

تأثیر پیشگیرانه و درمانی افشره سیر (*Allium sativum*) بر تغییرات بافتی پروستات در اثر دیابت القاء شده با استرپتوزوتوسین در موشهای صحرایی

اکرم عبدالله نژاد^۱، علی گل^{۱*}، شهریار دبیری^۲ و عبدالرضا جوادی^۲

^۱ کرمان، دانشگاه شهید باهنر، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی (هسته تحقیقاتی سلول و غدد درون ریز)

^۲ کرمان، دانشگاه علوم پزشکی، دانشکده پزشکی افضلی پور، گروه پاتولوژی

تاریخ پذیرش: ۸۹/۴/۲۷

تاریخ دریافت: ۸۸/۵/۱۱

چکیده

دیابت تأثیرات متنوعی بر فعالیتهای تولید مثلی در انسان دارد که شامل کاهش تستوسترون سرم و حجم مایع سمینال و آسیبهای پروستات می باشد. به هنگام دیابت سلولهای استوانه ای پروستات چروکیده و مکعبی شکل می شوند. بنابراین هدف مطالعه حاضر بررسی تأثیر پیشگیرانه و درمانی افشره سیر روی آسیبهای پروستات در موشهای صحرایی دیابتی می باشد. چهل موش صحرایی نر از نژاد ویستار به ۵ گروه تقسیم شدند. ۱- گروه نرمال، ۲- گروه نرمال + سیر، ۳- گروه دیابتی؛ تزریق STZ (Streptozotocin) 60mg/kg BW /ip، ۴- گروه دیابتی + سیر قبل؛ که افشره سیر را به مدت سه هفته قبل و نیز سه هفته بعد از تزریق STZ دریافت کردند و ۵- گروه دیابتی + سیر بعد؛ پس از تزریق STZ به مدت سه هفته افشره سیر دریافت کردند. افشره سیر با ۱ میلی لیتر به ازای هرصد گرم وزن بدن توسط گاوآژ به موشهای صحرایی خورانده شد. دیابت باعث تحلیل پروستات و کاهش وزن آن شد. از لحاظ بافت شناسی اپیتلیوم غده ای چروکیده شده و سلولهای آسینی به سلولهای مکعبی تغییر شکل یافت. موشهایی که سیر را قبل از تزریق STZ دریافت کرده بودند، بهبودی بیشتری را نسبت به گروه دریافت کننده سیر پس از تزریق نشان دادند. در این مطالعه برای اولین بار نشان داده شد که مصرف افشره سیر دارای اثرات درمانی و پیشگیرانه روی کاهش آسیبهای پروستات در موشهای صحرایی دیابتی می باشد.

واژه های کلیدی: دیابت ملیتوس، پروستات، سیر

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۳۴۱-۳۲۲۲۰۳۲، پست الکترونیکی: agol@mail.uk.ac.ir

مقدمه

مختلف می شود که غدد جنسی ضمیمه نر از این جمله اند. پروستات در فرآیندهای تولید مثلی بسیار مهم است. کاهش وسعت منطقه اپیتلیالی و افزایش منطقه استرومایی همراه با هیپرتروفی کلاژن و ماهیچه در غده پروستات، نئوپلازی داخل اپیتلیالی پروستات، فرآیندهای التهابی و کاهش اندامکهای درگیر در فرآیندهای ترشحی از جمله تغییرات ناشی از دیابت می باشد (۲۹). همچنین carvalho و همکارانش نشان دادند که در بافت پروستات استروما ضخیم می شود و سلولهای اپیتلیالی ترشحی دچار آتروفی

دیابت ملیتوس نوع ۱ تأثیرات مختلفی روی فعالیتهای جنسی و تولید مثلی نر دارد که شامل اختلال اسپرماتوزن، کاهش شمار اسپرم، تستوسترون سرم، حجم مایع سمینال (۲۲) و ناتوانی و از بین رفتن میل جنسی می باشد (۳۲). موشهای صحرایی نر مدل مناسبی برای مطالعه فعالیت تولید مثلی تحت شرایط دیابت می باشند و ایجاد دیابت در این حیوانات اختلالاتی را به نمایش می گذارد که مشابه آن چیزی است که در انسانهای دیابتی دیده می شود. دیابت باعث تغییراتی در سیستمهای اندامهای

شده و ارگانل های درگیر در فرآیند ترشح دچار بی نظمی شده و در نهایت فعالیت غده ای مختل می شود (۴).

در سالهای اخیر استفاده از گیاهان دارویی برای کنترل برخی بیماریها از جمله سرطان و دیابت رواج یافته است. استفاده از ۴۰۰ الی ۶۰۰ گرم میوه و سبزیجات در روز با کاهش ریسک انواع سرطانهای رایج مرتبط است و رژیم غذایی غنی از مواد غذایی گیاهی با کاهش ریسک بیماریهای قلبی و بسیاری از بیماریهای مزمن حاصل از پیری مرتبط می باشد. این غذاها محتوی مواد شیمیایی می باشد که دارای خاصیت ضد سرطانی و ضد التهابی هستند که فواید زیادی در حفظ سلامتی دارد. بسیاری از مواد شیمیایی گیاهی، رنگی هستند. برای مثال، غذاهای قرمز حاوی لیکوپن هستند مانند گوجه فرنگی و این رنگدانه در غده پروستات نیز وجود دارد که به حفظ سلامت آن کمک می کند و با کاهش ریسک بیماریهای قلبی عروقی نیز مرتبط است. سیر و دیگر غذاهای سفید-سبز در خانواده پیاز محتوی آلیل سولفید بوده که رشد سلولهای سرطانی را مهار می کنند. دیگر مواد فعال از لحاظ زیستی موجود در چای سبز و سویا نیز در حفظ سلامتی اهمیت دارند. در این میان سیر، به عنوان عنصر ضد التهاب و ضد سرطان دارای اهمیت ویژه ای است و اثرات آنتی اکسیدانی اش معروف است. با دارا بودن این اثرات، سیر و فرآورده های آن سالها برای درمان سرطان پروستات و هیپرپلازی خوش خیم آن استفاده شده اند (۱۲).

سیر یکی از عناصر مهم رژیم غذایی مدیترانه ای به شمار می رود که در درمان و پیشگیری بسیاری از بیماریها نظیر سرطان، بیماریهای قلبی _عروقی، چاقی شدید، افزایش کلسترول خون، دیابت نوع II، فشار خون، کاتاراکت و اختلالات مسیر گوارشی (نظیر دردهای کولیک، نفخهای کولیک و سوء هاضمه) مورد استفاده قرار می گیرد. این فعالیتها در ارتباط با ترکیبات تیوسولفیناتی و سولفور فرار

این گیاه است که مسئول بو و طعم تند آن نیز می باشد (۲۰).

