

بررسی اثر عصاره خارخاسک بر اسپرماتوژنز رت

نویسندگان:

حجت اله کریمی جشنی¹، سمیرا ملک زاده شیروانی^{2*}، فرهنگ هوشمند³

1- بخش آناتومی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جهرم، جهرم، ایران

2- بخش زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد جهرم، جهرم، ایران

3- بخش پاتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جهرم، جهرم، ایران

* نویسنده مسئول، آدرس: جهرم، میدان شهید چمران، بلوار رضوان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد جهرم، صندوق پستی: 355/74135
تلفن تماس: 2- 0791-4447001 پست الکترونیک: s.malekzade.bio.ir@gmail.com

چکیده:

مقدمه: بر اساس باور پیشینیان، گیاه خارخاسک علاوه بر دارا بودن خواص دارویی فراوان، عملکرد و میل جنسی در مردان را نیز افزایش می دهد. از آن جایی که سودمندی داروهای گیاهی باید با ارزیابی های آزمایشگاهی و بالینی مختلف اثبات شود، پژوهش حاضر با هدف بررسی اثر عصاره هیدروالکلی این گیاه بر اسپرماتوسیت های اولیه در رت ها انجام شد.

روش کار: در این مطالعه تجربی از 35 سر رت نر بالغ از نژاد ویستار، با وزن متوسط 180 ± 10 گرم و سن 2-3 ماه استفاده شد. رت ها به طور تصادفی به پنج گروه هفت تایی شامل گروه کنترل، گروه شاهد (دریافت 2/5 میلی لیتر نرمال سالین) و گروه های تجربی 1 و 2 و 3 (دریافت به ترتیب دوزهای 2,5، 5 و 10 میلی گرم بر کیلو گرم وزن بدن عصاره خارخاسک به روش خوراکی، به صورت روزانه و به مدت هشت هفته) تقسیم شدند. یک روز پس از آخرین درمان، با کشتن رت ها، بیضه آن ها خارج و پس از ثبوت بافتی، از آنان مقاطع تهیه و با کمک میکروسکوپ نوری بررسی شدند. داده های بدست آمده با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه تحلیل شدند.

یافته ها: نتایج نشان داد که میانگین تعداد اسپرماتوسیت های اولیه در گروه تجربی 3 در مقایسه با گروه کنترل افزایش معناداری پیدا کرده است ($p < 0.01$). اما عصاره خارخاسک بر میانگین تعداد اسپرماتوسیت های اولیه در گروه های تجربی 1 و 2 اثری نداشته است.

بحث و نتیجه گیری: نتایج نشان می دهد که عصاره خارخاسک با تاثیر بر اسپرماتوسیت های بیضه می تواند به عنوان تعدیل کننده فعالیت های دستگاه تولید مثل جنس نر عمل کند و احتمالاً در درمان ناباروری های مردانه نیز موثر باشد.

واژگان کلیدی: خارخاسک، اسپرماتوسیت اولیه، رت

مقدمه:

گیاه خارخاسک با نام علمی تریبولوس ترسترپس (Tribulus terrestris)، مشهور به Puncture vine، یک گیاه یک ساله خوابیده بومی است که در نواحی مدیترانه ای و نواحی گرم اروپا، آسیا، آمریکا، آفریقا و استرالیا به طور گسترده پراکنده شده است [1]. این گیاه در طب سنتی چین، هند، عراق، بلغارستان، جنوب آفریقا و همچنین ایران کاربرد بسیار داشته است. مطالعات نشان می دهد که گیاه خارخاسک محتوی استروئیدها، ساپونین ها، فلاونوئیدها، آلکالوئیدها، اسیدهای چرب غیر اشباع، ویتامین ها، تانن ها، رزین ها، پتاسیم نیترات، آسپارتیک اسید و گلوتامیک اسید است [2]. این گیاه دارای فواید مختلفی از جمله خاصیت ضد میکروبی، ضد باکتریایی [3 و 4]، آنتی اکسیدانی [5] و فعالیت ضد سمی [6] است و همچنین در درمان بیماری های قلبی - عروقی، دیابت، تومورها، دردهای مفصلی، بیماری های تنفسی [7] کاربرد دارد. عصاره خارخاسک توانایی بدن را برای ایجاد توده ماهیچه ای و قدرت بدنی افزایش می دهد. علاوه بر این، باعث تولید گلبول های قرمز، بهبود گردش خون و انتقال اکسیژن می شود [8]. استفاده طولانی مدت خارخاسک، باعث گشاد شدن و بهبود شریان های قلبی، بدون اثرات جانبی می شود [9]. تریستان یکی از ترکیبات خارخاسک است که اثر افزایشده میل جنسی و همچنین اثر مقابله با سرد مزاجی، ناباروری و اختلالات یائسگی دارد [10]. محققان نشان داده اند که دیوسین موجود در خارخاسک از طریق افزایش سطوح تستوسترون آزاد و تنظیم استروژن، پروژسترون و پرگنولون باعث افزایش توانایی جنسی در مردان می شود [11]. این گیاه به دلیل دارا بودن پروتودیوسین ها و ساپونین ها که موجب افزایش سطوح تستوسترون و LH می شود، از دیر باز در طب سنتی چین و هند در درمان ناتوانی های جنسی و افزایش میل جنسی کاربرد داشته است [12]. در مطالعه ای نشان داده شده است که خارخاسک تاثیری روی اندام های حساس به غدد درون ریز مانند پروستات، کیسه منی، رحم و واژن در رت های نر و ماده ندارد [13]. از طرفی مصرف خارخاسک همراه با سایر گیاهان دارویی باعث بهبود نعوظ و رفتار جنسی در رت شده است [14]. در مطالعه ای مصرف خارخاسک در رت، خرگوش و پریمات باعث افزایش هورمون های جنسی شده است [15] با توجه به یافته های این مطالعات مبنی بر این که مصرف خارخاسک افزایش هورمون های جنسی، بهبود رفتار جنسی و نعوظ را به دنبال دارد، احتمال می رود که این گیاه بتواند بر روند اسپرماتوژنز نیز موثر باشد. نظر به این که تا کنون گزارشی مبنی بر اثر عصاره خارخاسک بر بافت

بیضه ارائه نشده است، مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر خارخاسک بر بافت بیضه در رت ها انجام شد.

روش کار:

در این مطالعه تجربی از 35 سر رت نر بالغ نژاد ویستار، با وزن متوسط 180 ± 10 گرم و سن 2-3 ماه استفاده شد. رت ها از مرکز انیستو پاستور رازی تهیه شدند. این مطالعه در خانه حیوانات دانشکده پزشکی شیراز در سال 1389 انجام شد. در طول زمان تحقیق، شرایط نوری به صورت 12 ساعت روشنایی و 12 ساعت تاریکی، دمای اتاق 22-24 درجه سانتی گراد و رطوبت 55-60 درصد تنظیم شد. تمامی حیوانات حاضر در تحقیق مطابق قانون حمایت از حیوانات از چرخه حیات ساقط شدند [16].

رت ها به طور تصادفی به 5 گروه 7 تایی شامل گروه کنترل (دریافت فقط آب و غذای فشرده)، گروه شاهد (دریافت 2/5 میلی لیتر نرمال سالین) و گروه های تجربی 1 و 2 و 3 (دریافت به ترتیب دوزهای 2/5، 5 و 10 میلی گرم بر کیلو گرم وزن بدن عصاره خارخاسک [15])، به روش خوراکی، به صورت روزانه و به مدت 8 هفته تقسیم شدند. یک روز پس از آخرین دریافت عصاره، رت ها با اتر بی هوش و با باز کردن ناحیه صفاقی از طریق شکاف عرضی شکمی بیضه آن ها خارج شد. سپس بیضه ها در فرمالین 10 درصد قرار داده شدند. پس از ثبوت بافتی و غالب گیری، از آنان مقاطع بافتی به ضخامت 5 میکرون تهیه و با هماتوکسیلین-ائوزین رنگ آمیزی شدند. مقاطع بافتی تهیه شده در زیر میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرار گرفتند. اسپرمتوسیت های اولیه در مقاطع عرضی لوله های اسپرم ساز با سطح مقطع یکسان (10 مقطع در هر گروه) در تمام گروه ها شمارش شد.

