

Original Article

بررسی اثر عصاره هیدروالکلی سیر بر وزن بیضه و اسپرماتوزنز در موش‌های صحرایی نر بالغ تحت شیمی درمانی داروی سیکلو فسفامید

مرضیه میر فردی^۱، حبیب‌اله جوهری^{۲*}، مختار مختاری^۱، وحید حمایت خواه^۳، هوشنگ جمالی^۳، قادر الهوردی^۴

- ۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کازرون، گروه فیزیولوژی، کازرون، فارس، ایران.
- ۲- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد داراب، گروه فیزیولوژی، داراب، فارس، ایران.
- ۳- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد جهرم، گروه فیزیولوژی، جهرم، فارس، ایران.
- ۴- گروه بیوشیمی، دانشگاه علوم پزشکی فسا، فارس، ایران.

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۰/۷/۲۳

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۰/۵/۳۱

چکیده

زمینه و هدف: سیکلو فسفامید با نام تجاری اندوکسانا، داروی ضد سرطان است که در شیمی درمانی استفاده می‌شود. اثرات جانبی این دارو شامل بی‌اشتهایی، تهوع، کاهش عملکرد غدد جنسی، ایجاد آمنوره، آرواسپرمی و الیگواسپرمی است. سیر دارای ترکیبات زیادی است که عمده این ترکیبات حاوی جزء سولفورنی هستند مانند دی‌آلکیل دی‌سولفید (آلیسین)، دی‌آلیل سولفید (DAS) که موجب خواص آنتی‌اکسیدانی و حفاظتی آن می‌شود.

مواد و روش‌ها: به ۵۶ موش صحرایی به مدت ۲۸ روز داروی سیکلو فسفامید به همراه عصاره سیر داده شد، پس از ۲۸ روز حیوانات وزن شده و پس از بیهوشی، بیضه‌ها را بیرون آورده و مقاطع بافتی تهیه گردید. برای آنالیز داده‌ها از تست آماری T-test استفاده شد.

نتایج: نتایج نشان داد که سیکلو فسفامید به تنهایی موجب کاهش وزن بدن، کاهش وزن بیضه‌ها و کاهش اسپرماتوزنز نسبت به گروه کنترل شده که در $P \leq 0.05$ معنی دار بوده و در گروه‌هایی که سیکلو فسفامید به همراه عصاره سیر داده شد با افزایش دوز عصاره سیر، وزن بدن، وزن بیضه‌ها و اسپرماتوزنز نسبت به گروه تجربی افزایش یافت.

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد ترکیبات موجود در عصاره سیر موجب مهار تولید متابولیت‌های فعال حاصل از داروی سیکلو فسفامید و اثرات مخرب این متابولیت‌ها می‌شود. احتمالاً تجویز عصاره سیر به همراه سیکلو فسفامید به دلیل اثرات آنتی‌اکسیدانی سیر و همچنین تأثیر آن بر حذف متابولیت‌های مخرب سیکلو فسفامید در بدن می‌تواند مفید و مؤثر باشد.

کلمات کلیدی: سیر، سیکلو فسفامید، اسپرماتوزنز، بیضه

مقدمه

داروی سیکلو فسفامید یک داروی ضد سرطان است که در شیمی درمانی استفاده می‌شود؛ این دارو موجب آلکیل‌اسیون مولکول DNA می‌گردد و به خوبی از دستگاه گوارش جذب و به طور گسترده‌ای در بافت‌ها و مایعات بدن توزیع می‌گردد و از سد خونی - مغزی نیز می‌گذرد. این دارو در کبد به متابولیت‌های فعال تبدیل شده و سرانجام از طریق کلیه‌ها دفع می‌گردد (۱).

داروی سیکلو فسفامید با ایجاد اتصال بین دو رشته مولکولی DNA و شکستن DNA و نیز RNA و همچنین مهار سنتز پروتئین اثر سلول کشی خود را اعمال می‌کند. این دارو آلکیل‌کننده بوده و مولکول‌های واکنشی تشکیل می‌دهد که گروه نوکلئوفیلیک روی بازوی DNA به ویژه موقعیت ۷- آن گوانیل را آلکیل‌می‌کند، این مسئله سبب ایجاد پیوندهای جانبی میان بازوها و جفت شدن غیر طبیعی بازوها و شکسته شدن مولکول DNA می‌شود (۲).

مصرف سیکلو فسفامید غالباً با بی‌اشتهایی، حالت تهوع و استفراغ همراه است. مهم‌ترین عوارض جانبی این دارو شامل کاهش سلول‌های خونی، افزایش غلظت اسید اوریک، کاهش عملکرد غدد جنسی، ایجاد آمنوره، آرواسپرمی، الیگواسپرمی می‌باشد (۱ و ۲). گیاهان دارویی سال‌های زیادی است که در سراسر جهان برای درمان و پیشگیری از بعضی بیماری‌ها استفاده می‌شوند. اما اثرات تعدادی از آن‌ها به طور علمی بررسی شده است. گیاهان دارویی، روش‌های درمانی مفیدی هم در سیستم‌های مدرن و هم سنتی هستند.

گونه‌های آلیوم مانند سیر و پیاز به عنوان ماده غذایی، ادویه، چاشنی و داروی محلی مصرف می‌شوند. سیر با نام علمی Allium sativum متعلق به خانواده‌ی Liliaceae توجه ویژه‌ای را در میان گیاهان جدید به خود جلب کرده است زیرا در سراسر جهان گسترده شده و در دسترس است (۳).

