اثر گیاه آب بشقابی بر روند اسپرماتوژنز رت

مهناز حیدری (M.Sc.)[۲،۱]، امیرحسن جمشیدی (Ph.D.)[۳]، شاهین آخوندزاده (M.D.)[۴]، معرفت غفاری‌نوین (M.D., Ph.D.)[۱]، محمدرضا صادقی (Ph.D.)[۱]، محمود قاضی خوانساری (Ph.D.)[۴]، محمدمهدی آخوندی (Ph.D.)[۵،۱]

۱ـ مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی تولید مثل، پژوهشکده فناوری‌های نوین علوم پزشکی جهاد دانشگاهی ـ ابن‌سینا، تهران، ایران.

۲ـ مرکز تحقیقات نانوتکنولوژی زیستی، پژوهشکده فناوری‌های نوین علوم پزشکی جهاد دانشگاهی ـ ابن‌سینا، تهران، ایران.

۳ـ وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی، معاونت دارو و غذا، تهران، ایران.

٤ـ دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی تهران، تهران، ایران.

۵ـ مرکز تحقیقات آنتی بادی منوکلونال، پژوهشکده فناوری‌های نوین علوم پزشکی جهاد دانشگاهی ـ ابن‌سینا، تهران، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: با توجه به حمایت‌های سازمان بهداشت جهانی از حفظ سلامت جامعه و کنترل جمعیت و نیز بهداشت باروری، امروزه استفاده از فرآورده‌های گیاهی به عنوان جانشین یا مکمل داروهای سنتزی ضد بارداری مطرح می‌باشد. گیاه آب بشقابی (Centella Asiatica) گونهٔ با ارزشی است که در طب سنتی از هزاران سال پیش در کشورهای آسیای شرقی، هندوستان و چین به طور سنتی برای درمان بیماری‌های مختلف استفاده شده است. این گیاه در ایران در منطقه تالاب بندرانزلی به صورت وحشی پراکنش دارد و تحقیقاتی در رابطه با تأثیر آن بر سیستم تولید مثلی در مدل آزمایشگاهی انجام نشده است؛ لذا بر این اساس هدف از این مطالعه، بررسی اثرات عصاره تام گیاه آب بشقابی بر روی عملکرد اسپرماتوژنز در رت‌های نر بود.

روش بررسی: ابتدا گیاه از تالاب بندرانزلی جمع‌آوری و به روش پرکولاسیون، عصاره تام آن تهیه شد. سپس موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار ۱۰-۸ هفته و با وزن ۲۵۰g-۲۰۰ به صورت تصادفی انتخاب و به گروه‌های شش‌تایی تقسیم شدند. آنگاه دوزهای *mg/kg* ۱۰۰ و ۸۰، ۵۰، ۱۰ از عصاره، انتخاب و روزانه به مدت ٦۰ روز به صورت خوراکی به رتها داده شد. پس از آخرین دوز دریافتی رت‌های مورد آزمایش، گروه کنترل و شم تشریح شدند. سپس بیضه‌های آنها به دقت جدا شده و به منظور بررسی اثرات احتمالی عصاره بر وزن اندام‌های تولید مثلی طی مدت درمان در گروه‌های مورد مطالعه، کنترل و شم بیضه‌ها وزن شدند. سپس آنالیز پارامترهای اسپرم و بررسی‌های بافت‌شناسی بیضه انجام گرفت. نتایج حاصل با استفاده از نرم افزارهای آماری Pharm, SPSS و آزمون واریانس یک طرفه با سطح معنی‌داری $p<۰/۰۵$ تجزیه و تحلیل آماری شد.

نتایج: نتایج نشان داد که مقدار LD_{50} برای عصاره تام گیاه در رت‌های نر *mg*۵۰۰ با حدود اطمینان ۲/۲-۱/۹ می‌باشد. بر این اساس دوزهای غیرکشنده *mg/kg* ۱۰۰، ۸۰، ۵۰، ۱۰ جهت ارزیابی عملکرد اسپرم و بررسی‌های بافت‌شناسی بیضه در نظر گرفته شد. نتایج تغییرات وزن بدن و بیضه در حیوانات دریافت کننده غلظت‌های مختلف عصاره در مقایسه با گروه کنترل و شم افزایش معنی‌داری را نشان داد. همچنین بررسی‌های بافت‌شناسی، تغییراتی در سیر تکامل اسپرماتوژنز، شامل از بین رفتن اسپرماتوزوئیدها، پرخونی بافت بینابینی در برخی توبول‌های اسپرم‌ساز و نتایج آنالیز اسپرم کاهش معنی‌داری در میزان اسپرم‌های زنده ($p<۰/۰۱$) و متحرک ($p<۰/۰۰۱$) و ذخیره اسپرم در اپیدیدیم ($p<۰/۰۰۱$) نسبت به گروه کنترل و شم نشان داد؛ ولی تغییر در مورفولوژی اسپرم مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج حاصل، به نظر می‌رسد بتوان از این گیاه به عنوان عامل ضد باروری موقت در حیوانات استفاده کرد. نویسندگان مقاله تحقیقات بیشتری را در زمینه بیوشیمیایی و مولکولی اثر این عصاره بر روی سیستم تولید مثلی توصیه می‌کنند تا مسائلی همچون به صرفه بودن اقتصادی و فرمولاسیون مناسب مورد بررسی قرار گیرد.

