

تداخل اثر عصاره آبی گیاه شاهتره و کلرامبوسیل بر اسپرماتوژنز در موش صحرایی

مونا سوری^۱، میترا حیدری نصرآبادی^۲، عبدالحسین شیروی^۳، زهرا حبیبی^۴

چکیده

کلرامبوسیل، داروی آلکیله کننده ای است که در درمان برخی تومورها به کار می رود، این دارو اثرات سمی بر اسپرماتوژنز دارد،

گیاه شاهتره از گیاهان دارویی است که اثرات مفید آن در کاهش اثرات سمی برخی از داروها در کبد نشان داده شده است.

در این مطالعه اثر محافظتی شاهتره بر بافت بیضه و نیز نقش آن در کاهش اثرات سمی کلرامبوسیل بر اسپرماتوژنز مورد بررسی قرار گرفته است در مطالعه ما، از موش های نر نژاد ویستار استفاده شده است. موش ها در ۶ گروه ۷ تایی قرار گرفتند، ۲ گروه کنترل و ۴ گروه تجربی.

گروه های کنترل آب مقطر یا کلرامبوسیل دریافت کردند و گروه های تجربی عصاره آبی شاهتره یا شاهتره و کلرامبوسیل دریافت نمودند.

بررسی های موفولوژیک و هیستولوژیک برای تمام نمونه ها انجام شد. نتایج نشان داد که میانگین قطر کوچک، میانگین تعداد لوله های سمی نیفر، میانگین تعداد اسپرماتیدها و اسپرماتوزوئیدها و سلول های سرتولی بین گروه های کنترل و تجربی اختلاف معنی دار وجود دارد.

به نظرمی رسد مصرف عصاره آبی شاهتره در موش های نژاد ویستار اثر حمایتی بر برخی از پارامترهای اسپرماتوژنز دارد.

کلمات کلیدی: شاهتره، کلوامبوسیل، اسپرماتوژنز و

گیاهان دارویی

مقدمه:

شاهتره گیاهی علفی یکساله بوده درین فاقد غده است و گل ها به رنگ سفید یا صورتی است. میوه شفت مانند، ناشکوف و دانه ها فاقد پوشش اضافی است. (۱ و ۳)

این گیاه تقریباً در تمام نقاط ایران می روید. (۳) قسمت ها مورد استفاده میوه و سرشاخه های گلدار آن می باشد (۴)

طبق بررسی های صورت گرفته در برگها و ساقه گیاه ترکیبات غیر آلکا لوئیدی، پنتا نوکتان، گلوکز، تا نوفوماریک اسید مشخص شده است. قسمت هوایی گیاه حاوی حدود یک درصد آلکالوئید است بیش از ۳۰ عدد آن ها تعیین فرمول شده اند. اکثر این آلکالوئیدها از مشتقات بنزید ایزو کینولین هستند.

مهم ترین این آلکالوئیدها شامل فومارین (پروتوپین) فوماری لین و سیناکتین، کریپتو کاوین، اسکولزین هستند. از دیگر ترکیبات شاهتره می توان فلاوونوئیدها، اسیدهای گیاهی به ویژه اسید فوماریک و موسیلاژ، را نام برد. گیاهان تیره شاه تره دریافت پارانشیمی خود دارای لوله های ترشح کننده غیر شیرابه ای هستند و دارای فرمول CA^2CO_2AG می باشند. (۵ و ۶)

عصاره این گیاه اثر محافظتی انتخابی در مقابل سمیت کبدی ناشی از مصرف بعضی از داروها دارد. (۶)

این عصاره در درمان بسیاری از بیماری های کبدومثانه و به عنوان ضد خارش، ضد سرفه، تب بر، معرق، اشتها آور و... موثر است. (۷)

۱- دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان

۲- عضو هیات علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد پرند

۳- استادیار دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان

۴- دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان



کلرامبوسیل ما ده موثرلوکران و جزوموستا ردهای نیتروژنه بوده و به عنوان یک داروی موثر علیه بیماری های نئوپلازی انسانی بکار می رود. این ماده یک عامل آلکیل کننده دو عملکردی از نوع خردلهای نیتروژنی است. مدارک دال بر وجود اثرنا هنجاری زایی آن در انسان نشاندهنده احتمال عبور کلرامبوسیل از جفت هستند. *CHL* بطور وسیعی در کبد متابولیزه شده و متابولیت آن یعنی فنیل استیک اسید موستارد دارای فعالیت نئوپلازی است اسید آمینو فنل استیک. کلرامبوسیل و متابولیت اصلی آن فوراً در بدن به انواع مشتقات مونوهیدروکسی و دی هیدروکسی تبدیل می گردند. (۸)

در این پژوهش برآنیم که اثر عصاره آبی گیاه شاهتره *Fumaria Parviflora* بربافت بیضه و همچنین تداخل اثر آن با کلرامبوسیل بربافت بیضه مورد بررسی قرار دهیم .