برخی اثرات مفید گیاهان دارویی در کنترل عوارض ناشی از دیابت از جمله عوارض کلیوی و کبدی و حتی خود پانکراس به اثبات رسیده است. جلودار و همکارانش در سال ۲۰۰۶ گزارش کردند که تیمار موشهای دیابتی با سیر و پیاز باعث کاهش قند خون می شود (۱۴). Jong-Dae Kim و همکارانش در ۲۰۰۶ گزارش کردند که دیابت باعث کاهش تعداد و اندازه جزایر، آتروفی و واکوئله شدن و افزایش بافت همبند در پانکراس جزایر پانکراس موشهای صحرایی دیابتی می شود و تیمار این موشها با یک فرمول گیاهی متشکل از چند گیاه بنام SMK001 باعث کاهش این اختلالات می گردد (۱۷). در مطالعه دیگری Jong-Dae Kim و همکارانش در ۲۰۰۷ گزارش کردند که به طور مشابه تیمار موشهای دارای اختلالات بافتی گفته شده در بالا با گیاه Dangnyosoko (یکی از انواع گیاهان دارویی چینی) باعث کاهش این عوارض می شود (۱۶).

بنابراین، این تحقیق به منظور بررسی اثر پیشگیرانه و درمانی سیر روی تخریب بافت پروستات به هنگام دیابت در موشهای صحرایی نر انجام گرفته است.

مواد و روشها

افشره سیر بر اساس روشی که قبلاً توسط دمردش در سال ۲۰۰۵ (۷) توصیف شده بود، تهیه گردید. سیر تازه با مارک مرحبا از مغازه ای در کرمان خریداری شد و پس از گرفتن پوست آن با آب مقطر شستشو گردید. سپس آنرا به قطعات کوچکی برش داده و به ازاء هر صد گرم سیر خردشده ۲۵۰ میلی لیتر آب مقطر به آن اضافه گردید و با استفاده از مخلوط کن به خوبی مخلوط شدند. مخلوط حاصل توسط کاغذ صافی صاف شده و افشره سیر فوراً به لوله های آزمایش منتقل گردید و تا زمان استفاده در فریزر قرار داده شد. جهت ایجاد دیابت از استرپتوزوتوسین

+ سیر (after): این گروه به مدت سه هفته از شروع دوره فقط آب و غذای معمولی جوندگان استفاده کردند و در پایان هفته سوم با تزریق STZ دیابتی شدند و سه روز پس از تزریق به مدت سه هفته سیر دریافت کردند. مدت آزمایش برای هر گروه ۶ هفته بود. در پایان پس از کشتن حیوانات، شکم آنها به دقت باز شده و پروستات از آن خارج گردید و به سرعت توزین شده و آنگاه تا زمان انجام بررسیهای بافتی در فرمالین ۱۰ درصد نگهداری شد.

بررسی بافتی: بافت پروستات به وسیله روشهای بافت شناسی معمول آماده شد و در بلوکهای پارافین محصور شد. از بلوکها برشهای عرضی با ضخامت ۵ میکرومتر به دست آمد. این برشها با روش هماتوکسیلین و ائوزین رنگ آمیزی شدند و در نهایت به وسیله میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفتند.

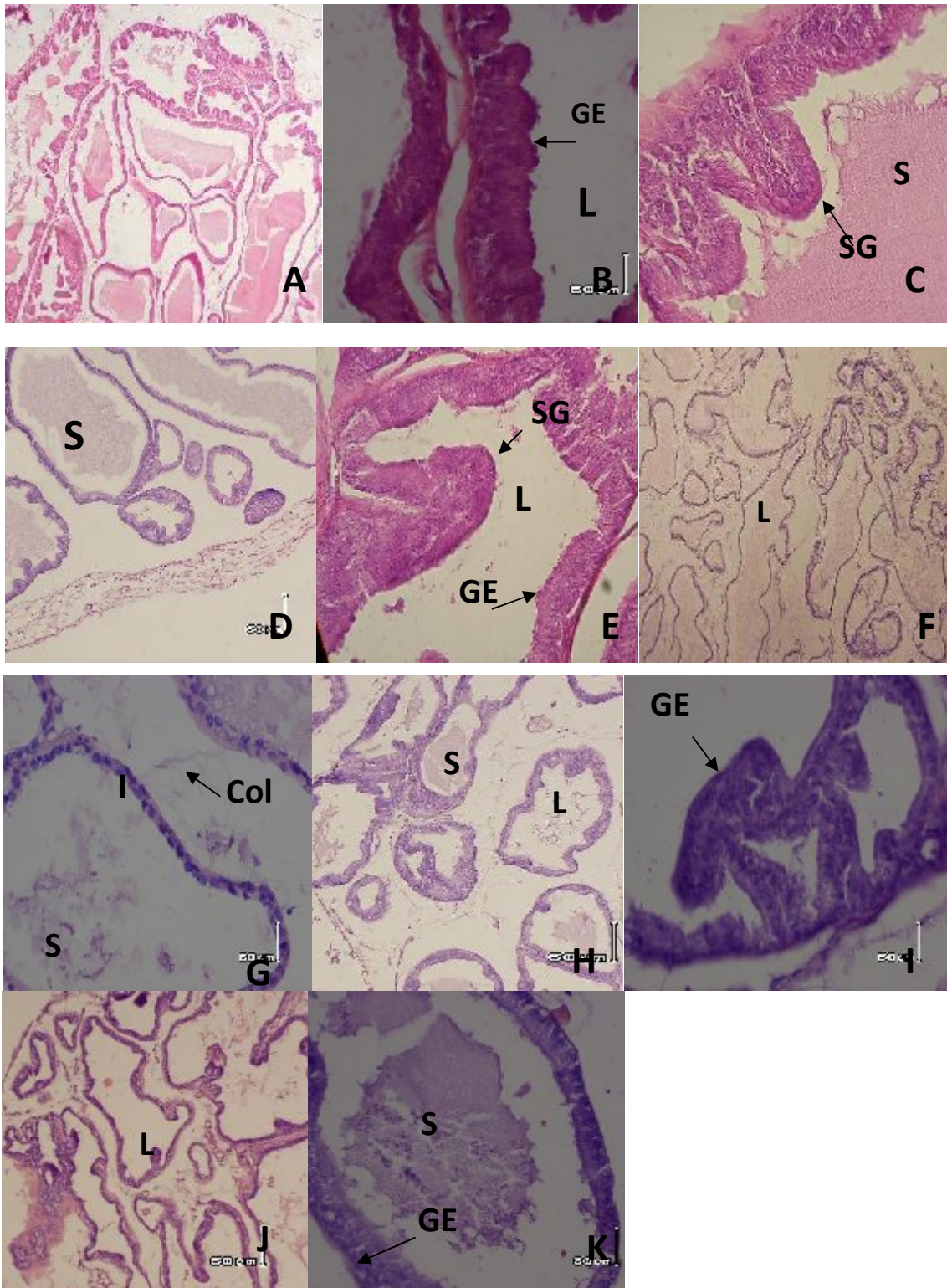
تجزیه و تحلیل آماری: محاسبات آماری با استفاده از نرم افزار آماری SPSS نسخه ۱۵ صورت گرفت و برای مقایسه میانگین بین گروهها از آنالیز واریانس یک طرفه و در مواردی که پاسخ معنی داری دیده می شد از آزمون توکی کرامر به عنوان پس آزمون جهت پیدا کردن جایگاه اختلاف استفاده می شد. $P < 0.05$ در این آزمایش از نظر آماری معنی دار در نظر گرفته شد.