کلید واژگان: رت، اسپرم، اسپرماتوژنز، LD_{50}، آب بشقابی، پیگشیری از بارداری، باروری.

مسئول مکاتبه: مهناز حیدری، مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی تولید مثل، پژوهشکده فناوری‌های نوین علوم پزشکی جهاددانشگاهی- ابن‌سینا، اوین، دانشگاه شهید بهشتی، صندوق پستی: ۱۷۷-۱۹۸۳۵، تهران، ایران.

پست الکترونیک: mheidari@avesina.ac.ir

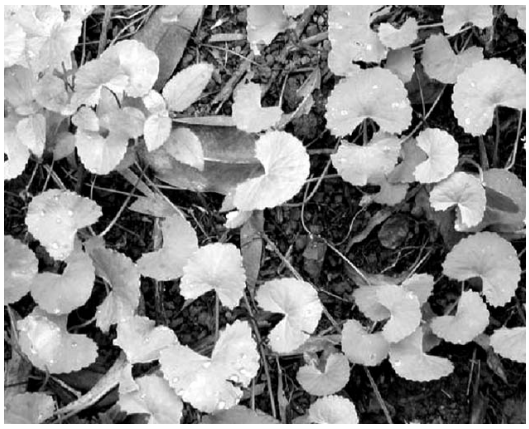
Downloaded from http://www.jri.ir

زمینه و هدف

گیاه آب بشقابی با نام علمی Centellae Asiatica (L.)، Asiatica Gotu Kola, Herba از خانواده چتریان[1] می‌باشد. این گیاه، علفی، پایا، رونده، در محل بندها ریشه‌زا، کرکینه پوش، نیمه‌آبزی، که در حاشیه نمناک و مرطوب اطراف تالابها می‌روید. ساقه‌ها رونده و خزنده، تقریباً در تمامی بندها ریشه‌زا، علفی و برگها دارای آرایش دسته‌ای، مدور و کلیوی شکل است (۳-۱). ترکیبات مختلف این گیاه از سالها پیش شناسایی شده‌است که شامل اسیدهای چرب، آمینو اسیدها، فیتواسترول، تانن، فلاونوئیدها (کوپرستین، کامپفرول)، گلیکوزیدهای مختلف ایندوسنتا لوزید، براهموزید، براهمینوزید، آسیاتیاکوزید، ایزوتانکونزید، تانکونزید، مادکاسیول، اسیدمادکاسسیک، اسید آسیاتیک، اسید سنتویک، اسید آسیاتیسنوتیک و اسیدسنتلیک می‌باشد (۷-٤).

گیاه آب بشقابی در طب سنتی از هزاران سال پیش در کشورهای آسیای شرقی، هندوستان و چین به طور سنتی (عصاره، جوشانده، لوسیون، پماد) برای درمان بیماری‌های پوستی، سیفلیس، روماتیسم، جذام، بیماری‌های مغزی، صرع، به‌عنوان لوسیون صاف کننده مو، تسکین‌دهنده سلول‌های عصبی و مغزی، افزایش‌دهنده هوش، داروی ضدبارداری، برای طولانی شدن عمر و تقویت حافظه، درمان آسیب‌های پوستی ناشی از اثر اشعه، بهبود زخم و سوختگی، بی‌خوابی، پیشگیری از نارسایی وریدها (واریس)، افزایش سطح انرژی، زخم معده با منشا هرپس سیمپلکس، کاهش التهاب پوستی و به عنوان تحریک کننده سنتز کلاژن در ترمیم پوست و پایین آورندهٔ فشار خون استفاده شده است (۸-٤).

در حال حاضر نیز در کشورهای هندوستان و چین از عصاره آن به عنوان داروی ضد بارداری برای انسان



شکل ۱- گیاه آب بشقابی

استفاده می‌شود. مطالعات آزمایشگاهی اندکی در رابطه با اثرات این گیاه بر روی سیستم تولید مثل صورت گرفته است. لذا با توجه به ویژگی‌های این گیاه، در این تحقیق سعی شده است تا ضمن مطالعه اثر این گیاه بر پارامترهای عملکرد اسپرماتوژنز در رت، میزان دوز مؤثر آن نیز بررسی شود.