مواد و روش ها

در این پروژه از موش رت نژاد ویستار استفاده شد بدلیل این که پیش از این کسی روی این موضوع کار نکرده بود نمی توانستیم روی انسان این موضوع را بررسی کنیم بنا بر این از مدل حیوانی استفاده شد و همچنین بدلیل قابل دسترس بودن آن و کوچک بودن و این که دوره اسپرما توژنز کوتاه تری دارد ترجیحاً در این پروژه از این حیوان استفاده شد.

حیوانات به ۶ گروه ۷ تایی تقسیم شدند (دو گروه کنترل و چهار گروه تجربی). در شرایط نوری طبیعی و رطوبت محیط قرار گرفتند آب و غذا در اختیار آنها قرار گرفت میانگین وزنی آنها بین ۲۴۳-۲۱۵ بود هر کدام از موش ها پس از توزین در قفس جدا گانه ای قرار داده شدند و برایشان کارت شناسایی تهیه شد که روی قفس ها چسباندن می شد و در آن شماره موش، وزن موش، در صورت لزوم مقدار ماده گاوژ شده، سن و تاریخ های شروع گاوژ یادداشت می شد. بستر آن ها از تراشه چوب و غذایشان از پلیت های آماده شده بود. قفس ها هر ۲ هفته شسته و ضد عفونی می شدند.

گروه کنترل: فقط آب مقطر از طریق گاوژ به مدت ۵ روز دریافت کردند.

گروه کنترل ۲: فقط کلرامبوسیل از طریق گاوژ به مدت ۵ روز دریافت کردند. از قرص کلرامبوسیل با مارک تجاری لوکران ساخت کارخانه *GiaxoSmithKline* استفاده شد. هر قرص حاوی ۲ mg کلرامبوسیل است هر بار ۵ قرص کاملاً پودر شده در سرم فیزیولوژی حل شده و به حجم ۱۰ ml رسانیده می شد و خوب مخلوط می شد در این حال هر ml از این محلول حاوی ۱ mg کلرامبوسیل بود. (غلظت = ۱mg/ml).

گروه تجربی ۱: فقط عصاره آبی شاهتره با غلظت ۱۵۰mg/kg وزن بدن به مدت ۵ روز دریافت کرد ند.

گروه تجربی ۲: عصاره آبی شاهتره با غلظت ۱۵۰mg/kg وزن بدن به همراه ۱۰mg/kg وزن بدن کلرامبوسیل از طریق گاوژ به مدت ۵ روز دریافت کرد ند.

گروه تجربی ۳: عصاره آبی شاهتره با غلظت ۲۵۰mg/kg وزن بدن به همراه ۱۰mg/kg وزن بدن کلرامبوسیل از طریق گاوژ به مدت ۵ روز دریافت کرد ند.

گروه تجربی ۴: عصاره آبی شاهتره با غلظت ۳۵۰mg/kg وزن بدن به همراه ۱۰mg/kg وزن بدن کلرامبوسیل از طریق گاوژ به مدت ۵ روز دریافت کرد ند. علت ۱۰mg/kg وزن بدن کلرامبوسیل مطالعات قبلی است که نشان داده است که این دوز اثر تخریب بربافت بیضه به جای می گذارد.

بررسی های مرفولوژیک و هیستولوژیک

۱۵ روز پس از اولین گاوژ حیوانات بوسیله کلروفرم بیهوش شدند و پس از تشریح بیضه ها را که در قسمت تحتانی بدن موش قرار دارند خارج کرده و توسط سرم فیزیولوژی شستشو داده شد، با استفاده از یک استوانه مدرج ۱۰ml که به مقدار ۴cc سرم فیزیولوژی در آن ریخته شده بود حجم بیضه ها اندازه گیری شدند (هر چقدر سرم در لوله بالا آمد حجم بیضه محسوب می شود).

