مقاله پژوهشی

تأثیر عصاره هیدروالکلی میوه گیاه بامیه بر هورمون‌های محور هیپوفیز-بیضه و بیان ژن آرژیناز ۲ در موش‌های صحرایی بالغ دیابتی شده با استرپتوزوتوسین

محیا حسین پور[۱]، مهرداد شریعتی[۲*]، سید ابراهیم حسینی[۱]

۱- گروه زیست‌شناسی، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران
۲- گروه زیست‌شناسی، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۹/۰۶/۲۴ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۹/۰۸/۳۰

چکیده

زمینه و هدف: دیابت شایع‌ترین اختلال متابولیک است که موجب اختلال در سیستم تولیدمثلی می‌شود. هدف این مطالعه، بررسی تأثیر عصاره هیدروالکلی میوه گیاه بامیه بر هورمون‌های محور هیپوفیز-بیضه و بیان ژن آرژیناز ۲ در موش‌های صحرایی بالغ دیابتی شده با استرپتوزوتوسین بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، ۳۶ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار به‌طور تصادفی به شش گروه کنترل (بدون درمان)، شاهد مثبت (۶۰ میلی‌گرم/کیلوگرم استرپتوزوتوسین)، شاهد منفی (۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصاره هیدروالکلی گیاه بامیه)، تجربی ۱، ۲ و ۳ (ابتدا ۶۰ میلی‌گرم/کیلوگرم استرپتوزوتوسین و سپس به ترتیب ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصاره هیدروالکلی گیاه بامیه) تقسیم شدند. ۲۸ روز بعد، هورمون‌های لوتئینه کننده (LH)، محرک رشد فولیکول (FSH) و تستوسترون به روش الایزا و بیان ژن آرژیناز ۲ با روش Real time-PCR اندازه‌گیری شدند. نتایج با آزمون‌های آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه و تعقیبی توکی تحلیل شدند.

نتایج: در مقایسه با گروه کنترل، در گروه کنترل مثبت سطح هورمون‌های FSH و LH افزایش معنی‌دار و سطح تستوسترون کاهش معنی‌دار داشت اما تغییر معنی‌داری در سطح هورمون‌ها در گروه کنترل منفی مشاهده نشد. در گروه‌های تجربی بهبود سطح هورمون‌های FSH، LH و تستوسترون به‌صورت وابسته به دوز در مقایسه با گروه کنترل مشاهده گردید. سطح بیان ژن آرژیناز ۲ در گروه‌های کنترل مثبت و تجربی ۱ در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌دار داشت اما تغییر معنی‌داری در گروه‌های دیگر مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: عصاره هیدروالکلی میوه گیاه بامیه در دوز حداکثر دارای اثرات محافظتی بر سطح هورمون‌های محور هیپوفیز-بیضه و بیان ژن آرژیناز ۲ در موش‌های صحرایی دیابتی است.

کلمات کلیدی: دیابت، گیاه بامیه، بیضه، موش صحرایی، تستوسترون

مقدمه

دیابت یک بیماری متابولیک پیش‌رونده است که درصد قابل‌توجهی از جمعیت جهان را تحت تأثیر قرار داده است (۱). این بیماری با اختلال در عملکرد جنسی همراه است به‌گونه‌ای که ۹۰ درصد از بیماران دارای کاهش میل جنسی، ناتوانی جنسی و ناباروری هستند. مطالعات نشان می‌دهند که افزایش استرس اکسیداتیو و تغییر در ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بدن، دو فاکتوری هستند که در پاتوژنز دیابت نقشی اساسی دارند (۲). هر دو فاکتور از عواملی هستند که می‌توانند با ایجاد آپاپتوز موجب تغییر در سلول‌های اسپرماتوژنیک بیضه و همچنین اختلال در ترشح هورمون‌های محور هیپوفیز-بیضه شوند (۳، ۴). استرپتوزوتوسین یک آنتی‌بیوتیک است که برای درمان انواع

*نویسنده مسئول: مهرداد شریعتی، گروه زیست‌شناسی، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران
Email: mehrdadshariati@kau.ac.ir
https://orcid.org/0000-0001-7360-0208

مختلفی از سرطان‌ها استفاده می‌شود. این ماده دارای اثرات سمی بر روی سلول‌های بتای پانکراس است و استرس اکسیداتیو را با آزادسازی نیتریک اکسید و گونه‌های فعال اکسیژن القا می‌کند به همین دلیل جهت القای دیابت و ارزیابی اثرات دیابت بر روی اندام‌های مختلف در حیوانات مدل استفاده می‌شود (۵). امروزه جهت درمان دیابت از داروهای شیمیایی به‌عنوان گزینه اول درمان استفاده می‌شود اما متأسفانه، از حدود ۵۰ سال پیش و پس از ابداع سولفونیل اوره‌ها و متفورمین، هیچ پیشرفت عمده‌ای در جهت پیدا کردن داروهای مناسب برای درمان دیابت به دست نیامده است (۶). ضمن آنکه داروهای شیمیایی دارای عوارض جانبی متعدد، هزینه‌های بالا و منع مصرف در بعضی بیماران هستند. بسیاری از داروهای معمول نیز از مولکول‌های پروتوتایپ گیاهان دارویی مشتق شده‌اند. متفورمین یک نمونه خوراکی مؤثر کاهنده گلوکز است که از گیاه *Galega officinalis* مشتق شده است (۷، ۸). به همین دلیل استفاده از داروهای گیاهی جهت درمان دیابت توجه بسیاری از محققین را به‌سوی خود جلب کرده است. در حال حاضر تعدادی از محصولات طبیعی وجود دارند که اثرات کاهنده قند خون نشان می‌دهند که با توجه به منابع مختلف، حدود ۸۰۰ تا ۱۲۰۰ گیاه با اثرات کاهنده قند خون شناسایی‌شده‌اند (۹، ۱۰). گیاه بامیه بانام علمی *Abelmoschus esculentus* یک گیاه ناحیه گرمسیری و حاوی ذخایر ارزشمندی از کربوهیدرات‌ها، ویتامین‌ها، مواد معدنی و همچنین منبعی از مواد دارویی است. این گیاه دارای فعالیت ضد دیابتی، ضد هیپرلیپیدمی و ضدالتهابی است (۱۱). ترکیبات فنلی موجود در گیاه بامیه دارای اثرات بیولوژیک متعدد هستند. قسمت اعظم ترکیبات فنلی موجود در گیاه بامیه، کوئرستین است که با داشتن خاصیت آنتی‌اکسیدانی مانع از تخریب سلول‌ها به‌واسطه عوامل اکسیداتیو می‌شود و درنتیجه قادر به ترمیم سلول‌های بتای آسیب‌دیده و افزایش سطح ترشح انسولین از این سلول‌ها خواهد بود (۱۲). گزارش‌شده است که کوئرستین بازسازی سلول‌های پانکراس را افزایش داده، غلظت گلوکز خون را کاهش و آزادسازی انسولین را در موش‌های صحرایی دیابتی افزایش می‌دهد (۱۳).