روش بررسی

جمع‌آوری و شناسایی گیاه: گیاه آب بشقابی از مناطق تالاب بندرانزلی در فصل بهار جمع‌آوری و سپس به آزمایشگاه پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی در تهران منتقل شد و توسط کارشناسان هرباریوم گیاه‌شناسی آن پژوهشکده شناسایی و تأیید گردید. گیاه جمع‌آوری شده در حرارت ۲۵ $^{\circ}C$ و در شرایط سایه خشک گردید.

عصاره گیری گیاه: برای عصاره‌گیری از روش پرکولاسیون استفاده شد. بعد از آسیاب کردن گیاه خشک شده، آن را در داخل ظروف مخصوص ریخته و به آن کلروفرم (Merck, Germany) اتر دوپترولیوم و متانل (Merck, Germany) در مراحل مختلف اضافه‌شد. بعد از ۲٤ ساعت محتویات ظرف سانتریفوژ و رسوبات جدا گردید. با کمک دستگاه حذف حلال در خلا و در دمای ۳۵^{o}C حلال اضافی تبخیر گردید. عصاره‌های

1- Apiaceae

Downloaded from http://www.jri.ir

تغلیظ شده به پلیت‌های جداگانه منتقل و روی بن‌ماری با حرارت ملایم خشک گردیدند (۹).

حیوانات مورد بررسی: در این تحقیق ٦٦ موش صحرایی نر نژاد Wistar با میانگین وزنی ۲۵۰-۲۰۰g و سن ۱۰-۸ هفته (انستیتو پاستور ایران) استفاده شد. رت‌های نر در گروه های ٦ تایی در مرکز تکثیر حیوانات آزمایشگاهی پژوهشکده فناوری‌های نوین علوم پزشکی جهاددانشگاهی- ابن سینا در شرایط دمایی ^{o}C ۲±۲۵ و سیکل روشنایی- تاریکی ۱۲ ساعته و دسترسی آزاد به آب و غذا (کارخانه خوراک دام پارس، ایران) نگهداری شدند. رتها ٢٤ ساعت قبل از انجام آزمایش از لحاظ میزان آب مصرفی طی یک روز تحت نظر قرار گرفتند؛ تا میزان دوز دریافتی عصاره از طریق آب روزانه محاسبه گردد. میزان آب مصرفی هر رت بین ٤٠-٣٠ml در روز بود. همچنین تمام رتها قبل از انجام آزمایش وزن شدند.

تعیین سمیت حاد برای محاسبهٔ LD50[1]: موش‌های صحرایی نر براساس خصوصیات ظاهری و وزن انتخاب شدند. سپس ۳۰ موش صحرایی نر به ٥ گروه ٦ تایی به عنوان حیوانات تحت آزمایش و ۲ گروه ٦ تایی به عنوان کنترل و گروه شم تقسیم شدند و تست سمیت حاد اثر عصاره تام به شرح زیر انجام شد. گروه‌های شش‌تایی از موشها به‌صورت خوراکی دوزهای مختلف عصارهٔ تام (۱۰۰۰و٥٠٠، ۱۰۰، ٥٠، ۱۰mg/kg) را روزانه دریافت کردند و گروه کنترل آب و گروه شم تنها حلال عصاره (Tween 80) (Merck, Germany) را دریافت نمودند. بعد از گذشت ٢٤ ساعت تعداد مرگ و میر در رت‌های نر ثبت شد. دوزهایی که باعث مرگ ٥٠٪ حیوانات در طی ٢٤ ساعت شدند از آزمایش خارج و دوزهایی که هیچگونه اثر کشندگی بر روی رتها نداشتند انتخاب شدند. سپس رتها در تماس با این دوزها قرار گرفتند.

بررسی سمیت تحت حاد: براساس نتایج بدست آمده از سمیت حاد، دوزهای ۱۰۰،۸۰ mg/kg، ٥٠، ۱۰ از عصاره گیاه انتخاب و پس از اضافه کردن به آب آشامیدنی به صورت روزانه به مدت ٦٠ روز از راه خوراکی به گروه‌های ٦ تایی از حیوانات آزمایشگاهی داده شد. گروه کنترل نیز تنها آب آشامیدنی بدون عصاره و حلال و گروه شم نیز آب آشامیدنی به همراه Tween 80 دریافت کردند. در تمام مدت آزمایش روزانه مقدار آب مصرفی و تغییرات وزن آنها کنترل شد تا علاوه بر تعیین مقادیر عصاره مورد مصرف به‌صورت دقیق‌تر روند افزایشی وزن موشها در هر گروه نسبت به گروه کنترل و شم مقایسه گردد. در روز شصتم حیوانات توسط مخلوطی از گزیلازین ۱۰۰mg/Kg (Merck, Germany) و کتامین ۱۰۰mg/Kg (Merck, Germany) بی‌هوش شدند و پس از شکافتن شکم، مجرای وازودفران و انتهای مجرای اپیدیدیم (گودا) جدا شد و داخل محیط کشت با دمای ^{o}C ۳۷ قرار گرفت. موشها توسط گاز CO2 کشته شدند و بیضه‌های آنها را به دقت جدا نموده آنگاه جهت بررسی اثرات احتمالی عصاره بر وزن اندام‌های تولید مثلی در طی مدت درمان در گروه‌های مورد مطالعه، کنترل و شم بیضه‌ها وزن شدند و سپس در محلول فیکساتیو بوآن برای آزمایشات آسیب‌شناسی قرار گرفت.