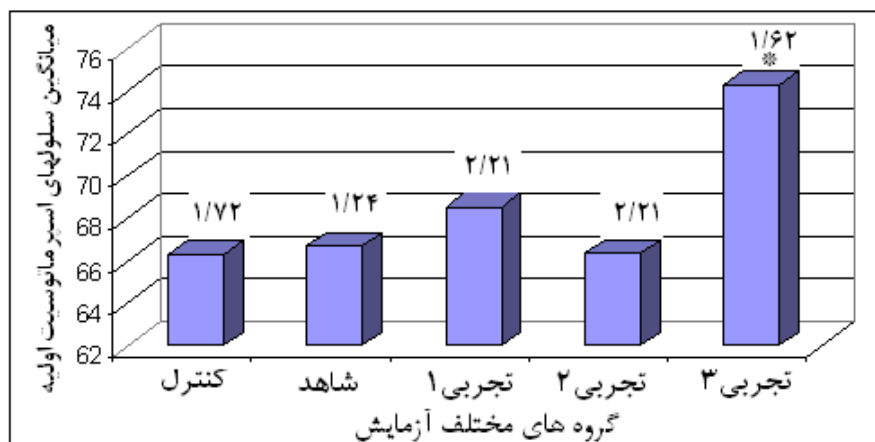
روش تهیه عصاره میوه گیاه خارخاسک: گیاه خارخاسک از عطاری مورد تأیید دانشگاه شیراز خریداری شد. میوه گیاه توسط دستگاه آسیاب و به شکل پودر در آورده شد. مقدار 100 گرم از پودر گیاه در 80cc هیدروالکل 70 درصد در دستگاه پرکولاسیون به مدت 72 ساعت در دمای آزمایشگاه نگهداری و سپس عصاره آن گرفته شد. با جداسازی حلال عصاره با دستگاه بن ماری و سپس خشک کردن در خلا در دستگاه دسیکاتور به مدت 24 ساعت، 10/5 گرم عصاره خشک کریستالی بدست آمد.

تجزیه و تحلیل داده ها: داده های بدست آمده برای هر گروه با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه توسط نرم افزار آماری SPSS در سطح معناداری $P < 0/01$ تحلیل آماری شدند.

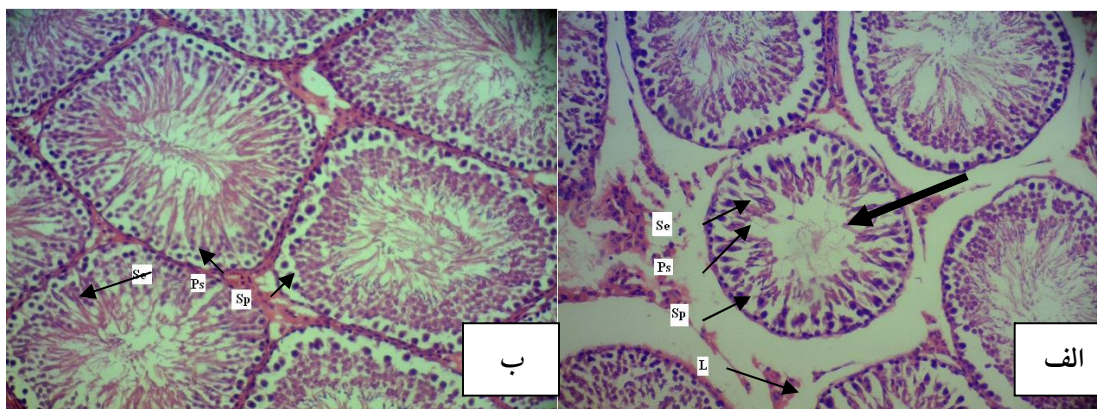
یافته ها:

نتایج این مطالعه تجربی که روی 35 سر رت نر انجام گرفت در نمودار 1 نشان داده شده است. نتایج نشان داد که میانگین تعداد اسپرماتوسیت های اولیه در گروه تجربی 3 (دوز 10 میلی گرم بر

کیلو گرم) در مقایسه با گروه کنترل افزایش معناداری پیدا کرده است ($P < 0/01$). اما عصاره خارخاسک بر میانگین تعداد اسپرماتوسیت های اولیه گروه های تجربی 1 و 2 در مقایسه با گروه کنترل افزایش معناداری نداشته است.



