

## اثرات حفاظتی عصاره میوه گیاه تمشک (*Rubus fruticosus* L.) بر تغییرات هورمون‌های گونادوتروپینی، تستوسترون و اسپرماتوژنز در موش‌های صحرایی نر دیابتیک القا شده با استرپتوزوتوسین

نوشین امینی<sup>۱</sup>، عبدالحسین شیروی<sup>۲</sup>، ناصر میرازی<sup>۳\*</sup>، ویدا حجتی<sup>۴</sup>، رقیه عباسعلی پورکبیرره<sup>۵</sup>

تاریخ دریافت ۱۳۹۹/۰۴/۰۷ تاریخ پذیرش ۱۳۹۹/۰۷/۱۷

### چکیده

**پیش‌زمینه و هدف:** هدف از این مطالعه، ارزیابی اثرات حفاظتی عصاره میوه گیاه تمشک بر سطوح سرمی FSH, LH و تستوسترون و تعداد و درصد تحرک اسپرم در موش‌های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوتوسین می‌باشد.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه تجربی، تعداد ۵۰ سر موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار استفاده شد و به پنج گروه تقسیم شدند: (کنترل)، دیابتی (DM)، ۵۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، داخل صفاقی) و تیمارها (DM + تیمار با دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره میوه گیاه تمشک). در پایان آزمایشات سطح سرمی هورمون‌های FSH, LH و تستوسترون و همچنین تعداد و درصد تحرک اسپرم تعیین شد. داده‌ها با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

**یافته‌ها:** سطوح سرمی LH و FSH در گروه DM افزایش معنی‌داری نسبت به دیگر گروه‌ها نشان داد ( $P < 0.05$ ). پس از تیمار با عصاره میوه تمشک، سطوح سرمی LH و FSH به شکل معنی‌داری نسبت به گروه DM کاهش پیدا کرد ( $P < 0.05$ ). سطح سرمی تستوسترون و تعداد و درصد تحرک اسپرم در گروه DM کاهش معنی‌داری پیدا کرد ( $P < 0.05$ ). استفاده از عصاره میوه تمشک موجب افزایش معنی‌دار تستوسترون و تعداد اسپرم و بالا رفتن تحرک آن‌ها در گروه‌های تیمار نسبت به گروه DM شد ( $P < 0.05$ ).

**نتیجه‌گیری:** عصاره میوه تمشک با افزایش ترشح هورمون تستوسترون و بهبود اسپرماتوژنز در موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت با STZ، منجر به بهبود عملکرد محور هیپوفیز-گناد می‌شود.

**کلیدواژه‌ها:** عصاره تمشک، اسپرماتوژنز، دیابت، موش صحرایی

مجله مطالعات علوم پزشکی، دوره سی و یکم، شماره نهم، ص ۶۵۷-۶۵۰، آذر ۱۳۹۹

آدرس مکاتبه: همدان، دانشگاه بوعلی سینا، گروه زیست شناسی، تلفن: ۰۹۱۸۸۱۲۵۷۴۱

Email: mirazi205@gmail.com

### مقدمه

آن‌ها می‌توان به کاهش سطح تستوسترون، تحلیل غدد ضمیمه جنسی و کاهش میل و رفتارهای جنسی (۳،۴) اشاره کرد. دیابت همچنین بر اسپرماتوژنز تأثیر گذاشته و مطالعات بسیاری به کاهش حرکت اسپرم، کاهش تعداد اسپرم‌ها و افزایش اسپرم‌های غیرطبیعی در بیماران دیابتیک اشاره کرده‌اند (۵،۶). محور هیپوفیز-گناد یکی از ضروری‌ترین و فعال‌ترین محورهای فیزیولوژیک بدن است که نه تنها اعمال تولیدمثلی، بلکه به واسطه سنتز و ترشح آندروژن‌ها،

بیماری قند یا دیابت ملیتوس (DM) یک اختلال متابولیک است که با افزایش قند خون همراه است و به علت کمبود ترشح و یا نقص در عملکرد انسولین و یا هر دوی آن‌ها ایجاد می‌شود (۱). دیابت بر عملکرد و ساختارهای مختلف بدن از جمله چشم، کلیه و عروق اثر می‌گذارد (۲). یکی از ساختارهایی که تحت تأثیر آثار سوء دیابت قرار می‌گیرد، دستگاه تولیدمثل مذکر می‌باشد که از مهم‌ترین

<sup>۱</sup>گروه زیست شناسی، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران

<sup>۲</sup>گروه زیست شناسی، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران

<sup>۳</sup>گروه زیست شناسی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران (نویسنده مسئول)