تعیین درصد تحرک[2]: برای تعیین درصد تحرک در هر گروه و مقایسه آن با گروه شم و کنترل از روش‌هایی که توسط سازمان بهداشت جهانی ارائه شده است با اندکی تغییر استفاده شد. هر دو مجرای وازودفران، در ٥ml محیط کشت Ham's F10 (GIBCO, Germany) با دمای ^{o}C۳۷ قرار داده شد و توسط قیچی کاملاً قطعه قطعه گردید و سپس به مدت ٥ دقیقه در ^{o}C ۳۷ به آرامی تکان داده شد تا اسپرماتوزوئیدهای موجود در آن آزاد و در محلول شناور شوند و توسط

1- Lethal Dose 50

2- Motility

Downloaded from http://www.jri.ir

میکروسکوپ نوری، ابتدا با بزرگنمایی x۱۰ و سپس با بزرگنمایی x٤٠، درصد و تعداد اسپرم‌های دارای تحرک رو به جلو نسبت به کل اسپرم‌های موجود در میدان دید محاسبه گردید.

تعیین درصد قابلیت زیست اسپرم[1]: برای تعیین درصد قابلیت زیست اسپرم از روش‌هایی که توسط سازمان بهداشت جهانی ارائه شده است با اندکی تغییر استفاده شد. تعیین درصد زنده بودن اسپرم حاصل از کاتال‌وفران طبق روش قبل انجام شد. یک قطره از سوسپانسیون اسپرمی تهیه شده حاصل از مجرای وازودفران، به کمک رنگ‌آمیزی ائوزین ــ نگروزین (Sigma, England) تهیه شد و سپس درصد اسپرم‌های زنده نسبت به تعداد کل اسپرم‌های موجود با بزرگنمایی x٤٠ محاسبه گردید.

تعیین میزان ذخیره اسپرم اپیدیدیم: برای تعیین میزان ذخیره اسپرم اپیدیدیم از روش‌های ذکر شده در مقالات و سازمان بهداشت جهانی استفاده شد. بدین صورت که انتهای مجرای اپی‌دیدیم[2] جدا شده درون $10ml$ از Ham's F10 با دمای 37^oC خرد گردید و به مدت ۲۰ دقیقه درون انکوباتور 37^oC قرار داده شد. سپس نمونه‌ها از انکوباتور خارج و قطعات اپیدیدیم از محلول بیرون آورده شد و محلول کاملاً با هم زدن همگن گردید. بعد از تهیه رقت ۱:۱۰ یا ۱:۱۰۰ قطره‌ای از آن روی لام نئوبار قرار گرفت و با میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی x٤٠ تعداد اسپرمها شمارش شد.

مورفولوژی اسپرم: جهت تشخیص مورفولوژی اسپرم طبیعی از غیرطبیعی از روش رنگ‌آمیزی پاپانیکولا (Sigma, England) براساس پروتوکل سازمان بهداشت جهانی استفاده شد.

بررسی بافت شناسی بیضه: در روز شصت و یکم (رت‌های نر) توسط مخلوطی از گزیلازین ($100mg/kg$) و کتامین ($100\ mg/kg$) بی‌هوش شدند. سپس شکم حیوان باز و اندام‌های تولید مثلی شامل بیضه به دقت خارج و وزن شدند. آنگاه حیوانات طبق قانون حمایت از حیوانات کشته شدند. بیضه جدا شده در محلول فیکساتیو بوآن (Merck, Germany) قرار گرفت تا کاملاً فیکس شود. تثبیت بافت به منظور جلوگیری از تغییرات بعدی (اتولیز) ضروری است. مرحله آماده‌سازی که عبارت است از آبگیری با استفاده از اتانل، شفاف‌سازی توسط زایلین[3] (Merck, Germany)، بافت پس از شفاف‌سازی، به حمام پارافین (Merck, Germany) منتقل شد. در این مرحله زایلین از بافت خارج و پارافین جایگزین آن گردید. پس از سرد شدن پارافین، بافت به مقاطعی با ضخامت ٥ میکرون برش داده شد. رنگ‌آمیزی مقاطع با استفاده از رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین ــ ائوزین (Sigma, England) صورت گرفت. لامها پس از آماده شدن مورد بررسی بافت‌شناسی قرار گرفتند.

