

## بررسی اثر عصاره آبی ریشه گیاه ثعلب بر ساختار بافت بیضه و هورمون های جنسی در موش نر

نویسندگان:

زهره فرجی<sup>۱</sup>، حسین نیکزاد<sup>۲\*</sup>، کاظم پریور<sup>۳</sup>، محسن نیکزاد<sup>۴</sup>

۱- دبیرستان دهخدا، کاشان، ایران

۲- مرکز تحقیقات علوم تشریحی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

۳- گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، تهران، ایران

۴- دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

Journal of Jahrom University of Medical Sciences, Vol. 11, No. 1, Spring 2013

### چکیده:

**مقدمه:** استفاده از گیاه ثعلب به عنوان یک داروی انرژی زا و تقویت کننده قوای جنسی در طب سنتی رایج است. با توجه به در دسترس نبودن شواهد علمی کافی در خصوص میزان تاثیر این ماده بر روی بافت بیضه و هورمون های جنسی این تحقیق طراحی و اجرا گردید.

**روش کار:** در این تحقیق تجربی ۱۸ سر موش نر بالغ C (میانگین سن ۴ هفته) انتخاب و به طور تصادفی به سه گروه: کنترل (بدون دریافت هیچ ماده ای)، پلاسیبو (دریافت کننده ی ۲۰۰ میکرو لیتر آب مقطر) و تجربی (دریافت کننده ی ۲۰۰ میکرو لیتر آب مقطر حاوی ۴۰ میلی گرم عصاره ی آبی گیاه ثعلب) تقسیم شدند. در گروه تجربی عصاره به مدت یک هفته روزانه و به صورت داخل صفاقی تزریق شد. دو هفته بعد از آخرین تزریق، خونگیری از موش ها جهت بررسی هورمون های جنسی تحریک کننده فولیکول (FSH) و لوتئینه کننده (LH) و تستوسترون به عمل آمد و بیضه ی آن ها نیز برای مطالعات بافت شناسی برداشته شد.

**یافته ها:** تزریق عصاره آبی ریشه گیاه ثعلب به طور معنی داری باعث افزایش میانگین میزان هورمون لوتئینه کننده بر حسب نانوگرم/میلی لیتر در گروه تجربی (۰/۰۹±۰/۰۶) نسبت به گروه پلاسیبو (۰/۳۹±۰/۰۰۶) و کنترل (۰/۳۸±۰/۰۰۷) گردید (P < ۰/۰۵). همچنین مقایسه میانگین میزان هورمون تستوسترون بر حسب نانوگرم/میلی لیتر در گروه تجربی (۱/۲۵±۰/۵۲) نسبت به گروه پلاسیبو (۰/۳۷±۰/۰۳) و کنترل (۰/۳۶±۰/۰۲) افزایش معنی داری مشاهده گردید (P < ۰/۰۵). تعداد سلول های جرم و لیدیک نیز در گروه تجربی نسبت به دو گروه پلاسیبو و کنترل افزایش معنی داری نشان داد (P < ۰/۰۱). ولی تغییر معنی داری در پارامترهای دیگر مشاهده نگردید.

**نتیجه گیری:** تزریق عصاره آبی ریشه گیاه ثعلب باعث افزایش معنی داری در روند اسپرماتوژنز و هورمونهای جنسی LH و تستوسترون می شود.

