

تاثیر عصاره گیاه زیرفون (*Tilia platyphyllos* L.) بر میزان هورمون های جنسی و تغییرات هیستوپاتولوژیک در موش های صحرایی نر سالم و مبتلا به واریکوسل

ریحانه مجبلی^{۱،۲}، اکرم عیدی^۳، پژمان مرتضوی^۴، محمد امین عدالت منش^۵

۱- دانشجوی دکتری فیزیولوژی جانوری، گروه آموزشی زیست شناسی، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران.

۲- دانشجوی دکتری فیزیولوژی جانوری، گروه آموزشی زیست شناسی، واحد علوم و تحقیقات فارس، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران.

۳- دکتری تخصصی فیزیولوژی، استاد گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

akram_eidi@yahoo.com

۴- دکتری تخصصی پاتوبیولوژی، دانشیار دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

۵- استادیار گروه آموزشی زیست شناسی، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۷/۸ **تاریخ پذیرش:** ۱۴۰۰/۱۰/۶

چکیده

زمینه و هدف: واریکوسل یکی از شایع ترین علل ناباروری در مردان دارد. مطالعات گوناگونی در خصوص درمان واریکوسل و تغییرات هورمونی بیضه ها صورت گرفته است. یکی از درمان های غیرتهاجمی واریکوسل درمان با گیاه زیرفون (*Tilia platyphyllos* L.) به عنوان یک دارویی در درمان زخم معده، اسپاسم و آرام بخش استفاده می شود. ترکیبات شیمیایی همانند ترپنوئیدها و فلاونوئیدها در گیاه زیرفون شناسایی شده است. هدف بررسی اثر عصاره گیاه زیرفون بر آسیب شناسی بیضه موش های صحرایی سالم و واریکوسلی انجام گرفت.

روش کار: در این تحقیق ۴۸ سر موش صحرایی به صورت تصادفی در ۸ گروه تقسیم شدند: کنترل سالم، گروه های سالم دریافت کننده عصاره زیرفون (۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن دریافت خوراکی، روزانه)، کنترل نابارور (جراحی واریکوسل)، گروه های واریکوسلی همراه با عصاره زیرفون (۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن دریافت خوراکی، روزانه). پس از ۶۰ روز خون گیری و آزمایشات هورمونی و بافتی بیضه انجام شد و داده ها با آنالیز واریانس یک عاملی ارزیابی شدند. یافته ها: نتایج نشان داد که میزان هورمون تستوسترون کاهش و میزان هورمون LH و FSH افزایش معناداری در حیوانات کنترل واریکوسل در مقایسه با کنترل سالم نموده است. تیمار عصاره زیرفون از تغییرات هورمون های جنسی جلوگیری کرده و سبب بهبود معناداری در میزان هورمون های جنسی و بافتی حیوانات نابارور شده است. نتیجه گیری: ظاهراً زیرفون به عنوان عامل آنتی اکسیدانی در برابر آسیب های القاء واریکوسل در موش صحرایی عمل می کند.

واژه های کلیدی: زیرفون، واریکوسل، بیضه، موش صحرایی.

مقدمه

ناباروری می شود (۳۳). یکی از شایع ترین ناهنجاری های ساختاری دستگاه تناسلی در باروری مردان، واریکوسل است که باعث اتساع و پیچش غیرطبیعی وریدهای اسکروتوم در شبکه پمپینفرم می شود (۳۶). واریکوسل در ۱۵ درصد مردان سالم و تا ۳۵ درصد مردان مبتلا به

باروری فرآیندی است که تحت تاثیر عوامل مختلفی قرار می گیرد. محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گناد با کنترل هورمونی در این فرآیند نقش مهمی دارند. اختلال در این محور باعث تغییر در کنترل سنتز هورمون های جنسی و موجب بروز اختلالاتی در سیستم تولید مثلی و

های لیدینگ شود و سطح هورمون های FSH و LH را کاهش دهد (۶). با توجه به عوارض واریکوسلکتومی که شامل ایجاد هیدروسل (آب آوردگی بیضه) و آتروفی بیضه است، ضرورت درمان ناباروری با عارضه واریکوسل نیاز به روش های درمانی جدید و غیر تهاجمی را مطرح ساخته و آن استفاده از عوامل آنتی اکسیدانی است که می تواند در درمان این گونه بیماران موثر واقع شود. آنتی اکسیدان ها ترکیبات با موادی بوده که باعث خنثی کردن و سرکوب تشکیل رادیکال های آزاد اکسیژن (ROS) و یا ممانعت از اعمال آن ها می-شوند. با این حال، درمان آنتی اکسیدانی نیز به عنوان یک روش جدید می تواند به جای روش جراحی واریکوسلکتومی در نظر گرفته شود (۳۹). اخیراً مطالعاتی با هدف درمان جایگزین برای بهبود شرایط واریکوسل انجام شده است. این مطالعات اثرات مثبت قابل توجه داروها و عصاره های گیاهی در درمان ناباروری مردان مبتلا به واریکوسل را اثبات کرده اند (۶). استفاده از گیاهان دارویی در بسیاری از کشورهای توسعه یافته و در حال توسعه به سرعت در حال افزایش است (۲۱). تاکنون تحقیقات بسیاری با استفاده از عصاره های گیاهی مختلف بر روی محور هورمونی گناد و پارامترهای بیضه انجام شده است. که عصاره های گیاهی نقش موثری در محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گناد دارند که سبب تغییراتی در میزان هورمون های تستوسترون، LH و FSH می شوند و در نهایت باعث افزایش پارامترهای بیضه ای می شوند (۲۲). هورمون FSH بر تنظیم عملکرد سلول-های سرتولی عمل اسپرماتوژنز را تنظیم می کند و هورمون LH فعالیت سلول های لیدینگ را کنترل می-کند (۱۳). مطالعات زیادی نشان داده است که ارتباط معنی داری بین سطح هورمون تستوسترون سرم و واریکوسل وجود دارد (۷،۳۰). سطح سرمی هورمون تستوسترون در افراد مبتلا به واریکوسل به طور معناداری

ناباروری اولیه شناخته شده است (۴). واریکوسل از نظر شدت و پیشرفت در سه درجه طبقه بندی می گردد: درجه ۱: وریدها هنگام زور زدن قابل لمس می باشد. درجه ۲: وریدها در حالت ایستاده قابل لمس می-باشد. درجه ۳: وریدها در حالت ایستاده قابل مشاهده می-باشد (۱۵).

