۰ دقیقه انکوبه شد. با افزودن محلول متوقف کننده، واکنش متوقف و جذب در طول موج ۴۵۰ نانومتر اندازه گیری شد (۱۵).

آنالیز آماری

تحلیل نتایج به دست آمده از این آزمایش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی و با در نظر گرفتن وزن اولیه به عنوان متغیر کمکی با رویه *GLM* نرم افزار آماری *SAS* انجام شد. مقایسات میانگین با

غلظت‌های زیاد این عصاره دارای اثرات سمی احتمالی نیز می باشد به طوری که اثرات کاهش قوای جنسی مردانه در گونه *F. hermonis* گزارش شده که این اثرات را به ماده فروتین، که در این گونه به وفور یافت می شود، نسبت داده اند (۱۹). علاوه بر این گزارش شده که مردم نپال از آنگوزه به عنوان چاشنی غذای روزانه استفاده می کنند و اعتقاد دارند که آنگوزه دارای خاصیت تحریک فعالیت جنسی، دارویی مسکن و دارای خواص ادرار آوری است (۱۰). تاکنون پژوهش‌های اندکی در خصوص اثرات گیاه یا عصاره آنگوزه بر پارامترهای بیوشیمیایی خون و فعالیت های تولیدمثلی در حیوانات تک معده ای انجام شده است. بدین منظور این مطالعه برای بررسی سطوح مختلف عصاره الکلی آنگوزه بر وزن بدن، وزن بیضه، هورمون تستوسترون و اسپرماتوزن در رت نر بالغ نژاد ویستار انجام شد.

مواد و روش‌ها

حیوانات و تیمارها

تعداد سی و دو سر رت سفید نژاد ویستار با میانگین وزن $252 \pm 4/3$ گرم، تحت چرخه نوری ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی و رطوبت ۴۵-۳۵٪ و با درجه حرارت ($25 \pm 1^{\circ}\text{C}$) در مرکز پرورش حیوانات آزمایشگاهی درون قفس های مخصوص نگهداری شدند. رت ها آزادانه به غذا و آب دسترسی داشتند. رت ها به طور تصادفی به یکی از ۴ تیمار آزمایشی اختصاص داده شدند. به طوری که در هر تیمار ۸ سر رت نر بالغ وجود داشت. تیمار های آزمایشی شامل: تیمار کنترل بدون دریافت عصاره و تیمار دوم، سوم و چهارم به ترتیب غلظت ۱۵۰، ۷۵ و ۳۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلو وزن بدن عصاره آنگوزه دریافت کردند. برای تهیه محلول تزریقی دارای عصاره، ابتدا پودر عصاره آنگوزه با مقادیر ۱۵۰، ۷۵ و ۳۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در نرمال سالین حل شد. محلول تزریقی پس از آماده سازی برای استریل کردن از فیلتر *Chromafil* (۰/۲۲ میکرون) عبور داده شد. رت های گروه کنترل نیز ۰/۵ ml سرم فیزیولوژی دریافت نمودند. تمام تزریق ها در ساعت ۸ صبح در زیر هود به مدت ۱۴ روز انجام شد. در روز ۱۵ آزمایش حیوانات توسط مخلوطی از کتامین (۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) و گزیلازین (۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم) بیهوش شده و خونگیری مستقیم از قلب این حیوانات انجام گرفت. خون حاصله به مدت ۱۵ دقیقه و با دور ۳۰۰۰ سانتریفوژ شده و سرم آنها به وسیله سمپلر به لوله های شماره گذاری شده منتقل شد و سپس در فریزر ۲۰- سانتریگراد نگهداری شدند. نمونه های بافتی پس از اتمام خونگیری و با ایجاد یک برش طولی در شکم و کیسه بیضه، به وسیله پنس خارج و بافت های اضافی آن حذف شد. سپس در هر نمونه، بیضه ها پس از توزین با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱، ابتدا به قطعات ۵ میلی متر مربع از طول تقسیم شدند و