J Jahrom Univ Med Sci 2013; 10(4):71-6

**واژگان کلیدی:** عصاره گیاهی، بافت بیضه، موش نژاد BALB C

### مقدمه:

پارامترهای مایع منی، اختلالات نعوظ و ناتوانی جنسی مردان دخالت دارند [۳]. بررسی ها نشان داده که پارامترهای مایع منی در ۲۵ الی ۴۰ درصد افراد جوان جامعه زیر شاخص های استاندارد سازمان بهداشت جهانی می باشد [۴]. درمان با انجام عمل جراحی، مصرف داروهای شیمیایی و گیاهی و روشهای آزمایشگاهی کمک باروری انجام می شود. تجویز داروهای گیاهی توسط پزشکان طب سنتی در ایران و کشورهای دیگر

ناباروری یکی از مشکلات جوامع بشری است طبق گزارش سازمان بهداشت جهانی ۱۰ الی ۱۵ درصد زوج های جوان با مشکل ناباروری مواجه هستند که ۴۰٪ این مشکل مربوط به علل فاکتور مردانه می باشد [۱-۲]. علل متفاوتی در بروز ناباروری مردان از جمله اختلالات ژنتیکی، انسداد مجاری تناسلی، واریکوسل، کاهش روند تولید اسپرم، کاهش کیفیت

\* نویسنده مسئول، نشانی: کاشان، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، مرکز تحقیقات علوم تشریح کاشان

پست الکترونیک: nikzad\_h@kaums.ac.ir

تلفن تماس: ۰۳۶۱ - ۵۵۵۰۴۸۰ دورنگار: ۵۵۵۱۱۱۲ - ۰۳۶۱

پذیرش: ۱۳۹۱/۱۱/۰۳

اصلاح: ۱۳۹۱/۱۰/۲۴

دریافت: ۱۳۹۱/۱۰/۰۸

برای درمان بسیاری از بیماران رایج است. یکی از این گیاهان که مصرف بالایی در هند، نپال، چین، اروپا و مناطق دیگر جهان دارد گیاه ثعلب می باشد [۵-۶].

گیاه ثعلب یا غده انگشتی بیشه‌زار (*Dactylorhiza*) گیاه *Renz* (*Lancibracteata*(C.koch)) با نام قدیمی *(Orchis maculata L.)* متعلق به خانواده ارکیده است و گونه های متفاوتی دارد و تقریباً در سرتاسر دنیا رویش پیدا می کند. معمولاً غده آن در اوایل تابستان قابل بهره برداری است و تا دو سال خاصیت دارویی خود را حفظ می کند [۹-۷]. این گیاه دارای ترکیباتی از جمله گلوکومانان، مواد نیتروژن دار، نشاسته، پروتئین، قند، هیدروکسی بنزالدئید، اسید فرولیک، کوئرستین (Quercetin)، دائوکوسترول (Daucosterol)، سیرسیلینول (Cirsilineol) و استروئیدها می باشد [۱۰،۱۲-۵]. در طب سنتی استفاده از این گیاه به عنوان مرهم سینه و در درمان اختلالات روده، بیماری سل، اسهال، پارکینسون، سرطان، تب و به ویژه به عنوان تقویت کننده فعالیت ها جنسی، درمان اختلالات نعوظ، افزایش قدرت بدنی و انرژی زایی تجویز می شود [۱۳-۱۴،۵-۶]. از این گیاه در صنعت بستنی سازی، نوشیدنی ها و شیرینی سازی نیز استفاده می شود [۱۵-۱۶].

تاکور و همکارانش در مطالعات خود روی موش بیان داشتند که مصرف عصاره ریشه گیاه ثعلب تمایل به جنس مخالف، تعداد نعوظ و انزال، وزن بدن حیوان، وزن ارگان های تناسلی، فروکتوز و هورمون تستوسترون را افزایش می دهد [۱۷-۱۹]. در مطالعه مروری که توسط شمول انجام شد، گزارش نموده است علیرغم افزایش تمایل به استفاده از گیاهان دارویی برای بهبود فعالیت جنسی و اختلالات نعوظ، ولی شواهد علمی کافی برای تایید تاثیرات آن ها وجود ندارد [۲۰]. با توجه به موارد فوق، به منظور بررسی تاثیر عصاره آبی ریشه گیاه ثعلب بر روی بافت بیضه و هورمون های جنسی موش نر بالغ این تحقیق انجام شد.

