بررسی تداخل اثر عصاره الکلی گیاه شاهتره و داروی کلرامبوسیل براسپرماتوژنز موش صحرایی نر نژاد ویستار

زهرا حبیبی[1]*، میترا حیدری نصر آبادی[2]، عبدالحسین شیروی[1] و مونا سوری [1]

۱ـ دانشگاه آزاد اسلامی، واحد دامغان، گروه زیست‌شناسی، دامغان، ایران
۲ـ دانشگاه آزاد اسلامی، واحد پرند، گروه زیست‌شناسی، پرند، ایران
مسئول مکاتبات: Zahra.habibi89@yahoo.com

چکیده

در این تحقیق اثرات عصاره الکلی گیاه شاهتره *Fumaria parviflora* متعلق به خانواده Fumariacea به عنوان یک آنتی اکسیدان و تداخل آن با داروی کلرامبوسیل بر بافت بیضه مورد بررسی قرار گرفته است. هدف از این پژوهش، شناخت محل اثر کلرامبوسیل در بافت بیضه و اثر حفاظتی عصاره الکلی شاهتره در برابر آن می‌باشد. رات های نر بالغ نژاد ویستار در ٦ گروه ۷ تایی گروه بندی شدند. گروه شاهد۱ روغن مایع، گروه شاهد۲ کلرامبوسیل (10 mg/kg w.b.)، گروه تیمار۱ عصاره الکلی شاهتره (150 mg/kg w.b.) ، گروه‌های تیمار۲و۳ و٤ کلرامبوسیل (10 mg/kg w.b.) و به ترتیب عصاره الکلی شاهتره با غلظت‌های ۱۵۰، ۲۵۰ و ۳۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن از طریق گاواژ دریافت کردند، پس از ۱۵ روز موش‌ها تشریح و بیضه‌ها بیرون آورده شدند و پس از مورفومتری از آنها لام‌های میکروسکوپی تهیه شد و مورد بررسی بافت شناختی قرار گرفتند. اپی‌تلیوم ژرمینال بررسی شده و تعداد سلول‌های زاینده شمارش گردید. مشخص شد که کلرامبوسیل درگروه شاهد ۲ اندازه بیضه و تعداد سلول‌های اسپرم را بطور معنی‌دار کاهش داده است، اما در گروه‌های تیمار اثرات کاهشی و افزایشی روی اسپرم‌ها مشاهده شد.

کلمات کلیدی : عصاره الکلی، شاهتره، کلرامبوسیل، اسپرماتوژنز، موش صحرایی

مقدمه

گیاه شاهتره با نام علمی *Fumaria parviflura* متعلق به خانواده Fumariacea می‌باشد. عموماً گیاهی علفی، بی‌کرک و دارای برگ‌هایی متناوب با بریدگی‌های بسیار است که در نواحی کوهستانی و یا در مناطق مرطوب پراکندگی دارد [٦] و شامل ۵ جنس و ۱۷۰ گونه است [٦ و ۲]. این گیاه ریشه دراز سفید رنگ و ساقه کوچک دارد. قسمت مورد استفاده گیاه کلیه اندام‌های آن مخصوصاً سر شاخه‌های گلدار است. اندام‌های مختلف این گیاه دارای موادی نظیر مواد رزینی، املاح معدنی مختلف، موسیلاژ و آلکالوئیدی به نام فومارین (پروتوپین) [٦ و١٦]، اسیدهای آلی اسید فوماریک و اسید کافئیک و استروئید [١٤ و١٥]، فلاونوئید و تانین می‌باشند [١١]. در نواحی مختلف جهان گونه-های بسیاری از آن یافت می‌شود.گونه‌های ایرانی آن شامل *Fumaria parviflora* و *Fumaria indica* می‌باشد.این عصاره در درمان بسیاری از بیماری‌های پوستی، تحریک عملکرد کبد و مثانه و به عنوان ضد خارش، ضد سرفه، تب بر، معرق، اشتها آور و غیره استفاده شده است [٦ و١].

بافت بیضه به دو بخش اسپرماتوژنیک (لوله منی ساز) و استرویدوژنیک (سلول‌های بینابینی) تقسیم می‌شوند. ترکیباتی که بر روی روند اسپرماتوژنز تاثیر گذاشته و باعث مهار تولید اسپرم می‌گردند، به روش های مختلفی عمل می‌نمایند، تعدادی باعث مهار سنتز و یا آزاد شدن گنادوتروپین هیپوفیزی می‌گردند و برخی دارای اثرات ضد آندروژنیک بوده و باعث مهار اسپرماتوژنز می‌گردند. همچنین ممکن است یک ترکیب مستقیما بر روی بافت بیضه تاثیر گذاشته و مانع تولید اسپرم یا کاهش اسپرم گردد. ترکیبات استروئیدی و غیر استروئیدی که مهار کننده گنادوتروپین های هیپوفیزی می‌باشند ، یا مستقیما بر روی هیپوفیز تاثیر می‌گذارند و یا از طریق مهار محور هیپوتالاموس- هیپوفیز نقش خود را ایفا می‌نماید [۱۰]. برخی از عوامل شیمیایی مثل کلرامبوسیل رادیکال‌های آزاد تولید می‌کنند که این ترکیبات می‌تواند با لیپیدها، پروتئین، اسید نوکلئیک واکنش متقابل دهند و باعث کاهش اسپرم و تخریب سلول شوند

