IranJPP
Iranian Journal of
Physiology and Pharmacology

مجله فیزیولوژی و فارماکولوژی ایران

۲ (۳)، ۲۰۰-۱۹۲ پاییز ۱۳۹۷

مقاله پژوهشی

اثر عصاره کرفس کوهی (*Levisticum officinale*) بر شاخص های استرس اکسیداتیو، میزان تستوسترون و هیستولوژی بافت بیضه موشهای دیابتی

ناهید قایدی[۱]، ایران پورابولی[۱*]، شهریار دبیری[۲]

[۱] گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید باهنر کرمان
[۲] گروه پاتولوژی دانشکده پزشکی افضلی پور، مرکز تحقیقات سلولهای بنیادی و مرکز تحقیقات فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی

دریافت: ۱۵ دی ۱۳۹۶ پذیرش: ۱۶ اردیبهشت ۱۳۹۷

چکیده

زمینه و هدف: منابع آنتی اکسیدان طبیعی گیاهی در بهبود اختلالات تولیدمثلی در دیابت ملیتوس مفید هستند. این مطالعه، با هدف بررسی اثر عصاره هیدروالکلی گیاه کرفس کوهی بر میزان شاخصهای استرس اکسیداتیو، مقدار سرمی تستوسترون و هیستوپاتولوژی بافت بیضه موش های دیابتی انجام گرفت.

روش‌ها: دیابت نوع یک، با تزریق داخل صفاقی استرپتوزوتوسین به میزان ۶۵ میلی گرم بر کیلوگرم به موش های صحرایی نر نژاد ویستار، القا شد. موش های دیابتی به سه گروه تقسیم و به ترتیب ۱ میلی لیتر آب مقطر، عصاره هیدروالکلی کرفس کوهی به میزان ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم و گلایبن کلامید به میزان ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم به روش گاواژ به مدت ۱۴ روز دریافت نمودند. در یک گروه از موش های نرمال نیز تجویز ۱۴ روزه همان مقدار از آب مقطر انجام شد. در پایان مطالعه، حیوانات را در حالت ناشتا بیهوش نموده، و خون آنها برای تعیین سطح سرمی تستوسترون جمع آوری گردید. شاخصهای وزن بدن، وزن بیضه ها، فعالیت آنزیم های کاتالاز (CAT) و سوپر اکسید دیسموتاز (SOD)، مالون دی آلدهید (MDA) و بافت بیضه بررسی گردید.

یافته‌ها: تیمار موش های دیابتی با عصاره کرفس کوهی (۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) به طور معنی دار باعث افزایش وزن موش ها و وزن بیضه، و افزایش سطح سرمی تستوسترون، افزایش معنی دار فعالیت SOD , CAT و کاهش میزان MDA در بافت بیضه همچنین باعث کاهش تخریب بافتی بیضه ناشی از دیابت گردید.

نتیجه‌گیری: عصاره هیدروالکلی کرفس کوهی به دلیل خاصیت آنتی اکسیدانی، با افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی در بهبود باروری و کاهش آسیب های بافتی بیضه ناشی از دیابت مؤثر است.

واژه‌های کلیدی: استرس اکسیداتیو، بیضه، دیابت ملیتوس، کرفس کوهی

مقدمه

دیابت ملیتوس یک اختلال متابولیک مهم است که با تعداد زیادی از عوارض ساختاری و عملکردی در بافت ها و اندام های هدف مرتبط می باشد. استرپتوزوسین (STZ) یک آنتی بیوتیک (گلوکز آمین نیتروزاوره) است که از باکتری به دست می آید و برای سلولهای بتا پانکراس سمی میباشد و لذا برای ایجاد مدلهای دیابت تجربی بکار میرود. مطالعات آزمایشگاهی و تجربی نشان می دهند که دیابت با تغییراتی در عملکرد سیستم تولید مثلی مرتبط می باشد و دارای اثرات نامطلوبی بر عملکرد جنسی و دستگاه تولید مثلی جنس نر می باشد. تعادل بین گونه های اکسیدانی و آنتی آکسیدانی نقش مهمی را در جلوگیری از عوارض دیابت ایفا می کند. عدم تعادل در این

* نویسندهٔ مسئول مکاتبات: pouraboliiran@gmail.com
وبگاه مجله: http://ijpp.phypha.ir
پست الکترونیکی: ijpp@phypha.ir

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-17]

مورد منجر به ایجاد استرس اکسیداتیو و تغییرات پاتولوژیک در سطح ماکرومولکول های سلول ها می گردد . افزایش رادیکال های آزاد و همچنین پراکسیداسیون لیپیدی دو عامل بسیار مهم آسیب رسان به اسپرم ها از نظر عملکرد و کیفیت می باشند و بنابراین ارتباط تنگاتنگی با ناباروری در جنس نر دارند. داروهای مختلفی در درمان دیابت و جلوگیری از عوارض آن بکار میروند مانند گلایبن کلامید که از گروه داروهای سولفونیل اوره میباشد و سبب افزایش ترشح انسولین میگردد اما عوارض جانبی، مصرف این دارو را همچون سایر داروهای ضد دیابت، محدود کرده است.