آرژینیاز یک آنزیم حاوی منگنز است و آنزیم نهایی در چرخه اوره است. آرژینیاز متعلق به خانواده آنزیم اوروهیدرولاز است. دو ایزوفرم از این آنزیم وجود دارد آرژینیاز یک و آرژینیاز دو که در توزیع بافتی، جایگاه درون‌سلولی، خواص ایمونولوژیکی و عملکرد فیزیولوژیکی باهم متفاوت هستند (۱۴). با مطالعات انجام‌گرفته نشان داده‌شده است که ارتباط مستقیمی بین بیماری دیابت و میزان فعالیت آنزیم آرژینیاز وجود دارد (۱۵). آنزیم آرژینیاز، دو فرم میتوکندریایی و سیتوزولی دارد که فرم سیتوزولی در سیکل اوره فعالیت می‌کند و فرم میتوکندریایی از اسیدآمینه ال-آرژنین متابولیت‌هایی می‌سازد که درنهایت در تولید پلی آمین‌ها و تنظیم رشد و تکثیر سلولی شرکت دارد. آرژیناز دو در تنظیم غلظت آرژنین/ اورنیتین و همچنین متابولیسم نیتریک اکسید و پلی آمین‌ها نقش دارد. این آنزیم در میتوکندری چندین بافت و با بیش‌ترین فراوانی در کلیه و پروستات و در سطوح پایین‌تر در ماکروفاژها، غدد شیری پستانداران و مغز یافت می‌شود. آرژیناز ۲ با نیتریک اکسید سنتاز در بافت‌های عضله صاف، مانند عضله صاف اندام تناسلی مردان بیان می‌شود. مهار آرژیناز سطح نرمال آرژینین سلولی را حفظ و درنتیجه باعث آرامش عضلانی و پاسخ جنسی طبیعی خواهد شد (۱۴).

تاکنون تحقیقات زیادی در خصوص گیاهان دارویی با خاصیت ضد دیابتی صورت گرفته است. ازجمله این گیاهان می‌توان به دارچین (*Cinnamomum verum*)، ازگیل (*Mespilus L germanica*)، زیره سبز (*Cuminum cyminum*) و هندوانه ابوجهل (*Citrullus colocynthis*) اشاره کرد (۱۶). میوه گیاه بامیه به دلیل داشتن ترکیبات مختلف و همچنین با دارا بودن خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی در کنترل و درمان بیماری‌های مختلف مانند التهابات معده و روده و همچنین عفونت‌های کلیوی و مجاری ادرار کاربرد دارد (۱۷). این گیاه به‌طور سنتی در کنترل قند خون کاربرد داشته است به‌گونه‌ای که تحقیقات حاضر نیز نشان می‌دهند که میوه این گیاه تأثیرات مثبتی بر میزان قند خون و سطح انسولین در موش‌های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوتوسین دارد (۱۳). ازآنجاکه گزارشی در رابطه با تأثیر عصاره هیدروالکلی میوه گیاه بامیه بر تغییرات هورمون‌های محور هیپوفیز-بیضه و همچنین تغییرات بیان ژن آرژیناز ۲ در موش‌های صحرایی بالغ دیابتی در دسترس نبود بنابراین این مطالعه باهدف بررسی این تغییرات انجام گردید.

مواد و روش‌ها

حیوانات

در این مطالعه‌ی تجربی، ۳۶ موش صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار با محدوده وزنی ۲۰±۲۳۰ گرم از خانه حیوانات مرکز ترانس ژنتیک دانشگاه علوم پزشکی شیراز تهیه و نگهداری

گردیدند. قبل از شروع مطالعه و جهت سازگار نمودن حیوانات با شرایط جدید، همگی آن‌ها به مدت دو هفته در کنار یکدیگر و در قفس‌هایی از جنس پلی کربنات تحت شرایط یکسان با دمای ۲±۲۲ درجه سانتی‌گراد، چرخه نوری ۱۲ ساعت روشنایی-۱۲ ساعت تاریکی، رطوبت نسبی ۷۰٪ و تهویه‌ی مناسب نگهداری شدند. در تمام طول مطالعه حیوانات به آب و غذای کافی و یکسان دسترسی آزاد داشتند. پروتکل این تحقیق بر اساس اصول اخلاق کار با حیوانات آزمایشگاهی در کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز با شماره ۱۶۳۳۰۵۲۵۹۷۱۰۰۱ تنظیم و تصویب گردید.

روش آماده‌سازی عصاره هیدروالکلی میوه گیاه بامیه

میوه‌ی گیاه بامیه از مزارع اطراف شیراز تهیه گردید و سپس، جنس و گونه گیاه (*Abelmoschus esculentus*) توسط دانشکده‌ی گیاه‌شناسی و علوم کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز مورد شناسایی و تائید قرار گرفت. میوه‌ها با آب استریل شستشو شدند و سپس در دمای طبیعی محیط و در سایه خشک شدند و درنهایت با آسیاب برقی پودر گردیدند. عصاره‌گیری به روش پرکولاسیون انجام گرفت. بدین منظور ۱۰۰ گرم از پودر به مدت ۷۲ ساعت در ۵۰۰ سی‌سی اتانول ۷۰ درصد (Merck, Germany) در دستگاه پرکولاتور ریخته شد و سپس محلول از تفاله جداسازی گردید. محلول جداشده در دستگاه روتاری قرار گرفت و حلال آن جداسازی گردید. عصاره به‌دست‌آمده در دسیکاتوری که به پمپ خلأ وصل بود ریخته شد تا کاملاً خشک گردد. عصاره حاصل تا زمان استفاده در یخچال نگهداری شد.

داروی استرپتوزوتوسین

داروی استرپتوزوتوسین (Sigma, USA) به‌صورت ویال‌های یک گرمی خریداری گردید و بافر سیترات سدیم استریل (Merck, Germany) با PH= ۴/۶ به‌عنوان حلال استرپتوزوتوسین در نظر گرفته شد.

