Veterinary Clinical Pathology, Vol.14, No. 56, Winter 2021

"Research article" **DOI: 10.30495/JVCP.2021.1910961.1283**

The effect of hydroalcoholic extract of *Scrophularia striata* on testicular tissue changes in hypercholesterolemic rats

Mahdavi, A.[1] Bahrami, A.M.[2*] Yousefizadeh, Sh.[3]

1- Graduate of Faculty of Paramedical Sciences, Ilam University, Ilam, Iran.
2- Associate Professor, Department of Histology and Microbiology, School of Paramedical Sciences, Ilam University, Ilam, Iran.
3- Assistant Professor, Department of Laboratory and Clinical Sciences, School of Paramedical Sciences, Ilam University, Ilam, Iran.
[*]Corresponding author's email: am.bahrami@ilam.ac.ir
(Received: 2020/9/30 Accepted: 2021/1/27)

Abstract

High cholesterol causes infertility in males by producing free radicals and creating oxidative stress.This study aimed to investigate the effect of *Scrophularia striata* extract on histomorphometric changes of testicular tissue in rats fed a high-calorie diet. In this experimental study, 32 male adult Wistar rats were assigned into 4 groups including control, diet induced hypercholesterolemia (DIH), DIH+ *Scrophularia striata* (400 mg/kg) and *Scrophularia striata* group: The animals in the latter group first received a normal diet for 4 weeks and then were fed with the extract of *Scrophularia striata* (400 mg /kg) for 4 weeks. At the end of the experimental period, the rats were first anesthetized with a ketamine-xylazine combination, and after taking cardiac blood samples to measure blood cholesterol levels, they were subsequently euthanized and the right testicles of all animals were isolated and transferred to a tissue laboratory for tissue smear preparation and histomorphometric study. The results showed that after consuming a high-calorie diet in the DIH group, body weight, testicular weight, and blood cholesterol level increased significantly compared to the control group (p<0.05). Also consuming a high-fat diet reduces the number of spermatogonia, primary spermatocytes, and spermatozoid in the DIH groups. After consuming *Scrophularia striata*, a relative increase in the number of the above cells was observed in the DIH + *Scrophularia striata* group (p<0.05). Therefore, oral consumption of *Scrophularia striata* following a high-calorie diet can have a protective effect.

Conflict of interest: None declared.
Keywords: Hypercholesterolemia, Rat, *Scrophularia striata*, Testicle.

"مقاله پژوهشی" DOI: 10.30495/JVCP.2021.1910961.1283

تاثیر عصاره هیدروالکلی گیاه تشنه‌داری (*Scrophularia striata*) بر تغییرات بافتی بیضه در موش صحرایی هایپرکلسترولمیک

ایوب مهدوی[۱]، علی‌محمد بهرامی[۲*]، شهناز یوسفی‌زاده[۳]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد بافت‌شناسی، دانشکده پیرادامپزشکی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران.
۲- دانشیار گروه بافت‌شناسی و میکروب‌شناسی، دانشکده پیرادامپزشکی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران.
۳- استادیار گروه علوم آزمایشگاهی و درمانگاهی، دانشکده پیرادامپزشکی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران.
*نویسنده مسئول مکاتبات: am.bahrami@ilam.ac.ir

(دریافت مقاله: ۹۹/۷/۹ پذیرش نهایی: ۹۹/۱۱/۸)

چکیده

کلسترول بالا با تولید رادیکال‌های آزاد و ایجاد تنش اکسیداتیو باعث ناباروری در جنس نر می‌شود. هدف از انجام مطالعه حاضر، بررسی اثرات عصاره گیاه تشنه‌داری (*Scrophularia striata*) بر تغییرات هیستومورفومتری بافت بیضه در موش‌های صحرائی تغذیه شده با رژیم پرکالری بود. بدین منظور، تعداد ۳۲ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار به ٤ گروه شاهد (جیره معمول)، هایپرکلسترولمیک (۸ هفته جیره پرچرب)، هایپرکلسترولمیک+عصاره تشنه‌داری (٤ هفته جیره پرچرب+ ٤ هفته جیره پرچرب همراه با عصاره تشنه‌داری به‌میزان ٤۰۰mg/kg) و گروه عصاره تشنه‌داری (٤ هفته جیره معمول + ٤ هفته عصاره تشنه‌داری به‌میزان ٤۰۰mg/kg) تقسیم شدند. در پایان دوره، موش‌ها با ترکیب کتامین-زایلازین بیهوش شدند و پس اخذ خون از قلب، جهت اندازه‌گیری سطح کلسترول سرم خون، آسان‌کشی شده و بیضه راست جهت تهیه لام بافتی و مطالعه هیستومورفومتری به آزمایشگاه بافت‌شناسی منتقل گردید. یافته‌ها مشخص نمود که پس از مصرف جیره پرکالری درگروه هایپرکلسترولمیک، وزن بدن، وزن بیضه و سطح کلسترول خون نسبت به گروه شاهد، افزایش معنی‌داری پیدا کرده‌است (p<۰/۰۵). همچنین شاخص‌های فوق در گروه هایپرکلسترولمیک + عصاره تشنه‌داری، نسبت به گروه هایپرکلسترولمیک، کاهش معنی‌داری را نشان داد (p<۰/۰۵). ازطرف دیگر، مصرف جیره پرچرب باعث کاهش تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت اولیه، اسپرماتید و اسپرماتوزوئید در گروه هایپرکلسترولمیک شد که پس از مصرف عصاره مذکور، افزایش نسبی در تعداد سلول‌های فوق در گروه هایپرکلسترولمیک+ عصاره تشنه‌داری مشاهده گردید (p<۰/۰۵). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که مصرف عصاره گیاه تشنه‌داری، به دنبال جیره پرکالری، می‌تواند در بافت بیضه موش صحرائی، اثرات محافظتی داشته باشد.

کلیدواژه‌ها: تشنه‌داری، بیضه، موش‌صحرائی، هایپرکلسترولمی.

مقدمه

یکی از مشکلات شایع پزشکی در دنیا ناباروری است و حدود ۱۵-۱۰ درصد از زوج‌ها به نوعی درگیر مشکل مذکور می‌باشند. علت ناباروری زوج‌ها در ۳۰ درصد موارد مربوط به جنس نر و در ۵۰-۴۰ درصد موارد، مربوط به جنس ماده می‌باشد (Sainath *et al*., 2011).

مطالعات متعدد نشان می‌دهد که کیفیت اسپرم از یک سال به سال بعد کاهش می‌یابد (John, 2013)، و عوامل متعددی از جمله تاثیرات محیطی، اختلالات متابولیکی و پلی‌مورفیسم‌های ژنتیکی با کاهش توانایی تولیدمثل در مردان همراه است (Cooper and Handelsman, 2013)، هر چند، نشان داده شده است که چاقی نیز در این پدیده نقش دارد (Ramlau-Hansen *et al*., 2010; Jensen *et al*., 2013; Dupont *et al*., 2013). مطالعات قبلی بر ارتباط بین شاخص توده بدنی (body mass index; BMI) و کیفیت مایع منی اشاره دارد (Hammoud *et al*., 2008, Ramlau-Hansen *et al*., 2010). مصرف بیش از اندازه مواد غذایی با چربی بالا می‌تواند باعث ایجاد عوامل خطرآفرین و مشکلات بسیاری نظیر نارسایی در سوخت و ساز بدن، دیابت، بیماری‌های قلبی-عروقی و نیز باعث اختلال در تولید مثل در هر دو جنس نر و ماده شود که در جنس نر با کاهش مقدار اسپرم همراه می‌باشد (Magnusdottir *et* and Jensen *et al*., 2004 *al*., 2005). همچنین گزارش شده‌است که چاقی با تاثیر بر اسپرماتوژنز، باعث کاهش کیفیت اسپرم شده و باروری را تحت تاثیر قرار می‌دهد (Jensen *et al*., 2013). بروز بالای ناباروری هم در ارتباط با اختلالات متابولیکی و بی‌نظمی هورمونی در مردان چاق تایید شده‌است (Hammoud *et al*., 2008).

هرچند که کلسترول یک ماده ضروری در تشکیل غشا سلول می‌باشد، اما بالا بودن میزان آن در بدن می‌تواند همواره به عنوان یک عامل خطرساز عمل کند (Davis *et al*., 2001; Mosallanejad *et al*., 2016). از طرف دیگر، تعداد زیادی از داروهای شیمیایی هم که در حال حاضر در درمان هایپرلیپیدمی مصرف می‌شوند، دارای اثرات جانبی زیان‌بار می‌باشند (Kianbakht *et al*., 2013)، به همین دلیل بسیاری از بیماران در برابر درمان با داروهای شیمیایی مقاومت می‌کنند. اما استفاده از داروهای گیاهی در حد زیادی به وسیله بیماران استقبال می‌شود و روش موثری در پیشگیری و درمان این عارضه به حساب می‌آید، زیرا عوارض جانبی این داروها نسبت به داروهای شیمیایی به مراتب کمتر می‌باشد (Lakhan and Vieira, 2010). براین اساس، امروزه علاوه بر درمان‌های شیمیایی از روش‌های سنتی نیز برای درمان ناباروری مردان استفاده می‌شود. در سال‌های اخیر در رابطه با اثر گیاهان دارویی بر تولیدمثل و ناباروری، مطالعات زیادی انجام شده و اطلاعات ارزشمندی از این تحقیقات به دست آمده‌است (Fridiler *et al*., 2002 ; Ashamu *et al*., 2010).

