



اثر عصاره آبی گل بنفشه (*Viola cornuta*) بر آسیب بیضه‌ای موش‌های صحرایی نر

دیابتی شده با استرپتوزوتوسین

مهناز محقق^۱، ویدا حجتی^{۲*}، عبدالحسین شیروی^۳

۱- کارشناسی ارشد زیست شناسی- تکوینی جانوری، گروه زیست شناسی، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران

۲- استادیار، گروه زیست شناسی، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران

۳- دانشیار، گروه زیست شناسی، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران

چکیده	مقاله پژوهشی اصیل
مقدمه گل بنفشه گیاهی است که به دلیل خاصیت آرام بخشی از دیرباز مورد توجه طب سنتی بوده است. از آنجا که آسیب بیضه‌ای یکی از عوارض بیماری دیابت است، این تحقیق به منظور بررسی اثر درمانی عصاره آبی گل بنفشه بر آسیب‌های بیضه‌ای ناشی از دیابت انجام شد. مواد و روش‌ها در این مطالعه، ۴۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با محدوده وزنی ۲۲۰-۲۰۰ g به چهار گروه ده تایی تقسیم شدند: گروه شاهد (سالم)، گروه دیابتی (که از طریق تزریق درون صفاقی ۵۵ mg/kg استرپتوزوتوسین دیابتی شد)، گروه تجربی ۱ (دیابتی + ۱۰۰ mg/kg عصاره آبی گل بنفشه) و گروه تجربی ۲ (دیابتی + ۲۰۰ mg/kg عصاره آبی گل بنفشه). گروه‌های تجربی پس از دو ماه دیابتی شدن، به مدت پنج هفته عصاره را به روش گاوژ دریافت کردند. در ابتدای هفته پنجم برش‌های بافتی بیضه‌ها مورد بررسی قرار گرفتند. یافته‌ها موش‌های دیابتی کاهش چشمگیری در قطر 0.53 ± 0.098 و تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی $1.0 \pm 0.2/61$ نشان دادند. در گروه‌های تجربی ۱ و ۲ تغییرات مورفولوژیک ایجاد شده به وسیله دیابت به طور معنی‌داری افزایش یافته و با کاهش سلول‌های زاینده در لایه ژرمینال همراه بود. نتیجه‌گیری مصرف عصاره آبی گل بنفشه، آسیب‌های بیضه‌ای در موش‌های صحرایی دیابتی شده را به طور معنی‌داری افزایش داد و این عصاره قابلیت درمان آسیب‌های بافتی بیضه و افزایش سلول‌های زاینده را نداشت. کلیدواژه‌ها دیابت، عصاره آبی، گل بنفشه، آسیب بیضه‌ای	تاریخ دریافت: ۹۶/۳/۱۱ تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۲/۱۰ *نویسنده مسئول: ویدا حجتی، گروه زیست شناسی، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران تلفن: ۰۲۳-۳۵۲۲۵۰۲۴ پست الکترونیک: Vida.hojati@gmail.com

بیماری دیابت در حال حاضر عامل مهمی در ناتوانی و

بستری شدن بیماران بوده و فشار مالی قابل توجهی را به

مقدمه



جامعه تحمیل می‌کند، بطوریکه در هند سالانه حدود ۹۲ میلیون دلار صرف هزینه درمان افراد مبتلا به دیابت با ناتوانی جنسی می‌شود، از آنجا که ناتوانی جنسی بقای نسل را تحت‌الشعاع دارد بر طرف کردن مشکلات آن با کمک داروهای گیاهی که مورد تایید همگان است، حائز اهمیت می‌باشد. دیابت با کاهش انسولین باعث ایجاد یک فیدبک مثبت با هورمون تستوسترون شده و سبب کاهش هورمون تستوسترون می‌شود و بدنبال کاهش تستوسترون اسپرماتوژنز نیز دچار آسیب شده و کاهش می‌یابند و با کاهش اسپرماتوژنز میل جنسی و انجام فعالیت‌های جنسی نیز کاهش یافته و سبب مشکلات جنسی می‌گردد (۱).

کاربرد گیاهان برای درمان دیابت قندی بطور وسیعی به‌ویژه در کشورهای آسیای میانه رایج است. سازمان بهداشت جهانی نیز در مورد استفاده از این گیاهان در این کشورها توصیه‌هایی را ارائه نموده است (۲).

بسیاری از گونه‌های گیاهی، در طب سنتی ملل مختلف به‌واسطه خواص کاهنده قند خون برای درمان دیابت قندی مورد استفاده قرار می‌گیرند (۲).

