



بررسی اثر عصاره آبی گیاه رازیانه و پنج انگشت بر محور HPG و اسپرماتوژنز در موش سوری نر نژاد NMRI

معصومه پیرسلوارانی^۱، عبدالحسین شیروی^{۱*} و میترا حیدری نصرآبادی^۲

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد دامغان، گروه زیست‌شناسی، دامغان، ایران

۲- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد پرند، گروه زیست‌شناسی، پرند، ایران

مسئول مکاتبات: shiravi738@yahoo.com

چکیده

بدون شک گیاه پنج انگشت (*Vitex agnus castus*) و گیاه رازیانه (*Foeniculum vulgare*) از مهمترین گیاهانی هستند که به عنوان درمانگر طبیعی برای بهبود مشکلات هورمونی خانم‌ها استفاده می‌شوند. اما درباره تأثیر عصاره آبی گیاه پنج انگشت و اثر تلفیقی این دو گیاه بر میزان هورمون‌های LH و FSH و تستوسترون در سرم خون موش نر هیچ گزارشی وجود ندارد. این طرح، اثر گیاه پنج انگشت و گیاه رازیانه را بر میزان هورمون لوتهینی (LH) و هورمون محرک فولیکولی (FSH) و هورمون تستوسترون در موش سوری نر نژاد NMRI را بررسی می‌کند. این یک مطالعه تجربی هست که در آن موش‌های نر بالغ انتخاب و به دو گروه کنترل و تجربی تقسیم شده‌اند. گروه تجربی، خود به ۵ گروه تقسیم شده‌اند. هر گروه شامل ۸ موش می‌باشد. عصاره آبی گیاه رازیانه با دوز ۲۰۰ و ۱۰۰ میکرولیتر و عصاره آبی گیاه پنج انگشت با دوز ۴۰۰ و ۳۰۰ میکرولیتر و دوز ۶۰۰ میکرولیتر که بصورت تلفیقی از هر دو گیاه می‌باشد، به مدت ۱۶ روز پی در پی و بصورت داخل صفاقی به موش‌های گروه تجربی تزریق شد. دو هفته پس از آخرین تزریق، حیوانات را وزن کرده و سرانجام توسط داروی کتامین و زیلزین بیهوش و عمل خونگیری از قلب آنها انجام شد. سپس میزان هورمون‌های LH و FSH و تستوسترون در سرم خون حیوانات به روش RIA سنجش شد. بخش دمی اپیدیدیم راست برای شمارش اسپرم بکار رفت. پس از بررسی ماکروسکوپی (وزن، قطر و حجم بیضه) بافت‌ها در فیکساتیو فرمالین ۱۰٪ فیکس شدند. مقاطع ۵ میکرومتری تهیه و با هماتوکسیلین و اتوزین رنگ آمیزی شد. داده‌ها جمع‌آوری شده و با استفاده از نرم افزار SPSS و آزمون‌های آنالیز واریانس ANOVA و Tukey تجزیه و تحلیل شد. هیچ تفاوت معنی‌داری در وزن بدن، حجم، قطر و وزن بیضه دیده نشد. عصاره آبی گیاه پنج انگشت و گیاه رازیانه باعث کاهش معنی‌دار در میزان هورمون‌های LH و FSH و تستوسترون در مقایسه با گروه کنترل شد. پنج انگشت و رازیانه هر دو دارای اسیدهای چرب ضروری و ترکیبات استروئیدیک هستند. این نتایج پیشنهاد می‌کند که گیاه پنج انگشت و گیاه رازیانه ممکن است بر محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گناد عمل کرده و یا بطور مستقیم بر روی هیپوفیز اثر نماید.

کلمات کلیدی: پنج انگشت، رازیانه، موش سوری نر، نژاد NMRI

مقدمه

گیاه پنج انگشت از خانواده شاه‌پسند به صورت درختچه‌هایی با ارتفاع ۱/۵ تا ۲ متر می‌باشند. برگ‌های آنها مرکب پنجه‌ای، دارای ۵ برگچه‌اند و به ندرت تا ۷ برگچه دارند. گل‌ها بنفش رنگ، مجتمع در گل آذین‌های گرزن محوری، گاهی دارای دو یا سه شاخه‌اند و مجموعه‌ای را به صورت خوشه گرزن تشکیل می‌دهند. میوه شفت مانند، دارای طعم تند و زایل‌کننده توانایی جنسی است [۵]. تاریخچه طولانی از کاربرد اولیه گیاه در نوشته‌های بقراط اشاره شده است. عصاره این گیاه به وسیله پزشک یونانی Dioscorides به منظور کاهش میل جنسی تجویز می‌شده است. میوه آن جهت رفع سر درد، نفخ، تب و یبوست مصرف می‌شد [۸]. میوه این گیاه جهت درمان مشکلات قاعدگی در زنان از جمله سندرم پیش از قاعدگی، بهم خوردن تعادل میزان هورمون‌های



را *Foeniculum Vulgare mill* دانسته‌اند. در ایران، در مناطق شمالی در دامنه‌های البرز و در ارتفاعات ۷۵۰ متری به صورت خودرو دیده می‌شود [۷]. گیاهانی که در مناطق مختلف رشد کرده باشند، از نظر ظاهری تفاوت زیادی با هم ندارند [۱۰]. میوه رازیانه دارای ۱۰ تا ۱۲ درصد ماده روغنی می‌باشد، که در لپه‌های دانه ذخیره شده است. روغن حاصل از میوه رازیانه دارای اسید پالمیتیک، اسید اولئیک، اسید لینولئیک، اسید پتروسه لینک می‌باشد. میوه رازیانه همچنین شامل کمی مواد قندی، موسیلاژ و اسانس به مقدار ۴ تا ۶ درصد است. مقدار درصد اسانس و ترکیب مواد متشکله آن بر حسب محل رویش گیاه فرق می‌کند [۱۸]. میوه‌های رازیانه دارای نوعی اثر استروژنیک بوده و سبب افزایش وزن و چاقی می‌شود [۲۲]. رازیانه از نظر طبیعت طبق نظر حکمای طب سنتی، نسبتاً گرم و خشک است. میوه آن گرم‌تر از برگ آن و ریشه آن گرم‌تر از سایر اعضای گیاه است. خواص آن در مجموع بازکننده گرفتگی‌ها، انسداد مجاری سینه، کبد، طحال، کلیه، مثانه و برای تسکین دردهای آنها که ناشی از سردی می‌باشند، مفید است [۷]. رازیانه اثر ضد نفخ، هضم‌کننده، اشتها آور، خلط آور، آرام‌کننده و تسکین‌بخش، قاعده آور، محرک جنسی و افزایش ترشح شیر دارد [۱۶]. ترکیب یا ترکیبات موجود در عصاره گیاه رازیانه قادر است، با اثر بخشی بر سیستم اعصاب مرکزی و محیطی، به خصوص از طریق گیرنده‌های سروتونین و دوپامینرژیک اثرات خودش را القاء کند [۱].