روش های آماری: تجزیه و تحلیل داده‌ها و محاسبه LC_{50} با استفاده از نرم افزارهای آماری Pharm، SPSS و جهت مقایسه فواصل گروه‌ها از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه، آزمون تعقیبی LSD و جهت مقایسه فواصل زمانی در هر گروه از آزمون ناپارامتری فریدمن استفاده شد. یافته‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شد و مقادیر $p<0/05$ معنی‌دار تلقی گردید.

نتایج

عصاره‌گیری: عصاره‌گیری خشک با نسبت استخراج ١٦٪ تهیه گردید و عصاره تا زمان استفاده در دمای ٤ ℃ نگهداری شد.

تعیین سمیت حاد (LD50) در رت‌های نر: مقدار LD50 برای عصاره تام گیاه در رت‌های نر $500mg$ با حدود اطمینان ۲/۲-۱/۹ به‌دست آمد. براساس نتایج

1- Viability
2- Cauda
3- Xyline

Downloaded from http://www.jri.ir

جدول ۱- تغییرات وزن بدن و بیضه برحسب گرم موش صحرایی نر در فواصل زمانی مختلف پس از ٦٠ روز دریافت عصاره تام آب بشقابی

فواصل زمانی (M±SD) / گروه‌ها بر حسب دوز درمانی	روز اول	روز سی‌ام	روز شصت‌ام	وزن بیضه (g)
گروه کنترل	۲۵۱±۳/۵	۲٦٥/۳±٤/۳	۲۸۱/٥±۱۱/۲	۱/۳۹±۰/۰٥
گروه شم	۲٥۲/۳±٥/٥	۲٦۸/۲±۱۲	۲۷۹/۸±٦/۹	۱/۳۸±۰/۰۲
10 *mg/kg body wt/day*	۲٥۰/۲±٤/۷	۲٦۳/۳±٦/۸	*۲۸۷/۳±۹/۳	۱/۳٥±۰/۰۳
50 *mg/kg body wt/day*	۲٤۹/۷±۲/۷	*۲۷۲/٥±۷/۰٦	***۳۱۹/۲±۱۳/۲	**۱/٥٤±۰/۰۱
80 *mg/kg body wt/day*	۲٥۱/۲±٥/۲	*۲۷۸/۲±۷/۸	***۳۲۷/٥±۷/۹	**۱/٦±۰/۰۲
100 *mg/kg body wt/day*	۲٥۰±٤/۸	*۲۸٤/۸±٦/۲	***۳۳۱/۸±۱۲/۲	**۱/٦۱±۰/۰۲

داده‌ها برحسب میانگین وانحراف معیار در گروه‌های ٦ تایی است. *p<0.05, ** p<0.01, ***p<0.001

حاصل دوزهای غیرکشنده *mg/kg* ۱۰، ٥۰، ۸۰، ۱۰۰ از عصاره برای سمیت تحت حاد در نظر گرفته‌شد.

تغییرات وزن: نتایج تغییرات وزن بدن و بیضه را نشان می‌دهد. حیوانات دریافت‌کننده غلظت‌های مختلف عصاره، دچار افزایش وزنی معنی‌دار شدند (p<۰/۰۰۱، p<۰/۰۱، p<۰/۰٥). در صورتی که در گروه کنترل و شم این تغییرات وزن محسوس نبود (جدول ۱).

آنالیز اسپرم: قابلیت زیست، تعداد، تحرک اسپرم در گروه‌های شم، کنترل و تحت مطالعه را نشان می‌دهد که تعداد اسپرم در گروه‌های تحت مطالعه نسبت به گروه کنترل و شم با افزایش دوز مصرفی کاهش معنی‌دار یافته است. در صورتی که تفاوت خاصی از نظر مورفولوژی بین گروه‌های تحت مطالعه نسبت به گروه کنترل و شم مشاهده نشد (جدول ۲).

بررسی‌های بافت‌شناسی: همانطور که در اشکال ۲و۳ مشاهده می‌شود در بررسی‌های بافت‌شناسی بیضه رت‌های نر گروه مطالعه، کنترل و شم رده‌های مختلف اسپرماتید به صورت خوشه‌ای و اسپرماتوزوئیدها که سر آنها به سمت محیط و دم آنها به سمت مرکز مشاهد می‌گردد. اشکال ٤ تا ٥ مقطعی از دیوارهای مجاری اسپرم‌ساز بیضه گروه تحت آزمایش می‌باشد که گسست لایه اولیه سلول‌های مسئول اسپرماتوژنز از جدار لوله‌ها، تورم و تغییر شکل سلولها که بیانگر مرگ سلولی است در برخی مجاری نشان می‌دهد. که دریافت‌کننده دوزهای مختلف عصاره گیاه آب بشقابی، بیانگر کاهش رده‌های مختلف سلول‌های اسپرم‌ساز و پرخونی در بافت بینابینی در برخی از مجاری اسپرم‌ساز است که نشان‌دهنده تورم در بافت بینابینی می‌باشد. همچنین در برخی مجاری اسپرماتوزوئید در مرکز مجاری اسپرم‌ساز دچار نکروز گردیده‌اند.