پاسخ‌های بیولوژیکی سیر شامل کاهش عوامل خطرزای قلبی - عروقی، سرطان، تحریک فعالیت‌های ایمنی، افزایش سمیت زدایی ترکیبات

داروی سیکلو فسفامید با ایجاد اتصال بین دو رشته مولکولی DNA و شکستن DNA و نیز RNA و همچنین مهار سنتز پروتئین اثر سلول کشی خود را اعمال می‌کند. این دارو آلکیل‌کننده بوده و مولکول‌های واکنشی تشکیل می‌دهد که گروه نوکلئوفیلیک روی بازوی DNA به ویژه موقعیت ۷- آن گوانیل را آلکیل‌می‌کند، این مسئله سبب ایجاد پیوندهای جانبی میان بازوها و جفت شدن غیر طبیعی بازوها و شکسته شدن مولکول DNA می‌شود (۲).

مصرف سیکلو فسفامید غالباً با بی‌اشتهایی، حالت تهوع و استفراغ همراه است. مهم‌ترین عوارض جانبی این دارو شامل کاهش سلول‌های خونی، افزایش غلظت اسید اوریک، کاهش عملکرد غدد جنسی، ایجاد آمنوره، آرواسپرمی، الیگواسپرمی می‌باشد (۱ و ۲). گیاهان دارویی سال‌های زیادی است که در سراسر جهان برای درمان و پیشگیری از بعضی بیماری‌ها استفاده می‌شوند. اما اثرات تعدادی از آن‌ها به طور علمی بررسی شده است. گیاهان دارویی، روش‌های درمانی مفیدی هم در سیستم‌های مدرن و هم سنتی هستند.

پاسخ‌های بیولوژیکی سیر شامل کاهش عوامل خطرزای قلبی - عروقی، سرطان، تحریک فعالیت‌های ایمنی، افزایش سمیت زدایی ترکیبات

* نویسنده مسئول: بلوار شهید بهشتی، کوچه ۱۶۷، پلاک ۲۳، کد پستی: ۷۴۶۱۷-۱۷۷۳۳
Email: johari@iaudarab.ac.ir
فسا، فارس، تلفن: ۰۷۳۱-۳۳۳۴۲۶۶

گروه ششم یا گروه تجربی چهارم نیز روزانه ۵ mg/kg/day داروی سیکلو فسفامید به صورت تزریق درون صفاقی دریافت کردند. گروه هفتم یا گروه تجربی پنجم، روزانه ۸۰۰ mg/kg/day عصاره هیدروالکلی سیر خوراندند. بعد از ۲۸ روز تیمار داری، برای تهیه نمونه‌های بافتی پس از بی هوش کردن حیوان، بیضه‌های چپ و راست را از کیسه اسکروتوم خارج کرده و پس از جدا کردن قسمت‌های اضافی، توسط ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم وزن شدند. سپس به طور جداگانه در ظرف‌هایی حاوی فیکساتور فرمالین قرار داده تا جهت تهیه بافت آماده شوند. پس از مراحل آماده سازی نمونه‌های بافتی، توسط میکروتوم مقطع‌گیری و قطر هر مقطع ۵ میکرون در نظر گرفته شد. سپس رنگ آمیزی به روش همتاکسیلین - آئوزین، اسلایدهای بافتی آماده شد. پارامترهای مورد نظر در مطالعه مقاطع بافتی، آرایش لوله‌های سمینفر، تعداد سلول‌های اسپرماتید و تراکم اسپرم در لومن بود. نتایج به دست آمده بر اساس برنامه آماری SPSS و تست‌های توکی و ANOVA مورد بررسی قرار گرفت و اختلاف $P \leq 0/05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

نتایج

با توجه به جدول ۱ مشاهده می‌شود، در گروه‌های تجربی ۱، ۲، ۳ و ۴ وزن بدن نسبت به گروه کنترل کاهش یافته که این کاهش در گروه‌های تجربی ۱ و ۴ در سطح $P \leq 0/05$ معنی دار است. در گروه‌های تجربی ۱، ۲ و ۳ با افزایش میزان دوز عصاره سیر وزن بدن نسبت به گروه تجربی ۴ افزایش یافته است. همچنین با توجه به جدول مشاهده می‌شود در گروه‌های تجربی ۱، ۲، ۳ و ۴ وزن بیضه‌ها نسبت به گروه کنترل کاهش یافته که در گروه‌های تجربی ۲ و ۴ در سطح $P \leq 0/05$ این کاهش معنی دار می‌باشد. در گروه‌های تجربی ۱، ۲ و ۳ با افزایش میزان دوز عصاره سیر وزن بیضه‌ها نسبت به گروه تجربی ۴ افزایش یافته، البته در گروه تجربی ۲ و ۳ این افزایش معنی دار می‌باشد. از طرف دیگر در گروه‌های تجربی ۱، ۲، ۳ و ۴ تعداد سلول‌های اسپرماتید نسبت به گروه کنترل کاهش یافته و این کاهش در گروه‌های ۱ و ۴ در سطح $P \leq 0/05$ معنی دار است و در گروه‌های تجربی ۱، ۲ و ۳ تعداد سلول‌های اسپرماتید نسبت به گروه تجربی ۴ افزایش یافته که البته در گروه‌های تجربی ۲ و ۳ این افزایش در سطح $P \leq 0/05$ معنی دار است. فتومیکروگراف ۱ تا ۶ بیانگر این موضوع است، در گروه‌های تجربی ۱، ۲، ۳ و ۴ کاهش اسپرماتیدها نسبت به گروه کنترل مشاهده می‌شود. در گروه تجربی ۴ نسبت به گروه کنترل، لومن تقریباً خالی از اسپرم است و در گروه‌های تجربی ۱، ۲ و ۳ با افزایش میزان دوز عصاره سیر به تعداد اسپرم‌ها در لوله لومن افزوده شده و در گروه تجربی ۵ میزان اسپرم‌ها تا حدودی نسبت به گروه کنترل بیشتر شده که البته معنی دار نمی‌باشد. اگر مدت زمان تیمار بیشتر از ۲۸ روز بود به احتمال زیاد میزان تغییرات بیشتری مشاهده می‌شد.

