

## مطالعه اثر عصاره هیدروآتانولی برگ گیاه شمعدانی عطری (*Pelargonium graveolens*L.) بر اسپرماتوزنز در موش صحرایی نر القا شده با استات سرب

ناصر میرازی<sup>۱\*</sup>، لیلا شهبازی<sup>۲</sup>، سیما نصری<sup>۳</sup>

تاریخ دریافت ۱۳۹۴/۰۸/۱۵ تاریخ پذیرش ۱۳۹۴/۱۰/۰۱

### چکیده

**پیش‌زمینه و هدف:** استات سرب یکی از مهم‌ترین آلوده‌کننده‌های محیط‌زیست است. استفاده از گیاهان دارویی ممکن است از ایجاد صدمات وارده سموم به بافت‌های بدن ممانعت کند. هدف این مطالعه بررسی اثر حفاظتی عصاره هیدروآتانولی برگ گیاه شمعدانی عطری بر روند اسپرم‌سازی در موش صحرایی نر می‌باشد. **مواد و روش‌ها:** در این مطالعه تجربی از ۴۲ سر موش صحرایی نر در ۶ گروه ۷ سری استفاده شد. گروه‌ها شامل: کنترل، شاهد (استات سرب، ۵۰۰ ppm در آب آشامیدنی)، کنترل مثبت ۱ و ۲ (عصاره شمعدانی عطری با دوز ۲۵۰ mg/kg و دوز ۵۰۰ mg/kg)، تیمار ۱ دریافت‌کننده استات سرب + عصاره با دوز ۲۵۰ mg/kg و تیمار ۲ دریافت‌کننده استات سرب + عصاره با دوز ۵۰۰ mg/kg عصاره شمعدانی عطری. نمونه‌های خون و بافت بیضه جهت انجام آزمایشات هورمونی و بافت‌شناسی تهیه گردید. داده‌های هر آزمون با استفاده از روش آنالیز ANOVA و آزمون تعقیبی Tukey مورد بررسی قرار گرفتند. **یافته‌ها:** نتایج این پژوهش نشان داد که سطح هورمون تستوسترون در گروه دریافت‌کننده استات سرب نسبت به گروه کنترل کاهش معناداری پیدا کرد ( $P < 0/001$ ). عصاره شمعدانی عطری توانست ترشح تستوسترون را افزایش دهد ( $P < 0/001$ ). استات سرب باعث کاهش معنی‌داری در تعداد اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت، لیدیک و اسپرم‌ها گردید ( $P < 0/001$ ). **نتیجه‌گیری:** یافته‌های این پژوهش نشان داد که عصاره برگ گیاه شمعدانی عطری توانست از اثرات مخرب استات سرب در بیضه جلوگیری کند. عصاره شمعدانی عطری موجب افزایش تستوسترون و اسپرم‌ها در موش‌های تیمار شده گردید. **واژه‌های کلیدی:** استات سرب، تستوسترون، شمعدانی عطری، موش صحرایی

مجله پزشکی ارومیه، دوره بیست و ششم، شماره یازدهم، ص ۱۰۰۹-۱۰۱۱، بهمن ۱۳۹۴

آدرس مکاتبه: گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه بوعلی سینا- همدان، تلفن: ۰۹۱۸۸۱۲۵۷۴۱

Email: mirazi@basu.ac.ir

### مقدمه

تولیدمثل است. غلظت هورمون‌های استروئیدی مؤثر بر تولیدمثل در خون نیز از شاخص‌های حساس در ارزیابی عملکرد دستگاه تولیدمثلی محسوب می‌شود. هورمون محرک فولیکولی (FSH) و هورمون تشکیل دهنده جسم زرد (LH)، مهم‌ترین هورمون‌های کنترل‌کننده فعالیت غدد جنسی و در نتیجه تولیدمثل هستند که باعث تنظیم فعالیت تخمدان‌ها و بیضه‌ها می‌شوند. نقش LH در تنظیم اسپرم‌سازی، نقشی غیرمستقیم و از راه تحریک سلول‌های بینابینی و تولید تستوسترون است. تستوسترون همراه با FSH بر لوله‌های اسپرم‌ساز تأثیر گذاشته و باعث اسپرم‌سازی می‌شود (۴). سرب را به دو صورت آلی و غیرآلی در طبیعت می‌توان یافت.

سرب یکی از مشهورترین فلزات سنگین سمی می‌باشد. مطالعات دهه اخیر نشان می‌دهد تجمع سرب در بدن حتی به مقدار کم باعث مسمومیت شده و اثرات سوء زیادی بر ساختارهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی بدن دارد (۱،۲). محققان گزارش کرده‌اند اثرات سمی سرب ممکن است در سیستم اعصاب مرکزی و محیطی، خون، کلیه، قلب و عروق، غدد درون‌ریز، سیستم ایمنی، لوله گوارش، دستگاه تولیدمثل و استخوان ایجاد شود (۳،۴). شاخص‌های مختلفی برای سنجش کارکرد دستگاه تولیدمثل وجود دارند. ارزیابی کیفیت اسپرم یکی از شاخص‌های حساس برای ارزیابی عملکرد دستگاه

<sup>۱</sup> دانشیار، دکتری تخصصی فیزیولوژی، دانشگاه بوعلی سینا، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه بوعلی سینا، همدان (نویسنده مسئول)

<sup>۲</sup> کارشناسی ارشد فیزیولوژی جانوری، دانشگاه پیام نور تهران، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه پیام نور تهران، تهران

<sup>۳</sup> دانشیار، دکتری تخصصی فیزیولوژی، دانشگاه پیام نور تهران، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه پیام نور تهران، تهران

صافی ابتدا صاف نموده و سپس مایع صاف‌شده توسط دستگاه روتاری (LABORATA 4001 Efficient, Germany Heidolph) با دور ۶۰ دور در دقیقه و دمای ۵۰ درجه تغلیظ گردید. عصاره غلیظ شده را به مدت دو روز در زیر هود قرار داده شد تا کاملاً غلیظ گردد. از عصاره غلیظ شده غلظت‌های موردنظر تهیه و به حیوانات مورد آزمون توسط گاوژاژ کردن خوراندند.