## روش کار:

### روش جمع آوری و عصاره گیری:

نمونه های گیاه ثعلب یا غده انگشتی بیشه زار از ارتفاعات اطراف شهرستان خمین، جمع آوری و پس از تهیه نمونه های هرباریومی، توسط گیاه شناس شرکت باریج اسانس کاشان شناسایی و با کد ۱-۱۹۵ ثبت گردید. ریشه های غده ای گیاه یاد شده در اوایل فصل تابستان جمع آوری، پس از شست و شو و حذف خاک آن، در محیط آزمایشگاه و سایه خشک شدند. سپس نمونه های کاملاً خشک شده توسط آسیاب برقی بصورت پودر درآمدند. پودر حاصل با الکل اتیلیک ۹۶ درصد به نسبت ۵

برابر حجم گیاه مخلوط گردید و در دستگاه روتودوکسی به مدت ۲۴ ساعت در دمای محیط کاملاً به هم زده شد تا یک محلول یکنواخت بدست آمد. در مرحله بعد محلول از صافی عبور داده شد و به مدت ۴۸ ساعت در شرایط محیط خشک گردید تا به عصاره جامد فاقد الکل تبدیل شود. برای تهیه عصاره آبی، یک گرم عصاره بدست آمده را در ۵ سی سی آب مقطر دو بار تقطیر حل تا محلول حاوی ۲۰ درصد عصاره (۲۰۰ میلی گرم در ۱ سی سی) بدست آمد و در یخچال نگهداری شد.

### حیوانات و گروه بندی آنها:

در این تحقیق تجربی از ۱۸ سر موش نر بالغ (یک ماهه) نژاد Balb/c با میانگین وزنی ۲۳-۲۱ گرم استفاده شد. موشها از انستیتو پاستور خریداری شدند و بعد از یک هفته تطابق با محیط در مرکز نگهداری حیوانات دانشگاه علوم پزشکی کاشان مورد آزمایش قرار گرفتند. در تمام طول تحقیق حیوانات در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و دمای محیط ۲۵-۲۰ درجه سانتی گراد نگهداری شدند و آزادانه به آب و غذا دسترسی داشتند. حیوانات به طور تصادفی به سه گروه مساوی تجربی، پلاسبو و کنترل تقسیم شدند. در گروه تجربی روزانه به مدت یک هفته ۴۰ میلی گرم عصاره ریشه گیاه ثعلب در ۲۰۰ میکرولیتر آب دوبار تقطیر به صورت داخل صفاقی تزریق شد. به گروه پلاسبو ۲۰۰ میکرولیتر آب مقطر دوبار تقطیر به صورت داخل صفاقی تزریق گردید و گروه کنترل هیچ ماده ای دریافت نمی کردند.

### خون گیری و آزمایشات هورمونی:

دو هفته بعد از آخرین تزریق، حیوانات را وزن نموده و از قلب موش ها خون گیری به عمل آمد و بعد از جدا کردن سرم آنها، هورمونهای تحریک کننده فولیکول، لوتئینه کننده و تستوسترون به روش ایمنورادیومتری (Immunoradiometric Assay) و با استفاده از کیت های خریداری شده از شرکت Beckman Coulter با دستگاه گاما کانتر مدل LB 951 Berthold ساخت آلمان اندازه گیری شدند.

### بررسی میکروسکوپی بافت بیضه:

بعد از پایان دوره آزمایش، موشها از طریق قطع نخاع گردنی کشته شدند. در شرایط استریل با ایجاد شکافی در قسمت تحتانی شکم، بیضه های راست و چپ آنها خارج و در محیط سرم فیزیولوژیک قرار گرفتند. بعد از تمیز کردن چربی اطراف آنها به طور جداگانه با استفاده از ترازوی سارتوریوس (ساخت آلمان، با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم) وزن شدند و حجم بیضه با فرو بردن بیضه ها در سرم فیزیولوژیک در داخل استوانه مدرج ۵ میلی لیتری اندازه گیری شد.