مواد و روش کار

در این مطالعه تجربی از میوه گیاه پنج‌انگشت و میوه گیاه رازیانه، که در شرکت داروسازی پورسینای تهران مورد تأیید قرار گرفت، استفاده شد. پس از آسیاب کردن میوه‌ها، مقدار ۵۰۰ گرم از پودر خشک هر گیاه وزن کرده و پودر داخل یک بشر بزرگ ریخته شد، ۲/۵

استروژن و پروژسترون، نقص در جسم زرد، عوارض یائسگی، هیپرپرولاکتینمی مورد استفاده قرار می‌گیرد. متأسفانه اثر ساز و کار میوه گیاه و ترکیبات مؤثر آن هنوز دقیقاً مشخص نیست [۲۶]. از میوه رسیده و خشک آن ترکیب گلیکوزید ایریدوئیدهای ایروستوزید (eurostoside) و اوکوبین (aucubin) و آگنوزید (agnuside)، فلانوئیدها، دی‌ترین‌های لادنی، همچنین گلیکوزید ایریدوئیدهای ایروستوزید (eurostoside) و اوکوبین (aucubin) و آگنوزید (agnuside)، ویتکسی-لاکتون (Vitexilactone) و 6B,7B-diacetoxy-13-hydroxy-labda-8-14-diene جدا شده است. لازم به ذکر است که دو ترکیب آخر تمایل زیادی جهت اتصال به گیرنده‌های دوپامینی دارند. مطالعات مختلف، اثرات ضدسرطان، جلوگیری از پوکی استخوان و پایین آورنده کلسترول خون این گیاه را نشان داده است [۲۸,۲۷].

گیاه رازیانه از تیره چتریان می‌باشد. گیاهان این تیره معمولاً علفی و به ارتفاع ۱ تا ۲ متر بوده، ساقه آنها شیاردار، برگ‌های متناوب و غالباً مرکب و دمبرگ‌های آنها دارای غلاف هستند. گل‌آذین این گیاهان چتر مرکب و ندرتاً کلاپرک است. گل‌ها معمولاً دو جنسی، منظم یا نامنظم و میوه آنها دو فندقه شیزوکارپ است [۱۰]. از گذشته‌های دور مردم با گیاه رازیانه آشنا بوده‌اند. رومی‌ها معتقد بودند مارها برای تقویت دید خود عصاره آن را می‌مکیدند. گفته می‌شود مارها پس از پوست اندازی از این گیاه مصرف می‌کنند تا بینایی خود را باز یابند. کاتولیک‌های انگلیسی در قدیم رازیانه را با ماهی نمک زده و در طول ماه روزه استفاده می‌کردند. استفاده از آن دو فایده داشت. باعث برطرف کردن نفخ معده می‌شد و همچنین سبب تسهیل در هضم غذا می‌شد [۱۶]. رازیانه در کتب طب سنتی با نام رازیانج نام برده شده است. در ایران، در مناطق مختلف به آن بادبان سبز گویند [۷]. نام تجاری گیاه *Fennel* است. در اسناد گیاه‌شناسی آمریکائی، نام علمی گیاه رازیانه *Foeniculum Vulgare Gaertn* آمده است، ولی سایر گیاه‌شناسان (ایرانی، هندی و...) نام اصلی گیاه



تزریقات روزی یک بار و به مدت ۱۶ روز تکرار شد. دو هفته پس از آخرین تزریق، موش ها تحت بیهوشی با کتامین و زایلین قرار گرفتند [۹]. سپس از قلب موش ها خونگیری به عمل آمد و سرم های حاصل جهت سنجش هورمونی در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد. سنجش میزان هورمون های LH و FSH و تستوسترون در سرم خون حیوانات به روش رادیوایمنواسی (RIA) انجام شد.

بیضه و اپیدیدیم چپ آنها از بدن خارج شده و پس از شستشو در سرم فیزیولوژی و جدا سازی بافت چربی، به کمک کولیس قطر بیضه ها (قطر کوچک و قطر بزرگ) و با ترازوی دقیق وزن آنها اندازه گیری شد. برای محاسبه حجم بیضه ها از فرمول L.K. $V = \left(\frac{d^2}{4} \times \pi\right)$ استفاده می شود، که در این فرمول V حجم بیضه، d قطر کوچک بیضه، L قطر بزرگ بیضه، $\pi = 3/14$ و $K = 0/9$ ضریب ثابت می باشد [۱۴]. جهت شمارش اسپرمی، در همه گروه ها، قسمت دمی اپیدیدیم راست جدا شده و به وسیله قیچی به قطعات کوچک ریز شد. آنگاه به مدت ۱۰ دقیقه در ۱ میلی لیتر محلول رینگر قرار داده شد. پس از خروج اسپرم رقت ۱:۲۰۰ تهیه شده و به منظور شمارش تعداد اسپرم ها از لام نئوبار استفاده گردید. سپس به وسیله سمپلر ۲۰ میکرولیتری، یک قطره از محلول رینگر را روی لام قرار داده و تعداد اسپرم ها محاسبه شد. پس از مشاهدات ماکروسکوپی، بیضه و اپیدیدیم به فیکساتیو بوئن منتقل شدند. پس از مراحل تثبیت و آب گیری از نمونه ها برش های ۵ میکرومتری تهیه شده و رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین انجام شد. نتایج با استفاده از نرم افزار SPSS و آزمون های آماری آنالیز واریانس ANOVA و Tukey تجزیه و تحلیل شد. جهت بررسی نتایج $P < 0.05$ به عنوان معنی دار بودن تفاوت ها در نظر گرفته شد.

برابر حجم پودر آب مقطر به آن اضافه شد. عصاره حاصل جهت فیلتراسیون از کاغذ صافی عبور داده شد و پس از آن در دمای ۴۵ درجه سانتی گراد در داخل انکوباتور قرار داده شد. ماده بدست آمده جهت انجام تحقیقات در یخچال نگهداری گردید. جهت تعیین درصد رطوبت در عصاره به دست آمده از گیاه، از فرمول ذیل استفاده کردیم.