(STZ) ساخت شرکت سیگمای آمریکا به صورت تزریق داخل صفاقی با دُز ۶۰mg/kg به موشهای صحرایی استفاده گردید. سه روز پس از تزریق جهت اطمینان از دیابتی شدن خونگیری از گوشه چشم انجام گرفت. حیواناتی که میزان قند خون آنها بیشتر از ۳۰۰mg/dl بود به عنوان دیابتی در نظر گرفته شدند.

گروههای آزمایش: حیوانات مورد مطالعه چهل سر موش صحرایی از نژاد ویستار با میانگین وزنی (۲۷۰-۲۳۰) بودند. حیوانات از حیوان خانه دانشگاه شهید باهنر کرمان تهیه و به مدت ۷ روز برای تطابق با محیط حیوان خانه در دمای ۲۲ تا ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شدند. موشهای صحرایی به ۵ گروه ۸ تایی به طور تصادفی تقسیم گردیدند: ۱-N (گروه نرمال): دریافت آب مقطر به میزان ۱ میلی لیتر به ازاء هر ۱۰۰ گرم وزن بدن (میزان ماده خشک ۴/۱ گرم سیر به ازای هر صد گرم وزن بدن می باشد) توسط گاواژ به مدت ۶ هفته ۲-N+G (گروه نرمال+ سیر): دریافت افشره سیر به میزان ۱ میلی لیتر به ازاء هر ۱۰۰ گرم وزن بدن توسط گاواژ به مدت ۶ هفته ۳-D (گروه دیابتی) ۴-D+G_b (گروه دیابتی+ سیر (before): دریافت سیر در این گروه به مدت ۳ هفته از شروع دوره انجام شد. در پایان هفته سوم STZ به صورت داخل صفاقی به آنها تزریق گردید و دریافت سیر در آنها به مدت سه هفته دیگر ادامه یافت. ۵-D+G_a (گروه دیابتی

جدول ۱- نشان دهنده تغییرات بافتی پروستات در گروههای مختلف آزمایش می باشد. N=نرمال، N+G=نرمال + سیر، D=دیابتی، D+G_b=دیابتی + سیر قبل، D+G_a=دیابتی + سیر بعد. (-)=نرمال، (+)=خفیف، (++)=متوسط، (+++)=شدید، (++++)=بسیار شدید

D+G _a	D+G _b	D	N+G	N	گروههای آزمایش
++	+	++++	-	-	تغییر شکل سلولهای آسینی از استوانه‌ای به یارامترها
+	-	++	-	-	رسوب کلاژن اطراف سلولهای آسینی
+	-	++	-	-	باریک شدن جدار عروق
+	-	++	-	-	کاهش گرانولهای ترشحی
++	+	+++	-	-	روشن شدن سیتوپلاسم سلولها
++	+	+++	-	-	کاهش نسبت اپیتلیوم آسینی به استروما
+	+	+++	-	-	چروکیدگی اپیتلیوم غده ای
++	+	++	-	-	کاهش میزان ترشحات
+	-	++	-	-	ضخیم شدن ماتریکس خارج سلولی
+	-	+	-	-	رسوب مواد بی شکل



شکل ۱ - A, B, C فتومیکروگراف از برش عرضی پروستات موشهای صحرایی نرمال. A: اپیتلیوم غده ای که لومن حاوی ترشحات را احاطه کرده است. استروما در فضای بینابینی توبولها گسترده شده است. B: اپیتلیوم غده ای از سلولهای آسینی استوانه ای و سلولهای پایه ای که روی غشای پایه قرار دارند تشکیل شده است. D, E: فتومیکروگراف از برش عرضی پروستات گروه دریافت کننده سیر بدون تزریق STZ (N+G): نمایش اپیتلیوم غده ای و ترشحات موجود در لومن و گرانولهای ترشچی. F, G: فتومیکروگراف از برش عرضی پروستات گروه دیابتی. F: چروکیده شدن اپیتلیوم غده ای، افزایش استروما در فضای بینابینی، کاهش شدید اندازه لومن و ترشحات موجود در آن. کاهش ارتفاع اپیتلیوم ترشچی G: تغییر شکل

اپیتلیوم غده ای از سلولهای استوانه ای شکل به سلولهای دوکی شکل و وجود رسوبات کلاژنی و مواد بی شکل در فضای بینابینی I, H, I: فتومیکروگراف از برش عرضی پروستات گروه دریافت کننده سیر قبل ($D+G_b$): جلوگیری از بخشی از تغییرات مخرب دیابت بر اپیتلیوم غده ای. کاهش چروکیدگی اپیتلیوم غده ای، وجود ترشحات تقریباً به اندازه نرمال در لومن، کاهش فضای بینابینی I: سلولهای استوانه ای شکل اپیتلیوم غده ای و افزایش ارتفاع اپیتلیوم ترشحاتی نسبت به گروه دیابتی. J, K: فتومیکروگراف از برش عرضی پروستات گروه دریافت کننده سیر بعد ($D+G_a$). K: بهبودی تغییرات مخرب ناشی از دیابت در این گروه نسبت به گروه دیابتی + سیر قبل کمتر بوده است. افزایش اندازه لومن و کاهش فضا بینابینی نسبت به گروه دیابتی I: افزایش ارتفاع اپیتلیوم ترشحاتی و میزان ترشحات موجود در لومن نسبت به گروه دیابتی. GE: اپیتلیوم غده ای، S: ترشحات I: لومن SG: گرانولهای ترشحاتی Col: کلاژن. I: فضای بینابینی

تغییر شکل سلولها از استوانه‌ای به دوکی در تعداد کمی از توبولها، قطر توبولی تقریباً نرمال، حجم و تراکم سطحی اپیتلیوم آسینار در حد معمول بود. ترشحات یکنواخت دارای حجم تقریباً نرمال مشاهده شد (شکل ۱).

