مقاله پژوهشی

اثر عصاره آبی گیاه چرخه بر هورمون‌های محور هیپوفیز- گناد و تغییرات بافتی بیضه در موش‌های صحرایی نر دیابتی

ثمانه تفکر[1]، راهله رهباریان[1]، سید دامون صدوقی[2*]

۱- گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

۲- باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۵/۰۶/۲۴ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۵/۱۰/۱۹

چکیده

زمینه و هدف: دیابت با آسیب غدد جنسی و تغییر میزان ترشح هورمون‌های جنسی موجب اختلال در تولیدمثل می‌شود. با توجه به خواص آنتی-اکسیدانی و هیپوگلیسمی گیاه چرخه، هدف از این پژوهش بررسی اثر عصاره آبی گیاه چرخه بر هورمون‌های محور هیپوفیز- گناد و تغییرات بافتی بیضه در موش‌های صحرایی نر دیابتی است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی تعداد ۳۲ سر موش صحرایی نر به ۴ گروه مساوی تقسیم شدند. شاهد، شاهد دیابتی و دیابتی تجربی تیمار شده با عصاره گیاه چرخه (غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم). دیابت با یک‌بار تزریق داخل صفاقی آلوکسان القاء شد. عصاره آبی گیاه چرخه یک روز در میان و به مدت یک ماه به‌صورت داخل صفاقی به گروه‌های دیابتی تجربی تزریق گردید. آب مقطر استریل به حیوانات گروه شاهد و شاهد دیابتی تزریق شد. در پایان دوره تزریق، سطح سرمی تستوسترون، دی‌هیدروتستوسترون، استروژن، LH و FSH توسط روش الایزا سنجش شد. سپس مقاطع بافت بیضه تهیه و توسط میکروسکوپ نوری موردبررسی قرار گرفت.

نتایج: در مقایسه با گروه شاهد دیابتی سطح سرمی تستوسترون، دی‌هیدروتستوسترون، استروژن، LH، FSH، همچنین میانگین قطر و میانگین ضخامت اپیتلیوم زایای لوله‌های اسپرم‌ساز در گروه‌های دیابتی تیمار شده با غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره گیاه چرخه به‌صورت وابسته به دوز افزایش یافت ($p<۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: تجویز عصاره گیاه چرخه فعالیت محور هیپوفیز- بیضه را در موش‌های صحرایی نر دیابتی افزایش می‌دهد و نیز در برابر آسیب بیضه‌ای القاء شده توسط دیابت اثر محافظتی دارد.

کلمات کلیدی: دیابت، چرخه، بیضه، هورمون، موش صحرایی نر

مقدمه

دیابت ملیتوس یک بیماری مزمن است که با افزایش قند خون ناشی از عدم تولید انسولین یا مقاومت به انسولین ایجاد می‌شود. تحقیقات نشان داده است استرس‌اکسیداتیو نقش کلیدی در پاتوژنز و عوارض دیابت بر عهده دارد. افزایش استرس‌اکسیداتیو در افراد مبتلا به دیابت منجر به بروز طیف گسترده‌ای از بیماری‌ها مانند رتینوپاتی، نفروپاتی، نوروپاتی، بیماری‌های قلبی عروقی و اختلالات جنسی و هورمونی می‌شود (۱).

محور هیپوفیز-گناد یکی از ضروری‌ترین و فعال‌ترین محورهای فیزیولوژیک بدن است که نه‌تنها اعمال تولیدمثلی، بلکه به‌واسطه سنتز و ترشح آندروژن‌ها، بسیاری از جنبه‌های فیزیولوژیکی فرد ازجمله تمایز جنسی، بروز صفات ثانویه جنسی و رفتار جنسی را کنترل می‌کند (۲، ۳). عملکرد دستگاه تناسلی بشدت تحت تأثیر هورمون‌های مترشحه از محور HPG (Hypothalamic - Pituitary - Gonadal) است. به‌عنوان‌مثال جهت رشد و تقسیم سلول‌های جنسی، تستوسترون از سلول‌های لایدیگ ترشح می‌شود که ترشح آن رابطه مستقیمی با ترشح گنادوتروپین‌های هیپوفیز (LH, FSH) و هورمون آزادکننده گنادوتروپین (GnRH: Gonadotropin Releasing Hormone) هیپوتالاموس دارد (۳). مشخص شده است دیابت با کاهش فعالیت محور هورمونی هیپوتالاموس- هیپوفیز-گناد

*نویسنده مسئول: **سید دامون صدوقی**، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران Email: damoon.sadoughi@mshdiau.ac.ir

همراه است و موجب کاهش سطح سرمی هورمون تستوسترون و گنادوتروپین‌ها می‌شود (۴).

دیابت در بروز ناباروری و اختلالات هورمونی در مردان نقش مهمی دارد و مشخص شده است درنتیجه دیابت سیستم دفاع آنتی-اکسیدانی در بافت بیضه تضعیف‌شده و توانایی آن در محافظت بافت بیضه در برابر آسیب‌های اکسیداتیو کاهش می‌یابد. تضعیف دفاع آنتی‌اکسیدانی منجر به افزایش تجمع رادیکال‌های آزاد و درنهایت موجب آسیب سلول‌های زایا می‌شود (۵). دیابت با افزایش پراکسیداسیون لیپیدی، کاهش محتوی گلوتاتیون در خون و با تضعیف فعالیت بافتی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، گلوتاتیون اس-ترانسفراز (GST)، گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) و کاتالاز (CAT) منجر به کاهش عملکرد غدد تناسلی درنتیجه کاهش تعداد اسپرم و کاهش سطح سرمی هورمون تستوسترون می‌شود (۶). یکی از صدمات بافتی دیابت، بروز اختلال در بیضه‌ها است و مشخص شده است دیابت با القاء تغییراتی در ساختار بافتی لوله‌های اسپرم‌ساز، کاهش تعداد سلول-های اسپرماتوگونیا موجب کاهش روند اسپرماتوژنز می‌شود (۷). بر اساس شواهد موجود مشخص شده است در بیماران مبتلا به دیابت به علت تولید بیش‌ازحد رادیکال‌های آزاد و کاهش عملکرد سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی، استرس‌اکسیداتیو سلولی افزایش می‌یابد که این امر می‌تواند در اثر افزایش اکسیداسیون خودبه‌خودی گلوکز باشد. افزایش غلظت رادیکال‌های آزاد می‌تواند موجب تضعیف عملکرد سلول‌های لیدیگ و کاهش تولید تستوسترون شود. با توجه به نقش تستوسترون در تولید و باروری اسپرم، کاهش این هورمون در مردان دیابتی موجب کاهش قدرت باروری آن‌ها می‌شود (۸). با بررسی بافت بیضه و عملکرد آن در افراد دیابتی مشاهده شد دیابت موجب کاهش وزن بیضه و کاهش میانگین تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت‌ها، اسپرماتید و سلول‌های سرتولی می‌شود. این عوارض ناشی از دیابت با اختلالات تولیدمثلی در مردان همراه است (۹).