حیوانات آزمایشگاهی: در این مطالعه ۴۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با محدوده وزنی ۲۵۰ - ۲۲۰ گرمی از موسسه پاستور تهران خریداری شد. موش‌ها به مدت یک هفته در دمای ۳۷ درجه و سیکل روشنایی - تاریکی دوازده ساعته جهت سازش با محیط و در قفس‌های مخصوص و با دسترسی آزاد به آب و غذا قرار داده شدند. پروتکل تحقیق بر اساس قوانین بین‌المللی در مورد حیوانات آزمایشگاهی و هم‌چنین کمیته اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه بوعلی سینا با شماره مجوز ۴۸-۱۵۲ انجام گردید. موش‌ها به‌طور تصادفی به ۶ گروه ۷ سری تقسیم شدند. گروه‌ها شامل: گروه کنترل، گروه شاهد (دریافت‌کننده استات سرب در آب آشامیدنی به میزان ۵۰۰ قسمت در میلیون)، گروه‌های دریافت‌کننده روزانه دوز کم عصاره شمعدانی عطری (۲۵۰ میلی‌گرم بازاء هر کیلو وزن بدن) و دوز بالای عصاره شمعدانی عطری (۵۰۰ میلی‌گرم بازاء هر کیلو وزن بدن) به‌صورت گاوژاژ و گروه‌های تیمار ۱ و ۲ به ترتیب دریافت‌کننده استات سرب (۵۰۰ قسمت در میلیون در آب آشامیدنی) و دریافت‌کننده دوز کم و دوز زیاد عصاره شمعدانی عطری به‌صورت گاوژاژ و روزانه. گروه کنترل تنها سالیان نرمال دریافت نمود. مدت‌زمان آزمایش ۴ هفته انجام گردید. پس از پایان این مدت موش‌ها ابتدا وزن شدند. سپس با اتر بی‌هوش گردیده و با استفاده از روش مستقیم خون‌گیری از قلب حیوانات، از قلب به میزان ۵ ملی لیتر خون تهیه شد. خون‌ها بلافاصله سانتریفیوژ با دور ۴۰۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۱۰ دقیقه شدند و سرم آن‌ها جداسازی جهت اندازه‌گیری هورمون‌های تستوسترون، FSH و LH از کیت الیزای موش (Biotec Laboratories Ltd; UK) در آزمایشگاه استفاده شد و مقادیر هورمونی برای هر گروه ثبت شد. بیضه‌ها از بدن جدا و توزین شدند. ابعاد طول، عرض و قطر هرکدام از بیضه‌ها توسط کولیس محاسبه گردید. سپس از هر حیوان یک عدد بیضه در فرمالین ۱۰ درصد جهت مطالعات بافت‌شناسی قرار داده شد تا فیکس گردد.

جهت تعیین تعداد اسپرم، اپیدیدیم بیضه چپ حیوانات به‌دقت توسط قیچی جدا شده و سپس در سرم فیزیولوژی با دمای ۳۷ شستشو داده شد تا عاری از خون گردد. بافت اپیدیدیم در یک پتری دیش حاوی ۲ میلی‌لیتر نرمال سالیان کاملاً خرد شد و سپس حجم محلول به ۵ میلی‌لیتر رسانیده شد. پس از به هم زدن آن به مدت

مکانیسم‌های اثرات زیان‌بار سرب بر دستگاه‌های مختلف بدن توسط محققین بررسی شده است. گزارش‌ها حاکی از آن است که این اثرات سمی سرب ممکن است از طریق تولید رادیکال‌های آزاد و در نتیجه افزایش پراکسیداسیو نلیپیدی، باعث اختلال در عملکرد دستگاه‌های مختلف بدن از جمله غدد درون‌ریز و دستگاه تولیدمثل شود (۵). یکی از جنبه‌های اختلالات هورمونی ناشی از سرب تأثیر آن روی هورمون‌های دستگاه تولیدمثل است. محققان نشان داده‌اند که سرب با تأثیر بر روی محور هیپوتالاموسی-هیپوفیزی-غدد جنسی باعث به هم خوردن تعادل هورمون‌های تولیدمثل شده و در نتیجه کاهش باروری را موجب می‌گردد (۵). اختلالات هورمونی ناشی از مواجهه‌ی محیطی با سرب در کودکان و زنان باردار به‌عنوان یک مشکل سلامت عمومی شناخته می‌شود. قرارگیری در معرض سرب هنگام بارداری باعث کوتاه شدن دوره بارداری و افزایش مرگ‌ومیر نوزاد می‌شود (۶). باوجود پیشرفت‌های قابل‌توجه در علم پزشکی، عواملی مانند عدم رضایت بیماران از مصرف داروهای رایج، بروز عوارض جانبی ناشی از مصرف بیش‌ازحد و طولانی‌مدت این داروها و تجویز نامناسب دارو توسط پزشکان سبب شده که تمایل به درمان‌های جایگزین و سنتی، از جمله استفاده از داروهای گیاهی روز به روز افزایش یابد (۷). شمعدانی عطری یکی از مهم‌ترین گیاهان دارویی در طب سنتی ایران به شمار می‌آید. تاکنون اثرات ضد باکتریایی، ضد اکسیدانی، ضد قارچی (۸) و نیز اثر حفاظتی در برابر زخم معده در مورد این گیاه به اثبات رسیده است (۹). از آنجائی‌که تاکنون اثرات عصاره این گیاه در فرایند اسپرم‌سازی و تأثیر آن بر سطح سرمی تستوسترون و هورمون‌های گونادوتروپین هیپوفیزی تحقیقی صورت نگرفته است، این مطالعه باهدف بررسی اثر عصاره این گیاه بر روند اسپرم‌سازی و تغییرات هورمونی موردنظر در موش صحرایی نر دریافت‌کننده استات سرب صورت پذیرفت.