و بعد بوسیله کولیس قطر کوچک و بزرگ بیضه ها اندازه گیری شدند، سپس بیضه ها در محلول فیکساتور بوئن قرار داده شدند حداقل ۲۴ ساعت در بوئن باقی مانده بعد از ۲۴ ساعت بیضه ها را از درون محلول بوئن بیرون آورده مراحل



شاهتره و کلرامبوسیل تغییر معنی داری در قطر بزرگ و حجم بیضه ایجاد نکرده است ولی افزایش معنی داری در گروه‌های تجربی ۱ تا ۴ در قطر کوچک بیضه ایجاد شده است ولی ($P < 0.05$) در گروه کنترل ۲ نیز کاهش قطر معنی دار است.

نتایج بررسی‌های هیستولوژیک

میانگین قطر لوله‌های سمی نیردر ۶ گروه اختلاف معنی داری وجود ندارد، از لحاظ تعداد لوله‌ها، بین گروه‌های کنترل و تجربی ۱ اختلاف معنی داری وجود دارد.

از لحاظ تعداد سلول‌های سرتولی، بین گروه‌های کنترل و تجربی اختلاف معنی دار وجود دارد و این اختلاف بین گروه‌های کنترل و گروه‌های تجربی ۳، ۴ است.

از لحاظ میانگین تعداد اسپرماتوگونی B, A بین گروه‌های کنترل و تجربی اختلاف معنی داری وجود ندارد.

از لحاظ تعداد اسپرما توسیت اولیه، بین میانگین گروه‌های کنترل و میانگین گروه‌های تجربی اختلاف معنی داری وجود ندارد ولی بین میانگین گروه‌های کنترل و گروه تجربی ۱، این اختلاف معنی دار است.

از لحاظ تعداد اسپرماتوسیت ثانویه، اختلاف معنی دار در ۶ گروه مشاهده نشد.

از لحاظ تعداد اسپرماتیدها، اختلاف بین گروه‌های کنترل و تجربی معنی دار است و این اختلاف بین کنترل‌ها و گروه ۴ است.

از لحاظ اسپرماتوزوئیدها، نیز وضع به همین منوال است.

آبگیری با درصدهای تصاعدی اتا نول انجام شد. بعد مراحل شفاف سازی با استفاده از الکل مطلق و تولوئن انجام گردید. بعد از مرحله شفاف سازی مرحله قالب گیری انجام شد، قالب به مدت ۲۴-۴۸ ساعت درون ظرفی که آغشته به گلیسرین است در یخچال نگاه داری شد. سپس قالب‌ها بوسیله میکروتوم با ضخامت ۷ میکرون برش داده شد. پس از آن نمونه‌ها رنگ آمیزی شدند. بعد بوسیله میکروسکوپ نوری و عدسی مشبک سلول‌های اجدادی اسپرم (اسپرماتوگونی نوع A، اسپرماتوگونی نوع B، اسپرماتوسیت نوع اولیه، اسپرماتوسیت نوع ثانویه، اسپرماتید، اسپرماتوزوآ، سلول‌های سرتولی، قطر لوله‌های سمی نیر، تعداد لوله‌های سمی نیر) را شمارش کردیم.

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS 11.5 و آزمون واریانس یک طرفه (One Way Anova) و به دنبال آن آزمون تکمیلی Tukey انجام گرفت.

نتایج

مقادیر میانگین همراه با انحراف معیار قطرهای بیضه‌ها، حجم بیضه‌ها، تعداد سلول اسپرماتوگونی B, A، اسپرما توسیت اولیه، اسپرما توسیت ثانویه، اسپرماتید، اسپرما توزوآ، سلول‌های سرتولی، قطر لوله‌های سمی نیر و تعداد لوله‌های سمی نیر در جدول ۱ و نمودارهای ۱ تا ۱۲ آورده شده است.