امروزه مطالعه روی گیاهان دارویی با هدف رسیدن به ترکیبات جدید و مؤثر در اولویت قرار گرفته است. بسیاری از گیاهان منبع غنی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی هستند و می-توانند اثرات ناشی از اکسیدان‌ها و عوارض برخی از بیماری‌ها مانند دیابت را کاهش دهند. خواص هیپوگلیسمی بسیاری از گیاهان دارویی در مدل‌های حیوانی و مطالعات بالینی بررسی و مورد تأیید قرارگرفته است و نیز تحقیقات در این زمینه همچنان ادامه دارد. گیاه چرخه یکی از گیاهان دارویی است که تحقیقات زیادی روی اثرات هیپوگلیسمی آن انجام شده است. این گیاه با نام علمی *Launaea acanthode* از خانواده Asteraceae، گیاهی چندساله، بوته‌ای، بیابانی، دارای شاخک-های انبوه و ساقه‌ای بدون کرک است. گیاهی است مقاوم که در مناطق نسبتاً کم آب از قبیل قسمت‌هایی از خراسان رضوی، خراسان جنوبی، کرمان و مناطق مرکزی (کویری) ایران می-روید. ساقه این گیاه به‌عنوان یک داروی گیاهی مؤثر در درمان صرع، اختلالات عصبی، دردهای موضعی و مفصلی، اختلالات معده‌ای روده‌ای، دیابت و کاهش قندخون استفاده می‌شود (۱۰). در عصاره این گیاه ترکیباتی از قبیل فلاونوئید، ترپنوئید، ساپونین، آلکالوئید، تانن، پلی‌ساکارید و منوساکاریدهایی نظیر آرابینوز، مانوز و مشتقات اسید گلوکورونیک نیز شناسایی‌شده است (۱۱). از عصاره ساقه گیاه چرخه ترکیبات فلاونوئیدی تخلیص شده است. با توجه به اینکه فلاونوئیدها به‌عنوان آنتی-اکسیدان قادر به کاهش سطح رادیکال‌های آزاد سلولی هستند می‌توان از آن‌ها در کاهش اثرات مخرب دیابت استفاده نمود (۱۲). در مطالعه‌ای مشخص شد عصاره آبی گیاه چرخه با غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم می‌تواند با تأثیر بر بافت بیضه موجب کاهش آتروفی لوله‌های اسپرم‌ساز در موش‌های صحرایی دیابتی شود و با بهبود پارامترهای اسپرمی و افزایش تعداد اسپرم منجر به کاهش عوارض ناشی از دیابت در اسپرم و بافت بیضه شود (۱۳). همچنین مشخص شد تجویز عصاره‌ی آبی گیاه چرخه با غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به موش‌های صحرایی دیابتی می‌تواند از طریق افزایش در تعداد و حجم جزایر لانگرهانس که احتمالاً درنتیجه هیپرتروفی و هیپرپلازی سلول‌های بتا است، موجب افزایش ترشح انسولین شود (۱۴). گزارش‌شده است تجویز عصاره آبی- الکلی گیاه چرخه در کاهش قندخون مؤثر است و نیز اثرات هیپوگلیسمیک عصاره گیاه چرخه احتمالاً ناشی از تحریک سنتز و ترشح انسولین و یا هیپرپلازی سلول‌های بتای پانکراس است و اثرات مشاهده‌شده ممکن است به خواص آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فلاونوییدی آن مربوط باشد (۱۵). همچنین مشخص شده است عصاره گیاه چرخه با غلظت‌های ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌صورت وابسته به دوز موجب بهبود شاخص‌های استرس‌اکسیداتیو گلبول‌های قرمز موش‌های صحرایی دیابتی می‌شود (۱۶). تحقیقات نشان داد عصاره آبی گیاه چرخه با سرعت بخشیدن

به فرایند التهابی، افزایش تکثیر سلول‌های اپی‌تلیومی و افزایش تشکیل عروق خونی نقش مؤثری بر روندترمیم زخم و افزایش درصد بهبودی زخم‌های دیابتی دارد (۱۷). به دلیل روند رو به رشد استفاده از گیاهان دارویی و استفاده سنتی از گیاه چرخه جهت کاهش قندخون و نیز عدم بررسی آزمایشگاهی اثرات این گیاه دارویی، به نظر می‌رسد تعیین نکات مثبت عصاره گیاه چرخه روی عوارض دیابت از لحاظ فیزیولوژیکی و فارماکولوژیکی دارای اهمیت بالایی باشد. با توجه به خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد دیابتی گیاه چرخه، هدف از این مطالعه تعیین اثر عصاره آبی گیاه چرخه بر هورمون‌های محور هیپوفیز- گناد و تغییرات بافتی بیضه در موش‌های صحرایی نر دیابتی است.

مواد و روش‌ها

این مطالعه تجربی در آزمایشگاه تحقیقاتی جانوری گروه زیست‌شناسی دانشگاه پیام نور مرکز مشهد در سال ۱۳۹۴ انجام شد. در این پژوهش استفاده از حیوانات آزمایشگاهی بر اساس دستورالعمل‌های بین‌المللی بوده است. همچنین در تمام مراحل آزمایش قوانین و مقررات اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت شده است.

اندام هوایی (ساقه و برگ) گیاه چرخه در حدفاصل جاده مشهد به نیشابور جمع‌آوری شد. نمونه‌های گیاهی پس از جمع‌آوری، توسط هرباریوم دانشکده علوم دانشگاه پیام نور شناسایی و تأیید شد. گیاه چرخه پس از طی مراحل خشک شدن در سایه در دمای ۳±۳۶ درجه سانتی‌گراد، توسط آسیاب خرد شد. عصاره آبی گیاه چرخه با استفاده از دستگاه سوکسله (Electrothermal, UK) تهیه گردید. ابتدا ۵۰ گرم پودر خشک‌شده گیاه چرخه داخل کاغذ کارتوش ریخته و در دستگاه قرار داده شد. سپس ۴۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به‌عنوان حلال در داخل بالن دستگاه ریخته شد. آب مقطر توسط گرم‌کن دستگاه به جوش آمده و درنهایت موجب جداسازی عصاره گیاه چرخه گردید. کندانسور، کار سرد کردن بخارات اضافی را بر عهده دارد بنابراین کاهش حجم محلول بسیار آهسته است. پس از حدود ۱۰ ساعت مایع نسبتاً غلیظی در ته بالن جمع شد. با حذف حلال در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد عصاره تام استخراج گردید. پس از حذف حلال، عصاره با غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به موش‌های صحرایی دیابتی تزریق شد (۱۴). انتخاب غلظت و مدت‌زمان تزریق عصاره آبی گیاه چرخه بر اساس مطالعات قبلی بوده است (۱۶).