در این آزمایش عصاره آنگوزه بر وزن بیضه‌ها و اپیدیدیم‌ها تأثیر قابل ملاحظه‌ای نداشت. تغییرات وزن اپیدیدیم نیز یک روند کاهشی داشت. مطالعات نشان داده است که رادیکال‌های آزاد به دلیل تمایل شدید به گرفتن الکترون، سبب آسیب به دیگر ملکول‌ها از جمله اسیدهای چرب غشاهای بیولوژیک و اکسیداسیون آن‌ها می‌شود در نتیجه ساختار و عملکرد غشاء در بیضه آسیب می‌بیند (۶). با توجه به اینکه نتایج تغییرات وزنی اندام‌های مذکور بین تیمارهای عصاره و تیمار کنترل معنی‌دار نشد؛ عدم تغییرات چشمگیر نشان دهنده این است که در این دوز درمانی، عصاره آنگوزه تأثیر قابل توجهی بر وزن بیضه ندارد و افزایش دوز تزریقی و یا دفعات تزریق ممکن است منجر به ایجاد تغییرات بیش‌تر در سیستم هورمونی، ساختار و عملکرد اندام‌های تولیدمثلی گردد.

نتایج اثرات تزریق دوزهای صفر، ۷۵، ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی گرم عصاره آنگوزه بر بافت اسپرماتوژنز و سطح تستوسترون خون در رت‌ها که به صورت درون صفاقی و به مقدار ۰/۵ میلی لیتر دریافت کردند، در جدول ۳ آمده است. قطر لوله‌های اسپرم ساز توسط عصاره آنگوزه افزایش یافت و تنها در دوز ۷۵ میلی گرم عصاره تفاوت با تیمار ۳۰۰ میلی گرم معنی‌دار شد ($P < 0/05$). نتایج بررسی بافتی یک روند افزایشی در قطر لومن را نشان داد به نحوی که سطح ۳۰۰ میلی گرم تفاوت معنی‌داری با دوز ۷۵ میلی گرم و تیمار کنترل نشان داد ($P < 0/05$). ضخامت لایه‌های سلولی تحت تأثیر عصاره آنگوزه یک روند کاهشی داشت و دوزهای ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی گرم عصاره با تیمار کنترل تفاوت معنی‌داری نشان دادند ($P < 0/05$).

استفاده از آزمون مقایسات چند دامنه‌ای دانکن انجام و $P < 0/05$ بعنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

نتایج و بحث

در این مطالعه، اثرات تزریق صفاقی سه دوز ۷۵، ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی گرم عصاره الکلی آنگوزه بر عملکرد وزن، بافت اسپرماتوژنز و هورمون تستوسترون طی ۱۴ روز در رت‌های نر بالغ ویستار بررسی شد. میانگین نتایج عملکرد وزن، فعالیت تولید مثلی رت‌ها در جدول‌های ۱ تا ۳ و شکل‌های ۱ تا ۵ نشان داده شده است. نتایج اثرات تزریق صفاقی عصاره الکلی آنگوزه بر مقدار مصرف خوراک و میانگین افزایش وزن در رت‌های ویستار در جدول ۱ نشان داده شده است. نتایج نشان می‌دهند که با افزایش دوز عصاره آنگوزه مقدار مصرف خوراک به طور معنی‌داری طی ۱۴ روز کاهش یافت ($P < 0/05$). کاهش مصرف خوراک سبب کاهش مقدار افزایش معنی‌دار وزن در تیمارهای مختلف نیز شد ($P < 0/05$).

برای بررسی تأثیر عملکرد عصاره آنگوزه بر عملکرد تولیدمثلی رت‌ها، برخی اندام‌های تولیدمثلی نظیر بیضه‌ها و اپیدیدیم‌ها توزین شدند و نتایج آن در جدول شماره ۲ نشان داده شده است. وزن بیضه‌ها تحت تأثیر عصاره آنگوزه روند کاهشی نشان داد؛ اما این کاهش وزن در بین تیمارهای عصاره و همچنین تیمار کنترل معنی‌دار نشدند. میانگین وزن اپیدیدیم توسط عصاره آنگوزه نسبت به تیمار کنترل افزایش یافت؛ اما این افزایش وزن یک روند کاهشی را در رابطه با افزایش دوز عصاره نشان داد؛ به نحوی که تیمارهای ۷۵ و ۱۵۰ میلی گرم عصاره تفاوت معنی‌داری با تیمار کنترل داشت ($P < 0/05$).