گیاهان دارویی منابعی غنی از آنتی اکسیدان های طبیعی هستند و در سال های اخیر به منظور کاهش و جلوگیری از اثرات جانبی و مضر داروهای شیمیایی، تحقیقات زیادی برای جایگزینی داروهای گیاهی بویژه در زمینه اختلالات باروری صورت گرفته است. گیاه کرفس کوهی با نام علمی *Levisticum officinale*، از خانواده چتریان (Apiaceae)، گیاهی است پایا با ساقه های علفی که در ارتفاع ۳۵۰۰-۳۲۰۰ متر از سطح دریا می روید. به نظر میرسد در ایران، دره های مرطوب رشته کوههای هزار در استان کرمان تنها زیستگاه طبیعی آن باشد. در افغانستان، اروپا و ایالات متحده نیز رشد می کند. ساقه های تازه آن مانند کرفس در سالاد و برگها و ساقه های خشک شده به عنوان ادویه و طعم دهنده به محصولات لبنی و یا سوپ اضافه میشود. ریشه آن در تهیه دمنوش بکار میرود. علاوه بر مصارف غذایی، یکی از گیاهان دارویی است که دارای خواص مختلفی از جمله خواص آنتی اکسیدانی [۱]، ضد سرطان [۲]، و دیورتیک [۳] می باشد.

با توجه به اینکه گیاه کرفس کوهی دارای فعالیت آنتی اکسیدانی می باشد و تاکنون گزارشی در مورد تاثیر این گیاه بر اثرات مخرب دیابت در بیضه موشهای صحرایی وجود ندارد، مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر عصاره هیدرو الکلی برگ و ساقه این گیاه، بر غلظت سرمی تستوسترون، ساختار بیضه و وضعیت آنتی اکسیدانی آن در موشهای صحرایی دیابتی انجام شد.

مواد و روش‌ها

روش تهیه عصاره

ساقه ها و برگ های تازه گیاه کرفس کوهی در خرداد تا تیر ماه از منطقه بردسیر در دره کوههای هزار استان کرمان جمع آوری و از نظر تاکسونومی توسط متخصص گیاهشناسی در دانشگاه شهید باهنر کرمان شناسایی گردید. سپس برگ های تهیه شده در شرایط سایه و دمای محیط قرار گرفته و کاملا خشک و با آسیاب برقی به صورت پودر در آمد. عصاره هیدروالکلی برگ های گیاه کرفس کوهی به روش خیساندن (ماسراسیون)، تهیه گردید. عصاره حاصل به وسیله دستگاه روتاری در دمای ۴۰ درجه تغلیظ و در آون با دمای ۳۵ درجه خشک و در یخچال نگهداری شد.

روش تیمار دهی

در این مطالعه تجربی، موش های صحرایی نر نژاد ویستار با محدوده وزنی ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم از مرکز نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه شهید باهنر کرمان تهیه و در شرایط استاندارد (دمای ۲ ± ۲۳ درجه سانتیگراد با چرخه نور- تاریکی ۱۲ ساعته و رطوبت ۵۰ درصد) با دسترسی آزاد به آب و غذای استاندارد نگهداری شدند و اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی کاملا" رعایت شد. القا دیابت از طریق تزریق داخل صفاقی استرپتوزوتوسین (STZ) به میزان ۶۵ میلی گرم بر کیلوگرم حل شده در بافر سدیم سیترات (۰/۱ مولار با pH ۴/۵) صورت گرفت [۴]. هفت روز پس از تزریق، خونگیری از ورید دمی و سنجش میزان قند خون بااستفاده از دستگاه گلوکومتر (Accu-check, Roche Diagnostics، ساخت آلمان)، انجام و حیواناتی که میزان قند خون آنها بیشتر از ۳۰۰ میلی گرم در دسی لیتر بودند به عنوان دیابتی در نظر گرفته شدند. حیوانات دیابتی به طور تصادفی به ۳ گروه شش تایی تقسیم شدند: گروهی که روزانه ۱ میلی لیتر آب مقطر دریافت نمودند. دو گروه دیگر به ترتیب عصاره هیدروالکلی کرفس کوهی با دوز ۵۰۰ ، گلایبن کلامید با دوز ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن دریافت نمودند [۵]. انتخاب این دوز از عصاره بر اساس نتایج مطالعات ما در بررسی اثربخشی و خاصیت ضد دیابتی این عصاره بوده است که در آن سه دوز مختلف ۱۰۰، ۳۰۰ و ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم از این عصاره به موش های دیابتی تجویز شد (نتایج در حال انتشار). تیماردهی روزانه یکبار به مدت ۱۴ روز از راه دهانی (گاواژ) انجام شد. ۲۴ ساعت پس از پایان دوره تیمار، موش ها ابتدا توزین سپس با استنشاق گاز دی اکسید کربن بیهوش شدند و

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-17]

پس از قطع سر با گیوتین، نمونه های خون جمع آوری و به مدت ۱۵ دقیقه در rpm ۳۲۰۰ و دمای ۴ درجه سانتیگراد سانتریفیوژ و سرم جدا گردید. مقدار سرمی هورمون تستوسترون با استفاده از کیت اندازه گیری تستوسترون به روش کمی لومینیسنس توسط دستگاه الایزا (مدل-Cobas e 411، شرکت هیتاچی، ساخت ژاپن) سنجش گردید. ضمنا" بیضه راست هر موش جدا و وزن گردید و در فرمالدهید ٪۱۰ برای انجام مطالعات بافت شناسی قرار گرفت. همچنین بیضه دیگر برای سنجش فعالیت آنزیمهای آنتی اکسیدانی شامل ، کاتالاز (CAT) و سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) و مقدار مالون دی آلدهید (MDA) بعنوان شاخص لیپید پراکسیداسیون در فریزر ۲۰- درجه سانتیگراد قرار گرفت.