<sup>۴</sup>گروه زیست شناسی، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران

<sup>۵</sup>گروه بوشیمی بالینی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران

بسیاری از جنبه‌های فیزیولوژیکی فرد از جمله تمایز جنسی، بروز صفات ثانویه جنسی و رفتار جنسی را کنترل می‌کند (۷، ۸). عملکرد دستگاه تناسلی بشدت تحت تأثیر هورمون‌های مترشح از محور HPG (هیپوتالاموس-هیپوفیز-گناد) است. به‌عنوان مثال جهت رشد و تقسیم سلول‌های جنسی، تستوسترون از سلول‌های لایدیگ ترشح می‌شود که ترشح آن رابطه مستقیمی با ترشح گنادوتروپین‌های هیپوفیز و هورمون آزادکننده گنادوتروپین هیپوتالاموس دارد (۸) و مشخص شده است که دیابت با کاهش فعالیت محور هورمونی هیپوتالاموس-هیپوفیز-گناد همراه است (۹).

گیاهان دارویی سال‌های زیادی است که در سراسر جهان برای درمان و پیشگیری از دیابت و عوارض آن استفاده می‌شوند، اما تنها اثرات تعدادی از آن‌ها به‌طور علمی بررسی شده است (۱۰). گیاه *Rubus fruticosus* L. حاوی ترکیبات مفیدی از جمله ویتامین-هایی مانند A، C، E و اسیدفولیک (۱۱)، کلرید معدنی و Cu، Zn، Al، Mn، Co، Fe می‌باشد (۱۲). همچنین میوه و روغن دانه *Rubus fruticosus* L. حاوی کاروتنوئیدها و انواع استرول‌ها است (۱۳، ۱۴). میوه تمشک یک منبع غنی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی است زیرا دارای مقادیر زیاد فنل‌ها، فلاونول‌ها و آنتوسیانین‌ها است و از مهم‌ترین اثرات تمشک سیاه، خاصیت ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدانی، ضالتهایی و ضدسرطانی است (۱۳). با توجه به اینکه در حال حاضر مطالعات کافی در مورد اثرات کاهشی میوه تمشک بر عوارض دیابت در عملکرد سیستم تولیدمثلی نر انجام نشده است، هدف از این مطالعه بررسی اثرات حفاظتی عصاره میوه گیاه تمشک بر تغییرات هورمون‌های جنسی و اسپرماتوژنز در موش‌های صحرایی نر دیابتیک القاشده با استرپتوزوتوسین می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

در این پژوهش تجربی ۵۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن ۲۵۰-۲۰۰ گرم از مؤسسه انسیتو پاستور ایران خریداری شدند. این موش‌ها در قفس‌های ویژه‌ای نگهداری شده و دمای اتاق حیوانات حدود  $22 \pm 2$  درجه سانتی گراد بود. برنامه نوری مورد استفاده ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی با شروع روشنایی صبحگاهی در ساعت ۸ تعیین و حیوانات آزادانه به آب تازه و غذا به صورت نامحدود دسترسی داشتند. غذای موش‌ها از کارخانه خوراک دام پارس تهیه شد. در برنامه مطالعاتی، در ابتدا وزن گیری انجام شد و طبق وزن‌های به دست آمده، موش‌ها در قفس‌ها قرار گرفتند. با این عمل میانگین وزن هر قفس در یک رنج قرار گرفت و عامل وزن حذف شد.

جهت تهیه عصاره، در ابتدا میوه تمشک از باغات شمال ایران تهیه و توسط مرکز تحقیقات کشاورزی مورد شناسایی قرار گرفت. سپس میوه گیاه در شرایط مناسب در سایه خشک، نگهداری و توسط دستگاه میکسر به صورت پودر درآمد. سپس مقدار ۵۰۰ گرم پودر خشک میوه گیاه به نسبت ۸۰ درصد الکل اتیلیک و ۲۰ درصد آب مقطر مخلوط شد و به مدت ۷۲ ساعت در بن ماری ۵۰ تا ۵۵ درجه سانتی گراد نگهداری شد تا عصاره هیدروالکلی گیاه تهیه گردد. پس از صاف کردن مایع رویی توسط کاغذ صافی، محلول صاف شده با روش تبخیر در خلأ توسط دستگاه روتاری عصاره گیری شد. عصاره به‌دست آمده بعد از مراحل عصاره گیری در زیر هود به مدت ۲۴ ساعت تغلیظ شد و در نهایت با توجه به دوزهای مورد نظر، عصاره تهیه شده را با حل کردن در آب مقطر دو بار تقطیر، آماده تزریق شد (۱۵، ۱۶).

