مقاله پژوهشی
مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان
دوره دوازدهم، مرداد ۱۳۹۲، ۳۵۲-۳۴۳

تأثیر عصاره آبی سداب بر روند اسپرم‌سازی موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار

مهشید بذر افکن[۱]، مرضیه پناهی[۲]، اکرم آهنگرپور[۳]، قاسم ساکی[۴]

دریافت مقاله: ۹۱/۳/۱۷ ارسال مقاله به نویسنده جهت اصلاح: ۹۱/۳/۲۸ دریافت اصلاحیه از نویسنده: ۹۱/۶/۱۴ پذیرش مقاله: ۹۱/۶/۱۸

چکیده

زمینه و هدف: رشد بی‌رویه جمعیت منجر به پیدایش روش‌های جدید جلوگیری از بارداری شده، امروزه مردان نقش خود را در مشارکت در استفاده از روش‌های بارداری پذیرفته‌اند. از روش‌های جلوگیری از بارداری روش‌های غیر هورمونی می‌باشد. در روش‌های غیر هورمونی از گیاهان استفاده می‌شود. سداب از دیر باز در طب سنتی ایران به عنوان داروی پیشگیری از بارداری در هر دو جنس کاربرد داشته است. در این مطالعه تأثیر تجویز عصاره آبی گیاه سداب بر بافت بیضه و روند اسپرم‌سازی موش صحرایی بررسی شده است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه که از نوع تجربی است ۳۰ سر موش صحرایی به شکل کاملاً تصادفی به سه گروه ده تایی تقسیم شدند. گروه کنترل هیچ ماده‌ای دریافت نکردند، گروه شاهد نرمال سالین دریافت کردند. همچنین گروه تجربی عصاره آبی سداب به میزان ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به روش درون صفاقی به مدت ۴۰ روز دریافت کردند. ۴۰ روز بعد از شروع اولین تزریق، حیوانات بیهوش شدند. بیضه راست جداسازی و جهت مطالعات بافت‌شناسی فیکس شد. در این مطالعه، به منظور بررسی آماری از تست‌های ANOVA و Tukey استفاده شد.

یافته‌ها: نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که تعداد سلول‌های اسژرماتوگونی، اسپرماتوسیت اولیه، اسپرماتید و سلول‌های لایدیگ گروه تجربی در مقایسه با گروه کنترل و گروه شاهد بطور معنی‌داری کاهش یافته است (p=۰/۰۵). افزایش ضخامت غلاف سفید بیضه و کاهش قطر لوله منی‌ساز در گروه تجربی نسبت به گروه‌های کنترل و شاهد معنی‌دار بود (p=۰/۰۱).

نتیجه‌گیری: نتایج نشان می‌دهد که عصاره آبی گیاه سداب می‌تواند روی فعالیت سیستم تولید مثل، اثر کاهشی داشته باشد و احتمالاً می‌تواند به عنوان ماده‌ای جهت کنترل جمعیت، مفید باشد.

واژه‌های کلیدی: عصاره آبی، سداب، بافت بیضه، موش صحرایی، اسپرماتوژنز

۱- کارشناس ارشد گروه آموزشی علوم تشریحی، دانشکده پزشکی،دانشگاه جندی‌شاپور اهواز، اهواز، ایران
۲- دانشیار گروه آموزشی علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه جندی‌شاپور اهواز، اهواز، ایران
۳- دانشیار گروه آموزشی فیزیولوژی، دانشکده پزشکی،دانشگاه جندی‌شاپور اهواز، اهواز، ایران
۴- دانشیار گروه آموزشی علوم تشریحی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه جندی‌شاپور اهواز، اهواز، ایران
تلفن: ۳۷۳۸۰۷۳-۰۶۱۱، دورنگار: ۳۳۳۲۰۳۶-۰۶۱۱، پست الکترونیکی: ghasemsaki@yahoo.com

مقدمه

امروزه مسئله کنترل جمعیت در رأس برنامه بهداشتی بسیاری از کشورهای جهان می‌باشد. مسئولان بهداشت در این کشورها تلاش می‌کنند تا با ارائه روش‌های نوین جلوگیری از بارداری، این امر مهم را به مرحله اجرا در آورند. باید توجه داشت که این روش‌ها بیشتر در خانم‌ها قابل استفاده هستند. از جمله این روش‌ها، قرص‌های خوراکی، روش‌های تزریقی یک و سه ماهه، آی یو دی، روش کاشتن و بستن لوله‌ها در خانم‌ها می‌باشد [۱].

