

بررسی اثر عصاره خارخاسک بر اسپرما توژنر رت

نویسنده‌گان:

حجت‌الله کریمی جشنی^۱، سمیرا ملک‌زاده شیروانی^{۲*}، فرهنگ هوشمند^۳

۱- بخش آناتومی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی چهرم، چهرم، ایران

۲- بخش زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد چهرم، چهرم، ایران

۳- بخش پاتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی چهرم، چهرم، ایران

فصلنامه دانشگاه علوم پزشکی چهرم، دوره نهم، شماره چهار، زمستان ۹۰

چکیده:

مقدمه: بر اساس باور پیشینیان، گیاه خارخاسک علاوه بر دارا بودن خواص دارویی فراوان، عملکرد و میل جنسی در مردان را نیز افزایش می‌دهد. از آنجایی که سودمندی داروهای گیاهی باید با ارزیابی‌های آزمایشگاهی و بالینی مختلف اثبات شود، پژوهش حاضر با هدف بررسی اثر عصاره هیدروالکلی این گیاه بر اسپرما توژیت‌های اولیه در رت‌ها انجام شد.

روش کار: در این مطالعه تجربی از ۳۵ سر رت نر بالغ از نژاد ویستار، با وزن متوسط ۱۸۰ ± ۱۰ گرم و سن ۳-۲ ماه استفاده شد. رت‌ها به طور تصادفی به پنج گروه هفت‌تایی شامل گروه کنترل، گروه شاهد (دریافت ۲/۵ میلی لیتر نرمال سالین) و گروه‌های تجربی ۱ و ۲ و ۳ (دریافت به ترتیب دوزهای ۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم 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 رت‌ها، بیضه آن‌ها خارج و پس از ثبوت بافتی، از آنان مقاطعه تهیه و با کمک میکروسکوپ نوری بررسی شدند. داده‌های بدست آمده با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه تحلیل شدند.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که میانگین تعداد اسپرما توژیت‌های اولیه در گروه تجربی ۳ در مقایسه با گروه کنترل افزایش معناداری پیدا کرده است ($P < 0.01$). اما عصاره خارخاسک بر میانگین تعداد اسپرما توژیت‌های اولیه در گروه‌های تجربی ۱ و ۲ اثری نداشته است.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان می‌دهد که عصاره خارخاسک با تأثیر بر اسپرما توژیت‌های بیضه می‌تواند به عنوان تعديل‌کننده فعالیت‌های دستگاه تولید مثل جنس نر عمل کند و احتمالاً در درمان نایاروری‌های مردانه نیز موثر باشد.

وازگان کلیدی: اسپرما توژیت، ساپونین، باروری، رت ویستار

مقدمه:

اسید و گلوتامیک اسید است [۲]. این گیاه دارای فواید مختلفی از جمله خاصیت ضد میکروبی، ضد باکتریایی، آنتی‌اکسیدانی و فعالیت ضد سسمی است و همچنین در درمان بیماری‌های قلبی-عروقی، دیابت، تومورها، دردهای مفصلی، بیماری‌های تنفسی [۷-۳] کاربرد دارد. عصاره خارخاسک توانایی بدن را برای ایجاد توده ماهیچه‌ای و قدرت بدنی افزایش می‌دهد. علاوه بر این، باعث تولید گلbulول‌های قرمز، بهبود گردش خون و انتقال اکسیژن می‌شود [۸]. استفاده طولانی مدت خارخاسک، باعث گشاد شدن و بهبود شریان‌های قلبی، بدون اثرات جانبی می‌شود [۹]. تریبتیک

گیاه خارخاسک با نام علمی Tribulus terrestris (Puncture vine)، مشهور به پانکچر واین (terrestris)، یک گیاه یک‌ساله خوب‌بومی است که در نواحی مدیترانه‌ای و نواحی گرم اروپا، آسیا، آمریکا، آفریقا و استرالیا به طور گسترده پراکنده شده است [۱]. این گیاه در طب سنتی چین، هند، عراق، بلغارستان، جنوب آفریقا و همچنین ایران کاربرد بسیار داشته است. مطالعات نشان می‌دهد که گیاه خارخاسک محتوى استروئیدها، ساپونین‌ها، فلاونوئیدها، آکالولئیدها، اسیدهای چرب غیر اشباع، ویتامین‌ها، تانن‌ها، رزین‌ها، پتاسیم نیترات، آسپارتیک

* نویسنده مسئول، آدرس: چهرم، میدان شهید چمران، بلوار رضوان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد چهرم، صندوق پستی: ۳۵۵/۷۴۱۳۵