گیاهان دارویی با توجه به جایگاه ویژه‌ای که در درمان بیماری‌ها و بهداشت و سلامت جامعه پیدا کرده‌اند، مورد توجه مراکز علمی و پژوهش‌گران قرار گرفته‌اند. گیاه تشنه‌داری (*Scrophularia striata*) هم که از مهم‌ترین گیاهان دارویی خانواده گل میمونی است (Attar, 2006)، در ایران بیشتر در مناطق سردسیر و

کوهستانی زاگرس رشد می‌کند. بررسی‌های گذشته نشان می‌دهد که گیاه تشنه‌داری به دلیل داشتن ترکیبات مفید، دارای خواص ضد التهابی و نیز خواص ترمیمی در آسیب‌های بافتی می‌باشد (Park *et al.*, 2009; Ferdowsi *el al.*, 2017). ریشه و قسمت هوایی گیاه مذکور دارای خواص آنتی‌اکسیدانی است که این توانایی به دلیل وجود ترکیباتی مانند فلاونوئیدها، منوترپن‌ها و کومارین‌ها در عصاره این گیاه می‌باشد (Safavi *et al.*, 2012). گزارش شده بیشتر گیاهانی که از نظر آنتی-اکسیدانی قوی هستند، تعداد و تحرک اسپرم را افزایش داده و ناهنجاری شکلی اسپرم را کاهش می‌دهند (Adesanya *et al.*, 2007; Oluyemi *et al.*, 2007).

با توجه به مطالب ذکر شده و از آن‌جایی که گیاه تشنه‌داری دارای ترکیبات آنتی‌اکسیدانی قوی می‌باشد، مطالعهٔ حاضر با هدف بررسی تأثیر گیاه تشنه‌داری بر روند اسپرماتوژنز و محافظت از بافت بیضه در موش‌های صحرایی هایپرکلسترولمی شده، انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر از نوع تجربی مداخله‌گر آزمایشگاهی بوده که برای انجام آن، تعداد ۳۲ سر موش صحرایی نر بالغ ۸هفته‌ای نژاد ویستار با محدوده وزنی ۱۰±۲۰۰ گرم از مرکز تکثیر و پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز خریداری و به خانه حیوانات دانشکده پیرادامپزشکی دانشگاه ایلام منتقل شدند. تمامی موش‌ها در این مطالعه که به مدت ۸ هفته به طول انجامید در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و دمای ۲±۲۵ درجه سلسیوس نگه‌داری و با غذای تجاری پلت شده تغذیه شده و به طور آزاد به آب دسترسی داشتند. پروتکل این مطالعه مطابق اصول اخلاقی مورد تایید کمیته‌های بین‌المللی حمایت از حقوق حیوانات آزمایشگاهی طراحی شد. به منظور سازش با شرایط محیطی، حیوانات به مدت ۱ هفته نگهداری و سپس به طور اتفاقی به ٤ گروه ۸ تایی به شرح زیر تقسیم شدند:

گروه شاهد: موش‌های این گروه بدون دریافت دارو با شرایط یکسان محیطی و تغذیه معمولی همزمان با سایر گروه‌ها نگه‌داری شدند.

گروه هایپرکلسترولمی: به حیوانات این گروه به مدت ٤ هفته جیره پرچرب (جدول ۱) داده شد (Fatemi tabatabaei *et al.*, 2012) و پس از اطمینان از هایپرکلسترولمی شدن توسط اندازه‌گیری سطح کلسترول خون به روش کالریمتری و کیت تشخیص کمی کلسترول (پارس آزمون، ایران) به علت داشتن اختلاف معنی‌دار با گروه شاهد، هایپرکلسترولمی در موش‌ها تایید شد و به مدت ٤ هفته دیگر با جیره پرچرب تغذیه شدند (در مجموع ۸ هفته).

جدول ۱- ترکیب و انرژی جیره پرچرب مصرفی

ترکیبات	مقدار (گرم)	انرژی (کیلوکالری)*
غذای پودرشده موش صحرائی	۳٦٥	**۱۱۸٦**
کازیین	**۲٥۰**	**۹٥۰**
دنبه	۳۱۰	۲٥۱۱
مکمل ویتامین و مینرال	٦۰	-
کلسترول	۱۰	-
میتونین	۳	۱۲
مخمر	۱	-
نمک	**۱**	-
جمع	۱۰۰۰	٤٦٥۹

*برای محاسبه میزان انرژی رژیم غذایی، مقدار انرژی خوراک تهیه شده بر اساس اطلاعات کارخانه سازنده و مقدار انرژی پروتئین و چربی افزوده شده با توجه به مقدار استفاده شده از هر ماده غذایی محاسبه شد.

گروه هایپرکلسترولمی- تشنه‌داری: به حیوانات این گروه ابتدا به مدت ٤ هفته جیره پرچرب داده شد و پس از اطمینان از هایپرکلسترولمی شدن از طریق اندازه‌گیری سطح کلسترول خون به روش کالریمتری و کیت تشخیص کمی کلسترول (پارس‌آزمون-ایران) به علت داشتن اختلاف معنی‌دار با گروه شاهد، هایپرکلسترولمی آن‌ها تایید شد و به مدت ٤ هفته همراه با جیره پرچرب، عصاره هیدروالکلی گیاه *اسکروفولاریا استریاتا* (تشنه‌داری) از مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی دانشگاه علوم پزشکی لرستان تهیه گردید و به میزان ٤۰۰mg/kg، گاواژ شد (Farokhi and Riazi, 2018).

گروه تیمار با تشنه‌داری: به موش‌های این گروه ابتدا به مدت ٤ هفته جیره غذای معمولی داده شد و سپس به مدت ٤ هفته عصاره هیدروالکلی گیاه *اسکروفولاریا استریاتا* (تشنه‌داری) به میزان ٤۰۰ mg/kg خورانده شد.

لازم به ذکر است که در تحقیق حاضر، به منظور اطمینان از هایپرکلسترولمی شدن موش‌ها پس از ٤ هفته دریافت رژیم غذایی پرچرب، خونگیری از ورید دمی صورت می‌گرفت و سطح سرمی کلسترول با استفاده از کیت تشخیصی (CHOD) (پارس آزمون، ایران) و دستگاه اسپکتروفتومتری در دانشگاه علوم پزشکی ایلام اندازه‌گیری شده و نتایج حاصله با مقدار آن در مورد موش‌های گروه شاهد مقایسه می‌گردید (Forat *et al.*, 2017).

پس از پایان دورهٔ آزمایش، همه موش‌های مورد مطالعه با تزریق داخل صفاقی کتامین (روتکس مدیا- آلمان) به‌میزان ۱۰۰mg/kg و زایلازین (کلا- بلژیک) به‌میزان ۱۰mg/kg بیهوش گردیده و از قلب آن‌ها خون‌گیری انجام شد. سپس سرم هریک از نمونه‌ها جداسازی شده (به‌وسیله دستگاه سانتریفیوژ یخچال‌دار (Heidolph, Germany) در دمای ٤ درجه سلسیوس و سانتریفیوژ با دور ۹۰۰۰ در ثانیه به مدت ۱۰ دقیقه) و تا

