نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۶، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۳، ص. ۱۸۰-۱۷۳

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 6, No. 2, Summer 2014, p. 173-180

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

علیرضا ایوبی[1*]- رضا ولی زاده[2]- جواد آرشامی[3]- زهرا موسوی[4]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۸/۳
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۳/۲۱

چکیده

آنغوزه دارای ترکیباتی مانند سزکویی‌ترپن ها و کومارین ها است که در طب سنتی برای درمان اختلالات عصبی، صرع، آسم و بیماری های گوارشی استفاده می‌شود. وجود ترکیبات گوگردی آنغوزه سبب بروز خواص آنتی اکسیدانی مفید می‌شود. به منظور بررسی اثرات سه دوز عصاره آبی- الکلی آنغوزه 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 آنغوزه به ازای هر کیلوگرم وزن بدن رت‌ها بود. عصاره مورد نیاز پس از تیماربندی رت‌ها، روزانه به داخل صفاق رت‌ها به مدت ۱۴ روز تزریق شد. در روز ۱۵ آزمایش، به منظور سنجش هورمون تستوسترون خونگیری از قلب رت ها 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 تیمار ها مشاهده نشد. افزایش دوز عصاره آنغوزه، ضخامت لایه های سلولی لوله سمنیفروس را کاهش داد. تعداد سلول های لایدیگ و سرتولی تحت تأثیر دوز های ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم عصاره آنغوزه کاهش یافتند. عصاره صمغ آنغوزه سبب کاهش تستوسترون خون در مقایسه با تیمار کنترل شد. نتایج این پژوهش نشان داد که دوز های بالاتر از ۱۵۰ میلی گرم عصاره آنغوزه سبب تخریب بافت اسپرماتوژنز می‌شود.

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

مقدمه

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 افزودنی‌های ایمن تر به ویژه با منشا گیاهی در سال‌های 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 آنغوزه در اراضی بایر، خشک و آهکی مناطق گرم آسیا می روید و بومی استپ های ایران و بخش هایی از افغانستان می باشد. این گیاه از خانواده چتریان است و یک گیاه علفی چند ساله بوده که حدود ۲ متر ارتفاع دارد. صمغ آنغوزه از تیغ زدن ریشه یا قطع ساقه گیاه مولد آنغوزه 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 ترپن کومارین ها و سایر ترپنوییدها می باشد (۸) بو و مزه خاص آنغوزه به علت وجود ترکیبات سولفوره در صمغ آنغوزه می باشد که شامل دی، تری و تتراسولفیدها هستند (۲). صمغ آن دارای گلوکز، گالاکتوز، رامنوز، پلی ساکاریدها و گلیکوپروتئین ها بوده و روغن‌های فرار آن از ترکیبات سولفوره و ترپنوییدها تشکیل شده است (۹ و۱۲). آنغوزه 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 یبوست افراد مسن مؤثر می‌باشد (۱۶). اثرات ضد میکروبی و ضد انگلی برای آنغوزه نیز گزارش شده است (۴). بر اساس گزارشات با وجود اثرات مفید،

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی دام، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد،
۲- استاد تغذیه دام، گروه علوم دام، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد،
۳- دانشیار فیزیولوژی 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)

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 فروتنین، که در این گونه به وفور یافت می شود، نسبت داده اند (۱۹). علاوه براین گزارش شده که مردم نپال ازآنغوزه به عنوان چاشنی غذای روزانه استفاده می کنند و اعتقاد دارند که آنغوزه دارای خاصیت تحریک فعالیت جنسی، دارویی مسکن و دارای خواص ادرار آوری است (۱۰). تاکنون پژوهش‌های اندکی در خصوص اثرات گیاه یا عصاره آنغوزه 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 آنغوزه بر وزن بدن، وزن بیضه، هورمون تستوسترون و اسپرماتوژنز 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 ۴/۳±۲۵۲ گرم، تحت چرخه نوری ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی و رطوبت ۴۵-۳۵٪ و با درجه حرارت (۱°C±۲۵) 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 و۳۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلو وزن بدن عصاره آنغوزه دریافت کردند. برای تهیه محلول تزریقی دارای عصاره، ابتدا پودر عصاره آنغوزه با مقادیر ۷۵، ۱۵۰ 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 (۱۰میلی گرم برکیلوگرم) 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- سانتیگراد 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 میلی‌متر مربع از طول تقسیم شدند و 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 آنغوزه ابتدا ۱۰۰ گرم از آن را آسیاب کرده و با هزار میلی لیترآب 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 ۴۵°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 الایزا 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 کاملا تصادفی و با در نظر گرفتن وزن اولیه به عنوان متغیر کمکی با رویه *GLM* نرم افزار آماری *SAS* انجام شد. مقایسات میانگین با