گل بنفشه با نام علمی *Viola cornuta* نوعی گل از تیره بنفشگان (Violaceae) است که بیشتر در نواحی معتدل جهان یافت می‌شود. دارای ساقه‌ای کوتاه و رنگ آن بنفش، یا زرد و بنفش است. این گیاه دارای خواص درمانی و پزشکی نیز هست که در قدیم ساختن بلور افشار از آن رایج بود. گیاهی است علفی و پایا و دارای برگ‌هایی که از محل مشترکی در ناحیه یقه خارج می‌شوند. برگ‌های آن قلبی شکل، دارای دمبرگ دراز و واقع بروی سطح زمین هستند، زیرا ساقه هوایی مشخص در این گیاه وجود ندارد. در کناره دمبرگ آن، جوانه‌های جانبی ظاهر

می‌شود. گل‌های آن منفرد، زیبا و به رنگ بنفش، به ندرت سفید یا گلی و معطر است (۳). دمگل‌های دراز گل که از بین دمبرگ‌ها منشاء می‌گیرند، قبل از منتهی شدن به گل، حالت خمیده شبیه عصا پیدا می‌کنند. میوه‌های بنفشه پوشینه، کروی، پوشیده از کرک و محتوی دانه‌هایی به رنگ زرد با لکه‌ای سفید هستند. گل‌های زیبا و معطر بنفشه در اوایل بهار ظاهر می‌شود، در تابستان گل‌هایی عاری از گلبرگ در بین دمبرگ‌های آن ظاهر می‌شود که همیشه به حالت مخفی در آن باقی می‌ماند. به طور کلی اثر نیروبخش و آرام بخش این گیاه در ماده نرم کننده‌ای است که از برگ بنفشه به مقدار زیاد حاصل می‌شود و این ماده همان لعاب آن است. بنفشه گیاهی مشهور است و ریشه‌اش مثل سایر اجزای آن خاصیت داروئی دارد. بنفشه خون معتدل بوجود می‌آورد، مرهم بنفشه با قاؤت جو ورم گرم را فرو نشاند. روغن بنفشه داروی گری است. بو کردن و بر سر مالیدن بنفشه سردرد را تسکین می‌دهد. بنفشه التهاب معده را از بین می‌برد. شربت بنفشه علاج درد کلیه و ملین ملایم است، نیز مقعد بیرون زده را جای خود می‌نشاند. دم کرده بنفشه را در بیماری‌های ریوی و التهاب دستگاه گوارش و ادراری مؤثر نوشته‌اند. برگ و ریشه بنفشه نیز مصرف دارویی دارد. بنفشه گلو را نرم گرداند، روغن بنفشه سرد و لطیف است. گرمی و تب را نافع است و چون به بینی کشند و زیر پای بمالند خواب می‌آورد (۴).

هدف از انجام این آزمایش، بررسی اثر آبی گل بنفشه (*Viola cornuta*) در درمان آسیب‌های بیضه‌ای ناشی از دیابت ایجاد شده با استرپتوزوتوسین در موش‌های صحرایی می‌باشد.

مواد و روش‌ها



پژوهش حاضر یک مطالعه تجربی بوده که از تاریخ ۹۴/۱۱/۱ به مدت شش ماه به طول انجامید و در این مطالعه با توجه به مقالات قبلی ۴۰ سر موش صحرایی نر از نژاد ویستار، با محدوده وزنی ۲۲۰-۲۰۰ g، انتخاب و به چهار گروه

۱- شاهد یا کنترل شامل ده سر موش سالم که همزمان با دیابتی شدن سایر گروه‌ها بافر سیتراکات بصورت درون صفاقی دریافت کردند

۲- دیابتی یا شم شامل ده سر موش که بمنظور دیابتی کردن با دوز ۵۵ mg/kg استرپتوزوتوسین دریافت کردند تجربی ۱ و یا درمانی ۱ شامل ده سر موش دیابتی شده که بعد از گذشت دو ماه از دیابتی بودن ۱۰۰ mg/kg عصاره آبی گل بنفشه بصورت گاوژ به مدت ۵ هفته دریافت نموده اند.

تجربی ۲ و یا درمانی ۲ شامل ده سر موش دیابتی شده که بعد از گذشت دو ماه از دیابتی بودن ۲۰۰ mg/kg عصاره آبی گل بنفشه بصورت گاوژ به مدت ۵ هفته دریافت نموده اند

گروه دیابتی که از طریق تزریق درون صفاقی استرپتوزوتوسین یا STZ (محصول شرکت سیگما با کد علمی S0130) با دوز ۵۵mg/kg دیابتی شدند و سنجش قند خون برای القای دیابت، ۷۲ ساعت بعد از تزریق یک بار STZ و با استفاده از خون سیاهرگ دمی، به کمک دستگاه کلگوکارد صفر و یک انجام شد و موش‌های با قند خون بالاتر از ۲۵۰ mg/dl، دیابتی در نظر گرفته شدند. موش‌ها در قفس‌های تمیز با درجه حرارت ۲۴°C- ۲۲ و سیکل نوری ۱۲ ساعت نور، ۱۲ ساعت تاریکی و رطوبت نسبی ۴۰-۶۰ درصد در آزمایشگاه نگهداری شدند. در ابتدای هفته پنجم پس از بیهوشی توسط کتامین و زایلزین مشاهدات ماکروسکوپی اعم از (وزن، قطر، طول، حجم بیضه) مورد ارزیابی قرار گرفت. مقاطع

بیضه‌ها برای انجام آزمایشات بافت‌شناسی در فرمالین ۱۰٪ قرار گرفته و به آزمایشگاه منتقل شد. آن دسته از موش‌هایی که به دلیل افزایش قند خون و مضرات دیابت یا دریافت دارو در طول آزمایش اوت می‌شدند به منظور جبران موش‌هایی دیگر بصورت تصادفی انتخاب و دیابتی می‌شدند که حجم نمونه داده‌های آماری تغییر نداشته باشد.