جدول ۱- اثر تزریق صفاقی دوزهای مختلف عصاره آنگوزه بر مصرف خوراک و میانگین افزایش وزن رت نر ویستار (بر حسب گرم)

تیمارهای آزمایشی ^۱	مصرف خوراک	میانگین افزایش وزن
کنترل (صفر)	۹۷/۷۶ ± ۴/۶۵ ^a	۱/۶۸ ± ۰/۱۹ ^a
۷۵	۷۷/۲۲ ± ۴/۵۳ ^b	۱/۲۲ ± ۰/۲۰ ^{ab}
۱۵۰	۶۸/۱۳ ± ۴/۴۷ ^{bc}	۱/۱۰ ± ۰/۱۸ ^b
۳۰۰	۶۲/۶۰ ± ۴/۴۷ ^c	۰/۸۹ ± ۰/۱۸ ^b

۱) میانگین‌های هر ستون با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($P < 0/05$).

جدول ۲- اثر تزریق صفاقی سطوح مختلف عصاره آنگوزه بر وزن اندام‌های تولیدمثلی رت‌های نر (بر حسب گرم)

تیمارهای آزمایشی ^۱	بیضه راست	بیضه چپ	میانگین وزن بیضه‌ها	میانگین وزن اپیدیدیم‌ها
کنترل (صفر)	۱/۳۴ ± ۰/۰۴	۱/۴۴ ± ۰/۰۴	۱/۳۹ ± ۰/۰۴	۰/۵۶ ± ۰/۰۱ ^b
۷۵	۱/۳۱ ± ۰/۰۴	۱/۴۳ ± ۰/۰۴	۱/۳۷ ± ۰/۰۴	۰/۶۰ ± ۰/۰۱ ^a
۱۵۰	۱/۲۳ ± ۰/۰۴	۱/۴۱ ± ۰/۰۴	۱/۳۲ ± ۰/۰۴	۰/۵۲ ± ۰/۰۱ ^c
۳۰۰	۱/۲۲ ± ۰/۰۴	۱/۴۰ ± ۰/۰۴	۱/۳۱ ± ۰/۰۴	۰/۵۴ ± ۰/۰۱ ^{bc}

۱) میانگین‌های هر ستون با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($P < 0/05$).

جدول ۳- اثر تزریق صفاقی سطوح مختلف عصاره آنغوزه بر پارامترهای هیستولوژی بافت بیضه رت

تیماهای آزمایشی ^۱				
فرآسنگه‌ها	کنترل (صفر)	آنغوزه ۷۵	آنغوزه ۱۵۰	آنغوزه ۳۰۰
قطر سمینفر (μ)	۷۰۴/۹±۱۶/۸ ^{ab}	۶۷۷/۷±۱۶/۸ ^b	۷۱۲/۳±۱۶/۸ ^{ab}	۷۳۸/۴±۱۶/۸ ^a
قطر لومن (μ)	۵۰۸/۴±۱۵/۱ ^b	۵۲۱±۱۵/۱ ^b	۶۱۶±۱۵/۱ ^{ab}	۶۷۸/۶±۱۵/۱ ^a
ضخامت لایه سلولی (μ) ^۲	۲۸۷±۷/۸ ^a	۱۹۹/۲±۷/۸ ^a	۱۷۳/۴±۷/۸ ^b	۱۱۹/۳±۷/۸ ^c
اسپرماتوسیت (تعداد)	۳۶/۴±۱/۷ ^b	۵۳/۱±۲/۳ ^b	۶۴/۲±۱/۳ ^a	۶۷/۷±۳/۱ ^a
سرتولی (تعداد)	۳۶/۹±۰/۷ ^a	۳۲/۱±۰/۷ ^a	۲۷/۶±۰/۷ ^b	۲۹/۴±۰/۷ ^b
لایدیگ (تعداد)	۱۷/۸±۷/۴ ^a	۱۵/۹±۷/۴ ^{ab}	۱۳/۹±۷/۴ ^b	۹/۵±۷/۴ ^b
تستوسترون (ng/l)	۶/۷±۰/۷ ^a	۲/۸±۰/۷ ^b	۱/۱±۰/۷ ^b	۰/۸±۰/۷ ^b