خوشبختانه، این عقیده که جلوگیری از بارداری به عهده زن است، در حال تغییر بوده و این تغییر همراه با پیشرفت در شناخت فیزیولوژی دستگاه تولید مثل مردان می‌باشد، از این رو، تحقیقات ویژه‌ای برای شناسایی روش‌های قابل برگشت جلوگیری از باروری در مردان آغاز شده است [۳-۲].

جلوگیری از باروری در مردان در سراسر دنیا بسیاری از تحقیقات و مباحث بهداشتی را به خود اختصاص داده است . سازمان بهداشت جهانی با کشورها و آژانس‌های بین‌المللی که در این زمینه فعالیت و تحقیق می‌کنند همکاری‌های بسیاری دارد[۴].

از جمله روش‌های جلوگیری از باروری در مردان، روش‌های غیر هورمونی و غیر جراحی است. در این روش‌ها از مواد شیمیایی استخراج شده از گیاهان استفاده می‌کنند.

Ruta graveolens (RG) از خانواده Ruta ceae یکی از این گیاهان می‌باشد که نام فارسی آن سداب است. RG یک گیاه سبز بوته‌ای با حداکثر یک متر طول است که بیشتر در جنوب اروپا و شمال آفریقا همچنین کشورهای لیما، پرو، برزیل، هند و ایران می‌روید [۶-۵].

این گیاه دارای برگهای کوچک مستطیلی با بریدگی‌های نسبتاً عمیق و ساقه بسیار شاخه شاخه می‌باشد. گل‌هایش کوچک و زرد می‌باشد که در طول بهار و تابستان شکوفه می‌کند. این گل‌ها به صورت دسته‌ای و دارای ۴ گلبرگ هستند بجز گل مرکزی که ۵ گلبرگ دارد. میوه این گیاه به صورت کپسولی و دارای برجستگی‌های دایره‌ای شکلی در سطح کپسول است [۷].

سداب دارای تأثیرات اثبات شده فراوانی است. این گیاه به دلیل دارا بودن ترکیبات فلاونوئیدی دارای خاصیت ضدمیکروبی می‌باشد [۸] و خاصیت ضد قارچی آن به اثبات رسیده است [۱۰-۹]. همچنین، این گیاه دارای خاصیت ضد التهابی [۱۱] و کاهنده فشار خون [۱۲] می‌باشد.

خاصیت ضد باروری و سقط جنین آن در افراد مؤنث از کشورهای مختلفی مانند برزیل، هند، پرو، مکزیک و اروگوئه گزارش شده است [۱۳] و در اطلاعات به دست آمده از سال‌های ۱۹۹۹-۱۹۸۶ از کشور اروگوئه از ۸۶ مورد سقط جنینی که به دلیل استفاده از ۳ نوع گیاه رخ داده است، بیشترین میزان سقط جنین به دلیل استفاده از سداب بوده است [۱۳]. در گذشته، در بسیاری از کشورها به عنوان یک داروی سقط جنین و پیش‌اندازی قاعدگی کاربرد داشته است [۱۳].

Diawaraa و همکاران گزارش نمودند استفاده از ۸-متوکسی پسورالن که از ترکیبات موجود در گیاه سداب است افزایش وزن بیضه و اپیدیدیم را به دنبال خواهد داشت [۱۴]. Khouri و همکارانش اعلام کردند مصرف خوراکی عصاره آبی گیاه Ruta به میزان ۵۰۰ میلی‌گرم به

ازای هر کیلوگرم از وزن به مدت ۶۰ روز، باعث کاهش وزن ارگان‌های تولید مثلی و کاهش حرکت اسپرم‌ها خواهد شد. ایشان از نظر رفتار تولید مثلی نیز استفاده از عصاره این گیاه را باعث کاهش تعداد جفت‌گیری و کاهش فعالیت جنسی در موش‌های نر بالغ دانستند [۱۵].