استفاده از آزمون مقایسات چند دامنه‌ای دانکن انجام و P<۰/۰۵ بعنوان سطح معنی داری در نظرگرفته شد.

نتایج و بحث

در این مطالعه، اثرات تزریق صفاقی سه دوز ۷۵، ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی گرم عصاره الکلی آنغوزه بر عملکرد وزن، بافت اسپرماتوژنز و هورمون تستوسترون طی ۱۴ روز در رت های نر بالغ ویستار بررسی شد. میانگین نتایج عملکرد وزن، فعالیت تولید مثلی رت ها در جدول های ۱ تا ۳ و شکل های ۱ تا ۵ نشان داده شده است. نتایج اثرات تزریق صفاقی عصاره الکلی آنغوزه بر مقدار مصرف خوراک و میانگین افزایش وزن در رت های ویستار در جدول ۱ نشان داده شده است. نتایج نشان می دهند که با افزایش دوز عصاره آنغوزه مقدار مصرف خوراک به طور معنی داری طی ۱۴ روز کاهش یافت (P<۰/۰۵). کاهش مصرف خوراک سبب کاهش مقدار افزایش معنی دار وزن در تیمارهای مختلف نیز شد (P<۰/۰۵).

برای بررسی تأثیر عملکرد عصاره آنغوزه بر عملکرد تولیدمثلی رت ها، برخی اندام های تولیدمثلی نظیر بیضه ها و اپیدیدیم ها توزین شدند و نتایج آن در جدول شماره ۲ نشان داده شده است. وزن بیضه ها تحت تأثیر عصاره آنغوزه روند کاهشی نشان داد؛ اما این کاهش وزن در بین تیمارهای عصاره و همچنین تیمار کنترل معنی دار نشدند. میانگین وزن اپیدیدیم توسط عصاره آنغوزه 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 معنی داری با تیمار کنترل داشت (P<۰/۰۵).

در این آزمایش عصاره آنغوزه بر وزن بیضه‌ها و اپیدیدیم‌ها تأثیر قابل ملاحظه ای نداشت. تغییرات وزن اپیدیدیم نیز یک روند کاهشی داشت. مطالعات نشان داده است که رادیکال های آزاد به دلیل تمایل شدید به گرفتن الکترون، سبب آسیب به دیگر ملکول ها ازجمله اسیدهای چرب غشاهای بیولوژیک و اکسیداسیون آن ها می‌شود در نتیجه ساختار و عملکرد غشاء در بیضه آسیب می‌بیند (۶). با توجه به اینکه نتایج تغییرات وزنی اندام های مذکور بین تیمارهای عصاره و تیمار کنترل معنی دار نشد؛ عدم تغییرات چشمگیر نشان دهنده این است که در این دوز درمانی، عصاره آنغوزه تأثیر قابل توجهی بر وزن بیضه ندارد و افزایش دوز تزریقی و یا دفعات تزریق ممکن است منجر به ایجاد تغییرات بیش تر در سیستم هورمونی، ساختار و عملکرد اندام های تولیدمثلی گردد.