روش سنجش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی

بافت بیضه در بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی مولار (pH ۷) هوموژن شد و پس از سانتریفیوژ، در محلول رویی، فعالیت آنزیم کاتالاز با اضافه کردن H_2O_2 و تعیین میزان کاهش جذب طی یک دقیقه به کمک اسپکتروفتومتر در طول موج ۲۴۰ نانومتر انجام شد و میزان فعالیت آنزیم برحسب واحد بر گرم پروتئین بافت گزارش شد [۶].

برای سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، با استفاده از روش Giannopolitis and Ries (۱۹۷۷) انجام شد [۷]. به نمونه محلول حاصل هوموژناسیون و سانتیریفیوژ بدست آمده از مرحله قبل، بافر فسفات پتاسیم۵۰ میلی مولار (pH ۷)، ۰/۱ مولار (EDTA)، نیترو بلو تترازولیوم ۰/۰۷۵ میکرومولار (NBT)، ریبوفلاوین ۷۵ میکرومولار، متیونین ۱۳ میلی مولار اضافه شد. بعد از انکوبه شدن این مخلوط به مدت ۸ دقیقه تحت نور فلورسنت افزایش جذب با کمک اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۶۰ نانومتر تعیین شد و جذب گروه های شاهد وکنترل ٪۱۰۰ هم تعیین گردید و فعالیت آنزیم برحسب واحد بر میلی گرم پروتئین بافت محاسبه شد.

برای تعیین محتوای پروتئین در بافت، مقدار مشخصی از بافت هموژن شده مورد نظر با بافر فسفات به مدت ۱۵ دقیقه در g× ۱۰۰۰۰ در دمای ۴ درجه سانتیگراد سانتریفیوژ شد و مایع رویی با معرف بیوره به مدت ۲۵ دقیقه اینکوبه گردید سپس جذب در طول موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شد و بر اساس منحنی استاندارد سنجش پروتئین مربوط به BSA (آلبومین سرم گاوی) مقدار پروتئین در هر نمونه محاسبه گردید [۸].

روش سنجش مالون دی آلدهید (MDA)

سنجش میزان مالون دی آلدهید در بافت بیضه با روش Okhawa و همکاران (۱۹۷۹) انجام شد [۹]. در این روش، بافت بیضه پس از توزین در محلول سوکروز هوموژن و پس از سانتریفیوژ، به حجم معینی از محلول رویی حاصل سدیم دودسیل سولفات (SDS,% ۸/۱)، اسید استیک ٪۲۰ (pH ۳/۵) و تیوباربیتوریک اسید ٪ ۰/۸ (TBA) اضافه و آب مقطر اضافه شد و به مدت ۶۰ دقیقه در بن ماری ۹۵ درجه سانتیگراد قرار گرفت. پس از سرد شدن، به هر نمونه، محلول تری کلرو استیک اسید ٪۱۰ (TCA) اضافه و سانتریفیوژ گردید. جذب نوری محلول رویی در طول موج ۵۳۲ نانومتر در مقابل بلانک مربوطه توسط دستگاه اسپکتروفتومترخوانده شد. نتایج بر حسب نانو مول بر گرم بافت بیان شدند.

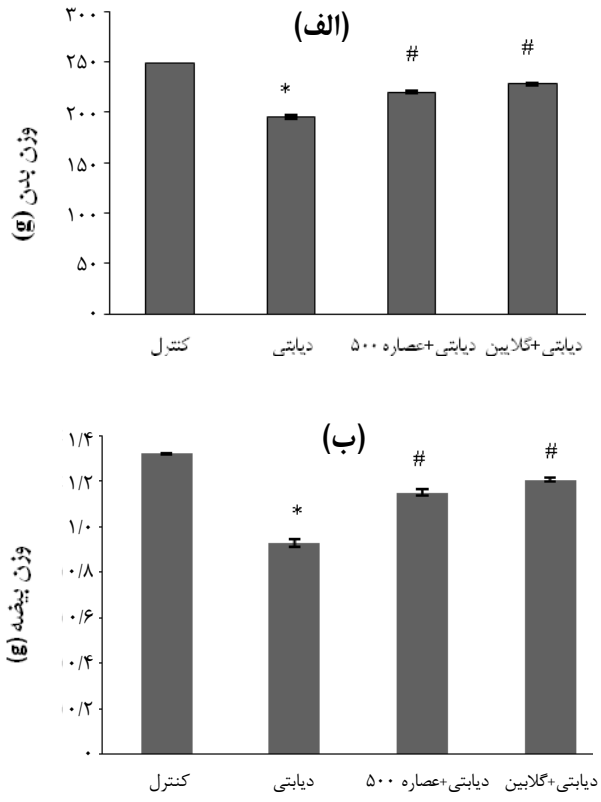
مطالعات بافت شناسی

آماده سازی نمونه های بافت بیضه نگهداری شده در فرمالین ۱۰ درصد با دستگاه تمام اتوماتیک Tissue processor تا مرحله قالب گیری در پارافین انجام شد. سپس از بلوکهای پارافینه با استفاده از میکروتوم برش هایی به ضخامت ۵-۳ میکرومتر از نمونه ها تهیه شد. این برشها بر روی لام قرار گرفت و بعد از آماده سازی و رنگ آمیزی به روش هماتوکسیلین-ائوزین (H&E) لام دائمی از نمونه ها برای مطالعات بافت شناسی با میکروسکوپ نوری تهیه شد. در مطالعات بافت شناسی، میزان آتروفی توبول های اسپرم ساز، تغییرات فضای بینابینی توبول ها، بی نظمی در توالی سلولی و روند اسپرماتوژنز، ضخیم شدن غشای پایه لوله ها و توسعه عروق به داخل لوله های اسپرم ساز مورد بررسی قرار گرفت.