تهیه عصاره آبی گل بنفشه

۳۰۰ g از پودر گل بنفشه به طور جداگانه به یک لیتر آب مقطر اضافه گردید و به مدت ۷۲ ساعت بر روی دستگاه چرخاننده به آرامی مخلوط گردیده تا استخراج به خوبی صورت گیرد. سپس مخلوط حلال و گیاه توسط صافی از هم جدا تا عصاره‌های اولیه ۲ بدست آید. عصاره اولیه وارد دستگاه تقطیر در خلاء گردیده و در دمای ۸۰°C حلال آنها به مدت یک ساعت به آرامی تبخیر گردید و عصاره تغلیظ شده بدست آمد.

تعیین وزن خشک عصاره‌ها

جهت استاندارد کردن روش و تکرارپذیری آن وزن خشک عصاره‌ها تعیین گردید. بدین صورت که برای هر عصاره به طور جداگانه سه لوله خالی توسط ترازوی دیجیتالی حساس وزن شد. سپس از هر کدام از عصاره‌ها آبی ۱ ml به هر لوله اضافه شد. پس از انکوباسیون ۲۴ ساعته لوله‌ها در ۵۰°C عصاره‌ها کاملاً خشک شده، سپس سه لوله مربوط به هر کدام از عصاره‌ها مجدداً توزین گردیده و با کم کردن وزن لوله‌های خالی، میانگین وزن خشک عصاره های آبی در میلی لیتر بدست آمد.

بررسی ماکروسکوپی

برای بررسی وزن بیضه از ترازوی با دقت ۰/۰۰۱ g استفاده شد. طول و قطر بیضه نیز با استفاده از کولیس و حجم بیضه نیز با کمک استوانه مدرج اندازه‌گیری شد.



اندازه‌گیری قطر توبول سمینیفروس:

قطر توبول سمینیفروس با استفاده از روش سینگ اندازه‌گیری شد. در هر برش عرضی بیضه، ۲۵ لوله به طور تصادفی انتخاب و میانگین قطر توبولی با اندازه‌گیری قطر کوچک و بزرگ هر توبول با استفاده از یک میکرومتر کالیبره شده و متصل به چشمی میکروسکوپ محاسبه گردید. همچنین برای بررسی سلول‌های زایا در همان تعداد توبول نیز تعداد اسپرماتوسیت‌های ۱ و ۲، اسپرماتید، تعداد دستجات اسپرمی لومینال، ضخامت غشا پایه مورد بررسی قرار گرفت. قطر لوله‌های اسپرم ساز با کمک فرمول زیر بدست آمد:

$$\sqrt{(B \times \text{بزرگ‌نمایی}) \times (L \times \text{بزرگ‌نمایی})}$$

L: طول توبول (قطر بزرگ)

B: عرض توبول (قطر کوچک) می‌باشد.

شمارش سلول‌های سرتولی

در هر مقطع و برش عرضی بیضه، ۲۵ لوله اسپرم‌ساز انتخاب و سپس در زیر میکروسکوپ تعداد سلول‌های سرتولی شمارش شد. میانگین این تعداد برای هر گروه محاسبه گردید.

تجزیه و تحلیل آماری

محاسبه آماری با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS v.21 انجام شد و برای مقایسه میانگین بین گروه‌ها از آنالیز واریانس یک طرفه و در مواردی که پاسخ معنی‌داری دیده شد از آزمون توکی برای یافتن جایگاه اختلاف استفاده شد. $P < 0.05$ از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته و مقادیر به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار بیان شدند (علامت ****، **، * و * نشان دهنده معنی دار بودن بین

گروه‌های مورد بررسی در سطح $P \leq 0.01$ ، $P \leq 0.05$ و $P \leq 0.01$ می‌باشد).

یافته‌ها

حیوانات دیابتی به عوارض متعدد ناشی از دیابت، شامل: پرخوری، پر نوشی و اسهال مبتلا شدند. بافت بیضه در گروه شاهد با لایه آلبوئینه پوشیده و مجموعه‌های سلولی توبول سمینیفروس مشاهده شدند. ساختارهای بافتی در گروه دیابتی تخریب شده و کاهش قابل توجه‌ای در مجموعه‌های سلولی مشاهده گردید و ساختارهای بافتی در گروه درمان با گل بنفشه با دوز ۱۰۰ mg/kg بهبود معنی‌داری نیافت (جدول ۱). تعداد سلول‌های اسپرماتوژنیک در گروه دیابتی نسبت به شاهد کاهش داشته و تعداد سلول‌های اسپرماتوژنیک در گروه تجربی ۱ و ۲ (که وابسته به دوز داروی مصرفی می‌باشند) نسبت به گروه دیابتی کاهش معنی‌داری یافته است ($P < 0.05$) و همچنین در گروه تجربی ۲ که دوز داروی مصرفی بیشتر از گروه تجربی ۱ هست کاهش معنی‌داری در میزان سلول‌های اسپرماتوژنز و ضخامت غشا پایه و سلول‌های سرتولی مشاهده گردید (شکل ۱).