نتایج اثرات تزریق دوز های صفر، ۷۵، ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی گرم عصاره آنغوزه بر بافت اسپرماتوژنز و سطح تستوسترون خون در رت ها که به صورت درون صفاقی و به مقدار ۰/۵ میلی لیتر دریافت کردند، در جدول ۳ آمده است. قطر لوله های اسپرم ساز توسط عصاره آنغوزه افزایش یافت و تنها در دوز ۷۵ میلی گرم عصاره تفاوت با تیمار ۳۰۰ میلی گرم معنی دار شد (P<۰/۰۵). نتایج بررسی بافتی یک روند افزایشی در قطر لومن را نشان داد به نحوی که سطح ۳۰۰ میلی گرم تفاوت معنی داری با دوز ۷۵ میلی گرم و تیمار کنترل نشان داد (P<۰/۰۵). ضخامت لایه های سلولی تحت تأثیر عصاره آنغوزه یک روند کاهشی داشت و دوز های ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی گرم عصاره با تیمار کنترل تفاوت معنی داری نشان دادند (P<۰/۰۵).

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

تیمار های آزمایشی[1]	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]

۱میانگین های هر ستون با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی دار می باشند (P<۰/۰۵).

جدول ۲- اثر تزریق صفاقی سطوح مختلف عصاره آنغوزه بر وزن اندام های تولیدمثلی رت های نر (بر حسب گرم)

تیمار های آزمایشی[1]	بیضه راست	بیضه چپ	میانگین وزن بیضه ها	میانگین وزن اپیدیدیم ها
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]

۱میانگین های هر ستون با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی دار می باشند (P<۰/۰۵).

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

	تیمارهای آزمایشی[1]			
فرآسنجه ها	کنترل(صفر)	آنغوزه ۷۵	آنغوزه ۱۵۰	آنغوزه ۳۰۰
قطر سمینیفر (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}
ضخامت‌لایه سلولی (µ)[2]	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±۱/۲^{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}

۱میانگین های هر ردیف با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی دار می باشند (P<۰/۰۵).
۲ ضخامت لایه های سلولی اسپرم ساز

نتایج آنالیز تعداد سلول های اسپرماتوسیت اولیه یک روند کاهشی در رابطه با افزایش دوز عصاره آنغوزه را نشان می دهد به طوری که دوز های ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی گرم یک کاهش معنی داری با تیمارهای کنترل و ۷۵ میلی گرم دارد (P<۰/۰۵). تعداد سلول های 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 معنی دار شد (P<۰/۰۵). سطح تستوسترون خون تحت تأثیر عصاره آنغوزه یک روند کاهشی را نشان می دهد به طوری که سه تیمار عصاره نسبت به تیمار کنترل معنی دار شد (P<۰/۰۵).

بر اساس نتایج بافت شناسی، فعالیت اسپرماتوژنز تحت تأثیر عصاره آنغوزه قرار گرفت به طوری که قطر لوله های اسپرم ساز و لومن افزایش یافت و تیمار ۳۰۰ میلی گرم عصاره نسبت به تیمار ۷۵ میلی گرم تفاوت معنی داری داشت. ضخامت لایه های سلولی دیواره لوله‌های اسپرم ساز 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 لایه های سلولی لوله‌های اسپرم ساز با افزایش دوز عصاره می تواند بر عملکرد تولید مثلی و ترشح اسپرم تأثیر بگذارد. افزایش قطر لومن و همچنین کاهش ضخامت لایه های سلولی دیواره لوله‌های اسپرم ساز احتمالاً به دلیل اثرات سمی عصاره آنغوزه و آسیب بافت اسپرماتوزنز است. مطالعات نشان داده است که وجود ترکیبات استروژنیک نظیر کومارین ها در عصاره آنغوزه، سبب گسستگی فرآیند اسپرماتوژنز، کاهش تراکم سلول های افت اسپرماتوژنز و افزایش قطر لومن ها می‌شوند (۵). کاهش سطح هورمون تستوسترون در تیمار های عصاره آنغوزه با کاهش تعداد سلول های لایدیگ که مسئول ترشح تستوسترون هستند؛ مطابقت دارد. آنالیز نتایج مربوط به تعداد سلول های سرتولی، لایدیگ و همچنین تعداد اسپرماتوسیت های اولیه نشان داد که تعداد سلول های مذکور تحت تأثیر عصاره آنغوزه روند کاهشی دارد به طوری که دوز های ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی گرم عصاره بیشترین کاهش را نسبت به تیمار کنترل نشان داد. با توجه به اهمیت سلول های 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 می باشند، فعالیت پروتئین کینازی در این سلول ها سبب اختلال آنزیمی و در نتیجه باعث کاهش در غلظت هورمون تستوسترون می شود. 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 اندام ها و بافت های بدن می باشد، که این امر موجب افزایش توده ماهیچه و استخوان در جنس نر می شود (۱۱). بنابراین کاهش وزن در رت ها و کاهش ترشح هورمون تستوسترون با افزایش دوز عصاره بدیهی به نظر می‌رسد. در بررسی اثر عصاره الکلی چمچمه خرما بر میزان هورمون های جنس نر نشان داده شد که این عصاره دارای دو ترکیب فیتواسترول و کومارین می باشد که اثر استروژنیک دارند و در جنس نر سبب گسستگی فرآیند اسپرماتوژنز و کاهش غلظت هورمون تستوسترون می شوند (۵). در پژوهش انجام شده توسط زانولی و همکاران (۱۹)، مصرف فروتنین حاصل از فرولا هرمونیس در رت های نر، سبب کاهش عملکرد تولید مثلی شد. اثرات فروتنین بر تولید مثل احتمالا از راه کاهش ترشح تستوسترون اعمال می شود. به نظر می رسد اثر فروتنین 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 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 آنغوزه نه تنها سبب بهبود عملکرد سیستم تولید مثلی نر نشد، بلکه موجب تخریب بافت اسپرماتوژنز و کاهش غلظت هورمون تستوسترون شد.