روش تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۱ انجام گردید. نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شدند. پس از بررسی نرمال بودن توزیع داده ها با آزمون کولموگروف-اسمیرنوف، داده های با توزیع نرمال با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یکطرفه و پس آزمون توکی تجزیه و

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-17]



نمودار ۱- اثر عصاره کرفس کوهی بر وزن بدن (الف) و وزن بیضه (ب) موش های دیابتی. مقادیر بر اساس میانگین ± انحراف معیار بیان شده اند. *: بیانگر اختلاف معنی دار با گروه کنترل و #: بیانگر اختلاف معنی دار با گروه دیابتی در سطح $p < ۰/۰۵$ می باشد.

تحلیل شدند و $p \leq ۰/۰۵$ به عنوان سطح معنی دار اختلاف بین گروه ها در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

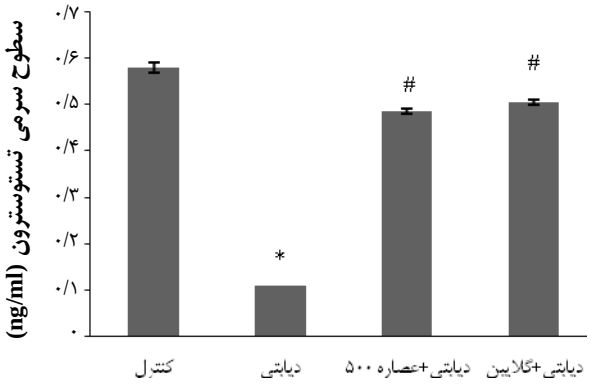
میانگین وزن بیضه و وزن بدن موش ها در گروه دیابتی نسبت به گروه کنترل کاهش معنی داری ($p <۰/۰۵$) را نشان داد در حالیکه درمان با عصاره در دوز ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم و گلایبن کلامید باعث افزایش معنی دار ($p < ۰/۰۵$) وزن بیضه و وزن بدن موش ها نسبت به گروه دیابتی شد (نمودار ۱).

مقایسه سطح سرمی تستوسترون در گروه دیابتی نسبت به گروه کنترل کاهش معنی داری را نشان داد ($p < ۰/۰۵$) در حالیکه استفاده از عصاره (۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) و گلایبن کلامید سطح سرمی تستوسترون را به طور معنی داری ($p < ۰/۰۵$) نسبت به گروه دیابتی افزایش داد (نمودار ۲). همچنین میانگین فعالیت آنزیم کاتالاز ($p < ۰/۰۰۱$) و سوپر اکسید دیسموتاز در گروه دیابت کاهش معنی داری ($p < ۰/۰۵$) نسبت به گروه کنترل داشت و فعالیت این آنزیم ها در گروه های دیابتی تحت تیمار با عصاره (۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) و گلایبن کلامید افزایش معنی داری ($p < ۰/۰۰۱$) را نسبت به گروه دیابتی نشان داد (نمودار ۳ الف و ب). نتایج این تحقیق گویای آن است که مقدار MDA به صورت معنی داری ($p \leq ۰/۰۰۱$) در گروه دیابت در مقایسه با گروه کنترل افزایش می یابد در حالیکه تجویز عصاره (۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) و گلایبن کلامید کاهش قابل توجهی ($p \leq ۰/۰۰۱$) در این شاخص نسبت به گروه دیابتی ایجاد نمود (نمودار ۳ ج).

در گروه کنترل سالم یک ساختار بافتی کاملا نرمال با آرایش و نظم طبیعی رده های سلولی اسپرماتوژنز مشاهده شد (شکل ۱ الف). در حالیکه در مقاطع بافتی گروه دیابتی، آسیب های بافتی شامل آتروفی و چروکیده شدن توبول ها، افزایش فضای بینابینی، به هم ریختگی و بی نظمی رده های سلولی مربوط به اسپرماتوژنز در داخل توبول ها، ضخیم شدن غشای پایه توبول ها و توسعه عروق خونی به داخل این لایه مشاهده شد (شکل ۱ ب و ج). اما درمان گروه دیابتی با عصاره (۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) (شکل ۱ د) و گلایبن کلامید (شکل ۱ ه) باعث کاهش تغییرات هیستوپاتولوژیکی ایجاد شده و بهبود آسیب های وارده ناشی از دیابت بر ساختار بافتی بیضه شد.