تلفن تماس: ۰۲-۴۴۴۷۰۰۱-۷۹۱۰۱. پست الکترونیک: s.malekzade.bio.ir@gmail.com

(دربافت فقط آب و غذای فشرده)، گروه شاهد (دربافت ۲/۵ میلی‌لیتر نرمال سالین) و گروه‌های تجربی ۱ و ۲ و ۳ (دربافت به ترتیب دوزهای ۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن عصاره خارخاسک [۱۵]، به روش خوراکی، به صورت روزانه و به مدت ۸ هفته) تقسیم شدند. یک روز پس از آخرین دربافت عصاره، رت‌ها با اتر بی‌هوش و با باز کردن ناحیه صفاقی از طریق شکاف عرضی شکمی بیضه آن‌ها خارج شد. سپس بیضه‌ها در فرمالین ۱۰ درصد قرار داده شدند. پس از ثبوت بافتی و قالب-گیری، از آنان مقاطع بافتی به ضخامت ۵ میکرون تهیه و با هماتوکسیلین - ائوزین رنگ‌آمیزی شدند. مقاطع بافتی تهیه شده زیر میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرار گرفتند. اسپرماتوسیت‌های اولیه در مقاطع عرضی لوله‌های اسپرم‌ساز با سطح مقطع یکسان (۱۰ مقطع در هر گروه) در تمام گروه‌ها شمارش شد.

روش تهیه عصاره مبوء گیاه خارخاسک: گیاه خارخاسک از عطاری مورد تائید دانشگاه شیراز خردباری شد. مبوء گیاه توسط دستگاه، آسیاب و به شکل پودر در آورده شد. مقدار ۱۰۰ گرم از پودر گیاه در ۸۰CC هیدروالکل ۷۰ درصد در دستگاه پرکولاسیون به مدت ۷۲ 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 ۲۴ ساعت، ۱۰/۵ گرم عصاره خشک کریستالی بدست آمد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها: داده‌های بدست آمده برای هر گروه با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یکطرفه توسط نرم‌افزار آماری SPSS در سطح معناداری $P<0.01$ تحلیل آماری شدند.

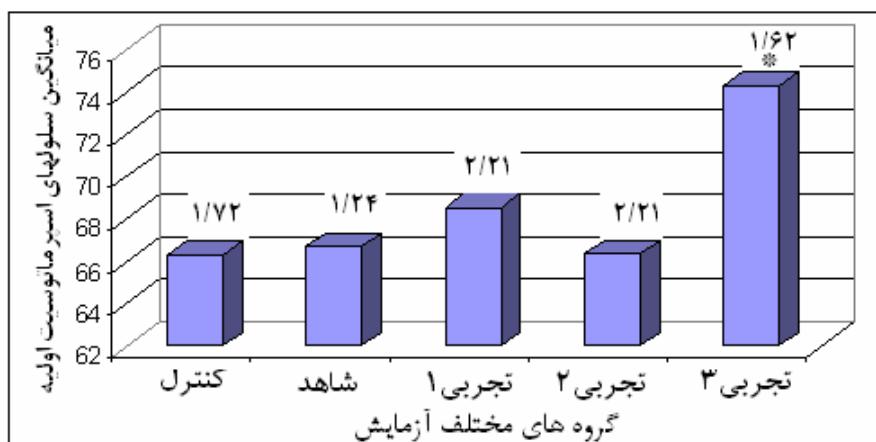
یافته‌ها:

نتایج این مطالعه تجربی که روی ۳۵ سر رت نر انجام گرفت در نمودار ۱ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که میانگین تعداد اسپرماتوسیت‌های اولیه در گروه تجربی ۳ (دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در مقایسه با گروه کنترل افزایش معناداری پیدا کرده است ($P<0.01$). اما عصاره خارخاسک بر میانگین تعداد اسپرماتوسیت‌های اولیه گروه‌های تجربی ۱ و ۲ در مقایسه با گروه کنترل افزایش معناداری نداشته است.