بیضه ها چندین هورمون جنسی مردانه ترشح می کنند که روی هم آندروژن ها نامیده می شوند. واریکوسل می تواند در روند تولید هورمون های جنسی بیضه اختلال ایجاد کند (۳۳). اختلال در محور هیپوفیز-گناد باعث ریفلاکس متابولیت های کلیه یا آدرنال به ورید اسپرماتیک داخلی و افزایش در فشار هیدروستاتیک توام با ریفلاکس وریدی باعث تاثیرات واریکوسل بر عملکرد بیضه می شود (۱۶، ۱۵) در سال های اخیر، بسیاری از مطالعات نشان دادند که واریکوسل از دیدگاه های مختلفی، تأثیر بر اسپرماتوژنز و محورهای هورمونی جنسی داشته است (۱۲). واریکوسل عامل اصلی اختلال در اسپرماتوژنز و شایع ترین علت قابل اصلاح ناباروری مردان است (۱۰). واریکوسل باعث افزایش دمای بیضه ها شده و می تواند عملکرد سلول لیدینگ بیضه را با کاهش پی در پی تولید تستوسترون مختل کند (۲۳، ۳۱). اختلال در عملکرد سلول لیدینگ، متعاقباً باعث افزایش سطح هورمون های FSH و LH سرم می شود LH و FSH هورمون های اولیه هیپوفیز هستند که عملکرد بیضه ها را تنظیم می کنند (۱۹). درمان واریکوسل با واریکوسلکتومی می تواند پتانسیل باروری را افزایش دهد (۴۲). واریکوسلکتومی رایج ترین روش درمان ناباروری ناشی از واریکوسل است و دمای اسکروتوم را در مردان نابارور کاهش می دهد. بسیاری از مطالعات گزارش می دهند که واریکوسلکتومی می-تواند با افزایش تستوسترون باعث بهبود عملکرد سلول-

فیتوشیمیایی شامل ویتامین ها، کاروتنوئیدها، ترپنوئیدها، آلکالوئیدها، فلاونوئیدها، لیگنان ها، فنل های ساده و اسیدهای فنولی و غیره مربوط می شود (۴۳). مواد موثره در گل زیرفون از جمله فلاونوئیدها سبب کاهش خطر ابتلا به اختلال های مختلف از جمله سرطان و بیماری های قلبی - عروقی می شود. فعالیت آنتی اکسیدانی، ضدالتهابی و ضدتوموری در گیاهانی از جمله گیاه زیرفون دیده می شود (۸). بنابراین فعالیت آنتی اکسیدانی گیاه زیرفون با مقادیر بالای ترکیبات فنلی، به ویژه مشتقات کوئرستین (ایزو کوئرستین - روتین و آستراگالین و فلاونوئیدهای اصلی برگ، کوئرستین ۳-۷ - دی رامنوزید و کامپفرول ۳-۷ دی رامنوزید هستند) ارتباط مستقیمی دارد. با این وجود، اثر قوی پاک کننده رادیکال های آزاد گیاه زیرفون، به ویژه گلیکوزیدهای کوئرستین (روتین، کوئرستین و ایزو کوئرستین)، گلیکوزیدهای کامپرول و اسیدهای فنلی (کافئین، اسیدهای کوماریک و کلروژنیک) قبلاً نشان داده شده است. هم چنین، گل زیرفون حاوی موسیلاژ، p- کوماریک اسید، کامپفرول، ترپنوبی و کوئرستین و روغن های فرار مانند سیترال، سترنولول، اتوژنول و لیمونن است (۲۸). گیاه زیرفون پتانسیل زیست شناختی بالایی از لحاظ فعالیت آنتی اکسیدانی، ضدالتهاب و ضد توموری دارد و اثر سمیت سلولی ندارد (۲۵). آنتی اکسیدان ها با منشاء گیاهان دارویی ممکن است اثر خود را بر سیستم های بیولوژیکی را کاهش داده اند. گیاهان دارویی مقادیر قابل توجهی از آنتی اکسیدان ها نظیر فلاونوئیدها، فنول ها، ترکیبات فنولی و آلکالوئیدها را تولید می کنند که بدن را از استرس اکسیداتیو محافظت می کنند. نتایج بررسی های انجام شده حاکی از آن است که گیاه زیرفون حاوی فلاونوئیدها می باشد (۴۷) و هم چنین با تحقیقاتی که Yalayaci و همکارانش در سال ۲۰۱۴ انجام دادند از نقش آنتی اکسیدانی گیاه زیرفون

پایین تر از افراد عادی بوده است (۴۰). با توجه به درگیری بیضه در بیماری واریکوسل و احتمال تغییر عملکرد سلول های لیدیگ، احتمال تغییر در ترشح هورمون ها وجود دارد (۱۸). واریکوسل از طریق افزایش غیرطبیعی دمای بیضه ها منجر به کاهش سطح هورمون تستوسترون می شود. واریکوسل هم چنین می تواند سطح تستوسترون را از طریق استرس اکسیداتیو و اختلال در سنتز آندروژن ها کاهش دهد. کمبود تستوسترون منجر به کاهش عملکرد جنسی، اختلال نعوظ و انزال، افسردگی، اختلال خواب، حساسیت به سندرم متابولیک، کم خونی، افزایش لپتین و اختلال وازوموتور می شود (۲۰، ۴۵). Kaneko و همکارانش در سال ۲۰۰۷ واریکوسلکتومی بر روی افراد انجام دادند. آن ها دریافتند که رشد بیضه (جلوگیری از آتروفیه شدن بیضه) در پسران پس از واریکوسلکتومی ایجاد شده است. سطح هورمون FSH در پسران با رشد قابل توجه بیضه، کم تر از پسران بدون رشد بیضه ای بوده است. بهبود غلظت اسپرم در مردان پس از واریکوسلکتومی مشاهده شد. سطح هورمونی FSH سرم ممکن است پارامتر مناسب برای رشد و عملکرد بیضه ها پس از واریکوسلکتومی باشد (۲۷). سطح هورمون های FSH و LH سرم قبل از واریکوسلکتومی بیشتر بوده است (۳۸). گیاه زیرفون با نام علمی (*Tilia platyphyllos*)، درختی از تیره پنیرکیان (Malvaceae) راسته پنیرک سانان (Malvales) است. بیشتر در جنگل های نیمکره شمالی در اروپا، آسیا، مرکز و شرق شمال امریکا می باشد (۱۷). گیاه زیرفون به عنوان گیاهی برای سم زدایی بدن معرفی کرده اند. هم چنین از نظر خواص دارویی و درمانی طی تحقیقاتی که انجام شده دارای اثرات آرامبخشی، اشتها آور، مدر (۴۷) ضد اسپاسم، خلط آور، درمان میگرن و سرفه (۱۴) و هم چنین دارای اثرات موثری در بی خوابی، روماتیسم (۴۸) می باشد. این ویژگی به دارا بودن انواع مختلف ترکیبات

محل برش با نخ بخیه ۰-۳ در دو لایه (عضله و پوست) بخیه زده شد.

گروه های مورد مطالعه

موش ها در ۸ گروه ۶ تایی: کنترل سالم، کنترل نابارور (جراحی واریکوسل)، گروه تجربی سالم و گروه تجربی نابارور دسته بندی شدند

گروه کنترل سالم که فقط آب و غذا دریافت کردند. گروه کنترل نابارور تحت عمل واریکوسل قرار گرفتند و هیچ گونه تیماری دریافت نکردند.

گروه های تجربی سالم، عصاره اتانولی گیاه زیرفون را در دوزهای ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن موش به صورت گاواژ (در حجم ۰/۵ میلی لیتر) دریافت کردند (۱۱).

گروه های تجربی نابارور، علاوه بر القاء واریکوسل، عصاره گیاه زیرفون با دوز ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن موش به صورت گاواژ (در حجم ۰/۵ میلی لیتر) دریافت کردند. مدت تیمار ۶۰ روز بود (۴۶). سپس نمونه های خونی از قلب حیوانات گرفته شده و با دور 3000 rpm به مدت پنج دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس سرم آن ها در دمای ۸۰- درجه سانتی گراد گرفته شده و اندازه گیری سطح هورمون های LH، FSH و تستوسترون با کیت الایزا (ELISA Kits) اندازه گیری شد (۳۲). سپس بیضه ها از ناحیه اپی دیدیم جدا شدند. بیضه ها به ظرف های حاوی محلول فیکساتور بوئن انتقال یافته و هر کدام کد گذاری شدند و مطابق با روش های معمول بافت شناسی از نمونه های مورد نظر بلوک های پارافینی تهیه شد. برش و رنگ آمیزی هماتوکسیلین هاریس - اتوزین (H & E) انجام شد. تغییرهای هیستوپاتولوژیک (وضعیت لوله های اسپرم ساز، تعداد اسپرماتوسیت، اسپرماتوزوآ و اسپرماتید) بررسی شد. بافت بیضه بر اساس شاخص جانسون ارزیابی گردید (۲۶).