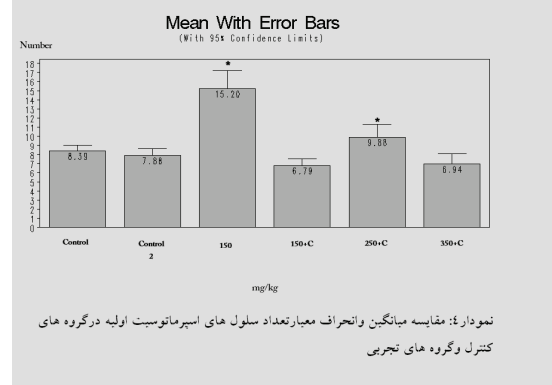
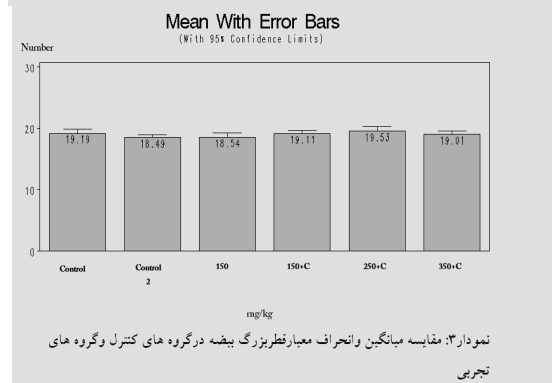
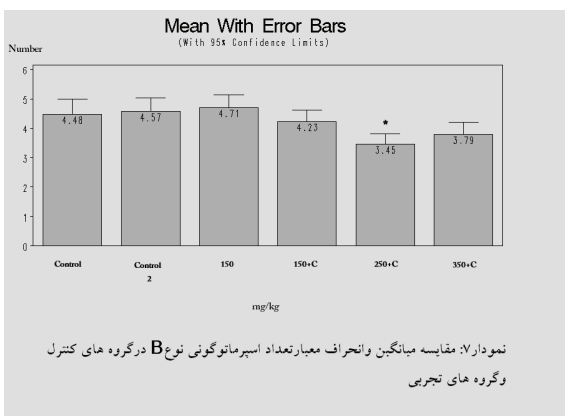
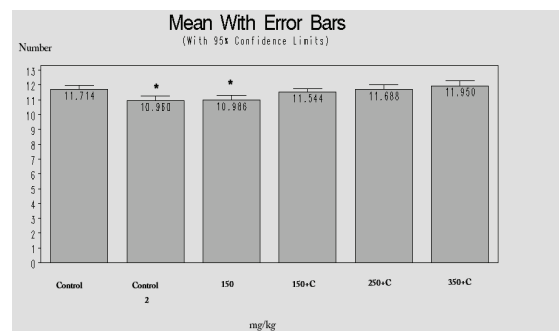
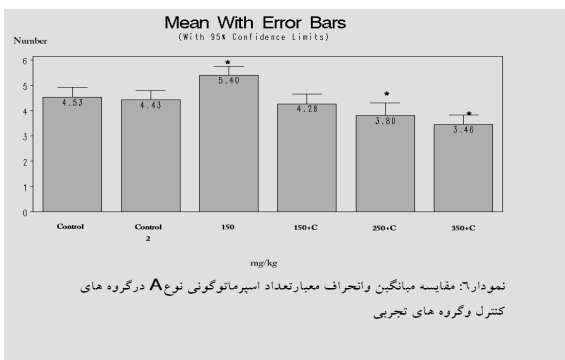
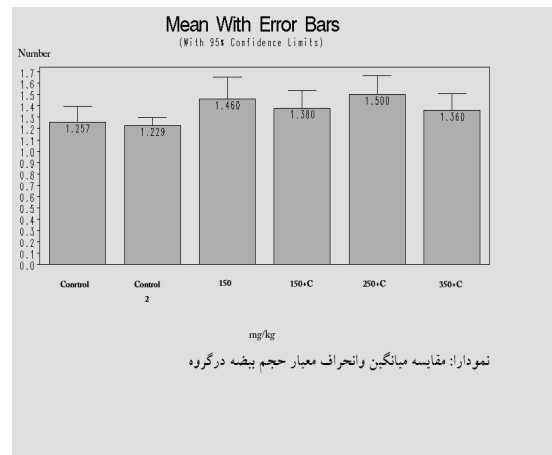
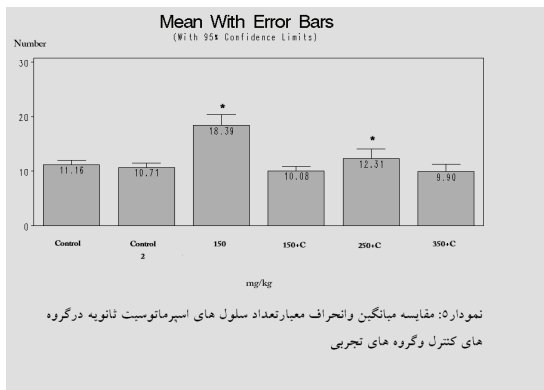
نتایج بررسی‌های مورفومتریک