کلرامبوسیل (لوکران) ***Chlorambucil*** یک عامل آلکیله کننده دو عملکردی از نوع خردل-های نیتروژنی بوده که به عنوان ماده‌ای موثر بر علیه بیماری‌های نئوپلازی انسان شناخته شده است. مدارک دال بر وجود اثر ناهنجاری‌زایی آن در انسان نشان‌دهنده احتمال عبور آن از جفت هستند. کلرامبوسیل به طور وسیعی در کبد متابولیزه شده و متابولیت آن یعنی فنیل استیک اسید موستارد دارای فعالیت نئوپلازی است (اسید آمینو فنل استیک). کلرامبوسیل ومتابولیت اصلی آن فورا دربدن به انواع مشتقات مونوهیدروکسی و دی هیدروکسی تبدیل می-گردند [۸]. کلرامبوسیل موجب کاهش تعداد سلول‌های ژرمینال شده و اثر خود را بیشتر بر سلول‌هایی که در حال ساخت DNA در مرحله سنتز(S) هستند و سلول‌های در حال تقسیم اسپرماتوسیت و اسپرماتید می‌گذارد این اثر در مغز استخوان و در تقسیم لنفوسیت‌ها هم دیده شده است [٤].

دراین پژوهش اثر عصاره الکلی گیاه شاهتره ***Fumaria parviflora*** بربافت بیضه وهمچنین تداخل اثرآن با کلرامبوسیل بربافت بیضه مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش کار

جامعه هدف رات‌های نر بالغ از نژاد ویستار بودند. حیوانات ٤٢ سر رت نر بالغ از نژاد ویستار با وزن ۲۳٦± ۲۲۰ گرم از انیستیتو پاستور ایران خریداری شده و در شرایط استاندارد آزمایشگاهی نگهداری شدند (۱۲ ساعت تاریکی و روشنایی متناوب، درجه حرارت ۱±۲۳ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ٦۰-۵۵٪) و به صورت ٦ گروه ۷ تایی گروه بندی شدند، هر کدام از موش ها پس از توزین در قفس جداگانه‌ای قرار داده شدند و برایشان کارت شناسایی تهیه شد که روی قفس‌ها چسبانده می‌شد و درآن شماره موش، وزن موش و درصورت لزوم مقدار ماده گاواژشده و تاریخ شروع گاواژ یادداشت شد. بستر آنها از تراشه چوب و غذایشان از پلت‌های آماده (تهیه شده از شرکت خوراک وطیور پارس) بود. قفس ها هر ۲هفته یکبار شسته و ضد عفونی شدند. گیاه شاهتره گونه ***Parviflora*** از بلده واقع در شهرستان نور در شمال ایران جمع‌آوری شده و تهیه عصاره الکلی گیاه شاهتره به روش خیساندن (Maseration) در مرکز تحقیقات جنگل‌ها و مراتع انجام گردید. به این ترتیب که خشک شدن گیا ه شاهتره ۵ روز طول کشید

سپس مرحله آسیاب کردن انجام‌شده و گیاه آسیاب شده را در بشر ریخته به مدت ٢٤ ساعت در حلال اتانول خوابانده پس از ٢٤ ساعت با استفاده از قیف و کاغذ صافی صاف شد. پس از صاف کردن با استفاده از بالن روتاری که فقط عصاره در آن باقی می‌ماند ،عصاره گیری انجام شد.

موش ها به گروه‌ها ی شاهد۱، شاهد ۲، و٤ گروه تیمار گروه بندی شدند. گروه شاهد ۱ فقط روغن مایع و گروه شاهد ۲ فقط کلرامبوسیل را حداقل در ۵ روز متوالی ازطریق گاواژ(تیمارخوراکی) دریافت کردند.

آماده کردن محلول در گروه شاهد۱: محلول گاواژ این گروه روغن مایع بود که مورد استفاده قرار گرفت و برای ۵ روز متوالی ۷ موش با وزن های مشابه با آن گاواژ شدند.