## مواد و روش کار

تهیه عصاره هیدروآلکلی برگ شمعدانی عطری: در این مطالعه که از نوع تجربی بود ابتدا برگ گیاه شمعدانی عطری از گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی سینا به مقدار کافی تهیه و توسط متخصص گیاه‌شناس مورد شناسایی علمی و با کد هرباریومی ۳۷۶۶۶ ثبت شد. سپس برگ‌های جدا و پس از پاک شدن از مواد خارجی، در سایه به مدت دو هفته خشک و سپس توسط آسیاب برقی کاملاً پودر گردید. ۳۰۰ گرم پودر حاصل‌شده را در یک بشر دو لیتری حاوی الکل اتیلیک ۸۰ درصد ریخته به‌طوری‌که به میزان یک میلی‌لیتر روی آن را الکل فرا بگیرد. سپس ظرف مذکور را به مدت یک هفته در یخچال قرار داده تا کاملاً ترکیبات محلول در الکل آن خارج گردد. بعد از یک هفته محتویات بشر توسط کاغذ

آزمون‌های آماری: کلیه آنالیزهای آماری با استفاده از SPSS19 انجام شد. داده‌ها به صورت  $\text{mean} \pm \text{SEM}$  ارائه گردیدند و جهت تجزیه و تحلیل آماری از روش آماری ANOVA و تست Tukey استفاده شد. سطح معنی‌داری  $P < 0.05$  در نظر گرفته شد.

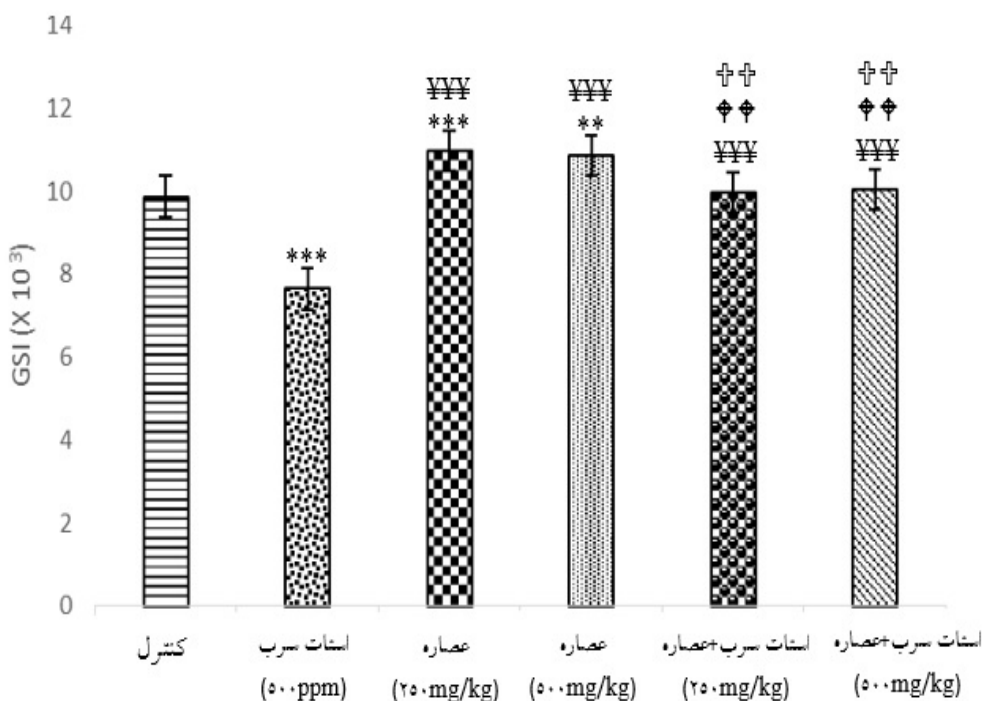
### یافته‌ها

نتایج به دست آمده از این مطالعه نشان داد که مقایسه وزن موش‌های دریافت‌کننده استات سرب و همچنین میانگین وزن بیضه آن‌ها نسبت به گروه کنترل از کاهش وزن بیشتری برخوردار بود. همچنین نسبت میانگین وزن بیضه‌ها نسبت به وزن بدن یا پارامتر GSI نسبت به گروه کنترل نیز کاهش معنی‌داری را نشان داد ( $P < 0.001$ ). در گروه‌های تیمار ۱ و ۲ که عصاره هیدروالکلی برگ گیاه شمعدانی (PGE) را با دوز کم‌وزیاد دریافت کرده بودند، بالاتری داشته و نسبت به گروه کنترل فاقد معنی بودن را نشان داد، ( $P > 0.05$ ) (نمودار ۱).

۱۰ دقیقه، در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. سپس میانگین کل اسپرم‌های نرمال بررسی شد. بدین منظور یک قطره از نمونه (حجم ۵ میلی‌لیتر که حاوی اسپرم‌های اپیدیدیمی بود) را روی لام نئوبار قرار داده و برای شمارش اسپرم‌ها از مربع‌های مربوط به گلبول‌های سفید استفاده شد. تعداد اسپرم‌های محاسبه‌شده با استفاده از فرمول زیر:

$$\text{(ضریب رقت)} \times 5 \times 10^4 \times \text{تعداد اسپرم شمارش شده}$$

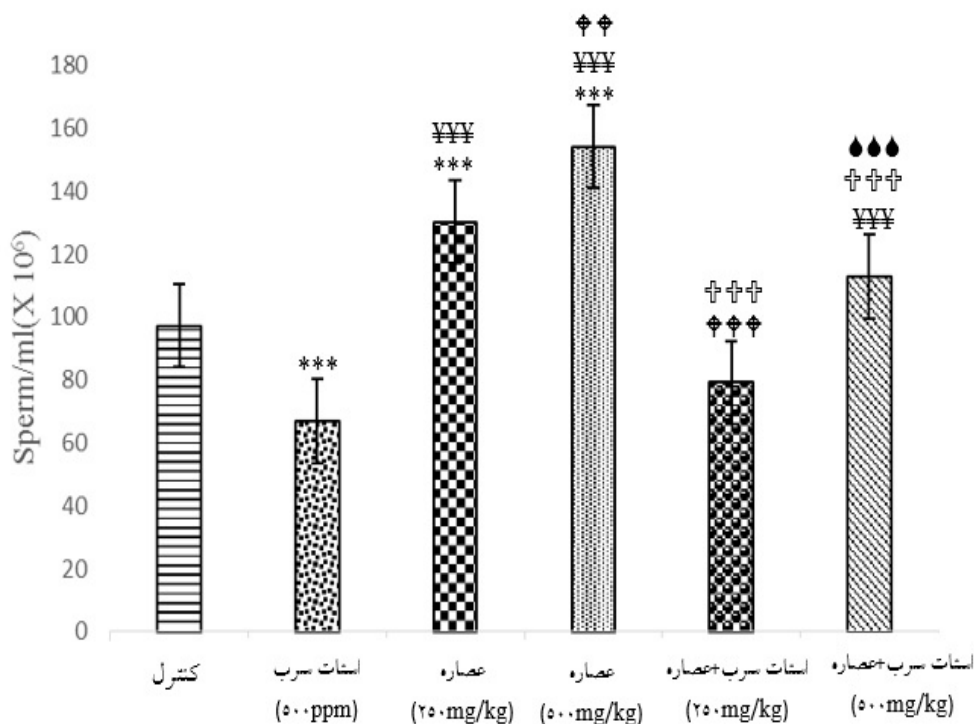
تعیین گردید. جهت بررسی و مقایسه نتایج حاصله از قدرت تحرک اسپرم، ۱۰ میکرو لیتر از محلول اپیدیدیمی حاوی اسپرم روی لام قرار داده و اسپرم‌ها از لحاظ درصد تحرک بررسی گردیدند. برای به دست آوردن درصد تحرک ۱۰ میدان میکروسکوپ با بزرگنمایی ۴۰ روی لام بررسی شد و سپس میانگین کل اسپرم‌های متحرک در ۱۰ میدان دید میکروسکوپ به صورت درصد تحرک اسپرم‌ها مورد بررسی قرار گرفت (۱۰).



**نمودار (۱):** بررسی داده‌های حاصل از اندازه‌گیری نسبت وزن بیضه به وزن بدن (GSI) در گروه‌های مختلف مورد آزمایش در موش‌های صحرایی نر \* بیانگر معناداری نسبت به گروه کنترل، † بیانگر معناداری نسبت به گروه دریافت‌کننده استات سرب †† بیانگر معناداری نسبت به گروه دریافت‌کننده عصاره هیدروالکلی برگ گیاه شمعدانی عطری (۲۵۰ mg/kg)، ††† بیانگر معناداری نسبت به گروه دریافت‌کننده عصاره هیدروالکلی برگ گیاه شمعدانی عطری (۵۰۰ mg/kg)، (\*\*:  $P < 0.01$ )، (\*\*\*:  $P < 0.001$ )، (††††:  $P < 0.001$ )، (††††:  $P < 0.01$ )

سایر گروه‌های تیمار ۱ و ۲ و همچنین گروه‌های تیمار القاء شده با استات سرب نشان داد. این اثر مثبت در گروه‌های تیماری دریافت‌کننده دوز بالا عصاره PGE نیز بیشتر نشان داده شد ( $P < 0.001$ ). (نمودار ۲).

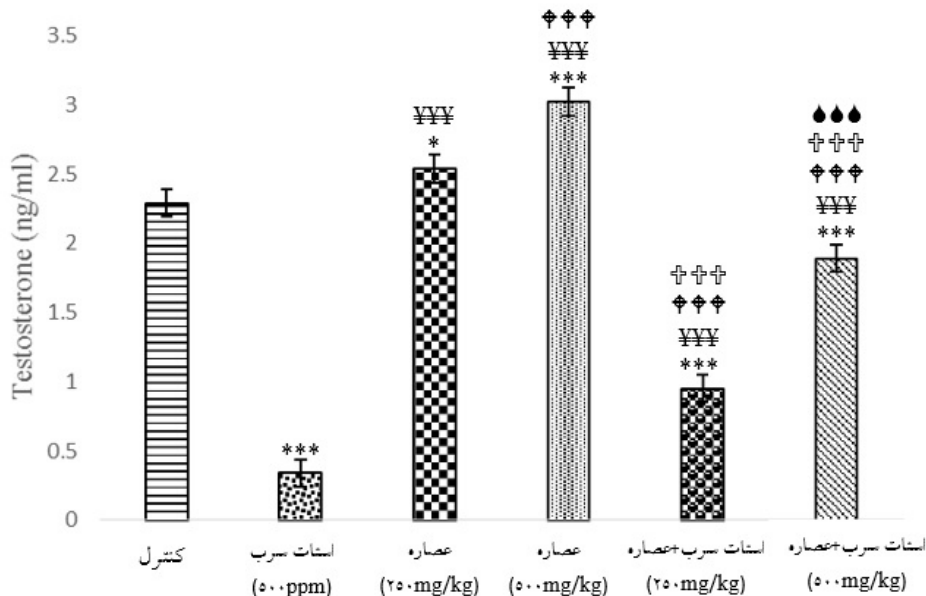
طبق آنالیز آماری تعداد اسپرماتوگونی‌ها، اسپرماتوسیت‌ها، اسپرماتیدها، سلول‌های سرتولی، لیدیک و تعداد اسپرم‌ها در گروه شاهد نسب به گروه کنترل از کاهش معنی‌داری برخوردار شد ( $P < 0.001$ ). این آنالیز از افزایش معنی‌دار پارامترهای فوق در