در برابر استرس اکسیداتیو گزارش می کند (۴۶). در تحقیق حاضر تاثیر عصاره گیاه زیرفون بر آسیب شناسی هورمون های بیضه در موش های صحرایی نر سالم و مبتلا به واریکوسل بررسی شد.

مواد و روش ها

آماده سازی عصاره

در پژوهش تجربی حاضر، برگ گیاه زیرفون از عطاری خریداری شد و سپس آسیاب گردید و به صورت پودر تهیه شد. پودر حاصله با استفاده از اتانول ۸۰ درصد عصاره گیری شد و محصول حاصله توسط روتاری (Rotary) تغلیظ گردید (۴۱).

حیوانات آزمایشگاهی

تعداد ۴۸ سر موش های صحرایی نر بالغ (Rat) نژاد ویستار (Wistar) با وزن حدود ۲۲۰-۲۵۰ گرم از انستیتو پاستور خریداری گردید و در شرایط استاندارد (۱۲) ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی و دمای 23 ± 2 درجه سانتی گراد و رطوبت ۴۰ تا ۶۰ درصد و دسترسی آزاد به آب و غذا) نگهداری شدند.

القای واریکوسل در حیوانات

برای القاء واریکوسل در بیضه چپ موش های صحرایی نر از روش ترنر (Turner) استفاده شد (۴۴). پس از القاء بیهوشی با تزریق درون صفاقی (IP) مخلوط کتامین ۱۰ درصد (دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم، مرک، آلمان) و زایلازین ۲ درصد (دوز ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم، مرک، آلمان) موش ها به پشت قرار داده و یک برش میدلاین عمودی در شکم در حدود ۳-۴ سانتی متر ایجاد شد. پس از مشاهده ورید کلیوی چپ و محل ورود ورید اسپرماتیک داخلی به آن، به آرامی اطراف آن آزاد گردید و یک آنژیوکت شماره ۲۰ به موازات ورید قرار داده شد و با نخ بخیه سیلک ۰-۴ روی ورید کلیوی چپ گره زده شد. طبق متد Koksai قطر ورید کلیه چپ حدود ۵۰٪ کاهش خواهد داد. سپس

مقایسه با کنترل واریکوسل افزایش معناداری ($p \leq 0/001$)
 (p) نموده است. نتایج تحقیق نشان داد که سطح هورمون
 LH و FSH در حیوانات کنترل واریکوسل شده در
 مقایسه با کنترل سالم افزایش معناداری ($p < 0/001$)
 ($p \leq 0/01$) نموده است. نتایج تیمار عصاره گیاه زیرفون
 در دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن
 بر سطح هورمون LH و FSH در مقایسه با کنترل
 واریکوسل کاهش معناداری ($p < 0/001$)، $p \leq 0/01$
 ($p \leq 0/05$) نموده است (جدول ۱). هم چنین نتایج بافت
 شناسی در ۳ گروه کنترل سالم، گروه کنترل نابارور
 تحت عمل واریکوسل و گروه تجربی نابارور که عصاره
 گیاه زیرفون با دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن
 دریافت کردند به این صورت است. در گروه کنترل
 سالم ضایعه خاصی در بافت بیضه مشاهده نشد.
 اسپرماتوزنزیس کامل همراه با لوله های اسپرم ساز
 سازمان یافته مشاهده شد و در داخل لوله های اسپرم -
 ساز، اسپرماتوسیت، اسپرماتید و اسپرماتوزوآ مشاهده
 شد. همچنین سلول های بینابینی قابل مشاهده می
 باشند (شکل ۱- الف و ب). هم چنین در گروه کنترل
 نابارور در داخل لوله های اسپرم ساز تقریباً تمامی سلول-
 ها دژنره شده و فقط تعداد کمی اسپرماتوگونی مشاهده
 شد (شکل ۱- پ و ت). در گروه تجربی نابارور تیمار
 شده با عصاره زیرفون با دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم
 وزن بدن در لوله های اسپرم ساز تعداد زیادی
 اسپرماتوسیت بدون حضور اسپرماتوزوآ و تعداد قابل
 توجهی اسپرماتید مشاهده شد (شکل ۱- ث و ج).
 ارزیابی بافت بیضه بر اساس شاخص جانسون نشان داد که
 شاخص جانسون در گروه های حیوانات کنترل سالم و
 تجربی سالم تیمار شده با عصاره زیرفون با دوز ۲۰۰ میلی
 گرم بر کیلوگرم وزن بدن، عدد ۱۰ است. شاخص
 جانسون در حیوانات کنترل نابارور به میزان معناداری
 ($p \leq 0/001$) در مقایسه با کنترل سالم کاهش یافته است

۱۰- اسپرماتوزنزیس کامل همراه با لوله های اسپرم
 ساز سازمان یافته است.
 ۹- تعداد زیادی اسپرماتوزوآ مشاهده می شود، ولی
 سازمان یابی اسپرماتوزنزیس و لوله ها کامل نیست.
 ۸- فقط تعدادی اسپرماتوزوآ مشاهده می شود.
 ۷- تعداد زیادی اسپرماتوسیت بدون حضور
 اسپرماتوزوآ مشاهده می شود.
 ۶- فقط تعدادی اسپرماتید مشاهده می شود.
 ۵- تعداد زیادی اسپرماتوسیت بدون حضور
 اسپرماتید مشاهده می شود.
 ۴- فقط تعداد کمی اسپرماتوسیت مشاهده می شود.
 ۳- فقط اسپرماتوگونی مشاهده می شود.
 ۲- هیچ جرم سلی مشاهده نمی شود.
 ۱- نه جرم سلی و نه سلول سرتولی مشاهده نمی شود.

تحلیل آماری

داده های به دست آمده با استفاده از نرم افزار SPSS
 20 و توسط آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (one-way
 ANOVA) و پس آزمون توکی (Tukey) بررسی
 گردید. نتایج به صورت میانگین \pm انحراف از معیار ارائه
 گردید. ملاک استنتاج آماری $p \leq 0/05$ در نظر گرفته
 شد.

نتایج

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تیمار عصاره گیاه
 زیرفون در دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر
 کیلوگرم وزن بدن تغییر معناداری بر سطح هورمون
 تستوسترون، LH و FSH موش های سالم در مقایسه با
 کنترل سالم ایجاد نموده است. نتایج تحقیق نشان داد که
 میزان هورمون تستوسترون در حیوانات کنترل
 واریکوسل شده در مقایسه با کنترل سالم کاهش
 معناداری ($p \leq 0/001$) نموده است. نتایج تیمار عصاره
 گیاه زیرفون در دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر
 کیلوگرم وزن بدن بر سطح هورمون تستوسترون در

بار است که گیاه زیرفون برای هورمون های جنسی چه مردان استفاده شده است. تحقیقی بسیار جدید می باشد که در هیچ مقاله ای ازش استفاده نشده است.