در این مطالعه از ۳۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن تقریبی ۱۸±۱۵۵ گرم استفاده شد. حیوانات در دمای تقریبی ۲۵-۲۴ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۴۰-۳۵ درصد و دوره روشنایی تاریکی ۱۲ ساعته نگهداری شدند. حیوانات در قفس‌های استاندارد پلی‌کربنات شفاف (شرکت رازی‌راد، ایران) قرار داشتند و آب به مقدار کافی توسط بطری شیشه‌ای در اختیار آن‌ها قرار داده شد و از غذای فشرده مخصوص موش آزمایشگاهی با فرمولاسیون استاندارد (شرکت دانه‌داران توس، ایران) تغذیه نمودند. به‌منظور حصول حالت سازش با محیط، تمامی آزمایش‌ها پس از گذشت حداقل ۱۰ روز پس از استقرار حیوانات به انجام رسید (۱۴). موش‌های صحرایی به‌طور تصادفی به ۴ گروه ۸ تایی (n=۸)، شامل: گروه سالم، گروه شاهد دیابتی و گروه‌های دیابتی تجربی تحت تیمار با عصاره آبی گیاه چرخه تقسیم شدند. نمونه‌های گروه شاهد سالم و شاهد دیابتی به مدت یک ماه به‌صورت یک روز در میان به روش داخل صفاقی آب مقطر استریل دریافت نمودند. این عمل به‌منظور یکسان نمودن شوک حاصل از تزریق انجام گرفت. گروه‌های دیابتی تجربی به مدت یک ماه و یک روز در میان (۱۶) عصاره آبی گیاه چرخه را به‌صورت داخل صفاقی با غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دریافت کردند.

مدل تجربی دیابت (دیابت وابسته به انسولین) در موش صحرایی با یک‌بار تزریق داخل صفاقی آلوکسان مونوهیدرات (Sigma-Aldrich، آلمان) به میزان ۱۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ایجاد شد. همچنین از بافر سیترات (pH= ۵/۴) به‌عنوان حلال آلوکسان استفاده گردید. آلوکسان به گروه شاهد دیابتی و گروه‌های دیابتی تجربی تحت تیمار با عصاره چرخه تزریق شد. مطالعه بر روی دیابت مزمن است، به همین دلیل حدود ۳۰ روز پس از تزریق آلوکسان و القاء دیابت تجربی، جهت تأیید آن از ورید دمی خون‌گیری صورت گرفت و قند خون توسط دستگاه گلوکومتر (EasyGluco، کره جنوبی) اندازه‌گیری شد. قندخون بالای ۳۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر به‌عنوان شاخص دیابتی شدن و روز صفر آزمایش در نظر گرفته شد (۱۳).

در پایان دوره تزریق و به دنبال ۱۲ ساعت ناشتایی، موش-های صحرایی با دی‌اتیل‌اتر (Merck, Germany) بی‌هوش شدند. سپس پوست ناحیه قفسه سینه، جناغ و دنده‌ها برش

داده شد و با کنار کشیدن جناغ و دنده‌ها از بطن چپ قلب توسط سرنگ ۲ میلی‌لیتر خون‌گیری انجام شد. خون‌گرفته شده بدون ماده ضد انعقاد درون لوله‌آزمایش ریخته و به مدت ۱۲ دقیقه در انکوباتور (Memmert UNB 400, Germany) در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. بعد از وقوع انعقاد، لوله‌ها در دستگاه سانتریفیوژ (Hettich, Germany) به مدت ۱۲ دقیقه با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه قرار داده شد. سپس سرم روی بخش لخته شده توسط سمپلر (Biopette, UK) جدا و به لوله‌آزمایش دیگری منتقل شد و سرم به‌دست‌آمده در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (۱۶). سطح سرمی هورمون‌های تستوسترون، دی‌هیدروتستوسترون، استروژن، LH و FSH به روش ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) با استفاده از دستگاه Elisa reader (Stat Fax 2100, USA) اندازه‌گیری شد. کیت Cusabio (ساخت کشور امریکا) جهت سنجش هورمون‌های LH و FSH، کیت DRG Instruments GmbH (ساخت کشور آلمان) جهت سنجش هورمون‌های تستوسترون و دی‌هیدروتستوسترون و نیز از کیت IBL GmbH (ساخت کشور آلمان) جهت سنجش هورمون استروژن استفاده شد. روش سنجش هورمونی بر اساس روش موجود در دفترچه راهنمای شرکت‌های سازنده کیت صورت گرفت.

جهت مطالعه بافت‌شناسی، بیضه‌ها از طریق ایجاد شکاف در حفره شکمی خارج و با محلول سرم فیزیولوژی شستشو داده شدند. جهت فیکس شدن، در فرمالدئید ۱۰ درصد (Merck, Germany) قرار داده شدند. پس از گذشت ۲۴ ساعت، نمونه‌ها وارد روند آب‌گیری، شفاف‌سازی، آغشتگی با پارافین و درنهایت قالب‌گیری شدند. بعد از قالب‌گیری، برش‌گیری توسط میکروتوم (Anglia Scientific 325, England) انجام و برش‌هایی با ضخامت پنج میکرومتر تهیه گردید. مقاطع بافتی به روش هماتوکسیلین ائوزین رنگ‌آمیزی و لام تهیه شد. از هر لام، تصاویری با درشت‌نمایی ۱۰۰ برابر توسط میکروسکوپ نوری (Olympus CX21FS1, Japan) مجهز به دوربین عکس‌برداری (Cannon, Japan) تهیه گردید (۱۴). در هر گروه، از هر مقطع ۱۰ لوله منی‌ساز با قطر تقریباً گرد به‌صورت تصادفی انتخاب و میانگین ضخامت اپی‌تلیوم زایا (۴ نقطه در هر لوله منی‌ساز به‌صورت تصادفی) در هر ۱۰ لوله بررسی و از نتایج متوسط به دست آمد. سپس میانگین دو قطر عمود بر هم در هر یک از ۱۰ لوله منی‌ساز محاسبه و از میانگین قطر لوله‌ها متوسط به دست آمد. اندازه‌گیری میانگین ضخامت اپی‌تلیوم زایا و میانگین قطر لوله منی‌ساز در هر بیضه ۴ بار تکرار و از داده‌ها متوسط به دست آمد. اندازه‌گیری ضخامت اپی‌تلیوم زایا و قطر لوله منی‌ساز در تصاویر تهیه‌شده، توسط نرم‌افزار ImageJ ویرایش ۲ برحسب واحد میکرومتر صورت گرفت (۱۳). لازم به ذکر است که محقق ارزیابی‌کننده نسبت به گروه‌ها بی‌اطلاع بوده و میانگین اعداد ملاک تحقیق قرارگرفته است.