پروتکل آزمایش

موش‌های صحرایی به‌صورت تصادفی به شش‌گروه شش‌تایی شامل گروه‌های کنترل، شاهد مثبت، شاهد منفی و سه گروه تجربی تقسیم‌بندی شدند. این پژوهش در مدت دو دوره ۳ و ۲۸ روزه انجام شد. در دوره اول، گروه شاهد مثبت و گروه‌های تجربی ۱، ۲ و ۳ ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن استرپتوزوسین به مدت ۳ روز به‌صورت درون صفاقی دریافت نمودند. حجم محلول تزریق‌شده ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن بود. به‌این‌ترتیب که ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از پودر استرپتوزوتوسین وزن شده و در یک میلی‌لیتر بافر سیترات سدیم استریل با pH= ۴/۶ حل شد سپس این حجم برای یک کیلوگرم از حیوانات مورداستفاده قرار گرفت. ۳ روز بعد از تزریق، سطح گلوکز خون با خون‌گیری از ناحیه‌ی سیاهرگ دمی و با دستگاه گلوکومتر (Accu-Chek, Germany) اندازه‌گیری شد و درصورتی‌که قند خون ناشتای آن‌ها بیشتر از ۲۵۰ میلی‌گرم بر دسی لیتر بود به‌عنوان دیابتی شده محسوب شدند. در دوره دوم، موش‌های صحرایی گروه‌های کنترل و شاهد مثبت هیچ‌گونه تیماری دریافت نکردند. حیوانات گروه شاهد منفی ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن عصاره هیدروالکلی میوه گیاه بامیه به‌صورت گاواژ به مدت ۲۸ روز دریافت نمودند و گروه‌های تجربی ۱، ۲ و ۳ که در دوره اول ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن استرپتوزوسین به مدت ۳ روز به‌صورت درون صفاقی دریافت نموده بودند به ترتیب ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن عصاره هیدروالکلی میوه گیاه بامیه به‌صورت گاواژ به مدت ۲۸ روز دریافت کردند.

سنجش هورمونی

به دنبال ۱۲ ساعت ناشتایی، موش‌های صحرایی با دی اتیل اتر (Merck, Germany) بی‌هوش شدند و سپس خون‌گیری از قلب به‌صورت مستقیم و با استفاده از سرنگ ۵ سی‌سی انجام شد. نمونه‌ای خونی بدون ماده ضد انعقاد درون لوله‌آزمایش ریخته شد 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 (MSE, England) به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۲۵۰۰ دور در دقیقه قرار داده شدند تا سرم جدا گردد. سرم‌های جداشده در میکروتیوپ تا زمان تعیین سطح هورمون‌های لوتئینه کننده (LH)، محرک رشد فولیکول (FSH) و تستوسترون، در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد فریز شدند. هورمون‌های FSH، LH و تستوسترون با استفاده از کیت‌های الایزا (Pishtaz Teb, Iran) با توجه به دستورالعمل شرکت سازنده اندازه‌گیری شدند.

سنجش کمی بیان ژن آرژیناز ۲ با استفاده از Real-time PCR

پس از خون‌گیری، بیضه‌ی تمام موش‌های صحرایی با برش در ناحیه پایین شکمی خارج گردید و دو بار با فسفات بافر سالین شستشو شدند. استخراج RNA از نمونه‌های بافتی با استفاده از یک سی‌سی ترایزول (Invitrogen Inc, USA0029) انجام شد و

ساخت DNA مکمل (cDNA) با استفاده از کیت‌های مربوطه (H minus First strand cDNA synthesis kit, Thermoscientific, USA) بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد. سپس جهت بررسی کیفیت cDNA واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با پرایمر اختصاصی برای ژن GAPDH به‌عنوان یک ژن House keeping انجام شد. پس از اطمینان از کیفیت مناسب cDNA و عدم وجود آلودگی به DNA ژنومی، این cDNA به‌عنوان الگو جهت PCR مورداستفاده قرار گرفت تا تغییرات بیان ژن آرژیناز ۲ در بافت‌های حاصل از گروه‌های مختلف به‌صورت کمی ارزیابی گردد.

واکنش RT-PCR با استفاده از پرایمر اختصاصی ژن آرژیناز ۲ (*F*-5'-AATAATCTGGTCGTGTATCC-3' و *R*-5'-CTTGTCTTGTAGTTCTCTGAT-3') و مخلوط واکنش Power SYBR green PCR master mix (Applied Biosystems, UK) با استفاده از دستگاه Real-time PCR system step one plus (Applied Biosystems,UK) طی برنامه‌ای شامل دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه، ۴۰ چرخه شامل دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه و ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه انجام شد. میانگین CTها با استفاده از $2^{-\Delta CT}$ محاسبه شد.

آنالیز آماری

برای تجزیه‌وتحلیل داده‌های هورمونی از نرم‌افزار SPSS ورژن ۱۹ (SPSS Inc. Chicago, IL) استفاده شد. ابتدا توزیع نرمال داده‌ها با کمک آزمون Kolmogorov-Smirnov مورد تائید قرار گرفت و سپس با استفاده از آزمون آنوا و تست تعقیبی توکی داده‌ها ازلحاظ معناداری در سطح P<۰/۰۵ بررسی شدند. همچنین برای تجزیه‌وتحلیل آماری میزان بیان ژن آرژیناز ۲ از نرم‌افزار REST ورژن ۹ استفاده شد و P<۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد. نتایج به‌صورت میانگین ± انحراف معیار از میانگین در جدول و نمودار (GraphPad Prism 6, Inc. San Diego, CA, USA) بیان گردیدند.

نتایج

یافته‌های هورمونی

نتایج این مطالعه نشان داد که (جدول ۱) در گروه شاهد مثبت، سطح هورمون‌های FSH و LH نسبت به گروه کنترل افزایش معنادار (P<۰/۰۵) نشان داد درحالی‌که سطح هورمون تستوسترون نسبت به گروه کنترل کاهش معنادار داشت (P<۰/۰۵). در گروه شاهد منفی، اختلاف معناداری در سطح هورمون‌های FSH، LH و تستوسترون نسبت به گروه کنترل یافت نشد (P>۰/۰۵). سطح هورمون‌های FSH و LH در گروه‌های تجربی ۱ و ۲، نسبت به گروه کنترل افزایش معنادار داشتند (P<۰/۰۵) اما نسبت به گروه شاهد مثبت، کاهش معنادار نشان دادند (P<۰/۰۵). همچنین، سطح هورمون تستوسترون در گروه‌های تجربی ۱ و ۲ نسبت به گروه کنترل کاهش معنادار نشان دادند (P<۰/۰۵) اما فقط در گروه تجربی ۲ سطح هورمون تستوسترون نسبت به گروه شاهد مثبت، افزایش معنادار داشت (P<۰/۰۵). در گروه تجربی ۳ سطح هورمون‌های FSH و LH

جدول ۱- مقایسه میانگین و انحراف معیار از میانگین سطح هورمون‌های FSH، LH و تستوسترون در گروه‌های کنترل، شاهد مثبت، شاهد منفی، تجربی ۱، ۲ و ۳. * در مقایسه با گروه کنترل. † در مقایسه با گروه شاهد مثبت.