و هم چنین تیمار عصاره زیرفون با دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن در حیوانات تجربی نابارور سبب افزایش معنادار ($p \leq 0.01$) شاخص جانسون در مقایسه با کنترل نابارور شده است (جدول ۲). در این تحقیق اولین

جدول ۱- بررسی اثر تیمار عصاره زیرفون با دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم/کیلوگرم وزن بدن بر میزان فعالیت هورمون-های LH، FSH و تستوسترون در سرم موش های سالم و موش های واریکوسل شده.

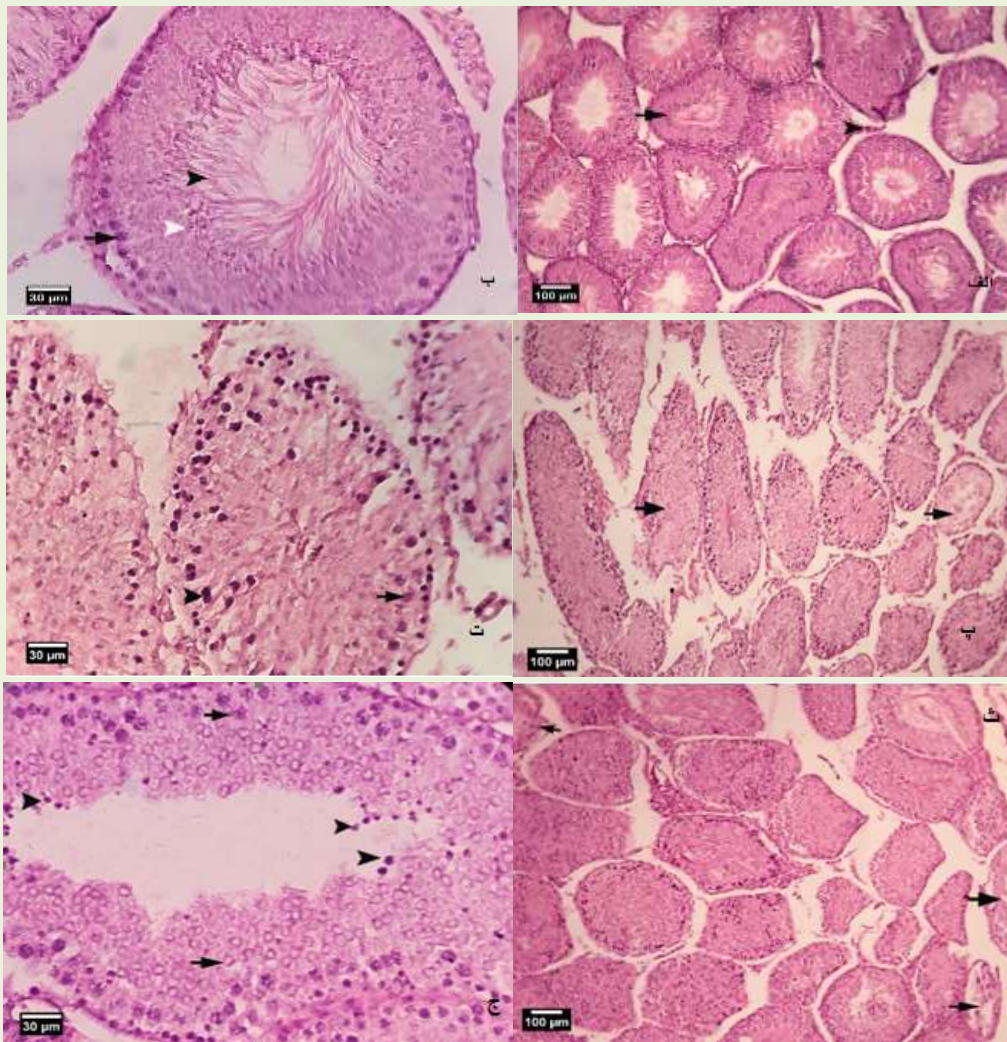
هورمون تستوسترون (نانوگرم بر دسی لیتر)	هورمون LH میلی واحد بر لیتر	هورمون FSH میلی واحد بر میلی لیتر	گروه ها
۸/۲ ± ۰/۳۶	۶/۵ ± ۰/۱۹	۳۱ ± ۲/۵	گروه ۱ (کنترل سالم)
۷/۹ ± ۱/۲۳	۶/۳ ± ۱/۷۶	۲۴ ± ۸/۴	گروه ۲ (عصاره ۰/۰۵ میلی گرم بر کیلوگرم)
۸/۱ ± ۰/۳۳	۶/۵ ± ۲/۳	۲۲ ± ۹/۴	گروه ۳ (عصاره ۰/۱ میلی گرم بر کیلوگرم)
۷/۵ ± ۱/۱۹	۶/۹ ± ۰/۲۲	۲۳ ± ۲/۵	گروه ۴ (عصاره ۰/۲ میلی گرم بر کیلوگرم)
*** ۲/۱ ± ۱/۰۹	*** ۱۲/۱ ± ۲/۸	*** ۶۲ ± ۴/۹	گروه ۵ (واریکوسل)
*** ۲/۸ ± ۰/۱۹	*** ۱۱/۷ ± ۱/۴۲	** ۳۲ ± ۴/۸	گروه ۶ (واریکوسل با عصاره ۰/۰۵ میلی گرم بر کیلوگرم)
+++ ** ۵/۷ ± ۰/۲۷	+ ** ۱۰/۲ ± ۰/۲۰	+ ۱۹ ± ۵/۸	گروه ۷ (واریکوسل با عصاره ۰/۱ میلی گرم بر کیلوگرم)
+++ ۷/۸ ± ۱/۳۶	+++ ۷/۱ ± ۰/۴۱	++ ۲۱ ± ۶/۹	گروه ۸ (واریکوسل با عصاره ۰/۲ میلی گرم بر کیلوگرم)

داده ها به صورت میانگین ± انحراف معیار ارائه شده اند. $p < 0.001$ و $p < 0.01$ ** اختلاف از گروه کنترل سالم را نشان می دهد و $p < 0.001$ +++، $p < 0.01$ ++ و $p < 0.05$ + اختلاف از گروه کنترل نابارور را نشان می دهد

جدول ۲- اثر تیمار عصاره اتانولی زیرفون بر ارزیابی هیستولوژی بافت بیضه در موش های صحرایی سالم و نابارور واریکوسل شده

گروه	امتیاز بافتی بر اساس شاخص جانسون
کنترل سالم	۱۰ ± ۰/۰
کنترل نابارور (واریکوسل)	*** ۳/۶ ± ۰/۴
تجربی نابارور همراه با عصاره زیرفون دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن	+++ ۷ ± ۰/۵

داده ها به صورت میانگین ± انحراف معیار ارائه شده اند. $p < 0.001$ *** اختلاف از گروه کنترل سالم را نشان می دهد و $p < 0.001$ +++ اختلاف از گروه کنترل نابارور را نشان می دهد



شکل ۱- مقاطعی از لوله های اسپرم ساز بیضه با بزرگنمایی (x400، x100).