اطلاعات به‌دست‌آمده توسط نرم‌افزار آماری SPSS ویرایش ۲۰ تحلیل شد. با توجه به این‌که نتایج به‌دست‌آمده کمی است، توسط آزمون Kolmogorov-Smirnov فرض نرمال بودن داده‌ها برقرار شد. داده‌ها توسط آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) و آزمون تعقیبی Tukey تحلیل گردید. همچنین نتایج به‌دست‌آمده به همراه محاسبات آماری مربوطه به‌صورت خطای معیار میانگین±میانگین (Mean±SEM) گزارش و سطح معنی‌داری در آزمون‌ها ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج

با توجه به نتایج به‌دست‌آمده سطح سرمی LH، FSH، استروژن، تستوسترون و دی‌هیدروتستوسترون در گروه شاهد دیابتی در مقایسه با گروه شاهد سالم به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (p=۰/۰۰۱). در مقایسه با گروه شاهد دیابتی سطح سرمی LH، FSH، استروژن، تستوسترون و دی‌هیدروتستوسترون به ترتیب در گروه دیابتی تجربی تیمار شده با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره گیاه چرخه به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (p=۰/۰۰۳، p=۰/۰۰۴، p=۰/۰۰۹، p=۰/۰۱۱ و p=۰/۰۰۷). سطح سرمی LH، FSH، استروژن، تستوسترون و دی‌هیدروتستوسترون در گروه دیابتی تجربی تیمار شده با غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره گیاه چرخه در مقایسه با گروه شاهد دیابتی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (p=۰/۰۰۱). سطح سرمی LH، FSH، استروژن، تستوسترون و دی‌هیدروتستوسترون در گروه دیابتی تجربی تیمار شده با غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره گیاه چرخه به ترتیب در مقایسه با گروه دیابتی تجربی تیمار شده با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (p=۰/۰۱۴، p=۰/۰۰۹، p=۰/۰۰۹، p=۰/۰۱۷ و p=۰/۰۲۰) (جدول ۱).

جدول ۱- مقایسه میانگین سطح سرمی LH، FSH، استروژن، تستوسترون، دی‌هیدروتستوسترون و پارامترهای بافتی بیضه به تفکیک گروه

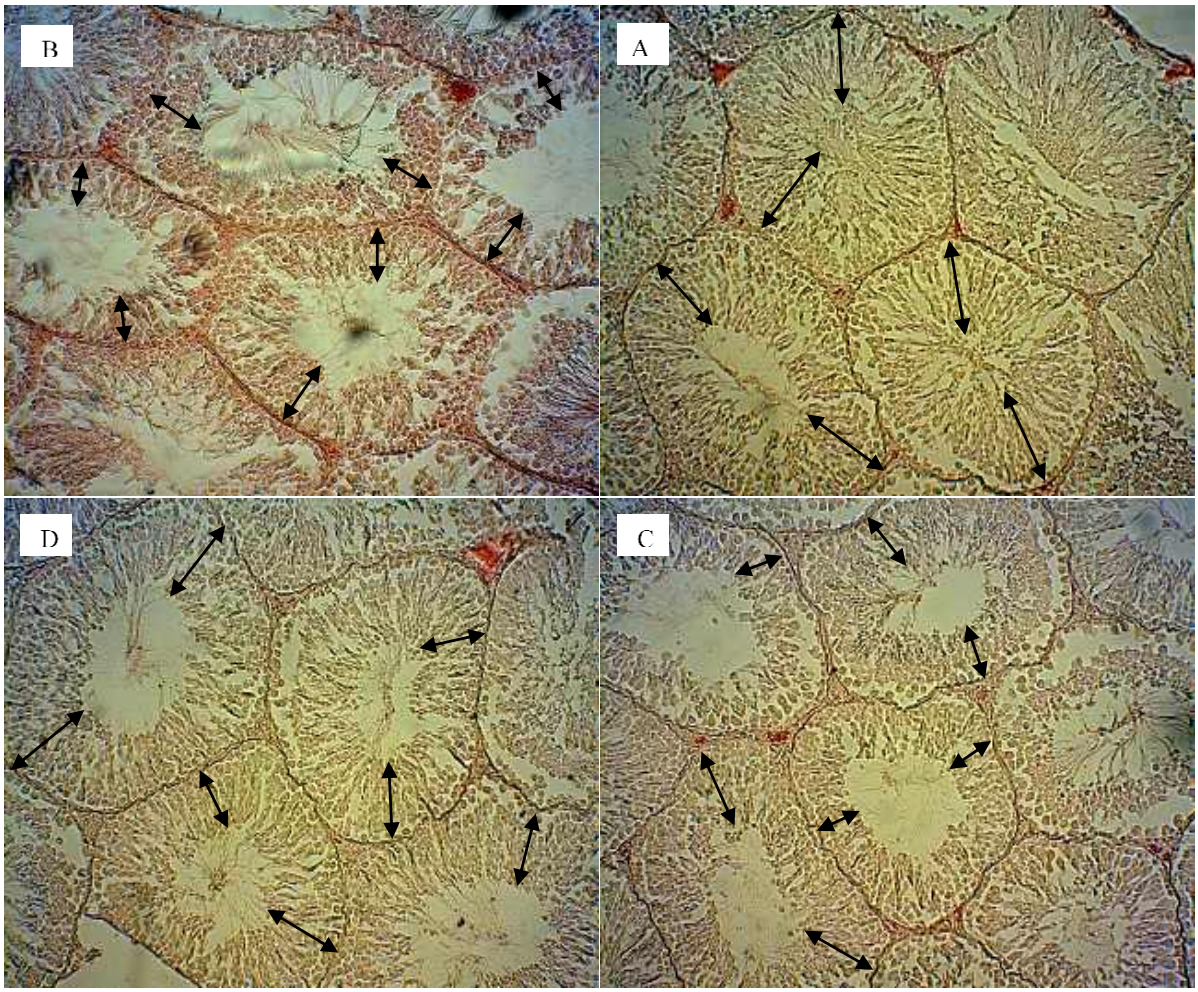
گروه‌ها / متغیر	LH (mIU/ml)	FSH (mIU/ml)	استروژن (pg/ml)	تستوسترون (nmol/L)	دی-هیدروتستوسترون (ng/dl)	میانگین ضخامت اپی-تلیوم زایا (µm)	میانگین قطر لوله-های اسپرم‌ساز (µm)
شاهد سالم	۰/۴۳±۰/۱۱	۰/۵۹±۰/۱۴	۹۳/۴۸±۱۸/۸۳	۱۲/۳۴±۲/۶۷	۵۳/۰۳±۱۴/۷۹	۹۸/۴۳±۱۴/۳۰	۳۵۱/۳۳±۵۳/۱۷
شاهد دیابتی	۰/۱۳±۰/۰۳ [a]	۰/۱۶±۰/۰۴ [a]	۲۰/۳۳±۵/۳۰ [a]	۳/۰۰±۰/۳۵ [a]	۱۷/۴۵±۳/۳۶ [a]	۴۰/۳۶±۱۰/۵۱ [a]	۱۳۰/۴۵±۲۳/۵۸ [a]
دیابتی تیمار شده با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم چرخه	۰/۲۶±۰/۰۵ [b]	۰/۲۹±۰/۰۷ [b]	۵۴/۰۰±۸/۳۷ [b]	۶/۴۱±۱/۸۶ [b]	۳۷/۲۴±۶/۰۴ [b]	۶۹/۲۳±۶/۲۰ [b]	۲۰۳/۰۰±۱۸/۴۴[b]
دیابتی تیمار شده با غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم چرخه	۰/۳۴±۰/۰۹[bc]	۰/۳۷±۰/۱۰[bc]	۷۴/۷۰±۱۹/۴۲[bc]	۹/۰۵±۲/۵۳[bc]	۴۳/۵۱±۹/۱۴ [bc]	۸۸/۴۱±۴/۰۷ [bc]	۲۸۲/۵۳±۲۴/۷۳[bc]