آماده سازی محلول درگروه شاهد ۲: با توجه به اینکه هر قرص لوکران حاوی ۲ میلی گرم کلرامبوسیل است، ۵ تا از آنها در هاون شیشه ای پودر شده بعد به قرص های پودر شده به میزان ۱۰ سی سی آب استریل اضافه کرده به حجم ۱۰ میلی لیتر رسانده وخوب پودر را درآب حل کرده، هر میلی لیتر از این محلول حاوی ۱ میلی گرم کلرامبوسیل خواهد بود، و با توجه به وزن موش غلظت لازم را به دست آورده و به ۷ موش با وزن های مشابه با آن به مدت ۵ روز متوالی همراه با گروه شاهد ۱ گاواژ شد.

آماده سازی محلول در گروه تیمار: با استفاده از ترازوی دقیق آنالیتیکال با دقت 0/0001 گرم غلظت مورد نظر عصاره شاهتره را با توجه به وزن موش توزین شده سپس ۱cc روغن مایع برای رقیق کردن عصاره به آن اضافه شد و ۷ موش با وزن های نزدیک به هم به مدت ۵ روز متوالی گاواژ شدند.

گروه‌های تیمار۱ و ۲ و۳ و٤ دوزهای مختلف از گیاه شاهتره (۱۵۰ و۲۵۰ و ۳۵۰ میلی گرم بر کیلو گرم) را حداقل در ۵ روز متوالی از طریق گاواژ دریافت کردند. در شرایط نوری طبیعی(۱۲ ساعت در روشنایی و ۱۲ ساعت در تاریکی) و رطوبت محیط قرار گرفتند ، با توجه به مطالعات حیدری نصرآبادی و همکاران (۱۳۷۸) غلظت ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم کلرامبوسیل انتخاب شد که در این غلظت کاهش معنی‌دار و مرگ سلولی در بافت مشاهده شده است . گروه تیمار ۱ فقط عصاره شاهتره ۱۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم ، گروه تیمار۲ ۱۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم وگروه تیمار ۳ ۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و گروه تیمار٤ عصاره شاهتره همراه کلرامبوسیل از طریق گاواژ دریافت کردند. پس از ۱۵روز همه نمونه‌ها پس از بیهوشی کالبد گشایی شده و بیضه‌ها بیرون آورده شد پس از مورفومتری در فیکساتور بوئن تثبیت شدند و پس ازا نجام مراحل آبگیری درالکل‌های صعودی، شفاف سازی در تولوئن و آغشته سازی در پارافین را طی نمودند.مقاطع تهیه شده از بلوک های پارافینی بافتی با روش رنگ آمیزی هماتوکسیلین و اُئوزین (H&E) رنگ آمیزی شد سپس لام ها درزیر میکروسکوپ نوری مطالعه شده و انواع سلول-های رده‌های اسپرمی به کمک عدسی گراتیکول مشبک یا مدرج شمارش شد، برای محاسبات آماری از آزمون ANOVA و T test سطح معنی دار بودن نتایج (P<0/05) بررسی شده و با استفاده از نرم افزار آماری SPSS 16 تجزیه و تحلیل شد. گروه‌های تیمار و شاهد مورد مقایسه قرار گرفتند.

نتایج

نتایج به دست آمده در این مطالعه در جدول ۱و۲ و همچنین نمودارهای ۱-۳ آورده شده است. کلیه داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار ارائه شده است.

جدول۱ میانگین حجم، قطر کوچک و قطر بزرگ بیضه را در گروه‌های مختلف نشان می‌دهد. همانطور که مشاهده می‌شود پس از ۵ روز گاواژ، در مقایسه با گروه شاهد۱ حجم بیضه در گروه‌های تیمار ۱ به طور معنی‌داری افزایش یافته است، در حالی که در گروه تیمار۲ تغییر معنی‌داری مشاهده نشد، اما در گروه‌های شاهد ۲ و تیمار ۳ و ٤ کاهش معنی‌داری را در مقایسه با گروه شاهد۱ نشان داده . قطر کوچک و بزرگ بیضه در مقایسه با گروه شاهد۱ در گروه‌های تیمار ۱ و ۲ در مقایسه با گروه شاهد ۱ اختلاف معنی داری نداشته است در حالی که در گروه‌های شاهد۲ و تیمار ۳ و ٤ به طور معنی داری کاهش یافته است ($p<0/001$) و ($P<0.05$).