زمان اندازه‌گیری سطح کلسترول، در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند. در ادامه نمونه بیضه راست موش‌ها از طریق بازکردن محوطهٔ شکمی، به دقت خارج گردید. وزن بیضه‌ها با ترازوی دیجیتالی (AND مدل Fx3001-ژاپن) با دقت ۰/۰۰۱ گرم اندازه‌گیری شده و یادداشت گردید و سریعاً جهت جلوگیری از اتولیز، نمونه‌ها به داخل ظروف حاوی فرمالین بافر ۱۰ درصد (قطران شیمی- ایران) منتقل گردید. به منظور مطالعه میکروسکوپی، از نمونه‌های پایدار شده، به روش استاندارد، مقاطع بافتی تهیه گردید. در این روش پس از فیکس کردن در فرمالین ۱۰درصد (قطران شیمی- ایران) و شستشو با آب جاری، مراحل مختلف پاساژ بافت شامل آبگیری، شفاف‌سازی و آغشتگی به پارافین (قطران شیمی تجهیز- ایران) انجام گرفت. سپس نمونه‌ها قالب‌گیری شده و با استفاده از میکروتوم دورانی (پاوندآب- ایران)، برش‌هایی با ضخامت ۵ میکرومتر تهیه و با استفاده از روش هماتوکسیلین- ائوزین (H&E) (مرک، آلمان) رنگ‌آمیزی شدند (Bancroft and Gamble, 2011). بدین منظور از بیضهٔ راست هر موش نمونه‌گیری و از هر نمونه پنج برش تهیه شده و حداقل در پنج میدان دید میکروسکوپی، بررسی انجام گرفت. تغییرات ساختاری لوله‌های اسپرم‌ساز شامل سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت اولیه، اسپرماتید ابتدایی، اسپرماتید نهایی، سلول‌های سرتولی و لیدیگ در گروه‌های مختلف مورد مطالعه قرار گرفت. در مطالعات هیستومتری قطر لوله‌های اسپرم‌ساز، ضخامت اپی‌تلیوم لوله‌های اسپرم‌ساز اندازه‌گیری شده و نیز تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتید، سرتولی و لیدیگ در گروه‌های مختلف شمارش گردید. همچنین برای اندازه‌گیری قطر لوله‌های اسپرم‌ساز و ضخامت اپی‌تلیوم لوله‌ها از نرم افزار رایانه‌ای True Chrom Metrics استفاده شد. جهت اندازه‌گیری قطر لوله‌های اسپرم‌ساز، مقطع عرضی کاملا یا تقریبا مدور لوله‌های اسپرم ساز در بزرگنمایی ۱۰ برابر به طور تصادفی انتخاب و سه قطر بزرگ آن‌ها اندازه‌گیری شد و جهت اندازه‌گیری ضخامت اپی‌تلیوم لوله‌های اسپرم‌ساز، از مقطع عرضی کاملا یا تقریبا مدور لوله‌های اسپرم‌ساز در بزرگنمایی ٤٠ برابر، از سه نقطه اندازه‌گیری به عمل آمد و نتایج بصورت میانگین برای هر لوله و هر موش محاسبه شد. همچنین به منظور شمارش تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت اولیه، اسپرماتید ابتدایی، نهایی و سرتولی، مقطع عرضی کاملا یا تقریبا مدور لوله‌های اسپرم‌ساز در بزرگنمایی ٤٠ برابر بطور تصادفی از هر نمونه ۵ برش و از هر لام ۵ میدان دید، انتخاب و شمارش انجام شد. همچنین جهت تعیین تعداد سلول‌های لیدیگ، از هر نمونه ۵ برش تهیه شده و از هر برش حداقل۵ میدان دید مختلف به طور تصادفی در بزرگنمایی ٤٠ برابر شمارش شد (Hamzavi Jahromi *et al*., 2014).

-**تحلیل آماری داده‌ها:** برای انجام آنالیز آماری در مورد یافته‌های به دست آمده در تحقیق حاضر، از نرم‌افزار SPSS نسخه ١٦ (version 16, SPSS Inc., Chicago, IL) استفاده شد. نتایج به‌صورت میانگین ± انحراف استاندارد از میانگین (mean±SEM) بیان شده و از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) و پس‌آزمون LSD (Least Significant Difference) برای مقایسه گروه‌ها استفاده شد.

در تمامی موارد $p<۰/۰۵$ به عنوان معیار حداقل اختلاف آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

مطابق داده‌های ثبت شده در جدول ۲، میانگین وزن موش‌های مورد مطالعه، در پایان دوره آزمایش (روز۲۸ درمان)، در گروه هایپرکلسترولمی در مقایسه با گروه شاهد افزایش معنی‌داری داشت ($p<۰/۰۵$). همچنین میانگین وزن موش‌ها در گروه هایپرکلسترولمی ـ تشنه‌داری، بعد از دریافت عصاره هیدروالکلی گیاه تشنه‌داری، در مقایسه با میانگین وزن موش‌های گروه هایپرکلسترولمی، کاهش معنی‌داری را نشان داد ($p<۰/۰۵$). اما میانگین وزن موش‌ها در گروه هایپرکلسترولمی ـ تشنه‌داری در مقایسه با گروه شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت. در گروه تیمار با تشنه‌داری هم، دریافت عصاره مذکور، در این خصوص، تفاوت معنی‌داری را با گروه شاهد ایجاد نکرد.

از طرف دیگر، میانگین وزن بیضه درمورد موش‌های گروه هایپرکلسترولمی، نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری را نشان داد ($p<۰/۰۵$). همچنین میانگین وزن بیضه موش‌های گروه هایپرکلسترولمی- تشنه‌داری، پس از دریافت عصاره تشنه‌داری نسبت به مقدار آن درمورد موش‌های گروه هایپرکلسترولمی، دارای کاهش معنی‌داری بود ($p<۰/۰۵$)، اما بررسی میزان فاکتور فوق، در مقایسه با مقدار آن در موش‌های گروه شاهد، تفاوت آماری معنی‌داری را نشان نداد. تجویز عصاره تشنه‌داری در مورد موش‌های گروه تیمار با عصاره هم، تفاوت آماری معنی‌داری را در این خصوص با میزان آن در گروه شاهد ایجاد نکرد (جدول ۲).

جدول ۲- میانگین ± انحراف استاندارد وزن موش‌های صحرایی در گروه‌های مختلف مورد مطالعه و وزن بیضه آن‌ها بر حسب گرم

گروه‌های مورد مطالعه	مشخصه مورد نظر		
	وزن‌موش‌ها		وزن بیضه
	شروع آزمایش	پایان آزمایش	پایان آزمایش
شاهد	۲۰۶/۱±۱/۶۲ [a]	۲٤٦/۲±٤/٦۱ [a]	۱/۱±۳۸/۹ [a]
هایپرکلسترولمی	۲۰۳/۱±۲/۲٦ [a]	۳۰۸/٦±۳/۲۲ [b]	۱/۲±۹۲/۲۳ [b]
هایپرکلسترولمی- تشنه‌داری	۲۰۹/٤±۳/۲۱ [a]	۲۵۳/۵±۲/۹۸ [a]	۱/۱±۵٤/۱۲ [a]
تشنه‌داری	۱۹۸/۹±۳/۱۲ [a]	۲۳۷/۷±۳/۷۱ [a]	۱/۳±٤۰/۲ [a]

a,b,c: حروف نامتشابه در هر ستون، اختلاف آماری معنی‌دار بین گروه‌های مختلف را نشان می‌دهد ($p<۰/۰۵$).

براساس داده‌های ثبت شده در جدول ۳، سطح سرمی کلسترول موش‌های گروه‌های مورد مطالعه در روز صفر (٤ هفته پس از تغذیه با جیره پرچرب و قبل از مصرف عصاره تشنه‌داری)، در گروه هایپرکلسترولمی، نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری داشته‌است ($p<۰/۰۵$). همچنین در پایان آزمایش، میزان کلسترول سرم موش‌های گروه هایپرکلسترولمی، نسبت به مقدار آن در سرم موش‌های گروه شاهد، بیانگر افزایش معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$). اما سطح کلسترول سرم موش‌های گروه هایپرکلسترولمی- تشنه‌داری، پس از۲۸ روز دریافت عصاره، نسبت به میزان آن در سرم موش‌های گروه هایپر کلسترولمی

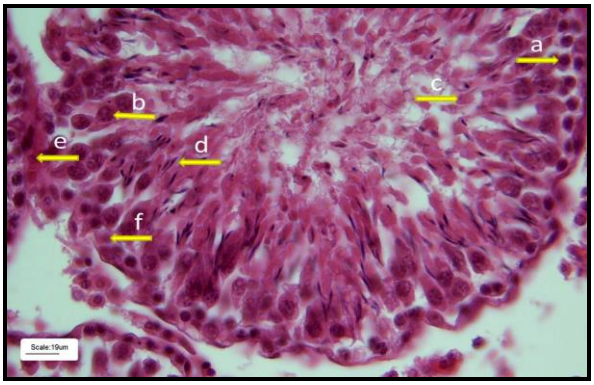
دارای کاهش معنی‌داری بود ($p<۰/۰۵$)، اما در این خصوص با مقدار کلسترول سرم موش‌های گروه شاهد، تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده نشد. از طرف دیگر، نتیجه تجویز عصاره تشنه‌داری به موش‌های گروه تیمار با عصاره، نسبت به موش‌های گروه شاهد، در این مورد هرچند کمتر بود، اما تفاوت آماری معنی‌داری را ایجاد نکرد (جدول ۳).

جدول ۳- میانگین± انحراف استاندارد سطح کلسترول سرم خون موش‌های گروه‌های مختلف مورد مطالعه، بر حسب mg/dl.

گروه‌های مورد مطالعه	مرحله آزمایش	
	روز صفر	پایان آزمایش
شاهد	۵۲/۰±۶/۲۵^{a}	۵۶/۰±۰۵/۴۳^{a}
هایپرکلسترولمی	۸۷/۰±۲۲/۱۵^{b}	۹۳/۰±۳۲/۱۸^{b}
هایپرکلسترولمی- تشنه‌داری	۸۴/۰±۴/۴^{b}	۵۹/۰±۷۴/۲۲^{a}
تشنه‌داری	۵۱/۰±۲/۲۵^{a}	۴۸/۰±۳/۲۶^{a}

a, b, c: حروف نامتشابه در هر ستون، اختلاف آماری معنی‌دار بین گروه‌های مختلف را نشان می‌دهد ($p<۰/۰۵$).