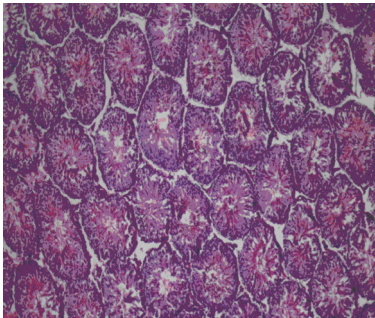
مقایسه حجم و قطر کوچک و بزرگ بیضه بین گروه‌های تجربی و گروه کنترل نشان می‌دهد که دریافت عصاره آبی

جدول شماره ۱: میانگین و انحراف معیار موارد بررسی شده در گروه های کنترل و تجربی

گروه	کنترل	کنترل ۲	تجربی ۱	تجربی ۲	تجربی ۳	تجربی ۴
حجم بیضه	1/25±0/15	1/22±0/07	1/46±0/26	1/38±0/22	1/50±0/35	1/36±0/20
قطر کوچک بیضه	11/71±0/30	10/96±0/42	10/98±0/42	11/54±0/30	11/68±0/43	11/95±0/48
قطر بزرگ بیضه	19/19±0/68	18/48±0/49	18/53±0/93	19/11±0/73	19/52±1/10	19/00±0/83
اسپرماتوگونی A	4/53±1/76	4/46±1/73	5/73±1/87	۷۲/۱±۲۵/۴	۱۳/۲±۶۲/۳	۰۲/۲±۴۶/۳
اسپرماتوگونی B	4/47±2/31	4/57±2/29	۳۶/۲±۷۱/۴	۴۴/۲±۲۲/۴	۹۸/۱±۴۵/۳	۲۷/۲±۷۹/۳
اسپرماتوسیت اولیه	8/39±2/89	7/88±3/34	15/20±8/98	6/79±3/33	9/88±6/32	6/94±5/15
اسپرماتوسیت ثانویه	11/16±3/65	10/85±3/50	20/86±9/43	9/73±3/05	15/35±9/21	9/90±7/64
اسپرماتید	19/54±7/67	23/81±26/52	24/11±8/48	20/61±7/75	12/49±6/31	8/86±4/94
اسپرماتوزوآ	18/16±8/75	19/47±7/95	26/15±9/81	20/37±8/03	13/82±7/24	8/65±6/30
سلول سرتولی	2/79±1/51	3/16±1/39	3/24±1/69	۴۷/۱±۰۸/۳	۳۵/۲±۴۹/۴	۲۱/۲±۳۷/۴
قطر لوله های سمی نیفر	69/64±11/20	69/87±10/70	70/84±10/22	71/23±10/85	69/18±11/45	69/76±10/38
تعداد لوله های سمی نیفر	3/03±0/59	3/54±0/89	6/56±2/19	4/46±1/88	3/65±0/47	4/00±0/82

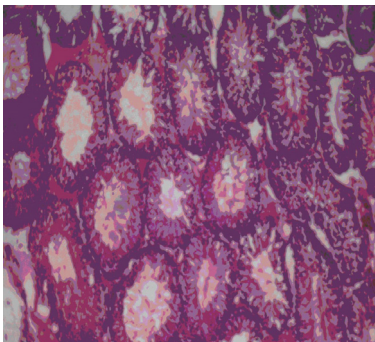
نتایج بصورت MEAN ±SD شده است.





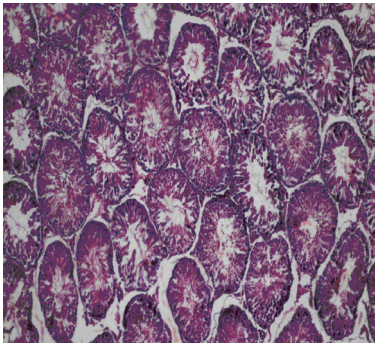
تصویر ۱: قسمتی از لوله های منی ساز بافت بیضه موش رت

نردر گروه کنترل (بزرگنمایی عدسی ۱۰)