(n=۸)؛ داده‌ها به‌صورت Mean±SEM (Standard Error of Mean) نشان داده‌شده است؛a: p<۰/۰۵ در مقایسه با گروه شاهد سالم. b: p<۰/۰۵ در مقایسه با گروه شاهد دیابتی. c: p<۰/۰۵ در مقایسه با گروه دیابتی تیمار شده با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره آبی گیاه چرخه

با توجه به نتایج به‌دست‌آمده میانگین ضخامت اپی‌تلیوم زایا و میانگین قطر لوله‌های اسپرم‌ساز در گروه شاهد دیابتی در مقایسه با گروه شاهد سالم به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (p=۰/۰۰۱). در مقایسه با گروه شاهد دیابتی ضخامت اپی‌تلیوم زایا و میانگین قطر لوله‌های اسپرم‌ساز در گروه دیابتی تجربی تیمار شده با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره گیاه چرخه به ترتیب (p=۰/۰۰۸، p=۰/۰۰۳) و گروه دیابتی تجربی تیمار شده با غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره گیاه چرخه (p=۰/۰۰۱) به‌صورت وابسته به دوز و به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. ضخامت اپی‌تلیوم زایا و میانگین قطر لوله‌های اسپرم‌ساز در گروه دیابتی تجربی تیمار شده با غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره گیاه چرخه به ترتیب در مقایسه با گروه دیابتی تجربی تیمار شده با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (p=۰/۰۱۱ و p=۰/۰۰۸). همان‌طور که در تصاویر مشاهده می‌شود تجویز وابسته به دوز عصاره گیاه چرخه موجب افزایش ضخامت اپیتلیوم زایا در مقاطع بافت بیضه موش‌های صحرایی دیابتی شده است (جدول ۱، شکل ۱).

بحث و نتیجه گیری

در پژوهش حاضر، اثر عصاره آبی گیاه چرخه بر هورمون-های محور هیپوفیز- گناد و تغییرات بافتی بیضه در موش‌های صحرایی نر دیابتی نوع یک موردبررسی قرار گرفت. در این پژوهش مشخص شد سطح سرمی هورمون‌های LH، FSH، استروژن، تستوسترون و دی‌هیدروتستوسترون در گروه شاهد دیابتی در مقایسه با گروه شاهد سالم به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. در پژوهشی که روی موش‌های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوتوسین انجام شد، مشخص گردید غلظت سرمی هورمون تستوسترون در موش‌های دیابتی در مقایسه با موش-های سالم به‌طور معنی‌داری کاهش یافت و چنین عنوان شد که دیابت با اثرات منفی بر عملکرد و ساختار سیستم تولیدمثلی در موش‌های نر موجب کاهش تولید و ترشح



شکل ۱- فتومیکروگراف از مقطع عرضی بافت بیضه با بزرگنمایی ۱۰۰ برابر و رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین ائوزین A) گروه شاهد سالم، B) گروه شاهد دیابتی، C) گروه دیابتی تجربی تیمار شده با عصاره‌ی گیاه چرخه با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، D) گروه دیابتی تجربی تیمار شده با عصاره‌ی گیاه چرخه با غلظت ۲۰۰ میلی-گرم بر کیلوگرم، در تصاویر فلش‌ها نشان‌دهنده ضخامت اپیتلیوم زایا

تستوسترون و نیز کاهش اسپرماتوژنز می‌شود (۱۸). پژوهشی با هدف بررسی اثر دیابت بر تغییرات هورمون‌های گنادوتروپین و گنادی موش‌های صحرایی نر انجام شد و گزارش شد دیابت موجب کاهش وزن بدن و کاهش وزن بیضه‌ها در مقایسه با موش‌های سالم می‌شود و نیز سطح سرمی هورمون‌های LH، FSH، تستوسترون، ۱۷- بتا استرادیول و پروژسترون در موش-های صحرایی دیابتی در مقایسه با موش‌های سالم کاهش یافت (۱۹). طی تحقیقات صورت گرفته مشخص شد دیابت با کاهش تعداد سلول‌های لیدیگ در موش‌های صحرایی دیابتی موجب کاهش تولید و ترشح تستوسترون می‌شود. گزارش‌شده است دیابت میزان خون‌رسانی بافت بیضه را کاهش می‌دهد و نیز شرایط استرس‌اکسیداتیو ایجادشده در اثر دیابت، بر میزان ترشح هورمون‌های گنادوتروپین و عملکرد بیضه تأثیر می‌گذارد و با ایجاد آسیب‌های متعدد به بافت بیضه به‌ویژه سلول‌های لیدیگ و سرتولی، موجب کاهش عملکرد آن‌ها می‌شود (۲۰). نتایج مطالعه‌ای نشان داد دیابت منجر به کاهش معنی‌دار غلظت سرمی هورمون تستوسترون می‌شود. استرس‌اکسیداتیو ناشی از دیابت می‌تواند نقش مهم و کلیدی در عملکرد سلول-های لیدیگ داشته باشد و فعالیت آن را کاهش دهد و منجر به کاهش سنتز و ترشح تستوسترون شود (۲۱). تحقیقات نشان داد دیابت منجر به ایجاد استرس‌اکسیداتیو در سلول‌های غدد هیپوفیز می‌شود و به‌عنوان غده ترشح‌کننده گنادوترپین، می‌تواند بر فعالیت محور هیپوفیز- گناد، هورمون‌های جنسی و میزان باروری مؤثر باشد. فعالیت LH و FSH هم به سطح سرمی این دو هورمون و هم