اثر ضد میکروبی و ضد ویروسی، فعالیت آنتی اکسیدانی، محافظت از سلول‌های زاینده در موش‌های صحرایی نر بالغ که بازتاب نقش آنتی اکسیدانی آن است، محافظت از اسپرم و سبب بلوغ نهایی و تکامل اسپرم گزارش شده که افزودن عصاره سیر به آب آشامیدنی موش‌های نر به مدت ۳ ماه وزن اپیدیدیم و سمینال وزیکول را نسبت به موش‌های طبیعی افزایش داده است و همچنین شمار اسپرم‌ها نیز به میزان قابل توجهی افزایش می‌یابد (۳، ۴، ۵، ۶). از آن جا که تا کنون اثر درمانی و پیشگیری کننده سیر در تولید مثل بعد از مصرف داروی سیکلو فسفامید بررسی نشده، بر آن شدیم تا اثر عصاره سیر را بر وزن بدن، وزن بیضه و میزان اسپرماتوزن بررسی نماییم. با توجه به این که داروهای شیمیایی به خصوص داروی شیمی درمانی سیکلو فسفامید موجب کاهش اسپرماتوزن و کاهش فعالیت تولید مثلی، همچنین عوارض دیگری مثل کاهش وزن بدن می‌شود و گیاه سیر دارای ترکیبات آنتی اکسیدان و کاهنده متابولیت‌های فعال و رادیکال‌های آزاد است، پس می‌توان تا حدودی پیش بینی کرد که ترکیبات عصاره سیر کاهنده اثرات مخرب حاصل از داروی سیکلو فسفامید در فرآیند تولید مثلی باشد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش یک مطالعه آزمایشگاهی می‌باشد و در این تحقیق کلیه اصول اخلاقی در مورد نحوه کار با حیوانات آزمایشگاهی مدنظر قرار گرفته است. حیوانات مورد آزمایش در این تحقیق ۵۶ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با وزن متوسط ۲۲۰-۲۰۰ گرم و سن ۳-۲/۵ ماه بود. موش‌های صحرایی به ۷ گروه ۸ تایی تقسیم شدند، در تمام مدت ۲۸ روز آزمایش، حیوانات طی دوره ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی قرار گرفتند. آب آشامیدنی حیوانات در تمام طول آزمایش آب لوله کشی شهری و تغذیه به صورت غذای مخصوص موش بود. درجه حرارت در طول آزمایش ۲۵ درجه سانتی‌گراد و تابش نور به صورت غیرمستقیم و از طریق پنجره‌های آزمایشگاه صورت می‌گرفت. موش‌های صحرایی به ۷ گروه ۸ تایی تقسیم شدند؛ گروه اول به عنوان کنترل بدون دریافت هیچ حلال دارویی، گروه دوم به عنوان شاهد روزانه رأس ساعت ۱۰ صبح ۰/۲ میلی لیتر آب مقطر به عنوان حلال دارو و به صورت درون صفاقی تزریق گردید. گروه سوم یعنی گروه تجربی اول، روزانه ۵ mg/kg/day داروی سیکلو فسفامید به صورت درون صفاقی ۲۰۰ mg/kg/day عصاره هیدروالکلی سیر به صورت خوراکی دریافت کردند. گروه چهارم یعنی گروه تجربی دوم، روزانه ۵ mg/kg/day داروی سیکلو فسفامید به صورت تزریق درون صفاقی و ۴۰۰ mg/kg/day عصاره هیدروالکلی سیر به صورت خوراکی دریافت کردند. گروه پنجم یعنی گروه تجربی سوم، روزانه ۵ mg/kg/day داروی سیکلو فسفامید به صورت تزریق درون صفاقی و ۸۰۰ mg/kg/day عصاره هیدروالکلی سیر به صورت خوراکی دریافت کردند.

جدول ۱: مقایسه گروه‌های کنترل، شاهد و پنج گروه تجربی از نظر پارامترهای وزن بدن، وزن بیضه‌ها و تعداد سلول‌های اسپرماتید

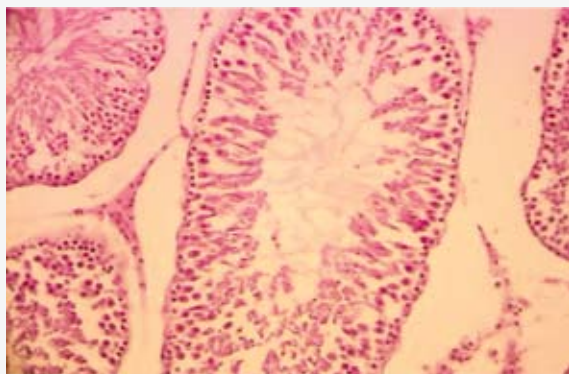
پارامترها	کنترل	شاهد	تجربی ۱	تجربی ۲	تجربی ۳	تجربی ۴	تجربی ۵
وزن بدن (gr)	۲۵۶/۴ ± ۴/۱۰	۲۵۵/۸ ± ۶۹/۳	۲۳۶/۶۲ ± ۳۵/۵*	۲۴۶/۱۴ ± ۴۸/۷	۲۴۷ ± ۲۴/۳	۲۳۳/۱۴ ± ۷۸/۳*	۲۵۷ ± ۴۶/۱۰
وزن بیضه راست (gr)	۱/۴۰ ± ۰/۰۶۹	۱/۳۹ ± ۰/۰۲۱	۱/۲۴ ± ۰/۰۲۲	۱/۲۷ ± ۰/۰۱۱...	۱/۳۲ ± ۰/۰۱۵...	۱/۱۹ ± ۰/۰۸۹*	۱/۴۲ ± ۰/۰۵۸
وزن بیضه چپ (gr)	۱/۴۲ ± ۰/۰۵۰	۱/۴۰ ± ۰/۰۶۹	۱/۲۴ ± ۰/۰۰۴	۱/۳۰ ± ۰/۰۲۰...	۱/۳۴ ± ۰/۰۱۵...	۱/۱۸ ± ۰/۰۳۰*	۱/۴۳ ± ۰/۰۴۰
تعداد سلول‌های اسپرماتید	۱۸۱/۴ ± ۱/۳	۱۷۹/۸ ± ۱/۸	۹۰/۴۲ ± ۲/۱۳*	۱۱۷/۴ ± ۱/۷...	۱۳۹/۸۰ ± ۱/۰۴...	۸۸/۲ ± ۲/۹*	۱۸۲/۵۰ ± ۱

- مقادیر بر اساس میانگین ± خطای معیار میانگین (X±SEM) آورده شده است.

