

Effect of aqueous extract from rhizome of *Cynodon dactylon L. pers* on renal and hepatic catalase activity and testicular histopathology in diabetic rats

Eskandari A^{1*}, Heidari R¹, Farokhi F¹, Salimi Z¹, Ghasemi Z²

1- Department of Biology, Faculty of Sciences, Urmia University, Urmia, I. R. Iran.

2- Department of Statistics, Faculty of Sciences, Razi University, Kermanshah, I. R. Iran.

Received February 20, 2011; Accepted November 13, 2011

Abstract:

Background: *Cynodon dactylon L. pers* is one of the plants with applied medicinal value. This study aimed to examine the effect of *C. dactylon (L.)* aqueous extract on catalase enzymatic activity in kidney and liver tissues as well as the changes in testicular tissues of diabetic rats.

Materials and Methods: In this experimental study, 30 adult male rats were divided into five groups (n=6). Control rats were injected with physiological saline and the others were made diabetic by the injection of streptozotocin (STZ; 70 mg/kg, i.p.). The third, fourth and fifth diabetic groups were given the oral aqueous extract of *C. dactylon* at different doses (50, 250 and 500 mg/kg), respectively for 4 weeks. The catalase enzymatic activity in kidney and liver tissues were measured using Aebi method at the end of the treatment. Then the testis slices were stained and examined by electron microscopy.

Results: The activity of catalase enzyme in kidney and liver of diabetic rats treated with the 500 mg/kg extract was increased significantly compared to the untreated diabetic rats ($P<0.05$). In the untreated diabetic group, coiled seminiferous tubules and the increased interstitial space of lobules were observable in testis. The aqueous extract-treated group, compared to the diabetic one, showed a significant recovery in the tissue parameters.

Conclusion: Aqueous extract of *C. dactylon (L.)* have beneficial effects on the activity of anti-oxidant enzymes and changes in testicular tissue during the course of diabetes.

Keywords: Diabetes mellitus, *Cynodon dactylon L. pers*, Oxidative stress, Catalase, Testis

* Corresponding Author.

Email: azade.eskandary@yahoo.com

Tel: 0098 916 360 8155

Fax: 0098 441 277 6707

Conflict of Interests: No

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences March, 2012; Vol. 16, No 1, Pages 9-16

بررسی اثر عصاره آبی ریزوم مرغ (*Cynodon dactylon L. Pers*) بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز کبد و کلیه و هیستوپاتولوژی بیضه در موش‌های دیابتی

آزاده اسکندری^۱، رضا حیدری^۲، فرح فرخی^۳، زهرا سلیمانی^۴، زهرا قاسمی^۱

خلاصه:

سابقه و هدف: گیاه مرغ با نام علمی *Cynodon dactylon L. pers* یکی از گیاهانی است که جنبه‌های دارویی موثری برای آن قائل شده‌اند. هدف از مطالعه حاضر بررسی اثرات عصاره آبی ریزوم این گیاه بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز بافت‌های کبد و کلیه و نیز تغییرات بافتی بیضه در موش‌های دیابتی می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، ۳۰ سر موش صحرائی نر بالغ در ۵ گروه ۶ تایی قرار گرفتند. به موش‌های گروه شاهد سرم فیزیولوژی تزریق شد. بقیه حیوانات با تزریق داخل صفاقی استریتوزوتوسین با دوز ۷۰mg/kg دیابتی شدند. به موش‌های دیابتی گروه سوم تا پنجم، عصاره آبی ریزوم مرغ به ترتیب با دوزهای ۵۰، ۲۵۰ و ۵۰۰mg/kg به مدت ۴ هفته خورانده شد. بعد از پایان دوره تیمار، فعالیت آنزیم کاتالاز در بافت‌های کبد و کلیه به روش Aebi اندازه‌گیری شد. برش‌های بیضه نیز رنگ‌آمیزی شده و مورد بررسی میکروسکوپی قرار گرفتند.

نتایج: میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در بافت‌های کبد و کلیه موش‌های دیابتی درمان شده با عصاره در دوز ۵۰۰ mg/kg افزایش معنی-داری نسبت به گروه دیابتی کنترل نشان داد ($P < 0.05$). در گروه دیابتی کنترل چروکیده شدن توبول‌ها و افزایش فضای بین‌تابی لوبول‌ها در بیضه قابل مشاهده بود. علامت مذکور در گروه‌های تحت تیمار با عصاره در مقایسه با گروه دیابتی کاهش چشمگیری نشان داد.

نتیجه‌گیری: نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که عصاره آبی مرغ اثرات مطلوبی بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی و تغییرات بافتی بیضه در جریان بیماری دیابت دارد.