جدول۲ تعداد لوله‌های سمینیفر، اسپرماتوگونی-های A و B، اسپرماتوسیت‌های اولیه و ثانویه، اسپرماتید، اسپرماتوزوآ و سلول سرتولی مختلف بررسی شده را نشان می‌دهد. تعداد لوله‌های سمینیفر گروه‌های تیمار ۱ و ۲ در مقایسه با گروه شاهد ۱ افزایش معنی‌داری یافته است. در حالی که در گروه شاهد۲ و گروه تیمار ٤ کاهش معنی‌داری را نشان داد ($P<0/001$)($P<0/01$) و ($P<0.05$). قطر لوله‌های سمینیفر در تمامی گروه‌های تیمار و گروه شاهد۲ در مقایسه با گروه شاهد ۱ افزایش یافته است که به لحاظ آماری معنی دار بوده است($P<0/001$). تعداد اسپرماتوگونی‌های A در گروه شاهد۲ و گروه تیمار ٤ در مقایسه با گروه شاهد ۱ کاهش معنی داری را نشان داد ($P<0/001$) و($P< 0/01$)، در حالی که در گروه‌های تیمار ۱ و ۲ در مقایسه با گروه شاهد ۱ اختلاف معنی داری مشاهده نشد. تعداد اسپرماتوگونی های B در مقایسه با گروه شاهد۱ گروه‌های تیمار ۳ و ٤ و گروه شاهد۲ به طور معنی داری کاهش یافت در حالی که در گروه‌های تیمار ۱ و ۲ اختلاف معنی داری را نشان نداد ($P<0/001$). تعداد اسپرماتوسیت‌های اولیه و ثانویه در گروه‌های تیمار ۳ و٤ و گروه شاهد ۲ (در مقایسه با گروه شاهد ۱) کاهش معنی‌داری نشان داد، اما در گروه تیمار ۱ و ۲ در مقایسه با گروه شاهد۱ اختلاف معنی داری را نشان نداد ($P<0/001$). تعداد سلول‌های اسپرماتید، اسپرم و سرتولی در گروه‌های تیمار۳ و ٤ و گروه شاهد ۲ (در مقایسه با گروه شاهد ۱) کاهش یافته است که به لحاظ آماری معنی‌دار است. در حالی که در گروه‌های تیمار ۱ و ۲ در مقایسه با گروه شاهد ۱ اختلاف معنی‌داری را نشان نداده است ($P<0/001$).

جدول۱ـ مقایسه حجم ، قطر کوچک و بزرگ بیضه (میانگین ± انحراف معیار) تحت تاثیر عصاره الکلی شاهتره و لوکران

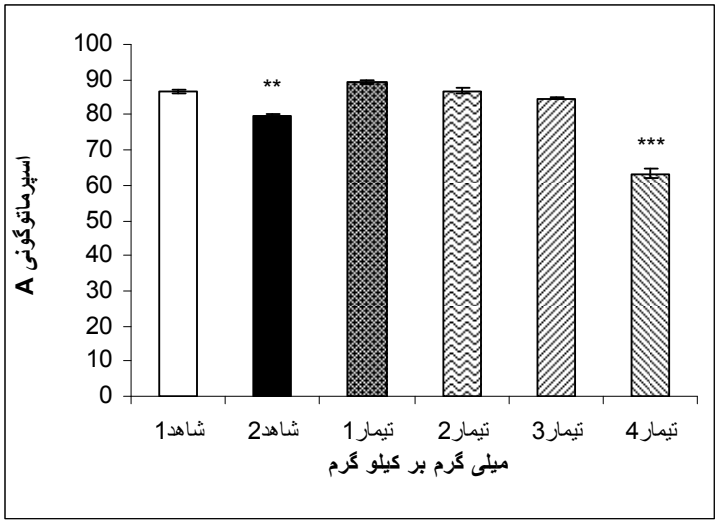
گروه	ماده مورد استفاده	حجم بیضه (میلی‌لیتر)	قطرکوچک بیضه (میلی‌متر)	قطربزرگ بیضه (میلی‌متر)
شاهد۱	روغن مایع	1.58±0.006	11.74±0.017	19.50± 0.008
شاهد ۲	کلرامبوسیل 10mg/kg	***1.45±0.01	***10.95±0.019	***18.85 ±0.031
تیمار ۱	عصاره الکلی شاهتره150mg/kg	*1.63±0.042	11.78±0.012	19.54 ±0.009
تیمار ۲	عصاره الکلی شاهتره 150mg/kg+10mg/kg کلرامبوسیل	1.57±0.015	11.74±0.014	19.52 ±0.010
تیمار۳	عصاره الکلی شاهتره 150mg/kg+10mg/kg کلرامبوسیل	***1.47±0.004	***11.45±0.0.19	***18.45 ±0.17
تیمار٤	عصاره الکلی شاهتره 150mg/kg+10mg/kg کلرامبوسیل	***1.39±0.006	***11.03±0.013	***18.45 ±0.17