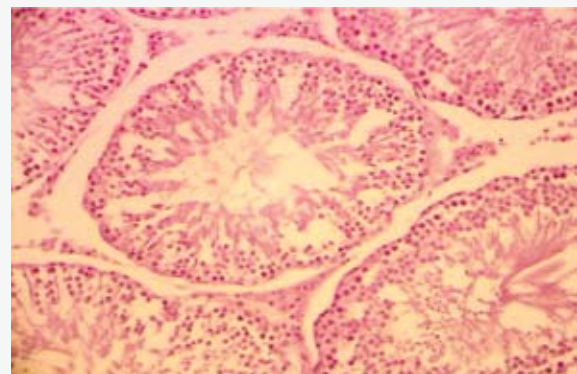
- سطح اختلاف معنی دار $P \leq 0.05$ است.

- علامت * نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه کنترل است.

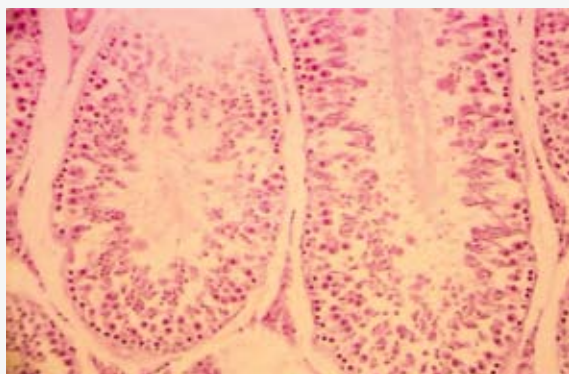
- علامت ** نشان دهنده اختلاف معنی دار گروه‌های تجربی ۱ و ۲ و ۳ با گروه تجربی ۴ است.



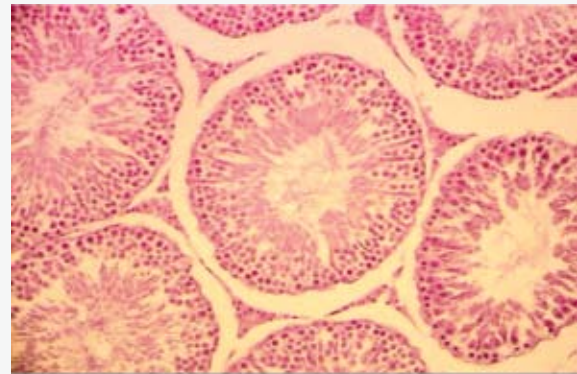
شکل ۲: فتومیوگراف لوله‌های اسپرم ساز در گروه تجربی ۲ (بزرگنمایی × ۱۰۰)



شکل ۱: فتومیوگراف لوله‌های اسپرم ساز در گروه کنترل (بزرگنمایی × ۱۰۰)



شکل ۴: فتومیوگراف لوله‌های اسپرم ساز در گروه تجربی ۴ (بزرگنمایی × ۱۰۰)



شکل ۳: فتومیوگراف لوله‌های اسپرم ساز در گروه تجربی ۳ (بزرگنمایی × ۱۰۰)

در اسپرماتوژنز اختلال ایجاد می‌کند مانند داروی سیکلو فسفامید، این دارو موجب الیگواسپرمی یا آزواسپرمی می‌شود (۱) و کاهش تعداد اسپرم موجب کاهش وزن بیضه‌ها می‌گردد. همچنین سیکلو فسفامید با تأثیر بر مولکول DNA مانع تکثیر سلول‌های زاینده شده در نتیجه تعداد سلول‌های اسپرم، اسپرماتید، اسپرماتوسیت اولیه و ثانویه نیز کم می‌شود، بنابراین وزن بیضه‌ها نیز کاهش می‌یابد. آتروفی توبول‌های سمینیفروس و کاهش سلول‌های اسپرماتوژنیک نشانه‌های مورفولوژیک اختلال در اسپرماتوژنز هستند (۱۲ و ۱۳).

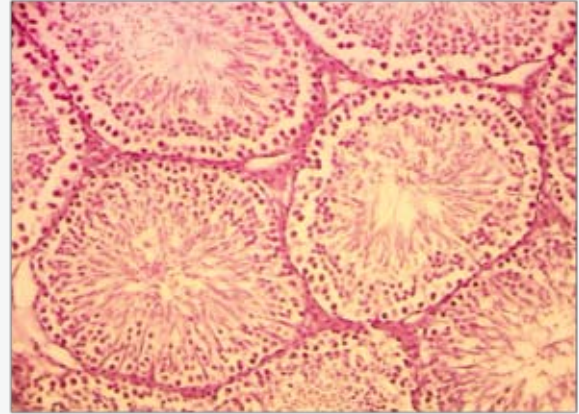
گونه‌های اکسیژن واکنشی با ایجاد استرس اکسیداتیو، آسیب‌های سلولی را از طریق چند ساز و کار شامل پراکسیداسیون لیپید و آسیب اکسیداتیو پروتئین‌ها و DNA پیش می‌برند (۱۴). سلول‌های اسپرم پستانداران دارای مقادیر بالایی اسیدهای چرب غیر اشباع، پلاسمالوژن و اسفنگومیلین است که سوبستراهای مهم در عمل اکسیداسیون به شمار می‌روند (۱۵). در حالت طبیعی ساز و کارهای آنتی‌اکسیدانی در بافت‌های تولید مثلی حضور دارند و از بروز آسیب اکسیداتیو در سلول‌های گنادی و اسپرماتوزای بالغ جلوگیری می‌کنند (۱۶ و ۱۷). از طرف دیگر فعالیت آنتی‌اکسیدانی ذاتی سیر، عصاره‌ها و برخی ترکیبات آن به طور گسترده در محیط‌های آزمایشگاهی و موجودات زنده به اثبات رسیده است. مشخص شده که مصرف سیر سطح سرمی پتانسیل آنتی‌اکسیدانی کل را افزایش می‌دهد. عصاره سیر فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز (SOD)، گلوکاتیون پراکسیداز و کاتالاز را در سلول‌ها افزایش می‌دهد (۱۸).