داروی مورد استفاده برای القاء دیابت، از داروی استرپتوزوتوسین (STZ) خریداری شده از شرکت سیگما-آلدریج آمریکا (Sigma-Aldrich, USA) استفاده شد. حیوانات با استفاده از دوز ۵۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن STZ (حل کردن در بافر سیترات ۰/۱ درصد و تیترا شده با اسید کلریدریک و رسیدن به  $\text{pH}=4/5$ ) به صورت تک دوز و داخل صفاقی دیابتی شدند (۱۷). بعد از گذشت ۷۲ ساعت از تزریق STZ، غلظت گلوکز خون با خونگیری از سیاهرگ دمی و با استفاده از دستگاه گلوکومتر اندازه‌گیری و قند خون بالاتر از ۲۵۰ میلی‌گرم بر دسی لیتر به‌عنوان ارزیابی ایجاد بیماری در نظر گرفته شد (۱۸، ۱۹). حیوانات به ۵ گروه ۱۰ تایی تقسیم شدند و هر گروه نیز تحت آزمایشات خاص به شرح زیر قرار گرفتند: گروه کنترل (هیچ‌گونه دارویی دریافت نکردند) (۲۰، ۲۱)، گروه دیابتی دریافت کننده داروی STZ (۵۵ mg/kg)، گروه دریافت کننده STZ + دوز پایین عصاره میوه تمشک (۵۰ mg/kg)، گروه دریافت کننده STZ + دوز متوسط عصاره میوه تمشک (۱۰۰ mg/kg) و گروه دریافت کننده STZ + دوز بالای عصاره میوه تمشک (۲۰۰ mg/kg) (۲۲).

تزریق عصاره در همه گروه‌ها به صورت درون صفاقی روزی یک بار طبق زمان بندی مشخص بین ساعت ۱۲ الی ۱۳ ظهر به مدت ۴ هفته انجام شد. پس از گذشت زمان ذکر شده تزریق عصاره میوه گیاه تمشک، به‌منظور انجام سنجش فاکتورهای مورد نظر اقدام به انجام خونگیری شد. خونگیری از حیوانات در ساعت ۹ صبح الی ۱۲ به عمل آمد. روش خونگیری از قلب باز به صورت مستقیم انجام گرفت. برای بی‌هوش کردن، از کتامین ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و زایلازین ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم استفاده شد. ۳۰ دقیقه پس از خونگیری، نمونه‌ها را به مدت ۱۰ دقیقه درون دستگاه سانتریفوژ با دور ۳۰۰۰ قرار داده و سرم خون تهیه و برای سنجش فاکتورها بکار

گرفته شد. نمونه‌های جمع‌آوری شده جهت سنجش هورمونی به آزمایشگاه ارسال گردیدند. بررسی‌های به عمل آمده در خصوص سطوح سرمی LH، FSH و تستوسترون توسط کیت‌های سنجش

غلظت شرکت پادتن گستر ایثار (PGI) صورت گرفت. جهت شمارش و تعیین درصد تحرک اسپرم از لام نئوبار استفاده شد و طبق فرمول‌های ارائه شده محاسبه گردید.

تعداد اسپرم =  $5 \times 10^4 \times$  مجموع تعداد اسپرم‌های ۵ مربع ۱۶ عددی (قطر مربع مرکزی)

مجموع تعداد اسپرم‌های متحرک ۱۰ میدان مربع مرکزی

$100 \times$  درصد تحرک اسپرم =

مجموع تعداد کل اسپرم‌های ۱۰ میدان مربع مرکزی

کاهش معناداری نسبت به گروه کنترل شد ( $P < 0.001$ ) در حالیکه در گروه‌های دریافت کننده STZ + دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره میوه گیاه تمشک نسبت به گروه دیابتی افزایش معناداری مشاهده شد ( $P < 0.001$ )، حال آنکه گروه‌های دریافت کننده STZ + دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره میوه تمشک همچنان کاهش معناداری نسبت به گروه کنترل نشان دادند ( $P < 0.001$ )، از طرفی در بررسی تعداد و درصد تحرک اسپرم، دریافت STZ در گروه دیابتی منجر به کاهش معناداری نسبت به گروه کنترل شد ( $P < 0.001$ ) که این کاهش در گروه دریافت کننده STZ + دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره میوه تمشک نیز در هر دو فاکتور مشاهده شد ( $P < 0.01$ ،  $P < 0.001$ ). تعداد و درصد تحرک اسپرم در گروه‌های دریافت کننده STZ + دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره میوه تمشک نسبت به گروه دیابتی افزایش معناداری پیدا کرد ( $P < 0.001$ ،  $P < 0.01$ ). حال آنکه در درصد تحرک اسپرم در گروه‌های دریافت کننده STZ + دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره میوه تمشک افزایش معناداری نسبت به گروه کنترل نیز مشاهده شد ( $P < 0.05$ ،  $P < 0.01$ ). (جدول ۱) (۲۳).