*** (P<0.001) * (P<0.05)

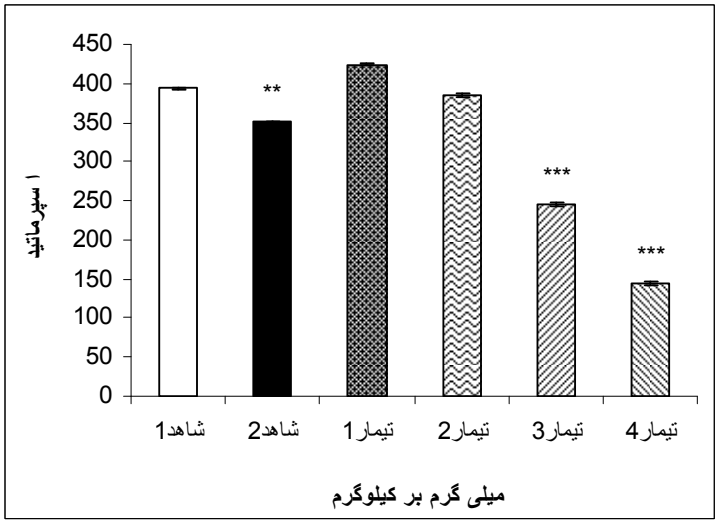
جدول۲ـ مقایسه تعداد (میانگین± انحراف معیار) سلول های مختلف تحت تاثیر عصاره الکلی شاهتره و لوکران

گروه	تعداد لوله‌های سمینیفر در100 میدان دید	قطر لوله‌های سمینیفر (میکرومتر)	اسپرماتوگونی A	اسپرماتوگونی B	اسپرماتوسیت اولیه	اسپرماتوسیت ثانویه	اسپرماتید	اسپرم	سرتولی
شاهد1	10.75±0.21	1389.5±1.04	86.5±0.64	88.52±0.62	166.8±0.60	228.5±0.64	393.75±1.49	34.5±0.64	***72.25±0.85
شاهد2 10mg/kgchl	***10.55±0.019	***1405.75±1.49	*79.5±0.64	**73.82±0.44	***152.2±0.44	***214.7±0.49	**350.5±1.55	314±2.27	61.5±1.19
تیمار1 150mg/kg شاهتره	***10.94±0.021	***1436.5±2.02	89.5±0.53	87.45±0.29	164.02±0.40	218.1±0.42	424.25±1.62	343±2.014	74±1.29
تیمار2 150mg/kg شاهتره+10mg/kgchl	*10.84±0.021	***1421±1.08	86.8±0.63	87.45±0.29	164.02±1.40	228.7±0.42	385.4±1.96	350.5±0.64	71.75±1.31
تیمار3 350mg/kg شاهتره+10mg/kgchl	10.66±0.018	***1426.25±2.05	84.65±0.23	56.45±7.75	***150.6±0.47	***162.75±1.10	***244.72±1.96	***215.5±1.44	**63.25±1.49
تیمار4 350mg/kg شاهتره+10mg/kgchl	**10.61±0.013	***1404.75±2.01	***63.35±1.19	***58.5±0.64	***114.2±1.10	***102.5±1.19	***1444±2.34	***116.42±1.16	***59.75±1.37

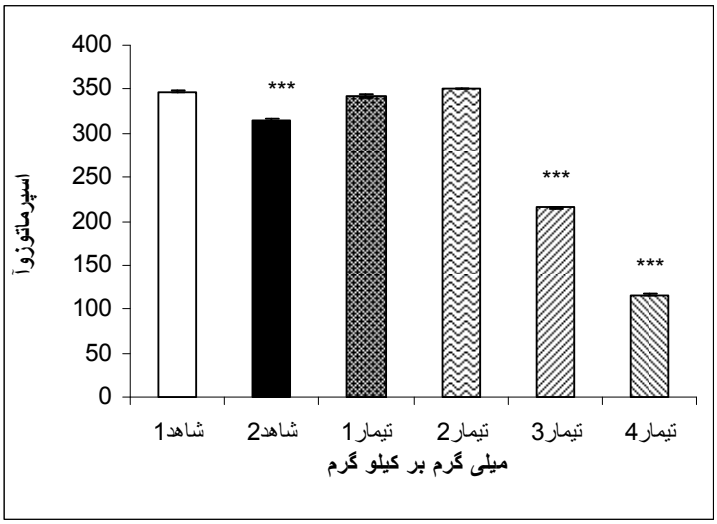
*** (P<0.001) ** (P<0.01) * (P<0.05)



نمودار۱ـ مقایسه تعداد اسپرماتوگونی A تحت تاثیر دوزهای مختلف عصاره شاهتره و تک دوز کلرامبوسیل با گروه شاهد۱. ***اختلاف معنی‌دار($p<0/001$)، ** اختلاف معنی‌دار($p<0/01$) شاهد ۱ روغن مایع، شاهد۲ کلرامبوسیل ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، تیمار۱ عصاره الکلی شاهتره ۱۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم، تیمار۲ و ۳و ٤ به ترتیب ۱۵۰ و۲۵۰ و۳۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره الکلی شاهتره + کلرامبوسیل ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دریافت کرده است.