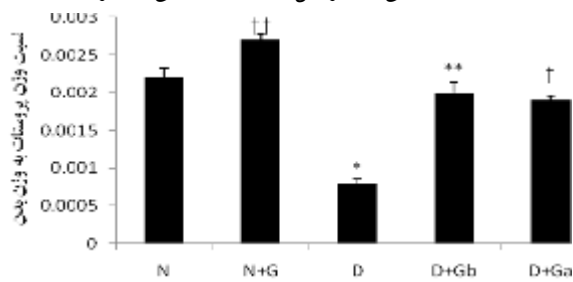
نمودار (۱) میانگین وزن پروستات را در گروههای مختلف آزمایش نشان می دهد. کاهش معنی داری در میانگین وزن پروستات در گروه D در مقایسه با گروههای N, N+G, $D+G_b$ و $D+G_a$ ($p < 0.001$) مشاهده شد. در گروه $D+G_b$ کاهش معنی داری در مقایسه با گروههای N ($p < 0.01$), N+G ($p < 0.001$) و افزایش معنی داری در مقایسه با گروه $D+G_a$ ($p < 0.05$) مشاهده شد. علاوه بر آن کاهش معنی داری در گروه $D+G_a$ در مقایسه با گروههای N و N+G ($p < 0.001$) مشاهده شد. بررسی نتایج این نکته را نیز آشکار کرد که میانگین وزن پروستات در گروه N+G در مقایسه با گروه N افزایش معنی داری را ($p < 0.001$) نشان می دهد.

نمودار (۲) میانگین نسبت وزن پروستات به وزن بدن را در گروههای مختلف آزمایش نشان می دهد. کاهش معنی داری در گروه D در مقایسه با گروههای N, N+G, $D+G_b$ و $D+G_a$ ($p < 0.001$) مشاهده شد. علاوه بر آن کاهش معنی داری در گروه $D+G_b$ در مقایسه با گروه N+G ($p < 0.001$) مشاهده شد. علاوه بر این نتایج مشخص کرد که نسبت وزن پروستات در گروه N+G افزایش معنی دار ($p < 0.001$) را در مقایسه با گروه N دارا می باشد. نمودار (۳) میانگین قطر توبول

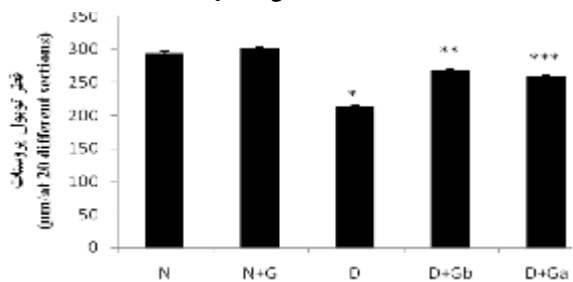
یافته ها: جدول (۱) تغییرات مختلف بافتی در پروستات را نشان می دهد. در گروه دیابتی ارتفاع سلولهای غده ای و قطر برخی توبولها کاهش چشمگیری نسبت به سایر گروهها داشت. تغییر شکل سلولهای آسینی به سلولهای دوکی در گروه دیابتی مشاهده گردید. افزایش رسوب کلاژن و فیروز در فضای بینابینی و ضخیم شدن ماتریکس خارج سلولی در گروه دیابتی مشاهده گردید (شکل ۱). کاهش ضخامت جدار عروق و گرانولهای ترشحاتی و افزایش کلاژن اطراف سلولهای آسینی و روشن شدن سیتوپلاسم از دیگر مواردی است که در گروه دیابتی مشاهده گردید (شکل ۱). همچنین در این گروه ترشحات موجود در توبولهای پروستات غلیظ شده و حجم آن کاهش یافته و دارای گلبولهای قرمز بود. در گروه $D+G_a$ عوارض دیابت روی بافت پروستات تخفیف یافت. تغییر شکل و دوکی شدن در برخی سلولها مشاهده شد. کاهش متوسط ترشحات و غیر یکنواخت بودن آن، ضخیم شدن ماتریکس خارج سلولی و فیروز و چروکیدگی سلولهای غده ای در حد خفیف، تراکم اپیتلیوم آسینار افزایش متوسط داشت. چروکیدگی اپیتلیوم غده ای مشاهده شد. کاهش متوسط گرانولهای ترشحاتی کاهش متوسط داشت. قطر توبولی و قطر شریانچه ها و عروق در مقایسه با گروه دیابتی در حد متوسط مشاهده شد.

در گروه $D+G_b$ عوارض تخفیف بیشتری نسبت به گروه $D+G_a$ داشت. عدم رسوب کلاژن و فیروز، افزایش چشمگیر گرانولهای ترشحاتی نسبت به گروه دیابتی، ماتریکس خارج سلولی نرمال، قطر عروق و شریانچه‌ها در حد نرمال، چروکیدگی اپیتلیوم غده ای در حد خفیف،

نمودار ۱- مقایسه میانگین \pm خطای معیار وزن پروستات در گروه‌های مختلف موش‌های صحرایی نر ($n=8$). مصرف افشره سیر باعث جلوگیری از کاهش وزن پروستات در گروه $D+G_b$ شد. * اختلاف معنی‌دار با گروه‌های N ، $N+G$ ، $D+G_b$ و $D+G_a$ ($p<0/0001$). ** اختلاف معنی‌دار با گروه‌های N ($p<0/01$)، $N+G$ ($p<0/0001$) و $D+G_a$ ($p<0/05$). † اختلاف معنی‌دار با گروه‌های N و $N+G$ ($P<0/0001$). †† اختلاف معنی‌دار با گروه N ($P<0/0001$). $N=N$ ، نرمال، $N+G=N+G$ ، نرمال + سیر، $D=D$ ، دیابتی، $D+G_b=D+G_b$ ، دیابتی + سیر قبل، $D+G_a=D+G_a$ ، دیابتی + سیر بعد



نمودار ۲- مقایسه میانگین \pm خطای معیار نسبت وزن پروستات به وزن بدن در گروه‌های مختلف موش‌های صحرایی نر ($n=8$). مصرف افشره سیر باعث جلوگیری از کاهش وزن پروستات نسبت به وزن بدن در گروه $D+G_b$ شد. * اختلاف معنی‌دار با گروه‌های N ، $N+G$ ، $D+G_b$ و $D+G_a$ ($p<0/0001$). ** اختلاف معنی‌دار با گروه $N+G$ ($p<0/0001$). † اختلاف معنی‌دار با گروه N ($P<0/0001$). †† اختلاف معنی‌دار با گروه N ($P<0/0001$). نرمال، $N+G=N+G$ ، نرمال + سیر، $D=D$ ، دیابتی، $D+G_b=D+G_b$ ، دیابتی + سیر قبل، $D+G_a=D+G_a$ ، دیابتی + سیر بعد

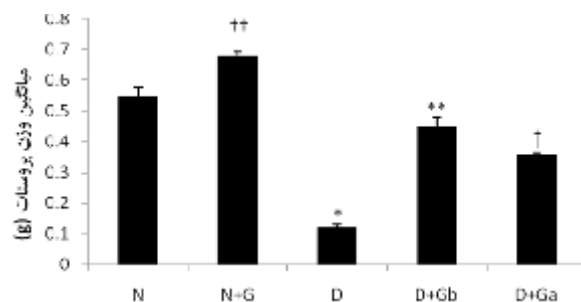


نمودار ۳- مقایسه میانگین \pm خطای معیار قطر توپول پروستات در گروه‌های مختلف موش‌های صحرایی نر ($n=8$). مصرف افشره سیر باعث جلوگیری از کاهش قطر توپول پروستات در گروه $D+G_b$ شد. * اختلاف معنی‌دار با گروه‌های N ، $N+G$ ، $D+G_b$ و $D+G_a$ ($p<0/0001$). ** اختلاف معنی‌دار با گروه N ، $N+G$ و $D+G_a$ ($p<0/0001$). *** اختلاف معنی‌دار با گروه‌های N و $N+G$ ($p<0/0001$). $N=N$ ، نرمال، $N+G=N+G$ ، نرمال + سیر، $D=D$ ، دیابتی، $D+G_b=D+G_b$ ، دیابتی + سیر قبل، $D+G_a=D+G_a$ ، دیابتی + سیر بعد