تمامی مراحل آزمایشات مورد تأیید کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی همدان با کد IR.UMSHA.REC.1399.414 می‌باشد. به منظور تجزیه و تحلیل آماری، پس از حصول اطمینان از توزیع طبیعی داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS<sub>21</sub> و آزمون‌های آماری کولموگروف - اسمیرنوف و آنالیز واریانس یک طرفه تجزیه و تحلیل شد. سپس از آزمون تعقیبی Tukey جهت بررسی اختلافات بین گروه‌ها استفاده گردید.

## یافته‌ها

با توجه به نتایج به دست آمده، سطوح سرمی LH و FSH در گروه دیابتی افزایش معناداری نسبت به گروه کنترل پیدا کرد ( $P < 0.001$ ). در بررسی سطوح سرمی LH و FSH در گروه‌های دریافت کننده STZ + دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره میوه تمشک کاهش معناداری نسبت به گروه دیابتی مشاهده شد ( $P < 0.01$ ،  $P < 0.001$ ) و این در حالی است که در گروه‌های دریافت کننده STZ + دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره میوه تمشک نسبت به گروه کنترل افزایش معناداری در سطوح سرمی LH و FSH مشاهده شد ( $P < 0.001$ ). در بررسی سطح سرمی تستوسترون، گروه دیابتی دچار

**جدول (۱):** مقایسه میانگین و خطای استاندارد میانگین فاکتورهای LH، FSH، تستوسترون، تعداد و درصد تحرک اسپرم در گروه‌های

کنترل و دریافت کننده STZ و STZ + دوزهای مختلف عصاره میوه گیاه تمشک (۲۳)

| گروه/ فاکتور | LH<br>(میلی واحد بین المللی بر میلی لیتر) | FSH<br>(میلی واحد بین المللی بر میلی لیتر) | تستوسترون<br>(نانوگرم بر میلی لیتر) | تعداد اسپرم بر میلی لیتر<br>( $\times 10^4$ ) | تحرک اسپرم<br>(درصد) |
|--------------|-------------------------------------------|--------------------------------------------|-------------------------------------|-----------------------------------------------|----------------------|
| کنترل        | $0.10 \pm 0.14$                           | $0.05 \pm 0.15$                            | $0.32 \pm 0.18$                     | $6.06 \pm 1.07$                               | $2.59 \pm 0.72$      |
| دیابتی       | $0.08 \pm 0.26$                           | $0.39 \pm 0.67$                            | $0.13 \pm 0.16$                     | $3.91 \pm 0.57$                               | $1.86 \pm 0.20$      |
|              | ***                                       | ***                                        | ***                                 | ***                                           | ***                  |

|            |           |            |            |            |                         |
|------------|-----------|------------|------------|------------|-------------------------|
| ۳/۴۵±۲۱/۸۵ | ۴۷/۶۴±۶۳۷ | ۰/۰۱۹±۳/۵۳ | ۰/۰۱۹±۱/۷۸ | ۰/۰۱۰±۲/۱۲ | دیابتی+عصاره تمشک       |
| ***        | **        | *** ###    | *** ###    | *** ###    | ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم  |
| ۴/۰۵±۸۹/۴۸ | ۳۱/۷۹±۹۵۲ | ۰/۰۰۸±۳/۳۱ | ۰/۰۲۱±۱/۷۵ | ۰/۰۰۷±۲/۱۷ | دیابتی+عصاره تمشک       |
| * ###      | ###       | *** ###    | *** ###    | *** ###    | ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم |
| ۱/۸۲±۹۴/۵۳ | ۳۸/۵۹±۸۷۶ | ۰/۰۱۶±۴/۷۹ | ۰/۰۱۹±۱/۶۷ | ۰/۰۱۴±۱/۹۴ | دیابتی+عصاره تمشک       |
| ** ###     | ##        | ###        | ** ###     | *** ###    | ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم |

\* بیانگر اختلاف معنی دار نسبت به گروه کنترل و # بیانگر اختلاف معنی دار نسبت به گروه دیابتی می باشد. (۰/۰۰۱ < P < \*\*, ۰/۰۱ < P < \*\*, ۰/۰۵ < P < \*) و (۰/۰۰۱ < P < ###, ۰/۰۱ < P < ##).