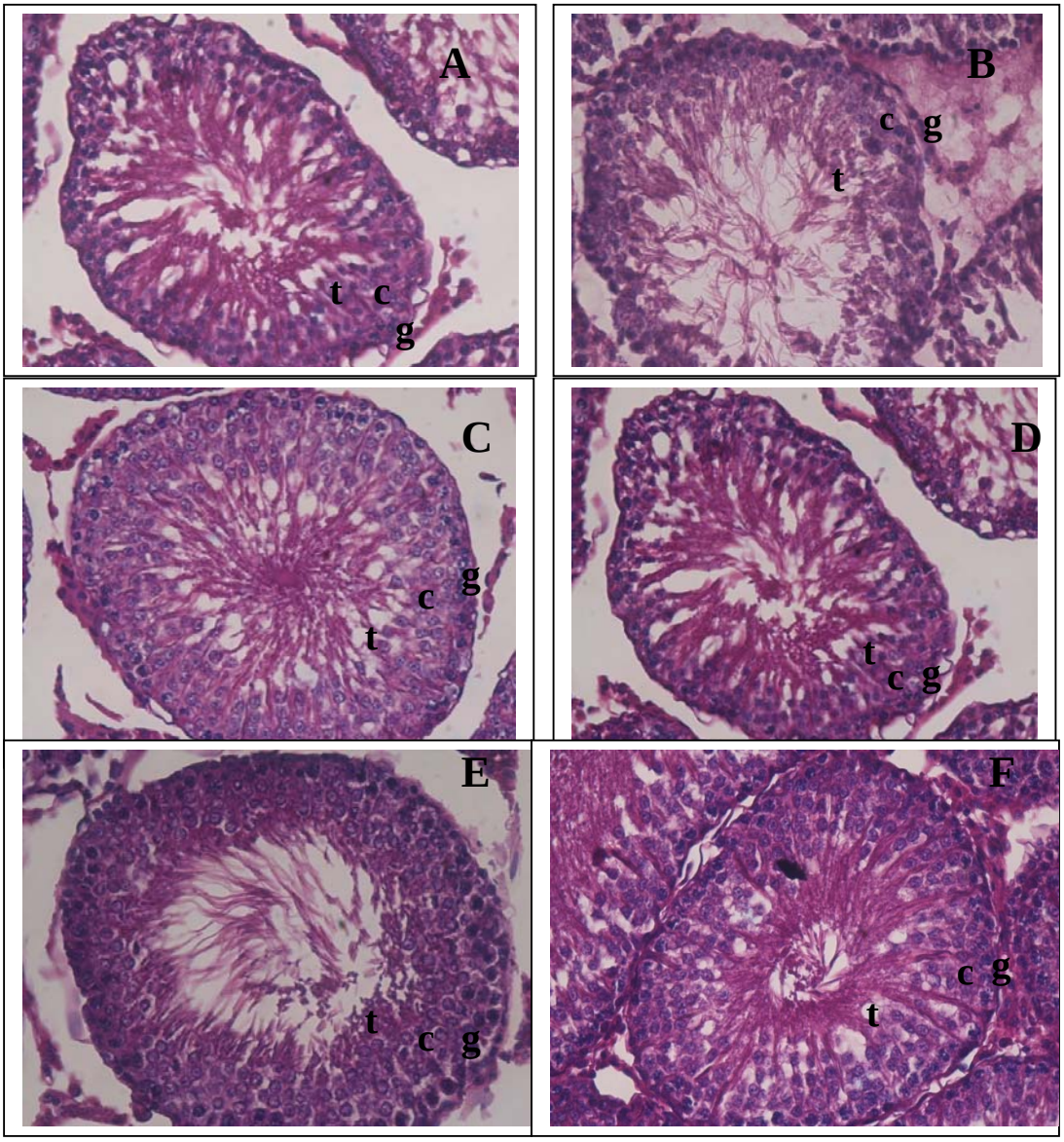


نمودار۲ـ مقایسه تعداد اسپرماتید تحت تاثیر دوزهای مختلف عصاره شاهتره و تک دوز کلرامبوسیل با گروه شاهد۱.
***اختلاف معنی دار در($p<0/001$)، ** اختلاف معنی دار در($p<0/01$)



نمودار۳ ـ مقایسه تعداد اسپرماتوزوآ تحت تاثیر دوزهای مختلف عصاره شاهتره و تک دوز کلرامبوسیل با گروه شاهد۱.