۱ میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی دار می‌باشند (P<۰/۰۵).

۲ ضخامت لایه‌های سلولی اسپرم ساز

های ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی گرم عصاره بیشترین کاهش را نسبت به تیمار کنترل نشان داد. با توجه به اهمیت سلول‌های سرتولی در تقسیم و تمایز سلول‌ها، کاهش تعداد آنها مانع از روند طبیعی تکامل سلول‌های جنسی نر می‌گردد. حال با توجه به اینکه سلول‌های لایدیگ بیشترین منبع ترشح هورمون تستوسترون در بافت بیضه می‌باشند، فعالیت پروتئین کینازی در این سلول‌ها سبب اختلال آنزیمی و در نتیجه باعث کاهش در غلظت هورمون تستوسترون می‌شود. غلظت هورمون تستوسترون توسط عصاره آنغوزه یک روند کاهشی داشت به نحوی که با افزایش دوز عصاره، غلظت تستوسترون کاهش بیشتری یافت. گزارش شده است که تستوسترون دارای اثرات آنابولیک مستقیمی بر ساخت پروتئین در تمام اندام‌ها و بافت‌های بدن می‌باشد، که این امر موجب افزایش توده ماهیچه و استخوان در جنس نر می‌شود (۱۱). بنابراین کاهش وزن در رت‌ها و کاهش ترشح هورمون تستوسترون با افزایش دوز عصاره بدیهی به نظر می‌رسد. در بررسی اثر عصاره الکلی چمچمه خرما بر میزان هورمون‌های جنس نر نشان داده شد که این عصاره دارای دو ترکیب فیتواسترول و کومارین می‌باشد که اثر استروژنیک دارند و در جنس نر سبب گسستگی فرآیند اسپرماتوزن و کاهش غلظت هورمون تستوسترون می‌شوند (۵). در پژوهش انجام شده توسط زانولی و همکاران (۱۹)، مصرف فروتین حاصل از فرولا هرمونیس در رت‌های نر، سبب کاهش عملکرد تولید مثلی شد. اثرات فروتین بر تولید مثل احتمالاً از راه کاهش ترشح تستوسترون اعمال می‌شود. به نظر می‌رسد اثر فروتین از مسیر محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گنادها باشد. علاوه بر این فیتواسترول‌ها باعث کاهش حساسیت بافت‌ها به آندروژن‌ها و کاهش فعالیت آندروژن‌ها از جمله تستوسترون از طریق مهار آنزیم‌های آروماتاز و ۵-آلفا رد وکتاز می‌شوند (۱۴). کاهش فعالیت این آنزیم باعث کاهش غلظت پلاسمایی هورمون دی‌هیدروتستوسترون می‌شود اثرات ضد باروری عصاره آنغوزه در سال ۱۹۹۹ مورد بررسی قرار