## بحث و نتیجه گیری

در مطالعه حاضر اثرات حفاظتی عصاره میوه گیاه تمشک (*Rubus fruticosus* L.) بر تغییرات هورمون های جنسی و اسپرماتوژنز در موش های صحرایی نر دیابتیک القا شده با استرپتوزوتوسین مورد بررسی قرار گرفت و نتایج این مطالعه نشان داد که در طول انجام پژوهش حاضر، تزریق STZ باعث افزایش سطوح سرمی LH و FSH و کاهش سطح سرمی تستوسترون و تعداد و درصد تحرک اسپرم می شود و این نتیجه با نتایج مطالعات گذشته مبنی بر اینکه دیابت منجر به افزایش میزان هورمون های گنادوتروپیک LH و FSH نسبت به حد طبیعی شده (۲۴) و با کاهش تولید تستوسترون (۳)، همچنین اسپرماتوژنز (۵) و کاهش حرکت اسپرم همراه است (۲۵) مطابقت می کند. در مطالعات دیگری، در گروه مبتلا به دیابت افزایش در سطوح سرمی FSH و LH گزارش شد. می توان گفت که دیابت موجب آسیب مورفولوژیکی به بافت بیضه می شود و به این ترتیب سطح سرمی گنادوتروپین ها را تحت تأثیر قرار می دهد (۲۶، ۲۷). نتایج حاصل از تحقیقات انجام گرفته بر روی دیابت نشان داده است که دیابت شیرین، اثرات مخربی بر عملکرد و ساختارهای سیستم تولیدمثل دارد. این تغییرات می تواند منجر به کاهش سطح تستوسترون، تحلیل غدد ضمیمه تولیدمثلی، کاهش میل و رفتارهای جنسی و تعداد اسپرم گردد که در برخی از موارد ممکن است سبب ناباروری شود (۴). همچنین در مطالعه ای دیگر مشاهده شد که بیماری دیابت بر اسپرم سازی تأثیر گذاشته و اثر خود را به صورت کاهش در حرکت و تعداد اسپرم و افزایش ایجاد اسپرم های ناهنجار اعمال می نماید (۱۰).

با توجه به نتایج به دست آمده از پژوهش های پیشین و مطالعه حاضر، در بررسی تغییرات هورمون های LH، FSH و تستوسترون و همچنین فاکتورهای اسپرمی، می توان احتمال داد که با کاهش ترشح هورمون انسولین در بیماران دیابتی، سلول های لایدیگ تحت تأثیر قرار گرفته و منجر به کاهش ترشح تستوسترون شود (۲۵) و با اثر فیدبک منفی برای تنظیم سطح تستوسترون سرم، میزان ترشح

LH و FSH از غده هیپوفیز افزایش می یابد (۲۸). و همچنین می توان احتمال داد که در اثر دیابت میزان خون رسانی بافت بیضه کاهش پیدا کرده و با ایجاد شرایط استرس اکسیداتیو، بر میزان ترشح و رسیدن هورمون های گنادوتروپین و در نتیجه عملکرد بیضه تأثیر گذاشته و با ایجاد آسیب های متعدد به بافت بیضه به ویژه سلول های لایدیگ و سرتولی، موجب کاهش عملکرد آن ها شده است (۲۹) که در نهایت فرایند اسپرماتوژنز دچار اختلال شده و بر تعداد و تحرک اسپرم تأثیر خواهد گذاشت.

یافته دیگر این مطالعه نشان می دهد که تزریق دوزهای مختلف عصاره میوه تمشک به موش های دیابتی باعث کاهش سطوح سرمی LH و FSH و افزایش ترشح تستوسترون و همچنین افزایش تعداد و درصد تحرک اسپرم شد که با نتایج حاصل از برخی مطالعات پیشین مطابقت دارد به این ترتیب که تیمار با زنجبیل و دارچین با هم به صورت خوراکی، به علت داشتن خواص آنتی اکسیدانی، اثرات قابل ملاحظه ای را بر میزان قند خون، سطح انسولین و پارامترهای اسپرم معیوب داشت به خصوص منجر به بهبود سطح LH و FSH سرم شد و در واقع به طور کلی نتیجه مثبتی بر باروری داشت (۳۰) و همچنین در پژوهشی که بر روی اثر عصاره هیدروالکلی برگ بارهنگ بر شکل بیضه، پارامترهای اسپرمی و سطح تستوسترون در موش های نر دیابتی شده با استرپتوزوتوسین انجام شد، توانست در بهبود بافت بیضه، افزایش فرایند اسپرماتوژنز و افزایش سلول های لایدیگ و تستوسترون مؤثر واقع شود (۳۱).