الف) گروه کنترل سالم، لوله های اسپرم ساز (پیکان) و در بین آنها سلول های بینابینی (نوک پیکان) با بزرگنمایی x100 مشاهده می شود و در شکل ب) گروه کنترل با بزرگنمایی x400 نشان داده شده است که سلول های اسپرماتوسیت (پیکان) اسپرماتید (نوک پیکان سفید) و تعداد زیادی اسپرماتوزوآ (نوک پیکان سیاه) دیده می شود. در شکل پ) گروه کنترل نابارور (واریکوسل)، تخریب شدید لوله های اسپرم ساز (پیکان) با بزرگنمایی x100 در شکل ت) همچنین تخریب شدید سلول های لوله (نوک پیکان) دیده می شود. تعداد کمی اسپرماتوسیت (پیکان) با بزرگنمایی x400 مشاهده می شود. در شکل ث) بافت بیضه در گروه تجربی واریکوسلی که دریافت کننده عصاره زیرفون با دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن می باشد که تخریب اندک لوله های اسپرم ساز (پیکان) با بزرگنمایی x100 مشاهده می شود و در شکل ج) که تعداد زیادی اسپرماتوسیت (پیکان) و تعداد زیاد اسپرماتید (نوک پیکان) با بزرگنمایی x400 نشان می دهد.

بحث و نتیجه گیری

در مطالعه ای که توسط Raboch و همکارانش در سال ۱۹۷۵ بر روی ۴۵ بیمار مبتلا به اختلال عملکرد جنسی و ۱۰۸ مرد با عملکرد جنسی طبیعی به عنوان گروه شاهد انجام شد، مشخص گردید هورمون تستوسترون در

مبتلایان به اختلال جنسی کمتر از گروه طبیعی بود (۳۵). که با تحقیق حاضر هم خوانی داشته و واریکوسل باعث کاهش هورمون جنسی تستوسترون شده است. در سال ۲۰۱۱ محققین دریافتند که جراحی واریکوسلکتومی احتمال بیشتری در بارداری مردان ایجاد می کند.

واریکوسلکتومی در بیماران نابارور موفق بوده و باعث کاهش غلظت سرمی هورمون های LH و FSH می شود (۹). در تحقیقاتی که بر روی بیمارانی که تحت واریکوسلکتومی قرار گرفته بودند، مشخص گردید که سطح هورمون تستوسترون بهبود یافته است و هم چنین کاهش سطح هورمون های LH و FSH در همه بیماران پس از واریکوسلکتومی مشاهده گردید که می تواند به دلیل افزایش سطح تستوسترون باشد که با تحقیق حاضر هم خوانی داشته است و گیاه زیرفون با خاصیت آنتی اکسیدانی خود باعث بهبود ناباروری شده است و سطح تستوسترون را افزایش و LH و FSH را کاهش داده است (۴،۲۹). تحقیقات نشان داده است که ارتباطی بین ناباروری ناشی از واریکوسل و استرس اکسیداتیو در موش صحرایی نر هست که باعث افزایش غلظت اکسیدان ها و کاهش غلظت آنتی اکسیدان ها در مردان نابارور می شود (۱،۳۴). واریکوسل باعث افزایش تولید رادیکال های آزاد (ROS) و کاهش خاصیت آنتی اکسیدانی می شود که منجر به استرس اکسیداتیو شده و اختلال در عملکرد هورمون های جنسی مردان و بافت بیضه و اسپرم ها می شوند (۲). آسیب اکسیداتیو با بیماری واریکوسل همراه است، بنابراین درمان با آنتی اکسیدان-ها (گیاه زیرفون) به عنوان یک روش درمانی مناسب در انواع اختلالات ناباروری در نظر گرفته می شود. در تحقیقاتی که Yayalaci و همکارانش در طول ۵۰ روز تیمار با گیاه زیرفون (*T. platyphyllos*) خاصیت آنتی اکسیدانی در برابر استرس اکسیداتیو ناشی از اتانول نشان دادند که اثر محافظتی کبدی در برابر استرس اکسیداتیو ناشی از اتانول با اندازه گیری آسیب کبدی از طریق آنزیم های نشانگر سرمی آنزیم های ALT، AST و سطوح آنزیم های TCHOL، TALB، TPRO، LDH و مورد ارزیابی قرار گرفت، نشان داد که زیرفون نمی تواند نقش آنتی اکسیدانی در موش ها داشته باشد. ولی با

بررسی نتایجی که در بافت های مختلف بدن به دست آورد می توان گفت اثر آنتی اکسیدانی در بافت های مختلف دارد. در بافت کبد افزایش معنی داری CAT در گروه ۳ (۲ درصد عصاره گیاه زیرفون) نسبت به گروه کنترل و افزایش معنی داری گروه ۴ (۲ درصد عصاره گیاه زیرفون همراه با ۲۰ درصد اتانول) نسبت به سایر گروه ها را نشان داده که نتیجه خاصیت آنتی اکسیدانی گیاه زیرفون می باشد. در بافت مغز افزایش معنی داری گروه ۴ (۲ درصد عصاره گیاه زیرفون همراه با ۲۰ درصد اتانول) در سطح فاکتوری GPX نسبت به سایر گروه ها و افزایش معنی داری گروه ۲ (اتانول ۲۰ درصد)، در گروه ۳ (۲ درصد عصاره گیاه زیرفون) و گروه ۴ (۲ درصد عصاره گیاه زیرفون همراه با ۲۰ درصد اتانول) نسبت به گروه کنترل را نشان داده است. هم چنین کاهش معنی داری MDA گروه ۴ (۲ درصد عصاره گیاه زیرفون همراه با ۲۰ درصد اتانول) نسبت به گروه کنترل و گروه ۲ (۲۰ درصد اتانول)، افزایش معنی داری CAT در گروه ۳ (۲ درصد عصاره گیاه زیرفون) نسبت به گروه کنترل و افزایش معنی داری گروه ۴ (۲ درصد عصاره گیاه زیرفون همراه با ۲۰ درصد اتانول) نسبت به گروه ۲ (۲۰ درصد اتانول) را نشان داده است. در بافت کلیه افزایش معنی داری GPX و CAT در گروه ۳ و ۴ نسبت به سایر گروه-ها که نشان از خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره زیرفون می باشد. در بافت قلب افزایش معنی داری GSH در گروه ۲ (اتانول ۲۰ درصد)، در گروه ۳ (۲ درصد عصاره گیاه زیرفون) و گروه ۴ (۲ درصد عصاره گیاه زیرفون همراه با ۲۰ درصد اتانول) نسبت به گروه کنترل و هم چنین افزایش معنی داری GPX در گروه ۳ و ۴ نسبت به گروه کنترل و افزایش معنی داری گروه ۴ نسبت به گروه اتانولی و افزایش CAT در گروه ۳ و ۴ نسبت به گروه کنترل. هم چنین کاهش معنی داری MDA در گروه ۴ نسبت به کنترل و گروه اتانولی را نشان می دهد و در