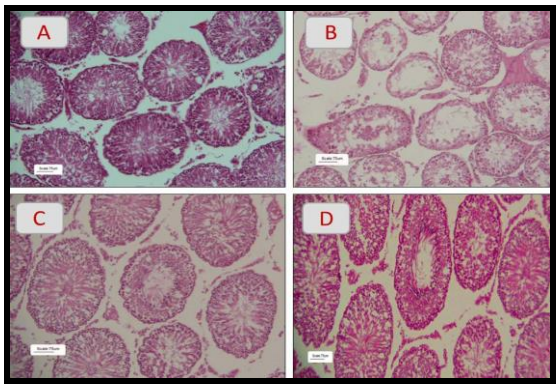
در شکل ۱ آرایش منظم سلول‌های اپی‌تلیوم لوله‌های اسپرم‌ساز شامل سلول‌های اسپرماتوگونی (a)، اسپرماتوسیت اولیه (b)، اسپرماتید ابتدایی (c)، اسپرماتید نهایی (d)، لیدیگ (e) و سلول‌های سرتولی (f) در گروه شاهد دیده می‌شود.



شکل ۱- ساختار بافتی بیضه موش صحرائی در گروه شاهد (هماتوکسیلین-ائوزین، درشت‌نمایی ×۴۰).

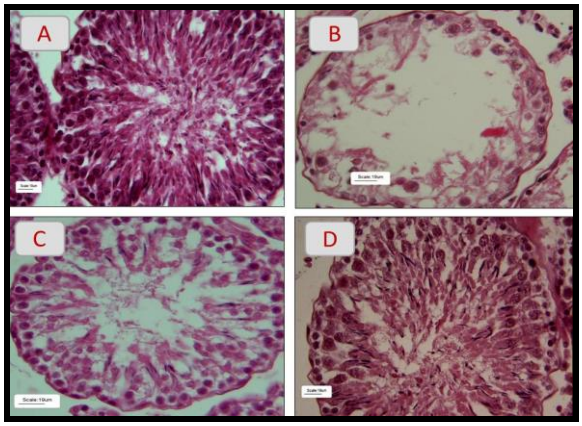
شکل ۲ نمای کلی از ساختار بافتی بیضه موش صحرایی در گروه‌های مختلف مورد مطالعه را نشان می‌دهد. در گروه شاهد (A) آرایش منظم لوله‌های اسپرم ساز همراه با ساختار طبیعی اپی‌تلیوم دیده می‌شود. در گروه هایپرکلسترولمی (B) ساختار به‌هم‌ریخته و نامنظم لوله‌های اسپرم‌ساز همراه با تخریب شدید اپی‌تلیوم زایا دیده می‌شود. در گروه هایپرکلسترولمی-تشنه‌داری (C) بهبودی ساختار لوله‌ها و اپی‌تلیوم زایا نسبت به گروه

هایپرکلسترولمی پس از مصرف تشنه‌داری دیده می‌شود ولی در گروه تیمار با عصاره تشنه‌داری (D) تغییری در وضعیت ظاهری نسبت به گروه کنترل مشاهده نمی‌شود.



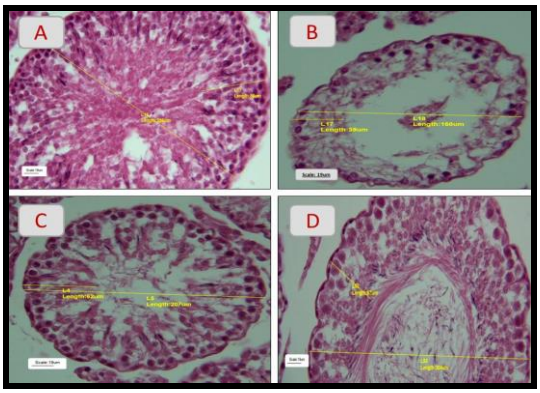
شکل ۲- نمای کلی از ساختار گروه‌های مختلف مورد مطالعه (هماتوکسیلین-ائوزین، درشت‌نمایی ×٤٠).

شکل ۳ مقایسه ساختار بافتی اپی‌تلیوم در لوله‌های اسپرم‌ساز در گروه‌های مختلف را نشان می دهد. درگروه شاهد (A) آرایش منظم رده‌های مختلف سلولی در اپی‌تلیوم و وجود ساختار متراکم و طبیعی دیده می‌شود. درگروه هایپرکلسترولمی (B) ساختار به‌هم‌ریخته و نامنظم سلول‌ها همراه با تخریب شدید اپی‌تلیوم زایا دیده می‌شود. همچنین این شکل، درگروه هایپرکلسترولمی-تشنه‌داری (C) بهبود وضعیت نظم سلولی و احیاء ساختار اپی‌تلیوم زایا نسبت به گروه هایپرکلسترولمی پس از مصرف تشنه‌داری را نشان می‌دهد و در گروه تیمار با عصاره تشنه‌داری (D) شرایط مشابه گروه کنترل بوده و تفاوت زیادی مشاهده نمی‌شود.



شکل ۳- مقایسه ساختار بافتی اپی‌تلیوم در لوله‌های اسپرم‌ساز در گروه‌های مختلف (هماتوکسیلین-ائوزین، درشت‌نمایی ×٤٠).

شکل ٤ مقایسه اندازه قطر و ضخامت اپی‌تلیوم لوله‌های اسپرم‌ساز در گروه‌های مختلف را نشان می‌دهد. در گروه شاهد (A) اندازه طبیعی قطر اپی‌تلیوم و قطر لوله دیده می‌شود. در گروه هایپرکلسترولمی (B) کاهش اندازه قطر و ضخامت اپی‌تلیوم زایا نسبت به گروه کنترل مشخص می‌باشد. درگروه هایپرکلسترولمی-تشنه‌داری (C) افزایش قطر لوله‌ها و ضخامت اپی‌تلیوم زایا نسبت به گروه هایپرکلسترولمی پس از تجویز تشنه‌داری دیده می‌شود و در گروه تیمار با عصاره تشنه‌داری (D) هم، شرایط مشابه گروه کنترل بوده و تفاوت زیادی مشاهده نمی‌شود.



شکل ٤- مقایسه اندازه قطر و ضخامت اپی‌تلیوم لوله‌های اسپرم‌ساز در گروه‌های مختلف (هماتوکسیلین-ائوزین، درشت‌نمایی ×٤٠).

مطابق یافته‌های ثبت شده در جدول ٤، میانگین تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی در گروه هایپرکلسترولمی نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌داری را نشان داد ($p<۰/۰۵$). همچنین مقایسه تعداد اسپرماتوگونی‌ها در گروه هایپرکلسترولمی- تشنه‌داری نسبت به گروه هایپرکلسترولمی افزایش معنی‌داری را بیان کرد ($p<۰/۰۵$)، اما همچنان نسبت به گروه شاهد، دارای کاهش معنی‌داری بود ($p<۰/۰۵$). اما تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی در گروه تیمار با عصاره تشنه‌داری نسبت به گروه شاهد، تفاوت آماری معنی‌داری را نشان نداد.

میانگین تعداد اسپرماتوسیت‌های اولیه در گروه هایپرکلسترولمی نسبت به گروه شاهد دارای کاهش معنی‌داری بود ($p<۰/۰۵$). همچنین مقایسه تعداد اسپرماتوسیت‌های اولیه درگروه هایپرکلسترولمی-تشنه‌داری نسبت به گروه هایپرکلسترولمی افزایش معنی‌داری را نشان داد ($p<۰/۰۵$)، اما تعداد سلول‌های اسپرماتوسیت اولیه درگروه تیمار با عصاره تشنه‌داری نسبت به گروه شاهد تفاوت آماری معنی‌داری نداشت (جدول ٤).

میانگین تعداد سلول‌های اسپرماتید نیز در گروه هایپرکلسترولمی در مقایسه با گروه شاهد، کاهش معنی‌داری را نشان داد ($p<۰/۰۵$). با وجود این که تعداد سلول‌های اسپرماتید در گروه هایپرکلسترولمی-تشنه‌داری در مقایسه با گروه هایپرکلسترولمی دارای افزایش معنی‌داری بود ($p<۰/۰۵$)، اما هنوز هم نسبت به گروه شاهد، کاهش معنی‌داری را داشت ($p<۰/۰۵$). البته تفاوت تعداد این سلول‌ها در گروه تیمار با عصاره

تشنه‌داری نسبت به گروه شاهد معنی‌دار نبود (جدول ٤).

تعداد سلول‌های اسپرماتوزوئید در گروه هایپرکلسترولمی در مقایسه با گروه شاهد افزایش معنی‌داری را نشان داد ($p<۰/۰۵$). اما تعداد سلول‌های مذکور در گروه هایپرکلسترولمی – تشنه‌داری نسبت به گروه هایپرکلسترولمی تفاوت معنی‌داری را نشان نداد. درگروه تشنه‌داری هم نسبت به گروه شاهد از نظر تعداد اسپرماتوزوئیدها تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید. از طرف دیگر به لحاظ آماری مقایسه میانگین تعداد سلول‌های لیدیگ در گروه‌های مختلف مورد مطالعه، اختلاف آماری معنی‌داری را نشان نداد (جدول ٤).