افزایش در ضخامت غشای پایه در گروه دیابتی نسبت به شاهد دیده شد. همچنین مشخص شد که آتروفی توبول‌های سمینیفروس در موش‌های صحرایی دیابتی افزایش شدیدی یافته که با مصرف گل بنفشه میزان این آسیب‌ها کاسته نیافت. کاهش معنی‌داری در وزن، قطر، طول و حجم بیضه‌ها در گروه دیابتی نسبت به گروه شاهد مشاهده گردید. همچنین کاهش معنی‌داری در وزن، قطر، طول و حجم بیضه‌ها در گروه تجربی ۲ نسبت به گروه دیابتی مشاهده گردید (جدول ۲).



جدول ۱- تغییرات مورفولوژیک بافت بیضه (میانگین $\pm$ انحراف معیار) در گروه‌های مختلف

پارامترها	شاهد	دیابتی	تجربی ۱	تجربی ۲
تعداد اسپرماتوگونی	۶۹±۲/۱	***۶۱/۲±۲/۱۰	***۵۵/۱۹±۱/۷۶	***۵۳/۱±۲/۰۴
تعداد اسپرماتوسیت	۷۸/۱±۲/۸	***۷۰/۴۱±۳/۸۸	***۶۵/۳±۵/۱۵	***۶۰/۸±۲/۸۵
تعداد اسپرماتید	۱۹۰/۲±۱۰/۲۹	***۱۵۰/۳۶±۹/۴۰	***۱۴۱/۶۲±۸/۸۷	***۱۳۶/۲۱±۴/۰۴
تعداد سلول‌های سرتولی	۲۲/۲±۱/۹	***۵/۱±۰/۷۶	***۴/۰±۱/۴۲	***۳/۲±۱/۰۴
ضخامت غشای پایه (mm)	۰±۳/۹	***۴/۰±۰/۳۵	***۲/۰±۰/۲۳	***۱/۰±۳۴/۰۴

سطح معنی‌داری با *** $P < 0.001$: * $P < 0.05$ و ** $P < 0.01$ نشان داده شده است

مقایسه بافتی در گروه‌های مختلف با کمک آنالیز واریانس یکطرفه انجام شد. در گروه دیابتی بدلیل آسیب‌های دیابت از جمله تولید رادیکال آزاد سبب کاهش پارامترهای سلول‌های اسپرم ساز می‌شود و عصاره آبی گل بنفشه این عوارض را با تحریک اسپرماتوژنر تصحیح نمی‌کند. ارتباط منطقی بین تمامی پارامترها گویای این است که هرچه دوز دارو افزایش یافت تعداد سلولهای اسپرم ساز کاهش یافت که این نشان دهنده بی تاثیر بودن دارو بر آسیب‌های حاصل از دیابت هست.

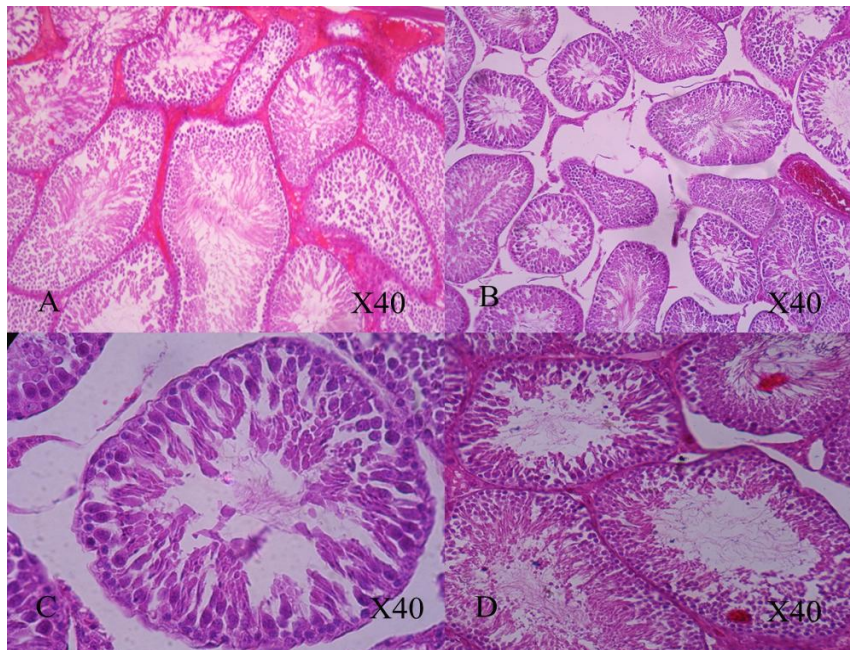
جدول ۲- مقایسه حجم بیضه و طول بیضه و قطر بیضه و وزن بیضه در بین گروه شاهد و گروه‌های تجربی