جدول ۲- آنالیز اسپرم در رت

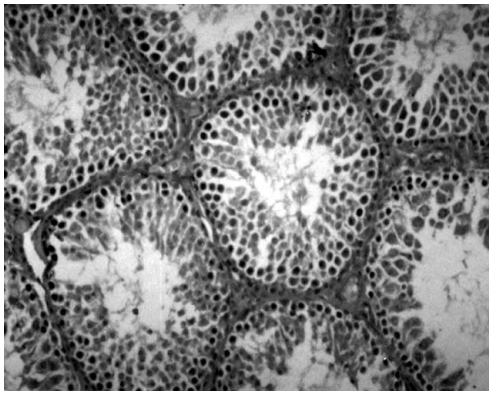
آنالیز اسپرم / گروه‌ها بر حسب دوز درمانی	تعداد اسپرم X ۱۰^٦	درصد تحرک اسپرم	درصد قابلیت زیست اسپرم
گروه کنترل	٥۹/۳±٥/۹	۹٤/۳±۳/۳	۹٦/۲±۱/۷
گروه شم	٥۸/۳±۷/۹	۹۳/۲±۳/۷	۹۳/٥±۳/۰۱
10 *mg/kg body wt/day*	*٤۷/۷±۷/۰۳	**۷۲/۳±٥/٤	**۸۷/۷±٤/۰۳
50 *mg/kg body wt/day*	**٤٤/۲±۳/۸	***٥٤/۲±۳/۹	**۸٤/٥±٤/٤
80 *mg/kg body wt/day*	***۳۹/۷±٦/۲	***٤۷/۷±۲/٤	***٥۱/۷±٥/۰۹
100 *mg/kg body wt/day*	***۳٦/۷±٤/۸	***۳٥/۸±٤/۳	***٤۷/۸±٦/۰۱

داده‌ها بر حسب میانگین و انحراف معیار در گروه‌های ٦ تایی است. *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001

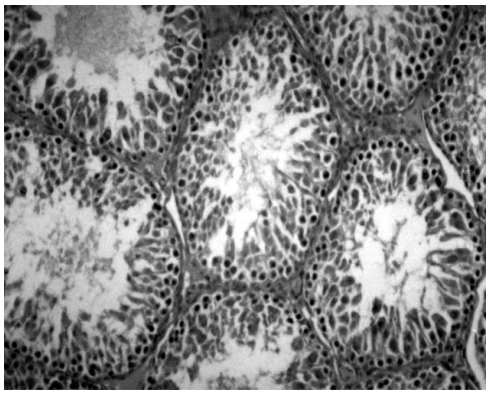
بحث

علیرغم اینکه گیاهان دارویی از قدمت و اعتبار خاصی برخوردار هستند و به عنوان منبع پرارزش در تاریخچه علوم دارویی محسوب می‌شوند، متأسفانه به جای استفاده صحیح علمی و مناسب از اندوخته‌های فوق در کشور ما تنها به برداشت و مصارف عمومی از آنها اکتفا شده است. گیاهان دارویی به دلیل سهولت دسترسی، عوارض جانبی کمتر، سمیت اندک و قیمت

Downloaded from http://www.jri.ir



شکل ۲- مقطع مجاری اسپرم‌ساز در بیضه موش‌های صحرایی نر (گروه کنترل) با میکروسکوپ نوری و عدسی ۱۰۰ بررسی شدند که سلول‌های مختلف اسپرم‌ساز به صورت خوشه‌ای مشاهده می‌گردد.

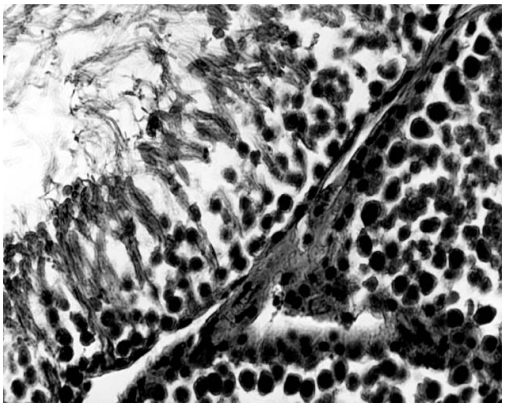


شکل۳- مقطع مجاری اسپرم‌ساز در بیضه موش‌های صحرایی نر (گروه شم) با میکروسکوپ نوری و عدسی ۱۰۰ بررسی شدند که سلول‌های مختلف اسپرم‌ساز به صورت خوشه‌ای مشاهده می‌گردد.