واژگان کلیدی: دیابت شیرین، مرغ (*cynodon dactylon l.*), استرس اکسیداتیو، کاتالاز، بیضه

دو ماهنامه علمی- پژوهشی فیض، دوره شانزدهم، شماره ۱، فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۱، صفحات ۹-۱۶

فعال شدن داخل سلولی مسیر سوربیتول [۸] و افزایش گلیکولیز

باعث افزایش استرس اکسیداتیو القا شده به واسطه افزایش در تولید رادیکال‌های آزاد می‌شود [۹]. بدین از طریق مکانیسم‌های دفاعی آنتی اکسیدانی آنزیمی چون کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون ردوکتاز یا از طریق مکانیسم‌های دفاع آنتی اکسیدانی غیر آنزیمی به مقابله با این اثرات بر می‌خیزد [۴]. کاتالاز یک همپروتئین دارای چهار گروه هم است که دارای فعالیت پراکسیدازی است. فعالیت کاتالاز در بافت‌های پستانداران به طور وسیعی متفاوت است. در کبد و کلیه دارای بیشترین فعالیت و در بافت همبند کمترین فعالیت را دارد. کمبود کاتالاز با عوارض اکسیداتیو دیابت همراه است. برخی مطالعات نشان داده‌اند که تقویت سیستم آنتی اکسیدانی عوارض دیابت را کاهش می‌دهد [۱۰].

دیابت شیرین اثرهای عملکردی و ساختاری متنوع بر سیستم تولید مثیل نر دارد. کاهش تولید تستوسترون، تحلیل غدد ضمیمه تولید مثلی، کاهش میل جنسی و رفتارهای جنسی در افراد مبتلا به دیابت گزارش شده است [۱۱]. دیابت همچنین بر اسپرماتوژن تاثیر می-گذارد [۱۲]. مطالعات مورفومنتری تغییرات چشم‌گیر در قطر توبول سینیفروس و مهار اسپرماتوژن در مراحل اسپرماتوسيتی III و II را در توبول‌های کوچک حیوانات دیابتی نشان داده‌اند. مراحل دیگر

مقدمه

دیابت، شایع‌ترین بیماری متابولیکی است که با افزایش قند خون ناشی از کمبود مطلق یا نسبی انسولین مشخص گردیده و در درازمدت با عوارض چشمی، گلیکو، قلبی عروقی و عصبی همراه می‌باشد [۱، ۲]. رادیکال‌های آزاد می‌توانند در پاتوژن بسیاری از بیماری‌ها مانند دیابت نقش مهمی را ایفا نمایند [۳، ۴]. در شرایط طبیعی بین تولید و حذف رادیکال‌های آزاد تعادل وجود دارد. عدم تعادل در این فرایند منجر به بروز استرس اکسیداتیو و تغییرات پاتولوژیک متعدد در سطح ماکرومولکول-های سلول می‌گردد [۵]. در طی دیابت، هایپرگلیسمی از طریق خوداکسایشی گلوکز [۶]، گلیکوزیلاسیون غیر آنزیمی پروتئین [۷]،

کارشناس ارشد فیزیولوژی جانوری، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه

۲ استاد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه

۳ استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه

۴ کارشناس ارشد آمار، گروه آمار، دانشکده علوم، دانشگاه رازی کرمانشاه

*نشانی نویسنده مسئول؛

ارومیه، بلوار دانشگاه، کیلومتر ۱۱ جاده سرو، دانشکده علوم دانشگاه ارومیه

تلفن: ۰۴۴۱ ۲۷۷۶۷۰۷ - ۰۹۱۶ ۳۶۰۸۱۵۵

پست الکترونیک: azade.eskandary@yahoo.com

تاریخ پذیرش نهایی: ۸۰/۸/۲۲ - تاریخ دریافت: ۸۹/۱۲/۱

القای دیابت در موش‌های صحرایی

برای ایجاد دیابت تجربی در موش‌ها از ماده شیمیابی استرپتوزوتوسین (تهیه شده از شرکت سیگما) با دوز ۷۰ mg/kg استفاده شد. این ماده ابتدا در سرم فیزیولوژی حل شده و به روش داخل صفاتی به حیوانات تزریق شد. انتخاب این دوز از ماده با توجه به مطالعات انجام شده در این زمینه و همچنین آزمایش‌های مقدماتی صورت گرفت. لازم بهذکر است که موش‌های دیابتی شده نسبت به سایر موش‌ها کاهش وزن بهمراه ادرار فراوان داشتند. هم‌چنین اندازه‌گیری مقدار گلوكز خون نیز معیار دیگری برای تشخیص دیابت در موش‌ها بود که با استفاده از دستگاه آنالیز خودکار (کلوکومتر ACCUE CHECK) انجام گرفت.

گروه بندی و تیمار

عصاره‌ی گیاهی در دوزهای مختلف و سرم فیزیولوژی به مدت ۴ هفته به صورت خوارکی و از طریق میله داخل معدی (گاواز) تیمار گردیدند. حجم ماده تیمار شده در تمامی گروها ۱ میلی لیتر بود. حیوانات به طور تصادفی به ۵ گروه ۶ تایی تقسیم شدند: گروه ۱ حیوانات سالم بودند که با سرم فیزیولوژی تیمار شدند؛ گروه ۳ حیوانات حیوانات دیابتی که با سرم فیزیولوژی تیمار شدند؛ گروه ۴ دیابتی که عصاره را با دوز ۵۰ mg/kg دریافت نمودند؛ گروه ۵ حیوانات دیابتی که عصاره را با دوز ۲۵۰ mg/kg دریافت نمودند و گروه ۵ حیوانات دیابتی که عصاره را با دوز ۵۰۰ mg/kg دریافت نمودند.