نتایج آنالیز تعداد سلول‌های اسپرماتوسیت اولیه یک روند کاهشی در رابطه با افزایش دوز عصاره آنغوزه را نشان می‌دهد به طوری که دوزهای ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی گرم یک کاهش معنی‌داری با تیمارهای کنترل و ۷۵ میلی گرم دارد (P<۰/۰۵). تعداد سلول‌های سرتولی و لایدیگ تحت تأثیر عصاره آنغوزه یک روند کاهشی را نشان دادند به نحوی که در تیمارهای ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی گرم عصاره این تفاوت با تیمار کنترل معنی‌دار شد (P<۰/۰۵). سطح تستوسترون خون تحت تأثیر عصاره آنغوزه یک روند کاهشی را نشان می‌دهد به طوری که سه تیمار عصاره نسبت به تیمار کنترل معنی‌دار شد (P<۰/۰۵). بر اساس نتایج بافت‌شناسی، فعالیت اسپرماتوزن تحت تأثیر عصاره آنغوزه قرار گرفت به طوری که قطر لوله‌های اسپرم‌ساز و لومن افزایش یافت و تیمار ۳۰۰ میلی گرم عصاره نسبت به تیمار ۷۵ میلی گرم تفاوت معنی‌داری داشت. ضخامت لایه‌های سلولی دیواره لوله‌های اسپرم‌ساز تحت تأثیر عصاره آنغوزه یک روند کاهشی را نشان داد به طوری که تیمار ۳۰۰ میلی گرم عصاره بیشترین کاهش را نشان داد. کاهش ضخامت لایه‌های سلولی لوله‌های اسپرم‌ساز با افزایش دوز عصاره می‌تواند بر عملکرد تولید مثلی و ترشح اسپرم تأثیر بگذارد. افزایش قطر لومن و همچنین کاهش ضخامت لایه‌های سلولی دیواره لوله‌های اسپرم‌ساز احتمالاً به دلیل اثرات سمی عصاره آنغوزه و آسیب بافت اسپرماتوزن است. مطالعات نشان داده است که وجود ترکیبات استروژنیک نظیر کومارین‌ها در عصاره آنغوزه، سبب گسستگی فرآیند اسپرماتوزن، کاهش تراکم سلول‌های افت اسپرماتوزن و افزایش قطر لومن‌ها می‌شوند (۵). کاهش سطح هورمون تستوسترون در تیمارهای عصاره آنغوزه با کاهش تعداد سلول‌های لایدیگ که مسئول ترشح تستوسترون هستند؛ مطابقت دارد. آنالیز نتایج مربوط به تعداد سلول‌های سرتولی، لایدیگ و همچنین تعداد اسپرماتوسیت‌های اولیه نشان داد که تعداد سلول‌های مذکور تحت تأثیر عصاره آنغوزه روند کاهشی دارد به طوری که دوز

کنترل و سایر دوز های عصاره افزایش داشت. ضخامت دیواره لوله های اسپرم ساز با افزایش سطح عصاره کاهش یافت که می تواند بر عملکرد تولید مثلی و ترشح اسپرم تأثیر بگذارد. حتی تیمار ۷۵ میلی گرم عصاره سبب کاهش معنی داری در طول و عرض لوله های اسپرم ساز شد (شکل ۲). همچنین بر اساس مطالعات انجام شده، کومارین های موجود در عصاره چمچمه خرما که دارای اثرات استروژنیک می باشند، در جنس نر سبب گسستگی فرآیند اسپرم سازی و کاهش تراکم اسپرم می شوند (۵). البته مطالعات نشان داد که آنگوزه دارای مقادیر متنوعی از ترکیبات کومارینی بوده که می تواند سبب تخریب بافت اسپرماتوژنز و سلول های وابسته گردد و در نتیجه میزان تولید تستوسترون را کاهش دهد (۱۲). این نتایج با یافته های مطالعه ما همخوانی دارد.

نتیجه گیری

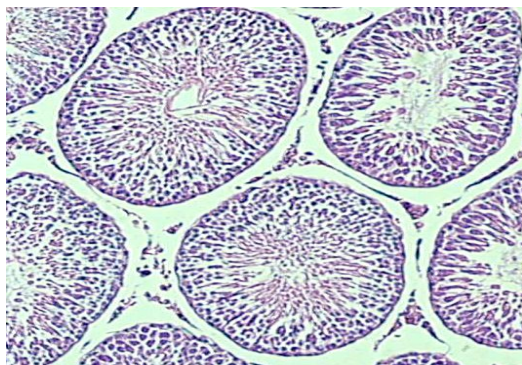
بر اساس نتایج به دست آمده از این پژوهش، عصاره آنگوزه با کاهش میزان ترشح هورمون تستوسترون اثرات مخربی بر سیستم تولید مثل در رت های ویستار دارد. همچنین غلظت ۳۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن زنده حیوان، به ایجاد اثرات سمی و احتمالاً آسیب های بافتی منجر می شود.