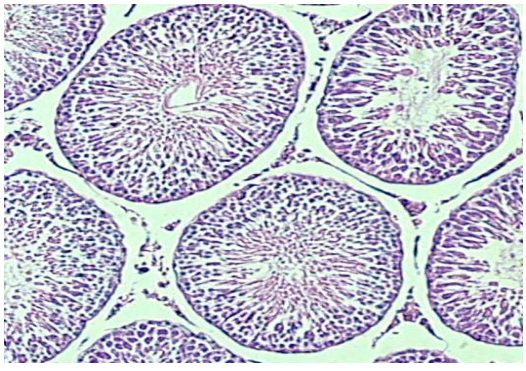
در بررسی آسیب شناسی بافت بیضه تیمارهای دریافت کننده ۷۵، ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی گرم عصاره تغییرات پاتولوژیک زیادی مشاهده شد (شکل های ۱-۵). به طور کلی مطالعه میکروسکوپی نشان داد که ساختار لوله های سمینوفروس همراه با بافت اسپرماتوژنز در تیمارهای مختلف متفاوت می‌باشند. به نحوی که در تیمار کنترل پیوستگی لایه های سلولی اسپرماتوژنز در مقایسه با سایر تیمارها نشان دهنده تأثیر مخرب عصاره آنغوزه وابسته به دوز ، نیز افزایش یافته است (شکل ۱). در برررسی 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 کاملا مشهود است. به طوری که در دوز ۳۰۰ میلی گرم تنها دولایه سلول های زاینده اسپرم ساز مشاهده می‌شود (شکل ۴). این امر بیانگر اثرات مخرب عصاره آنغوزه بر این سلول ها می باشد. البته دولایه زاینده از این تخریب مستثنی می باشند و به نظر می‌رسد که این سلول ها در مقابل سمیت آنغوزه مقاومت می‌کنند. 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 (شکل‌های ۲، ۳ و ۴). تجمع سلول های اسپرم نابالغ در لومن لوله های اسپرم سا ز همزمان با افزایش دوز عصاره نیز کاهش یافت. به طوری که حضور اسپرم در لومن لوله‌های اسپرم ساز در دوز ۳۰۰ میلی گرم عصاره مشاهده نمی شود (شکل ۴). در بررسی های انجام شده مشخص شد که مقدار آتروفی توبول های اسپرم ساز در رت‌های تیمار ۳۰۰ میلی گرم عصاره نسبت به تیمار 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 می‌شوند (۵). البته مطالعات نشان داد که آنغوزه دارای مقادیر متنوعی از تر کیبات 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