Ahmadi و همکاران اثر عصاره آبی بخش‌های هوایی گیاه سداب بر اسپرماتوژنز موش‌های نابالغ مطالعه قرار دادند. نتایج نشان داد که عصاره آبی سداب می‌تواند روی فعالیت سیستم تولید مثلی؛ اثر کاهشی داشته باشد و احتمالاً می‌تواند به عنوان ماده‌ای جهت کنترل جمعیت مفید واقع شود [۱۶]. Sailani و Moeini تأثیر عصاره گیاه سداب که در طب سنتی ایران به عنوان یک داروی ضد باروری مردان کاربرد داشته است بر اسپرماتوژنز رت بالغ به مدت ۲۰ روز مورد بررسی قرار دادند و این گیاه را برای کاهش فرآیند اسپرماتوژنز مؤثر دانستند. این محققان مطالعات بیشتر در زمینه تأثیر این گیاه بر اسپرماتوژنز را ضروری دانستند [۱۷].

Zhila و همکاران در محیط آزمایشگاهی با اضافه کردن عصارهٔ آبی سداب بر نمونه اسپرم انسانی، تأثیر گیاه سداب را بر بی‌حرکت کردن اسپرم‌های انسانی مطالعه کردند و به این نتیجه رسیدند که عصارهٔ آبی سداب اسپرم‌های انسانی را بی‌حرکت می‌کند [۱۸]. با توجه به این‌که تا بحال هیچ گونه مطالعه‌ای در مورد اثرات تزریق عصاره آبی گیاه کامل سداب بر بافت بیضه و روند اسپرم‌سازی در حیوان بالغ انجام نشده است این تحقیق طراحی گردید.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه که از نوع تجربی می‌باشد از ۳۰ سر موش صحرایی بالغ نژاد ویستار با وزن ۲۰±۲۰۰ که باروری آنها اثبات شده است استفاده گردید. حیوانات در اتاق مخصوص نگهداری حیوانات در دانشگاه علوم پزشکی اهواز در دمای معمولی (۲±۲۳ درجه سانتی‌گراد) و در دوره نوری طبیعی نگهداری شدند .غذای مورد استفاده حیوانات به صورت غذای آماده موش از شرکت دام و طیور پارس تهیه گردید که به شکل حبه همراه آب تصفیه شده شهری در آبخوری مخصوص در اختیار آن‌ها قرار گرفت.

گیاه مورد نظر از پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی دانشگاه تهران تهیه گردید. جهت تهیه عصاره، ۱۰۰ گرم از بخش‌های هوایی گیاه خرد شده و در ۱۰۰۰ سی‌سی آب مقطر حرارت داده شد. سپس عصاره سبز رنگ خارج شده پس از صاف کردن با ایجاد خلا، تغلیظ و تا زمان استفاده در یخچال نگهداری گردید.

در این طرح بر اساس طرح تحقیقاتی اولیه (پیلوت) مشخص گردید که LD50 (Lethal dose 50) برابر با ۶۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بوده است. بر این اساس، دوز sub LD50 عصاره آبی به میزان ۳۱۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن موش صحرائی تعیین شد. موش‌های صحرائی به طور تصادفی به سه گروه ۱۰ تایی تقسیم شدند.گروه اول- تحت عنوان کنترل بوده هیچ تزریقی در مورد آن‌ها انجام نشد و در شرایط مشابه زمان و مکان با سایر گروه‌ها نگهداری شدند. گروه دوم- تحت عنوان گروه شاهد فقط نرمال سالین دریافت کردند و گروه سوم- عصاره آبی قسمت هوایی گیاه سداب را به مدت چهل روز و از راه تزریق درون صفاقی به میزان ۳۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن دریافت کردند. بعد از گذشت چهل روز، حیوانات هرسه گروه به با استفاده از کلروفرم کشته و اپی‌دیدیم جهت بررسی اسپرم‌ها استخراج، هم‌چنین بیضه‌ها جهت مطالعه بافت‌شناسی خارج شدند.