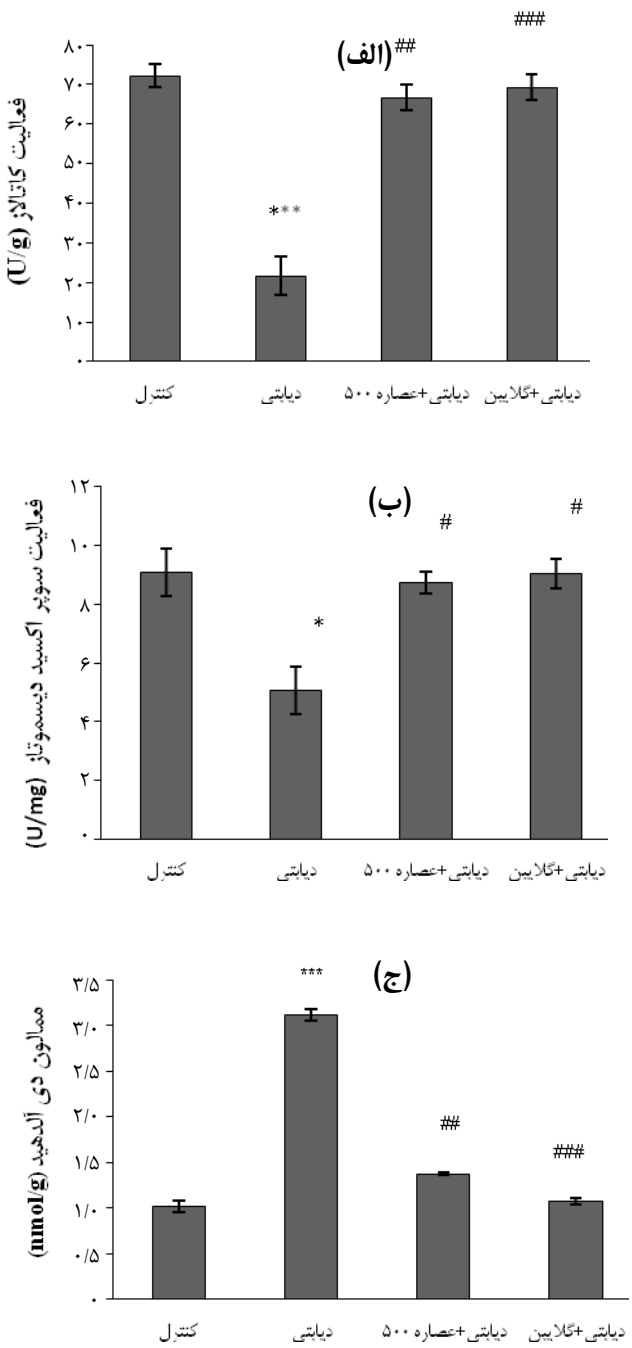
بحث

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که درمان موش های دیابتی با عصاره کرفس کوهی با دوز ۵۰۰ میلی گرم بر



نمودار ۲- اثر عصاره هیدروالکلی کرفس کوهی بر میزان سرمی تستوسترون موشهای دیابتی. مقادیر بر اساس میانگین ± انحراف معیار بیان شده اند. *: بیانگر اختلاف معنی دار با گروه کنترل و #: بیانگر اختلاف معنی دار با گروه دیابتی در سطح $p < ۰/۰۵$ می باشد.

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-17]



نمودار ۳- اثر عصاره کرفس کوهی بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز (A)، سوپر اکسید دیسموتاز (B) و میزان مالون دی آلدهید (C) در بافت بیضه موشهای دیابتی. مقادیر بر اساس میانگین ± انحراف معیار بیان شده اند. *: بیانگر اختلاف معنی دار با گروه کنترل و #: بیانگر اختلاف معنی دار با گروه دیابتی است. *: $p < ۰/۰۵$، **: $p < ۰/۰۱$، ***: $p < ۰/۰۰۱$. #: $p < ۰/۰۵$، ##: $p < ۰/۰۱$، ###: $p < ۰/۰۰۱$

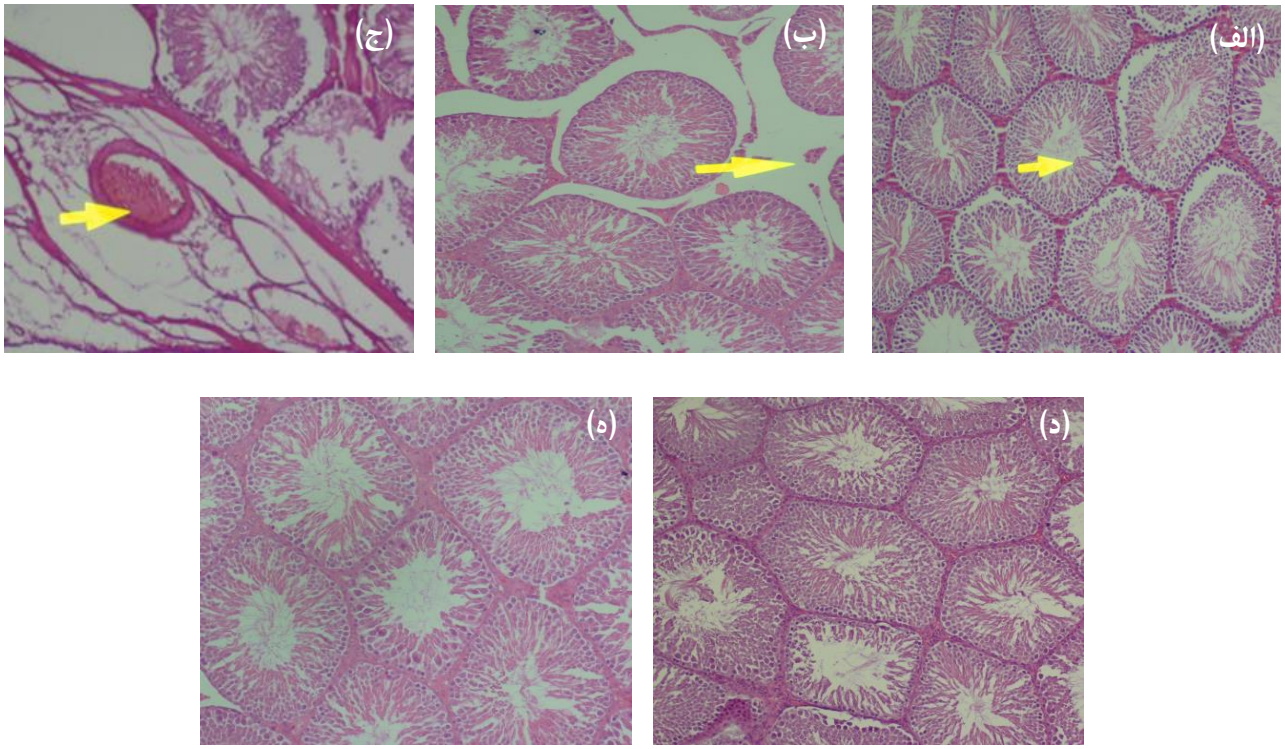
کیلوگرم به مدت ۱۴ روز منجر به کاهش میزان پراکسیداسیون لیپیدی، افزایش سطح سرمی هورمون تستوسترون، وزن بیضه ها و وزن بدن، فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی، همچنین بهبود نسبی آسیب های هیستوپاتولوژیکی بافت بیضه گردید.