متغیرها	شاهد	دیابتی	تجربی ۱	تجربی ۲
وزن بیضه (g)	۱/۰±۹/۰۲	***۱/۰±۴/۰۴۸	***۱/۰±۲/۰۴	***۰/۰±۹۸/۰۳
قطر بیضه (mm)	۱/۰±۴/۰۴	***۰/۰±۹۸/۰۵۳	***۰/۰±۸/۰۵۸	***۰/۰±۷/۰۴
طول بیضه (mm)	۲/۰±۴/۰۶	***۱/۰±۵/۰۷	***۱/۰±۲/۰۴	***۰/۰±۱/۰۱
حجم بیضه (cm ³)	۲±۰/۱۵	***۱/۰±۲/۰۸	***۰/۹۸±۰/۱۴	***۰/۹۶±۰/۰۹

سطح معنی‌داری با *** $P < 0.001$: * $P < 0.05$ و ** $P < 0.01$ نشان داده شده است

افزایش در ضخامت غشای پایه در گروه دیابتی نسبت به شاهد دیده شد. همچنین با توجه به بررسی انجام شده مشخص شد که آتروفی توبول‌های سمینیفروس در موش‌های صحرایی دیابتی افزایش شدیدی یافته و همچنین با مصرف عصاره آبی گل بنفشه از میزان این آسیب‌ها کاسته نمی‌شود. همچنین کاهش معنی‌داری در وزن، قطر، طول و حجم بیضه‌ها ($P < 0.01$) در گروه تجربی ۱ و ۲ نسبت به گروه دیابتی مشاهده نگردید.

همچنین کاهش معنی‌داری در وزن، قطر، طول و حجم بیضه‌ها ($P < 0.01$) در گروه دیابتی نسبت به شاهد دیده شد. همچنین با توجه به بررسی انجام شده مشخص شد که آتروفی توبول‌های سمینیفروس در موش‌های صحرایی دیابتی افزایش شدیدی یافته و همچنین با مصرف عصاره آبی گل بنفشه از میزان این آسیب‌ها کاسته نمی‌شود. همچنین کاهش معنی‌داری در وزن، قطر، طول و حجم بیضه‌ها ($P < 0.01$) در گروه تجربی ۱ و ۲ نسبت به گروه دیابتی مشاهده نگردید.



شکل ۱- A- لوله اسپرم ساز و سلول سرتولی را در گروه شاهد نشان می‌دهد. B- چروکیده شدن لوله اسپرم ساز، افزایش فضای بینابینی و کاهش سلول‌های زاینده و سلول‌های سرتولی را در گروه دیابتی نشان می‌دهد. C و D- کاهش قطر لوله‌های اسپرم ساز و افزایش سلول‌های سرتولی و کاهش چشمگیر فضای بینابینی نسبت به دیابتی را در گروه تجربی ۱ و ۲ نشان می‌دهد.

بحث

نتایج آزمایش‌های ایمونو سیتو شیمی نشان داد که تیمار طولانی مدت عصاره آبی گل بنفشه به حیوانات دیابتی، موجب بهبود آسیب‌های بیضه‌ای اعم از بررسی‌های میکروسکوپی و میکروسکوپی (جداول ۱ و ۲) ناشی از دیابت در مقایسه با موش‌های دیابتی بدون هیچ تیماری نشده است.

دیابت نوع ۱ و ۲ در دراز مدت می‌تواند باعث عوارض عروقی ماکروواسکولار (عوارض عروق بزرگ) و میکروواسکولار (عوارض عروق ریز) شوند. از عوارض عروق ریز حاصل می‌توان به نفروپاتی (عوارض کلیوی)، رتینوپاتی (عوارض ته چشم) و نوروپاتی (عوارض عروق ریز خونسران به اعصاب) اشاره کرد (۵).

عوارض عروق بزرگ یا ماکروواسکولار نیز بر عروق قلب، مغز و پا اثر می‌گذارد. هر دو این عوارض می‌توانند سلامت جنسی بیماران دیابتی را مختل کنند؛ برای مثال عارضه نوروپاتی، سیستم اعصاب محیطی را درگیر می‌کند و از این طریق توانایی نعوظ فرد را کاهش می‌دهد. همچنین باعث کاهش قدرت یا میل جنسی در خانم‌های دیابتی می‌شود. عوارض عروق بزرگ نیز با کاهش خون‌رسانی به آلت جنسی باعث اختلال نعوظ در آقایان و کاهش قدرت جنسی در خانم‌ها می‌شود. اختلالات هورمونی حاصل از دیابت هم بر قدرت جنسی تاثیرگذارند. ثابت شده است بیماری دیابت باعث کاهش سطح هورمون‌های جنسی چه در مردها و چه در خانم‌ها می‌شود.



بیشتر مطالعات در دنیا نشان داده‌اند سطح تستوسترون در مردهای دیابتی به طور معنی‌داری پایین‌تر از مردان غیردیابتی است (۶).