بررسی‌های پیوشریمیابی

بعد از ۴ هفته تمام موش‌ها با اتر بیوهش شدند. محفظه شکم باز شده و بافت‌های کبد، کلیه و بیضه برداشته شدند. نمونه‌های بیضه جهت انجام آزمایشات پاتولوژیکی در محلول فرمالین ۱۰ درصد قرار گرفتند. فعالیت کاتالاز براساس توانایی آن در تجزیه H_2O_2 به روش تعیین گردید [۲۰]. تجزیه H_2O_2 با کاهش جذب در طیف جذبی ۲۴۰ نانومتر قابل بررسی است. برای این منظور از پراکسید-هیدروژن ۳۰ میلی مولار به عنوان سوبسترا و از بافر فسفات ۵۰ میلی-مولار با pH = ۷ (pH = ۷) به عنوان جایگزین سوبسترا در محلول بلانک استفاده شد. محلول سنجش محتوی ۲ میلی لیتر محلول هموژنای بافتی و ۱ میلی لیتر محلول پراکسیدهیدروژن بود. واکنش با افزودن H_2O_2 شروع شده و کاهش در جذب به کمک اسپکتروفوتومتر در طول موج ۲۴۰ نانومتر به مدت ۳۰ ثانیه بررسی گردیده و در پایان مقادیر بر حسب Hb U/mg بیان گردید.

بررسی‌های هیستوپاتولوژیکی

بافت بیضه به وسیله روش‌های بافت‌شناسی معمول آماده شد و در بلوک‌های پارافین محصور شد. از بلوک‌ها برش‌های

اسپرمان‌توژن، شامل مراحل IX-XI نیز در حیوانات دیابتی متاثر می‌شوند. هم‌چنین، ۴ هفته بعد از ایجاد دیابت سلول‌های زاینده دژنره شده در مراحل مختلف تکوین را می‌توان مشاهده کرد [۱۳]. از زمان‌های دور گیاه مرغ در برخی از مناطق ایران از جمله در آذربایجان به عنوان یک گیاه دارویی شناخته شده و در طب سنتی این منطقه ریشه و ریزوم آن برای درمان بیماری‌های نظریه‌های، فشار خون بالا و ناراحتی‌های گوارشی استفاده می‌شود [۱۴]. این گیاه هم‌چنین دارای خاصیت دیبورتیکی [۱۵] بوده و در درمان سوزش مجاری ادراری، سنگ کلیه و پروستات کاربرد دارد [۱۷، ۱۶]. هم‌چنین، عصاره‌ی آبی گیاه در کنترل قند خون و کلسترول در موش‌های صحرائی دیابتی شده با استرپتوزوتوسین (STZ) مفید بوده است [۱۸]. اخیراً گزارش شده است که گیاه دارای اثرات حفاظتی در برابر آسیب‌های کبدی القاء شده توسط STZ می‌باشد [۱۹]. هدف از مطالعه کنونی بررسی اثر عصاره آبی ریزوم گیاه بر فعالیت آنزیم کاتالاز کبد و کلیه و نیز تغییرات بافتی بیضه در موش‌های صحرائی دیابتیک بوده است.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری گیاه

ریزوم گیاه مرغ (*Cynodon dactylon L.pers*) از منطقه درود لرستان جمع‌آوری شده و توسط هرباریوم دانشکده علوم دانشگاه ارومیه از نظر تاگزونومیکی مورد شناسایی قرار گرفت. سپس ریزوم گیاه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و در شرایط سایه خشک گردیده و با استفاده از آسیاب مکانیکی به صورت پودر درآمد.

آماده سازی عصاره

به منظور تهیه عصاره‌ی آبی از ریزوم گیاه، به ازای ۱۵۰ میلی لیتر آب مقطر، ۱۰ گرم از پودر گیاه در داخل کارتوف دستگاه سوکسله (Soxhelt IKA-WERK) قرار داده شد. بعد از ۱۲ ساعت عصاره‌ی بدست آمده توسط دستگاه روتاری، (Electrothermal) خشک گردید.

حیوانات آزمایشگاهی

در این تحقیق از ۳۰ سر موش صحرائی نر بالغ نژاد Wistar با محدوده وزنی ۱۸۰-۲۳۰ گرم، استفاده شد. این حیوانات تحت شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، درجه حرارت کنترل شده 23 ± 2 درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی هوا بین ۴۰ تا ۶۰ درصد نگهداری شدند. حیوانات دسترسی مداوم به آب و غذا داشتند.

دیابتی درمان نشده کاهش معنی داری ($P=0.008$) را در مقایسه با گروه کترل نشان داد (نمودار شماره ۱). به علاوه میانگین فعالیت آنزیم در گروه های تحت تیمار با عصاره در دوز 500mg/kg آفزایش معنی داری را در مقایسه با گروه دیابتی درمان نشده نشان داد ($P=0.008$). میزان فعالیت آنزیم در گروه های تحت تیمار با عصاره در دوز های 50 و 250mg/kg در مقایسه با گروه دیابتی درمان نشده آفزایش نشان داد، ولی این تغییرات از لحاظ آماری معنی دار نبود.