مطالعات نشان می‌دهد که زیاد شدن رادیکال‌های آزاد بر تکثیر، فعالیت و باروری اسپرم‌ها اثرات نامطلوب می‌گذارد. چنانچه سطح این رادیکال‌ها به طور مرتب تعدیل نشود، عملکرد طبیعی سلول‌ها را مختل می‌نماید، بر اساس مطالعات انجام شده روند پیچیده اسپرماتوژنز و گذر از سلول‌های ژرمینال تا رسیدن به مرحله بلوغ سلول‌های جنسی در گروهی مصون ماندن از ضایعات پاتولوژیک و سیتوتوکسیکی است که این پدیده را مورد تهدید قرار می‌دهد (۱۹).

با توجه به جدول ۱ در گروه‌های تجربی ۱، ۲ و ۳ با افزایش میزان دوز عصاره سیر کاهش وزن بیضه‌ها تا حدودی جبران می‌شود و وزن بیضه‌ها در این سه گروه تجربی نسبت به گروه تجربی ۴ افزایش می‌یابد که به علت ترکیبات مؤثر و مفید موجود در سیر می‌باشد، همان‌طور که قبلاً گفته شده فعالیت آنتی‌اکسیدانی ذاتی سیر هم در آزمایشگاه و هم در موجودات زنده با اثبات رسیده است (۱۸).

فعالیت آنتی‌اکسیدانی سیر به علت ترکیبات سولفوروی موجود در آن می‌باشد که تعداد این ترکیبات در عصاره سیر، فراوان دیده می‌شود. این فعالیت آنتی‌اکسیدانی موجب از بین رفتن رادیکال‌های آزاد شده و همچنین موجب جلوگیری از متابولیت فعال داروی سیکلو فسفامید (آکرولئین) و حذف آن‌ها می‌شود (۲۰ و ۲۱). بنابراین با حذف متابولیت فعال سیکلو فسفامید (آکرولئین) از مهار تقسیمات میتوزی و میوزی درون بیضه ممانعت می‌کند و با افزایش میزان دوز عصاره سیر، افزایش وزن بیضه در گروه‌های تجربی ۱، ۲ و ۳ نسبت به گروه تجربی ۴ مشاهده می‌شود.

مطالعات نشان می‌دهد عصاره سیر سبب محافظت سلول‌های



شکل ۵: فتومیوگراف لوله‌های اسپرم ساز در گروه تجربی ۵ (بزرگنمایی × ۱۰۰)

بحث

سیکلو فسفامید موجب اختلال و کاهش اشتها و حالت تهوع و استفراغ می‌شود که می‌تواند ناشی از تحریک ناحیه گیرنده شیمیایی واقع در کف بصل النخاع باشد. همچنین موجب اثرات سمی بر اندام‌های جنسی و کبد و پروتئین سازی می‌گردد (۱، ۲، ۷). بر این اساس در این پژوهش احتمالاً این ماده با تأثیر بر میزان چربی‌ها در اثر کم اشتهایی و جلوگیری از سنتز پروتئین‌ها و کاهش توده پروتئینی و چربی موجب کاهش وزن بدن می‌شود.

سیر دارای ترکیبات مختلف از جمله پروستاگلندین‌ها، پکتین، آدنوزین، ویتامین‌های A، B1، B2، B6، C، E، بیوتین، اسیدهای چرب و اسیدهای آمینه ضروری می‌باشد (۸). برای این گیاه اثرات درمانی و خواص متعددی بیان شده است چنانچه از آن به عنوان ضد عفونی کننده دستگاه گوارش، گیاه محرک، مدر، اشتها آور یاد شده است (۸ و ۹).

همان‌گونه که ذکر شد مصرف سیر اشتها آور است. پس می‌تواند کم اشتهایی حاصل از داروی سیکلو فسفامید را تا حدودی بر طرف نماید. همچنین سیر حاوی ویتامین B6 می‌باشد (۸، ۹، ۱۰). این ویتامین هم به عنوان ضد تهوع عمل می‌کند و هم موجب افزایش رشد بدن می‌شود (۷). پس می‌توان نتیجه گرفت این ویتامین در سیر، حالت تهوع حاصل از مصرف داروی سیکلو فسفامید را در گروه تجربی ۱، ۲، ۳ و نیز کاهش وزن بدن را در این گروه نسبت به گروه تجربی ۴ بهبود می‌بخشد. همان‌طور که اشاره شد سیر دارای ویتامین A می‌باشد (۸). ویتامین A یکی از عوامل رشد حیوانات به حساب می‌آید و فقدان این ویتامین در موش موجب توقف رشد حیوان و کاهش وزن می‌گردد. ویتامین A می‌تواند با تبدیل به رتینوئید موجب ذخیره چربی به صورت تری گلیسرید در بدن شده و موجب افزایش وزن بدن گردد (۱۱). بنابراین می‌توان نتیجه گرفت ویتامین A موجود در سیر می‌تواند تا حدودی کاهش وزن را در گروه‌های تجربی ۱، ۲ و ۳ نسبت به گروه تجربی ۴ جبران کند. یکی از دلایل کاهش وزن بیضه‌ها و آتروفی بیضه‌ها عواملی است که

در مطالعات انجام شده آب سیر سبب محافظت سلول‌های زاینده در موش‌های صحرایی نر شد که می‌تواند بازتاب نقش آنتی‌اکسیدانی آن باشد (۳۰).