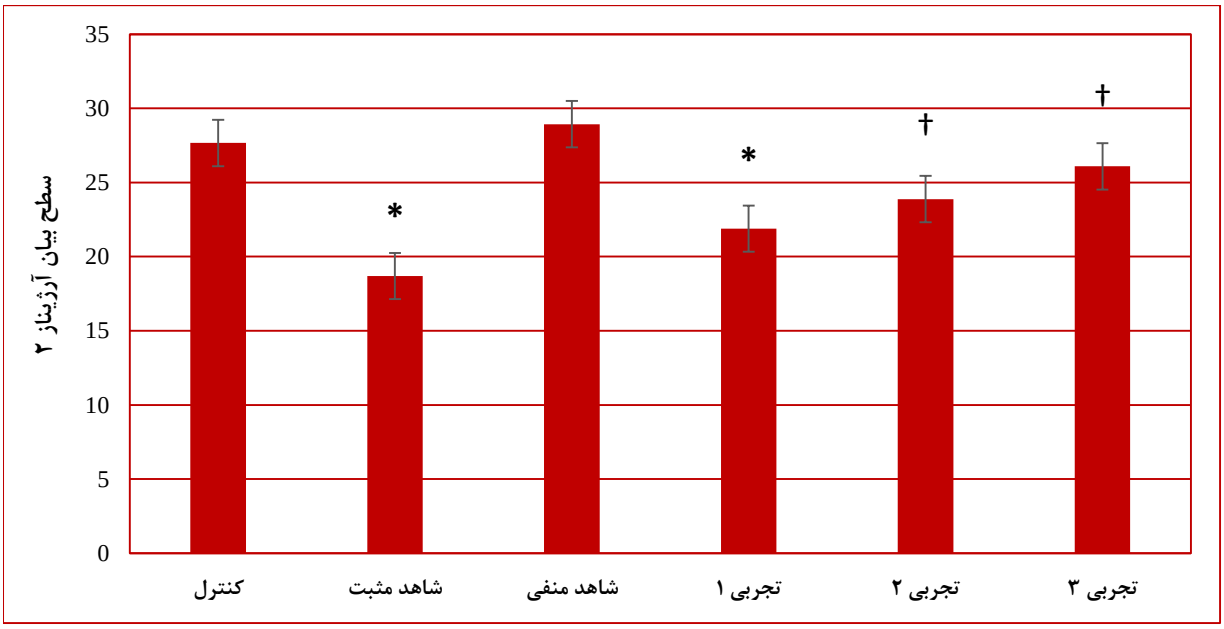
گروه‌ها	پارامتر		
	FSH	LH	تستوسترون
کنترل	۳/۴۶±۰/۲۲	۸/۶±۰/۱۹	۵/۷۲±۰/۱۳
شاهد مثبت	۵/۹۴±۰/۱۴*	۱۳/۴۸±۰/۲۹*	۳/۱۴±۰/۱۳*
شاهد منفی	۳/۳۴±۰/۱۹	۸/۴۶±۰/۱۹	۵/۸۸±۰/۱۳
تجربی ۱	۴/۹۴±۰/۱۵*†	۱۲/۰۸±۰/۱۲*†	۳/۲۶±۰/۱۳*
تجربی ۲	۴/۳۲±۰/۰۹*†	۱۰/۷۶±۰/۳*†	۴/۲±۰/۱۲*†
تجربی ۳	۴±۰/۱†	۹/۳۲±۰/۳۲†	۵/۰۴±۰/۱۶*†

نسبت به گروه شاهد مثبت، کاهش معنادار داشت (P<۰/۰۵) و نسبت به گروه کنترل اختلاف معناداری نداشتند (P>۰/۰۵). همچنین، سطح هورمون تستوسترون در گروه تجربی ۳ نسبت به گروه شاهد مثبت، افزایش معنادار (P<۰/۰۵) داشت اما نسبت به گروه کنترل کاهش معنادار داشت (P<۰/۰۵).

یافته‌های بیان ژن

نتایج بیان ژن آرژیناز ۲ (نمودار ۱) نشان داد که در گروه شاهد مثبت و تجربی ۱، سطح بیان ژن آرژیناز ۲ نسبت به گروه کنترل کاهش معنادار داشت (P<۰/۰۵). در گروه شاهد منفی، اختلاف معناداری در سطح بیان ژن آرژیناز ۲ نسبت به گروه کنترل یافت نشد (P>۰/۰۵). سطح بیان ژن آرژیناز ۲ در گروه‌های تجربی ۲ و ۳، نسبت به گروه شاهد مثبت افزایش معنادار داشت (P<۰/۰۵) درحالی‌که اختلاف معناداری با گروه کنترل نداشتند (P>۰/۰۵).

ساختار استرپتوزوتوسین یک ماده سمی است که موجب القای آپاپتوز در سلول‌های بتا می‌شود. استرپتوزوتوسین می‌تواند با اختلال در عملکرد طبیعی سلول‌های بتای پانکراس سطح گلوکز و انسولین خون را تغییر دهد. استرپتوزوتوسین بااتصال به گیرنده‌های GLUT2 سلول‌های بتای پانکراس با دو مکانیسم باعث ایجاد اختلال و استرس اکسیداتیو در سلول‌های بتا می‌شود: ۱- آلکیلاسیون DNA و تولید رادیکال‌های آزاد. ۲- کاهش نیکوتین آمید آدنین دی نوکلئوتید (NAD) و درنتیجه کاهش سنتز پروتئین (۱۸، ۱۹). به نظر می‌رسد استرس اکسیداتیو نقش مهمی در پاتوژنز دیابت و به دنبال آن اختلال در سیستم تولیدمثلی نر داشته باشد (۲۰، ۲۱). مطالعات نشان می‌دهند که در موش‌های دیابتی وزن و حجم بیضه کاهش می‌یابد و همچنین کیفیت کروماتین نیز دچار اختلال می‌شود به‌گونه‌ای که سنتز پروتئین‌های هسته مانند پروتامین کاهش می‌یابد (۲۲، ۲۳).