ماده خشک	وزن عصاره پنج انگشت
ماده خشک	وزن عصاره رازیانه
۰/۹۶۸	۱ gr
۰/۲۶۹	۱ gr
$X = 96/8$	۱۰۰
$X = 26/9$	۱۰۰

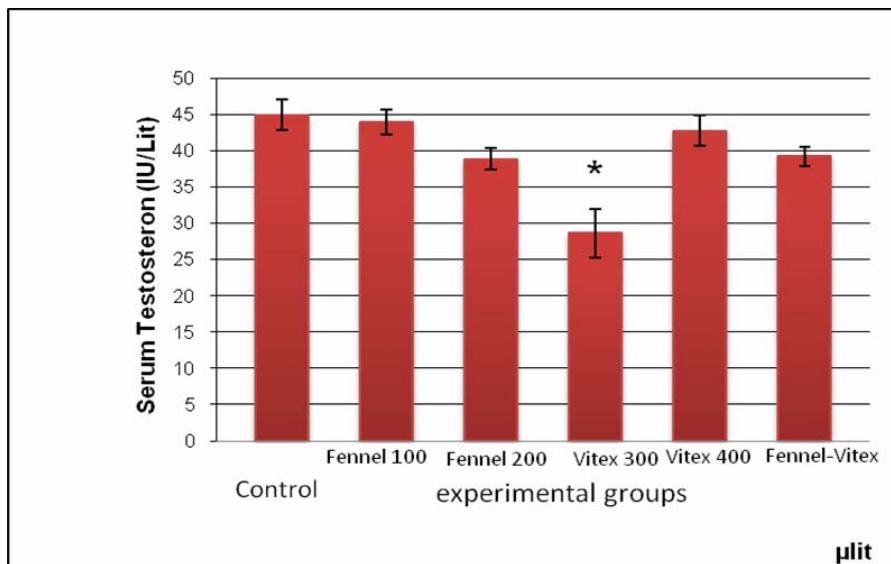
جهت انجام مطالعه از ۴۸ سر موش سوری نر بالغ با وزن ۲۵ تا ۳۰ گرم از نژاد NMRI خریداری شده از انستیتو پاستور کرج استفاده شد. پروتکل این تحقیق بر اساس قوانین بین المللی در مورد حیوانات آزمایشگاهی انجام گردید و در کمیته اخلاق این دانشگاه به تصویب رسید. موش ها در قفس های چهار تایی با دوره شبانه روزی طبیعی و در دمای ۲۴-۲۲ درجه سانتی گراد، با آب و غذای کافی نگهداری شدند. در هر سری آزمایش ۸ سر موش مورد بررسی قرار گرفت. موش ها به دو گروه کنترل و تجربی تقسیم شدند و تزریقات به صورت داخل صفاقی انجام شد؛ گروه کنترل؛ موش های نر بالغی بودند که نرمالین سالین به آنها تزریق می شد. گروه تجربی خود به پنج زیر گروه تقسیم شد. گروه اول، دوز ۱۰۰ میکرولیتر و گروه دوم دوز ۲۰۰ میکرولیتر از عصاره میوه گیاه رازیانه را دریافت کردند، گروه سوم، دوز ۳۰۰ میکرولیتر و گروه چهارم دوز ۴۰۰ میکرولیتر از عصاره میوه گیاه پنج انگشت را دریافت کردند و گروه پنجم تجربی، گروهی بود که ماکزیمیم دوز میوه گیاه رازیانه و میوه گیاه پنج انگشت (۲۰۰+۴۰۰) را بصورت تلفیقی دریافت کرد. جهت تزریق، پودر خشک شده گیاه در نرمال سالین حل شد.



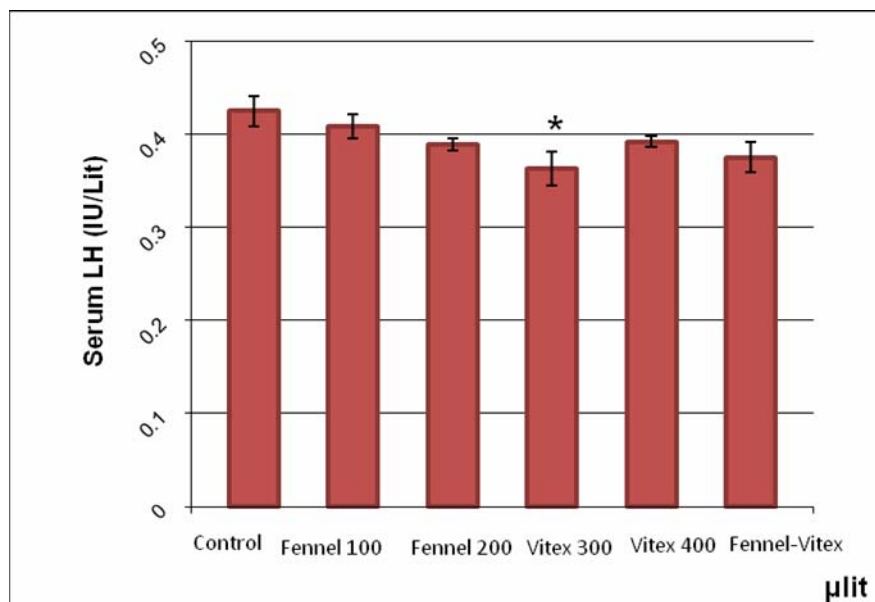
نتایج

در تمامی گروه‌های تجربی، سلول‌های اسپرماتید نسبت به گروه کنترل از خود کاهش نشان داد، اما این کاهش، کاهش معنی داری در سطح $P < 0/05$ نمی‌باشد. مقایسه وزن حیوانات در گروه کنترل با گروه تجربی قبل و بعد از ۱۶ روز تزریق درون صفاقی عصاره گیاه پنجه انگشت کاهش معنی داری را نشان نداد. نتایج بدست آمده از بررسی وزن و حجم بیضه، وزن اپیدیدیم کاهش معنی داری در بین گروه‌های کنترل و تجربی نشان نمی‌دهد (جدول ۱). پس از مطالعه برش‌های بافتی در گروه‌های تجربی، تغییراتی در مقایسه با کنترل مشاهده شد. یکی از بارزترین موارد قابل مشاهده در گروه‌های تجربی از بین رفتن انسجام طبیعی بافت بیضه بود. Fennel گیاه رازیانه می‌باشد که با دوز ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرولیتر به گروه یک و دو تجربی تزریق شده است. Vitex یا گیاه پنجه انگشت با دوز ۳۰۰ و ۴۰۰ میکرولیتر به گروه سه و چهار تجربی تزریق شده است. گروه پنجم تجربی بصورت تلفیقی دوز ۴۰۰ میکرولیتر از گیاه پنجه انگشت و دوز ۲۰۰ میکرولیتر از گیاه رازیانه را دریافت کرده است. گروه کنترل؛ نرمال سالیین دریافت کرده است.