وزن بدن که در داخل لوله تعداد زیادی سلول های اسپرماتوسیت و تعداد قابل توجهی اسپرماتید دیده می- شود و به صورت معناداری سبب بهبود شاخص بافتی در بیضه حیوانات نابارور شده است. مطالعه هیستوپاتولوژیک در بافت بیضه نشان داد که عصاره گیاه زیرفون به صورت معناداری باعث کاهش ناباروری و از الگوی طبیعی بافت بیضه محافظت می کند (۲۴) که در راستای نتایج تحقیق حاضر است. طی تحقیقاتی که Jabeur و همکارانش در سال ۲۰۱۷ انجام دادند مشخص شد که فعالیت ضد التهابی در دو عصاره هیدروآتانولی گیاهی *E. giganteum*، *T. platyphyllos*. وجود دارد ولی اثر بخشی عصاره *T. platyphyllos* بیشتر بوده است، بنابراین ممکن است منبع غنی از ترکیبات فنلی با پتانسیل ضد التهابی در نظر گرفته شود. در واقع فعالیت ضد التهابی در غلظت 22 ± 225 میکروگرم بر میلی لیتر از عصاره هیدروآتانولی *T. platyphyllos* برای مهار ۵۰ درصدی تولید NO موثر بوده است، در حالی که برای *E. giganteum* استفاده از 20 ± 239 میکروگرم در میلی لیتر لازم و ضروری می باشد. به طور کلی، *T. platyphyllos* پتانسیل آنتی اکسیدانی بالاتری نسبت به *E. giganteum* نشان داد، هم به عنوان مهارکننده رادیکال های آزاد و هم به عنوان مهارکننده پراکسیداسیون لیپیدی، که این نتایج به وضوح تایید می- شد. این فعالیت بیولوژیکی مستقیماً با فراوانی نسبی در ترکیبات فنلی مرتبط بود. برای عصاره گیاهی *T. platyphyllos* با اثرات آنتی اکسیدانی بالاتر گزارش شد که نتیجه غلظت بالایی از ترکیبات فنلی می باشد. *T. platyphyllos* پتانسیل زیست فعال بالاتری را نشان داد که از نظر آنتی اکسیدانی ارزیابی شد (اثرات مهار رادیکال آزاد - ۱۰۵ میکروگرم در میلی لیتر و مهار پراکسیداسیون لیپیدی ۵۶ میکروگرم بر میلی لیتر)، اثرات ضد التهابی (۲۲۵ میکروگرم در میلی لیتر، ۵۰ درصد از

اریتروسیت ها سطح گلو تاتیون (GSH) افزایش معنی داری در گروه ۳ (۲ درصد عصاره گیاه زیرفون) نسبت به گروه کنترل دارد و هم چنین افزایش معنی داری گروه ۴ (۲ درصد عصاره گیاه زیرفون همراه با ۲۰ درصد اتانول) نسبت به گروه ۲ (۲۰ درصد اتانول) داشته است. کاهش جزئی مالون دی آلدئید (MDA) در گروه ۳ (۲ درصد عصاره گیاه زیرفون) نشان داده و هم چنین افزایش جزئی کاتالاز (CAT) در گروه ۳ (۲ درصد عصاره گیاه زیرفون) نسبت به گروه کنترل نشان داده است (۴۶). که با تحقیق حاضر هم خوانی دارد که تیمار با عصاره گیاه زیرفون توانسته اثرات مثبتی بر روی هورمون های بیضه داشته باشد. در تحقیقاتی که در سال ۲۰۱۴ انجام دادند، مشخص گردید که عصاره گیاه زیرفون به عنوان از بین برنده رادیکال آزاد با خواص آنتی اکسیدانی قوی می باشد (۴۶). هم چنین طبق تحقیقاتی که همتی برجنی و همکارانش در سال ۲۰۲۰ انجام دادند نشان دادند که عصاره زیرفون با خاصیت آنتی اکسیدانی، از تغییرات بافتی بیضه جلوگیری کرده است. تغییرات هیستوپاتولوژیک (وضعیت لوله های اسپرم ساز، تعداد اسپرماتوسیت، اسپرماتوزوآ و اسپرماتید) بررسی شد. بافت بیضه بر اساس شاخص بافت شناسی جانسون ارزیابی گردید. نتایج نشان داد که در گروه کنترل سالم، سلول های اسپرماتوسیت و اسپرماتوزوآ و اسپرماتید به صورت طبیعی مشاهده می- شود ولی در گروه کنترل نابارور، بیشتر جمعیت سلولی لوله ها از بین رفته بود و تعداد بسیار اندکی اسپرماتوگونی باقی مانده است. در حیوانات تیمار شده با عصاره زیرفون با دوزهای ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن که سلول های اسپرماتید و اسپرماتوزوآ و بقیه رده های اسپرم ساز سالم مشاهده می- شوند. حیوانات نابارور تیمار شده با عصاره اتانولی زیرفون در دوزهای ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم

۲۰۱۳ نشان دادند که عصاره آبی *T. americana* در دوز خوراکی ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم به مدت ۱۵ روز به خو کچه هندی تجویز شد. *T. americana* دارای اثرات محافظت کننده عصبی در برابر آسیب های عصبی ناشی از ایسکمی داشته و فلاونوئیدها و هم چنین ترکیبات غیرقطبی دخیل هستند (۵). طی تحقیقاتی که Rodríguez-Magaña و همکارانش در سال ۲۰۱۹ انجام دادند نشان دادند که از بین ۴ گیاه مورد تحقیق، عصاره متانولی *T. americana* Var فعالیت هیپوگلیسمی با دوز ۵۰۰ میلی گرم دارد که نشان از فعالیت آنتی اکسیدانی بر روی موش های آزمایشگاهی بوده است و این عصاره در مقایسه با سایر عصاره های مورد مطالعه فعالیت بالاتری (۸/۸۵ میلی گرم بر میلی لیتر) را نشان می دهد و سمیت متوسطی دارند (۳۷). نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تیمار عصاره اتانولی گیاه زیرفون تا حد زیادی می تواند آسیب های وارد شده به بافت بیضه را کاهش دهد و باعث بهبود هورمون های جنسی شود. نتایج ارزیابی هورمون های جنسی و بافت بیضه در مطالعه انجام شده نشان داد که احتمالاً عصاره گیاه زیرفون تا حد زیادی با خاصیت آنتی اکسیدانی می تواند آسیب های وارد شده را در شرایط استرس اکسیداتیو ناشی از واریکوسل بر پارامترهای هورمونی و بافت بیضه را کاهش دهد و باعث سرکوب رادیکال های آزاد اکسیژن (ROS) شده و باعث افزایش و بهبود هورمون تستوسترون و کاهش هورمون های LH و FSH در موش های مبتلا به واریکوسل تحت تاثیر دوز مناسب عصاره گیاه زیرفون شود. هم چنین به نظر می رسد عصاره زیرفون اثرات ناشی از واریکوسل را در بافت بیضه به میزان قابل توجهی کاهش دهد این نتایج معنادار می تواند برای اثرات وابسته به دوز عصاره گیاه زیرفون بر روی هورمون های جنسی و بافت بیضه در موش های صحرایی نر مبتلا به واریکوسل تجربی به عنوان اطلاعاتی