گروه پلاسبو ( $0/37 \pm 0/03$ ) و کنترل ( $0/36 \pm 0/02$ ) افزایش معنی داری مشاهده گردید ( $P < 0/05$ ). تعداد سلولهای اسپرماتوگونیا با ( $P < 0/01$ ) و تعداد سلولهای اسپرماتوسیت I در مرحله پاکتی تن، اسپرماتید، اسپرم بالغ با ( $P < 0/001$ ) در هر مجرای منی ساز در گروه تجربی نسبت به گروه های پلاسبو و کنترل اختلاف معنی داری نشان دادند ولی تعداد سلولهای سرتولی در هر مجرا بین سه گروه اختلاف معنی داری مشاهده نگردید. مقایسه میانگین تعداد سلول های لیدیک در گروه تجربی ( $22 \pm 2/09$ ) نسبت به گروه پلاسبو ( $15 \pm 1/46$ ) و کنترل ( $16 \pm 1/01$ ) اختلاف معنی داری نشان داد ( $P < 0/01$ ). مقایسه متغیر های مورد بررسی در بین گروه پلاسبو و کنترل اختلاف آماری معنی داری نداشتند.

### بحث:

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که تزریق عصاره آبی ریشه گیاه ثعلب باعث افزایش معنی داری در تعداد سلولهای اسپرماتوگونیا، اسپرماتوسیت I، اسپرماتید و اسپرم بالغ می شود. این اولین مطالعه تجربی روی موش می باشد که تاثیر گیاه ثعلب را روی ساختار بافت بیضه نشان می دهد. مطالعاتی که توسط تاکور و همکارانش انجام شده بیشتر روی تاثیر گیاه ثعلب روی رفتارهای جنسی موش می باشد که باعث افزایش: تمایل به جنس مخالف، تعداد نوزاد، انزال، هورمون تستوسترون، تعداد اسپرم در اپی دیدیم و فروکتوز مایع منی شده است [۱۹،۱۷]. از طرف دیگر مصرف این گیاه در طب سنتی در جوامع مختلف رایج بوده و معتقدند این گیاه مقوی و انرژی زا بوده و در بهبود قوای جنسی مردان موثر است [۱۵،۱۱]. از نتایج دیگر این تحقیق افزایش هورمون های جنسی لوتئینه کننده و تستوسترون در گروه تجربی نسبت به گروه کنترل بود ( $P < 0/05$ ). که در مطالعه دیگران نیز این افزایش گزارش شده است [۱۷].

افزایش تعداد سلولهای لیدیک به عنوان سلولی که هورمون تستوسترون در پاسخ به هورمون لوتئینه کننده ترشح می کند می تواند توجیه کننده تغییرات ایجاد شده در بافت بیضه و افزایش روند اسپرماتوژنیزس از طریق تاثیر ترکیبات گیاه ثعلب روی محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-بیضه باشد. افزایش هورمون تستوسترون می تواند باعث آزاد شدن واسطه های شیمیایی دوپامینرژیک در مغز شود و ثابت شده که ارتباط معنی داری بین آزاد شدن دوپامین در هسته accumbens و بهبود فعالیت های جنسی وجود دارد [۲۳-۲۱].