تغییرات هیستوپاتولوژیکی بیضه

ضریب تمایز لوله ای (ضریب اسپرمیوژن) در گروه دیابتی نسبت به گروه کترل کاهش معنی دار داشت ($P<0.0001$). در حالی که تیمار با عصاره منجر به افزایش معنی دار ضریب تمایز لوله ای در گروه دیابتی تحت تیمار با دوز 500mg/kg از عصاره شد ($P<0.0001$). اگرچه در گروه های دیابتی تحت تیمار با دوز 50 و 250mg/kg عصاره ضریب تمایز لوله ای نسبت به گروه دیابتی افزایش نشان داد، اما این میزان افزایش معنی دار نبود (نمودار شماره ۲). بررسی های میکروسکوپی نشان داد که در گروه دیابتی درمان نشده چروکیده شدن توبول ها، افزایش فضای بینایینی، وجود نقاط خالی در داخل توبول ها و بهم ریختگی سلولی در داخل توبول ها قابل مشاهده است (شکل شماره ۲، جدول شماره ۱). این در حالی بود که در موش های تحت تیمار با عصاره، تغییرات هیستوپاتولوژیکی ایجاد شده در حد چشم گیری کاهش یافته بود (شکل شماره ۳) و نزدیک به گروه کترل غیر دیابتی شده بود (شکل شماره ۱).

جدول شماره ۱- مقایسه تغییرات بافتی بیضه در گروه های مختلف

	۵۰	۲۵۰	۵۰	ND	C	
DT	DT	DT				آتروفی توبولها
+	++	+++	+++	-		
توالی سلولی در لوله های اسپرم ساز						
افزایش فضای بینایینی بین لوله های اسپرم ساز						

کترل سالم = C. دیابتی درمان نشده = ND، عصاره با دوز 50mg/kg دیابتی = DT، عصاره با دوز 250mg/kg دیابتی = ۲۵۰ DT، عصاره با دوز $50+500\text{mg/kg}$ دیابتی = ۵۰۰ DT، طبیعی، +: خفیف، ++: متوسط، +++: شدید.

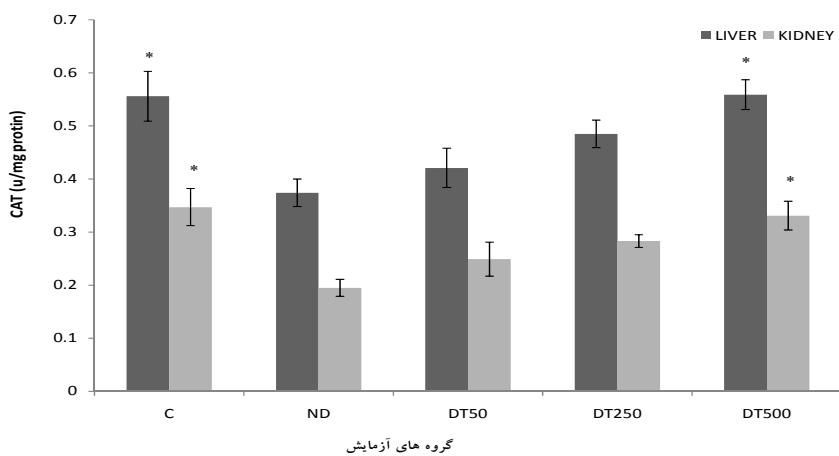
عرضی با ضخامت ۳-۵ میکرومتر به دست آمد. برش ها روی اسلامیدهای شیشه ای مستقر، پارافین زدایی و آب دهی مجدد شدند. سپس اسلامیدها تو سطح روش هماتوکسیلین اثوزین (H&E) به منظور بررسی میکروسکوپی رنگ آمیزی شدند. در بافت بیضه میزان تمایز لوله ای در لوله های سمتینیفروس بررسی شد. بدین منظور، در هر لام به طور تصادفی ۱۰۰ لوله سمتینیفروس در نظر گرفته شد. در هر لوله توالی سلولی و میزان تمایز لوله ای به شمارش در هر لام میانگین لوله ها تعیین و میزان تمایز لوله ای به صورت درصد گزارش شد. به منظور بررسی های مرفو لوژیک، به طور تصادفی ده لوله از نقاط مختلف بیضه و به طور مشابه انتخاب شدند که از نظر تغییرات مرفو لوژیک تو سطح کارشناس بافتی پژوهش بررسی شدند. عوامل مرفو لوژیک (ساختار بافت شناسی) مورد بررسی به طور عمده شامل آتروفی توبول ها، تغییرات فضای بینایینی بین لوله های اسپرم ساز و توالی سلولی بودند.

آنالیز آماری داده ها

به منظور انجام آنالیز آماری دادها از نرم افزار SPSS ویرایش ۱۷ استفاده شد. برای رسیدن به نتایج دقیق تر، به دلیل حجم کم نمونه در هر گروه، به جای استفاده از آزمون ANOVA از آزمون های ناپارامتریک (kruskal-wallis) استفاده شد. نتایج به صورت $\text{Mean}\pm\text{S.E.M}$ ارائه گردید. مقادیر P کمتر از 0.05 معنی دار در نظر گرفته شد.