پروستات را در گروه‌های مختلف آزمایش نشان می‌دهد. کاهش معنی‌داری در گروه D در مقایسه با گروه‌های N ، $N+G$ ، $D+G_b$ و $D+G_a$ ($p<0/0001$) مشاهده شد. گروه $D+G_b$ افزایش معنی‌داری را در مقایسه با گروه $D+G_a$ ($p<0/01$) و کاهش معنی‌داری ($p<0/0001$) را در مقایسه با گروه‌های N و $N+G$ نشان داد. کاهش معنی‌داری در گروه $D+G_a$ در مقایسه با گروه‌های N و $N+G$ ($p<0/0001$) مشاهده شد.

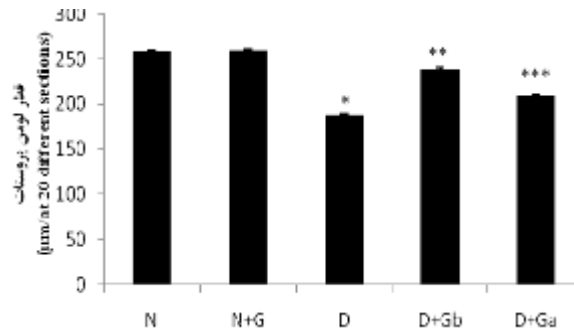
نمودار (۴) میانگین قطر لومن پروستات را در گروه‌های مختلف آزمایش نشان می‌دهد. کاهش معنی‌داری در قطر لومن پروستات در گروه D در مقایسه با سایر گروه‌ها ($p<0/0001$) مشاهده شد. همچنین افزایش معنی‌داری در گروه $D+G_b$ در مقایسه با گروه‌های N ، $N+G$ و $D+G_a$ ($p<0/0001$) وجود داشت. علاوه بر آن کاهش معنی‌داری در گروه $D+G_a$ در مقایسه با گروه‌های N و $N+G$ ($p<0/0001$) مشاهده شد.

نمودار (۵) میانگین ارتفاع دیواره پروستات را در گروه‌های مختلف آزمایش نشان می‌دهد. کاهش معنی‌داری در گروه D در مقایسه با گروه‌های N ، $N+G$ و $D+G_b$ و $D+G_a$ ($p<0/0001$) مشاهده شد. بررسی نتایج حاکی از این موضوع بود که میانگین ارتفاع دیواره پروستات در گروه $D+G_b$ کاهش معنی‌داری را در مقایسه با گروه‌های N ($p<0/01$)، $N+G$ ($p<0/0001$) و افزایش معنی‌دار ($p<0/001$) را با گروه $D+G_a$ نشان داد. همچنین کاهش معنی‌داری در گروه $D+G_a$ نسبت به گروه‌های N و $N+G$ ($p<0/0001$) مشاهده شد.

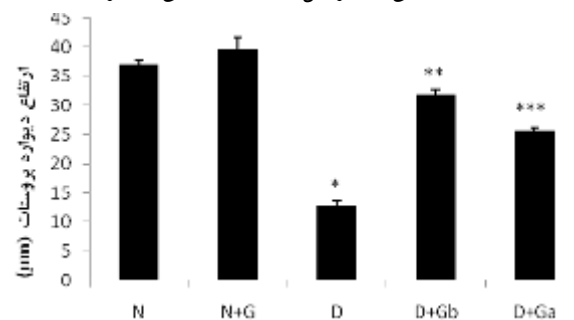


که موارد فوق در گروه دیابتی تفاوت معنی داری نسبت به گروه نرمال داشته است. در گروه $D+G_a$ نیز تغییرات به سمت نرمال پیش رفته اما تفاوت بین این گروه با گروه N معنی دار بوده و این خود بیانگر اثر بخشی بیشتر سیر در گروه $D+G_b$ می باشد.

سودومانی و همکارانش گزارش کردند که دیابت باعث تحلیل پروستات و کاهش وزن خالص آن می شود (۳۱). از لحاظ بافتی اپیتلیوم غده ای چروکیده می شود و سلولهای آسینی از سلولهای استوانه ای شکل به سلولهای دوکی شکل تغییر می یابند و گرانولهای ترشحی در آن کاهش می یابد. فعالیت ترشحی به طور کامل از بین نمی رود و فضای بینابینی به واسطه چروکیده شدن اپیتلیوم غده ای افزایش می یابد. مطالعات هیستومورفومتریک روی قطر توبولی، حجم و تراکم سطحی اپیتلیوم آسینی، لومن و استروما تحلیل بافت پروستات و به عبارتی کاهش وزن پروستات را تایید می کند و درمان با انسولین مانع از این تغییرات می شود (۳۱). نتایج این تحقیق نیز چنین مشاهداتی را تایید می کند، به طوری که در موشهای دیابتی بافت پروستات تغییراتی از جمله کاهش قابل توجه ارتفاع سلولهای اپیتلیوم غده ای در اکثر توبولها، تغییر شکل سلولهای آسینی به سلولهای دوکی، کاهش گرانولهای ترشحی، کاهش قطر توبولی، کاهش نسبت اپیتلیوم آسینی به استروما نشان دهنده کاهش فعالیت ترشحی این سلولهاست. از طرفی اندازه لومن توبولی از طریق مقدار مایع یا موادی که به وسیله سلولهای آسینی ترشح می شود مشخص می گردد. همچنین وجود ترشحات غلیظ و گلبولهای قرمز رنگ در ترشحات موردی بود که طبق اطلاعات این مطالعه اولین بار در بین تغییرات بافت پروستات در دیابت گزارش شده است. با توجه به نمودار ۲ چون نسبت وزن پروستات به وزن بدن در حالت دیابت نسبت به نرمال کاهش یافته است بنابراین کاهش وزن پروستات ناشی از ایجاد دیابت می باشد و به عبارت دیگر کاهش وزن بدن مسئول کاهش وزن پروستات نمی باشد.