مصرف عصاره آبی گل بنفشه سبب کاهش معنی‌داری در میزان انسولین خون در اثر تزریق STZ در گروه دیابتی نسبت به شاهد نشده است. همچنین تاثیر درمان‌کننده گل بنفشه به عنوان یک آنتی‌اکسیدان در جلوگیری از آتروفی توپول سمینیفروس، دژنه شدن سلول‌های زاینده و افزایش ضخامت دیواره توپول سمینیفروس مطابقت نداشت، عصاره آبی گل بنفشه سیستم آنتی‌اکسیدانی داخلی را تحریک نکرد و اگر تحریکی داشته بسیار ناچیز می‌باشد.

در کل آنتی‌اکسیدان‌ها فعالیت گلوکوتایون پراکسیداز، گلوکوتایون S- ترانسفراز، سوپراکسیددسموتاز و دیگر تیول‌ها را در خون، کبد و کلیه افزایش داده و همچنین فعالیت گلوکوتایون پروکسیداز و کاتالاز را در بیضه افزایش می‌دهد که در پژوهش حاضر چنین افزایشی را شاهد نبودیم (۷).

میزان اسپرماتوسیت در گروه دیابتی کاهش پیدا نموده است (تصویر B) و درگروه دیابتی + عصاره نیز کاهش معنی‌دار مشاهده شده (تصاویر C و D) که می‌تواند به این علت باشد که کاهش هورمون تستوسترون در کاهش سلول‌های اسپرماتوسیت در گروه درمانی موثر بوده است.

میزان اسپرماتید و اسپرم در گروه دیابتی نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌دار پیدا نموده است (جدول ۱). که این می‌تواند به این دلیل باشد که بعد از دوران بلوغ سلول‌های سرتولی هیچگونه تقسیمی نمی‌شوند. هریک از این سلول‌ها در تماس با بیشتر از پنج سلول دیگر بوده و در مرحله از اسپرماتوژنز تقریباً با ۴۷ سلول جنسی مرتبطند.

فرایندهای خارج سیتوپلاسمی و محیطی سلول‌های سرتولی در سلول‌های جنسی باعث می‌شود که غشای پلاسمای سلول‌ها حالت مختلط پیدا کند. همچنین سلول

های سرتولی در حین اسپرماتوژنز دچار تغییرات منظمی در هسته و شکل ظاهری خود می‌شوند بطوریکه اندازه آنها، غلظت لیپید و گلیکوژن موجود، عمل میتوکندری‌ها، محتوای آنزیمی این سلول‌ها و استتاله‌های سیتوپلاسمی مربوط به آنها تغییر می‌کند (۸). این تغییرات، به علت درگیر بودن سلول‌های سرتولی در پردازش و ایجاد تحولات در سلول‌های جنسی به وجود می‌آیند. بطوریکه در سلول‌های سرتولی توانایی پاسخ به پیامدهای سلول‌های جنسی افزایش می‌یابد. استتاله‌های سیتوپلاسمی سلول‌های سرتولی از غشاء پایه تا قسمت مجرای لوله‌های مولد منی گسترده می‌شود که در این مسیر، اشکال و مراحل مختلف مربوط به سلول‌های جنسی وجود دارند (۹). به تناسب اینکه اسپرماتوسیت‌ها به وجود می‌آیند، ارتباطات مستحکم جدیدی بین سلول‌های سرتولی به وجود می‌آیند و ارتباطات مستحکم قبلی در قسمت جلوی آنها از یکدیگر باز می‌شوند بدین ترتیب اسپرماتوسیت‌ها از بخش پایه به بخش جنب مجرای انتقال می‌یابند بدون اینکه در تمامیت سدخونی- بیضه‌ای اختلال به وجود آید. سیتوپلاسم سلول‌های سرتولی به صورت یک صافی عمل می‌کند و فقط به بعضی از مواد اجازه عبور می‌دهد. این مواد احتمالاً آنهایی هستند که برای اسپرماتوژنز مفید می‌باشند (۹).

در این بررسی کاهش معنی‌داری در وزن بدن، حجم، طول، قطر و وزن بیضه در گروه دیابتی نسبت به شاهد مشاهده شد (۱۰) و مصرف دراز مدت عصاره آبی گل بنفشه باعث کاهش معنی‌دار وزن بدن، حجم، طول، قطر و وزن بیضه می‌شود که بدلیل کاهش هورمون تستوسترون می‌باشد (جدول ۲).

محمود حسین و همکارانش نشان دادند که یک دوز بالا و منفرد ملاتونین معادل ۱۰۰ mg/kg.ip از تخریب پوست موش‌های صحرایی متعاقب تابش اشعه X جلوگیری می‌



کند، که نتایج آنها نیز با پروژه حاضر همخوانی ندارد (۱۲).

یافته‌های کللیان مقدم و همکاران در مطالعه‌ای تحت عنوان اثر بربرین هیدروکلراید بر آسیب بیضه‌ای در موش‌های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوتوسین، حاکی از این بود که بربرین با توانایی کاهش قند خون، پیشگیری و بهبود استرس‌های اکسیداتیو، در بهبود آسیب‌های بیضه‌ها ناشی از دیابت نقش‌ی درمانی ایفا می‌کند که با نتایج حاصل از پژوهش حاضر همخوانی ندارد (۱۳).