جدول ٤- مقایسه میانگین ± انحراف استاندارد تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت اولیه، اسپرماتید، اسپرماتوزوئید و لیدیگ در بیضه موش‌های گروه‌های مورد مطالعه.

گروه‌های مورد مطالعه	نوع سلول				
	اسپرماتوگونی	اسپرماتوسیت اولیه	اسپرماتید	اسپرماتوزوئید	لیدیگ
شاهد	۲±٤٤/٥^{a}	۱±٤۷/۳^{a}	٤±۷۸/۲^{a}	۳±٤۳/۳^{a}	٥±۲٥/۱^{a}
هایپرکلسترولمی	۳±۲۰/۳^{b}	۱±۱٥/۱^{b}	۲±۱۷/۳^{b}	۱±۱۱/۲^{b}	٤±۲۲/۲^{a}
هایپرکلسترولمی- تشنه‌داری	۱±۳۱/۸^{c}	۳±۳۹^{a}	٥±۳٦/۱^{c}	۲±۱۷^{b}	٤±۲٦^{a}
تشنه‌داری	۲±۳۸/٤^{a}	۲±٤۳/۸^{a}	٥±٦٦/٤^{a}	۲±۳۸/۳^{a}	۳±۲۰/۸^{a}

a,b,c: حروف نامتشابه در هر ستون، اختلاف آماری معنی‌دار بین گروه‌های مختلف را نشان می‌دهد ($p<۰/۰۵$).

یافته‌های ثبت شده در جدول ٥ نشان داد که قطر لوله‌های اسپرم‌ساز درگروه هایپرکلسترولمی نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌داری داشت ($p<۰/۰۵$). قطر این لوله‌ها در گروه هایپرکلسترولمی – تشنه‌داری درمقایسه با گروه هایپرکلسترولمی افزایش معنی‌داری را نشان داد ($p<۰/۰۵$). اما قطر لوله‌های اسپرم‌ساز در گروه تیمار با عصاره تشنه‌داری نسبت به گروه شاهد تفاوت معنی‌داری را شاهد نبود.

نتایج حاصله از اندازه‌گیری ضخامت اپی‌تلیوم لوله‌های اسپرم‌ساز نشان داد که ضخامت اپی‌تلیوم این لوله‌ها در گروه هایپرکلسترولمی نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌داری یافته بود ($p<۰/۰۵$). همچنین در موش‌های گروه هایپرکلسترولمی – تشنه‌داری نسبت به گروه هایپرکلسترولمی، ضخامت اپی‌تلیوم لوله‌های اسپرم‌ساز افزایش معنی‌داری را نشان داد ($p<۰/۰۵$). اما مقایسه ضخامت اپی‌تلیوم این لوله‌ها در موش‌های گروه تیمار با عصاره تشنه‌داری نسبت به موش‌های گروه شاهد، اختلاف آماری معنی‌داری نداشت (جدول ٥).

جدول ۵- میانگین ± انحراف استاندارد قطر و ضخامت اپی‌تلیوم لوله‌های اسپرم‌ساز بیضه موش‌های صحرایی گروه‌های مختلف (برحسب µm).

گروه‌های مورد مطالعه	مشخصه مورد نظر	
	قطر لوله‌ها	ضخامت اپی‌تلیوم لوله‌ها
شاهد	۲۳۸/۰±٤/۷۲[a]	۸٦/۰±۷۵/٤۳[a]
هایپرکلسترولمی	۱۹٤/۰±۲۲/۲۵[b]	٤۲/۰±۱۲/۲۵[b]
هایپرکلسترولمی- تشنه‌داری	۲۲۵/۰±٤/۳۳[a]	٦۹/۰±۹٤/۷۲[a]
تشنه‌داری	۲٤۱/۰±۳/٦۸[a]	۷۷/۰±۳/٦۲[a]

a,b,c: حروف نامتشابه در هر ستون، اختلاف آماری معنی‌دار بین گروه‌های مختلف را نشان می‌دهد ($p<0/05$).

بحث و نتیجه‌گیری

امروزه چاقی به‌عنوان یک عامل تهدیدکننده سلامت در کشورهای توسعه‌یافته و در حال توسعه مطرح می‌باشد (Drew *et al.*, 2007). مطالعات نشان می‌دهند که رژیم پرچرب باعث افزایش کلسترول، تری گلیسرید، کاهش تستوسترون سرم، کاهش کیفیت و بلوغ اسپرماتوژنز و افزایش نیتریک اکساید سرم می‌شود. تعداد و میزان حرکت اسپرم و تعداد سلول‌های اسپرماتوژنیک در حیواناتی که با رژیم پرچرب تغذیه می‌شوند، در مقایسه با حیوانات عادی، کمتر می‌باشد (Li *et al.*, 2013). تغذیه با رژیم پرچرب و چاقی ناشی ازآن می‌تواند با افزایش پراکسیداسیون لیپیدی و درنتیجه تولید رادیکال‌های آزاد همراه باشد (Pan *et al.*, 2006). رادیکال‌های آزاد در شرایط عادی در بدن تولید می شوند و می‌توانند بر روی سیستم ایمنی، لیپیدها، پروتئین‌ها و DNA اثرکرده و آن‌ها را اکسیده کند. به منظور کاهش و یا دفاع در برابر رادیکال‌های آزاد، بدن مجهز به یک سیستم آنتی‌اکسیدانی‌می‌باشد. هرگونه عدم تعادل در این مجموعه آنتی‌اکسیدانی و سیستم اکسیدانی باعث ایجاد استرس سلولی می‌شود که می‌تواند مسیر سلول را به سمت آسیب، پیری، سرطان، آپوپتوز و مرگ پیش ببرد (Finaud *et al.*, 2006).

در مطالعهٔ حاضر، تغذیه حیوانات با جیره پرچرب به مدت ۸ هفته، باعث افزایش معنی‌دار وزن موش‌ها و نیز وزن بیضه در موش‌های گروه هایپرکلسترولمی نسبت به حیوانات گروه شاهد شد. همچنین یافته‌های مطالعهٔ حاضر، نشان داد که تغذیه حیوانات با جیره پرچرب به مدت ۸ هفته، باعث افزایش معنی‌دار سطح کلسترول سرم در حیوانات دریافت‌کنندهٔ جیره پرچرب می‌شود که این یافته حاکی از موفقیت‌آمیز بودن مدل هایپرکلسترولمی و در واقع همان ابتلاء به چاقی است. مطالعات پیشین نیز نشان داده‌اند که رژیم پرچرب موجب بالا رفتن وزن حیوانات آزمایشگاهی می‌شود. هنگامی که بدن کالری زیادی را دریافت می‌کند، بافت چربی به عنوان یک مکان ذخیره امن جهت ذخیره‌کردن مقادیر بالای لیپیدها عمل می‌کند. لیپیدهای اضافی در بافت چربی ذخیره شده و باعث افزایش وزن بدن می‌گردد (Frayn, 2002). در مطالعه یان و همکاران که در سال ۲۰۱۵ منتشر گردیده، مصرف ۸ هفته‌ای رژیم غذایی حاوی ۱٦ درصد چربی خوک نشان داده که موش‌های صحرائی نر پس از پایان مطالعه به طور

معنی‌داری مقادیر وزن بالاتری را نسبت به گروه شاهد دارا بودند (Yan *et al*., 2015). اسرینیواسان و رامارائو نیز نشان دادند که رژیم پرچرب به‌تنهایی باعث افزایش وزن بدن در موش‌های صحرائی می‌شود (Srinivasan and Ramarao, 2007). همچنین در مطالعهٔ رودخانه‌ای و همکاران که بر روی موش‌های صحرائی انجام شد، مشخص گردید که مصرف ٤ ماهه جیره پرچرب، باعث شد که وزن نهایی حیوانات در گروه پرچرب نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری داشته باشد (Rudkhaneei *et al*., 2016). نتایج به دست آمده در مطالعه ما نیز افزایش چشم‌گیر وزن بدن در موش‌های صحرائی دریافت‌کننده رژیم غذایی پرچرب را نشان می‌دهد که با این مطالعات هم‌خوانی دارد.

اما در زمینه تاثیر جیره غذایی پرچرب بر وزن بیضه، از مطالعات قبلی نتایج متفاوتی به دست آمده است. ایزی و همکاران اعلام کردند که وزن بیضه موش‌های دریافت‌کننده رژیم حاوی ۲۰ درصد روغن دنبه به طور معنی‌داری کمتر از گروه کنترل بود (Ezi *et al*., 2016). اما در مطالعه عباسی و همکاران که در سال ۲۰۰٤ منتشر گردید، محققین اثرات مصرف ۸ هفته رژیم غذایی حاوی ۵ درصد روغن کنجد را در موش‌های صحرائی نر نژاد ویستار مورد بررسی قرار داده و مشخص کردند که روغن کنجد سبب افزایش معنی‌دار تعداد اسپرم در موش‌های صحرائی شده اما تأثیری بر پارامترهای وزن بیضه و غلظت تستوسترون نداشت (Abbasi *et al*., 2013). ولی در ارزیابی دیگری ثابت شده است که افزایش سطح کلسترول و چربی خون، موجب افزایش تعداد رگ‌های خونی، تعداد رگ های لنفاوی و همچنین افزایش توده بافت چربی در ساختار بافتی بیضه و در نتیجه افزایش وزن آن می‌شود (Yazdanparast and Alavi, 2001). در مطالعهٔ حاضر نیز تغذیه حیوانات با جیره پرچرب به مدت ۸ هفته، باعث افزایش معنی‌دار وزن بیضه در گروه‌های دریافت کننده رژیم پرچرب، نسبت به گروه شاهد شد که با نتایج به دست آمده در مطالعهٔ ایزی وهمکاران (Ezi *et al*., 2016) و عباسی و همکاران (Abbasi *et al*, 2013) مطابقت ندارد اما با نتایج رودخانه‌ای (Rudkhaneei *et al*., 2016) و یزدان‌پرست و علوی (Yazdanparast and Alavi, 2001) هم‌خوانی دارد.