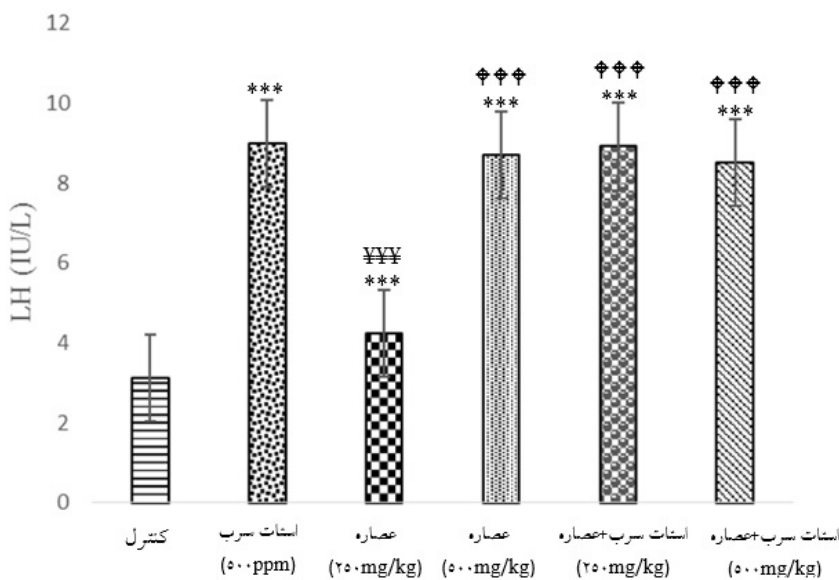
**نمودار (۲):** بررسی داده‌های حاصل از شمارش اسپرم در گروه‌های مختلف مورد آزمایش در موش‌های صحرایی نر. \* بیانگر معناداری نسبت به گروه کنترل، † بیانگر معناداری نسبت به گروه دریافت‌کننده استات سرب ‡ بیانگر معناداری نسبت به گروه دریافت‌کننده عصاره هیدروالکلی برگ گیاه شمعدانی عطری (۲۵۰ mg/kg)، †† بیانگر معناداری نسبت به گروه دریافت‌کننده عصاره هیدروالکلی برگ گیاه شمعدانی عطری (۵۰۰ mg/kg)، ††† بیانگر معناداری نسبت به گروه دریافت‌کننده استات سرب + عصاره هیدروالکلی برگ گیاه شمعدانی عطری (۲۵۰ mg/kg) (†††:  $P < 0.001$ ), (††††:  $P < 0.001$ ), (†††††:  $P < 0.001$ ), (††††††:  $P < 0.001$ ).

داد ( $P < 0.001$ ). نمودار ۳. همچنین در بررسی‌های به‌دست‌آمده مقایسه میانگین‌های مقادیر هورمون‌های FSH&LH در گروه شاهد نسبت به گروه کنترل و سایر گروه‌های دریافت‌کننده عصاره به‌تنهایی و گروه‌های تیمار ۱ و ۲ دریافت‌کننده استات سرب و عصاره PGE نسبت به گروه کنترل، افزایش معنی‌داری را نشان داد ( $P < 0.001$ ). علاوه بر این، مقایسه به‌عمل‌آمده گونادوتروپین‌ها در بین گروه‌های دریافت‌کننده دوز کم‌وزیاد عصاره PGE نیز افزایش معنی‌داری را بین گروه‌ها را نیز نشان داد (نمودار ۴).

بر اساس شواهد به‌دست‌آمده در این مطالعه، مقایسه میانگین‌های حاصله از داده‌های مقادیر هورمون تستوسترون گروه شاهد دریافت‌کننده استات سرب با کاهش معنی‌دار ( $P < 0.001$ ) نسبت به گروه کنترل نشان داده شد. درحالی‌که گروه‌های دریافت‌کننده عصاره PGE با دوزهای کم‌وزیاد و همچنین گروه‌های تیمار ۱ و ۲ دریافت‌کننده هم‌زمان استات سرب و عصاره PGE از افزایش معنی‌دار هورمون تستوسترون نسبت به گروه شاهد برخوردار بود. بطوریکه این افزایش نوعی وابسته به دوز بودن را نیز نشان



**نمودار (۳):** بررسی داده‌های حاصل از سنجش سطح سرمی هورمون تستوسترون در گروه‌های مختلف مورد آزمایش در موش‌های صحرایی نر. \*بیانگر معناداری نسبت به گروه کنترل، †بیانگر معناداری نسبت به گروه دریافت‌کننده استات سرب ‡بیانگر معناداری نسبت به گروه دریافت‌کننده عصاره هیدروالکلی دریاقت‌کننده عصاره هیدروالکلی برگ گیاه شمعدانی عطری (۲۵۰ mg/kg)، ††بیانگر معناداری نسبت به گروه دریافت‌کننده عصاره هیدروالکلی برگ گیاه شمعدانی عطری (۵۰۰ mg/kg)، †††بیانگر معناداری نسبت به گروه دریافت‌کننده استات سرب+عصاره هیدروالکلی برگ گیاه شمعدانی عطری (۲۵۰ mg/kg) (\*:P<0.05)، (\*\*\*:P<0.001)، (††††:P<0.001)، (†††††:P<0.001).



**نمودار (۴):** بررسی داده‌های حاصل از سنجش سطح سرمی هورمون LH در گروه‌های مختلف مورد آزمایش در موش‌های صحرایی نر. \*بیانگر معناداری نسبت به گروه کنترل، †بیانگر معناداری نسبت به گروه دریافت‌کننده استات سرب ‡بیانگر معناداری نسبت به گروه دریافت‌کننده عصاره هیدروالکلی برگ گیاه شمعدانی عطری (۲۵۰ mg/kg)، ††بیانگر معناداری نسبت به گروه دریافت‌کننده استات سرب+عصاره هیدروالکلی برگ گیاه شمعدانی عطری (۲۵۰ mg/kg)، †††بیانگر معناداری نسبت به گروه دریافت‌کننده استات سرب+عصاره هیدروالکلی برگ گیاه شمعدانی عطری (۵۰۰ mg/kg)، ††††بیانگر معناداری نسبت به گروه دریافت‌کننده استات سرب+عصاره هیدروالکلی برگ گیاه شمعدانی عطری (۵۰۰ mg/kg) (\*:P<0.05)، (\*\*\*:P<0.001)، (†††††:P<0.001)، (††††††:P<0.001).