تولید اکسید نیتریک را مهار می کند) و فعالیت ضد تومور (در سینه- ۲۲۴ میکروگرم در میلی لیتر، ریه- ۲۴۷ میکروگرم در میلی لیتر، دهانه رحم - ۱۹۵ میکروگرم در میلی لیتر و سلول های کبدی - ۱۷۳ میکروگرم در میلی لیتر) بود. بدون داشتن سلول های سرطانی اثرات سیتوتوکسیک (بیش از ۴۰۰ میکروگرم در میلی لیتر) می باشد. این خواص بیولوژیکی با محتوای و ترکیب آن در ترکیبات فنلی همبستگی مثبت داشت. محتوای فلاونوئید به طور قابل توجهی بالاتر از محتوای اسیدهای فنولیک در هر دو نمونه بود، به ترتیب ۵۰/۴ میلی گرم بر گرم و ۱۱/۶۵ میلی گرم بر گرم برای عصاره هیدرواتانولی گیاه *T. platyphyllos* و ۲۱/۷ میلی گرم بر گرم و ۴/۹۸ میلی گرم بر گرم برای عصاره هیدرواتانولی گیاه *E. giganteum* می باشد که کمتر از *T. platyphyllos* است. با توجه به آزمایشاتی که بر روی عصاره هیدرواتانولی این دو گیاه انجام شد مشخص گردید اثرات آنتی اکسیدانی، ضد التهابی و ضد توموری هر دو نتایج بسیار مثبتی دارند ولی نتایج قطعی به دست آمد از *T. platyphyllos* پتانسیل بیولوژیکی بالاتری نسبت به *E. giganteum* نشان داد، زیرا محتوای و ترکیب آن در ترکیبات فنلی به طور مستقیم با پتانسیل های مشاهده شده در ارتباط است. سمیت سلولی هر دو عصاره گیاهی در سلول های کبدی غیر توموری (PLP2) نشان نداده اند و هم چنین در رده های سلولی تومور (کارسینوم پستان- MCF-7، کارسینوم سلول های غیر کوچک ریه- NCI-H460، کارسینوم گردن رحم HeLa و کارسینوم سلول های کبدی HepG2 مورد بررسی قرار گرفت و نتایج یک بار دیگر نشان داد که *T. platyphyllos* موثرتر از *E. giganteum*، برای تمام رده های سلولی تومور آزمایش شده است. خواص سیتوتوکسیک عصاره های مذکور قبلاً در ادبیات ذکر نشده بود (۲۵). Angeles-López و همکارانش در سال

مطالعه حاضر بخشی از یک پایان نامه دکترای تخصصی فیزیولوژی از دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات فارس بود. از معاونت تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات فارس، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران و دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز برای حمایت از این تحقیق کمال تشکر و قدردانی داریم.

اساسی قلمداد گردد. هم چنین تیمار با عصاره گیاه زیرفون به میزان قابل توجهی اثرات محافظتی در عملکرد بیضه ناشی از واریکوسل در موش های صحرایی نر را افزایش داده است. تحقیق حاضر نشان داد که کاربرد بالینی احتمالی عصاره گیاه زیرفون برای درمان برخی اختلالات بیضه ارائه داده شده است.

تشکر و قدردانی

منابع

1. Abd-Elmoaty, M., Saleh, R., Sharma, R., Agarwal, A. (2010). Increased levels of oxidants and reduced antioxidants in semen of infertile men with varicocele. *Fertil Steril*, 94(4);1531-1534.
2. Agarwal, A., Sharma, RK., Desai, NR., Prabakaran, S., Tavares, A., Sabanegh, E. (2009). Role of oxidative stress in pathogenesis of varicocele and infertility. *Urology*, (3); 461-469 .
3. Alizadeh, M ., Nasebakht, A., Valizadeh, R. (2018). Apreliminary evaluation of serum level of testosterone, LH, and FSH in patients with varicocele after varicocelectomy as a kidney-related disease. *Ther Clin Risk Manag*, 4(14); 1585-1590 .
4. Alsaikhan, B., Alrabeeah, K., Delouya, G., Zini, A. (2016). Epidemiology of varicocele. *Asian J Androl*, 18(2);179-181 .
5. Angeles-López, GE., González-Trujano, ME., Déciga-Campos, M., Ventura-Martínez, R. (2013). Neuroprotective evaluation of *Tilia americana* and *Annona diversifolia* in the neuronal damage induced by intestinal ischemia. *Neurochem Res*, 38(8); 1632-1640.
6. Azizollahi, G., Azizollahi, S., Babaei, H., Kianinejad, M., Baneshi, M., Nematollahimahani, S. (2013). Effects of supplement therapy on sperm parameters, protamine content and acrosomal integrity of varicocelectomized subjects. *J Assist Reprod Genet*, 30(4); 593-599.
7. Bong, GW., Koo, HP. (2004). The adolescent varicocele: to treat or not to treat. *Urol Clin North Am*, 31(3);509-15.
8. Cárdenas-Rodríguez, N., González-Trujano, M., Aguirre-Hernández, E. (2014). Anticonvulsant and antioxidant effects of *Tilia americana* var. mexicana and flavonoids constituents in the pentylen tetrazole induced seizures. *Oxid Med Cell Longev*, 2014; 329172 .
9. Chen, SS., Chen, LK. (2011). Predictive factors of successful varicocelectomy in infertile patients. *Urol Int*, 86(3);320-324.
10. Chiba, K., Fujisawa, M. (2016). Clinical outcomes of varicocele repair in infertile men: a review. *World J Mens Health*, 34(2); 101-109 .
11. Coballase-Urrutia, E., Cárdenas-Rodríguez, N., Carolina González-García, M. (2017). Biochemical and molecular modulation of CCl 4-induced peripheral and central damage by *Tilia americana* var. mexicana extracts. *Saudi Pharm J*, 25(3); 319-331 .
12. Cüce, F., Demiray, Ö., Küçük, U., Olgun Küçük, H. (2016). Varicocele: tissue stress in the etiology. *Turk J Med Sci*, 46(4); 1014-1017.
13. Divya, V., Girish Kumar, V., Nandel, S., Ramchandra, SG. (2014). Dynamics of spermatogenesis. *Annual Research & Review Biology*, 4(1); 38-50 .
14. Duke, JA. (2002). *Handbook of Medicinal herbs*. 2th ed. CRC Press, 467-8.
15. ElBardisi, H., Arafa, M., Rengan, AK. (2005). Varicocele among infertile men in Qatar. *Andrologia*, 49(۴);
16. El-Sakka, AI., Hassoba, HM., Sayed, HM., Tayeb, KA. (2005). Pattern of endocrinal changes in patients with sexual dysfunction. *J Sex Med*, 2(4); 551-8.
17. Evarte-Bundere, G. (2014). Analysis of some limiting ecological factors on the example of the distribution of the genus *Tilia* L. cultivated in Latvia. *Estonian Journal of Ecology*, 63(3);185-202 .
18. Francavilla, S., Bruno, B., Martini, M. (1986). Quantitative evaluation of Leydig cells in testicular biopsies of men with varicocele. *Arch Androl*, 16(2);111-7.
19. Fujisawa, M., Dobashi, M., Yamasaki, T. (2001). Significance of serum inhibin B