نمودار ۱- مقایسه میانگین و انحراف معیار از میانگین بیان ژن آرژیناز ۲ در گروه‌های کنترل، شاهد مثبت، شاهد منفی، تجربی ۱، ۲ و ۳. * در مقایسه با گروه کنترل. † در مقایسه با گروه شاهد مثبت.

بحث

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که هورمون‌های محور هیپوفیز-بیضه در موش‌های صحرایی نر دیابتی شده با استرپتوزوتوسین دچار اختلال شده و تغییر در بیان ژن آرژیناز ۲ رخ می‌دهد. جهت القای دیابت نوع ۱ و ۲ در حیوانات مدل از استرپتوزوتوسین استفاده می‌شود. نیتروز اوره‌ی موجود در

نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که در موش‌های صحرایی نر دیابتی شده با استرپتوزوتوسین هورمون تستوسترون کاهش‌یافته است. مطالعات نشان می‌دهند که انسولین نقش مهمی در حفظ گیرنده‌های LH بر روی سلول‌های لیدیگ دارد. پس از القای دیابت تعداد گیرنده‌های LH در سلول‌های لیدیگ شدیداً کاهش می‌یابد که درنتیجه موجب کاهش سنتز هورمون تستوسترون می‌شود بنابراین با کاهش سنتز تستوسترون، آپاپتوز

در سلول‌هایی که دارای گیرنده تستوسترون هستند مانند سلول‌های لیدیگ رخ می‌دهد (۲۰). عرفانی مجد و همکاران نشان دادند که به دنبال تجویز رژیم پرچرب و استرپتوزوتوسین در موش‌های صحرایی نر، میزان قند خون، انسولین و هورمون تستوسترون کاهش معنادار می‌یابد. همچنین تعداد سلول‌های لیدیگ نیز کاهش معنادار نشان می‌دهد (۲۴). افزایش هورمون‌های FSH و LH در این مطالعه به دنبال القای دیابت احتمالاً به دلیل فیدبک منفی ناشی از کاهش هورمون تستوسترون است که در مدت ۲۸ روز توانسته باعث افزایش این دو هورمون شود که با نتایج مطالعات قبلی هماهنگ است (۲۳).

عملکرد آنزیم آرژیناز ۲ در بافت‌های مختلف بسیار متفاوت است. به‌عنوان‌مثال، آرژیناز ۲ نقش مهمی در تنظیم سنتز نیتریک اکسید، پرولین، گلوتامات و پلی آمین‌ها دارد. پلی آمین‌ها در تکثیر و تمایز سلول‌ها نقش دارند و در اسپرم، اپیدیدیم و نواحی دیگر سیستم تناسلی یافت می‌شوند. همچنین پلی آمین‌ها می‌توانند بر فعالیت و عملکرد آندروژن‌ها تأثیر بگذارند. آنزیم آرژیناز ۲ در سنتز نیتریک اکسید دخیل است و مطالعات نشان می‌دهند که مسیرآرژیناز- نیتریک اکسید نقش مهمی در اسپرماتوژنز و عملکرد اسپرم دارد (۱۴). هرچند برخی از مطالعات نشان می‌دهند که دیابت مزمن جهت افزایش فعالیت آرژیناز ضروری است (۱۵) بااین‌حال، نتایج حاصل از مطالعه‌ی حاضر نشان می‌دهد که به دنبال تجویز استرپتوزوتوسین و ایجاد موش‌های صحرایی دیابتی، سطح بیان آرژیناز ۲ در مقایسه با گروه کنترل کاهش می‌یابد. رادیکال‌های آزاد مانند گونه‌های فعال اکسیژن و نیتروژن نقش مهمی در ایجاد استرس اکسیداتیو در فرآیند اسپرماتوژنز بازی می‌کنند. گونه‌های فعال نیتروژن در فرآیند تبدیل آنزیمی‌ال-آرژنین به سیترولین توسط نیتریک اکسید سنتاز تولید می‌شوند. تولید بیش‌ازاندازه گونه‌های فعال نیتروژن می‌تواند باعث پر اکسیداسیون لیپیدها و پروتئین‌ها در غشای پلاسمایی اسپرم، آسیب به DNA و آپاپتوز شود. آرژیناز غلظت نیتریک اکسید را تنظیم می‌کند که درنتیجه با ایجاد یک فیدبک منفی افزایش فعالیت آرژیناز کنترل می‌شود (۱۴). طبق نتایج این مطالعه به نظر می‌رسد القای دیابت باعث افزایش تولید نیتریک اکسید و تولید گونه‌های فعال نیتروژن و درنتیجه کاهش بیان آرژیناز ۲ در بیضه‌ها گردیده است که به‌نوبه‌ی خود باعث اختلال در فرآیند اسپرماتوژنز و هورمون‌های محور هیپوفیز-بیضه شده است.

مطالعات بسیاری نشان داده‌اند که گیاه بامیه دارای ویژگی‌های ضد دیابتی، ضد هیپرلیپیدمی و آنتی‌اکسیدانی است (۱۱، ۲۵). فیبرها و پلی فنول‌های فروانی که در بامیه یافت می‌شوند ممکن است در اثرات هیپوگلیسمی و هیپولیپیدمی‌نقش داشته باشند (۲۶). نشان داده‌شده است که ترکیبات فلاوونوئیدی موجود در بامیه نظیر کوئرستین و ایزوکوئرستین، می‌توانند موجب بهبود سطح قند خون و انسولین سرم در موش‌های مبتلابه دیابت شوند. در موش‌های صحرایی دیابتی، مالون دی آلدهید به‌عنوان یک شاخص مهم استرس اکسیداتیو که از پر اکسیداسیون لیپیدها حاصل می‌شود افزایش می‌یابد. ثابت‌شده است که بامیه می‌تواند به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی میزان مالون دی آلدهید را کاهش داده و میزان گلوتاتیون درون‌سلولی را افزایش دهد (۱۱، ۲۶). همچنین کوئرستین موجود در بامیه می‌تواند مسیر پروتئین کیناز فعال‌شده باواسطه‌ی AMP (AMPK) را فعال کند. فعال شدن این مسیر با افزایش بیان mRNAی GLUT4 همراه است که درنتیجه موجب افزایش حساسیت به انسولین در سلول‌های کبدی و عضلات، مهار تولید کلوگز کبدی و تحریک جذب گلوکز در عضلات اسکلتی می‌شود (۱۳). سیستم ردوکس غشای پلاسمایی بستری را فراهم می‌کند که در آن تعادل NAD/NADH را برقرار می‌کند تا استرس اکسیداتیو خارج سلولی را خنثی کند. در شرایط القای دیابت، فعالیت این سیستم افزایش می‌یابد که موجب افزایش استرس اکسیداتیو می‌شود. مطالعات انجام‌شده نشان می‌دهد که تجویز بامیه در موش‌های صحرایی دیابتی باعث کاهش میزان فعالیت سیستم ردوکس غشای پلاسمایی و درنتیجه افزایش پتانسیل آنتی‌اکسیدانی غشای پلاسمایی می‌شود (۲۷).