از طرف دیگر مصرف عصارهٔ گیاه تشنه‌داری به مدت ٤ هفته در گروه هایپرکلسترولمی – تشنه‌داری نشان داد که وزن حیوانات چاق شده و مبتلا به کلسترول بالا، وزن بیضه و نیز سطح کلسترول خون، به‌صورت معنی‌داری کاهش پیداکرد. بر اساس مشاهدات گذشته، ثابت شده است که کوئرستین موجود در گیاه تشنه‌داری، موجب کاهش کلسترول و LDL می‌شود. براساس این مطالعات، فلاونوئیدهای موجود در این گیاه با جلوگیری از اکسیداسیون LDL، باعث کاهش میزان چربی‌ها و وزن بدن می‌شوند (Katan and Hollman, 1998). گزارش شده که عصارهٔ الکلی گیاهانی که دارای ترکیباتی چون بیوفلاونوئیدهاهستند، از طریق افزایش فعالیت لیپازهای کبدی و لیپوپروتئین‌ها و کاهش فعالیت آنزیم هیدروکسی‌متیل‌گلوتاریل‌کوآنزیم‌آردوکتاز باعث کاهش کلسترول تام، LDL و تری‌گلیسریدها می‌شود که منجر به کاهش وزن بدن و وزن بیضه‌ها می‌گردد (Alavi, Yazdanparast and 2001). علاوه بر آن می‌توان احتمال داد که کاهش وزن بیضه مربوط به اثرات

آنتی‌آندروژنی کومارین‌ها و فیتواسترول‌ها باشد که باعث کاهش تستوسترون می‌شوند. کاهش تستوسترون از طریق کاهش سنتز پروتئین‌ها و افزایش هورمون تری‌یدوتیرونین و لیپولیز و پروتئولیز باعث کاهش وزن بیضه‌ها می‌شود. در مطالعه انجام شده توسط مالینی و همکاران نیز مشخص شده که فیتواسترول‌ها سبب کاهش وزن بیضه‌ها می‌گردند (Malini and Vanithakumari, 1991). همچنین نشان داده‌اند که اسانس‌های گیاهی، به خاطر وجود ترکیبات ترپنوئیدی، ساخت کلسترول و اسیدهای چرب را در کبد مهار می‌کنند و در نتیجه سطح کلسترول خون به ویژه لیپوپروتئین‌های با چگالی پایین را کاهش می‌دهند (Yeh and Liu, 2001). یافته‌های ما نیز که بیانگر کاهش چشم‌گیر وزن بدن، وزن بیضه و میزان کلسترول خون در نتیجه درمان با عصاره هیدروالکلی گیاه تشنه‌داری است، با نتایج بررسی‌های پیشین (Katan and Hollman, 1998, Yeh and Liu, 2001; Malini and Vanithakumari, 1991, Yazdanparast and Alavi, 2001) مطابقت دارد.

همچنین در مطالعه حاضر، بررسی بافت‌شناسی و میکروسکوپی بیضه و وضعیت اسپرماتوژنز نشان داد که در حیوانات دریافت‌کننده جیره پرچرب، تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت اولیه، اسپرماتید و اسپرماتوزوئید نسبت به موش‌های شاهد به طور معنی‌داری کاهش پیدا کرده بود ($p<0/05$)، اما در مورد سلول‌های لیدیک این کاهش معنی‌دار نبود (جدول ٤). در این ارتباط، نتایج مطالعه یان و همکاران در سال ۲۰۱۵ نشان داد که مصرف ۸ هفته‌ای رژیم غذایی حاوی ١٦ درصد چربی خوک باعث شد که موش‌های صحرائی نر پس از پایان مطالعه به طور معنی‌داری، کاهش چشمگیری در اسپرماتوژنز و تعداد اسپرم در مقایسه با گروه دریافت‌کننده رژیم غذایی استاندارد داشته باشند. یافته‌های آنان همچنین نشان داد که در گروه دریافت‌کننده رژیم پرچرب، غلظت تستوسترون به طور معنی‌داری نسبت به‌گروه کنترل کاهش داشت (Yan *et al.*, 2015). از جمله دلایل ناباروری، اثر رادیکال‌های آزاد بر عملکرد اسپرم می‌باشد. استرس اکسیداتیو از دلایل اصلی ناباروری در مردان می‌باشد. وجود مقادیر بالای رادیکال‌های آزاد می‌تواند به دلیل فقدان آنتی‌اکسیدان‌ها و یا رهاسازی الکترون آزاد توسط گلبول سفید و اسپرم در حین واکنش‌های اکسیداتیو درون سلولی باشد. مطالعات نشان می‌دهد که بین مقدار تولید انواع اکسیژن واکنشی توسط اسپرم و کیفیت اسپرم در منی ارتباط منفی وجود دارد (Lombardo *et al.*, 2011). هایپرکلسترولمی و استرس اکسیداتیو ناشی از آن و در پی آن پراکسیداسیون لیپید، منجر به آزاد شدن فاکتورهای آپوپتوژنیک مثل سیتوکروم C و فاکتورهایی از میتوکندری‌ها می‌شود. همچنین این آلاینده‌ها ممکن است با ایجاد اختلال در عملکرد میتوکندری‌ها موجب اختلال در فرآیند فسفوریلاسیون اکسیداتیو این اندامک شده و منجر به تخلیه ATP (adenosine triphosphate) اسپرم شده و در نهایت منجر به کاهش قابلیت حیات در اسپرم گردد (Levi *et al.*, 2003). با توجه به افزایش استرس اکسیداتیو و در پی آن، افزایش میزان MDA (malondialdehyde) که فرآوردهٔ نهایی پراکسیداسیون لیپیدی توسط گونه‌های فعال اکسیژن (reactive oxygen species; ROS) است، می‌توان به این نتیجه رسید که تولید ROS فعال باعث توقف

سیکل سلولی و افزایش فرآیند آپوپتوز می‌شود که به این ترتیب باعث کاهش تولید روزانه اسپرم و همچنین کاهش تعداد کلی اسپرم می‌گردد (Amin and Hamza, 2006).

کاهش تعداد سلول‌های جنسی و بینابینی بیضه در مطالعه حاضر پس از دریافت ۸ هفته رژیم پرچرب و ایجاد مدل هایپرکلسترولمی نیز می‌تواند به دلیل تأثیر افزایش سطح کلسترول خون در تولید رادیکال‌های آزاد و در نتیجه آسیب سلولی به سلول‌های زایا و پشتیبان در بافت بیضه و از طرفی دیگر کاهش تولید هورمون‌های جنسی به دلیل اختلال در مسیر هورمونی هیپوتالاموس – هیپوفیز – بیضه باشد. در مطالعه حاضر مشاهده گردید که در گروه‌های دریافت کننده رژیم پرچرب قطر لوله‌های اسپرم‌ساز و ضخامت اپی‌تلیوم آن‌ها، نسبت به گروه شاهد به طور معنی‌داری کاهش پیدا کرده بود (جدول ۵). در مطالعه ایزی و همکاران در سال ۱۳۹۵ نیز گزارش شده است که تغذیه با رژیم پرچرب حاوی روغن دنبه، علاوه بر اینکه باعث کاهش معنی‌دار در تعداد اسپرماتوگونی‌ها شد، ضخامت لایه زایشی و قطر لوله‌های اسپرم‌ساز نیز دچار کاهش معنی‌داری شدند (Ezi, *et all*. 2016). همچنین نتیجه مشاهدات کامپوس- سیلوا و همکاران نشان داد که مصرف ۱۶ هفته‌ای رژیم غذایی با کلسترول بالا حاوی ۵۰ درصد چربی خوک، سبب کاهش ضخامت اپی‌تلیوم زایا در لوله‌های اسپرم‌ساز بیضه گردید، در حالی‌که موش‌هایی که رژیم غذایی حاوی۵۰ درصد چربی غیراشباع (روغن کانولا) را دریافت کرده بودند، نه تنها این ضخامت در آن‌ها کاهش نیافته بود، بلکه به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل که رژیم معمولی دریافت کرده بودند، افزایش نیز نشان داد (Campos-Silva *et al*., 2015). در مطالعات مشابه قبلی گزارش شده است که کاهش یافتن قطر لوله‌های منی‌ساز در حالت هیپرکلسترولمی، ممکن است به دلیل کاهش تعداد سلول‌های سرتولی و جنسی در اثر آپوپتوزیس یا اختلال در فرآیند اسپرماتوژنز باشد (Chitra and Premendu, 2004). گونه‌های فعال اکسیژن موجب تخریب DNA اسپرم و فرآیند اسپرمیوژنز شده، تولید رده‌های سلولی اسپرماتوژنز کاهش یافته، قطر لوله سمینیفر کاهش می‌یابد و از این طریق سبب آتروفی لوله اسپرم‌ساز می‌شوند (Chitra and Premendu, 2004). درحالت هایپرکلسترولمی و استرس اکسیداتیو و تولید گونه‌های فعال اکسیژن، کاهش تعداد لایه‌های اپی‌تلیوم منی‌ساز را می‌توان در نتیجه توقف تقسیمات میتوزی اسپرماتوگونیوم B نیز دانست که به معنی طویل شدن فاز G_1 است. طولانی شدن فاز G_1 در نتیجه ممانعت از سنتز سیکلین، به خاطر بیان بیش از اندازهٔ ژن (X-box binding protein 1) XBP_1 است. این پروموتور ژن دارای چندین عامل تنظیم شونده با استرس است که یکی از آن‌ها به استرس اکسیداتیو پاسخ می‌دهد (Malini and Vanithakumari, 1991). به طور کلی می‌توان این گونه استنباط کرد که تخریب شدید سلول‌های جنسی و بینابینی که منجر به کاهش شدید تعداد این سلول‌ها در بافت پوششی لوله‌های اسپرم‌ساز می‌شود می‌تواند دلیل اصلی کاهش قطر این لوله‌ها و ضخامت بافت پوششی در آن‌ها باشد. ارزیابی‌های ما نیز نشان داد که پس از تجویز عصاره گیاه تشنه‌داری، بهبود کلی در وضعیت بافتی و اسپرماتوژنز در بیضه گروه‌های مربوطه به وجود آمده است. در این خصوص،