## بحث و نتیجه‌گیری

در این مطالعه اثر استات سرب به‌عنوان یک ماده شیمیایی آسیب‌رسان بر بافت‌های بدن از جمله بافت بیضه مورد بررسی قرار گرفت. داده‌ها حاکی از آن است که استات سرب دارای اثرات تخریبی بر بافت بیضه می‌باشد. سرب موجب تخریب بافت‌های بدن و همچنین آزاد شدن رادیکال آزاد از بافت‌های آسیب‌دیده می‌شود. از آنجایی‌که استرس اکسیداتیو، پراکسیداسیون لیپیدها و تغییر خاصیت غشایی باعث ایجاد مرگ سلول‌های زایا در مراحل مختلف تکثیر و نمو می‌گردد، کاهش شدید تعداد اسپرم‌ها را در پی خواهد داشت. علاوه بر آن، پراکسید هیدروژن قادر است اسپرم‌ها را از فعالیت باز داشته و آن‌ها را بی‌حرکت سازد. آنتی‌اکسیدان‌ها از آسیب سلول اسپرم توسط رادیکال‌های آزاد محافظت می‌نماید و کیفیت اسپرم را بهبود می‌بخشند. گیاهان دارویی دارای ذخایر ارزشمندی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی می‌باشند. Mithila و همکارانش نشان دادند که شمععدانی عطری یکی از گیاهان حاوی انواع مختلفی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی نظیر ژرانیول، کوئرستین، سیترونلول، ترپیننول و الکل‌ها می‌باشد (۱۱). در مطالعه‌ای که توسط Acharya و همکاران انجام شد گزارش شد که ژرانیول و کوئرستین از آنتی‌اکسیدان‌های بسیار مؤثر ممانعت‌کننده از روند تخریبی عوامل آسیب‌رسان بافتی همانند ترکیبات سمی چون استات سرب و یا سایر اکسیدکننده می‌باشند (۱۲). Li و همکارانش در مطالعه‌ای به بررسی کوئرستین موجود در گیاه شمععدانی عطری پرداختند و نشان دادند که این ترکیب دارای اثر محافظتی بر سلول‌های اسپرماتوگونی تحت استرس اکسیداتیو است و با دادن الکترون به گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) از تخریب DNA سلولی می‌کاهد (۱۳). ترکیبات ژرانیول و کوئرستین دارای اثر مثبت در سطح سرمی تستوسترون مردان می‌باشد (۱۴). Sokol و همکاران نشان دادند که سرب سبب کاهش تعداد اسپرم‌ها می‌شود ولی سبب کاهش وزن بیضه و کیسه منوی نمی‌گردد (۱۵). Bonde و همکاران در مطالعه‌ای نشان دادند که سرب باعث کاهش تعداد اسپرم‌ها در مایع منی در مردانی که در معرض اثرات سم سرب بودند شد (۱۶). Koleva و همکاران در بررسی‌های خود گزارش نمودند که شمععدانی عطری حاوی مقادیر زیادی از ترکیبات شیمیایی گیاهی نظیر کوئینین، کربوهیدرات‌ها، تانن‌ها، انواع پروتئین‌ها و چربی‌ها می‌باشد. همچنین انواع ویتامین‌ها نظیر تیامین، ریبوفلاوین، نیاسین، فولات، پانتوتنیک اسید، فمبلیک اسید، گالیک اسید و فنولیک اسید در عصاره این گیاه موجود می‌باشد (۱۷). در تحقیقات انجام شده توسط Oki و همکاران نشان داده شد که ترکیبات ویتامینی موجود در گیاه شمععدانی نقش آنتی‌اکسیدانی و محافظتی قوی ایفا نموده و از اثرات تخریبی رادیکال‌های آزاد به‌طور گسترده در بدن ممانعت

می‌نمایند (۱۸). در مطالعه‌ای که Graça و همکارانش صورت دادند نشان داده شد که در اثر تجویز سرب وزن بیضه‌ها، قطر لوله‌های منی ساز و تعداد اسپرم‌ها کاهش می‌یابد و نیز این اثرات با گذشت زمان قابل برگشت می‌باشد (۱۹). در مطالعه اخیر انجام شده نتایج به‌دست آمده همسو با نتایج فوق بوده و نشان داد که سرب باعث کاهش تعداد اسپرم‌ها، اسپرماتوگونی‌ها و سایر سلول‌های روند اسپرماتوژنز در موش‌های صحرایی مسموم شده با استات سرب می‌گردد. اغلب پژوهش‌ها نشان دادند که سرب موجب کاهش وزن بدن و وزن بیضه‌ها می‌گردد. Dorostghoal و همکاران طی پژوهشی اثبات نمودند که نسبت وزن بیضه‌ها به وزن بدن یا پارامتر GSI در موش‌های دریافت‌کننده سرب نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری را نشان می‌دهد (۲۰). نتایج به‌دست آمده این پژوهش نیز ضمن تأیید نتایج فوق، نشان داد که پارامتر GSI در موش‌های شاهد نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی‌داری را دارد. در سایر گروه‌های تیمار شده با عصاره برگ گیاه شمععدانی پارامتر GSI افزایش نشان داده شد ولی با گروه کنترل فاقد اختلاف معنی‌دار گردید. این اثر احتمالاً به دلیل اثرات محافظتی عصاره گیاه شمععدانی عطری در مقابل اثرات زیان‌بار سلولی استات سرب می‌باشد. Shan و همکارانش نیز اثر اسکوربیک اسید و تیامین را در ظرف ۶ هفته بر موش‌هایی که هم‌زمان سرب را به‌صورت داخل معده‌ای دریافت می‌کردند بررسی نمودند. در گروه دریافت‌کننده سرب کاهش تعداد و حرکت اسپرم‌ها نسبت به گروه کنترل مشاهده شد. در حالی که در گروه دریافت‌کننده اسکوربیک اسید این پارامترها بالاتر بودند. بدین ترتیب اسکوربیک اسید همراه با تیامین می‌تواند نقش محافظتی را در مقابل سرب بر دستگاه تناسلی ایفا نماید (۲۱). بررسی‌ها نشان داده‌اند که گیاه شمععدانی عطری مقادیر زیادی ویتامین‌های B (از جمله تیامین) و ویتامین C دارد. نقش این ویتامین‌ها در بدن و اثرات محافظتی آن‌ها اثبات شده است. بنابراین احتمال دارد که اثر محافظتی عصاره این گیاه به خاطر داشتن انواعی از ویتامین‌ها از جمله تیامین موجود در آن باشد. Anjum و همکاران نشان دادند که سرب باعث کاهش سطح سرمی تستوسترون و افزایش گونادوتروپین‌های هیپوفیزی (FSH & LH) می‌گردد (۲۲). اثر تخریبی که سرب بر بافت بیضه و سلول‌های لیدیک می‌گذارد سبب می‌شود که ترشح تستوسترون از سلول‌های لیدیک آن‌ها به شدت کاهش یابد و چون اثرات فیدبکی منفی تستوسترون بر گونادوتروپین‌ها برداشته می‌شود، میزان سطح سرمی FSH & LH بالا می‌رود. Karimi و همکاران نشان دادند که عصاره آلوورا موجب کاهش سطح سرمی تستوسترون و گونادوتروپین‌ها گردید. علت کاهش گونادوتروپین‌ها به خاطر اثرات زیان‌بار سرب بر محور هیپوتالاموس-هیپوفیزی توجیه گردید (۲۳).