به تعداد گیرنده‌های آن‌ها در بیضه بستگی دارد. دیابت و استرس-اکسیداتیو ناشی از آن با افزایش سطح رادیکال‌های آزاد سلولی و با تأثیر برگیرنده‌های LH، FSH باعث کاهش سطح سرمی این هورمون‌ها می‌شوند (۲۲). گزارش‌شده است دیابت از طریق کاهش ترشح گنادوتروپین‌ها و با تأثیر مستقیم روی سلول‌های لایدیگ و سرتولی که در تولید و انتقال تستوسترون نقش دارند، منجر به کاهش اسپرماتوژنز می‌شود (۲۳). با توجه به نتایج پژوهش حاضر می‌توان کاهش در فعالیت محور هیپوفیز- گناد و کاهش غلظت سرمی هورمون‌های جنسی در موش‌های صحرایی نر را از عوارض دیابت دانست که این نتایج با مطالعات اخیر کاملاً همسو است.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد میانگین ضخامت اپی‌تلیوم زایا و میانگین قطر لوله‌های اسپرم‌ساز در گروه شاهد دیابتی در مقایسه با گروه شاهد سالم به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. محققین گزارش کردند دیابت منجر به تغییرات فراساختاری در لوله‌های اسپرم‌ساز شامل تغییر در شکل میتوکندری‌ها، کاهش حجم سیتوپلاسم سلولی، افزایش واکوئل‌های چربی در سلول-های سرتولی و اختلال در اتصالات بین سلول‌های اسپرماتوگونی می‌شود (۲۴، ۲۵). تحقیقات نشان داد ضخامت اپی‌تلیوم زایا و قطر لوله‌های اسپرم‌ساز در گروه شاهد دیابتی در مقایسه با گروه شاهد سالم به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. همچنین در تحقیق مذکور کاهش تعداد و کاهش اتصالات بین سلولی رده سلول‌های اسپرماتوژنیک و نیز افزایش فضای مابین لوله‌های اسپرم‌ساز در بیضه نمونه‌های دیابتی گزاش شده است (۲۶). تحقیقات انجام‌شده حاکی از نقش مهم گونه‌های فعال اکسیژن در ایجاد آسیب‌های بافت بیضه در موش‌های صحرایی دیابتی است. استرس‌اکسیداتیو حاصل از عدم تعادل بین تولید رادیکال‌های آزاد و ظرفیت دفاع آنتی‌اکسیدانی، به‌شدت با دیابت و عوارض آن در ارتباط است و آسیب DNA ناشی از رادیکال‌های آزاد می‌تواند فرآیند آپوپتوز سلول‌های جنسی را سرعت بخشیده و باعث کاهش تعداد سلول‌های جنسی شود (۲۷). همچنین دیابت از طریق آتروفی لوله‌های اسپرم‌ساز، کاهش قطر لوله‌های اسپرم‌ساز و کاهش مجموعه سلولی اسپرماتوژنیک موجب آسیب بافت بیضه و اختلال در اسپرماتوژنز می‌شود (۲۸). این نتایج با یافته‌های مطالعه حاضر در گروه شاهد دیابتی هم‌خوانی دارد.

بر اساس نتایج مطالعه حاضر مشخص شد تیمار وابسته به دوز عصاره آبی گیاه چرخه موجب افزایش فعالیت محور هیپوفیز- گناد و افزایش غلظت سرمی هورمون‌های جنسی در موش‌های صحرایی دیابتی شده است. همچنین مشخص شد تجویز عصاره گیاه چرخه بر آسیب بافتی ناشی از دیابت اثر محافظتی داشته و موجب افزایش میانگین ضخامت اپی‌تلیوم زایا و میانگین قطر لوله‌های اسپرم‌ساز در موش‌های صحرایی دیابتی گردید. در پژوهشی مشخص شد تجویز عصاره آبی گیاه چرخه به موش‌های صحرایی دیابتی می‌تواند از طریق افزایش تعداد و حجم جزایر لانگرهانس که احتمالاً درنتیجه هیپرتروفی و هیپرپلازی سلول‌های بتا است، موجب افزایش ترشح انسولین شود (۱۴). به نظر می‌رسد که عصاره گیاه چرخه به دلیل داشتن ترکیبات فلاونوئیدی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌تواند علاوه بر اصلاح نسبی اختلالات متابولیکی ناشی از افزایش گلوکز خون، با جبران نقایص عملکردی پانکراس و افزایش ترشح انسولین، موجب کاهش سطح سرمی گلوکز خون شود (۱۵). با توجه به گزارش‌های ذکرشده می‌توان گفت افزایش فعالیت محور هیپوفیز- گناد و نیز بهبود آسیب بافتی بیضه، درنتیجه اثرات هیپوگلیسمی عصاره گیاه چرخه است. کاهش استرس‌اکسیداتیو و بهبود نسبی سطح سرمی قند خون علاوه بر بهبود روند اسپرماتوژنز و تغییرات چشمگیر در قطر لوله‌های اسپرم‌ساز، منجر به افزایش سلول‌های زایا در مراحل مختلف تکوین می‌شود (۲۹). طی دیابت تغییراتی در بیان فاکتور رشد شبه انسولین، گیرنده‌های آندروژن و نیز گیرنده هورمون FSH در بیضه ایجاد می‌شود از طرفی میزان هورمون LH، FSH و تستوسترون به‌طور قابل‌ملاحظه‌ای در سرم خون کاهش می‌یابد و به دنبال این تغییرات عملکرد سلول‌های لیدیگ نیز کاهش می‌یابد (۳۰)؛ بنابراین اثرات هیپوگلیسمی گیاه چرخه موجب بهبود اختلالات ایجادشده در سیستم هورمونی و بافتی ناشی از دیابت می‌شود. محققین گزارش کرده‌اند عصاره گیاه چرخه در بهبود شاخص‌های استرس‌اکسیداتیو گلبول‌های قرمز موش‌های صحرایی دیابتی مؤثر است و با کاهش سطح سلولی رادیکال-های آزاد و افزایش همزمان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و کاهش پراکسیداسیون لیپیدی، می‌تواند منجر به کاهش صدمات سلولی ناشی از دیابت شود (۱۶). با توجه به اینکه رادیکال‌های آزاد به‌طور کنترل نشده‌ای در بیماران دیابتی