برای انجام مطالعات بافتی، بیضه ها ابتدا در محلول بوئن به مدت ۲۴ ساعت فیکس شدند و مراحل آماده سازی به روش استاندارد انجام و در نهایت در پارافین قالب گیری شدند. از بیضه ها برش های سریالی ۵ میکرونی عمود بر محور طولی بیضه تهیه و سپس با روش هماتوکسیلین-ئوزین رنگ آمیزی شدند. از مقاطع بافتی هر حیوان تعداد ۱۰ برش به صورت تصادفی انتخاب و در هر برش ۵ مجاری منی ساز (مجموعاً ۵۰ مجرای منی ساز) گرد یا نزدیک به گرد که در مراحل VII، VIII سیکل اپی تلیوم منی ساز بودند بررسی شدند. برای اندازه گیری قطر مجاری منی ساز از میکروسکوپ زایس دارای میکرومتر چشمی مدرج و با بزرگ نمایی  $\times 100$  کالیبر شده توسط یک میکرومتر مدرج (Stage micrometer) استفاده شد و اندازه ها بر حسب میکرون بیان شد. تعداد سلولهای مجاری منی ساز شامل سلولهای اسپرماتوگونیا، اسپرماتوسیت I مرحله پاکتی تن، اسپرماتید و اسپرم بالغ با استفاده از میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی  $\times 400$  در ۵۰ مجاری منی ساز گرد در هر حیوان شمارش و پس از تعیین میانگین تعداد سلولهای فوق در هر گروه با گروه های دیگر مقایسه شدند. تعداد سلولهای لیدیک با استفاده از میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی  $\times 400$  در ۱۰ میدان دید (مجموعاً ۵۰ میدان دید در هر حیوان) شمارش شد و سپس میانگین تعداد سلولها در هر گروه مشخص و با گروههای دیگر مورد مقایسه قرار گرفت.

تجزیه و تحلیل آماری: میانگین متغیر های مورد بررسی بین سه گروه تجربی، پلاسبو و کنترل با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه ANOVA و آزمون Tukey در سطح اطمینان ۹۵ درصد انجام شد. تفاوت ها در صورتی که  $P < 0/05$  باشد معنی دار در نظر گرفته شد.

### یافته ها:

کلیه نتایج این مطالعه در جدول ۱ نشان داده شده است. بدین ترتیب که مقایسه میانگین وزن حیوان، وزن بیضه، حجم بیضه و قطر مجاری منی ساز بین گروه های مورد مطالعه اختلاف معنی داری نشان نداد.

میانگین میزان هورمون FSH بین سه گروه اختلاف معنی دار مشاهده نگردید. مقایسه میانگین میزان هورمون لوتئینه کننده در گروه تجربی ( $0/6 \pm 0/09$ ) نسبت به گروه پلاسبو ( $0/39 \pm 0/06$ ) و کنترل ( $0/38 \pm 0/07$ ) افزایش معنی داری مشاهده گردید ( $P < 0/05$ ). مقایسه میانگین میزان هورمون تستوسترون در گروه تجربی ( $1/25 \pm 0/52$ ) نسبت به