نمودار ۴- مقایسه میانگین \pm خطای معیار قطر لومن پروستات در گروههای مختلف موشهای صحرایی نر ($n=8$). مصرف افشره سیر باعث جلوگیری از کاهش قطر لومن پروستات در گروه $D+G_b$ شد. * اختلاف معنی دار با گروههای N ، $N+G$ ، $D+G_b$ و $D+G_a$ ($p<0/0001$). ** اختلاف معنی دار با گروههای N ، $N+G$ و $D+G_a$ ($p<0/0001$). *** اختلاف معنی دار با گروههای N و $N+G$ ($p<0/0001$). $N=N$ نرمال، $N+G=N$ نرمال + سیر، $D=$ دیابتی، $D+G_b=$ دیابتی + سیر قبل، $D+G_a=$ دیابتی + سیر بعد



نمودار ۵- مقایسه میانگین \pm خطای معیار ارتفاع دیواره پروستات در گروههای مختلف موشهای صحرایی نر ($n=8$). مصرف افشره سیر باعث جلوگیری از کاهش ارتفاع دیواره پروستات در گروه $D+G_b$ شد. * اختلاف معنی دار با گروههای N ، $N+G$ و $D+G_b$ و $D+G_a$ ($p<0/0001$). ** اختلاف معنی دار با گروههای N و $N+G$ ($p<0/0001$) و $D+G_a$ ($p<0/0001$). *** اختلاف معنی دار با گروههای N و $N+G$ ($p<0/0001$). $N=N$ نرمال، $N+G=N$ نرمال + سیر، $D=$ دیابتی، $D+G_b=$ دیابتی + سیر قبل، $D+G_a=$ دیابتی + سیر بعد

بحث

مرور مجدد بخش نتایج بیانگر آن است که سیر توانسته است از اثرات مخرب دیابت بر مورفولوژی پروستات جلوگیری کند به طوری که وزن پروستات، قطر توبول و لومن، میزان ترشحات و مورفولوژی سلولها در گروه $D+G_b$ تفاوت معنی داری با گروه N نداشته است در حالی

شکل اپیتلیوم غده ای در نتیجه کاهش سطح استرادیول سرم باشد که در موشهای دیابتی گزارش شده است (۳) و (۳۳). آندروژن، استروژن و پرولاکتین گیرنده‌هایی در پروستات دارند که مشخص شده تحت شرایط دیابت کاهش می‌یابد (۳۳). پرولاکتین بر حساسیت آندروژنی پروستات از طریق تنظیم افزایشی گیرنده‌های آندروژنی (AR) (۲۶) و فعالیت آنزیم ۵ آلفا ردوکتاز تأثیر می‌گذارد (۳۷). بنابراین بر اساس مشاهدات فراساختاری و مورفولوژیکی تغییرات در بافت شناسی پروستات به دلیل اثرات ثانویه تولید کمتر از نرمال تستوسترون، استرادیول و پرولاکتین در موشهای دیابتی می‌باشد و از طرفی گزارش شده که دیابت تأثیرات مضر روی فعالیت پروستات می‌گذارد و فعالیت ترشحی پروستات را مختل می‌سازد اما تیمار موشهای دیابتی با تستوسترون، استرادیول و انسولین باعث بازگشت فعالیت ترشحی می‌شود (۸). غلظت AR در اندامهای جنسی ضمیمه توسط آندروژن، استرادیول و هورمون رشد و پرولاکتین تنظیم می‌شود. یوریکویی و همکارانش در سال ۲۰۰۷ گزارش کردند که دی آلیل سولفید موجود در سیر موجب افزایش تستوسترون می‌شود (۲۴) که به نوبه خود تولید استرادیول از تستوسترون افزایش می‌یابد.

گزارش شده که طی دیابت تولید رادیکالهای آزاد افزایش می‌یابد (۲). مکانیسم سهیم در تولید رادیکالهای آزاد نه تنها شامل افزایش گلیکوزیلاسیون غیر آنزیمی و اتواکسیداتیو است بلکه استرس متابولیک از تغییر در متابولیسم انرژی، سطح واسطه‌های التهابی و وضعیت دفاعهای آنتی‌اکسیدانی حاصل می‌شود (۱۰). دیابت به عنوان اختلال متابولیکی شناخته می‌شود که منجر به برهم زدن تعادل بین اکسیدانها و آنتی‌اکسیدانها می‌شود. به هنگام دیابت افزایش گلیکوزیلاسیون کلاژن و پروتئینهای پلازما اکسیداسیون لیپیدها را تحریک می‌کند. پیشرفت پراکسیداسیون لیپید فرآیند مخربی است که بر غشاء سلولی و دیگر ساختارهای محتوی لیپید تحت شرایط استرس

از طرف دیگر چون بین گروه $D+G_b$ و گروه نرمال در این نسبت اختلاف معنی دار وجود ندارد نشان دهنده این است که سیر با جلوگیری از کاهش وزن پروستات باعث از بین رفتن این اختلاف شده است.

به نظر می‌رسد که برای تکوین و فعالیت نرمال پروستات حضور آندروژنها ضروری می‌باشد (۶). لزوم فعالیت آندروژن از طریق اختلال تکوین غده پروستات به هنگام اختلال ذاتی گیرنده آندروژنی ۵ آلفا ردوکتاز در افراد نر به اثبات می‌رسد (۲۷ و ۳۶). نشان داده شده که عدم کفایت آندروژنی به شکستن غشای داخل سلولی، فعال شدن لیزوزوم و چروکیدگی شدن هسته و در نهایت از بین رفتن سلولها در نتیجه آپوپتوز اپیتلیوم غده ای منجر می‌شود (۱۸، ۲۳ و ۳۵). محققان نشان دادند که غلظت تستوسترون سرم و داخل بیضه ای در حیوانات دیابتی کاهش می‌یابد (۳۳). بنابراین کاهش تستوسترون در سطح پروستات شکمی و تبدیل آن به دی هیدروتستوسترون مسئول تغییرات بافتی گفته شده در دیابت می‌باشد. علاوه بر این دیابت باعث کاهش محتوای گیرنده آندروژنی (۳۴) و جذب و کاهش ۳- هیدروکسی تستوسترون در غدد ضمیمه جنسی می‌گردد (۲۵). بنابراین اثرات متنوع مشاهده شده در پروستات شکمی به واسطه اختلال اتصال آندروژن به گیرنده اش می‌باشد.

استرادیول هورمون دیگری است که رشد و فعالیت اندامهای ضمیمه جنسی از جمله پروستات شکمی را از طریق گیرنده‌های ویژه اش (ERS) تعدیل می‌کند (۲۸). در پروستات جوانان بالغ نسبت اپیتلیال به استروما حدود ۵ به ۱ می‌باشد (۳۱). کونها در ۱۹۷۸ بیان کرد که ماهیچه صاف پروستات، ساختار اپیتلیالی و فعالیت آن را حفظ می‌کند در حالی که اپیتلیوم پروستات به نوبه خود تمایز ماهیچه صاف را حفظ می‌کند (۶). در مطالعه حاضر فضای بینابینی بین اپیتلیوم غده ای افزایش می‌یابد و با استرومای پراکنده پر می‌شود. این می‌تواند بدلیل تغییر

ویتامینهای B می‌باشد (۱۵). در بافت پروستات نیز ایجاد استرس اکسیداتیو و افزایش آن تحت شرایط دیابت با آسیب زدن به DNA، پروتئینها و لیپیدها باعث تخریب سلولها، تغییر شکل و چروکیدگی شدن آنها و در نتیجه کاهش حجم ترشحات و تغییر ماهیت آن و کاهش قطر توبولی می‌گردد اما از آنجا که سیر با دارا بودن خواص آنتی‌اکسیدانی باعث تقویت سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی موجود در سلولها و حتی خارج سلولی می‌شود، بنابراین از اثرات مخرب استرس اکسیداتیو بر بافت پروستات جلوگیری می‌کند.