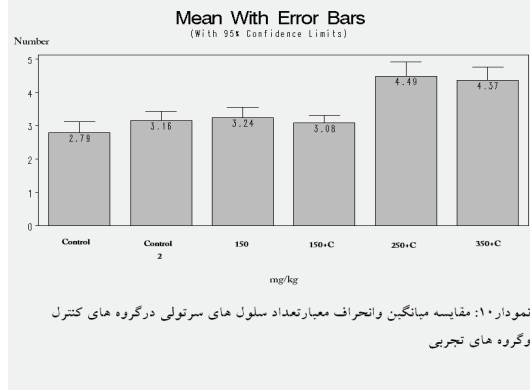
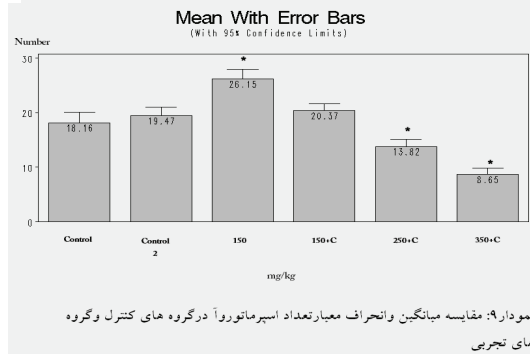
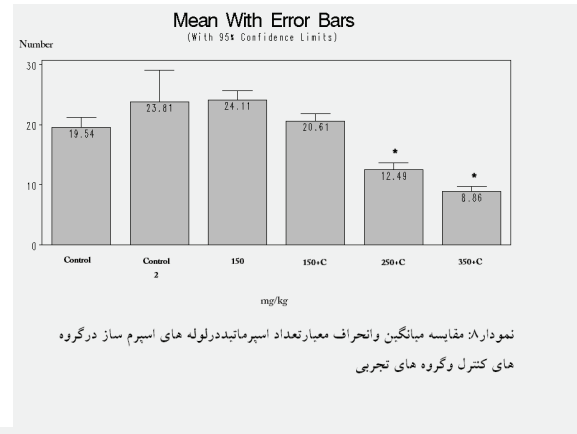
تصویر ۲: قسمتی از لوله های منی ساز بافت بیضه موش رت

نردر گروه کنترل ۲ (بزرگنمایی عدسی ۱۰)



تصویر ۳: قسمتی از لوله های منی ساز بافت بیضه موش رت

نردر گروه تجربی ۱ (بزرگنمایی عدسی ۱۰)



شاهتره دارای موادی نظیر مواد رزینی، املاح معدنی، موسیلاژ، اسید فوماریک و آلکالوئیدی است. (۱۰، ۱۱)

نشان داده شده است که نمونه *F. parviflora* این گیاه دارای فعالیت آنتی‌کولین استرازی (۱۲)، ضد التهابی و ضد درد است. (۱۳)

اثر محافظت از مسمومیت کبدی آن نیز نشان داده شده است. (۱۴) با توجه به اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضد سمیت کبدی آن ما در این بررسی بر آن شدید که بینیم، شاهتره بر بافت بیضه و نیز کاهش اثرات سمی کلرامبوسیل چه نقشی دارد.

دو گروه کنترل و چهار گروه تجربی به این منظور در نظر گرفته شدند. همانطور که در بخش نتایج آورده شده است استفاده از شاهتره در قطر بزرگ و حجم بیضه‌ها تغییر معنی‌داری ایجاد نکرده است ولی تغییر در قطر کوچک بیضه محسوس است.

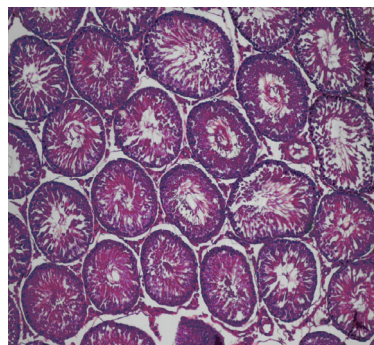
از لحاظ میانگین قطر لوله‌های سمی نیفرین گروه‌های کنترل و تجربی اختلاف معنی‌داریست ولی از لحاظ تعداد، در گروه تجربی ۱ نسبت به سایر گروه‌ها اختلاف معنی‌داری وجود دارد.

از لحاظ تعداد سلول‌های سرتولی، اختلاف بین گروه‌های کنترل و گروه‌های تجربی معنی‌دار است و این اختلاف بین گروه‌های کنترل و گروه‌های ۳، ۴ تجربی است.