موانع و محدودیت‌ها تمهیدات و برنامه ریزی بیشتری صورت گیرد و نتایج جامع‌تری اخذ گردد.

با توجه به فراوانی سرب در محیط اطراف ما و نیز با توجه به نتایج این مطالعه آلودگی با سرب می‌تواند باعث کاهش اسپرم‌های متحرک و زنده، تخریب بافت بیضه و آسیب ناهنجار به دودمان سلول‌های اسپرم‌ساز و همچنین کاهش سطح سرمی تستوسترون در خون گردد. با استفاده از عصاره هیدروالکلی برگ گیاه شمعدانی عطری نشان داده شده که این تغییرات قابل بازگشت می‌باشد. عصاره فوق دارای ترکیبات شیمیایی طبیعی بوده که توان بهبودی در روند اسپرم‌سازی را در افراد در معرض ترکیبات سرب را دارا می‌باشد.

### تشکر و قدردانی

نویسندگان لازم می‌دانند از زحمات بی دریغ جناب آقای دکتر مسعود رنجبر استاد سیستماتیک گیاهی و خانم ثمینه نوری مسئول هرباریوم گیاهی دانشکده علوم پایه دانشگاه بوعلی سینا جهت تعیین جنس و گونه گیاه شمعدانی عطری و همچنین آقای رامتین پاکزاد مربی آزمایشگاه فیزیولوژی گیاهی گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم پایه دانشگاه بوعلی سینا همدان در تهیه عصاره گیاه شمعدانی عطری صمیمانه تقدیر و تشکر نمایند.

### References:

- Ahamed M, Siddiqui M. Low level lead exposure and oxidative stress: current opinions. *Clin Chim Acta* 2007;383(1):57-64.
- Hamadouche NA, Slimani M, Merad-Boudia B, Zaoui C. Reproductive toxicity of lead acetate in adult male rats. *Am J Sci Res* 2009;3:38-50.
- Wang C, Zhang Y, Liang J, Shan G, Wang Y, Shi Q. Impacts of ascorbic acid and thiamine supplementation at different concentrations on lead toxicity in testis. *Clin chim acta* 2006;370(1):82-8.
- Reglero MM, Taggart MA, Castellanos P, Mateo R. Reduced sperm quality in relation to oxidative stress in red deer from a lead mining area. *Environ Pollution* 2009;157(8):2209-15.
- Uzun FG, Kalender S, Durak D, Demir F, Kalender Y. Malathion-induced testicular toxicity in male rats and the protective effect of vitamins C and E. *Food Chem Toxicol* 2009;47(8):1903-8.

Mares و همکاران در مطالعه‌ای نشان دادند که عصاره زنجبیل باعث افزایش هم‌زمان تستوسترون و FSH & LH در انسان می‌گردد (۲۴). همچنین Okon و همکاران نشان دادند که عصاره آبی تتراکاپریدیم در موش‌های صحرایی موجب افزایش هم‌زمان تستوسترون و FSH & LH می‌گردد (۲۵). نتایج این مطالعه همسو با مطالعات صورت گرفته و فوق نشان داد که استات سرب موجب کاهش سطح سرمی تستوسترون در گروه شاهد می‌گردد. اما عصاره برگ گیاه شمعدانی عطری موجب افزایش معنی‌دار سطح سرمی تستوسترون همراه با افزایش سطح سرمی FSH & LH می‌باشد. به نظر می‌رسد عصاره هیدرو الکلی برگ گیاه شمعدانی با دارا بودن ترکیباتی نظیر ژرانیول توانسته باشد علاوه بر محافظت از بافت بیضه در مقابل سرب و افزایش فعالیت سلول‌های لیدیگ، محور هیپوتالاموسی-هیپوفیزی را تحت تأثیر قرار داده باشد و با افزایش گونادوتروپین‌های هیپوفیزی نیز موجب افزایش تستوسترون نیز گردد. در این بررسی محدودیت‌های زمانی در مورد ادامه بررسی برای مدت طولانی‌تر و همچنین مشکلات بالابودن هزینه‌های آزمایشات پاراکلینیکی جهت اندازه‌گیری سایر آزمایشات هورمونی و بافت‌شناسی اندام‌های دیگر وجود داشت. در نتیجه تحلیل کامل و مشخصی از اثرات استات سرب را در بدن با محدودیت‌هایی مواجه می‌ساخت. لذا که امید است در مطالعات بعدی در مورد این نوع از

- Thomas MJR. Endocrine mechanisms underlying reproductive toxicity in the developing rat chronically exposed to dietary lead. *J Toxicol Environ Health Part A* 1998;54(2):77-99.
- Goodman G, Hardman J, Limbird L, Goodman GA. Insulin, Oral Hypoglycaemic agents and the pharmacology of endocrine pancreas. *Pharmacological Basis Therapeutics* 2006;60:1686-710.
- Proestos C, Chorianopoulos N, Nychas G-J, Komaitis M. RP-HPLC analysis of the phenolic compounds of plant extracts. Investigation of their antioxidant capacity and antimicrobial activity. *J Agricultural Food Chem*. 2005;53(4):1190-5.
- Farzaei MH, Khazaei M, Abbasabadei Z, Feyzmahdavi M, Mohseni GR. Protective Effect of *Tragopogon Graminifolius* DC Against Ethanol Induced Gastric Ulcer. *Iran Red Crescent Med J* 2013;15(9):813-7. (Persian)