با توجه به نتایج به دست آمده از پژوهش های پیشین و مطالعه حاضر، مشاهدات نشان داده اند که ترکیبات فنولی موجود در میوه تمشک (۱۴) سبب مهار آسیب سلول های لایدیگ در حضور رادیکال های آزاد می شود و از کاهش سنتر تستوسترون در موش های صحرایی دیابتی جلوگیری کرده (۳۱) و سطوح گنادوتروپین های هیپوفیزی نیز بهبود پیدا می کنند (۲۸). از طرفی ترکیبات فنولی با تنظیم ترشح تستوسترون به صورت مستقیم بر سلول های سرتولی تأثیر گذاشته و این سلول ها با ترشح فاکتورهای رشد و ترانسفرین

این مطالعه در حیطه‌ی آندوکرینولوژی از بررسی تغییرات هورمونی در سطح سرمی انجام گرفته و نتایج در این حیطه قابل بررسی است و بنابراین تفسیر سلولی-مولکولی نتایج برگرفته از این مطالعه امکان پذیر نیست. علاوه بر آن به دلیل محدودیت‌های اعتباری و همچنین ضیق وقت برخی از آزمایشات لازم جهت روشن شدن مکانیسم‌های مؤثر در بروز اختلالات ایجاد شده امکان پذیر نشد.

### تقدیر و تشکر

این پژوهش، حاصل پایان نامه مقطع دکترای تخصصی دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان بود و با حمایت‌های معنوی و مالی حوزه معاونت محترم پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان به انجام رسیده است. بدین وسیله از کمک و مساعدت این عزیزان تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

### References:

1. Canivell S, Gomis R. Diagnosis and classification of autoimmune diabetes mellitus. *Autoimmun Rev* 2014; 13: 403-7.
2. Ahmadasab M, Valipour chahardah charic S, Setorki M. Effect of *Crataegus monogyna* extract on renal histopathological changes in diabetic rats. *Pars Journal of Medical Sciences* 2019; 17: 23-31.
3. Bolbol Haghighi N, Molzemi S, Goli Sh, Mohammad Sadeghi H, Aminian M. The Effect of Hydroalcoholic Extract of *Ziziphora Clinopodioides* Lam on Testicular Damage Caused by Diabetes Mellitus in Male Rats. *J Babol Univ Med Sci* 2017; 19: 43-9.
4. Soudamani S, Yuvaraj S, Rengarajan S, Sivakumar R, Malini T, Balasubramanian K. Effects of streptozotocind diabetes and insulin replacement on androgen and estrogen receptor concentrations in the epididymis of Wistar rats. *Journal of Endocrinology and Reproduction* 2006; 10: 59-61.
5. Sadoughi SD, Edalatmanesh MA, Rahbarian R. The Effect of Curcumin on Pituitary-Gonadal Axis, DNA Oxidative Damage and Antioxidant Enzymes Activity of Testicular Tissue in Male Diabetic Rats.

در تغذیه و تقسیم سلول‌های جنسی و در نهایت در تولید اسپرم نقش ویژه‌ای دارند و همچنین هورمون تستوسترون نقش دیگری هم دارد و آن اثر مستقیم بر سلول‌های جنسی در حال تقسیم است (۳۲). پس احتمال دارد که با تنظیم ترشح تستوسترون از آسیب سلول‌های سرتولی و لایدیگ جلوگیری کرده و منجر به افزایش اسپرم‌های طبیعی از نظر باروری و تحرک شود.

### نتیجه‌گیری

ترکیبات موجود در عصاره میوه تمشک منجر به بهبود عملکرد محور هیپوفیز-گناد می‌شود و در نهایت فرآیند اسپرماتوزن در طی بیماری دیابت کم‌تر دچار اختلال می‌شود. کنترل عوارض دیابت در سیستم تولیدمثلی در در پی استفاده از این میوه مورد انتظار می‌باشد.