مشخص شده‌است که بخش هوایی گیاه تشنه‌داری حاوی ترکیبات فلاونوئیدی و گلیکوزیدی است که با توجه به وجود این ترکیبات در ساختار این گیاه، می‌توان تصور نمود که بخشی از اثرات مفید و محافظتی گیاه مذکور، از طریق تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی و مهار تولید ROS اعمال گردد (Zaheri *et all*, 2011). در بررسی‌های بیشتر ترکیب شیمیایی عصاره گیاه تشنه‌داری، حضور فلاونوئیدها، کوئرستین، کومارین و فیتواسترول‌ها را نشان می‌دهد. فلاونوئیدها دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی هستند. این ترکیبات از طریق مهار تشکیل ROS ، حذف ROS و حفاظت از سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی، با استرس اکسیداتیو مقابله می‌کنند و در نتیجه، کاهش تولید ROS ، باعث کاهش نفوذپذیری سلولی و افزایش حیات اسپرم می شود (Levi *et al*., 1979).

یکی از ترکیبات آنتی اکسیدانی بسیار مهم موجود در عصارهٔ گیاه تشنه‌داری، کوئرستین می‌باشد. کوئرستین دارای اثرات محافظتی بر سلول‌های اسپرماتوگونی تحت‌استرس اکسیداتیو است و با دادن الکترون به گونه‌های اکسیژن فعال (ROS)، تخریب DNA سلولی را کاهش می‌دهد (Vargas and Burd, 2010). ترکیبات آنتی‌اکسیدانی چون فلاونوئیدها از طریق کاهش آسیب‌های ایجاد شده توسط رادیکال‌های آزاد، تقویت و استحکام سد خونی – بیضه‌ای و حفاظت و ترمیمDNA اسپرم‌ها، موجب بهبود اسپرماتوژنز و افزایش تعداد اسپرم می‌شوند (Amin and Hamza, 2006). در یک مطالعه مشابه فرخی و همکاران تأثیر عصاره الکلی بذر شوید را بر بافت بیضه موش‌های صحرایی هایپرکلسترولمی شده مورد بررسی قرار دادند و پس از بررسی‌های بافتی مشخص گردید که در گروه‌های دریافت کننده کلسترول، افزایش سطح کلسترول، باعث کاهش قطر لایهٔ اپی‌تلیوم منی‌ساز و لومن لوله‌های منی‌ساز می‌شود، اما تجویز عصاره بذر شوید باعث بهبود این وضعیت گردید (Farokhi and Riazi, 2018). نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر نیز بیان‌گر اثرات درمانی و مثبت تجویز گیاه تشنه‌داری بر روی بافت بیضه و وضعیت اسپرماتوژنز واسپرمیوژنز در آن است.

به‌طور کلی مطالعه حاضر نشان داد که مصرف جیره پرچرب به مدت ۸ هفته، سبب افزایش وزن بدن، هایپرکلسترولمی و در نهایت آسیب در بافت بیضه و اختلال در روند اسپرماتوژنز و اسپرمیوژنز می‌گردد. از طرفی مصرف خوراکی عصاره هیدروالکلی گیاه تشنه‌داری در موش‌های تحت تیمار، هایپرکلسترولمی و افزایش وزن ایجاد شده در اثر دریافت جیره پرچرب را تا حدودی تعدیل نموده و به حالت طبیعی نزدیک گردانید. ازسوی دیگر عصاره تشنه‌داری با بهبود سطح کلسترول سرم در حیوانات هایپر کلسترولمی شده، سبب بهبود وضعیت و نزدیک شدن آن به حالت طبیعی گردید. همچنین تجویز عصاره این گیاه، باعث بهبود ساختار بافتی بیضه گردید که به نظر می‌رسد به دلیل وجود خواص آنتی‌اکسیدانی ترکیبات موجود در این گیاه باشد که موجب کاهش میزان استرس‌اکسیداتیو به دنبال مصرف آن به مدت ٤ هفته گردید. لذا به نظر می-رسد که مصرف خوراکی گیاه تشنه‌داری، می‌تواند موجب بهبود اختلالات باروری ناشی از چاقی و هایپرکلسترولمی و اثرات سوء آن بر بیضه و دستگاه تناسلی جنس نر شده و نیز اثرات سودمند و محافظتی

بر پارامترهای بیوشیمیایی، آنتی‌اکسیدانی و بافت بیضه داشته باشد.

سپاسگزاری

پژوهش حاضر برگرفته از پایان‌نامه مقطع کارشناسی ارشد رشته بافت‌شناسی مصوب دانشکده پیرادامپزشکی دانشگاه ایلام می‌باشد. لذا بدین‌وسیله از کلیه کارشناسان آزمایشگاه دانشگاه، به‌خصوص کارشناس مرکز تحقیقات دانشکده پیرادامپزشکی تشکر می‌گردد.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضاد منافعی ندارند.

منابع

- Abbasi, Z., Fatemi Tabatabaei, S.R., Mazaheri, Y., Barati, F. and Morovvati, H. (2013). Effects of sesame oil on the reproductive parameters of diabetes mellitus-induced male rats. The World Journal of Men's Health, 31(2): 141-149.
- Adesanya Olamide, A., Oluyemi Kayode, A., Ofusori David, O., Omotuyi Idowu, U., Okwuonu Christina, O., Ukwenya Victor. A., *et al*. (2007). Micromorphometric and stereological effects of ethanolic extracts of *Garcinia cambogia* seeds on the testes and epididymides of adult Wistar rats. The Internet Journal of Alternative Medicine, 5(1): 1-9.
- Amin, A. and Hamza, A.A. (2006). Effects of Roselle and Ginger on cisplatin-induced reproductive toxicity in rats. Asian Journal of Andrology, 8(5): 607-612.
- Ashamu, E., Salawu, E., Oyewo, O., Alhassan, A., Alamu, O. and Adegok, A. (2010). Efficacy of vitamin C and ethanolic extract of Sesamum indicum in promoting fertility in male wistar rats. Journal of Human Reproductive. Sciences, 3(1): 11-14.
- Attar, F., Keshvari, A., Ghahreman, A., Zarre, Sh. and Aghabeigi, F. (2007). Micromorphological studies on Verbascum (Scrophulariaceae) in Iran with emphasis on seed surface, capsule ornamentation and trichomes. Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants, 202(2): 169-175.
- Bancroft, J.D. and Gamble, M. (2011). Theory and practice of histological techniques. 6th ed., Philadelphia: Churchill Livingstone Elsevier, pp: 126-139.
- Campos-Silva, P., Furriel, A., Costa, W.S., Sampaio, F.J. and Gregorio, B.M. (2015). Metabolic and testicular effects of the long-term administration of different high-fat diets in adult rats. International Brazilian Journal of Urology, 41(3): 569-575.
- Chitra, K.C. and Premendu, M. (2004). Vitamin E prevent nonylphenol-induced oxidative stress in testes of rats. Indian Journal of Experimental Biology, 42(2): 220-223.
- Cooper, T.G. and Handelsman D.J. (2013). Falling sperm counts and global oestrogenic pollution: postscript. Asian Journal of Andrology, 15: 208-211.
- Davis, H.R., Pula, K.K., Alton, K.B., Burrier, R.E. and Watkins, R.W. (2001). The synergistic hypocholesterolemic activity of the potent cholesterol absorption inhibitor, ezetimibe, in

combination with3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme a reductase inhibitors in dogs. Metabolism, 50(10): 1234-1241.