همچنین سیر باعث افزایش سطح انسولین سرم می‌گردد که به گفته محققان این کار را از طریق افزایش ترشح انسولین از سلولهای بتا پانکراس یا توسط آزادسازی انسولین در بند انجام می‌دهد (۱۳) و از طرفی مطالعات نشان داده که تزریق انسولین به موشهای دیابتی باعث بهبود اختلالات بافتی ناشی از دیابت می‌شود بنابراین یکی دیگر از مکانیسمهای احتمالی مؤثر در بهبود اختلالات ناشی از دیابت روی بافت بیضه افزایش انسولین سرم به واسطه سیر می‌باشد.

نتیجه‌گیری

در این مطالعه برای اولین بار نشان داده شد که مصرف افشره سیر دارای هر دو اثر درمانی و پیشگیرانه روی کاهش آسیبهای پروستات در موشهای صحرایی دیابتی می‌باشد.

اکسیداتیو اثر می‌گذارد که اغلب همراه با عواقب سیتوپاتولوژیک می‌باشد (۲). سلولهای یوکاریوت با دفاعهای مختلف اولیه و ثانویه بر علیه تأثیرات مخرب استرس اکسیداتیو مجهز شده‌اند. زمانی که این دفاعهای آنتی‌اکسیدانی شکسته می‌شوند آسیبهای کشنده ایجاد می‌شوند. کاهش سطوح آنتی‌اکسیدانی در نتیجه افزایش تولید رادیکالهای آزاد در دیابت توسط تعدادی از محققان گزارش شده است (۹ و ۳۰).

آنزیمهای آنتی‌اکسیدانی طی افزایش میزان قند خون بسیج می‌شوند اما در مقابل افزایش استرس اکسیداتیو جوابگو نیستند (۲۱). این مشکل یا به علت کاهش جذب پیش سازهای مورد نیاز یا ناتوانی سنتز آنزیمهای آنتی‌اکسیدانی است (۱۹). مکملهای آنتی‌اکسیدانی وسیله‌ای برای معکوس کردن این فرآیند است (۱۱). در این زمان مکملهای آنتی‌اکسیدانی مانند ویتامین‌های A و E و C مفید می‌باشند. استفاده از آنتی‌اکسیدانهای رایج به تنهایی یا به صورت ترکیبی عوارض دیابت را به تعویق انداخته یا حتی ممانعت می‌کند. گزارش شده که سطوح L-آسکوربیک اسید در افراد و موشهای صحرایی دیابتی کاهش می‌یابد (۱) و تیمار افراد دیابتی با این ویتامین عوارض دیابت را به علت خاصیت ترشح‌کنندگی انسولین آن و آنتی‌اکسیدان بودنش کاهش می‌دهد (۵). گزارش شده که سیر دارای سطوح بالایی از ساپونینها، فسفر، پتاسیم، روی و ترکیبات فنولی و سطوح متوسطی از سلنیم، ویتامینهای A و C و سطوح اندکی از کلسیم، منیزیم، سدیم، آهن، منگنز و خانواده

منابع

- 1- Ashour, M., Salem, S., Hassaneen, H., El-Gadban, H., Elwan, N., Awad, A., Basu, T.K. (1999). Antioxidant Status and Insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM). *J. Clin. Biochem. Nutr.* 26, 99-107.
- 2- Baynes, J.W. (1991). Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. *Diabetes* 40, 405-412.
- 3- Boujon, C.E., Bestetti, G.E., Abramo, F., Locatelli, V., Rossi, G.L. (1995). The reduction of circulating growth hormone and prolactin in streptozotocin-induced diabetic male rats is possibly caused by hypothalamic rather than pituitary changes. *J. Endocrinol.* 145, 19-26.
- 4- Carvalho, C.A.F., Camargo, A.M., Cagnon, V.H.A., Padovani, C.R. (2006). Effects of experimental diabetes on the structure and ultrastructure of the oagulating gland of C57BL/6J and NOD mice. *The Anatomical Record Part A* 38, 142-151.