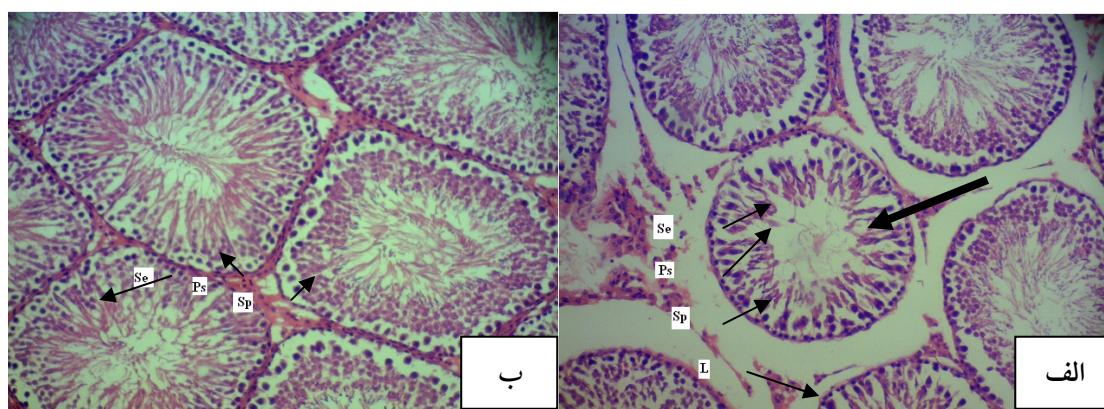
یکی از ترکیبات خارخاسک است که اثر افزاینده میل جنسی و همچنین اثر مقابل با سردمزاجی، ناباروری و اختلالات یائسگی دارد [۱۰]. محققان نشان داده‌اند که دیوسین موجود در خارخاسک از طریق افزایش سطوح تستوسترون آزاد و تنظیم استروژن، پروژسترون و پرگنولون باعث افزایش توانایی جنسی در مردان می‌شود [۱۱]. این گیاه به دلیل دارا بودن پروتودیوسین‌ها و ساپونین‌ها که موجب افزایش سطوح تستوسترون و هورمون لوتنین (LH) می‌شود، از دیرباز در طب سنتی چین و هند در درمان ناتوانی‌های جنسی و افزایش سطوح هستی کاربرد داشته است [۱۲]. در مطالعه‌ای نشان داده شده است که خارخاسک تاثیری روی اندام‌های حساس به غدد درون ریز مانند پروستات، کیسه منی، رحم و واژن در رت‌های نر و ماده ندارد [۱۳]. از طرفی مصرف خارخاسک همراه با سایر گیاهان دارویی باعث بهبود نمود و رفتار جنسی در رت شده است [۱۴]. در مطالعه‌ای مصرف خارخاسک در رت، خرگوش و پریمات باعث افزایش هورمون‌های جنسی شده است [۱۵]. با توجه به یافته‌های این مطالعات مبنی بر این که مصرف خارخاسک افزایش هورمون‌های جنسی، بهبود رفتار جنسی و نمود و رفتار جنسی در دنبال دارد، احتمال می‌رود که این گیاه بتواند بر روند اسپرماتوژن 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 رت‌ها انجام شد.

روش کار:

در این مطالعه تجربی از ۳۵ سر رت نر بالغ نژاد ویستار، با وزن متوسط 180 ± 10 گرم و سن ۳-۲ ماه استفاده شد. رت‌ها از مرکز انسیستو پاستور رازی تهیه شدند. این مطالعه در خانه حیوانات دانشکده پزشکی شیراز در سال ۱۳۸۹ انجام شد. در طول زمان تحقیق، شرایط نوری به صورت ۱۲ ساعت روشتابی و ۱۲ ساعت تاریکی، دمای اتاق ۲۴-۲۲ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۶۰-۵۵ درصد تنظیم شد. تمامی حیوانات حاضر در تحقیق مطابق قانون حمایت از حیوانات از چرخه حیات ساقط شدند [۱۶]. رت‌ها به طور تصادفی به ۵ گروه ۷ تایی شامل گروه کنترل



نمودار ۱: اثر مقداری مختلف عصاره خارخاسک بر میانگین تعداد اسپرماتوزنر 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 ۳ در بزرگنمایی $\times 400$ mg/kg

شکل ۱: فوتومیکروگراف سلول های اسپرماتوزنر اولیه در مقطع عرضی لوله های اسپرم ساز Sp: اسپرماتوزنر اولیه، Se: سرتولی، L: لایدیگ. به خال بودن اسپرماتیدها در توبول در شکل الف توجه کنید.

بحث:

به مدت ۴۰ روز موجب افزایش اسپرماتوزنر در گوسفندان در طول فصل تولید مثل شده است. به علاوه تعداد اسپرماتوزنر ها، مدت زیست پذیری و تحرك اسپرم ها نیز افزایش یافته و در دام های تازه متولد شده از گوسفندان تحت درمان با عصاره خارخاسک، از نظر میل جنسی و رفتار های جنسی بهبودی چشمگیری حاصل شده است [۱۹]. همچنین عصاره خارخاسک تاثیر مثبت بر خصوصیات کیفی و کمی اسperm، مقدار کلسترول کل و افزایش حجم انزال و تحرك اسپرماتوزنر ها در پرنده گان دارد به طوری که کلسترول کل سرم را به میزان ۹/۲۴ درصد در مقایسه با گروه کنترل کمتر می کند [۲۰]. مطالعات نشان می دهند که عصاره خارخاسک باعث بهبود نعروط و رفتار جنسی در رت و افزایش هورمون های جنسی در رت، خرگوش و پریمات شده است [۱۴ و ۱۵].