جدول ۱: مقایسه میانگین متغیرهای مورد بررسی در گروههای تجربی، پلاسبو و کنترل

نتیجه آزمون	گروه ها			متغیرها (واحد)
	تجربی	پلاسبو	کنترل*	
NS**	۲۳±۱/۱	۲۲±۱/۶	۲۲±۱/۲	وزن حیوان (گرم)
NS	۰/۷±۰/۰۰۴	۰/۷±۰/۰۰۹	۰/۷۳±۰/۰۰۳	وزن بیضه (گرم)
NS	۰/۱۰±۰/۰۰۳	۰/۱۰±۰/۰۰۸	۰/۱۰±۰/۰۰۳	حجم بیضه (سانتی مترمکعب)
NS	۱۸۸/۷۹±۴/۵۲	۱۸۲/۷۲±۴/۳۶	۱۸۰/۱۶۰±۵/۱۰	قطر مجاری منی ساز (میکرومتر)
P < ۰/۰۱	۶۱±۳/۰۹	۴۳±۳/۷۸	۴۴±۳/۴۹	سلولهای اسپرماتو گونیا (تعداد/مجره)
P < ۰/۰۰۱	۶۲±۲/۸۴	۴۵±۲/۵۷	۴۶±۲/۱۰	سلولهای اسپرماتوسیت (تعداد/مجره)
P < ۰/۰۰۱	۱۸۰/۵±۷/۴۵	۱۲۵/۷±۲/۹۶	۱۲۶±۴/۹۰	سلول اسپرماتید (تعداد/مجره)
P < ۰/۰۰۱	۱۳۴±۷/۰۴	۶۰±۸/۳۳	۵۳±۵/۳	سلول اسپرم بالغ (تعداد/مجره)
NS	۱۶±۰/۷۹	۱۴±۱/۴۳	۱۵±۰/۴۷	سلول سرتولی (تعداد/مجره)
P < ۰/۰۱	۲۲±۲/۰۹	۱۵±۱/۴۶	۱۶±۱/۰۱	سلول لیدیک (تعداد/فیلدمیکروسکوپ)
NS	۳۷±۰/۰۳	۰/۴۱±۰/۰۳	۰/۳۹±۰/۲۳	FSH (نانوگرم/میلی لیتر)
P < ۰/۰۵	۰/۶±۰/۰۹	۰/۳۹±۰/۰۰۶	۰/۳۸±۰/۰۰۷	LH (نانوگرم/میلی لیتر)
P < ۰/۰۵	۱/۲۵±۰/۵۲	۰/۳۷±۰/۰۳	۰/۳۶±۰/۰۲	تستوسترون (نانوگرم/میلی لیتر)

\* یافته ها به صورت میانگین ± انحراف معیار نشان داده شده اند.

\*\* NS: Not Significant معنی دار نمی باشد.

معتقدند که با افزایش تستوسترون میزان فعالیت آنابولیک بدن افزایش یافته که در نهایت باعث افزایش وزن بدن وارگان های تناسلی می شود.

### نتیجه گیری:

این تحقیق نشان داد که عصاره آبی ریشه ثعلب با افزایش هورمون تستوسترون و LH باعث افزایش روند اسپرماتوژنیزس و تقویت قوای جنسی می شود که تحقیقات بیشتری برای یافتن مکانیسم ونحوه تاثیر این ماده پیشنهاد می گردد تا اینکه به عنوان یک داروی موثر در افزایش فعالیت جنسی و باروری استفاده نمود.

### تشکر و قدردانی:

این مقاله بر گرفته از پایان نامه دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران می باشد. از پرسنل محترم بخش آناتومی، فیزیولوژی، بخش نگهداری حیوانات دانشگاه علوم پزشکی کاشان، آزمایشگاه مرکزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران و شرکت دارویی باریج اسانس کاشان که ما را در اجرای این پایان نامه یاری نمودند صمیمانه تشکر و قدردانی می گردد.

از عواملی که ثابت شده در افزایش تعداد سلولهای اسپرم و فعالیت جنسی نقش دارد حذف اکسیدانت های داخل مایع منی است. کوئرتستین و اسید فرولیک از مواد شیمیایی هستند که در گیاه ثعلب دیده می شوند و نقش ضد التهابی، ضد سرطانی و آنتی اکسیدانی برای آن در نظر گرفته اند [۱۰، ۲۶-۲۴]. یانگ و همکارانش بیان داشتند که مصرف آنتی اکسیدانت های طبیعی باعث حفظ سلولهای اسپرم در برابر استرس اکسیداتیو ناشی از سلولهای تخریب شده می شوند و در نهایت باروری را بهبود می بخشند [۲۷].

از ترکیب های دیگری که در گیاه ثعلب دیده می شود گلوکومانان است که میزان آن در گونه های مختلف بین ۷ الی ۶۱ درصد مشاهده شده است. گلوکومانان یک پلی ساکارید است و انرژی لازم برای تولید اسپرم در مجاری منی ساز را تامین می کند. این ماده در کاهش وزن، کنترل قند خون و کاهش کلسترول نقش دارد [۱۲، ۲۸]. عدم افزایش وزن بدن حیوان شاید بخاطر وجود نسبتاً زیاد این ماده در ریشه گیاه ثعلب یا زمان کوتاه دوره آزمایش باشد. بر خلاف نتایج این مطالعه، دیگران گزارش داده اند که مصرف این گیاه باعث افزایش وزن بدن وارگان های تناسلی می شود [۱۶]. آنها