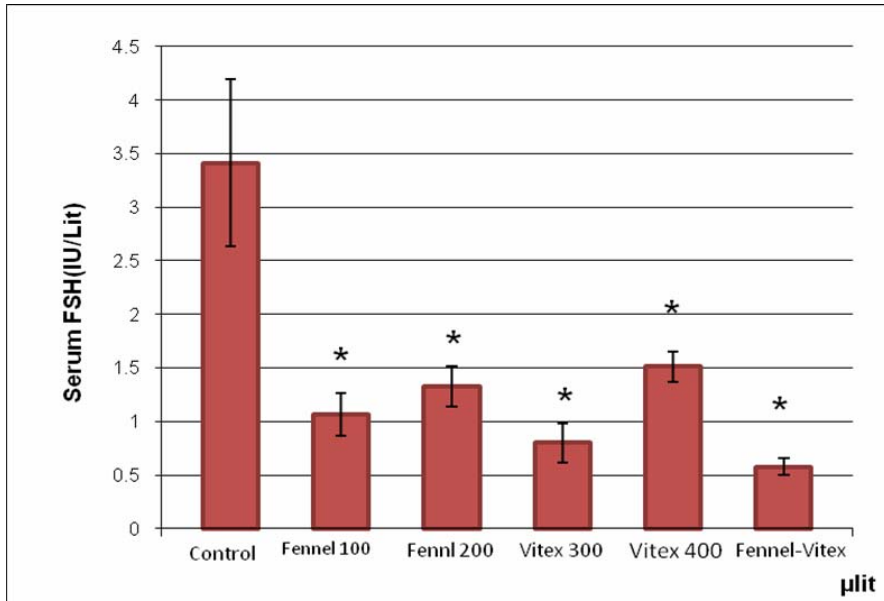
عصاره میوه گیاه پنجه انگشت و رازیانه سبب کاهش میزان هورمون‌های LH & FSH و تستوسترون در سرم خون موش‌های نر در مقایسه با گروه کنترل شد (نمودارهای ۳، ۲، ۱). نتایج نشان می‌دهد که تستوسترون، کاهش معنی داری را در گروه دریافت کننده عصاره گیاه پنجه انگشت با دوز ۳۰۰ میکرولیتر نسبت به گروه کنترل دارد. هورمون LH کاهش معنی داری را در گروه دریافت کننده عصاره گیاه پنجه انگشت با دوز ۳۰۰ میکرولیتر نسبت به گروه کنترل نشان می‌دهد ($P \leq 0.028$). در این بررسی کاهش معنی داری در میزان هورمون FSH در گروه‌های دریافت کننده عصاره آبی گیاه رازیانه در دوزهای ۲۰۰ و ۱۰۰ میکرولیتر و دوز ۳۰۰ و ۴۰۰ میکرولیتر از گیاه پنجه انگشت نسبت به گروه کنترل دیده شد ($P \leq 0.00$). میزان هورمون FSH در گروه دریافت کننده عصاره تلفیقی گیاه رازیانه و پنجه انگشت نیز نسبت به گروه کنترل، کاهش معنی داری را نشان داد ($P \leq 0.002$). در تعداد اسپرم‌ها در تمامی گروه‌های تجربی نسبت به گروه کنترل کاهش اسپرم مشاهده شد. مقایسه میانگین کاهش اسپرم بین گروه دریافت کننده عصاره گیاه پنجه انگشت با دوز ۳۰۰ میکرولیتر، نسبت به گروه کنترل کاهش معنی داری را نشان می‌دهد ($P \leq 0.039$). همینطور مقایسه میانگین کاهش اسپرم بین گروه دریافت کننده عصاره میوه گیاه پنجه انگشت با دوز ۴۰۰ میکرولیتر و گروه دریافت کننده عصاره تلفیق شده دو گیاه رازیانه و پنجه انگشت، با دوز ۶۰۰ میکرولیتر نسبت به گروه کنترل کاهش معنی داری را نشان می‌دهد ($P \leq 0.00$) (نمودار ۴). در تمامی گروه‌های تجربی دریافت کننده عصاره گیاه، تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی، نسبت به گروه کنترل کاهش نشان داد، ولی این مقدار کاهش در سطح $P < 0.05$ معنی دار نمی‌باشد. مقایسه بین تعداد سلول‌های اسپرماتوسیت اولیه در گروه‌های تجربی نسبت به گروه کنترل کاهش معنی داری را نشان نداد ($P \geq 0.05$).



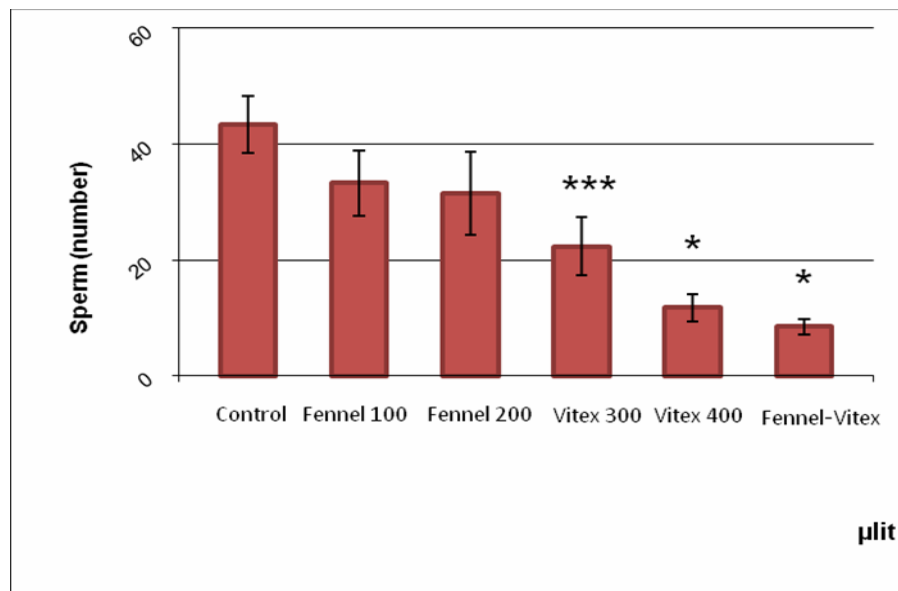
نمودار ۱- مقایسه میانگین \pm انحراف معیار غلظت هورمون تستوسترون سرم خون بین گروه کنترل با گروه‌های تجربی (علامت * نشان دهنده اختلاف معنی دار بین گروه کنترل با گروه‌های تجربی در سطح $P \leq 0/05$ می باشد)