نمودار 1: اثر مقادیر مختلف عصاره خارخاسک بر میانگین تعداد اسپرماتوسیت های اولیه در رت
علامت * نشان دهنده اختلاف معنادار ($P < 0/01$) و همچنین اعداد بالای هر ستون نشان دهنده خطای معیار آن می باشد.



الف) گروه کنترل در بزرگنمایی $\times 400$ ب) گروه تجربی 3 (10 mg/kg) در بزرگنمایی $\times 400$

شکل 1: فتومیکروگراف سلول های اسپرماتوسیت اولیه در مقطع عرضی لوله های اسپرم ساز Sp: اسپرماتوگونی، Ps: اسپرماتوسیت اولیه، Se: سرتولی، L: لایدیگ. به خالی بودن اسپرماتیدها در توبول در شکل الف توجه کنید.

بحث و نتیجه گیری:

در مطالعه حاضر، میانگین تعداد اسپرماتوسیت های اولیه در گروه تجربی 3 (دوز 10 میلی گرم بر کیلو گرم) در مقایسه با گروه کنترل افزایش معناداری پیدا کرده است ($P < 0/01$). امروزه تحقیقات وسیعی در دنیا در زمینه استفاده از گیاهان دارویی در ارتباط با درمان ناتوانی های جنسی انجام گرفته است. بر اساس کتب طب

سنتی، این احتمال وجود دارد که استفاده از گیاهان دارویی باعث افزایش باروری شود [17]. مطالعات نشان داده است که عصاره الکلی قسمت هایی از گیاه هم خانواده خارخاسک در دوز 50 میلی گرم بر کیلوگرم باعث افزایش معنادار سطح تولید سرم تستوسترون آزاد در بدن می شود. همچنین این عصاره دارای فعالیت آفرودیتی است که احتمالاً منجر به افزایش آندروژن ها می شود [18].

از این رو قادر به بهبود عملکرد جنسی از جمله افزایش تولید اسپرم، بهبود عملکرد نعوظ و افزایش میل جنسی می شود [23]. فروستانول یکی از ساپونین های خارخاسک است که اثر محرک بر اسپرماتوژنز دارد. این ماده باعث بهبود معنادار کیفیت و کمیت اسپرم می شود [24].

نتیجه گیری: به طور کلی با توجه به نتایج مطالعه حاضر، فقط دوز 10 میلی گرم بر کیلوگرم باعث افزایش میانگین تعداد اسپرماتوسیت های اولیه در رت می شود. لذا پیشنهاد می شود اثر این گیاه در مقادیر دوزهای بیش تر و روی رت های عقیم شده نیز بررسی شود.

References:

1. Frohne, D. Ein neues dopingmittel. Deutsche Apotheker Zeitung 1999; 49: 4752-4.
2. Yan W, Ohtani K, Kasai R, et al. Steroidal saponins from fruits of *Tribulus terrestris*. Phytochem 1996; 42(5): 1417-22.
3. Firas A, Bayati AL, Hassan F, et al. Antibacterial and antifungal activities of different parts of *Tribulus terrestris* L. growing in Iraq. J Zhejiang Univ Sci B 2008; 9(2): 154-9.
4. Kianbakht S, Jahaniani F. Evaluation of antibacterial activity of *Tribulus terrestris* L. growing in Iran. Iranian J Pharmacol Ther 2003; 2: 22-4.
5. Kadry H, Abou BL, El Gindi O, et al. Antioxidant activity of aerial parts of *Tribulus alatus* in rats, Pak J Pharm Sci, 2010; 23(4):59-62.
6. Puri, HS. Vegetable aphrodisiacs of India. Q J Crude Drug Res 1971; 11: 1742-48.
7. Nikolov, B. *Tribulus terrestris*-killer of cholesterol, Sofia, 2007; 24.
8. Arsyad, KM. Effect of protodioscin on the quality and quantity of sperms from males with moderate idiopathic oligozoospermia, Medica 1996; 22: 614-8.
9. Wang B, Ma L, Lim T. 406 cases of angina pectoris in coronary heart diseases treated with saponin of *Tribulus terrestris*. Zhong Xi Yi Jieh He Za Zhi 1990; 10(2): 85-7. (Chinese)
10. Tomova, M. Tribestan. Pharmacy 1987; 37(6): 40-2.
11. CHEMEXCIL. *Tribulus terrestris* L. (N.O. Zygophyllaceae). Selected medicinal plants of India. A monograph of identity, safety and clinical usage. Tata Press; 1992: 323-6.
12. Koumanov F, Bozadjieva E, Andreeva M, et al. Clinical trial of Tribestan. Exp Med 1982; 4: 211-5.
13. Martino-Andrade AJ, Morais RN, Spencoski KM, et al. Effects of *Tribulus terrestris* on endocrine sensitive organs in male and female Wistar rats. J Ethnopharmacol 2010; 127(1):165-70.
14. Sang-Won P, Chan-Ho L, Dae-Hee S, et al. Effect of SA1, a Herbal formulation, on sexual behavior and penile