در مطالعه حاضر، میانگین تعداد اسپرماتوزنر های اولیه در گروه تجربی ۳ (دوز ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم) 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 [۱۷]. مطالعات نشان داده است که عصاره الكلی قسمت هایی از گیاه هم خانواده خارخاسک در دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم باعث افزایش معنادار سطح تولید سرم تستوسترون آزاد در بدن می شود. همچنین این عصاره دارای فعالیت آفروdisیتی است که احتمالاً منجر به افزایش آندروژن ها می شود [۱۸]. مطالعه دیگری که بر روی گوسفندان انجام گرفته است، نشان می دهد دریافت عصاره خارخاسک به میزان ۱/۵ گرم

استرادیول‌های طبیعی در این ترکیب ممکن است به عنوان یک واسطه، مسیر تولید آندروژن از استرادیول را تسهیل کنند [۲۲] و به این ترتیب باعث افزایش هورمون تستوسترون شوند. این هورمون نیز خود باعث افزایش روند اسپرماتوژنر می‌شود.

مطالعات نشان می‌دهند که گیاه خارخاسک به دلیل دارا بودن ساپونین‌ها باعث افزایش ترشح هورمون لوئیینی از غده هیپوفیز می‌شود. هورمون لوئیینی نیز محرک ویژه برای تولید تستوسترون است و از این رو قادر به بهبود عملکرد جنسی از جمله افزایش تولید اسپرم، بهبود عملکرد نعروط و افزایش میل جنسی می‌شود [۲۳]. فروستانول یکی از ساپونین‌های خارخاسک است که اثر محرک بر اسپرماتوژنر دارد. این ماده باعث بهبود معنادار کیفیت و کمیت اسپرم می‌شود [۲۴].

نتیجه‌گیری: به طورکلی با توجه به نتایج مطالعه حاضر، فقط دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم باعث افزایش میانگین تعداد اسپرماتوسیت‌های اولیه در رت می‌شود. لذا پیشنهاد می‌شود اثر این گیاه در مقادیر دوزهای بیشتر و روی رت‌های عقیم‌شده نیز بررسی شود.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد میانگین تعداد سلول‌های اسپرماتوسیت اولیه در گروه تجربی ۳ (دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) نسبت به گروه کنترل افزایش معناداری یافته است ($P < 0.01$). هورمون تحریک‌کننده فولیکولی (FSH) تاثیر مستقیم روی تولید اسپرماتوسیت‌ها دارد به طوری که با کاهش و افزایش ترشح این هورمون، تعداد این سلول‌ها نیز کم و زیاد می‌شود. در مطالعه‌ای که با هدف بررسی نقش هورمون‌های تحریک‌کننده فولیکولی و تستوسترون روی فرآیند اسپرماتوژنر و مرگ سلولی سرتولی انجام شده است مشخص شد که این هورمون به تنهایی نقش تشدیدکننده در فرآیند اسپرماتوژنر دارد. به علاوه تستوسترون باعث تأخیر در مرگ سلول سرتولی شده که خود باعث تغییرات در کل فرآیند اسپرماتوژنر می‌شود [۲۱]. بنابراین افزایش اسپرماتوسیت اولیه در مراحل اولیه و میانی فرآیند اسپرماتوژنر متأثر از افزایش معنادار تستوسترون می‌باشد و به میزان زیادی مستقل از هورمون تحریک‌کننده فولیکولی عمل می‌کند. از سوی دیگر، گیاه خارخاسک به دلیل داشتن گلیکوزیدهای استرادیول که مهم‌ترین آن‌ها پروتودیوسین است موجب افزایش تستوسترون می‌شود.

References:

1. Frohne, D. Ein neues dopingmittel. Deutsche Apotheker Zeitung 199 ; 49: 4752-4.
2. Yan W, Ohtani K, Kasai R, et al. Sterodial 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. 24 chasa. 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 Jie 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. Bombay: 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, Spercoski 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 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 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 androstanediol-herbal supplementation in 30 to 58 year old men. *J Am Coll Nutr* 2002; 20(5): 520-8.

The effect of the *Tribulus terrestris* extract on spermatogenesis in the rat

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

Received: 03/17/2011

Revised: 05/19/2011

Accepted: 06/22/2011

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

Journal of Jahrom University of Medical Sciences Vol. 9, No.4, Winter 2012

Abstract:

Introduction:

According to our antecedents, in addition to other pharmacological properties, *Tribulus terrestris* increases sexual functioning and libido in men. Due to the fact that the benefits of herbal drugs should be approved clinically in the laboratory, the present study aimed to investigate the effect of *Tribulus terrestris* extract on the primary spermatocyte in rat.

Material and Methods:

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

Results:

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

Conclusion:

The above results showed that *Tribulus terrestris* can probably balance the functions of the male reproductive system and can be used in treatment of male infertility, while effecting the testis spermatocyte.

Keywords: Spermatocyte, Saponin, Fertility, Wistar Rats

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