نمودار ۲- مقایسه میانگین \pm انحراف معیار غلظت هورمون LH سرم خون بین گروه کنترل با گروه‌های تجربی (علامت * نشان دهنده اختلاف معنی دار بین گروه کنترل با گروه‌های تجربی در سطح $P \leq 0/05$ می باشد)



نمودار ۳- مقایسه میانگین \pm انحراف معیار غلظت هورمون FSH سرم خون بین گروه کنترل با گروه‌های تجربی (علامت * نشان دهنده اختلاف معنی دار بین گروه کنترل با گروه‌های تجربی در سطح $P \leq 0/05$ می باشد)



نمودار ۴ - مقایسه میانگین \pm انحراف معیار تعداد اسپرم (میلیون) بین گروه کنترل با گروه‌های تجربی (علامت * نشان دهنده اختلاف معنی دار بین گروه کنترل با گروه‌های تجربی در سطح $P \leq 0/05$ می باشد)

جدول ۱- مقایسه میانگین \pm انحراف معیار مقدار وزن و حجم بیضه و وزن اپیدیدیم در گروه کنترل و گروه‌های تجربی

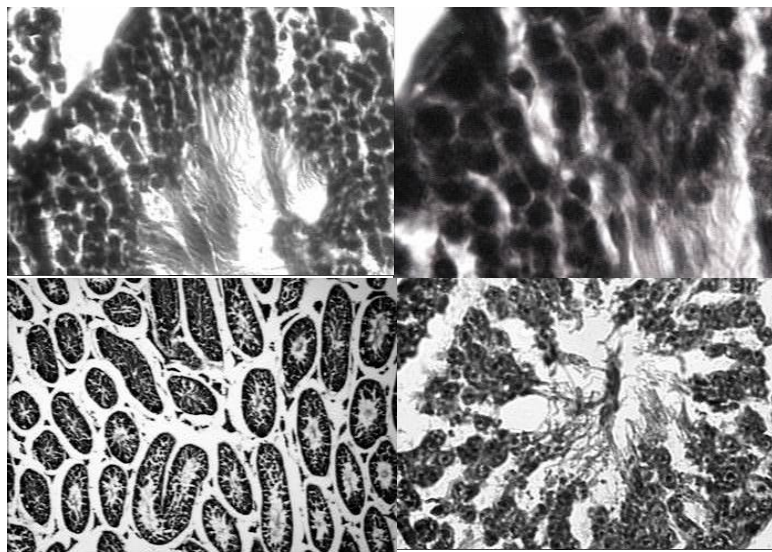
مشاهدات ماکروسکوپی گروه‌ها	وزن بیضه (Mg) انحراف معیار \pm میانگین	حجم (Mm ³) انحراف معیار \pm میانگین	وزن اپیدیدیم انحراف معیار \pm میانگین
کنترل تجربی	۰/۱۱۰۵ \pm ۰/۰۰۷	۱۰/۸۷۳۸ \pm ۱/۳۱	۰/۰۷۳۳۳ \pm ۰/۰۰۸
100mgr/kg	۰/۱۱۰۵ \pm ۰/۰۰۶	۱۰/۸۲۲۵ \pm ۱/۵۶	۰/۰۵۶۸۳ \pm ۰/۰۰۸
200mgr/kg	۰/۱۱۰۳۷ \pm ۰/۰۰۴	۹/۸۲۸۸ \pm ۱/۶۵	۰/۰۵۹۸۳ \pm ۰/۰۰۴
300mgr/kg	۰/۱۱۰۳۷ \pm ۰/۰۰۷	۸/۱۲۱۲ \pm ۱/۶۶	۰/۰۴۳۸۳ \pm ۰/۰۰۳
400mgr/kg	۰/۱۱۰۳۷ \pm ۰/۰۰۷	۸/۵۸۸۸ \pm ۱/۲۱	۰/۰۷۱۱۷ \pm ۰/۰۰۵
600mgr/kg	۰/۱۱۰۵ \pm ۰/۰۰۵	۹/۶۸۶۲ \pm ۰/۹۴	۰/۰۶۴۳۳ \pm ۰/۰۰۳

جدول ۲- مقایسه میانگین \pm انحراف معیار تعداد اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت اولیه، اسپرماتید و اسپرم در گروه کنترل و گروه‌های تجربی

مشاهدات میکروسکوپی گروه‌ها	اسپرماتوگونی انحراف معیار \pm میانگین	اسپرماتوسیت اولیه انحراف معیار \pm میانگین	اسپرماتید انحراف معیار \pm میانگین	تعداد اسپرم $\times 10^6$ انحراف معیار \pm میانگین
کنترل تجربی	۳۹/۳۳۳۳ \pm ۶/۹۶	۵۵/۸۳ \pm ۵/۱۲	۸۶/۸۳۳۳ \pm ۷/۲۱	۴۳/۳۷۵۰ \pm ۴/۸۴
100mgr/kg	۲۹/۸۳۳۳ \pm ۱/۴۴	۳۷/۰۰۰ \pm ۶/۶۸	۸۴/۱۶۶۷ \pm ۵/۷۸	۳۳/۲۵۰۰ \pm ۵/۵۷
200mgr/kg	۲۲/۵۰۰۰ \pm ۲/۶۶	۳۲/۰۰۰ \pm ۶/۶۶	۷۹/۶۶۶۷ \pm ۱۱/۱۴	۳۱/۵۰۰۰ \pm ۷/۱۷
300mgr/kg	۲۴/۵۰۰۰ \pm ۳/۸۹	۲۸/۶۶۶۷ \pm ۴/۰۲۲	۵۳/۱۶۶۷ \pm ۱۸/۹۰	۲۲/۳۷۵۰ \pm ۵/۰۵
400mgr/kg	۲۶/۳۳۳۳ \pm ۵/۳۵	۳۹/۳۳۳۳ \pm ۸/۳۶	۶۲/۱۶۶۷ \pm ۱۱/۸۱	۱۱/۷۵۰۰ \pm ۲/۳۵
600mgr/kg	۲۹/۳۳۳۳ \pm ۴/۲۷	۳۷/۶۶۶۷ \pm ۶/۵۸	۴۸/۸۳۳۳ \pm ۱۵/۱۳	۸/۵۰۰۰ \pm ۱/۳۸

جدول ۳- مقایسه میانگین \pm انحراف معیار مقدار هورمون‌های LH، Testosterone و FSH در گروه کنترل و گروه‌های تجربی