## References:

1. World Health Organization. Laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction. 4<sup>th</sup> ed. Cambridge: Cambridge Univ Press; 1999.
2. Henkel R, Maab G, Bodeker RH, et al. Sperm function and assisted reproduction technology. *Reprod Med Biol* 2005; 4(1): 7-30.
3. Steves SC, Miyaoka R, Agarwal A. An update on the clinical assessment of the infertile male. *Clinics* 2011; 66(4): 691-700.
4. Andersen A, Jensen Tk, Carlsen E, et al. High frequency of suboptimal semen quality in a unselected population of young men. *Human Reprod* 2000; 15(2): 366-72.
5. Zargari A. Medicinal plants. 4<sup>th</sup> vol. Tehran: Tehran Univ Press; 1990: 541-50. (Persian)
6. Bhattarai NK. Some endangered medicinal plant of Nepal. In: Handa, SS, kaul MK (eds). Supplement to cultivation and utilization of medicinal plant. Jammu: Reg Res Lab; 1996: 676-7.
7. Freudenstein J, Rasmussen FN. Sectile pollinia and relationships in the Orchidaceae. *Plant Syst Eval* 1997; 205(3-4): 125-46.
8. Cozzolino S, Widmer A. Orchid diversity: an evolutionary consequence of deception? *Trends Ecol Evol* 2005; 20(9): 487-94.
9. Baronelumaga MR, Cozzolino S, Kocyan A. Exine micromorphology of Orchidinae (Orchidoideae, Orchidaceae): phylogenetic constraints or ecological influences? *Ann Bot* 2006; 98(1): 237-44.
10. Grieve M. A modern herbal (Vol 1, A-H): the medicinal, culinary, cosmetic and economic properties, cultivation and folk-lore of herbs, grasses, fungi, shrubs and trees with their modern scientific uses. New York: Dover Publ INC; 1989: 465.
11. He CN, Wang CL, Guo SX, et al. Study on chemical constituents in herbs of *Anoectochilus raxburgii*. *Zhongguo zhong yao zazhi* 2005; 30(10): 761-3. (Chinese)
12. Tekinsen KK, Guner A. Chemical composition and physicochemical properties of tubera salep produced from some Orchidaceae species. *Food Chem* 2010; 121(2): 468-71.
13. Rojhan MS. Medicinal plants. 3<sup>rd</sup> (eds). Tehran: Khayam Publ; 2002: 535. (Persian)
14. Azam Khan HM. The greatest elixir. Tehran; Res Instit Islam Complement Med; 2009: 535. (Persian)
15. Kaya S, Tekin AR. The effect of salep content on the rheological characteristics of a typical ice-cream mix. *J Food Eng* 2001; 47(1): 59-62.
16. Farhoosh R, Riazi A. A compositional study on two current types of salep in Iran and their rheological properties as a function of concentration and temperature. *Food Hydrocolloids* 2007; 21(3): 261-265.
17. Thakur M, Dixit VK. Aphrodisiac activity of *Dactylorhiza hatagirea* (D. Don) Soo in male Albino rats. *Evid Based Complement Alternat Med* 2007; 4(Suppl 1): 29-31.
18. Thakur M, Chauhan NS, Bhargara S, et al. A comparative study on aphrodisiac activity of some ayurvedic herbs in male albino rats. *Arch Sex Beha* 2009; 38(3): 1009-15.
19. Thakur M, Thompson D, Connellan P, et al. Improvement of penile erection, sperm count and seminal fructose levels in vivo and nitric oxide release in vitro by ayurvedic herbs. *Andrologia* 2011; 43(4): 273-7.
20. Shamloul R. Natural aphrodisiacs. *J Sex Med* 2010; 7(1): 39-49.
21. Melis MR, Argiolas A. Dopamine and sexual behavior. *Neurosci Biobehav Rev* 1995; 19(2): 19-38.
22. Mas M. Neurobiological correlates of masculine sexual behavior. *Neurosci Biobehav Rev* 1995; 19(2): 261-77.
23. Zanolli P, Benelli A, Zavatti M, et al. Improved sexual behavior in male rats treated with a chinese herbal extract: hormonal and neuronal implications. *Asian J Androl* 2008; 1(6): 937-45.
24. Oryan S. Reproduction: a view of biology and medicine. Tehran: Majed Publ; 1994: 203-45. (Persian)
25. Mathew S, Abraham TE. Ferulic acid stabilizes a solution of vitamins C and E doubles its photoprotection of skin. *Phytotherp Res* 2005; 125(4): 826-32.
26. Trejo R. Effect of quercetin on rat testis aerobic glycolysis. *Phisol Phamacol* 1995; 73(11): 1605-15.
27. Yang HS, Han DK, Kim JR, et al. Effect of alpha-tocopherol on cadmium induced – toxicity in rat testis and carcinogenesis. *Korean Med J* 2006; 21(3): 445-51.
28. Machessault Rh. Structural studies on triacetates of mannan and glucomannan carbohydrate. *Polym* 1981; 1(2): 129-38.