نتایج این مطالعه نشان داد که به دنبال تجویز عصاره هیدروالکلی گیاه بامیه در موش‌های دیابتی، سطح هورمون‌های FSH، LH و تستوسترون و همچنین سطح بیان ژن آرژیناز ۲ در مقایسه با موش‌های دیابتی بهبود می‌یابد به‌گونه‌ای که در دوز حداکثر (۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) شاهد بیشترین میزان بهبود بودیم. هرچند برخی از مطالعات نشان می‌دهند که تجویز عصاره متانولی بامیه در موش‌های صحرایی سالم می‌تواند باعث آسیب به بیضه شود و در باروری اختلال ایجاد کند (۲۸، ۲۹) بااین‌حال مطالعات دیگر نشان می‌دهند که تجویز بامیه می‌تواند موجب افزایش هورمون تستوسترون و بهبود پارامترهای اسپرماتوژنز در موش‌های صحرایی دیابتی شود که با نتایج این

مطالعه منطبق است (۲۴). استرس اکسیداتیو نقش مهمی در ناباروری مردان بازی می‌کند و دیابت یک عامل مهم در ایجاد استرس اکسیداتیو است. رادیکال‌های آزاد مانند گونه‌های فعال اکسیژن و نیتروژن می‌توانند باعث آسیب به غشای سلول‌های اسپرماتوژنیک شوند و درنتیجه موجب ناباروری گردند. گلوتاتیون احیا به‌عنوان یک سیستم آنتی‌اکسیدانی اندوژن قادر است تا رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن و نیتروژن را خنثی کند (۳۰، ۳۱). مطالعات نشان می‌دهند که بامیه می‌تواند با افزایش ظرفیت گلوتاتیون احیا سلولی با عوامل ایجادکننده گونه‌های فعال اکسیژن و نیتروژن و رادیکال‌های آزاد مقابله کند. به نظر می‌رسد در کنار ویژگی‌های ضد دیابتی بامیه، ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی این گیاه نیز می‌تواند با عوامل ایجادکننده استرس اکسداتیو مانند دیابت مقابله کند و مطابق با نتایج این مطالعه موجب بهبود شاخص‌های اسپرماتوژنز شود (۲۶، ۳۲). مطالعات نشان می‌دهند که گیاه بامیه سرشار از پلی‌ساکاریدهاست. پلی‌ساکاریدها دارای فعالیت‌های بیولوژیکی مهمی ازجمله فعالیت آنتی‌اکسیدانی، تعدیل‌کننده‌ی سیستم ایمنی و بهبوددهنده‌ی اختلالات متابولیک هستند. نشان داده‌شده است که تجویز پلی‌ساکاریدهای گیاه بامیه به موش‌های دیابتی باعث افزایش آنزیم سوپراکساید دیسموتاز و کاهش نیتریک اکسید در بافت بیضه شده است که به‌نوبه‌ی خود باعث بهبود اسپرماتوژنز و افزایش کیفیت اسپرم گردیده است (۳۳). ویژگی ضد آپاپتوزی گیاه بامیه در چندین مطالعه بررسی‌شده است (۳۴، ۳۵). نشان داده‌شده است که در موش‌های صحرایی ماده دیابتی شده با استرپتوزوتوسین، سطح بیان mRNAی Bax و caspase3 که مرتبط با آپاپتوز هستند افزایش می‌یابد که با افزایش آترزی فولیکولی همراه است، بنابراین افزایش بیان فاکتورهای مرتبط با آپاپتوز با اختلال در شکل و عملکرد سلول، به‌ویژه سلول‌های اسپرماتوژنیک همراه خواهد بود (۳۶). ثابت‌شده است که پودر گیاه بامیه می‌تواند به‌عنوان تنظیم‌کننده‌ی سطح mRNAی Bcl2 که یک پروتئین ضد آپاپتوزی است، عمل کند و موجب افزایش نسبت Bcl2/Bax و کاهش بیان caspase3 در تخمدان موش‌های صحرایی ماده و درنتیجه بهبود عملکرد تخمدان شود (۳۴).

عرفانی مجد و همکاران نشان داده‌اند که در موش‌های صحرایی دیابتی شده با رژیم غذایی پرچرب و استرپتوزوتوسین، موجب کاهش تعداد سلول‌های لیدیگ و به دنبال آن کاهش سطح هورمون تستوسترون می‌شود درحالی‌که تجویز پودر بامیه موجب افزایش تعداد سلول‌های لیدیگ و سطح هورمون تستوسترون در مقایسه با گروه دیابتی بدون تیمار شده است (۲۴) که با نتایج این مطالعه منطبق است. به نظر می‌رسد تستوسترون قادر است تا بیان ژن آرژیناز ۲ را القا و تنظیم کند بنابراین بر اساس نتایج این مطالعه، با کاهش تستوسترون بیان ژن آرژیناز ۲ نیز کاهش‌یافته است که با نتایج مطالعات قبلی هماهنگ است (۳۷). تجویز عصاره هیدروالکلی میوه گیاه بامیه در این مطالعه با ایجاد ظرفیت‌های آنتی‌اکسیدانی و ضد دیابتی، موجب بهبود هورمون‌های FSH، LH و تستوسترون شده است. در مطالعه‌ی حاضر افزایش و بهبود هورمون تستوسترون با افزایش بیان ژن آرژیناز ۲ همراه است که می‌تواند این فرضیه را که بیان ژن آرژیناز ۲ به‌واسطه‌ی تستوسترون القا می‌شود را تقویت کند بنابراین، کاهش یا افزایش آرژیناز ۲ می‌تواند به‌صورت غیرمستقیم به‌عنوان شاخص عملکرد سیستم تناسلی نر در افراد دیابتی باشد. از محدودیت‌های این مطالعه می‌توان به کوتاه بودن دوره آزمایش در موش‌های صحرایی دیابتی شده، عدم استفاده از دوزهای بالاتر عصاره هیدروالکلی گیاه بامیه، عدم آنالیز پارامترهای اسپرمی و عدم اندازه‌گیری فاکتورهای خونی مرتبط با ظرفیت آنتی‌اکسیدانی اشاره کرد. لذا پیشنهاد می‌گردد در مطالعات بعدی جهت حصول نتایج بهتر، موارد فوق مدنظر قرار گیرد.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که عصاره هیدروالکلی میوه گیاه بامیه در دوز ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن دارای اثرات حفاظتی بر سطح هورمون‌های محور هیپوفیز-بیضه و بیان ژن آرژیناز ۲ در موش‌های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوتوسین است. بر اساس نتایج این مطالعه، کاهش هورمون تستوسترون وابسته به دیابت با کاهش سطح بیان ژن آرژیناز ۲ مرتبط است به‌گونه‌ای که با افزایش دوز عصاره هیدروالکلی میوه گیاه بامیه، سطح بیان ژن آرژیناز ۲ نیز بهبودیافته است؛ بنابراین، می‌توان این فرضیه را مطرح و تقویت نمود که بیان ژن آرژیناز ۲ به‌واسطه‌ی تستوسترون القا می‌شود. به نظر می‌رسد عصاره هیدروالکلی میوه گیاه بامیه می‌تواند با فعالیت ضد دیابتی و آنتی‌اکسیدانی خود اثرات منفی دیابت بر سیستم تولیدمثلی را تعدیل کند و احتمالاً می‌توان از آن به‌عنوان