از لحاظ تعداد اسپرماتوگونی‌های اولیه و ثانویه نیز وضع تقریباً به همین منوال است. ولی از لحاظ اسپرماتیدها و اسپرماتوزوئیدها اختلاف بین گروه‌های کنترل و تجربی معنی‌دار است.

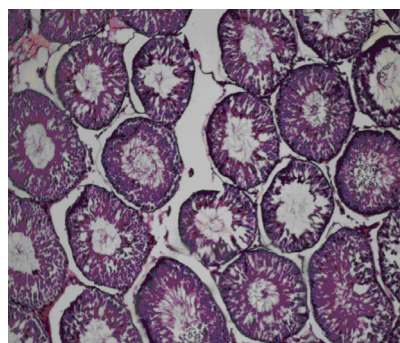
نتیجه‌گیری

با عنایت به نتایج فوق، ظاهراً شاهتره اثر حمایتی بر بافت بیضه و در مقابل اثرات سمی کلرامبوسیل دارد ولی این اثر بیضه در مراحل آخری اسپرماتوزنز (اسپرمیوژنز) واضح تر است.



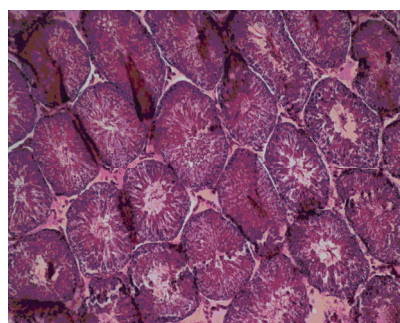
تصویر ۴: قسمتی از لوله‌های منی ساز بافت بیضه موش رت

در گروه تجربی ۲ (بزرگنمایی عدسی ۱۰)



تصویر ۵: قسمتی از لوله‌های منی ساز بافت بیضه موش رت

نردر گروه تجربی ۳ (بزرگنمایی عدسی ۱۰)



تصویر ۶: قسمتی از لوله‌های منی ساز بافت بیضه موش رت

نردر گروه تجربی ۴ (بزرگنمایی عدسی ۱۰)

بحث و نتیجه‌گیری

نشان داده شده است که کلرامبوسیل جزو عوامل آلکیل کننده و از دسته موستاردهای نیتروژنه است. کلرامبوسیل بطور وسیعی در کبد متابولیزه شده و متابولیت آن یعنی فنیل استیک اسید موستارد دارای فعالیت نئوپلازی است نشان داده شده است که صدمات ناشی از کلرامبوسیل در بیضه‌ها چند گانه است (کاهش تعداد اسپرم، اسپرم ناقص) (۹)



منابع

- 8- Deng M and et al. Effectes of protopine on proliferation of cultred rabbit aortic vascular smooth muscle cells. Chin pharmacol. Bul 1. 17,306-309
- 9- Gen Pharmacol (1996). Sep; 27 (6) pp: 979-83
- 10- haq , L.U and et al. (1993),. Medicinal plants of mansehra. Hmdard medicus.pp: 36 , 74 – 79
- 11- Member of The Scientific Committee.(1996).The British Herbal Medicine.p: 95
- 12- Suaur and et al .(2002). Direct determination of alkoioid contents in fumaria species of GC- MS Phytochen Anal pp: 363-367
- 13- Shafizadeh . f .(2002). Popular medicinal plants of lorestan . Tehran hagan publication. pp:128
- 14- Zargar A.(1989).Medicinal plants. vol . 2 .Tehran university Publication. pp:166-171
- 1- آخوندزاده وهمکاران، دایره المعارف گیاهان دارویی ایران، جلد اول، انتشارات پژوهشکده گیاهان دارویی، تهران، ایران ۱۳۷۹
- 2- (داروهای ژنریک ایران). (1369). انتشارات داروپخش
- 3- قهرمان ا. (1373). کورموفیتهای ایران (سیستماتیک گیاهی). جلد دوم. مرکز نشر دانشگاهی. صفحه ۱۰۰
- 4- کاتسونگ و همکاران. (2001). مـرورـی برفارماکولوژی ترجمه علی رضا منجمی وهمکاران. تهران. ایران . انتشارات تیمورزاده. صفحه 711-719.
- 5- مظفریان و. (1375). فرهنگ نامهای گیاهان ایران . فرهنگ معاصر صفحه ۲۳۸.
- 6-Andrew C.(1996). The Encyclopedia of Medicinal Plants.p:211 6-
- 7- Carol a and et al.(1995). Danid philipson Herbal Medicines . p:127