## The effect of aqueous extract of Salep Tubers on the structure of testis and sexual hormones in male mice

Faraji Z<sup>1</sup>, Nikzad H<sup>\*2</sup>, Parivar K<sup>3</sup>, Nikzad M<sup>4</sup>

Received: 03/27/2012

Revised: 01/13/2013

Accepted: 01/22/2013

1. Dehkhoda High School, Kashan, Iran
2. Anatomical Sciences Research Center, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran
3. Dept. of Biology, Science & Research Branch of Islamic Azad University, Tehran, Iran
4. School of Medicine, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran

Journal of Jahrom University of Medical Sciences, Vol. 11, No. 1, Spring 2013

J Jahrom Univ Med Sci 2013; 10(4):71-6

### Abstract:

#### Introduction:

Salep tubers have been used in traditional medicine as a drug for improving sexual function and vigor. We did not find sufficient scientific evidence to support it. The present study was designed to evaluate the effect of Salep tuber extract on the structure of testis and sexual hormones in adult male mice.

#### Materials and Methods:

In this experimental study, we used 18 adult male mice (mean age of 4 weeks) and randomly divided them into three groups: the control group did not receive anything, the placebo group received only 200  $\mu$ l deionized water, and the experimental group received 40 mg salep extract/200 $\mu$ l deionized water intraperitoneally for 7 days. Two weeks after the last injection, we took blood sample for biochemical analysis of LH, FSH and Testosterone and removed the testis of animals for histopathological study.

#### Results:

The results showed a significant increase in LH (ng/ml) in the experimental group ( $0.6 \pm 0.09$ ) compared to the placebo ( $0.39 \pm 0.006$ ) and control ( $0.38 \pm 0.007$ ) groups ( $p < 0.05$ ). Also, the level of testosterone hormone (ng/ml) showed a significant difference in the experimental group ( $0.38 \pm 0.52$ ) compared to placebo ( $0.37 \pm 0.03$ ) and control ( $0.36 \pm 0.02$ ) groups ( $P < 0.05$ ). The number of germinal and leydig cells revealed a significant difference in the experimental group compared to the placebo and control groups ( $P < 0.01$ ). Amongst the other parameters, no significant differences were observed in all groups.

#### Conclusion:

Injection of salep tuber extract could significantly be effective on spermatogenesis and concentration of LH and testosterone hormones.

**Keywords:** Plant Extracts, Testis, BALB C Mice

\* Corresponding author, Email: nikzad\_h @kaums.ac.ir