***اختلاف معنی‌دار ($p<0/001$)



تصویر ۲ـA ـ مقطع عرضی قسمتی از بافت بیضه که نشان دهنده تعداد اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت، در گروه شاهد ۱ که روغن مایع دریافت کرده است B- شاهد ۲ که کلرامبوسیل دریافت کرده است C : مربوط به نمونه مشابه از گروه تیمار ۱ 150mg/kgاز عصاره شاهتره را دریافت کرده D- مربوط به نمونه مشابه از گروه تیمار ۲ 150mg/kg از عصاره شاهتره و کلرامبوسیل را دریافت کرده و E : مربوط به نمونه مشابه از گروه تیمار۳ 250mg/kg از عصاره شاهتره و کلرامبوسیل را دریافت کرده و F : مربوط به نمونه مشابه از گروه تیمار٤ 350mg/kg از عصاره شاهتره و کلرامبوسیل را دریافت کرده (بزرگنمایی× ٤٠)

g: اسپرماتوگونی، c: اسپرماتوسیت، t: اسپرماتید

بحث

نتایج این مطالعه و همچنین مطالعات بافت شناسی حیدری (۱۳۷۸) نشان داده که کلرامبوسیل اثر کاهش دهنده در تعداد اسپرماتوگونی‌ها و اسپرماتوسیت‌ها دارد و با توجه به مطالعات Vormer این مساله را ثابت می‌کند که عمل کلرامبوسیل بر زنجیره DNA بوده و باعث شکست دو زنجیره‌ای در آن می‌شود[۱۷] . نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره شاهتره در دوز ۱۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم در تعداد اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت، اسپرماتید، اسپرماتوزوئید و قطر لوله‌های سمینیفر باعث افزایش و یا بدون تغییر معنی دار در مقایسه با گروه شاهد ۱ شده است، در حالی که در دوزهای بالاتر (۲۵۰ و ۳۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم) در مقایسه با گروه شاهد ۱ باعث کاهش اسپرماتوسیت‌ها، اسپرماتید، سرتولی، اسپرماتوگونی B شده است که به لحاظ آماری معنی‌دار است.

فلاونوئیدها دارای اثرات آنتی اکسیدانی می‌باشند که موجب غیرفعال شدن رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌شود. مطالعات انجام شده نشان می‌دهد که زیاد شدن رادیکال‌های آزاد بر تکثیر و فعالیت و باروری اسپرم‌ها تاثیر نامطلوب می‌گذارد [۹ و ۷]. از آنجا که کلرامبوسیل رادیکالهای آزاد تولید می‌کند می‌تواند باعث تخریب بافت بیضه و یا کاهش اسپرم گردد بنابراین می‌توان نتیجه گرفت فلاونوئید موجود در شاهتره با اثر آنتی اکسیدانی خود باعث حذف رادیکال آزاد تولید شده توسط کلرامبوسیل می‌گردد و از تخریب بافت بیضه و کاهش اسپرم جلوگیری می‌کند بنابراین به همین دلیل می‌توان گفت افزایش و یا بدون تغییر معنی دار سلول‌های جنسی شمارش شده (اسپرماتید، اسپرماتوسیت اولیه و ثانویه، اسپرماتوگونی و اسپرماتوزوئید) در دوز ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در مقایسه با گروه شاهد ۱ می‌تواند اثر فلاونوئیدها باشد. مطالعه nuiser و همکاران اثر عصاره رزماری (دارای ترکیبات فنولیک و اسید کافئیک) را روی تعداد اسپرم بررسی کردند، که نشان داد میزان اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت، اسپرماتید و اسپرماتوزوئید کاهش یافت [۱۳].

در پژوهش حاضر نیز میزان اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت، اسپرماتید و اسپرماتوزوئید در دوزهای ۲۵۰ و ۳۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم در مقایسه با گروه شاهد ۱ کاهش معنی داری را نشان داد، به نظر می‌رسد وجود ترکیبات فنولیک و اسید کافئیک در عصاره شاهتره در کاهش تعداد سلول‌های ذکر شده می‌تواند موثر باشد. خانوی و همکاران در سال ۱۳۸۷ اثر میوه

چـریش و زیتـون تلـخ را بـر روی اسـپرماتوژنز بررسی کردند، در مطالعه انجام شده میزان اسپرم به طـور معنـی داری کـاهش یافـت، علـت ایـن کـاهش در حیوانـاتی کـه عـصاره زیتـون تلـخ دریافت کردند به دلیل وجود اسید فوماریک بوده اســـت [١٦]. در مطالعـــه حاضـــر میـــزان اســـپرماتوگونی، اسپرماتوســـیت، اســـپرماتید و اسپرماتوزوئید در دوزهای ۲۵۰ و ۳۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم کاهش یافت، که احتمال مـی‌رود کـه یکی از دلایل کاهش موثر یاد شده در ارتبـاط بـا وجود اسید فوماریک موجود در عصاره شـاهتره باشد.