در سال ۲۰۰۸ گزارش شد که عصاره اتانولی ریزوم با نام علمی *Curculigo orehioids* باعث افزایش اسپرماتوژنز در بیضه موش‌های صحرایی آلبینو می‌گردد. این گیاه دارای گلیکوزیدهای فنول و فنولیک است که دارای خواص آنتی‌اکسیدانی هستند. با توجه به اثر گفته شده در مورد گلیکوزیدهای فنولیک موجود در ریزوم و با توجه به این که این ترکیب در سیر نیز وجود دارد، می‌توان گفت این ترکیب یکی از اجزای فعال و مؤثر سیر در افزایش اسپرماتوژنز است (۳۱ و ۳۲).

سیر دارای ملاتونین می‌باشد که به عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی از دژنه شدن با سلول‌های زاینده جلوگیری می‌کند. ملاتونین سیستم آنتی‌اکسیدانی داخلی را تحریک می‌کند و فعالیت گلوکوتائین پراکسیداز، گلوکوتائین S - ترانسفراز، سوپر اکسید دیسموتاز و دیگر تیول‌ها را در خون، کبد، بیضه و کلیه افزایش می‌دهد (۳۳، ۳۴، ۳۵).

احتمالاً ترکیبات موجود در سیر با افزایش میزان آنزیم‌های فوق موجب جلوگیری از اثرات مخرب و شکستن DNA و همچنین جلوگیری از مهار تقسیمات میتوزی و میوزی در سلول‌های اسپرم و مولد اسپرم می‌شوند.

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که تجویز عصاره سیر ضمن تأثیرگذاری بر ساختار مجاری اسپرم‌ساز، بر تکثیر توپول‌های بیضه و افزایش آزاد سازی سلول‌های جنسی بالغ نیز اثر می‌گذارد و روند اسپرماتوژنز را در گروه‌های تجربی دریافت کننده سیکلو فسفامید بهبود می‌بخشد. سیکلو فسفامید با تأثیر بر مولکول DNA مانع تکثیر سلول‌های زاینده شده در نتیجه تعداد سلول‌های اسپرم، اسپرماتید، اسپرماتوسیت اولیه و ثانویه را کاهش می‌دهد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی سیر به علت ترکیبات سولفوری موجود در آن موجب از بین رفتن رادیکال‌های آزاد شده و همچنین موجب جلوگیری از متابولیت فعال داروی سیکلو فسفامید (اکرولئین) و حذف آن‌ها می‌شود. احتمالاً گنجاندن این گیاه سرشار از ترکیبات مفید و مؤثر در برنامه غذایی کسانی که به دلایلی به خاطر مصرف داروهای شیمیایی، باروری (فعالیت تولید مثلی) آن‌ها دچار اختلال شده می‌تواند به نوعی در این اختلال (ناتوانی در باروری) مؤثر واقع شود.

تشکر و قدردانی

نتایج این تحقیق بر مبنای پایان نامه کارشناسی ارشد سرکار خانم مرضیه میر فردی دانشجوی فیزیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون ارائه شده است بدین وسیله از مسئول محترم آزمایشگاه فیزیولوژی که در اجرای این طرح همکاری داشته‌اند، قدردانی می‌گردد.

زاینده در موش‌های صحرایی نر بالغ شده که می‌تواند بازتاب نقش آنتی‌اکسیدانی آن باشد (۲۲).

آنزیم گلوکوتائین پراکسیداز به عنوان یک آنتی‌اکسیدانت در حفاظت اسپرم‌ها در بافت بیضه و اپیدیدیم نقش ویژه‌ای ایفا می‌کنند و کاهش این آنزیم در بدن سبب نازایی می‌گردد. این آنزیم با قرار گرفتن در غشای پلاسمایی اسپرم، هسته اسپرم، مایع اپیدیدیم و ناحیه اپیدیدیم، اسپرم‌ها را از گزند رادیکال‌های آزاد حفظ می‌کند و سبب بلوغ نهایی و تکامل اسپرم‌ها می‌شود (۲۳).

مطالعات نشان می‌دهند آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، گلوکوتائین پراکسیداز و سوپر اکسید دیسموتاز از طریق تأثیر بر فرم‌های پراکسیدی و کاهش اکسایشی، از سلول محافظت می‌کنند. عصاره سیر آنزیم گلوکوتائین پراکسیداز سلولی را در انواع سلول‌های کبد، کلیه، پستان، بیضه و... افزایش می‌دهد (۲۲ و ۲۴). پس عصاره سیر به خصوص دی‌آلیل - دی‌سولفات و سایر ترکیبات سولفوری آن با افزایش آنزیم گلوکوتائین پراکسیداز موجب جلوگیری از اثرات مخرب و شکستن DNA در سلول‌های اسپرم و مولد اسپرم می‌شود.