### محدودیت‌های مطالعه

- Journal of Fasa University of Medical Sciences 2018; 7: 511-20.
6. Dadfar F, Mohammadi J, Roshanfekar H. Effect of hydroalcoholic extract of *Nectaroscordum tripedale* on testicular tissue changes in diabetic male rats. *Feyz Sciences* 2019; 23: 108-16.
7. Jin J, Yang W. Molecular regulation of hypothalamus-pituitary-gonads axis in males. *Gene* 2014; 551: 15-25.
8. Holdcraft RW, Braun RE. Hormonal regulation of spermatogenesis. *Int J Androl* 2004; 27: 335-42.
9. Spark RF. Testosterone, diabetes mellitus, and the metabolic syndrome. *Curr Urol Rep* 2007; 8: 467-71.
10. Taghavi MM, Mahmoudian AR, Pourmasumi S, Jafari Naveh HR, Alavi H. The effect of *Angi Pars* as an herbal medicine on sperm count and the ratio of testis weight to body weight in diabetic rats. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2011; 24: 68-75.
11. Stoner GD, Chen T, Kresty LA, Aziz RM, Reinemann T, Nines R. Protection against esophageal cancer in rodents with lyophilized berries: Potential mechanisms. *Nutr Cancer* 2006; 54: 33-46.
12. Ștefănuț MN, Căta A, Pop R, Tănasie C, Boc D, Ienașcu I, et al. Anti-hyperglycemic effect of

- bilberry, blackberry and mulberry ultrasonic extracts on diabetic rats. *Plant Foods Hum. Nutr* 2013; 68: 378-84.
13. Yoon J, Cao X, Zhou Q, Ma LQ. Accumulation of Pb, Cu, and Zn in native plants growing on a contaminated Florida site. *Sci Total Environ* 2006; 368: 456-64.
  14. Zia-Ul-Haq M, Riaz M, De Feo V, Jaafar HZ, Moga M. *Rubus Fruticosus* L.: Constituents, Biological Activities and Health Related Uses. *Molecules* 2014; 19: 10998-1029.
  15. Shahmohamadi S, Khosravi M, Hajizadeh Moghaddam A. Effect of *Salvia officinalis* L. extract on malondialdehyde against streptozotocin-induced oxidative stress in rat's brain. *Medical sciences* 2014; 23: 225-9.
  16. Gomar A, Hosseini A, Mirazi N, Gomar M. Effect of hydroethanolic extract of *Rubus fruticosus* on neuropathic pain in Wistar diabetic rats. *Caspian J Neurol Sci* 2015; 1: 27-34.
  17. Pakseresht Z, Norouzi P, Hojati V, Moghaddam Kalalian H. Effect of Palmatine Hydrochloride on Oxidative Stress in Streptozotocin –Induced Diabetic Rats. *J Adv Med Biomed Res* 2016; 24: 119-29
  18. Shiravi A, Sayyad Zomorodi M. The study effect of *rubus fruticosus* extract on cutaneous wound healing in diabetic wistar rat. *Iranian Journal of Diabetes and Metabolism* 2015; 15: 1-8.
  19. Soleimanzadeh A, Malekifard F, Kabirian A. Protective effects of hydro-alcoholic garlic extract on spermatogenic disorders in streptozotocin-induced diabetic C57BL/6 mice. *Sci J Kurdistan Univ Med Sci* 2017; 22: 8-17.
  20. Hajinezhad MR, Shapari A, Hajian Shahri S, Sarani F, Salehimoghadam M. Effect of Hydroalcoholic Extract of *Berberis Vulgaris* Root on Serum Levels of Glucose, Malondehyde and HbA1c in Diabetic Rats. *J Neyshabur Univ Med Sci* 2015; 3: 21-8.
  21. hassanvand V, Yousofvand N, Hatami K. Preventive effect of combining zinc sulphate and garlic flowers extract on diabetes induced by streptozotocin (STZ) in male rats. *Journal of Animal Research (Iranian Journal o Biology)* 2016; 30: 33-41.
  22. Mohammadi Mehdiabadihassani MH, Moradi M, Khoshnam E, Mohammadi SH. The Effects of Hydroalcoholic Extract of Raspberry fruit on Pain and Passive Avoidance Memory Following Transient Global Ischemia/Reperfusion in Wistar Rats. *J Med Plants* 2017; 16: 137-46.
  23. Amini N, Shiravi A, Mirazi N, Hojati V, Abbasalipourkabir R. Protective effects of the raspberry (*Rubus fruticosus* L.) on pituitary-gonadal axis and testicular histopathology in streptozotosin induced diabetic male rats. *Avicenna journal of phytomedicine* 2020; Articles in Press.
  24. Natah TM, Abdul- Adheem Wtwat M, Al-Saadi HK, Al-Saadi AH, Farhood HF. Study the levels of adiponectin, FSH, LH and Sex hormones in Type 2 diabetes (NIDDM). *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare* 2013; 3: 172-81.
  25. Ballester J, Munoz MC, Dominguez J, Rigau T, Guinovart JJ, Rodriguez-Gil JE. Insulindependent Diabetes Affects Testicular Function by FSH-and LH Linked Mechanisms. *Journal of Andrology* 2004; 25: 709-19.
  26. Natah TM, Wtwat MA, Al-Saadi HK, Al-Saadi AH, Farhood HF. Study the levels of adiponectin, FSH, LH, and sex hormone in type 2 diabetes (NIIDDM). *J Biol Agric Healthcare* 2013; 3: 172-81.
  27. Sönmez MF, Karabulut D, Kilic E, Akalin H, Sakalar C, Gunduz Y, et al. The effects of streptozotocin-induced diabetes on ghrelin expression in rat testis: biochemical and immunohistochemical study. *Folia Histochem Cytobiol* 2015; 53: 26-34.
  28. Sepehri H, Rastgar farajzadeh A, ghasemi K. Guyton and Hall textbook of medical Physiology. 13th ed. Tehran: Andishe rafi publications; 2016.