نتایج

میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در بافت های کبد و کلیه نتایج این تحقیق نشان داد که میانگین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز (U/mg Hb) در بافت کبد موش های صحرائی دیابتی درمان نشده کاهش معنی داری ($P=0.007$) را در مقایسه با گروه کترل نشان داد (نمودار شماره ۱). به علاوه میانگین فعالیت آنزیم در گروه های تحت تیمار با عصاره در دوز 500mg/kg آفزایش معنی داری ($P=0.007$) را در مقایسه با گروه دیابتی درمان نشده نشان داد ($P=0.008$). میزان فعالیت آنزیم در گروه های تحت تیمار با عصاره در دوز های 50 و 250mg/kg در مقایسه با گروه دیابتی درمان نشده افزایش نشان داد ولی این تغییرات از لحاظ آماری معنی دار نبود. میانگین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز (U/mg Hb) در بافت کلیه موش های

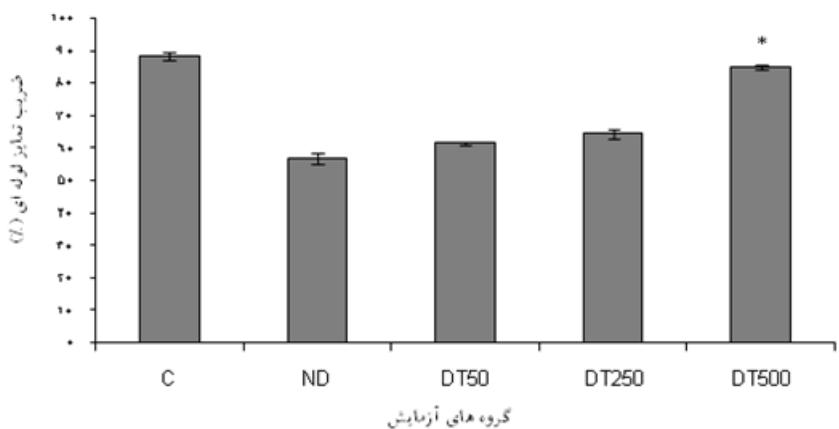


نمودار شماره ۱- تاثیر عصاره آبی مرغ بر میزان فعالیت کاتالاز در کبد و کلیه

هر ستون Mean \pm S.E.M نشان می دهد.*: مقادیر فوق از نظر معنی دار بودن نسبت به گروه دیابتی کنترل مقایسه شده اند. کنترل سالم =C، دیابتی درمان نشده =ND، عصاره

با دوز ۵۰ mg/kg+دیابتی=DT50، عصاره با دوز ۲۵۰ mg/kg+دیابتی=DT250، عصاره با دوز ۵۰۰ mg/kg+دیابتی=DT500

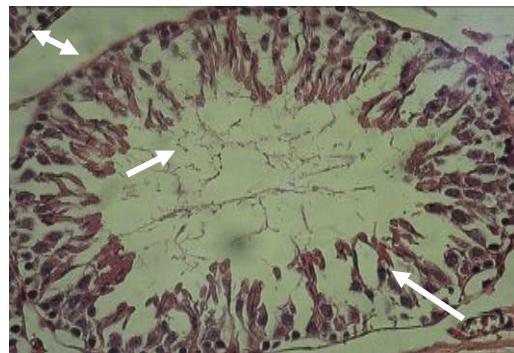
$P=0.007$ در پافت کبد کلیه $P=0.008$ در پافت کبد و کلیه



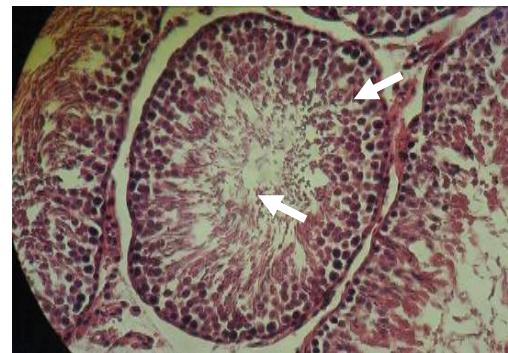
نمودار شماره ۲- تاثیر عصاره آبی مرغ بر میزان تمایز لوله ای در موش های دیابتی

هر ستون Mean \pm S.E.M نشان می دهد.*: مقادیر فوق از نظر معنی دار بودن نسبت به گروه دیابتی کنترل مقایسه شده اند. کنترل سالم =C، دیابتی درمان نشده =ND، عصاره با

دوز ۵۰ mg/kg+دیابتی=DT50، عصاره با دوز ۲۵۰ mg/kg+دیابتی=DT250، عصاره با دوز ۵۰۰ mg/kg+دیابتی=DT500



شکل شماره ۲- مقطع عرضی بیضه گروه دیابتی کنترل ($\times 400$).
(H&E، افزایش فضای بینایینی بین لوله های اسپرم ساز، از بین رفتن توالی سلولی، وجود نقاط خالی داخل توبول، کاهش تراکم اسپرم (پیکان) قابل مشاهده است.