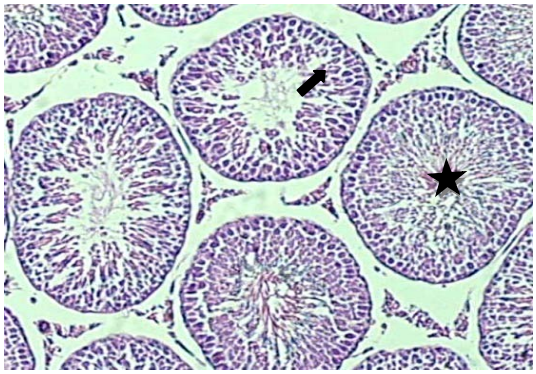
بر اساس نتایج به دست آمده از این پژوهش، عصاره آنغوزه با کاهش میزان ترشح هورمون تستوسترون اثرات مخربی بر سیستم تولید مثل در رت های ویستار دارد. همچنین غلظت ۳۰۰ میلی گرم به ازای هرکیلوگرم وزن زنده حیوان، به ایجاد اثرات سمی و احتمالا آسیب های بافتی منجر می شود.

تشکر و قدردانی

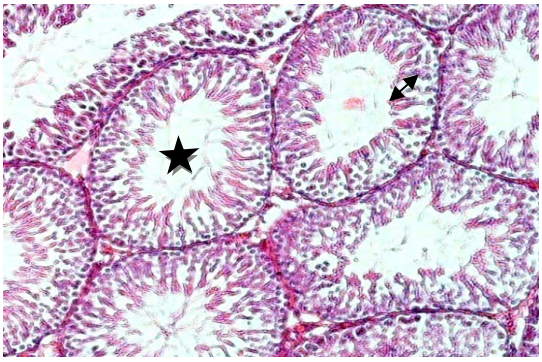
این مقاله بخشی از نتایج طرح پژوهشی مصوب دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد می باشد. بدینوسیله نویسندگان، مراتب تشکر و قدردانی خود را از مسئولان محترم آن دانشکده اعلام می دارند. همچنین از جناب آقای مهندس محسن ابوالفضلی و خانم مهندس عاطفه بابایی به پاس مساعدت و همکاری در انجام آزمایش، تشکر و قدردانی می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



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



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



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

شکل ٤- مقطعی از بافت بیضه در تیمار دریافت کننده mg/kg ۳۰۰ عصاره آنغوزه که از افزایش قطر لومن (فلش) و تخریب بافت بینابینی (ستاره) و کاهش تعداد لایه‌های اسپرم ساز کاملا مشهود است. رنگ آمیزی (H&E) ;X100

شکل۵- تصاویر A و B به ترتیب مربوط به بیضه چپ رت های شماره ۵ و ۸ دوز های ۷۵ و۱۵۰ میلی گرم عصار صمغ آنغوزه می باشد. تخریب بافت بیضه وچسبندگی ناشی از عفونت بین بافت بیضه و لایه های اطراف (تصویر A) و آسیب دیدگی و بیرون زدگی بافت بیضه (تصویرB) مشهود است.

منابع

۱- آرشامی، ج. ۱۳۷۳. بررسی اثرات هیستوپاتولوژیک گوسیپول در بیضه قوچ. مجله علوم وصنایع 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 آنغوزه (*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): ۳۱۰-۳۱۵.

۳- خسروی، ح.، و ع. ا. مهرابی. ۱۳۸۴. بررسی اقتصادی برداشت گونه آنغوزه در منطقه طبس. مجله منابع طبیعی ایران. ۵۸(۴): ۹۴۴-۹۳۴.

۴- زارع کاریزی، ا. ر.، م. امیدی، ح. فلاح حسینی، د. یزدانی، ش. رضازاده، ن. ایروانی، و ا. اولادوزاد. ۱۳۹۰. مروری بر اثرات فارماکولوژی گیاه دارویی آنغوزه(*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 *FSH*، *LH* 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. فصلنامهٔ علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. ۲۶(۱): ۸۳-۹۰.

۷- میرفردی، م.، ح. جوهری، م. مختاری، ه. حمایت خواه، و ق. الهوردی. ۱۳۹۰. بررسی اثر عصاره هیدروالکلی سیر بر وزن بیضه و اسپرماتوژنز در موش‌های 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- Zanoli, 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.