مطالعات نشان داده است که دیابت باعث کاهش وزن بدن و وزن بیضه ها [۱۰]، ایجاد استرس اکسیداتیو در بافت بیضه، کاهش میزان سرمی تستوسترون و آسیب های پاتولوژیکی بافت بیضه میشود [۱۱]. استرس اکسیداتیو نقش مهمی را در پیشرفت عوارض دیابت دارد. تحقیقات نشان داده اند که دیابت ملیتوس با افزایش استرس اکسیداتیو و تولید رادیکال های اکسیژن فعال (ROS) باعث ایجاد اثرات نامطلوبی در عملکرد سیستم تولید مثلی جنس نر می شود. طی استرس اکسیداتیو، ROS از طریق چندین مکانیسم باعث ایجاد آسیب سلولی می شود. در سلول های تولید کننده هورمون های استروئیدی در بیضه، ROS می تواند از طریق مداخله با انتقال کلسترول به درون میتوکندری یا مداخله با تبدیل آن به پرگننولون مانع از سنتز این هورمون ها شود [۱۲]. همچنین یکی از دلایل اصلی ایجاد آسیب به واسطه دیابت تشکیل پراکسیدهای لیپیدی مانند MDA است که منجر به آسیب بافتی و اختلال در سیستم دفاع آنتی اکسیدانی بدن می شود. طی لیپید پراکسیداسیون رادیکالهای آزاد به لیپیدها بویژه اسیدهای چرب غیر اشباع مانند اسید آراشیدونیک حمله کرده و باعث تولید ماده سمی و مخرب برای سلولها یعنی MDA میگردند که بیومارکر لیپید پراکسیداسیون محسوب میشود. آنزیم SOD که از عمده ترین اجزای سیستم دفاع آنتی اکسیدانی محسوب میشود با انتقال آنیون سوپر اکسید به پراکسید هیدروژن و اکسیژن مانع تولید رادیکالهای مخرب تر هیدروکسیل میگردد و آنزیم CAT تجزیه پراکسید هیدروژن را به اکسیژن و آب باعث میشود. افزایش MDA و کاهش SOD و مرگ آپوپتوتیک سلولی در بیضه موشهای دیابتی بر اثر استرس اکسیداتیو [۱۳] گزارش شده است که اینها با نتایج تحقیق حاضر همسویی دارد.

محققین در بررسی فیتوشیمی عصاره هیدروالکلی برگ ها و ساقه گیاه کرفس کوهی، وجود فلاوونویدها و فنولها را گزارش کرده اند همچنین حضور فلاوونویدهایی چون روتین و کاتچین و اسیدهای فنولی مانند کافئیک اسید، سیناپیک اسید، کلروژنیک اسید، کوماریک اسید و فرولیک اسید در این عصاره محرز گردیده است [۳].

پلی فنولها از فراوانترین متابولیتهای ثانویه در گیاهان می باشند و ترکیبات مختلف از جمله اسیدهای فنولی و

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-17]



شکل ۱– برش های عرضی رنگ آمیزی شده با هماتوکسیلین–ائوزین از بافت بیضه موشهای دیابتی تیمار شده با عصاره کرفس کوهی. الف (گروه کنترل) : توبول ها دارای انسجام بافتی و ساختار سلولی سالم و طبیعی هستند (بزرگنمایی ×۴۰). ب و ج ((گروه دیابتی) : بی نظمی و عدم انسجام بین رده های سلولی اسپرماتوژنز و افزایش فضای بینابینی توبول ها ، افزایش عروق خونی و توسعه آنها به درون غشای پایه (بزرگنمایی ×۴۰ و × ۱۰). د: گروه دیابتی تحت درمان با عصاره (۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) و ه: گروه دیابتی تحت درمان با گلایبن کلامید : بهبود ساختار لوله های اسپرم ساز ، افزایش نظم سلولی و کاهش فضای بینابینی مشاهده می شود (بزرگنمایی × ۱۰).

فلاوونوییدها را شامل میشوند. فلاونوئیدها گروه وسیعی از آنتی اکسیدان های طبیعی با توانایی شکار و حذف رادیکال های آزاد هستند. این ترکیبات پلی فنول هایی می باشند که منحصرا توسط گیاهان سبز سنتز می شوند. فعالیت آنتی اکسیدانی فلاونوئیدها و دیگر پلی فنول ها نشان می دهد که این ترکیبات می توانند یک نقش مهم را در بهبود بیماری هایی که با واسطه استرس اکسیداتیو ایجاد می شوند داشته باشند [۱۴].