- 5- Cheng, J.T., Hsieh-Chen, S.C., Tasi, C.L. (1989). L-ascorbic acid produces hypoglycaemia and hyperinsulinaemia in anaesthetized rats. *J. Pharm. Pharmacol.* 413, 45-346.
- 6- Cunha, G.R., Donjacour, A.A., Cooke, P.S., Mee, S., Bigsby, R.M., Higgins, S.J., Sugimura, Y. (1987). The endocrinology and developmental biology of the prostate. *Endocr. Rev.* 8, 338-361.
- 7- El-Demerdash, F.M., Yousef, M.I., Abou, El-Naga. N.I. (2005). Biochemical study on the hypoglycemic effects of onion and garlic in alloxan-induced diabetic rats. *Food. Chem. Toxicol.* 43, 57-63
- 8- Favaro, W.J., Padovani, C.R., Cagnon, V.H. (2008). Ultrastructural and proliferative features of the ventral lobe of the prostate in non-obese diabetic mice (NOD) following androgen and estrogen replacement associated to insulin therapy. *Tissue Cell* 17
- 9- Giugliano, D., Ceriello, A., Paolisso, G. (1995). Diabetes mellitus hypertension, cardiovascular disease: which role for oxidative stress? *Metabolism* 44, 363-368.
- 10- Griesmacher, A., Kindhauser, M., Andert, E.S. (1995). Enhanced serum levels of thiobarbituric acid reactive substances in diabetes mellitus. *Am. J. Med.* 98, 469-475.
- 11- Halliwell, B., Gutteridge, J. (1984). Lipid peroxidation, oxygen radicals, cell damage, and antioxidant therapy. *Lancet.* 1396-1397.
- 12- Heber, D. (2004). Vegetables, fruits and phytoestrogens in the prevention of diseases. *J. Postgrad. Med.* 50, 145-149.
- 13- Jain, R.C., Vyas, C.R. (1975). Hypoglycemic action of onion and garlic. *Am. J. clin. Nutr.* 28, 684-685.
- 14- Jelodar, G.A., Maleki, M., Motadayan, M.H., Sirius, S. (2005). Effect of fenugreek, onion and garlic on blood glucose and histopathology of pancreas of alloxan induced diabetic rats. *Indian J. med. Sci.* 59, 64-69.
- 15- Khalid, R., Gordon, M.L. (2007). Garlic and Cardiovascular Disease: A Critical Review. *J. Nutr.* 136, 736- 740.
- 16- Kim, J.D., Kang, S.M., Park, M.Y., Jung, T.Y., Choi, H.Y., Hong, S., KU, S.K. (2007). Ameliorative Anti-Diabetic Activity of Dangnyosoko, a Chinese Herbal Medicine, in Diabetic Rats. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 71, 1527-1534.
- 17- Kim, J.D., Kang, S.M., Seo, B.I., Choi, H.Y., Choi, H.S., KU, S.K. (2006). Anti-diabetic Activity of SMK001, a Poly Herbal Formula in Streptozotocin Induced Diabetic Rats: Trapeutic Study. *Biol. Pharm. Bull.* 29, 477-482.
- 18- Kyprianou, N., Issacs, J.T. (1988). Activation of programmed cell death in rat ventral prostate after castration. *Endocrinol.* 125, 552-562.
- 19- Kelly, F.J. (1998). Use of antioxidants in the prevention and treatment of disease. *J. Int. Fed. Clin. Chem.* 10, 21-23.
- 20- Lanzotti, V. (2006). The analysis of onion and garlic. *J. Romatograp. A.* 1112, 3-22.
- 21- Mates, J.M., Sanchez-jimenez, F. (1999). Antioxidant enzymes and their implications in pathophysiological process. *Front. Biosci.* 4, 339-345.
- 22-Meyer, K., Deutscher, J., Anil, M., Berthold, A., Bartsch, G., Kiess, W. (2000). Serum androgen levels in adolescents with type I diabetes: relationship to pubertal stage and metabolic control. *J. Endocrinol. Invest.* 23, 362-368.
- 23- Murakoshi, M., Tagawa, M., Inada, R., Suzuki, M. (1992). Effects of testosterone and testosterone plus estrogen in the castrated rat ventral prostate: istopathological and immunocytochemical studies. *Tokai. J. Exp. Clin. Med.* 17, 133-137.
- 24- Oi, Y., Imafuku, M., Shishido, C., Kominato, Y., Nishimura, S., Iwai, K. (2001). Garlic Supplementation Increases Testicular Testosterone and Decreases Plasma Corticosterone in Rats Fed a High Protein Diet. *J. Nutr.* 131, 2150-2156.
- 25- Oksanen, A., Tuohimaa, P. (1975). Impaired 3H-testosterone uptake and metabolism in the accessory sex gland of diabetic, castrated male rats. *Horm. Res.* 6, 157-168.
- 26- Prins, G.S. (1987). Prolactin influences on cytosol and nuclear androgen receptor in the ventral, dorsal and lateral lobes of the rat prostate. *Endocrinol.* 120, 1457-1464.
- 27- Quigley, C.A., De Bellis, A., Marschke, K.B., el-Awady, M.K., Wilson, E.M., French, F.S. (1995). Androgen receptor defects: historical, clinical, and molecular perspectives. *Endocr. Rev.* 16, 271-321.
- 28-Ribeiro, D.L., Marques, S.F., Alberti, S., Spadella, C.T., Manzato, A.J., Taboga, S.R., Dizeyi, N., Abrahamsson, P.A., Góes, R.M. (2008). Malignant lesions in the ventral prostate

- of alloxan-induced diabetic rats. *Int. J. Exp. Pathol.* 89, 276-83.
- 29- Risbridger, G., Wang, H., Young, P., Kurti, T., Wang, Y.Z., Lubahn, D., Gustafsson, J.A., Cunha, G., Wong, Y.Z. (2001). Evidences that epithelial and mesenchymal estrogen receptor- α mediates effects of estrogen on prostatic epithelium. *Dev. Biol.* 229, 157-166.
- 30- Saxena, A.K., Srivastava, P., Kale, R.K., Baquer, N.Z. (1993). Impaired antioxidant status in diabetic rat liver. *Biochem. Pharm.* 45, 539-542.
- 31- Soudamani, S., Yuvaraj, S., Malini, T., Balasubramanian, K. (2005). Experimental Diabetes has Adverse Effects on the Differentiation of Ventral Prostate during Sexual Maturation of Rats. The anatomical record part 287, 1281-1289.
- 32- Steger, R.W., Rabe, M.B. (1997). The effect of diabetes mellitus on endocrine and reproductive function. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 214, 1-11.
- 33- Sudha, S., Shankar, B.R., Valli, G., Govindarajulu, P., Balasubramanian, K. (1999). Streptozotocin-diabetes impairs prolactin binding to Leydig cells in prepubertal and pubertal rats. *Horm. Metab. Res.* 31, 583-586.
- 34- Tesone, M., Calvo, J.C., Baranao, J.L.S., Charreau, E.H. (1986). Diabetes and male reproductive function. *Andrology*, 85-99.
- 35- Timms, B.G., Chandler, J.A. (1983). Ultrastructural and analytical studies on the prostate of castrated rats. *Prostate*. 4, 37-55.
- 36- Wilson, J.D., Griffin, J.E., Russell, D.W. (1993). Steroid 5 α -reductase-2 deficiency. *Endocr. Rev.* 14, 577-593.
- 37- Yamanaka, H., Kirdani, R.Y., Saroff, J., Murphy, G.P., Sandberg, A.A. (1975). Effects of testosterone and prolactin on rat prostatic weight, 5 alpha-reductase and arginase. *Am. J. Physiol.* 229, 1102-1109.

Preventive and protective effects of garlic juice on histologic alteration in the prostate of streptozotocin induced diabetic rats

Abdolahnejad A.¹, Gol A.¹, Dabiri Sh.² and Javadi A.R.²

¹ (Cell and Endocrine Research Center) Biology Dept., Faculty of Sciences, Shahid Bahonar University, Kerman, I.R. of IRAN

² Pathology Dept., Afzalipour Medical School, Kerman, I.R. of IRAN

Abstract

Diabetes mellitus has diverse effects on reproductive functions in men, among which are reduction of serum testosterone, seminal fluid volume, and prostate damage. In diabetes the glandular epithelium undergoes shrinkage and becomes cuboidal in shape. The present investigation is aimed to understand the preventive and therapeutic effect of garlic juice on prostate damage in diabetic *rats*. Forty male wistar rats were divided into 5 groups: 1- Group normal (N) 2- Group Normal+Garlic (N+G) 3- Diabetic (D) STZ (Streptozotocin) injection 60mg/kg BW /ip 4- Group diabetic+garlic before (D+G_b) received garlic juice for 3 weeks before and also 3 weeks after STZ injection. 5- Group diabetic+garlic after (D+G_a) three days after STZ injection, they received garlic juice for 3 weeks. Garlic juice was given by gavage (1ml/100g BW). Diabetes caused regression of prostate, leading to a decrease in its weight. Histologically, glandular epithelium has undergone shrinkage with transformation of acinar cells into low cuboidal type. *Rats* receiving garlic before STZ injection showed more improvement than those receiving it after injection. In this study for the first time we showed that administration of garlic juice could play both preventive and therapeutic role on prostate damage in adult diabetic rats.

Keywords: diabetes mellitus, prostate, garlic