گزارش شده که اندازه بیضه به شدت با تعداد سلول‌های سرتولی و تولید اسپرم مرتبط است، به طوری که اندازه‌ی بیضه منعکس کننده تعداد سلول‌های زاینده موجود در آن است، مهار اسپرماتوژنز از طریق برداشتن هیپوفیز باعث کاهش محسوس در وزن بیضه‌ها می‌شود. همچنین قطر توپول‌های سمینیفروس یکی دیگر از شاخص‌های تعیین کننده‌ی اندازه بیضه‌ها است (۲۵ و ۲۶). با توجه به کاهش عوامل ذکر شده در اثر متابولیت‌های فعال داروی سیکلو فسفامید، عصاره سیر با جلوگیری از کاهش شدید در توپول‌های سمینیفروس، تعداد سلول‌های سرتولی و میزان اسپرماتوژنز سبب جلوگیری از کاهش وزن بیضه می‌شود. جدول ۱ نشان می‌دهد که میانگین تعداد سلول‌های اسپرماتید در گروه‌های تجربی ۱، ۲، ۳ و ۴ نسبت به گروه کنترل کاهش یافته است. کاهش در گروه تجربی ۴ که فقط داروی سیکلو فسفامید دریافت کرده‌اند، ناشی از متابولیت‌های فعال سیکلو فسفامید و تأثیر این دارو بر روی DNA، در نتیجه تقسیمات میتوزی را کاهش می‌دهد. پس تعداد سلول‌های اسپرماتید حاصل از تقسیم سلول‌های اسپرماتوسیت اولیه و ثانویه کاهش می‌یابد (۱ و ۲).

در گروه‌های تجربی ۱، ۲ و ۳ این کاهش نیز مربوط به متابولیت‌های حاصل از داروی سیکلو فسفامید می‌باشد. از طرفی عصاره سیر هم‌زمان نیز دریافت کرده‌اند و با افزایش دوز عصاره سیر در این گروه‌ها افزایش تعداد سلول‌های اسپرماتید نسبت به گروه تجربی ۴ معنی دار می‌باشد. این افزایش می‌تواند ناشی از ترکیبات فعال و مؤثر موجود در سیر باشد. این ترکیبات همان‌طور که قبلاً نیز اشاره شده است، با فعالیت آنتی‌اکسیدانی موجب حذف رادیکال‌های آزاد و متابولیت‌های فعال از بدن می‌شوند. بنابراین می‌تواند اثرات مخرب حاصل از داروهای شیمیایی مثل سیکلو فسفامید را کم کنند. این ترکیبات همچنین موجب ترمیم مولکول DNA و نیز موجب ادامه تقسیمات سلولی می‌گردند (۲۶، ۲۷، ۲۸).

سلول‌های اسپرماتید کوچک‌ترین سلول‌های رده اسپرماتوژنیک می‌باشند و بین ۸ - ۷ میکرون قطر دارند (۲۹).

References

1. Aguilar-Mahecha A, Hales BF, Robaire B. Chronic cyclophosphamide treatment alters the expression of stress response genes in rat male germ cells. *Biol Reprod.* 2002;66:1024-1032.
2. Hales BF, Barton TS, Robaire B. Impact of paternal exposure to chemotherapy on offspring in the rat. *J Natl Cncr Inst Monogr.* 2005;34:28-31.
3. Bozin B, Mimica-Dukic N, Samojlik I, Goran A, Igic R. Phenolics as antioxidants in garlic (*Allium Sativum* L. Alliacea). *Food Chemistry.* 2008;111:925-929.
4. Song K, Milner JA. The influence of heating on the anticancer properties of garlic. *Journal of Nutrition.* 2001;131:10545-10575.
5. Santos J, Almajano MP, Carbo R. Antimicrobial and antioxidant activity of crude onion (*Allium cepa* L.) extracts. *International Journal of food Science and Technology.* 2010;45:403-409.
6. Dmotoso Go, Oyewopo AO, Kadir RE, Olawagi ST, Jimoh AAG. Effects of aqueous extracts of *Allium Sativum* (Garlic) on semen Parameters in Wistar rats. *The Internet journal of urology.* 2010;7:35-42.
7. Guyton Ac. *Textbook of physiology.* 11th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2006.P.997-1007.
8. Corzo-Martinez M, Corzo N, Villamiel M. Biological properties of onions and garlic. *Trends Food sci Technol.* 2007;18:609-625.
9. Jakubowski H. On the health benefits of *Allium* sp. *Nutrition.* 2003;19:167-168.
10. Lanzotti V. The analysis of onion and garlic. *J chromatogr A.* 2006;1112:3-22.
11. Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaoman M. Biological effects of essential oils food. *Chem Toxicol.* 2008;46:446-475.
12. Cail Hales BF, Robaire B. Induction of apoptosis in the germ cells of adult male rats after exposure to cyclophosphamide. *Biol Reprod.* 1997;56:1490-1497.
13. Cameron DF, Murray FT, Drylie DD. Interstitial compartment pathology and spermatogenic disruption in testes from impotent men. *Anat Rec.* 1985;213:53-62.
14. Giugliano D, Ceriello A, Paolisso G. Oxidative stress and vascular complication. *Diabetes care.* 1996;19:257-267.
15. Aitken RJ, Clar Kson JS, Fishel S. Generation of reactive oxygen species lipid per oxidation and human sperm function. *Biol Reprod.* 1989;41:183-197.
16. Chen CS, Chao HT, Pan RL, Wei YH. Hydroxyl radical-induced decline in Motility and increase in lipid per oxidation and DNA modification in human sperm. *Biochemistry and molecular biology international.* 1997;43:291-303.
17. Kaemmerer H, Mitzkat HJ. Ion-exchange chromatography of amino acids in ejaculates of diabetes. *Andrologia.* 1985;17:485-487.
18. Pedraza chaverri J, Maldonado PD, Medina-campos ON, Olivares-corichi IM, Granados-Silvestre MA, Hernandez-Pando R, et al. Garlic ameliorates gentamicin nephrotoxicity relation to antioxidant enzymes. *Free Radic Biol Med.* 2000;29:602-611.
19. Agarwal A, Nallella KP, Allamaneni SS, Said TM. Role of antioxidants in treatment of male infertility: an overview of the literature. *Reprod Biomed on line.* 2004;8(6):616-627.
20. Pal R, Vaiphei K, Arbab S, Kartar S. The effect of garlic on isoniazid and rifampicin-induced hepatic injury in rats. *World Journal Gastroenterol.* 2006;28:636-639.
21. Moreno FJ, Corzo-Martinez M, Del Castillo MD, Mar V. Changes in antioxidant activity of dehydrated onion and garlic during storage. *Food Research International.* 2006;39:891-897.
22. Pedraza-chaverri J, Maldonado PD, Medina-Campos ON, Olivares-Corichi IM, Granados-Silvestre MA, Hernandez-Pando R, et al. Garlic ameliorates gentamicin nephrotoxicity relation to antioxidant enzymes. *Free Radic Biol Med.* 2000;29:602-611.
23. SU D, Novoselov SV, Sun QA, Moustafa ME, Zhou Y, Oko R. Mammalian selenoprotein thioredoxin-glutathione reductase roles in disulfide bond formation and sperm maturation. *J Biol Chem.* 2005;280:26491-26498.
24. Pal R, Vaiphei K, Arbab S, Kartar S. The effect of garlic on isoniazid and rifampicin-induced hepatic injury in rats. *World Journal Gastroenterol.* 2006;28(12):636-639.
25. Berndtson WE, Igboeli G, Parker WG. The numbers of Sertoli cell in mature Holstein bulls and their relationship to quantitative aspects of sperm autogenesis. *Biol Reprod.* 1987;37:60-67.
26. Slegtenhorst-Eegdeman KE, De Rooi JDG, Verhoef-post M, Van de Kant HJ, Bakker CE, Oostra BA, et al. Macroorchidism in FMRI Knockout mice is caused by increased Sertoli cell proliferation during testicular development. *Endocrinology.* 1998;139:159-162.
27. Fahmy Gad E, Elkomy M. Aqueous garlic extract and sodium thiosulphate as antidotes for cyanide intoxication in Albino Rats. *Journal of Medicine and medical sciences.* 2006;1:50-56.
28. Nakagawa S, Kasuga S, Matsuura H. Prevention of liver damage by aged garlic extract and its components in mice. *Phyto Ther Res.* 1989;3:50-53.
29. Jungueira L, Carniero J, Kelley R. *Basic histology.* 11th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2005.P.422-438.
30. Anwar MM, Meki AR. Oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats; effects of garlic oil and melatonin. *Biochem physiol.* 2003;135:539-547.
31. Pedraza-chaverri J, Maldonado PD, Medina-campos ON, Olivares-corichi M, Granados-Silvestre MA, Hernandez-Pando R, et al. Garlic ameliorates gentamicin nephrotoxicity relation to antioxidant enzymes. *Free Radic Biol Med.* 2000;12:602-611.
32. Chauhan NS, Raich V, Dixit VK. Effect of curcumin