یک مکمل غذایی در تعدیل اثرات جانبی دیابت بر سیستم تولیدمثلی استفاده کرد هرچند تحقیقات بیشتری در این زمینه لازم است.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از مسئولان دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز و مرکز تحقیقات فناوری ترانسژنیک دانشگاه علوم پزشکی شیراز که ما را در انجام این مطالعه حمایت نمودند تشکر و قدردانی می‌گردد. پروتکل این تحقیق بر اساس اصول اخلاق کار با حیوانات آزمایشگاهی در کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز با شماره ۱۶۳۳۰۵۲۵۹۷۱۰۰۱ تنظیم و تصویب گردید.

تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان بیان‌نشده است.

References

1. Cho NH, Shaw JE, Karuranga S, Huang Y, da Rocha Fernandes JD, Ohlrogge AW, et al. IDF Diabetes Atlas: Global estimates of diabetes prevalence for 2017 and projections for 2045. Diabetes Res Clin Pract. 2018;138:271-281.
2. Khaneshi F, Nasrolahi O, Azizi S, Nejati V. Sesame effects on testicular damage in streptozotocin-induced diabetes rats. Avicenna J Phytomed. 2013;3(4):347-55.
3. Long L, Qiu H, Cai B, Chen N, Lu X, Zheng S, et al. Hyperglycemia induced testicular damage in type 2 diabetes mellitus rats exhibiting microcirculation impairments associated with vascular endothelial growth factor decreased via PI3K/Akt pathway. Oncotarget. 2018;9(4):5321-5336.
4. Morelli A, Comeglio P, Sarchielli E, Cellai I, Vignozzi L, Vannelli GB, et al. Negative effects of high glucose exposure in human gonadotropin-releasing hormone neurons. Int J Endocrinol. 2013;2013:684659.
5. Raza H, John A. Streptozotocin-induced cytotoxicity, oxidative stress and mitochondrial dysfunction in human hepatoma HepG2 cells. Int J Mol Sci. 2012;13(5):5751-5767.
6. Wadkar KA, Magdum CS, Patil SS, Naikwade NS. Antidiabetic potential and Indian medicinal plants. Int j herb med. 2008;2(1):45-50.
7.Kooti W, Farokhipour M, Asadzadeh Z, Ashtary-Larky D, Asadi-Samani M. The role of medicinal plants in the treatment of diabetes: a systematic review. Electron Physician. 2016;8(1):1832-42.
8.Ríos JL, Francini F, Schinella GR. Natural products for the treatment of type 2 diabetes mellitus. Planta Med. 2015;81(12-13):975-94.
9. Deng R. A review of the hypoglycemic effects of five commonly used herbal food supplements. Recent Pat Food Nutr Agric. 2012;4(1):50-60.
10. Yaghmaei P, Parivar K, Karkhane L. The effect of Kombucha extract on obesity and the rate of fat accumulation in visceral mass of male Wistar Rat. Medical Scince Journal of Islamic Azad University. 2009;4(4):61-68. [in Persian]
11. Durazzo A, Lucarini M, Novellino E, Souto EB, Daliu P, Santini A. Abelmoschus esculentus (L.): Bioactive Components' Beneficial Properties-Focused on Antidiabetic Role-For Sustainable Health Applications. Molecules. 2018;24(1):E38.
12. Rifaai RA, El-Tahawy NF, Saber EA, Ahmed R. Effect of quercetin on the endocrine pancreas of the experimentally induced diabetes in male albino rats: a histological and immunohistochemical study. J Diabetes Metab. 2012;3:182.
13. Masoudi S, Oryan S, Hoseini F, Fallahi R. The Efficacity of Abelmoschus esculentus fruit on insulin control in diabetic male wistar rats. sjimu. 2016;24 (1):133-143.
14. Gür S, Kandemir FM. Relationships between seminal plasma arginase activity and spermatological parameters in rams. Andrologia. 2012;44(2):86-91.
15. Shatanawi A, Momani MS. Plasma arginase activity is elevated in type 2 diabetic patients. Biomedical Research. 2017;28(9):4102-4106.
16. Hosseini SE, Tavakoli F, Karami M. Medicinal plants in the treatment of diabetes mellitus. Clinical Excellence. 2014; 2(2):64-89. [in Persian]