فلاونوئیدها دارای اثرات درمانی در افراد دیابتی بوده و سبب کاهش خطر ناباروری می شوند به طوریکه گزارش شده است فلاونوئیدها باعث افزایش وزن بدن [۱۵، ۱۶] و وزن بیضه [۱۷] در موش های دیابتی گردیده و به دلیل فعالیت آنتی اکسیدانی باعث بهبود پارامترهای مورفولوژیکی و تغییرات هیستولوژیکی بافت بیضه [۱۶، ۱۸] و افزایش سطح تستوسترون سرمی می شود [۱۴، ۱۸]. همچنین فلاونوئیدها [۱۷] و فنول ها [۱۹] دارای خاصیت آندروژنیک هستند. بنابراین از آنجا که استرس اکسیداتیو و کاهش سطح هورمون های آندروژنیک به عنوان فاکتورهای اصلی ایجاد اختلال عملکرد بیضه و معیوب ساختن اسپرماتوژنز در موش های دیابتی هستند استفاده از این ترکیبات می تواند باعث کاهش آسیب بافت بیضه موش های دیابتی شود. کاهش سطح تستوسترون به عنوان یک هورمون آنابولیک، باعث محدود شدن رشد عمومی، وزن بدن و اندامهای جنسی همچون بیضه ها می شود. همچنین کاهش میزان هورمون انسولین بدلیل دیابت، سبب کاهش ذخایر چربی و پروتئین و کاهش وزن میگردد [۲۰] و استفاده از عصاره با تاثیر بر افزایش سطح تستوسترون و به دنبال آن افزایش فعالیت های آنابولیکی منجر به افزایش وزن بدن شده است. همچنین دیابت باعث از هم گسیختگی قابل توجه ساختار توبول ها، آتروفی و افزایش فضای بینابینی توبول ها، بی نظمی و کاهش شدید جمعیت سلول های اسپرماتوژنیک، و تراکم عروق خونی و افزایش ضخامت غشای پایه لوله های اسپرم ساز می شود [۱۴، ۱۵]. آتروفی توبول ها و کاهش سلول های اسپرم ساز به عنوان شاخص های مورفولوژیکی آسیب اسپرم زایی محسوب می شوند [۱۵]. تحقیق حاضر نشان داد که عصاره کرفس

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-17]

کوهی باعث کاهش آسیب وارد شده به بافت بیضه ها می شود و ساختار بیضه بعد از استفاده از عصاره به طور محسوسی بهبود یافته بود. و این اثر ترمیمی را می توان به ترکیبات عصاره خصوصا ترکیبات پلی فنولی آن نسبت داد.

نتیجه‌گیری

عصاره هیدروالکلی کرفس کوهی با اثرات آنتی اکسیدانی خود سبب بهبود عوارض دیابت در بیضه موشهای صحرایی گردید و ترکیبات فنولی و فلاوونوییدی آن را میتوان تا حد زیادی مسئول این خواص دانست.

سپاسگزاری

نویسندگان بر خود لازم میدانند از زحمات دکتر سید منصور میرتاج الدینی و آقای سعید سلطانی نژاد که در شناسایی و جمع آوری گیاه همت نمودند و همچنین از مساعدت فراوان آقای دکتر معینی در انجام بخش بافت شناسی این مطالعه تقدیر نمایند.

تعارض در منافع

نویسندگان این مقاله تعارض در منافع ندارند.

سهم نویسندگان

ا. پ. : صاحب ایده، طراحی و نظارت بر اجرای مطالعه و تنظیم نهایی مقاله، ن. ق : انجام مطالعه، کمک در نگارش مقاله، ش. د. : نظارت بر مطالعات بافت شناسی.

فهرست منابع

[1] Tomsone L, Kruma Z, Influence of freezing and drying on the phenol content and antioxidant activity of horseradish and lovage. ***Foodbalt*** (2014) 192-197

[2] Bogucka-Kocka A, Smolarz HD, Kocki J, Apoptotic activities of ethanol extracts from some Apiaceae on human leukaemia cell lines. ***Fitoterapia*** 79 (2008) 487-497.

[3] Yarnell E, Botanical medicines for the urinary tract. ***World J Urol*** 20 (2002) 285-293.

[4] Chowtivannakul P, Srichaikul B, Talubmook C, Antidiabetic and antioxidant activities of seed extract from Leucaena leucocephala (Lam.) de Wit. ***Agr Nat Resour*** 50 (2016) 357-361.

[5] Kulkarni JS, Metha AA, Santani DD, Goyal RK, Effects of chronic treatment with cromakalim and glibenclamide in alloxan-induced diabetic rats. ***Pharmacol Res*** 46 (2002) 101-105.

[6] Aebi H, Catalase in vitro. ***Method Enzymol*** 105 (1984) 121–126.

[7] Giannopolitis CN, Ries SK, Superoxide dismutases. I. Occurrence in higher plants. ***Plant Physiol*** 59 (1977) 309–314.

[8] Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. ***Anal Biochem*** 72 (1976) 248-254.

[9] Okhawa H, Oshishi N, Yag K, Assay of lipid peroxidation in animal tissue by thiobarbituric acid reaction. ***Anal Biochem*** 95 (1979) 351–358.