سپس بافت بیضه درون محلول بوئن قرار گرفت و در یک روش سریالی برش‌های موازی با فاصله ثابت (۵ میکرومتری) از قسمت‌های بالایی، میانی و پایینی هر بلوک، تهیه گردید (حدود ۹۰ برش). نمونه‌ها با رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین رنگ‌آمیزی شدند. سپس، شمارش مجموع سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت اولیه، اسپرماتید، با استفاده از میکروسکوپ نوری (اولیمپوس- ژاپن) انجام شد. در این روش، شمارش مقاطع دهم، بیستم و سی‌ام از هر قطعه از لحاظ تعداد و سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت اولیه، اسپرماتید و قطر لوله اسپرم‌ساز و ضخامت غلاف سفید مورد بررسی قرار گرفت. جهت اندازه‌گیری قطعه لوله اسپرم‌ساز و ضخامت غلاف سفید از نرم‌افزار stereo ivestigator Motic software به همراه یک دوربین Motic Image plus 2.0 استفاده شد. نتایج به دست آمده به صورت داده‌های خام به کامپیوتر وارد شدند و سپس تحلیل و مقایسه میانگین‌ها با در نظر گرفتن انحراف معیار انجام گردید. سنجش‌های آماری به وسیله نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۵ و با استفاده از تست ANOVA و در صورت معنی‌دار بودن با Tukey Post Test صورت گرفت. ارزش P کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج

جدول ۱ میانگین تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت‌های اولیه و سلول‌های اسپرماتید در سه گروه مورد مطالعه شاهد، کنترل و تجربی را نشان می‌دهد. آنالیز آماری انجام شده نشان داد که در گروه تجربی، میزان این سلول‌ها به صورت معنی‌داری در مقایسه با گروه‌های شاهد و کنترل کاهش می‌یابد ($p<۰/۰۵$). اختلاف بین دو گروه کنترل و شاهد معنی‌دار نبوده است (شکل‌های A, B, C).

جدول ۱- مقایسه تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت اولیه، اسپرماتید در ۳ گروه مورد مطالعه ۴۰ روز بعد از شروع اولین تزریق عصاره آبی گیاه سداب

گروه مورد مطالعه / متغیر	شاهد	کنترل	شاهد-کنترل	تجربی	تجربی-شاهد	تجربی-کنترل
اسپرماتوگونی (Mean±SD)	۲۱/۸۸±۱/۸۷	۲۳/۵۵±۲/۵۶	p=۰/۰ ۹	۱۰/۱۳±۳/۲۲	*p=۰/۰ ۰۱	*p=۰/۰ ۰۳
اسپرماتوسیت اولیه (Mean±SD)	۱۷/۸۵±۰/۹۱	۱۸/۷۳±۰/۶۹	p=۰/۰ ۸	۱۲/۰۴±۱/۵۳	*p=۰/۰ ۱	*p=۰/۰ ۱
اسپرماتید (Mean±SD)	۱۲۶/۷۸±۵/۵۶	۱۳۷/۷۱±۵/۸۸	p=۰/۰ ۷	۷۵/۳۳±۳/۷۱	*p=۰/۰ ۱	*p=۰/۰ ۱

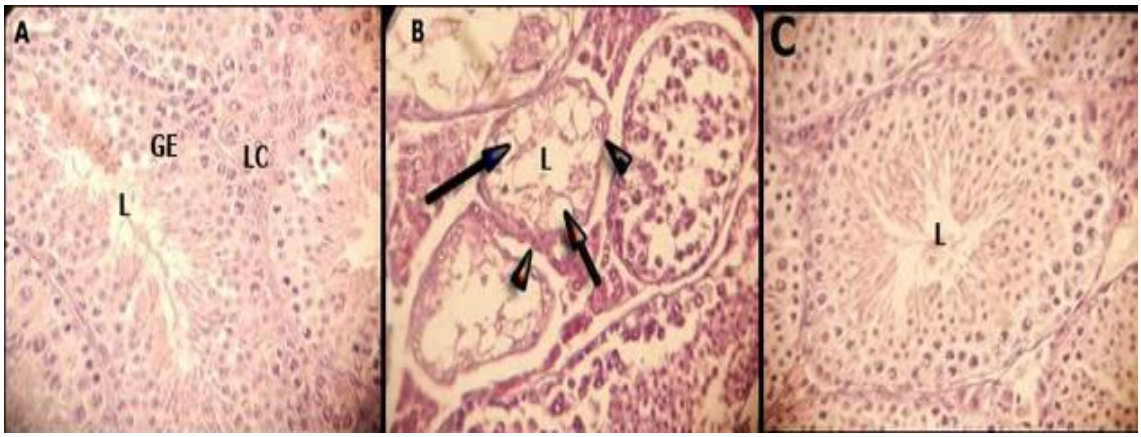
: اختلاف معنی‌دار، تست آزمون ANOVA یکطرفه و تست پشتیبان توکی

میانگین تعداد سلول‌های لایدیگ و همچنین ضخامت غلاف سفید و قطر لوله‌های اسپرم‌ساز را در سه گروه تجربی، گروه کنترل و شاهد در جدول ۲ مشاهده می‌شوند. اختلاف بین دو گروه تجربی و شاهد، همچنین شاهد و کنترل معنی‌دار بوده اما بین دو گروه کنترل و شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (شکل‌های A, B, C).