مناسب به عنوان جایگزین‌های شایسته داروهای شیمیایی همواره مورد توجه بوده‌اند. مطالعات نشان داده است که گیاه آب بشقابی در بسیاری از کشورها جهت درمان بسیاری از بیماریها مورد استفاده قرار می‌گیرد (۳). نتایج تحقیق حاضر نشان داد که اثر عصاره گیاه آب بشقابی در گروه‌های تحت آزمایش نسبت به گروه کنترل تغییراتی نشان می‌دهد. هنگامی که عصاره گیاه آب بشقابی با مقادیر *mg/kg* ۱۰، ۵۰، ۸۰ و ۱۰۰ به مدت ٦٠ روز، به رت‌های نر به صورت خوراکی داده شد، کاهش مشخص و معنی‌داری در میزان اسپرماتوزوئیدهای زنده، متحرک و ذخیره اسپرم اپیدیدیم نسبت به گروه کنترل و شم مشاهده شد. این نتایج در حالی بدست آمد که افزایش معنی‌داری در وزن بیضه گروه‌های تحت اثر عصاره نسبت به گروه کنترل بدست آمد، که به نظر می‌رسد بر اثر افزایش اشتهای موش‌های تحت آزمایش (تحت اثر عصاره) یا به دلیل التهاب و پرخونی که در بررسی‌های بافت‌شناسی بیضه باشد.

با توجه به اینکه میزان ذخیره اسپرماتوزوئید در انتهای مجرای اپیدیدیم بیانگر میزان فعالیت بافت بیضه در تولید اسپرماتوزوئید می‌باشد و از آنجائی که میزان ذخیره اسپرماتوزوئید به طور قابل توجهی کاهش یافته است، می‌توان گفت که اثر غلظت‌های مختلف عصاره بر بافت بیضه تأثیر داشته و اسپرماتوژنز را به میزان

شکل ٤- مقطع مجاری اسپرم‌ساز در بیضه موش‌های صحرایی نر (گروه‌های آزمایش) که با میکروسکوپ نوری و عدسی ۱۰۰ بررسی شدند و گسست لایه اولیه سلول‌های جدار لوله‌ها وپرخونی در بافت‌بینابینی مشاهده می‌گردد.



شکل ٥- مقطع دیواره‌های مجاری اسپرم‌ساز در بیضه موش‌های صحرایی نر (گروه‌های آزمایش) که با میکروسکوپ نوری و عدسی ۱۰۰ بررسی شدند و گسست لایه اولیه سلول‌های جدار لوله‌ها وپرخونی در بافت بینابینی مشاهده می‌گردد.

Downloaded from http://www.jri.ir

زیادی کاهش داده است. در نتایج حاصل از میزان درصد تحرک اسپرمها، کاهش شدیدی در تحرک آنها در گروه تحت آزمایش دیده شد ($p<0/001$). با توجه به اینکه اسپرمها قابلیت تحرک خود را در اپیدیدیم کسب می‌کنند به نظر می‌رسد که عصاره گیاه بر روی اپیدیدیم تأثیر داشته است (۱۰). همچنین درصد اسپرم‌های زنده، در گروه تحت آزمایش نسبت به گروه کنترل باز هم کاهش دیده شده ($p<0/01$)، که بیانگر تأثیر عصاره بر روی خود اسپرماتوزوئیدها و روند تکامل آنها در بیضه می‌باشد. اسپرماتوزوئیدهایی که از لوله‌های مولد اسپرماتوزوئید و نیز از قسمت‌های ابتدایی اپیدیدم بدست می‌آیند، کاملاً بی‌حرکت بوده و نمی‌توانند تخمک را بارور کنند. عبور اسپروماتوزوئیدها از اپیدیدیم مدتی طول می‌کشد، در این مدت اسپرمها تحت اثر فرایند تکامل و بلوغ قرار می‌گیرند و قابلیت باروری می‌یابند. رشد و تمایز اسپرمها و همچنین قابلیت بارورسازی آنها وابستگی تام به آندروژن دارد (٤).

مقالهٔ منتشر شده از سوی سازمان جهانی بهداشت (WHO) در سال ۱۹۹۲ نشان داد که عوامل متعددی می‌توانند بر قابلیت زیست اسپرماتوزوئیدها، درصد تحرک و میزان باروری به میزان قابل توجهی تأثیر داشته باشد. مطالعات مشابه دیگری در مورد اثر سمیت سلولی اسپرم و در نهایت اثر ضد باروری عصاره گیاهانی مانند چریش، گوسیپول و سایر گیاهانی که اثرات ضد باروری دارند، انجام شده است که نتایج نشان می‌دهد که عصاره تام گیاه خاصیت اسپرم‌کشی قوی داشته و در نهایت اثر ضد باروری و مانع از لانه‌گزینی می گردد (١٤-١١). همچنین مطالعات بافت‌شناسی در موش صحرایی و انسان نشان داده که در نتیجه مصرف با گوسیپول سلول‌های سرتولی و اسپرماسیت دچار نکروز و تخریب شده‌اند.