10. Ola-Mudathir KF, Suru SM, Fafunso MA, Obioha UE, Faremi TY. Protective roles of onion and garlic extracts on cadmium-induced changes in sperm characteristics and testicular oxidative damage in rats. *Food Chem Toxicol* 2008;46(12):3604-11.
11. Mithila J, Murch SJ, KrishnaRaj S, Saxena PK. Recent advances in Pelargonium in vitro regeneration systems. *Plant Cell Tissue Organ Cult* 2001;67(1):1-9.
12. Acharya UR, Mishra M, Patro J, Panda MK. Effect of vitamins C and E on spermatogenesis in mice exposed to cadmium. *Reproduc Toxicol* 2008;25(1):84-8.
13. Li G, Ma A, Shi W, Zhong X. Quercetin protects hamster spermatogenic cells from oxidative damage induced by diethylstilboestrol. *Andrologia* 2010;42(5):285-90.
14. Vargas AJ, Burd R. Hormesis and synergy: pathways and mechanisms of quercetin in cancer prevention and management. *Nut Rev* 2010;68(7):418-28.
15. Sokol R, Madding C, Swerdloff R. Lead toxicity and the hypothalamic-pituitary-testicular axis. *Biol Reproduc* 1985;33(3):722-8.
16. Bonde JP, Joffe M, Apostoli P, Dale A, Kiss P, Spano M, et al. Sperm count and chromatin structure in men exposed to inorganic lead: lowest adverse effect levels. *Occup Environ Med* 2002;59(4):234-42.
17. Koleva II, van Beek TA, Linssen JP, Groot Ad, Evstatieva LN. Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. *Phytochemical Analysis* 2002;13(1):8-17.
18. Oki T, Masuda M, Furuta S, Nishiba Y, Terahara N, Suda I. Involvement of Anthocyanins and other Phenolic Compounds in Radical-Scavenging Activity of Purple-Fleshed Sweet Potato Cultivars. *J Food Sci* 2002;67(5):1752-6.
19. Graca A, Ramalho-Santos J, de Lourdes Pereira M. Effect of lead chloride on spermatogenesis and sperm parameters in mice. *Asian J Androl* 2004;6(3):237-42.
20. Dorostghoal M, Seyyednejad S, Jabari A. Protective effects of *Fumaria parviflora* L. on lead-induced testicular toxicity in male rats. *Andrologia* 2014;46(4):437-46.
21. Shan G, Tang T, Zhang X. The protective effect of ascorbic acid and thiamine supplementation against damage caused by lead in the testes of mice. *J Huazhong Univ Sci Tech* 2009;29:68-72.
22. Anjum MR, Reddy PS. Recovery of lead-induced suppressed reproduction in male rats by testosterone. *Andrologia* 2015;47(5):560-7.
23. Karimi Jashni H, Najmadini N, Hooshmand F. Effect of alcoholic extract of Aloe vera plant on serum testosterone and gonadotropin levels in rats. *J Jahrom Univ Med Sci* 2012;10(2):2-8. (Persian)
24. Mares A-K, Abid W, Najam WS. The effect of Ginger on semen parameters and serum FSH, LH & testosterone of infertile men. *Tikrit Med J* 2012;18(2).
25. Okon UA, Atai AA. Aqueous extract of *Tetracarpidium conophorum* increases FSH and LH plasma levels and impairs sperm indices in albino wistar rats. *Int J Biomed Res* 2014;5(10):631-5.



## STUDY OF *PELARGONIUM GRAVEOLENS* L. HYDROETHANOLIC LEAVES EXTRACT ON SPERMATOGENESIS IN MALE RATS INDUCED WITH LEAD ACETATE

Naser Mirazi<sup>1\*</sup>, Leila Shahbazi<sup>2</sup>, Sima Nasri<sup>3</sup>

Received: 6 Nov, 2015; Accepted: 22 Dec, 2015

### Abstract

**Background & Aims:** Lead is a toxic heavy metal that acts as environmental pollutant. Some medicinal plants can prevent toxin injuries in body tissues. The aim of this study was to investigate the protective effect of *Pelargonium graveolens* leaves' extract (PGE) on spermatogenesis process in male rats treated by lead.

**Materials & Methods:** In this experimental study, 42 male rats were divided randomly into 6 groups (n=7): control (taking normal saline, 0.5ml/day), witness (taking lead acetate, 500 ppm in tap water), positive groups 1 and 2: (250mg/Kg PGE and 500mg/Kg PGE), treated group 1 and 2 (500 ppm lead acetate in tap water +250mg/Kg and 500mg/Kg PGE). The blood and testes tissue samples were prepared for hormonal and histological analysis. All the data were evaluated with ANOVA and Tukey test.

**Results:** The results showed that the testosterone serum level reduced significantly in witness group compared with the control group (P<0.001). The PGE increased testosterone serum level in treated groups (P<0.001). Lead acetate reduces the number of spermatogonia, spermatocyte, leydig and sperm cells significantly (P<0.001).

**Conclusion:** The finding of this research revealed that PGE could inhibit the detrimental effects of lead acetate in testes. The PGE increased testosterone hormone and number of sperms in the treated rats.

**Keywords:** Lead acetate, Testosterone, *Pelargonium graveolens*, Rat

**Address:** Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, BU-Ali Sina University, Hamedan, Iran

**Tel:** +98 81-38381058- +98 9188125741

**Email:** mirazi@basu.ac.ir

SOURCE: URMIA MED J 2016; 26(11): 1009 ISSN: 1027-3727

<sup>1</sup> Associate Professor in Physiology, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, BU-Ali Sina University, Hamedan, Iran (Corresponding Author)

<sup>2</sup> MS.c in Animal Physiology, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Payam-e Noor University, Tehran, Iran

<sup>3</sup> Associate Professor in Physiology, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Payam-e Noor University, Tehran, Iran