مطالعه دیگری که بر روی گوسفندان انجام گرفته است، نشان می دهد دریافت عصاره خارخاسک به میزان 1/5 گرم به مدت 40 روز موجب افزایش اسپرماتوژنز در گوسفندان در طول فصل تولید مثل شده است. به علاوه تعداد اسپرماتوزوئیدها، مدت زیست پذیری و تحرک اسپرم ها نیز افزایش یافته و در دام های تازه متولد شده از گوسفندان تحت درمان با عصاره خارخاسک، از نظر میل جنسی و رفتارهای جنسی بهبودی چشمگیری حاصل شده است [19]. همچنین عصاره خارخاسک تاثیر مثبت بر خصوصیات کیفی و کمی اسپرم، مقدار کلسترول کل و افزایش حجم انزال و تحرک اسپرماتوزوئید ها در پرندهگان دارد به طوری که کلسترول کل سرم را به میزان 9/24 درصد در مقایسه با گروه کنترل کم تر می کند [20]. مطالعات نشان می دهند که عصاره خارخاسک باعث بهبود نعوظ و رفتار جنسی در رت و افزایش هورمون های جنسی در رت، خرگوش و پریمات شده است [14 و 15].

نتایج مطالعه حاضر نشان داد میانگین تعداد سلول های اسپرماتوسیت اولیه در گروه تجربی 3 (دوز 10 میلی گرم بر کیلو گرم) نسبت به گروه کنترل افزایش معناداری یافته است ($P < 0/01$). هورمون FSH تاثیر مستقیم روی تولید اسپرماتوسیت ها دارد به طوری که با کاهش و افزایش ترشح این هورمون، تعداد این سلول ها نیز کم و زیاد می شود. در مطالعه ای که با هدف بررسی نقش هورمون های FSH و تستوسترون روی فرآیند اسپرماتوژنز و مرگ سلولی سرتولی انجام شده است مشخص شد که این هورمون به تنهایی نقش تشدید کننده در فرآیند اسپرمیوژنز دارد. به علاوه تستوسترون باعث تأخیر در مرگ سلول سرتولی شده که خود باعث تغییرات در کل فرآیند اسپرماتوژنز می شود [21]. بنابر این افزایش اسپرماتوسیت اولیه در مراحل اولیه و میانی فرآیند اسپرماتوژنز متأثر از افزایش معنادار تستوسترون می باشد و به میزان زیادی مستقل از هورمون FSH عمل می کند. از سوی دیگر، گیاه خارخاسک به دلیل داشتن گلیکوزیدهای استرادیول که مهم ترین آن ها پروتودیوسین است موجب افزایش تستوسترون می شود. استرادیول های طبیعی در این ترکیب ممکن است به عنوان یک واسطه، مسیر تولید آندروژن از استرادیول را تسهیل کنند [22] و به این ترتیب باعث افزایش هورمون تستوسترون شوند. این هورمون نیز خود باعث افزایش روند اسپرماتوژنز می شود.

مطالعات نشان می دهند که گیاه خارخاسک به دلیل دارا بودن ساپونین ها باعث افزایش ترشح هورمون LH از غده هیپوفیز می شود. هورمون LH نیز محرک ویژه برای تولید تستوسترون است و

cholesterol content in white Plymouth rock- mini cocks. *Biotech Animal Husbandry* 2008; 24 (3-4): 139-46.