به‌وسیله اکسیداسیون گلوکز، گلیکاسیون غیرآنزیماتیک پروتئین‌ها و به دنبال آن تخریب اکسیداتیو پروتئین‌های گلیکوله ایجاد می‌شوند (۳۱)، احتمالاً ترکیبات آنتی‌اکسیدانی گیاه چرخه با کاهش استرس‌اکسیداتیو سلول‌های محور هیپوتالاموس- هیپوفیز- گناد می‌توانند موجب افزایش عملکرد سلولی و افزایش فعالیت این محور شوند. همچنین با کاهش استرس‌اکسیداتیو سلول‌های لیدیگ بیضه، ترشح هورمون تستوسترون افزایش می‌یابد. گزارش‌شده است عصاره آبی گیاه چرخه با سرعت بخشیدن به فرایند التهابی، افزایش تکثیر سلول‌های اپی‌تلیومی و افزایش تشکیل عروق خونی نقش مؤثری بر روندترمیم زخم و افزایش درصد بهبودی زخم‌های دیابتی دارد و نیز مشخص شد افزایش خون‌رسانی و اکسیژن رسانی به محل ضایعه زخم از طریق گشاد نمودن عروق خونی می‌تواند یکی دیگر از عوامل تسریع ترمیم زخم باشد. به نظر می‌رسد که عصاره گیاه چرخه رگ‌زایی و جریان خون را در بافت‌های آسیب‌دیده افزایش می‌دهد و بدین‌وسیله مواد غذایی و اکسیژن را در اختیار سلول‌ها قرار می‌دهد و باعث افزایش تکثیر سلولی و ترمیم می‌شود (۱۷). با توجه به مطالعات ذکرشده احتمالاً بهبود پارامترهای بافتی بیضه و افزایش فعالیت محور هیپوفیز- گناد در موش‌های صحرایی، در اثر خواص ضدالتهابی عصاره گیاه چرخه است. گزارش‌شده است تیمار موش‌های صحرایی دیابتی با غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره آبی گیاه چرخه موجب افزایش معنی‌دار درصد اسپرم‌های دارای حرکات سریع و آهسته می‌شود و نیز میانگین درصد اشکال غیرطبیعی اسپرم کاهش می‌یابد. همچنین عنوان شد تعداد اسپرم در موش‌های صحرایی دیابتی دریافت‌کننده عصاره آبی گیاه چرخه در مقایسه با گروه شاهد دیابتی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت که نشان‌دهنده افزایش اسپرماتوژنز است (۱۳). با توجه به نتایج پژوهش حاضر افزایش اسپرماتوژنز درنتیجه تجویز عصاره آبی گیاه چرخه را می‌توان در اثر افزایش فعالیت محور هیپوفیز- گناد و بهبود آسیب بافت بیضه موش‌های صحرایی دیابتی دانست.

دیابت می‌تواند به‌عنوان یک عامل مؤثر ایجاد گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن و تضعیف‌کننده دفاع آنتی‌اکسیدانی در بیضه و بافت‌های مرتبط با سیستم تولیدمثلی محسوب شود؛ بنابراین پیشنهاد می‌شود خواص آنتی‌اکسیدانی سایر ترکیبات با منشأ گیاهی بر فعالیت محور هیپوفیز- گناد موردبررسی قرار گیرد. همچنین با توجه به گستردگی عوارض دیابت پیشنهاد می‌شود اثر عصاره آبی گیاه چرخه در رابطه با سایر عوارض این بیماری موردبررسی قرار گیرد. همچنین مطالعات تکمیلی پیرامون شناخت دقیق مکانیسم‌های سلولی و مولکولی عصاره آبی گیاه چرخه در کنترل اختلالات هورمونی و آسیب بافتی ناشی از دیابت لازم است تا اطلاعات درزمینه اثرات بالقوه آن کامل‌تر شود.

درمجموع با توجه به نتایج به‌دست‌آمده می‌توان گفت تجویز وابسته به دوز عصاره آبی گیاه چرخه با تأثیر بر فعالیت محور هیپوفیز- بیضه، میزان ترشح هورمون‌های جنسی را در موش‌های صحرایی دیابتی افزایش می‌دهد. همچنین با اثر محافظتی خود موجب کاهش آتروفی لوله‌های منی‌ساز و افزایش ضخامت اپی‌تلیوم زایا در موش‌های صحرایی دیابتی می‌شود؛ بنابراین می‌توان گفت تجویز وابسته به دوز عصاره آبی گیاه چرخه با غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم موجب بهبود آسیب بافتی بیضه در موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت نوع یک می‌شود.

تشکر و قدردانی

این مطالعه حاصل پایان‌نامه کارشناسی ارشد خانم ثمانه تفکر دانشجوی رشته بیوشیمی دانشگاه پیام نور مرکز مشهد است. همچنین نویسندگان مقاله بر خود لازم می‌دانند از باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد کمال تشکر و قدردانی را به عمل‌آورند.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ‌گونه تعارض منافعی را اعلام نکرده‌اند.