سانجوی^۱ و همکارانش در مطالعه‌ای که انجام دادند اظهار داشتند که با بالا رفتن قند خون در بیمار دیابتی گلوکاتیون در سلول‌های میتوکندری کاهش می‌یابد و باعث افزایش میزان تولید رادیکال‌های آزاد می‌شود، که با نتایج حاصل از پروژه حاضر همخوانی دارد.

با توجه به پژوهش حاضر مصرف عصاره آبی گل بنفشه اثرات سوء بر دستگاه تناسلی نر در موش‌ها دارد. این اثرات با کاهش وزن بیضه‌ها و ایدیدم و کاهش میزان تستوسترون سرم مشخص گردید.

به طور کلی، دیابت با ایجاد رادیکال‌های آزاد و استرس اکسیداتیو منجر به اکسیداسیون لیپیدها، پروتئین‌ها و DNA گردیده، متعاقباً آسیب گسترده‌ای را در بیضه‌ها ایجاد می‌کند. دیابت شیرین تغییرات بافتی بیضه‌ای را از طریق ایجاد مرگ سلولی آپوپتوزی، آتروفی توبول‌های سمینیفروس، کاهش قطر توبول و کاهش مجموعه‌های سلولی اسپرماتوژنیک ایجاد نموده است (۱۲ و ۱۳). لذا آتروفی لوله‌های اسپرم ساز و کاهش سلول‌های اسپرماتوژنیک نشانه مورفولوژیک اختلال در اسپرماتوژنز محسوب می‌شوند که هدف از این تحقیق کاهش آسیب

های بیضه‌ای ناشی از دیابت به وسیله مصرف دوزهای مختلف عصاره آبی گل بنفشه بوده است (۱۲ و ۱۶).

بیماری دیابت باعث افزایش استرس اکسیداتیو و ایجاد اکسیژن فعال شده و منجر به آسیب‌های سلولی از طریق پر اکسیداسیون چربی‌ها و تخریب اکسیداتیو پروتئین‌ها و DNA می‌شوند (۱۱).

با توجه به پژوهش حاضر مصرف عصاره آبی گل بنفشه اثرات سوء بر دستگاه تناسلی نر در موش‌ها دارد. این اثرات با کاهش وزن بیضه‌ها و ایدیدم و کاهش میزان تستوسترون سرم مشخص گردید.

همچنین مصرف عصاره فوق موجب بروز ضایعات هیستوپاتولوژیک در بیضه همانند دژنراسیون لوله‌های منی ساز و کاهش سلول‌های زایا می‌شود که عمدتاً به علت کاهش هورمون تستوسترون می‌باشد. آژول‌ها با مهار سنتز آنزیم استرول ۱۴-آلفا دمتیلاز از تولید ارگوستیترول غشایی ضروری در ساختار غشا توبول ممانعت می‌کند. مشخص گردیده که سکانس DNA آنزیم فوق در بسیاری از قارچ‌ها شبیه سکانس آن در موش صحرایی، خوک و انسان است. این آنزیم در پستانداران لانوسترول را به استرول‌های فعال کننده میوز MAS تبدیل می‌کند. اخیراً مشخص شده که MAS، رشد و نمو سلول‌های زایا را در حیوان نر و ماده تعدیل می‌کند. در موش صحرایی ظهور آنزیم استرول ۱۴-آلفا دمتیلاز در اسپرماتیدها مشاهده می‌شود. در بیضه صحرایی بالغ مقادیر بسیار فراوانی از MAS یافت می‌شود (۱۳).

آنزیم دیگری که تحت تاثیر ترکیبات آژولی قرار می‌گیرد، آروماتاز می‌باشد. آروماتاز بطور برگشت‌پذیر می‌تواند به وسیله ترکیبات آژول مهار شود. آروماتاز یکی از آنزیم‌های شرکت کننده در روند استروئیدوژنز است و دمتیلاسیون

¹Sanjoy



اکسیداتیو استرول‌ها را تسهیل می‌کند. آنزیم آروماتاز با دمتیله کردن C10 بطور اختصاصی باعث سنتز آندروستندیون و تستوسترون می‌شود. اثر مهاری عصاره گل بنفشه روی ترشح تستوسترون ممکن است به واسطه اثرات مهاری رادیکال‌های آزاد (ROZ) روی آنزیم‌های استروئیدوژن بیضوی باشد (۱۴). گل بنفشه آسیب‌های اکسیداتیو مشخص در لیپیدهای بیضه و تغییراتی در میزان آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی مثل کاتالازها و سوپر اکسید دسموتازها ایجاد می‌کند.

با توجه به تحقیقات گذشته عصاره آبی گل بنفشه دارای فعالیت آرامشی و ضد استرس می‌باشد که فرض بر این بود است که با توجه به خواص آرام‌بخشی، کاهش اسپرماتوژن را مشاهده کنیم و در راستای اثبات چنین هدفی برای از بین بردن اثرات مخرب دیابت به بررسی اثرات آن بر بافت بیضه در موش‌های سالم و دیابتی به منظور مقایسه با هم، پرداختیم. در این مطالعه دارو با روش گاواژ به مدت ۳۵ روز به موش‌ها داده شده است، که در روش گاواژ بدلیل فراهمی زیستی دیرتر مناسب‌ترین زمان ۳۵ روز می‌باشد و نسبت به روش تزریق زیر جلدی

یا درون صفاقی در بدن مدت طولانی‌تری اثر خود را می‌گذارد (۵).