هورمون FSH	هورمون LH (IU/lit)	هورمون Testosterone (IU/lit)	گروهها (IU/lit)
(انحراف معیار ± میانگین)	(انحراف معیار ± میانگین)	(انحراف معیار ± میانگین)	
۳/۴۱ ± ۰/۷۸	۰/۴۲ ± ۰/۰۱۶	۴۴/۸۷ ± ۲/۱۱	کنترل تجربی
* ۱/۰۶ ± ۰/۲۰	۰/۴۰ ± ۰/۰۱۳	۴۳/۹۲ ± ۱/۷۱	100 μlit
* ۱/۳۲ ± ۰/۱۹	۰/۳۸ ± ۰/۰۰۶	۳۸/۸۵ ± ۱/۴۷	200 μlit
* ۰/۸ ± ۰/۱۸	* ۰/۳۶ ± ۰/۰۱۸	* ۲۸/۶ ± ۳/۳۱	300 μlit
۱/۵۱ ± ۰/۱۴	۰/۳۹ ± ۰/۰۰۶	۴۲/۷۵ ± ۲/۱۶	400 μlit
* ۰/۵۷ ± ۰/۰۷۹	۰/۳۷ ± ۰/۰۱۶	۳۹/۲۱ ± ۱/۲۸	600 μlit



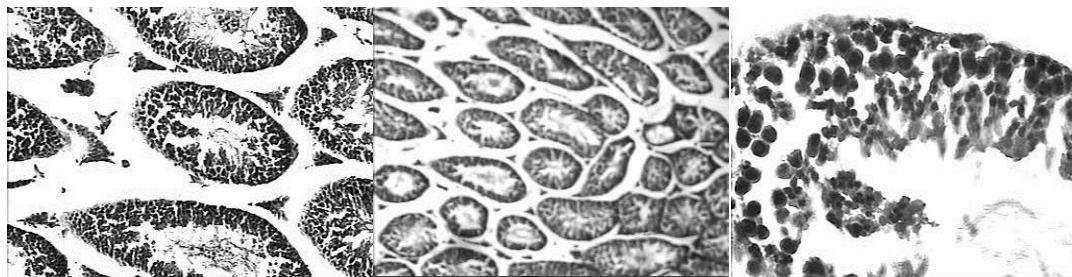
شکل ۱- فتومیکروگراف مقطع عرضی مراحل اسپرماتوزوا با رنگ آمیزی هماتوکسیلین وائوزین

بالا راست: سلول‌های جنسی گروه کنترل (بزرگنمایی ۴۰)

بالا چپ: سلول‌های جنسی گروه کنترل (بزرگنمایی ۱۰۰)

پایین راست: حفره‌دار شدن بین لوله‌های منی ساز گیاه پنج انگشت با دوز ۳۰۰ (بزرگنمایی ۴)

پایین چپ: حفره دار شدن بین لوله‌ها در رازیانه دوز ۲۰۰ (بزرگنمایی ۴۰)



شکل ۲- فتومیکروگراف مقطع عرضی بافت بیضه از گروه تلفیقی رازیانه و پنج انگشت از راست به چپ به ترتیب (بزرگنمایی ۴، ۴۰، ۱۰)

بحث

رازیانه نیز شامل اسید پالمیتیک، اسید اولئیک، اسید لینولئیک و اسید پتروسه لینک می‌باشد [۱۸]. ترکیبات شاخص گیاه رازیانه ترانس آنتول، لیمونن و فنچون هستند که ترکیب آنتول از مهمترین و عمده‌ترین ترکیبات این گیاه است [۴]. ترکیب یا ترکیبات موجود در عصاره گیاه رازیانه قادر است با اثر بخشی بر سیستم اعصاب مرکزی و محیطی، به خصوص از طریق گیرنده‌های سروتونین و دوپامینرژیک اثرات خودش را القاء کند [۱].

اسیدهای چرب غیر استری که در هر دو گیاه رازیانه و پنج انگشت مشترک می‌باشند مانند اسید لینولئیک، اسید اولئیک، اسید استئاریک و اسید پالمیتیک، مهار کننده ترشح تستوسترون از سلول‌های لایدیگ در پاسخ به LH هستند که عمل مهاری آنها وابسته به کلسیم خارج سلولی است، زیرا آگونیست‌های کانال کلسیم افزایش دهنده شدت در مهارکنندگی آنها است. اسیدهای چرب غیر استری با ایجاد وقفه در یکی از مراحل تبدیل کلسترول به پروگنولون، مهار کننده استروئیدوژن هستند. بررسی‌ها نشان می‌دهد که رژیم غذایی محتوی مقدار فراوانی اسید چرب اشباع نشده، کاهش دهنده در تعداد رسپتورهای LH موجود در سطح سلول‌های لایدیگ است که باعث کاهش میزان ترشح تستوسترون می‌شود [۲۹، ۲۴]. مقدار تستوسترون ترشح شده تقریباً نسبت مستقیم با مقدار LH دارد [۲]. در مطالعه‌ای که رضایی بر روی گیاه رازیانه انجام داد، نتایج نشان داد که تزریق داخل صفاقی عصاره

هورمون‌های LH و FSH و Testosterone کنترل کننده-های اصلی فرایند اسپرماتوژن هستند. شروع و بقای اسپرم‌سازی از لحاظ هورمونی توسط FSH و تستوسترون تنظیم می‌گردد [۳۱]. در سال ۱۹۹۴ Mclachlan و همکارانش نشان دادند که تستوسترون و FSH با هم اثر سینرژیک دارند [۲۳]. از جمله ترکیبات گیاه پنج انگشت می‌توان به مقادیر بالای فلاونوئیدها و اسیدهای چرب ضروری مانند؛ اسید اولئیک، اسید لینولئیک، اسید پالمیتیک و اسید استئاریک اشاره کرد [۱۵، ۱۷].

گیاه پنج انگشت اثر آنتی آندروژنیک دارد و می‌تواند از طریق مسیر دوپامینرژیک اثرات خود را اعمال کند و بر محورهای گنادوتروپین-سرتولی و محور گنادوتروپین-لایدیگ مؤثر باشد [۲۵]. میوه گیاه پنج انگشت حاوی اسانس سینئول و پینن است، ترکیبات این گیاه مستقیماً بر روی محور هیپوفیز-هیپوتالاموس اثر می‌نمایند [۲۰، ۲۶]. به نظر می‌رسد که اثرات ضد باروری گیاه پنج انگشت وابسته به فلاونوئید و اسیدهای چرب ضروری آن باشد [۳۳]. نصری و همکاران (۲۰۰۴) در مطالعه‌ای نشان دادند که عصاره توتال میوه گیاه پنج انگشت موجب کاهش LH و FSH و تستوسترون در موش نر نژاد Balb/C می‌شود. از این رو به نظر می‌رسد این عصاره به دلیل کاهش تستوسترون بر روی اسپرماتوژن نیز مؤثر بوده و آن را کاهش می‌دهد [۹]. ترکیبات موجود در گیاه



هستند و از ابتدا در جنین مذکر وجود داشته اند و در ابتدای اسپرماتوژنز یعنی تا مرحله ای که اسپرماتوسیت های اولیه تشکیل شده و به مرحله پروفاز میوز I وارد می شوند، کنترل هورمونی بر آنها صورت نمی گیرد که دلیل آن می تواند این باشد که تبدیل اسپرماتوسیت ثانویه به اسپرماتید از طریق تقسیم میتوز است و هورمون بر تقسیم میوز مؤثر واقع است. LH و FSH گلیکوپروتئین هایی هستند که مستقیماً نمی توانند بر روی سلول های جنسی اثر کنند و این هورمون ها فقط قادرند که به ترتیب بر روی سلول های لایدیگ و سرتولی مؤثر باشند [۲].