17. Roy A, Shivastava SL, Mandal SM. Functional properties of orka Abelmoschus esculentus L. (Moench) traditional claims and scientific evidences. PST. 2014; 1(3): 121-30.
18. Eleazu CO, Eleazu KC, Chukwuma S, Essien UN. Review of the mechanism of cell death resulting from streptozotocin challenge in experimental animals, its practical use and potential risk to humans. J Diabetes Metab Disord. 2013;12(1):60.
19. Kahraman S, Aydin C, Elpek GO, Dirice E, Sanlioglu AD. Diabetes-resistant NOR mice are more severely affected by streptozotocin compared to the diabetes-prone NOD mice: correlations with liver and kidney GLUT2 expressions. J Diabetes Res. 2015;2015:450128.
20. Kianifard D, Sadrkhanlou RA, Hasanzadeh S. The ultrastructural changes of the sertoli and leydig cells following streptozotocin induced diabetes. Iran J Basic Med Sci. 2012;15(1):623-35.
21. Giacco F, Brownlee M. Oxidative stress and diabetic complications. Circ Res. 2010;107(9):1058-1070.
22. Khaneshi F, Nasrolahi O, Azizi S, Nejati V. Sesame effects on testicular damage in streptozotocin-induced diabetes rats. Avicenna J Phytomed. 2013;3(4):347-55.
23. Hassanzadeh Moghadam M, Shariati M, Naeimi S, Edalatmanesh MA. Influence of N-acetylcysteine on pituitary-gonadal axis hormones and protamine expression level in streptozotocin-induced diabetic male rats. Asian Pac J Reprod. 2020; 9(2): 89-95.
24. Erfani-Majd N, Rashidi K, Shahriari A, Mohammadi G. Protective effects of okra powder (Abelmoschus esculentus) on histomorphometricl changes of testis and sperm parameters in high-fat diet/streptozotocin (hfd/stz) diabetic rat. J Isfahan Med Sch. 2017;35(438):834-41. [In Persian]
25. Fan S, Zhang Y, Sun Q, Yu L, Li M, Zheng B, et al. Extract of Okra lowers blood glucose and serum lipids in high-fat diet-induced obese C57BL/6 mice. J Nutr Biochem. 2014;25(7):702-709.
26. Erfani Majd N, Tabandeh MR, Shahriari A, Soleimani Z. Okra (Abelmoscus esculentus) improved islets structure, and down-regulated PPARs gene expression in pancreas of high-fat diet and streptozotocin-induced diabetic rats. Cell J. 2018;20(1):31-40.
27. Mishra N, Kumar D, Rizvi SI. Protective effect of abelmoschus esculentus against alloxan-induced diabetes in wistar strain rats. J Diet Suppl. 2016;13(6):634-46.
28. Uchenna NK, Nweze KG, Charles II. Effects of the methanolic extract of Abeloschus esculentus (L) moench (okro) fruit on the testes and sperm characteristics of male albino wistar rats. Int J Adv Biol Biom Res. 2014; 2(10): 2686-2690.
29. Olatunji-Bello II, Ijiwole T, Awobajo FO. Evaluation of the deleterious effects of aqueous fruit extract of Abelmoschus esculentus (Okro Fruit) on some male reproductive parameters in Sprague dawley rats. J Phytol. 2009; 1(6):461-468.
30. Rosita A. Condorelli, Sandro La Vignera, Laura M. Mongioì, Angela Alamo, and Aldo E. Calogero. Diabetes Mellitus and Infertility: Different Pathophysiological Effects in Type 1 and Type 2 on Sperm Function. Front Endocrinol (Lausanne). 2018;9:268.
31. Adeoye O, Olawumi J, Opeyemi A, Christiania O. Review on the role of glutathione on oxidative stress and infertility. JBRA Assist Reprod. 2018;22(1):61-66.
32. Khaki A, Fathiazad F, Nouri M, Khaki A, Maleki NA, Khamnei HJ, et al Beneficial effects of quercetin on sperm parameters in streptozotocin-induced diabetic male rats. Phytother Res. 2010;24(9):1285-91.
33. Jing Chen. Effect of Okra Polysaccharide on the Spermatogenesis of KKAy Mice. Int J Biol Macromol. 2019;140:98-101.
34. Erfani Majd N, Azizian H, Tabandeh MR, Shahriarib A. Effect of Abelmoschus esculentus powder on ovarian histology, expression of apoptotic genes and oxidative stress in diabetic rats fed with high fat diet. Iran J Pharm Res. 2019; 18(1): 369-382.
35. Monte LG, Santi-Gadelha T, Reis LB, Braganhol E, Prietsch RF, Dellagostin OA, et al. Lectin of Abelmoschus esculentus (okra) promotes selective antitumor effects in human breast cancer cells. Biotechnol Lett. 2014;36:461-469.
36. Xu W, Guo G, Li J, Ding Z, Sheng J, Li J, Tan W. Activation of Bcl-2-Caspase-9 Apoptosis Pathway in the Testis of Asthmatic Mice. PLoS One. 2016;11(3):e0149353.
37. Levillain O, Diaz JJ, Blanchard O, Déchaud H. Testosterone down-regulates ornithine aminotransferase gene and up-regulates arginase II and ornithine decarboxylase genes for Polyamines Synthesis in the Murine Kidney. Endocrinology. 2005;146(2):950–959.

Original Article

Effect of *Abelmoschus esculentus* Fruit Hydroalcoholic Extract on Pituitary-Testes Axis Hormones and Arginase II Gene Expression in Streptozotocin-Induced Diabetic Adult Rats

Hosseinpur M[1], Shariati M[2*], Hosseini SE[1]

1. Department of Biology, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran
2. Department of Biology, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran

Received: 14 Sep 2020 Accepted: 20 Nov 2020

Abstract

Background & Objective: Diabetes is the most common metabolic disorder that disrupts the reproductive system. This study aimed to investigate the effect of *Abelmoschus esculentus* fruit hydroalcoholic extract on pituitary-testicular hormones and the expression of *Arginase* II gene in streptozotocin-induced diabetic adult rats.

Material & Methods: In this experimental study, 36 adult Wistar rats were randomly divided into six groups including the control (untreated), positive control (60 mg/kg streptozotocin), negative control (400 mg/kg *Abelmoschus esculentus* hydroalcoholic extract), experimental 1, 2 and 3 (first 60 mg/kg streptozotocin and then 100, 200 and 400 mg/kg of *Abelmoschus esculentus* hydroalcoholic extract, respectively). 28 days later, luteinizing hormone (LH), follicle-stimulating hormone (FSH) and testosterone hormones were measured by ELISA and the Arginase II gene expression was measured by Real-Time PCR. The results were analyzed by one-way analysis of variance and Tukey's *post hoc* tests.

Results: Compared to the control group, the levels of FSH and LH hormones increased significantly and the testosterone level decreased significantly in the positive control group. However, there were no significant changes in hormone levels in the negative control group. In experimental groups, the improvement in FSH, LH and testosterone levels was observed as dose-dependent compared to the control group. The expression level of *Arginase* II gene in the positive control and experimental 1 groups significantly reduced compared to the control group, but no significant changes were observed in the other groups.

Conclusion: The *Abelmoschus esculentus* fruit hydroalcoholic extract in maximum dose has protective effects on the level of pituitary-testicular hormones and the expression of *Arginase* II gene in diabetic rats.

Keywords: Diabetes, *Abelmoschus esculentus*, Testis, Rat, Testosterone

***Corresponding Author: Shariati Mehrdad,** Department of Biology, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran
Email: mehrdadshariati@kau.ac.ir
https://orcid.org/0000-0001-7360-0208