- concentration for evaluating improvement in spermatogenesis after varicocelectomy. *Hum Reprod*, 16(9); 1945–1949.
20. Gat, Y., Gornish, M., Belenky, A., Bachar, GN. (2004). Elevation of serum testosterone and free testosterone after embolization of the internal spermatic vein for the treatment of varicocele in infertile men. *Hum Reprod*, 19(10); 2303–2306.
21. Goel, RK., Prabha, T., Kumar, MM., Dorababu, M., Singh, G. (2006). Teratogenicity of *Asparagus racehorses* Willd, Root. *A herbal medicine Indian Jexp Bio*, 44(7); 503-570.
22. Hatami, L., Estakhr, J. (2013). The Effects of hydroalcoholic extract of *Matricaria recutita* on the hormonal pituitary-testis axis and testis tissue changes of mature male rats. *Journal of Fasa University of Medical Sciences Spring*, 3(1); 56-62.
23. Hayden, RP., Tanrikut, C. (2016). Testosterone and varicocele. *Urol Clin North Am*, 43(2); 223–232.
24. Hemmati Borujeni, N., Eidi, A., Mortazavi, P., Oryan, Sh. (2020). Effect of *Tilia platyphyllos* on cadmium chloride – induced testicular damage in adult male wistar rats. *Research in Medicine*, 44(1); 270-275.
25. Jabeur, I., Martins, N., Barros, L., Calhelha, R., Vaz, J., Achour, L. (2017). Contribution of phenolic composition to the antioxidant, anti-inflammatory and antitumor potential of *Equisetum giganteum* L. and *Tilia platyphyllos* Scop. *Food Funct*, 8(3); 975-984.
26. Johnsen, SG. (1970). Testicular biopsy score count—a method for registration of spermatogenesis in human testis: normal values and result in 352 hypogonadal males. *Hormones* 1; 2-25.
27. Kaneko, T., Sasaki, S., Yanai, Y., Umamoto, Y., Kohri, K. (2007). Effect of microsurgical repair of the varicocele on testicular function in adolescence and adulthood. *Int J Urol*, 14(12); 1080–1083.
28. Karioti, A., Chiarabini, L., Alachkar, A., Fawaz Chehna, M., Vincieri, F., Bilia, R. (2014). HPLC-DAD and HPLC-ESI-MS analyses of *Tiliae flos* and its preparations. *J Pharm Biomed Anal*, 100; 205-214.
29. Li, F., Yue, H., Yamaguchi, K. (2012). Effect of surgical repair on testosterone production in infertile men with varicocele: a meta-analysis. *Int J Urol*, 19(2); 149–154.
30. Liu, JJ., Dong, Q., Yang, YR. (2007). Effects of experimental varicocele on the testosterone level in the serum and testis of rats. *Zhonghua Nan Ke Xue*, 13(4); 335-7.
31. Luo, DY., Yang, G., Liu, JJ., Yang, YR., Dong, Q. (2011). Effects of varicocele on testosterone, apoptosis and expression of StAR mRNA in rat Leydig cells. *Asian J Androl*, 13(2); 287–291.
32. Merve, B., Sinem, I., Gozde, K. (2017). Reproductive toxicity after levetiracetam administration in male rats: Evidence for role of hormonal status and oxidative stress. *PLoS One*, 12(4); e0175990.
33. Morovvati, H., Moradi, H.R., Adibmoradi, M., Sheybani, MT., Salar Amoli, J. (2016). Effects of wheat sprout extract on the quality of sperm in rats exposed to lead. *Journal*, 12(3); 76-85.
34. Mostafa, T., Anis, T., Imam, H., El-Nashar, A., Osman, I. (2009). Seminal reactive oxygen species–antioxidant relationship in fertile males with and without varicocele. *Andrologia*, 41; 125-9.
35. Raboch, J., Mellan, J., Starka, L. (1975). Plasma testosterone in male patients with sexual dysfunction. *Arch Sex Behav*, 4(5); 541-5.
36. Redmon, JB., Carey, P., Pryor, JL. (2002). Varicocele- the most common cause of male factor infertility? *Hum Reprod Update*, 8(1); 53-58.
37. Rodríguez-Magaña, MP., Cordero-Pérez, P., Rivas-Morales, C. Hypoglycemic activity of *Tilia americana*, *Borago officinalis*, *Chenopodium nuttalliae*, and *Piper sanctum* on Wistar Rats. *J Diabetes Res*, 2019; 1-6.
38. Salem HK, Mostafa T. Preserved testicular artery at varicocele repair. *Andrologia*, 41(4); 241–245.
39. Staub, C., Johnson, L. (2018). Review: Spermatogenesis in the bull. *Animal*, 12(1); 27-35.
40. Tadayyon, F., Mellat, M., Khorrani, MF., Shahdoost, AA., Haghdoost, FS. (2011). Comparing the serum level of testosterone and the relative frequency of premature ejaculation in patients with varicocele and normal population. *Journal of Isfahan Medical School Original Article*, 28(124); 2032-2038.
41. Tiago, F., Elisabete, N-G., Sara, M. (2021). Toxicological and anti-tumor effects of a linden extract (*Tilia platyphyllos* Scop.) in a HPV16-transgenic mouse model. *Food Funct*, 12(9); 4005-4014.
42. Tiseo, BC., Esteves, SC., Cocuzza, MS. (2016). Summary evidence on the effects of varicocele treatment to improve natural fertility

in subfertile men. Asian J Androl, 18(2); 239–245 .

43. Toker, G., Aslam, M., Zesilada, E., Memisolu, M., Ito, S. (2001). Comparative evaluation of the flavonoid content in officinal *Tiliae flos* and Turkish lime species for quality assessment. J Pharm Biomed Anal, 26; 111–21 .

44. Turner, TT. (2001). The study of varicocele through the use of animal models. Hum Reprod Update, 7(1); 78-84

45. Wein, A., Kavoussi, L., Partin, A., Peters, C. (2011). Campbell Walsh Text Book of Urology. 10th ed. Philadelphia: Elsevier, 810–820 .

46. Yayalacı, Y., Celik, I., Batı, B. (2014). Hepatoprotective and antioxidant activity of linden (*Tilia platyphyllos* L.) infusion against ethanolinduced oxidative stress in rats. J Membr Biol, 247(2); 181-188.

47. Zargari, A. (1997). Medicinal plants, Tehran, Tehran University Publications., 7th edition; Vol. 1, 399-402.

48. Zeppa, S., Vallorani, L., Potenza, L. (2000). Estimation of fungal biomass and transcript levels in *Tilia platyphyllos* *Tuber borchii* ectomycorrhizae. FEMS Microbiol Lett, 188(2); 119-124.



Effect of *Tilia platyphyllos* L. extract on the sex hormones levels and histopathology index in varicocele-induced infertile rats

R. Mohebal^{2,1}, A. Eidi³, P. Mortazavi⁴, M. Amin Edalatmanesh⁵

1.PhD Candidate in physiology, Department of Biology, College Sciences, Fars Science and Research Branch, Islamic Azad University, Fars, Iran.

2.PhD Candidate in physiology, Department of Biology, College Sciences, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Fars, Iran.

3.Full Professor, Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran. eidi@srbiau.ac.ir, akram_eidi@yahoo.com

4.Associate Professor, Department of Pathology, Faculty of Specialized Veterinary Sciences, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

5.Assistant Professor, Department of Biology, College Sciences, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Fars, Iran.

Received: 2021.30.9

Accepted: 2021.27.12

Abstract

Introduction & Objective: Varicocele is one of the most common causes of infertility in men. Various studies have been performed on the treatment of varicocele and hormonal changes in the testicles. One of the non-invasive treatments for varicocele is treatment with *Tilia platyphyllos* L. as a medicine used to treat stomach ulcers, spasms and sedatives. Chemical compounds such as terpenoids and flavonoids have been identified in the linden. The aim of this study was to evaluate the effect of linden extract on testicular pathology of healthy and varicocele rats.

Materials and Methods: In this study, 48 rats were randomly divided into 8 groups: healthy control, healthy groups receiving linden extract (50, 100 and 200 mg / kg intragastrically, daily) alone, infertile control (varicocele surgery), varicocele groups together with linden extract (50, 100 and 200 mg / kg intragastrically, daily). After 60 days, serum was obtained and hormonal assays and histopathological examinations were performed and the data were analyzed using one-way analysis of variance.

Results: The results showed that the level of testosterone decreased and levels of LH and FSH increased significantly in varicocele control animals compared with healthy controls. Also, administration of linden extract has prevented hormonal changes and has significantly improved the sex hormones level and histological index in varicocele rats.

Conclusion: The linden extract acts as a potent antioxidant against varicocele-induced damage in rats.

Keywords: Linden, *Tilia platyphyllos*, Varicocele, Testis, Rat.