29. Najar A, Piryaee A, Babaei S, bayat M. Effect of pentoxifylline on Sertoli and Leydig cells count of experimentally induced type 1 diabetes in male rats. J Army Univ Med Sci 2013; 11: 188-95.
30. Khaki A, Khaki AA, Hajhosseini L, Sadeghpour Golzar F, Ainehchi N. The anti-oxidant effects of ginger and cinnamon on spermatogenesis dysfunction of diabetes rats. Afr J Tradit Complement Altern Med 2014; 11: 1-8.
31. Nejati V, Khaneshi F. Evaluation of hydro- alcoholic extract of *Plantago major* leaf on the changes in testis Morphology, sperm parameters and testosterone level in Streptozotocin- Induced Diabetic Rats. Quarterly of Horizon of Medical Sciences 2014; 20: 49-55.
32. Jasemi M, Saki GH, Rahim F. The Effect of *Centella Asiatica* Alcoholic Extract on the Serum Levels of Testosterone FSH and LH in Male Wistar Rat. J Sabzevar Univ Med Sci 2009; 16:6-11.

## STUDY OF PROTECTIVE EFFECTS OF RASPBERRY FRUIT EXTRACT (*RUBUS FRUTICOSUS* L.) ON CHANGES IN GONADOTROPIN HORMONES, TESTOSTERONE AND SPERMATOGENESIS IN MALE DIABETIC RATS INDUCED WITH STZ

Nooshin Amini<sup>1</sup>, Abdolhossein Shiravi<sup>2</sup>, Naser Mirazi<sup>\*3</sup>, Vida Hojati<sup>4</sup>, Roghayeh Abbasalipourkabir<sup>5</sup>

Received: 27 June, 2020; Accepted: 07 October, 2020

### Abstract

**Background & Aims:** The aim of this study was to evaluate the protective effects of raspberry fruit extract (*Rubus fruticosus* L.) on LH, FSH, testosterone serum levels, and number and percentage of sperm motility in male diabetic rats induced with streptozotocin.

**Materials & Methods:** In this experimental study, 50 Wistar male rats were used and divided into five groups: (control), diabetic (STZ, 55mg/kg, i.p), and treatment groups (DM + raspberry fruit extract: 50, 100, 200 mg/kg/day, 4 weeks). At the end of experiments, the LH, FSH and testosterone serum levels and the number and percentage of sperm motility were examined. The data were statistically analyzed by ANOVA test.

**Results:** The LH and FSH serum levels increased significantly in DM group compared with other groups ( $p < 0.05$ ). After treatment with raspberry fruit extract, the LH and FSH serum levels decreased significantly compared with DM group ( $p < 0.05$ ). The testosterone serum level and the number and percentage of sperm motility decreased significantly in the DM group ( $p < 0.05$ ). The use of raspberry fruit extract significantly increased testosterone serum level and the number and percentage of sperm motility in treatment groups ( $p < 0.05$ ).

**Conclusion:** Our results showed that raspberry fruit extract increased testosterone hormone in DM rats, and also improved spermatogenesis and ameliorating pituitary-gonadal axis function.

**Keywords:** Raspberry extract, Spermatogenesis, Diabetes, Rat

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

**Tel:** +989188125741

**Email:** mirazi205@gmail.com

SOURCE: STUD MED SCI 2020: 31(9): 657 ISSN: 2717-008X

<sup>1</sup> Department of Biology, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, Iran

<sup>2</sup> Department of Biology, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, Iran

<sup>3</sup> Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Bu- Ali Sina University, Hamedan, Iran (Corresponding Author)

<sup>4</sup> Department of Biology, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, Iran

<sup>5</sup> Department of Clinical Biochemistry, School of Medicine, Hamedan University of Medical Sciences, Hamedan, Iran