orchioides rhizomes on sexual behavior of male rats. *International Journal of Applied Research in Natural Products*. 2008;1:26-31 .

33. Lanzotti V. The analysis of onion and garlic. *J Chromatogr A*. 2006;1112:3-22.

34. Guneli E, Tugyan K, Ozturk H, Gumustekin M, Cilaker S, Uysal N. Effect of melatonin on testicular damage in streptozotocin-induced diabetes rats. *Eur Surg Res*. 2008;40:354-360.

35. Martiez-Cruz F, Guerrero IM, Osuna C. Melatonin prevents the formation of pyrroled proteins in human plasma induced by hydrogen peroxide. *Neurosci Lett*. 2002;326:147-150.

36. Armagan A, Uz E, Yilmaz HR, Soyupek S, Oksay T, ozcelik N. Effect of melatonin on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in streptozotocin-induced diabetic rat testis. *Asian J Androl*. 2006;8:595-600.



Original Article

The Effect of Hydro-Alcoholic Garlic Extract on Testis Weight and Spermatogenesis in Mature Male Rats under Chemotherapy with Cyclophosphamide

Mirfard M¹, Johari H^{2*}, Mokhtari M¹, Hematkah V³, Jamali H³, Allahverdi Gh⁴

1- Department of Physiology, Kazeron Branch, Islamic Azad University, Kazeron, Fars, Iran.

2- Department of Physiology, Darab Branch, Islamic Azad University, Darab, Fars, Iran.

3- Department of Physiology, Jahrom Branch, Islamic Azad University, Jahrom, Fars, Iran.

4- Department of Biochemistry, Fasa University of Medical Sciences, Fasa, Fars, Iran.

Abstract

Background & Objective: Cyclophosphamide (with the brand name of Endoxana) is an anti-cancer drug used in chemotherapy. The side effects of this drug include anorectic, nausea, decrease in genital gland function, creating amenorrhea, azoospermia and oligospermia. Garlic has been used throughout history as a medicinal drug and a beneficial spice in cooking. The beneficial effects of garlic which have been studied are its anti-oxidant, antibacterial, anti-atherosclerosis, anti-blood platelet effects as well as its role in reducing blood glucose and fat. Garlic has many compounds mostly contain a sulfuric content such as Di-alkyl Di-sulfide (Alicin), Di-allyl Di-sulfide (DAS), that caused antioxidant and protective properties.

Materials & Methods: Cyclophosphamide and garlic extract were given to 56 rats for a period of 28 days. The rats were weighted and after anesthesia, their testis was taken out and tissue dissections were obtained, Student t-test was applied for the statistical analysis.

Results: The results show that cyclophosphamide alone leads to a reduction in body and testis weight, and spermatogenesis compared to the control group. In the group that used cyclophosphamide along with garlic extract, as the dose of extract increased, the body and testis weight and spermatogenesis increased in the rats.

Conclusion: It seems, the existing compounds in garlic extract can control active metabolites caused by cyclophosphamide and the destructive effect of this drug. Prescribing garlic extract along with cyclophosphamide can possibly be beneficial and effective due to the anti-oxidant characteristics of garlic and also its effect on reducing harmful metabolites.

Keywords: Garlic, Cyclophosphamide, Spermatogenesis, Testis

* **Corresponding author:** Johari Habibollah, Department of Physiology, Islamic Azad University of Darab, Darab, Iran.

Tel: +987313334266

Email: johari@iaudarab.ac.ir