شکل شماره ۱- مقطع عرضی بیضه گروه کنترل ($\times 400$).
(H & E، توالی سلولی و فضای بینایینی بین لوله های اسپرم ساز (پیکان) کاملا سالم و طبیعی است.

کاهش یافته است که تاثیرگذاری عوارض ناشی از دیابت را مورد تایید قرار می‌دهد. البته کاهش ضربت تمایز لوله‌ای، در گروه‌های تحت تیمار با عصاره آبی مرغ جبران شده است. در مقایسه هیستوپاتولوژیکی ساختار سلولی لوله‌های منی ساز مشاهده گردید که رده‌های مختلف سلول‌های جنسی در لوله‌های منی ساز گروه کنترل، آرایش خود را حفظ کرده‌اند و از تنوع بیشتری برخوردار بوده و روند اسپرماتوزن در این گروه طبیعی است. در حالی که در گروه دیابتی، رده‌های مختلف سلولی از قبیل اسپرماتوگونی‌ها در بین سایر رده‌های سلولی پراکنده شده و دارای آرایش منظمی نیستند. لذا، براساس کاهش تراکم سلولی در لوله‌های منی ساز این گروه به نظر می‌رسد که بیماری دیابت توانسته است به گونه‌ای بر روند اسپرماتوزن تاثیر بگذارد و این پدیده را با مرگ سلولی مواجه نماید. مطالعه حاضر نشان داد که دیابت شیرین در موش‌های صحرایی نر باعث تغییر در بافت بیضه می‌شود و درمان با عصاره آبی مرغ، این تغییرات را از طریق حفاظت توبول‌های سمینیفروس و جلوگیری از کاهش مجموعه‌های سلولی اسپرما-توزنیک بهبود می‌بخشد. به‌طور کلی، یافته‌های ما با مطالعه Türk و همکاران سازگار است. در آن مطالعه تیمار موش‌های دیابتی با آب انار، تراکم سلولی اسپرماتونیک و قطر توبولی سمینیفروس را افزایش داد و اسپرم‌های نابهنجار در مقایسه با گروه شاهد کاهش یافت. این عمل با کاهش چشم‌گیر در سطح مالون دی‌آلدئید و افزایش چشم‌گیر فعالیت آنزیم کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز همراه بود [۲۸]. از آنجایی که گیاه مرغ باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌گردد، ممکن است مشابه آب انار، اثر محافظتی خود را از این طریق اعمال نماید. یافته‌های ما هم‌چنین با گزارشات قبلی در مورد تاثیر پیش‌گیری کننده ملاتونین به عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی در جلوگیری از آتروفی توبول سمینیفروس و کاهش تراکم سلولی مطابقت دارد [۲۷]. ملاتونین سیستم آنتی‌اکسیدانی داخلی را تحریک کرده و فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز را در بیضه افزایش می‌دهد. گونه‌های فعال اکسیژن با ایجاد استرس اکسیداتیو، آسیب‌های سلولی را پیش می‌برند. سلول‌های اسپرم پستانداران دارای مقادیر بالای اسیدهای چرب غیر-اشبع، پل‌اسموژن و استفنگومیلین است که سوبسترات مهم در عمل اکسیداسیون است [۲۹]. در حالت طبیعی، ساز و کارهای آنتی‌اکسیدانی در بافت‌های تولید مثلی حضور دارند و از بروز آسیب‌های اکسیداتیو در سلول‌های گنادی و اسپرماتوزای بالغ جلوگیری می‌کنند [۳۰]. فلاونوئیدها به عنوان آنتی‌اکسیدان‌های قوی عمل می‌نمایند. بررسی‌های ایمونو‌هیستوشیمی نشان داده‌اند که فلاونوئیدها باعث کاهش مارکرهای اکسیداتیو می‌شوند [۳۱]. Xiong و



شکل شماره ۳- مقطع عرضی بیضه گروه تیمار با دوز mg/kg ۵۰۰ (H & E). توالی سلولی و تراکم اسپرم (پیکان) تا حد چشم‌گیری به حالت طبیعی بر گشته است.