نتیجه‌گیری

بطور خلاصه نتایج این مطالعه نشان داد که تجویز طولانی مدت عصاره آبی گل بنفشه باعث کاهش اسپرماتوژن و شاخص‌های آن در بافت بیضه موش صحرایی نر گردید. البته اثر این دارو در روند اسپرماتوژن و ناباروری انسان و حیوانات دیگر نیاز به مطالعات بیشتر دارد. از نقاط ضعف پژوهش حاضر می‌توان به عدم بررسی و آزمایش، فعالیت ضد رادیکال آزاد گل بنفشه و همچنین عدم مقایسه این دارو با دیگر آلوئیدها، اشاره کرد.

از نقاط قوت مطالعه نیز می‌توان به تعداد جامعه آماری مناسب طبق مقالات قبلی و روش گاواژ برای پرداخت دارو اشاره کرد، چرا که در روش گاواژ داروها با فاصله زمانی مناسب اعمال اثر در بدن می‌کنند.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله نویسندگان مقاله از تمام افرادی که در این پژوهش ما را از دانش خود بهرمند کرده اند کمال تشکر را داریم.

References

- 1- Nakamura U, Iwase M, Uchizono Y, Sonoki K, Sasaki N, Imoto H, *et al.* Rapid intracellular acidification and cell death by H₂O₂ and alloxan in pancreatic β cells. *Free Radic Biol Med* 2006; 40(11):2047-55.
- 2- Alipanah H, Bigdeli M R, Esmaeili MA, Akbari ME. Effect of Viola odorata Extract on cell survival of triple negative breast cancer MDA-MB-468 cells. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2016; 25(132):186-99. [Persian]
- 3- Isah AB, Ibrahim YK, Abdulrahman EM, Ibrahim MA. The hypoglycaemic activity of the aqueous extract of *Stachytarpheta angustifolia* (Verbanaceae) in normoglycaemic and alloxan-induced diabetic rats. *Pak J Biol Sci* 2007; 10(1):137-41.
- 4- Wändell PE. Quality of life of patients with diabetes mellitus. An overview of research in primary health care in the Nordic countries. *Scand J Prim Health Care* 2005; 23(2):68-74.
- 5- Li WL, Zheng HC, Bukuru J, De Kimpe N. Natural medicines used in the traditional Chinese medical system for therapy of diabetes mellitus. *J Ethnopharmacol* 2004; 92(1):1-21.
- 6- Clark AM. Natural Products as a resource from new drugs. *Pharm Res* 1996; 13(8):1133-44.
- 7- Dhandapani S, Subramanian VR, Rajagopal S, Namasivayam N. Hypolipidemic effect of *Cuminum cyminum* L. on alloxan-induced diabetic rats. *Pharmacol Res* 2002; 46(3):251-5.
- 8- Joushaghani HR, Jalali M, Lotfi AS, Javadi E, Bandegi AR. Comparison of the ornithine carbamyltransferase with aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase in patient with liver diseases. *J Gorgan Univ Med Sci* 2002; 4(2):25-9. [Persian]
- 9- Sotudeh M, Kosari F, Bahraminezhad M, Sajadi SA. [Survey of the relationship between serum levels of AST



- and AIT-grade inflammation in the liver of patients with chronic viral hepatitis]. URMIA MED J 2001; 12(1):24-31. [Persian]
- 10- Corder R, Warburton RC, Khan NQ, Brown RE, Wood EG, Lees DM. The procyanidin-induced pseudo laminar shear stress response: a new concept for the reversal of endothelial dysfunction. Clin Sci (Lond) 2004; 107(5):513-7.
- 11- Zhang FL, Gao HQ, Wu JM, Ma YB, You BA, Li BY, *et al.* Selective inhibition by grape seed proanthocyanidin extracts of cell adhesion molecule expression onuced by advanced glycation end products in endothelial cells. J cardiovasc Pharmacol 2006; 48(2):47-53.
- 12- Hussein MR, Abu-Dief EE, Abd el-Reheem MH, Abd-Elahman A. Ultrastructural evaluation of the radioprotective effects of melatonin against X-ray -induced skin damage in Albino rats. Int J Exp Pathol 2005; 86(1):45-55.
- 13- Molzemi S, Shiravi A, Kalalian Moghadam H, Babakhani A, Ghanbari F. Effect of chronic administration of melatonin on testicular damage in streptozotocin- induced diabetic male rat. Knowledge & Health 2012; 7(3):136-40.
- 14- Bolbol Haghighi N, Molzemi S, Goli Sh, Mohammad Sadeghi H, Aminian M. The effect of hydroalcoholic extract of ziziphora clinopodioides lam on testicular damage caused by diabetes mellitus in male rats. JBUMS 2017; 19(12):43-9.