تشکر و قدردانی

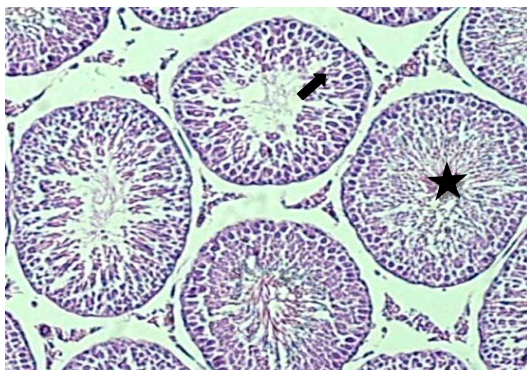
این مقاله بخشی از نتایج طرح پژوهشی مصوب دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد می باشد. بدینوسیله نویسندگان، مراتب تشکر و قدردانی خود را از مسئولان محترم آن دانشکده اعلام می دارند. همچنین از جناب آقای مهندس محسن ابوالفضلی و خانم مهندس عاطفه بابایی به پاس مساعدت و همکاری در انجام آزمایش، تشکر و قدردانی می نمایند.

گرفت، به طوری که سقط جنین در ۸۰٪ از رت های تحت درمان (۴۰۰ mg/kg) گزارش شد (۱۳). نتایج به دست آمده از این مطالعه نشان داد که عصاره آنگوزه نه تنها سبب بهبود عملکرد سیستم تولید مثلی نر نشد، بلکه موجب تخریب بافت اسپرماتوژنز و کاهش غلظت هورمون تستوسترون شد.

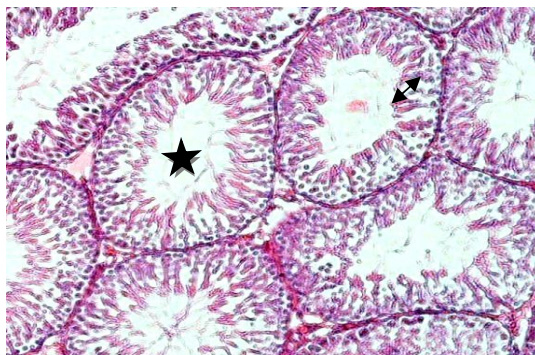
در بررسی آسیب شناسی بافت بیضه تیمارهای دریافت کننده ۷۵، ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی گرم عصاره تغییرات پاتولوژیک زیادی مشاهده شد (شکل های ۱-۵). به طور کلی مطالعه میکروسکوپی نشان داد که ساختار لوله های سمینوفروس همراه با بافت اسپرماتوژنز در تیمارهای مختلف متفاوت می باشد. به نحوی که در تیمار کنترل پیوستگی لایه های سلولی اسپرماتوژنز در مقایسه با سایر تیمارها نشان دهنده تأثیر مخرب عصاره آنگوزه وابسته به دوز، نیز افزایش یافته است (شکل ۱). در بررسی مقاطع بافتی، ضخامت لایه های سلولی اسپرماتوژنز، قطر لومن، تجمع توده اسپرم در ناحیه لومن و واپاشی سلولی در لوله های سمینوفروس با افزایش دوز عصاره کاملاً مشهود است. به طوری که در دوز ۳۰۰ میلی گرم تنها دولایه سلول های زاینده اسپرم ساز مشاهده می شود (شکل ۴). این امر بیانگر اثرات مخرب عصاره آنگوزه بر این سلول ها می باشد. البته دولایه زاینده از این تخریب مستثنی می باشند و به نظر می رسد که این سلول ها در مقابل سمیت آنگوزه مقاومت می کنند. گزارش شده است که بیضه های تحت تأثیر سموم دیگر نظیر گوسیپول و یا اشعه ایکس می توانند ادامه حیات بدهند (۱). همچنین تفکیک و جداسازی لایه های سلولی اسپرماتوژنز، در دوز ۷۵ میلی گرم در مقایسه با دوزهای ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی گرم عصاره مشاهده می شود (شکل های ۲، ۳ و ۴). تجمع سلول های اسپرم نابالغ در لومن لوله های اسپرم ساز همزمان با افزایش دوز عصاره نیز کاهش یافت. به طوری که حضور اسپرم در لومن لوله های اسپرم ساز در دوز ۳۰۰ میلی گرم عصاره مشاهده نمی شود (شکل ۴). در بررسی های انجام شده مشخص شد که مقدار آتروفی توپول های اسپرم ساز در رت های تیمار ۳۰۰ میلی گرم عصاره نسبت به تیمار