References

1. Rains JL, Jain SK. Oxidative stress, insulin signaling, and diabetes. Free Radic Biol Med. 2011;50(5): 567-575.
2. Jin J, Yang W. Molecular regulation of hypothalamus–pituitary–gonads axis in males. Gene. 2014;551(1): 15-25.
3. Holdcraft RW, Braun RE. Hormonal regulation of spermatogenesis. Int J Androl. 2004;27(6): 335-342.
4. Spark RF. Testosterone, diabetes mellitus, and the metabolic syndrome. Curr Urol Rep. 2007;8(6): 467-471.
5. Gaunay G, Nagler HM, Stember DS. Reproductive Sequelae of Diabetes in Male Patients. Endocrinol Metab Clin North Am. 2013;42(4): 899-914.
6. Himabindu B, Madhu P, Sreenivasula Reddy P. Diabetes and alcohol: Double jeopardy with regard to oxidative toxicity and sexual dysfunction in adult male Wistar rats. Reprod Toxicol. 2015;51: 57-63.
7. Shayakhmetova GM, Bondarenko LB, Matvienko AV, Kovalenko VM. Correlation between spermatogenesis disorders and rat testes CYP2E1 mRNA contents under experimental alcoholism or type I diabetes. Adv Med Sci. 2014;59(2): 183-189.
8. Mallidis C, Agbaje I, O'Neill J, McClure N. The influence of type 1 diabetes mellitus on spermatogenic gene expression. Fertil Steril. 2009;92(6): 2085-2087.
9. Sexton WJ. Jarow JP. Effect of diabetes mellitus upon male reproductive function. Urology. 1997;49(4): 508-513.
10. Hajinejad Boshroue R, Behnam-Rassouli M, Tehranipour M, Gheybi F, Hajinejad Sh, Elahi Moghaddam Z. The Effects of Hydro- alcoholic extract of Launaea acanthodes on the Blood, Urine Albumin and Bilirubin Levels in Male Hyperglycemic Wistar Rat. IJEM. 2013;15(2): 190-233. [Article in Persian]
11. Piazza L, Bertini S, Milany J. Extraction and structural characterization of the polysaccharide fraction of Launaea acanthodes gum. Carbohydr Polym. 2010;79(2): 449-454.
12. Karimidokht shahrbabaki A, Oryan SH, Parivar K. Anticonvulsant activity of ethanolic extract and aqueous fraction of Launaea acanthodes gum in comparison with diazepam in mice. JQUMS. 2009;13(1): 14-20. [Article in Persian]
13. Rahbarian R, Sepehri-Moghadam H, Sadooghi SD. Effect of Aqueous Extract of *Launaea acanthodes* on Testicular Tissue and Sperm Parameters in Alloxan-Induced Diabetic Rats. Horizon Med Sci. 2015;21(1): 21-29. [Article in Persian]
14. Sepehri-Moghadam H, Rahbarian R, Sadoughi SD. The effect of aqueous extract of *Launaea acanthodes* (Boiss.) O. Kuntze on the serum level of insulin and blood glucose and histomorphological changes of pancreas in diabetic rats. Feyz. 2015;19(1): 30-37. [Article in Persian]
15. Behnam-Rassouli M, Ghayour N, Ghayour M, Ejtehadi M. Investigating the effects of hydro-alcoholic extract of *Launaea acanthodes* on the serum levels of glucose, insulin, lipids and lipoproteins in stereptozotocin induced type I diabetic rats. Arak Univ Med Sci J. 2012;14(6): 48-56. [Article in Persian]
16. Rahbarian R, Sepehri-Moghadam H, Sadoughi SD. The Effects of Aqueous Extract of *Launaea Acanthodes* on Oxidative Stress Parameters of Red Blood Cells in Diabetic Rats. J RafsanjanUniv Med Sci. 2016;14(10): 865-878. [Article in Persian]
17. Rahbarian R, Sepehri Moghadam H, Sadoughi SD. Effect of Aqueous Extract of Launaea acanthodes on Open Skin Wound in Diabetic Rats. Horizon Med Sci. 2016;21(1): 1-11. [Article in Persian]
18. Nnejati V, khaneshi F. Evaluation of hydro-alcoholic extract of Plantago majo leaf on the changes in testis Morphology, sperm parameters and testosterone level in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. Horizon Med Sci. 2014;20(1): 49-55. [Article in Persian]
19. Kiani fard D, Hasanzadeh S, Sadrkahnlou R, Farshid M. An investigation of ultrastructural changes in cells of seminiferous tubules of testes and alterations in gonadotropic - gonadal hormones of adult male experimentally induced diabetic rats. Urmia Med J. 2011;22(3): 239-248. [Article in Persian]
20. Najar A, Piryae 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(3): 188-195. [Article in Persian]
21. Fernandez-Miro M, Chillaron JJ, Pedro-Botet J. Testosterone deficiency, metabolic syndrome and diabetes mellitus. Medicina Clínica (English Edition). 2016;146(2): 69-73.
22. Tirabassi G, Chelli FM, Ciommi M, Lenzi A, Balercia G. Influence of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis dysregulation on the metabolic profile of patients affected by diabetes mellitus-associated late onset hypogonadism. Nutr Metab Cardiovasc Dis. 2016;26(1): 53-59.
23. Shayakhmetova GM, Bondarenko LB, Matvienko AV, Kovalenko VM. Correlation between spermatogenesis disorders and rat testes CYP2E1 mRNA contents under experimental alcoholism or type I diabetes. Adv Med Sci. 2014;59(2): 183-189.
24. Cameron DF, Murray FT, Drylie DD. Interstitial compartment pathology and spermatogenic disruption in testes from impotent diabetic men. Anat Rec. 1985;213(1): 53-62.
25. Hutson JC. Altered biochemical responses by rat Sertoli cells and peritubular cells cultured under stimulated diabetic conditions. Diabetologia. 1984;26(2): 155-158.
26. Ashraf H, Khaneshi F, Rafiee Raki F, Nejati V. Evaluation of Aqueous Extract of Berberis Integerrima Root on the Testis Tissue and Testosterone Levels in Stereptozotocine (STZ) Induced Diabetic Rats. Qom Univ Med Sci J. 2013;7(4): 28-35. [Article in Persian]

27. Mallidis C, Agbaje I, O'Neill J, McClure N. The influence of type 1 diabetes mellitus on spermatogenic gene expression. Fertil Steril. 2009;92(6): 2085-2087.
28. Orman D, Vardi N, Ates B, Taslidere E, Elbe H. Aminoguanidine mitigates apoptosis, testicular seminiferous tubules damage, and oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats. Tissue and Cell. 2015;47(3): 284-290.
29. Roy VK, Chenkual L, Gurusubramanian G. Protection of testis through antioxidant action of *Mallotus roxburghianus* in alloxan-induced diabetic rat model. J Ethnopharmacol. 2015;176: 268-280.
30. Dudek M, Kołodziejski PA, Pruszyńska-Oszmałek E, Sassek M, Ziarniak K, Nowak KW, et al. Effects of high-fat diet-induced obesity and diabetes on Kiss1 and GPR54 expression in the hypothalamic–pituitary gonadal (HPG) axis and peripheral organs (fat, pancreas and liver) in male rats. Neuropeptides. 2016;56: 41-49.
31. Yang H, Jin X, Kei Lam CW, Yan SK. Oxidative stress and diabetes mellitus. Clin Chem Lab Med. 2011;49(11): 1773-1782.

Original Article

The Effect of Aqueous Extract of Launaea Acanthodes on the Hormones of Pituitary-Gonadal Axis and Testis Histological Changes in Male Diabetic Rats

Tafakkor S[1], Rahbarian R[1], Sadoughi SD[2*]

1- Department of Biology, Faculty of Sciences, Payam-e-Noor University, Tehran, Iran
2- Young Researchers and Elite Club, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran

Received: 16 Sep 2016 Accepted: 08 Jan 2017

Abstract

Background & Objective: Diabetes impairs the reproduction with gonadal damage and changes in sex hormone secretion. Due to the antioxidant and hypoglycemia properties of Launaea acanthodes the aim of this study was to evaluate the effect of aqueous extract of Launaea acanthodes on the hormones of pituitary-gonad axis and testis histological changes in male diabetic rats.

Materials & Methods: In this experimental study 32 male rats were divided into 4 equal groups. Control, diabetic control and experimental diabetic treated with aqueous extract of Launaea acanthodes (100 and 200 mg/kg). The diabetes was induced using an intraperitoneal injection of alloxan. Aqueous extract of Launaea acanthodes was intraperitoneally injected into the experimental diabetic groups, alternate days for one month. Sterile distilled water was injected to the animals of control and diabetic control groups. At the end of injection period, serum levels of testosterone, dihydrotestosterone, estrogen, LH and FSH were measured by ELISA method. Then, the testis sections were prepared and were examined by means of light microscope.

Results: Compared to the diabetic control group serum levels of testosterone, dihydrotestosterone, estrogen, LH, FSH, also the average diameter and the average thickness of germinal epithelium seminiferous tubules in diabetic groups treated with concentration of 100 and 200 mg/kg Launaea acanthodes extract dose-dependently increased ($p<0.05$).

Conclusion: Administration of Launaea acanthodes extract increases the activity of pituitary-gonad axis in male diabetic rats and also it has protective effect against testicular damage induced by diabetes.

Keywords: Diabetes, *Launaea acanthodes*, Testis, Hormone, Male rat

***Corresponding author: Seyed Damoon Sadoughi,** Young Researchers and Elite Club, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran
E-mail: damoon.sadoughi@mshdiau.ac.ir