بررسی‌های بافت‌شناسی مقاطع تهیه شده از بیضه حیوانات نشان داد عصاره بر مراحل مختلف اسپرماتوژنز در لوله‌های اسپرم‌ساز تاثیر گذاشته و سیر طبیعی اسپرماتوژنز را تغییر می‌دهد. این اختلالات به چندین حالت دیده می‌شود که شامل گسست لایه اولیه سلول‌های اسپرماتوگنی از جدار لوله‌ها، تورم و تغییر شکل این سلولها و اسپرماتوسیتها که بیانگر مرگ سلولی است، می‌باشد. اختلال در تولید اسپرماتیدها، ناشی از بین رفتن اسپرماتوزوئید در مرکز مجاری اسپرم‌ساز و کاهش رده‌های مختلف سلول‌های اسپرم‌ساز است تغییرات فوق در برخی توبولها دیده می‌شود و در کنار آنها توبول‌هایی که مراحل اسپرماتوژنز را به طور طبیعی طی می‌کنند نیز وجود دارد.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج بررسی حاضر به نظر می‌رسد که عصاره مورد استفادهٔ گیاه آب بشقابی از طریق مکانیسم‌هایی مختلف ممکن است بر روی اسپرماتوژنز اثر کرده و آنها را کاهش می‌دهد. البته کاملاً مشخص است که درک و تفهیم کامل مکانیسم عمل این ترکیبات نیاز به مطالعات بیشتری دارد.

تشکر و قدرانی

بدین وسیله از معاونت محترم پژوهش و فناوری جهاددانشگاهی جهت تأمین اعتبار این پژوهش، همکاران محترم پژوهشکده گیاهان دارویی و فرآوردهای طبیعی جهاددانشگاهی، کلیه همکاران محترم پژوهشکده فناوری‌های نوین علوم پزشکی جهاددانشگاهی- ابن‌سینا که صمیمانه در اجرای این طرح با اینجانب همکاری نموده‌اند تشکر و قدردانی می‌شود.

Downloaded from http://www.jri.ir

Reference

1- Rechinger KH. Flora Iranica. (Umbelliferae). Akademische Druck-U. Verlagsanstalt. Graz-Austria. 1987; vol:162;39.

2- Mozaffarian V. The family of umbelliferae in iran (keys and distribution). Research Institute of Forests and Rangelands. Iran. 1983;23-24.

3- World Health Organization. Monographs on Selected Medicinal Plants. WHO. Geneve. 1998;77-85.

4- Schultz V, Hansel R, Tyler V. Rational phytotherapy: a physicians guid to herbal medicine.4th Edition, Springer. Germany. 2000;pp:337-338.

5- Corpoter DO. Nursing herbal medicine handbook. Sprinhouse. Pennsylvania. 2001;pp:213-214.

6- Carpenter D. Professional guide to complementery and alternative therapies. Springhouse, Pensylvania. 2002; pp:239-240.

7- Sastravaha G, Yotnuengnit P, BoonCong P, Sangtherapitikul P. Adjunctive periodontal treatment with centella asiatica and punica granatum extracts, A preliminary study. J Int Acad Periodontal. 2003;5(4): 106-12.

8- Kuhn MA. Herbal theraphy and supplements. Lippincott, New york. 2000;pp:163-66.

۹- کمیته تدوین فارماکوپه گیاهی ایران ــ فارماکوبه گیاهی ایران، وزارت بهداشت درمان و آموزش پزشکی، سال ۸٤، صفحات ۹۹-۱۰۷.

10- Dutta T, Basu UP. Crude extract of Centella asiatica and products derived from its glycosides as oral antifertility agents. Indian J Exp Biol. 1968;6(3):181-2.

11- Gruenwald J, Brendle Jaenicke C. PDR for herbal medicine. 2nd Edition. Medical Economics Co. Montvale New Jersey. 2000;729-31.

12- Jalili A, Jamzad Z. Red data book of plant species of iran. Research institute of forests and rangelands. Iran. 1999;pp:663.

13- Murray MT. The healing power of herbs Rocklin. California, Prima Publishing. 1995;pp:173-83.

14- Garg S, Doncel G, Chabra S, Upadhyay SN, Talwar GP. Synergistic spermicidal activity of neem seed extract, reetha saponins and quinine hydrochloride. Contraception. 1994;50:185-90.

15- Sander FV, Cramer SD. A practicall method of testing the spermicidal action of chemical contraceptives.Hum Fertil. 1998;6:134.

16- Seed J, Chapin RD, Clegg ED. Methods for assessing sperm motility, morphology, and counts in the rat, rabbit, and dog consensus repot. ILSI Risk science Institute Expert working group on sperm evalution. Report Toxicol. 1996;10:237-244.

Downloaded from http://www.jri.ir