- Dupont, C., Faure, C., Sermondade, N., Boubaya, M., Eustache, F., Clément, P., *et al*. (2013). Obesity leads to higher risk of sperm DNA damage in infertile patients. Asian Journal of Andrology, 15(5): 622.
- Drew, B.S., Dixon, A.F. and Dixon, J.B. (2007). Obesity management: update on orlistat. Vascular Health and Risk Management, 3(6): 817-821.
- Ezi, S., Hosseini, M., Hassanzadeh-Taheri, M., Jahani, F., Afshar, M. and Hassanzadeh-Taheri M.M. (2016). Effects of tail fat enriched diet on male Wistar rat reproductive system. Journal of Birjand University of Medical Sciences, 23(1): 1-10. [In Persian]
- Fatemi tabatabaei, SR., Shahriari, A., and Abaszadeh, M. (2012). Effect of Vitamin C on the Obesity Indices of High Fat Fed Diet Rats. Jundishapur Scientific Medical Journal, 13(1): 31-42. [In Persian]
- Farokhi, F. and Riazi, S. (2018). The Effect of alcoholic extract of Anethum graveolens seed on the changes of testis tissue, sperm parameters in hypercholesterolemic male rats. Arak Medical University Journal, 20(127): 74-89. [In Persian]
- Ferdowsi, Sh., Hooshmandi, Z. and Shahmoradi, E. (2017). The effect of *Scrophularia striata* hydroalcoholic extract in the prevention of gastric ulcers induced by indomethacin in rats. Journal of Animal Biology, 9(4): 79-90. [In Persian]
- Finaud, J., Lac, G. and Filaire, E. (2006). Oxidative stress: Relationship with exercise and training. Sports Medicine, 36(4): 327-358.
- Forat Yazdi, M., Giahi Yazdi, M. and Sorbi, M.H. (2017). Effects of *Artemisia dracunculus* essential oil on blood lipid profiles in hyperlipidemic rat. Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, 25(6): 426-35.
- Frayn, K.N. (2002). Adipose tissue as a buffer for daily lipid flux. Diabetologia, 45(9): 1201-1210.
- Friedler, S., Raziel, A., Strassburger, D., Schachter, M., Soffer, Y. and Ron-El, R. (2002). Factors influencing the outcome of ICSI in patients with obstructive andnon-obstructive azoospermia: a comparative study. Human Reproduction, 17(12): 3114-3121.
- Hammoud, A.O., Gibson, M., Peterson, C.M., Meikle, A.W. and Carrell, D.T. (2008). Impact of male obesity on infertility: a critical review of the current literature. Fertility and Sterility, 90(4): 897-904.
- Hamzavi Jahromi, Z., Zolghadri Jahromi, S., Hemayatkhah Jahromi, V., Kargar Jahromi, H. and Erfanian, S. (2014). Protective effects of curcumin against gamma-radiation on rats. Hormozgan Medical Journal, 18(2): 121-131. [In Persian]
- Jensen, T.K., Andersson, A.M., Jørgensen, N., Andersen, A.G., Carlsen, E. and Skakkebæk, N.E. (2004). Body mass index in relation to semen quality and reproductive hormonesamong 1,558 Danish men. Fertility and Sterility, 82(4): 863-870.
- Jensen, T.K., Heitmann, B.L., Jensen, M.B., Halldorsson, T.I., Andersson, A.M., Skakkebæk, N., *et al*. (2013). High dietary intake of saturated fat is associated with reduced semen quality among 701 young Danish men from the general population. The American Journal of Clinical Nutrition, 97(2) :411-418.
- John, A.R. (2013). Falling sperm counts twenty years on: where are we now? Asian Journal of Andrology, 15(2): 204.
- Kianbakht, S. and Dabaghian, F.H. (2013). Improved glycemic control and lipid profile in hyperlipidemic type 2 diabetic patients consuming Salvia officinalis L. leaf extract: A randomized placebo. Controlled clinical trial. Complementary Therapies in Medicine, 21(5): 441-446.
- Lakhan, S.E. and Vieira, K.F. (2010). Nutritional and herbal supplements for anxiety and anxiety-related disorders: systematic review. Nutrition Journal, 9(1): 42-55.

- Levi, A.J., Fisher, A.M., Hughes, L. and Hendry, W.F. (1979). Male infertility due to sulphasalazine. Lancet, 2(8137): 276-278.
- Li, Y., Liu, L.,Wang, B., Xiong, J., Li, Q. and Chen, D. (2013). Impairment of reproductive function in a male rat model of non-alcoholic fatty liver disease and beneficial effect of N-3 fatty acid supplementation. Toxicology Letters, 222(2): 224-232.
- Lombardo, F., Sansone, A., Romanelli, F., Paoli, D., Gandini, L. and Lenzi, A. (2011). The role of antioxidant therapy in the treatment of male infertility: an overview. Asian Journal of Andrology, 13(5): 690-697.
- Magnusdottir, E.V., Thorsteinsson, T., Thorsteinsdottir, S., Heimisdottir, M. and Olafsdottir, K. (2005). Persistent organochlorines, sedentary occupation, obesity and human male subfertility. Human Reproduction, 20(1): 208-215.
- Malini, T. and Vanithakumari, G. (1991). Antifertility effects of beta-sitosterol in male albino rats. Journal of Ethnopharmacology, 35(2): 149-153.
- Mosallanejad, B., Avizeh, R., Razi Jalali, M. and Jahanmardi, A. (2016). Comparative evaluation of garlic and atorvastatin effects on lipid profiles changes in dog. Iranian Veterinary Journal, 12(2): 93-102.
- Oluyemi Kayode, A., Jimoh Olusegun, R., Adesanya Olamide, A., Omotuyi Idowu, O., Josiah Sunday, J. and Oyesola Tolulope, O. (2007). Effects of crude ethanolic extract of *Garcinia cambogia* on the reproductive system of male Wistar rats (*Rattus novergicus*). African Journal of Biotechnology, 6(10): 1236-1238.
- Pan, M., Song, Y.L., Xu, J.M. and Gan, H.Z. (2006). Melatonin ameliorates nonalcoholic fatty liver induced by high-fat diet in rats. Journal of Pineal Research, 41(1):79- 84.
- Park, S.U., Park, N., Kim, Y.K., Suh, S.Y., Eom, S.H. and Lee, S.Y. (2009). Application of plant biotechnology in the medicinal plant. Rehmannia glutinosa Liboschitz. Journal of Medicinal Plants Research, 3(13):1258-1263.
- Ramlau-Hansen, C.H., Hansen, M., Jensen, C.R., Olsen, J., Bonde, J.P. and Thulstrup, A.M. (2010). Semen quality and reproductive hormones according to birthweight and body mass index in childhood and adult life: two decades of follow-up. Fertility and Sterility, 94(2): 610-618.
- Rudkhaneei, K., Aghajaninasab, M., Abbasi, M. and Mohammadghasemi, F. (2016). Effect of apple vinegar in spermatogenesis and serum total antioxidant status in rats under high fat diet. Scientific Journal of Hamadan University of Medical Sciences, 2(3): 249-258. [In Persian]
- Sainath, S.B., Meena, R., Supriya, C.H., Reddy, K.P. and Reddy, P.S. (2011). Protective role of Centella asiatica on lead-induced oxidative stress and suppressed reproductive health in male rats. Environmental Toxicology and Pharmacology, 32(2): 146-154.
- Srinivasan, K. and Ramarao, P. (2007). Animal models in type 2 diabetes research: an overview. The Indian Journal of Medical Research, 125(3): 451-472.
- Vargas, A.J. and Burd, R. (2010). Hormesis and synergy: pathways and mechanisms of quercetin in cancer prevention and management. Nutrition Reviews, 68(7): 418-428.
- Yan, W.J., Mu, Y., Yu, N., Yi, T.L., Zhang, Y., Pang, X.L., *et al*. (2015). Protective effects of metformin on zreproductive function in obese male rats induced by high-fat diet. Journal of Assisted Reproduction and Genetics, 32(7): 1097-1104.
- Yazdanparast, R. and Alavi, M. (2001). Anti hyperlipidaemic and hypercholesterolaemic effects of *Anethum graveolens* leaves after the removal of furocoumarins. Cytobios, 105(410): 185-191.
- Yeh, Y.Y. and Liu, L. (2001). Cholesterol-lowering effect of garlic extracts and organosulfur compounds: human and animal studies. The Journal of Nutrition, 131(3): 989S-993S.
- Zaheri, M., Ebrahimi vosta calai, S. and Cheraghi, J. (2011). Protective effect of aerial parts extract of Scrophularia striata on cadmium and mecury induced nephrotoxicity in rats. Journal of Babol University of Medical Sciences, 13(4): 48-53. [In Persian]