شکل ۱- مقطعی از بافت بیضه در رت های تیمار کنترل، منظم بودن لوله های سمینوفروس و تجمع اسپرم ها در لومن توپول های اسپرم ساز کاملاً مشهود است. رنگ آمیزی (H&E); X100



شکل ۲- مقطعی از بافت بیضه در تیمار دریافت کننده ۷۵ mg/kg عصاره انگوزه که از واپاشی لایه های سلولی (فلش) و حضور سایر سلول های اسپرματοژنز در مرکز لومن (ستاره) قابل مشاهده است. رنگ آمیزی (H&E); X100.



شکل ۳- مقطعی از بافت بیضه در تیمار دریافت کننده ۱۵۰ mg/kg عصاره انگوزه که کاهش ضخامت دیواره سلولی لوله های اسپرم ساز (فلش) و کاهش شدید حضور اسپرم در لومن لوله های اسپرم ساز (ستاره) مشهود است. رنگ آمیزی (H&E); X100.



شکل ۴- مقطعی از بافت بیضه در تیمار دریافت کننده ۳۰۰ mg/kg عصاره انگوزه که از افزایش قطر لومن (فلش) و تخریب بافت بینابینی (ستاره) و کاهش تعداد لایه های اسپرم ساز کاملاً مشهود است. رنگ آمیزی (H&E); X100.



شکل ۵- تصاویر A و B به ترتیب مربوط به بیضه چپ رت های شماره ۵ و ۸ دوز های ۷۵ و ۱۵۰ میلی گرم عصاره صمغ آنگوزه می باشد. تخریب بافت بیضه و چسبندگی ناشی از عفونت بین بافت بیضه و لایه های اطراف (تصویر A) و آسیب دیدگی و بیرون زدگی بافت بیضه (تصویر B) مشهود است.