جدول ۲- مقایسه تعداد سلول‌های سلول لایدیگ، قطر لوله اسپرم‌ساز، ضخامت غلاف سفید در ۳ گروه مورد مطالعه ۴۰ روز بعد از شروع اولین تزریق عصاره آبی گیاه سداب

گروه مورد مطالعه / متغیر	شاهد	کنترل	شاهد-کنترل	تجربی	تجربی-شاهد	تجربی-کنترل
قطر لوله اسپرم ساز (Mean±SD) بر حسب میکرومتر	۳/۵±۱۲/۳۵	۳۶/۱۶±۵/۷۳	p=۰/۰ ۶	۲۰/۳۰±۲/۳۶	* p=۰/۰ ۰۱	*p=۰/۰ ۲
سلول‌های لایدیگ (Mean±SD)	۴۳/۵۱±۱/۶۰	۳۹/۷۱ ±۱/۷۵	p=۰/۰ ۹	۲۹/۸۷±۲/۷۰	*p=۰/۰ ۱	*p=۰/۰ ۰ ۱
ضخامت غلاف سفید (Mean±SD) بر حسب میکرومتر	۴/۶۵±۰/۶۶	۵/۳۵±۰/۴۴	p=۰/۰ ۹	۸/۰۳±۰/۳۸	*p=۰/۰ ۰۱	*p=۰/۰ ۳

***: اختلاف معنی‌دار، تست آزمون ANOVA یکطرفه و تست پشتیبان توکی**



شکل ۱- مقطع عرضی بیضه گروه‌های مورد مطالعه: A- مقطع عرضی بافت بیضه در گروه شاهد (بزرگنمایی۴۰۰×) و رنگ‌آمیزی H&E: همان‌طور که ملاحظه می‌شود در تعداد سلول‌های زاینده (GE) و قطر لوله‌های اسپرم‌ساز (L) تغییری حاصل نشده است. سلول‌های بینابینی یا لیدیگ با علامت LC نشان داده شده است. B: مقطع عرضی بافت بیضه در گروه تجربی (بزرگنمایی۴۰۰×) و رنگ‌آمیزی H&E: همان‌طور که ملاحظه می‌شود تعداد سلول‌های زاینده (پیکان) و قطر لوله‌های اسپرم‌ساز (L) به طور قابل توجهی کاهش پیدا کرده‌اند. غشای پایه با سر پیکان نشان داده شده است.C: مقطع عرضی بافت بیضه در گروه کنترل (بزرگنمایی۴۰۰×) و رنگ‌آمیزی H&E: قطر لوله‌های اسپرم‌ساز (L) سلول‌های زاینده (در خارج مجرای لوله) نسبت به گروه شاهد تفاوتی نشان نمی‌دهد.