شواهد نشان می دهد که آنتول موجود در رازیانه نقش استروژنیک داشته و افزایش استروژن در جنس نر موجب کاهش هورمون تستوسترون و در نتیجه کم شدن اسپرم ها در لوله منی ساز شود [۶]. فیتواستروئول های موجود در گیاهان از طریق کاهش کلسترول، کلسترول خون LDL و تری گلیسریدها می تواند کاهش سنتز هورمون آندروژن و مخصوصاً تستوسترون نقش داشته باشد [۲۱]. کومارین و فیتواستروئول ها به همراه پتروسلنیک اسید موجود در رازیانه، اثری آنتی آندروژنی و استروژنیک دارند [۳۰، ۳۲]. بنابراین احتمال دارد این ترکیبات باعث افزایش استروژن در جنس نر و کاهش اسپرم در لوله های منی ساز شود و همینطور اثر آنتی آندروژنی آن موجب کاهش تستوسترون شود و گسستگی در فرآیند اسپرماتوژنز را ایجاد کند [۶، ۱۹]. در مطالعه ای که توسط Choi بر روی گیاه رازیانه انجام گرفت، نتایج نشان داد که اسید پالمیتیک و β سیستروئول موجود در رازیانه دارای خاصیت آنتی آندروژنیک است، بر اساس چنین مطالعه ای می توان احتمال داد که این دو ترکیب خاصیت آنتی آندروژنیک خود را از طریق مهار تشکیل کمپلکس رسپتور-دی هیدروتستوسترون اعمال می کند و باعث کاهش هورمون تستوسترون می ردد [۱۲]. همچنین تمایز اسپرماتیدها به اسپرم تحت تأثیر مستقیم هورمون تستوسترون است [۱۳].

عصاره *Vitex* و *Foeniculum Vulgare* اثر ضد باروری دارند. با توجه به مطالب ذکر شده در مطالعه

آبی گیاه رازیانه به مدت ۱۶ روز (دو دوره ۸ روزه) سبب کاهش هورمون LH، FSH و تستوسترون گردیده است. نتایج نشان داد که این ترکیب در ۸ روز اول باعث کاهش معنی دار در غلظت هورمون LH و تستوسترون در موش - های رت می شود، در صورتی که کاهش معنی داری در سطح هورمون FSH طی اواخر ۸ روز دوم مشاهده شد [۳]. همچنین طی مطالعه ای که Chatter بر روی حشره - Polycyclic chlorinated hydrocarbon (aldrin) به مدت ۲۶ روز (دو دوره ۱۳ روزه) انجام داد، نتایج نشان داد که این ترکیب در ۱۳ روز اول باعث کاهش معنی دار در غلظت هورمون LH و تستوسترون در موش - های رت می شود، در صورتی که کاهش معنی داری در سطح هورمون FSH، طی اواخر ۱۳ روز دوم مشاهده شد [۱۱]. پس بر اساس این مطالعات، این احتمال وجود دارد که افزایش تعداد دفعات تزریق بتواند بر روی کاهش هورمون FSH به طور معنی داری اثرگذار باشد. کاهش در میزان هورمون FSH در تمامی گروه های تجربی به غیر از دوز ۴۰۰ گیاه پنج انگشت، کاهش معنی داری نسبت به گروه کنترل نشان داد. شاید علت در تخریب ساختار گلیکوپروتئینی این هورمون یا جایگاه پروتئینی رسپتورهای آن بر سطح سلول های سرتولی، توسط عصاره گیاه پنج انگشت باشد. در گروه دریافت کننده عصاره گیاه پنج انگشت با دوز تزریقی ۳۰۰ میکرولیتر میزان هورمون های LH و تستوسترون نسبت به گروه کنترل کاهش معنی داری را نشان داد، در حالی که دریافت کننده عصاره همین گیاه با دوز ۴۰۰ میکرولیتر کاهش معنی داری را نشان نداد و شاید علت آن وابسته بودن اثرات عصاره میوه گیاه پنج انگشت به دوز تزریقی و سطوح پایه هورمونی آن باشد [۲۲].

تجزیه اسپرماتوگونی ها می تواند بر اثر مواد شیمیایی، سمی، گرما، نقص ایمنی، پرتوها و اختلالاتی در هورمون ها و فاکتورهای رشد رخ دهد [۳۳]. در این تحقیق در سلول های اسپرماتوگونی کاهش معنی داری بین دوزهای مختلف تجربی با گروه کنترل دیده نشد که می تواند بدین علت باشد که سلول های اسپرماتوگونی، سلول های بنیادی

- ۶- مختاری، مختار. شریفی، اسفندیار. مقدم نیا، داوود. (۱۳۸۶)، تاثیر عصاره الکلی چمچمه خرما بر تغییرات بافتی بیضه و میزان هورمون‌ها در موش صحرائی، مجله علوم پزشکی ایران، جلد ۹، شماره ۴.
- ۷- میرحیدر، ح، (۱۳۷۵)، معارف گیاهی و کاربرد گیاهان در پیشگیری و درمان بیماری‌ها، چاپ دوم، صفحه ۲۰۵.
- 8- Ansarishirazi A. Ekhtiarat Badiee., (1996), The drug distributing company of Razi, 1st ed. Iran: 70-73.
- 9- Azarina M, Ejtemaei-Mehr S, Shakoore A, Ansari A. (2007), Effects of *Vitex agnus castus* on mice fetus development. *Acta Medical Iranica*; 45(4): 263-70.
- 10- Bernath, J., Nemeth, E., Katta, A. & Hethely, E. (1996), Morphological & chemical evaluation of fennel populations of different origin. *J. Essent. Oil. Res.*, 8(3): 242-253.
- 11- Chatter J. S., Ray A, Ghosh S. Battacharya K, Pakrach A. Ded C., (1998), Effect of Idrin on spermatogenesis Plasmogonadotrophins & testosterone & testicular testosterone in the rat., *J Endocrinol* ;119(1):75-81.
- 12- Choi, E.M., Hwan J. K. (2004), Antigliamatory, analgesic & ontioxidant activities of the fruit of *Foeniculum vulgare* *Fitoterapia* ., 75(6): 65-557.
- 13- Chowdhury A. (1970), Dependence of the testicular germ cell on hormones: a quantitative study in hypophysectomized testosterone treated rats *J Endocrinol*, 82:331-340.
- 14- Courtade M. (1998), Clinical characteristic & transmission electron microscopic sperm defect of infertile men. *Fert Steril*, 70: 297-304.
- 15- Dugoua JJ, Seely D, Perri D, Koren G, Mills E. (2008) Safety & efficacy of chastetree (*Vitex agnus castus*) during pregnancy & lactation. *Can J Pharmacol*, 15(1):74-9.
- 16- Duke, J. A. (1985), *Hand Book of medicinal herbs*, CRC press, PP: 198-199.
- 17- Du Mee C, (1993), *Vitex agnus castus*. *Aust J Med Herbalism*. 563-65.