بحث

افزایش سمیت القاء شده بواسطه رادیکال‌های آزاد در بیماران دیابتی و موش‌های صحرایی دیابتی شده با STZ معلوم شده است [۲۱]. گلوکز از طریق اتوکسیداسیون و گلیکاپسیون غیر آنزیمی بروتنین‌ها و STZ نیز با تحریک تولید H₂O₂ در محیط برون‌تنی و در سلول‌های بتای پانکراس موجب افزایش تولید رادیکال‌های آزاد می‌گردد [۲۲]. بدھر حال آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی درون‌زا مانند کاتالاز مسولیت سمتی زدایی رادیکال‌های آزاد آسیب رسان هستند. در این مطالعه در گروه‌های دیابتی درمان نشده کاهش فعالیت آنزیم مشاهده شد، درحالی که در گروه‌های دریافت کننده عصاره فعالیت آنزیم به نسبت گروه دیابتی افزایش نشان داد. کاهش فعالیت آنزیم در این مطالعه ممکن است یا بدليل افزایش تولید H₂O₂ و O₂ در نتیجه اتوکسیداسیون گلوکز و گلیکوزیلاسیون غیر آنزیمی باشد که منجر به منجر به اکسید شدن و سپس دنا توره شدن آنزیم می‌شود و یا این که کاهش فعالیت آنزیم در نتیجه هیبرگلیسمی و متعاقب آن گلیکوزیلاسیون آنزیم اتفاق افتاده باشد که باعث مهار شدن فعالیت آنزیم می‌شود [۲۳]. مطالعات چندی نشان داده‌اند که استفاده از مواد حاوی آنتی‌اکسیدان‌های پلی فنولی سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از جمله کاتالاز می‌شود [۲۴] که با نتایج حاصل از مطالعه کنونی مطابقت دارد. از آنجایی که مطالعات فیتوشیمیابی نشان دادند گیاه Cynodon dactylon غنی از فلاونوئیدهای است، احتمالاً اثر درمانی عصاره مرغ در بهبود سیستم آنتی‌اکسیدانی در موش‌های دیابتی می‌تواند ناشی از حضور فلاونوئیدهای موجود در گیاه باشد [۲۶]. دیابت شیرین تغیرات بافتی در بیضه را از طریق ایجاد مرگ سلولی آپوپتوزی، آتروفی توبول‌های سمینیفروس و کاهش مجموعه‌های سلولی اسپرماتوزنیک ایجاد می‌کند [۲۷]. مقایسه ضربت تمایز لوله‌ای در گروه‌های تحت تیمار نشان داد که ضربت تمایز لوله‌ای در گروه دیابتی در مقایسه با گروه کنترل

نتیجه گیری

از این پژوهش این طور می‌توان نتیجه گرفت که عصاره آبی مرغ می‌تواند اثرات مفیدی در پیش‌گیری از تغییرات ایجاد شده در سطح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و تغییرات هیستولوژیکی آن در جریان بیماری دیابت داشته باشد.

تشکر و قدردانی

نویسنده‌گان این مقاله برخود لازم می‌دانند که از همکاری پرسنل محترم بخش فیزیولوژی دانشگاه ارومیه، تشکر و قدردانی داشته باشند.

همکارانش بیان کردند که تیمار سلول‌ها با فلاونوئیدها باعث کاهش آپوپتوز در سلول‌های بتا و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی-اکسیدانی می‌شوند [۳۲]. هم‌چنین، عصاره عملکرد کبدی را که در دیابت به‌واسطه افزایش فعالیت رادیکال‌های آزاد مختلف می‌شود بهبود می‌بخشد [۱۸]. با توجه به این مطلب که گیاه مرغ به عنوان یک منبع غنی از فلاونوئیدها با فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد [۳۳]، می‌توان چنین بیان داشت که ترکیبات فلاونوئیدی یکی از اجزای فعال و موثر مرغ در افزایش اسپرماتوژنیز است. در مطالعه حاضر عصاره سبب تخفیف عوارض ناشی از دیابت در بیضه موش‌های صحرایی نر می‌شود که می‌تواند بازتاب نقش آنتی‌اکسیدانی آن باشد.

References:

- [1] Sasso FC, De Nicola L, Carbonara O, Nasti R, Minutolo R, Salvatore T, et al. Cardiovascular risk factors and disease management in type 2 diabetic patient's with diabetic nephropathy. *Diabetes Care* 2006; 29: 498-503.
- [2] Gispen WH, Biessels GJ. Cognition and synaptic plasticity in diabetes mellitus. *Trends Neurosci* 2000; 23(11): 542-9.
- [3] Jakus V. The role of free radicals, oxidative stress and antioxidant system in diabetic vascular disease. *Bratcl Lek Listy* 2000; 101(10): 541-51.
- [4] Kaneto H, Katakami N, Kawamori D, Miyatsuka T, Sakamoto K, Matsuka TA, et al. Involvement of oxidative stress in the pathogenesis of diabetes. *Antioxid Redox Signal* 2007; 9(3): 355-66.
- [5] Naik SR. Antioxidant and their role in biological functions: an overview. *Indian Drugs* 2003; 40(9): 239-41.
- [6] Hunt JV, Smith CC, Wolff SP. Autoxidative glycosylation and possible involvement and peroxides and free radicals in LDL modification by glucose. *Diabetes* 1990; 39: 1420-4.
- [7] Robertson RP. Chronic oxidative stress as a central mechanism for glucose toxicity in pancreatic islet beta cells in diabetes. *J Biol Chem* 2004; 279(41): 42351-4.
- [8] Williamson JR, Chang K, Frangos M, Hasan KS, Ido Y, Kawamura T, et al. Hyperglycemia pseudo hypoxia and diabetic complications. *Diabetes* 1993; 42(6): 801-13.
- [9] Suthagar E, Soudamani S, Yuvaraj S, Aruldhass MM. Effects of streptozotocin (STZ)-induced diabetes and insulin replacement on rat ventral prostate. *BMP* 2009; 63(1):43-50.
- [10] Ugochukwu NH, Bagayoko ND, Antwi ME. The effect of dietary caloric restriction on antioxidant status and lipid peroxidation in mild and severe streptozotocin-induced diabetic rats. *Clin Chem Acta* 2004; 384(1-2): 121-9.
- [11] Ballester J, Munoz MC, Dominguez J, Rigau T, Guinovart JJ, Rodriguez-Gil JE. Insulin-dependent diabetes affects testicular function by FSH- and LH linked mechanisms. *J Androl* 2004; 25(5): 706-19.
- [12] Greenblatt DJ, Leigh-Pemberton RA, Von Moltke LL. In vitro interaction of water soluble garlic components with human cytochrome p450. *J Nutr* 2006; 136(3 Suppl): 806S-9S.
- [13] Okamura M, Watanabe T, Kashida Y, Machida N, Mitsumori K. Possible mechanisms underlying the testicular toxicity of oxfendazole in rats. *Toxicol Pathol* 2004; 32(1): 1-8.
- [14] Mirald E, Ferri S, Mostghimi V. Botanical drugs and preparation in the traditional medicine of west Azerbaijan (Iran). *J Ethnopharmacol* 2001; 75(2-3): 77-87.
- [15] Agharcar SP. Medicinal plants of Bombay Presidency. Scientific Publ., Jodhpur, India; 2000. p. 80- 87
- [16] Biswas TK, Mukherjee B. Plant medicine of Indian origin for wound healing activity. *Int J Low Extrem Wounds* 2003; 2(1): 25-39.
- [17] Lans CA. Ethnomedicine used in Trinidad and Tobago for urinary problems and diabetes mellitus. *J Ethnobiol Ethnomed* 2006; 2: 45.
- [18] Singh SK, Kesari AN, Gupta RK, Jaiswal D, Watal G. Assessment of antidiabetic potential of cynodon dactylon extract in streptozotocin diabetic rat. *J Ethnopharmacol* 2007; 114(2): 174-9.
- [19] Gary VK, Khosa RL. Analgesic and anti-pyretic activity of aqueous extract of Cynodon dactylon. *Pharmacologyonline* 2008; 3: 12-18
- [20] Aebi H. Catalase in vitro. *Methods Enzymol* 1984; 105: 121-6.
- [21] Bonnefont-Rousselot D, Bastard JP, Jaudon MC, Delattre J. Consequences of diabetic status on the oxidant/antioxidant balance. *Diabetes Metab* 2000; 26(3): 163-76.
- [22] Takasu N, Komiya I, Asasa T, Nagasawa Y, Yamada T. Streptozocin- and alloxan-induced H₂O₂ generation and DNA fragmentation in pancreatic islets. H₂O₂ as mediator for DNA fragmentation. *Diabetes* 1991; 40(9): 1141-5.

- [23] Vincent AM, Russell JW, Low P, Feldman EL. Oxidative stress in the pathogenesis of diabetic neuropathy. *Endocr Rev*. 2004; 25(4): 612-28.
- [24] Georg B, Kaur C, Khurdia DS, Ka Poor HC. Antioxidant in tomato (*Lycopersicum esculentum*) as a function of genotype. *J Food Chem* 2004; 84: 45-51.
- [25] Serafin M, Ghiseli A, Ferro-Luzzi A. Red wine, tea and antioxidant. *Lancet* 1994; 344(8922): 626.
- [26] Pathak D, Pathak K, Single AK. Flavonoids as medicinal agents resent advances. *Fitoterapia* 1991; 62: 371-89.
- [27] Guneli E, Tugyan K, Ozturk H, Gumustekin M, Cilaker S, Uysal N. Effect of melatonin on testicular damage in streptozotocin-induced diabetic rats. *Eur Surg Res* 2008; 40(4): 354-60.
- [28] Türk G, Sönmez M, Aydin M, Yüce A, Gür S, Yüksel M, et al. Effects of pomegranate juice consumption on sperm quality, spermatogenic cell dencity, antioxidant activity and testosterone level in male rats. *Clin Nutr* 2008; 27(2): 289-96.
- [29] Cai L, Hales BF, Robaire B. Induction of apoptosis in the germ cells of adult male rats after exposure to cyclophosphamide. *Boil Reprod* 1997; 56(6): 1490-7.
- [30] Aitken RJ, Clarkson JS, Fishel S. Generation of reactive oxygen species, lipid peroxidation and human sperm function. *Boil Reprod* 1989; 41(1): 183-97.
- [31] Coldiron AD Jr, Sanders RA, Watkins JB 3rd. Effects of combined quercetin and coenzyme Q(10) treatment on oxidative stress in normal and diabetic rats. *J Biochem Mol Toxicol* 2002; 16(4): 197-202.
- [32] Xiong FL, Sun XH, Gan L, Yang XL, Xu HB. Puerarin protects rat pancreatic islets from damage by hydrogen peroxide. *Eur J Pharmacol* 2006; 529(1-3): 1-7.
- [33] Singh SK, Rai PK, Jaiswal D, Watal G. Evidence-based Critical Evaluation of Glycemic Potential of *Cynodon dactylon*. *Evid Based Complement Alternat Med* 2008; 5(4): 415-20.