21. Tesarik J, Maurizio G, Carmen M, et al. Human spermatogenesis in vitro: respective effects of follicle-stimulating hormone and testosterone on meiosis, spermiogenesis, and sertoli cell apoptosis. *J Clin Endo Metabol* 1998; 83(12): 4467-73.

22. Ebisch IM, Thomas CM, Peters WH, et al. The importance of folate, zinc and antioxidants in the pathogenesis and prevention of subfertility. *J Hum Reprod Update* 2007; 13(2): 163-74.

23. Xu YJ, Xie SX, Zhao HF, et al. Studies on the chemical constituents from *Tribulus terrestris*. *Yao Xue Xue Bao* 2001; 36(10): 750-753. (Chinese)

24. Brown AG, Vukovich MD, Martini ER, et al. Endocrine and lipid responses to chronic androstenediol-herbal supplementation in 30 to 58 year old men. *J Am Coll Nutr* 2002; 20(5): 520-8.

erection. *Biol Pharm Bull* 2006; 29(7): 1383-6 .

15. Gauthaman K, Adaikan A, Ganesan P. The hormonal effects of *Tribulus terrestris* and its role in the management of male erectile dysfunction – an evaluation using primates, rabbit and rat. *Phytomedicine*, 2008; 15(1-2): 44-54.

16. National Institutes of Health. The principles of laboratory animal care. US: National Institutes of Health Publ; 1985: 86-92.

17. Baker ME. Endocrine activity of plant-derived compounds: an evolutionary perspective. *Proc Soc Exp Biol Med* 1995; 208(1): 131-8.

18. El-Tantawy WH, Temraz A, O, El-Gindi. Free serum testosterone level in male Rats treated with *Tribulus alatus* extracts. *Int Braz J Urol*, 2007; 33(4): 554-9.

19. Kistanova E, Zlatev H, El-Gindi ODV, et al. Effect of plant *tribulus terrestris* extract on reproductive performances of rams. *Biotech Animal Husbandry* 2005; 21(1-2): 55-63.

20. Grigorova S, Kashamov B, Sredkova V, et al. Effect of *tribulus terrestris* extract on semen quality and serum total

Investigation effect of the tribulus terrestris extract on spermatogenesis in the rat

Karimi Jashni H¹, Malekzade Shiravani S^{*2}, Hoshmand F³

1. Dept. of Anatomical Sciences, School of Medicine. Jahrom University of Medical Sciences, Jahrom, Iran
2. Dept. of Biology, Islamic Azad University, Jahrom Branch, Jahrom, Iran
3. Dept. of Pathology Sciences, School of Medicine. Jahrom University of Medical Sciences, Jahrom, Iran

Abstract:

Introduction:

The previously believed was Tribulus terrestris increase sexual function and libido in men, more than have other pharmacological properties. beneficial of herbal drug have to evidenced with clinical and bodily measure. The aim of the current study was to investigate the effect of Tribulus terrestris extract on primary spermatocyte on rat.

Material Methods:

In this experimental study used Thirty-five mature male wistar rats with average weight 180 ± 10 g and age 2-3 month, were randomly divided into five groups of seven each. Group I served as a control and group II as a vehicle group (normal saline, 2.5 ml) and groups III, IV and V were treated with three different doses of TT extract (2.5, 5 and 10 mg/kg body weight, respectively), orally, once daily for 8 weeks. After the last treatment, rats were sacrificed and their testis were removed, fixed and studied with light microscope. The data analyzed based on ANOVA test.

Results:

The results showed that the mean number of primary spermatocytes in 3th experimental group (10 mg/kg/body) compared with the control group increased significantly ($p < 0.01$). But Tribulus terrestris extract no effect on the mean number of primary spermatocytes in other experimental groups.

Conclusion: above result showed that tribulus terrestris could balance action of male reproductive system and maybe used up for treatment of male infertility, with effect on the testis spermatocyte.

Keywords: Tribulus Terrestris Extract, Primary Spermatocyte, Rat

* Corresponding author, Email: s.malekzade.bio.ir@gmail.com