منابع

- ۱- آرشامی، ج. ۱۳۷۳. بررسی اثرات هیستوپاتولوژیک گوسپیول در بیضه قوچ. مجله علوم و صنایع کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد. ۸ (۱): ۷۹-۹۱.
- ۲- ایوبی، ع، ج. آرشامی، ر. ولی زاده، ز. موسوی، و ا. موسایی. ۱۳۹۱. اثر عصاره صمغ آنگوزه (*Ferula assa- foetida*) بر پارامترهای خون و هیستوپاتولوژی بیضه در موش صحرایی نر ویستار. نشریه پژوهش های علوم دامی ایران. دانشگاه فردوسی مشهد. ۴ (۴): ۳۱۵-۳۱۰.
- ۳- خسروی، ح، و ع. ا. مهرابی. ۱۳۸۴. بررسی اقتصادی برداشت گونه آنگوزه در منطقه طبس. مجله منابع طبیعی ایران. ۵۸ (۴): ۹۴۴-۹۳۴.
- ۴- زارع کاریزی، ا. ر، م. امیدی، ج. فلاح حسینی، د. یزدانی، ش. رضازاده، ن. ایروانی، و ا. اولادوزاد. ۱۳۹۰. مروری بر اثرات فارماکولوژی گیاه دارویی آنگوزه (*Ferula assa- foetida* L.): یک مطالعه مروری نظام مند. فصلنامه گیاهان دارویی. ۱۰ (۴): ۱۷-۲۵.
- ۵- مختاری، م، الف. شریفی، و د، مقدم نیا. ۱۳۸۵. تأثیر عصاره الکلی چمچمه خرما بر تغییرات بافتی بیضه و میزان هورمون های *LH*، *FSH* و تستوسترون در موش صحرایی نر. مجله علوم پایه پزشکی ایران. ۹ (۴): ۲۶۵-۲۷۱.
- ۶- مدرسی، م، م. مصری پور و ر. رجائی. ۱۳۸۹. اثر عصاره هیدروالکلی دارچین بر تعداد سلول های اسپرماتوسیت و اسپرماتوزوآ در موش آزمایشگاهی. فصلنامه علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. ۲۶ (۱): ۸۳-۹۰.
- ۷- میرفردی، م، ج. جوهری، م. مختاری، ه. حمایت خواه، و ق. الهوردی. ۱۳۹۰. بررسی اثر عصاره هیدروالکلی سیر بر وزن بیضه و اسپرماتوزنر در موش های صحرایی نر بالغ تحت شیمی درمانی داروی سیکلو فسفامید. مجله دانشگاه علوم پزشکی فسا. ۳ (۱): ۶۷-۷۴.
- 8- Bandyopadhyay, D., B. Basak, A. Chatterjee, T.K. Lai, A. Banerji, J. Banerji, A. Neuman, and T. Prange. 2006. Saradaferin, a new sesquiterpenoid coumarin from *Ferula assafoetida*. *Natural Product Research*. 20: 961-96.
- 9- Dehpour, A.A., M.A. Ebrahimzadeh, N.S. Fazeland and N.S. Mohammad. 2009. Antioxidant activity of the methanol extract of *Ferula assafoetida* and its essential oil composition. *Grasas y Aceites*. 60: 405-412.
- 10- Eigner, D. and D. Scholz. 1990. Das zauberbchelin der Gyani Dolma. *Pharmazie in Unserer Zeit*. 19: 141-152.
- 11- Ganong, W. F. 2001. Review of medical physiology. 20th edition. Philadelphia: McGraw- Hill. 383-438.
- 12- Iranshahy, M., and M. Iranshahi. 2011. Traditional uses, phytochemistry and pharmacology of asafetida (*Ferula assa-foetida* oleo-gum-resin). *J. ethnopharmacol*. 134: 1-10.
- 13- Keshri, G., V. Lakshmi, M. M. Singh, and V.P. Kamboj. 1999. Post-coital antifertility activity of *Ferula assafoetida* extract in female rats. *Pharmaceut Biol*. 37: 273-276.
- 14- Khan, U., M. Aslam, and A. Saeeds. 2004. Effect of beta adrenergic antagonist on the production of testosterone by rat leydig cells, *Jayub. Med. Coll. Abbottabad*. 16: 26-8.
- 15- Modaresi, M., M. Messripour, H. Nazem, and M. Asadi. 2008. Effect of Saffron Extract on Pituitarytestis Axis in Mice. *International Journal of Health Science*. 1(1): 7-8.
- 16- Ross, I. A. 2005. Chemical Constituents, Traditional and Modern Medicinal Uses, *Medicinal Plants of the World*. Humana Press Inc, Totowa, pp. 223-234.

- 17- Singh, R. 2007. In vitro evaluation of aqueous and alcoholic extracts of spices for antifungal properties. *Indian Journal of Animal Sciences*. 77: 675-677.
- 18- Sitara, U., I. Niaz, J. Naseem, and N. Sultana. 2008. Antifungal effect of essential oils on in vitro growth of pathogenic fungi. *Pakistan Journal of Botany*. 40: 409-414.
- 19- Zanolì, P., M. Rivasi, M. Zavatti, F. Brusiani, F. Vezzalini, and M. Barald. 2005. Activity of single components of *Ferula hermonis* on male rat sexual behavior. *Int. J impot. res*. 17: 513-515.