حاضر این احتمال وجود دارد که کاهش سلول‌های اسپرماتید و اسپرم‌ها به دلایل ذیل باشد؛ ۱- ترکیبات اسید چرب غیر استری که در گیاه رازیانه و پنج انگشت وجود دارد ۲- کاهش هورمون تستوسترون ۲- ایجاد اختلالات میوزی در اثر مصرف عصاره گیاه رازیانه در دوز ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرولیتر و گیاه پنج انگشت در دوز ۴۰۰ و ۳۰۰ میکرولیتر و همینطور دوز ۶۰۰ که تلفیق دو گیاه رازیانه و پنج انگشت می باشد و ممکن است در سطح سلول‌های جنسی تأثیر گذار بوده و متعاقب آن سبب کاهش تعداد اسپرم شده باشد. ۳- خاصیت آنتی‌آندروژنیک اسید پالمیتیک و β سیسترون، فیتواسترون و کومارین موجود در گیاه رازیانه. ۴- خاصیت آنتی‌آندروژنیک ترکیبات موجود در گیاه پنج انگشت. ۵- همان طور که گفته شد FSH در فرآیند اسپرمیوزن نقش دارد و کاهش آن در تعداد سلول‌های اسپرماتید و اسپرم در گروه‌های تجربی مشاهده شد، می‌تواند ناشی از اثر سینرژیک باشد که بین هورمون تستوسترون و FSH برقرار است.

منابع

- ۱- آخوندزاده، شاهین، (۱۳۷۹)، دایره‌المعارف گیاهان دارویی، جلد ۱، انتشارات ارجمند، صص: ۴۲.
- ۲- جون کوئیرا، ل. کارلوس، ترجمه مهدی منتظر و همکاران، (۱۳۷۲)، بافت‌شناسی پایه، چاپ اول، انتشارات ارجمند، صص ۱۱-۱ و ۵۹۸-۵۷۵.
- ۳- رضایی، طاهره، (۱۳۸۷)، تاثیر عصاره آبی گیاه رازیانه بر اسپرماتوزن و هورمون‌های گنادوتروپین و تستوسترون بر موش صحرائی نر نژاد ویستار، پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد دامغان.
- ۴- زرگری، علی، (۱۳۶۵)، گیاهان دارویی، چاپ دوم، انتشارات دانشگاه تهران. ۱۳۶۵، صص ۱۱۵-۱۱۳.
- ۵- قهرمان، احمد، (۱۳۷۳)، فلور رنگی ایران، شماره ۱۶۲۲، انتشارات مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع دانشگاه تهران.



- mice. Iranian international Journal of Science. 5(1):25-31.
- 26- Newall C, Anderson L (1996), The pharmaceutical press. J. Herbal medicine.. Pp:19-20.
- 27- Norihisia. K., Yukinaga , N., Yoshitaka, A. & Yutaka, A.(1991), Antimutagenic flavonoid extraction from *Foeniculum vulgare* fruits., chemical Abstract., 115(P): 189-481(q).
- 28- Ohyama K, (2003), Cytotoxicity & apoptotic inducibility of *Vitex agnus castus* fruit extract in cultured human normal & cancer cells & effect on growth. Biol Pharm Bull. 26:10-8.
- 29- Siegel I, Dudkiewicz A, Friberg J, Suarez M, Gleicher N. (1986), Inhibition of sperm cells by free fatty acids in whole semen. Fertil Steril., 45:273-9.
- 30- Then, M., Petri, G., simandi, B. & perenezky, S. (1995), Biologically Valuable Subs tonces of commen fennel comparision & evaluation of samples extracted by conventional & super critical methods., olaj. Szoppan. Kozmen., 44(4):146-51.
- 31- Tsutsumi O. and Takami, O.A. (1986), Physiological role of epidermal growth factor in male reproductive function. Science. 233:975-977.
- 32- Wells. T. A. G. (1964), The rat first published Heinemann educational books.46.
- 33- W.W.W.Stevenfoster.Com/education/monograph/vitex.html
- 18- Guilen, M. D. & Manazonos, M.J., (1996), A. Ludy of several parts of the plants *Foeniculum vulgare* as a source of compounds with industrial interest., Food. Res. Int. 29(1):85-88.
- 19- Icakholkute S., (1977), Effect of *Hibiscus rosa sinensis* on spermatogoniau & accessory reproductive organs in rats. planta Med. 31(2):35-127.
- 20- Jonia MS, Stavros THK., (1999), Parameters influencing the yeilda & composition of the essential oil from cretan *Vitex agnus- castus* fruits. Planta Medical. 66:245-50.
- 21- Khouri N.A el akawiz ,(2005), Anti and rogenic activity of *Ruta gravolens* lin male albino rats with emphasis on sexual and aggressive behavior Neuro Endo crinal let., pp : 823 – 829.
- 22- Lawless J., (1992), The Encyclopedia of essential oils. Dorset. Element books Ltd., 96-7.
- 23- Mclachlan RI., Wreford N.G.O., Donnell L., Krotser D M, Robertson D.M. (1994), The endocrine regulation of Spermatogenesis indepental role s for testosterone & FSH., J Endocrinol 148:1-9.
- 24- Meikle A, Benson S, Boam W, Liu X, Stringham J. (1989), fatty acids modulate steroidogenesis in mouse leydig cells. Am J physiol. 257:37-42.
- 25- Nasri S, Oryan SH, Rohani AH, Amin GHR, Yahyavi H., (2004), The effect of *vitex agnus castus* L.extract on Gonadotrophines & Testosterone in male