[10] Navarro-Cassado L, Juncos-Tobarra MA, Chafer-Rudilla M, Iniguez de Onzono L, Blazquez-Cabrera JA, Miralles-Garcia JM, Effect of experimental diabetes and STZ on male fertility capacity. Study in rats. ***J Androl*** 31 (2010) 584-592.

[11] Kanter M, Aktas C, Erboga M, Protective effects of quercetin against apoptosis and oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rat testis. ***Food Chem Toxicol*** 50 (2012) 719–725.

[12] Luo L, Chen H, Trush MA, Show MD, Anway MD, Zirkin BR, Aging and the brown Norway rat Leydig cell antioxidant defense system. ***J Androl*** 27 (2006) 240–247.

[13] Zhao Y, Zhao H, Zhai X, Dai J, Jiang X, Wang G, Effects of Zn deficiency, antioxidants, and low-dose radiation on diabetic oxidative damage and cell death in the testis. ***Toxicol Mech Methods*** 23 (2013) 42–47.

[14] Alkhamees O, Quercetin attenuates testicular damage and oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats. ***Br J Pharmacol Toxicol*** 5 (2014) 88-97.

[15] Bjordal JM, Johnson MI, Ljunggreen AE, Transcutaneous electrical nerve stimulation (TENS) can reduce postoperative analgesic consumption. A meta-analysis with assessment of optimal treatment parameters for postoperative pain. ***Eur J Pain*** 7 (2003) 181–1 Abdallaha IZA, Khattab HAH, Ragheb EM, Yousef FM, Alkreathy HM, Date Pits alleviate reproductive disorders in male diabetic rats. ***Global J Pharmacol*** 9 (2015) 208-22188.

[16] Kanter M, Aktas C, Erboga M, Protective effects of quercetin against apoptosis and oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rat testis. ***Food Chem Toxicol*** 50 (2012) 719–725.

[17] Khaki A, Fathiazad F, Nouri M, Khaki A, Maleki NA, Khamnei HJ, Ahmadi P, Beneficial effects of quercetin on sperm parameters in streptozotocin-induced diabetic male rats. ***Phytother Res*** 24 (2010) 1285–1291.

[18] Salimnejad R, Sazegar Gh, Saeedi Borujeni MJ, Seyed Mojtaba Mousavi SM, Salehi F, Ghorbani, Protective effect of hydroalcoholic extract of Teucrium polium on diabetes-induced testicular damage and serum testosterone concentration.. ***Int J Reprod BioMed*** 15 (2017) 195-202.

[19] Chaiyasut C, Kusirisin W, Lailerd N, Lerttrakarnnon P,

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-17]

Suttajit M, Srichairatanakool S, Effects of Phenolic compounds of fermented Thai indigenous plants on oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats. ***Evid Based Complement Alternat*** Med 8 (2011) 1-10.

[20] Soudamani S, Yuvaraj S, Malini T, Balasubramanian K, Experimental diabetes has adverse effects on the differentiation of ventral prostate during sexual maturation of rats. ***Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol*** 287 (2005) 1281–1289.

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-17]

Research paper

Effect of *Levisticum officinale* extract on oxidative stress markers, testosterone level and histology of testis tissue in diabetic rats

Nahid Ghaedi [1], Iran Pouraboli *[1], Shahryar Dabiri [2]

[1]*Department of Biology, Faculty of Sciences, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran*
[2]*Department of Pathology, Afzalipour School of Medicine, Stem Cell and Physiology Research Centers, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, IRan*

Received: 5 January 2018 Accepted: 6 May 2018

Abstract

Background and aims: Plant antioxidant sources are effective in the amelioration of diabetes mellitus-associated reproductive disorders. The present study was done to determine the effect of hydroalcoholic extract of *Levisticum officinale* on oxidative stress markers, serum testosterone level and the histopathology of testicular tissue in diabetic rats.

Methods: Type I diabetes was induced in male Wistar rats by intraperitoneal injection of streptozotocin (65 mg/kg). Diabetic rats were divided into 3 groups and received 1ml distilled water, 500 mg/kg extract and 20 mg/kg glibenclamide by gavage for 14 days. One group of normal rats also received 1 ml distilled water. At the end of treatments, the animals were anaesthetized, weighed and their blood samples were collected to determine serum testosterone level. The testis of rats weighed and used for evaluation of catalase (CAT) and superoxide dismutase (SOD) enzymes activities, malondialdehyde (MDA) level and histological studies.

Results: Treatment of diabetic rats with 500 mg/kg extract of *L. officinale* significantly increased body and testis weight, serum testosterone level, CAT and SOD enzymes activities in the testis tissue and reduced testis MDA level. Also, extract of *L. officinale* ameliorated testicular tissue damages caused by diabetes mellitus.

Conclusion: Hydroalcoholic extract of *Levisticum officinale* has antioxidant property and can improve fertility and reduce testicular tissue destructions in diabetes mellitus through increasing antioxidant enzymes activity.

Keywords: Diabetes mellitus, *Levisticum officinale*, Oxidative stress, Testis

Please cite this article as follows:
Ghaedi N, Pouraboli I, Dabiri S, Effect of *Levisticum officinale* extract on oxidative stress markers, testosterone level and histology of testis tissue in diabetic rats. ***Iran J Physiol Pharmacol*** 2 (2018) 192-200.

*Corresponding author e-mail: pourabolii@yahoo.com
Available online at: http://ijpp.phypha.ir
E-mail: ijpp@phypha.ir

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-17]