نتایج حاصل از ایـن مطالعـه نـشان داد عـصاره شاهتره در دوز ۱۵۰ میلی گـرم بـر کیلـوگرم در رده‌های مختلف سلول‌های جنسی اثرات خود را اعمال کرده که این اثـرات بـه دلیـل دارا بـودن اثرات آنتی اکسیدانی فلاونوئیـد موجـود در ایـن گیاه است، در حالی که در غلظـت هـای ۲۵۰ و ۳۵۰ میلی‌گرم بر کیلـوگرم نـه تنهـا در رده‌هـای مختلف سلول‌های جنسی اثر نداشـته بلکـه اثـر توکسیک داشته و باعث کاهش سلول‌های جنسی شده است که به دلیل دارا بودن اسید فوماریک و اسـید کافئیـک آن اسـت. مطالعـه محمـود رضـا حیدری در سـال ١٣٨٤ اثـر ضـد درد و سـمیت عصاره شاهتره را در رات نر روی کبد نـشان داد که این عصاره در دوز بـالا(٤٠٠ میلـی گـرم بـر کیلوگرم) اثرات توکسیک روی کبد داشته اسـت [۳].

منابع

۱-امین، غ. ۱۳۷۰. گیاهان دارویی سـنتی ایـران. تهران معاونت پژوهشی وزارت بهداشت درمـان و اموزش پزشکی، جلد اول .صفحه ۵۱-۵۲.

۲- تیمورزاده، ۱۳۸۷. رده بندی گیاهـان دارویـی چاپ اول ، تهران ، صفحه ١٦-٥٣ .

۳- حیدری، م. ١٣٨٤. اثرات ضد درد و سـمیت عـصاره شـاهتره در رات، دانـشکده پزشـکی، دانشگاه کرمان، صفحه١٣٦.

٤- حیدری نصرآبادی، م. ۱۳۷۸. اثر کلرامبوسیل بر اسپرماتوژنزدر رات نر، دانـشگاه آزاد اسـلامی واحد علوم تحقیقات تهران، صفحه ۱۲۳.

۵-خانوی، م. ۱۳۸۷. اثر میـوه چـریش و زیتـون تلـخ بـر شـاخص‌هـای بـاروری، دانـشکده داروسازی، دانـشگاه علـوم پزشـکی و خـدمات بهداشتی ـ درمانی تهران، تهـران، ایـران، صـفحه ١٤-١٣.

٦- زرگری، ع. ١٣٦٧. گیاهـان دارویـی . چـاپ دوم . تهران . دانشگاه تهران ، صفحه ١٦٦-١٧١.

7. Agarwal A, Prabakaran SA, Said TM. (2005), Prevention of oxidative stress injury to sperm. J Androl, 26(6): 654-60.

8. Galton DAG, Wiltshow E, Szur L. (1961), The use of chlorambucil and the treatment of chronic lymphocytic leukemia. Br J Haematol, 7: 73-98.

9. Kaur R, Kaur K. (2000), Effects of dietary selenium (SE) on morphology of testis and cauda epididymis in rats. Indian J Physiol Pharmacol, 44(3): 265-72.

10. Kholkute S. (1997), Effect of Hibiscus rosa sinensis on spermatogenesis and accessory reproductive organs in rats. Planta Med, 31(2): 127-35.

11. McCalley D. V. (2002), Analysis of the *Cinchona* alkaloids

14. Rao K. S. and S. H. Mishra (1997), Hepatoprotective activity of whole plants of *Fumaria indica,* Indian J. Pharm. Sci., 59: 165-170.

15. Sousek, J., D. Guedon, T. Adam, H. Bochorakova, E. Taborska, I. Valka and V. Simanek (1999), Alkaloids and organic acids content of eight *Fumaria* species, Phytochem. Anal, 10: 6–11

16. Suau R, Cabezudo B, Rico R, Najera F, Lopez-Romero JM. (2002), Direct determination of alkaloid content in Fumeria species by Gc-Ms. Phytochem Anal, 13: 336-63.

17. Vormer U. (1991), Toxicology of mustard gas. Tripes, 12: 164-167.

by high-performance liquid chromatography and other separation techniques. J. Chromatogr. A, 967, 1: 12-14.

12. McCalley D. V. (1997), Comparative evaluation of bonded-silica reversed-phase columns for highperformance liquid chromatography using strongly basic compounds and alternative organic modifi ers buffered at acid pH. J. Chromatogr. A, 769, 169.

13. Nuiser MK, Bataineh HN, Daradkah HM. (2007), Adverse effect of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) on reproductive function in adult male rats. Exp Biol Med., 232: 809-13.