بحث

در این مطالعه مشخص گردید که پس از تزریق عصاره با دوز ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت ۴۰ روز، تعداد سلول‌های لایدیگ، اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت اولیه، اسپرماتید، ضخامت غلاف سفید و قطر لوله اسپرم‌ساز کاهش معنی‌داری دارد. در مطالعه‌ای که تزریق عصاره آبی بخش هوایی گیاه سداب به مدت یک هفته با دوز ۲۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم انجام شده بود کاهش در تعداد اسپرماتوگونی A و اسپرماتوسیت اولیه رخ داده بود در حالی که کاهشی در تعداد اسپرماتیدها و اسپرماتوزوئیدها و سلول‌های لایدیگ مشاهده نشده بود [۱۶]. که با یافته مطالعه حاضر که تأثیر دوز ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (دوزی نزدیک به دوز مطالعه کوتاه مدت) را بر سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت اولیه، سلول لایدیگ و اسپرماتید، بعد از ۴۰ روز تزریق تأیید کرده بود، مغایرت دارد. علت این تفاوت می‌تواند مدت زمان طولانی تر تزریق در مطالعه حاضر به نسبت مطالعه کوتاه مدت باشد. همچنین در مطالعه حاضر از تمام بخش‌های گیاه عصاره گیری انجام شده است که شاید ماده مؤثره‌ای از گیاه سداب، که روند اسپرماتوژنز را دستخوش تغییر می‌کند در بخش هوایی آن موجود نباشد یا به مقدار کمتری نسبت به سایر قسمت‌های گیاه موجود باشد که باعث اثر کمتر آن بر سلول‌های رده اسپرماتوژنز به خصوص اسپرماتیدها و اسپرماتوزوئیدها و سلول‌های لایدیگ شده است. به همین دلیل در مطالعه حاضر تصمیم گرفته شد که مدت زمان تزریق کمی نزدیک‌تر به طول مدت یک دوره اسپرماتوژنز موش صحرایی باشد تا بتوان تأثیر تزریق بلند مدت آن را تعیین کرد. در مطالعه‌ای که عصاره به مدت کمی تزریق شده بود علت اثر مهاری عصاره بر تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی و سرتولی ممانعت آن از روند طبیعی تکامل سلول‌های جنسی نر توجیه شده است [۱۶]. اگر عصاره روند طبیعی تکامل سلول‌های جنسی نر را مختل کند باید سایر سلول‌های رده اسپرماتوژنز کاهش معناداری می‌یافتند که این‌گونه نبوده است و به نظر می‌رسد در مطالعه کوتاه مدت علت عدم تأثیر عصاره بر تمام سلول‌های رده اسپرماتوژنز مدت زمان کم تزریق و استفاده صرف، از بخش هوایی باشد [۱۶] ولی در تحقیق حاضر که از کل بخش‌های گیاه استفاده شده و مدت زمان تزریق بیشتر شده است سایر سلول‌های رده نیز کاهش یافته‌اند. با توجه به این‌که تزریق عصاره باعث کاهش تعداد سلول‌های رده اسپرماتوژنز می‌شود به نظر می‌رسد که عوامل موجود در عصاره بتوانند مانع تقسیم سلولی شوند. در مطالعه‌ای که Rethy و همکارانش انجام دادند نشان داده شده فورانوکریدون‌های موجود در گیاه سداب (زانتوکسین، برگاپتن) که از دسته آلکالوئیدها می‌باشند باعث القای مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده در سلول‌های سرطانی می‌شوند که به این طریق می‌توان کاهش تعداد سلول‌های رده اسپرماتوژنز در مطالعه حاضر را این‌گونه توجیه کرد که این سلول‌ها دچار تغییرات مربوط به مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده گشته‌اند و در نتیجه از تعداد آن‌ها کاسته شده است [۱۹]. در تحقیقاتی که در سال‌های ۲۰۰۱ و ۲۰۰۶ انجام شده است، مشخص شده بود که گیاه سداب حاوی ترکیبات متوکسالن، کوئرستین و

فلاونوئید می‌باشد که این ترکیبات می‌توانند همانندسازی DNA سلولی را مهار کرده و مانع تکثیر سلول‌ها و همچنین تحریک روند مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده شوند [۲۱-۲۰] که این نتیجه نیز با یافته‌های مطالعه حاضر همخوانی دارد و می‌توان نتیجه گرفت که علت کاهش تعداد سلول‌های رده اسپرماتوژنز هم عدم همانندسازی DNA و هم به دنبال آن پدیده مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده می‌باشد که این پدیده نیز با یافته‌های بافتی مطالعه حاضر مطابقت دارد.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج بدست آمده در مطالعه حاضر، تزریق عصاره آبی گیاه سداب در طول مدت ۴۰ روز منجر به ایجاد تغییرات ساختمانی در بافت بیضه و کاهش تعداد سلول‌های رده اسپرماتوژنز می‌گردد. افزایش دوز تزریقی، مدت زمان تزریق، دفعات تزریق، استفاده از عصاره‌ای که از تمام بخش‌های گیاه تهیه شده است منجر به تغییرات بافتی بیشتر می‌گردد و در نتیجه می‌توان برای تولید دارویی جدید جهت جلوگیری از بارداری در مردان گامی بزرگ برداشت.

تشکر و قدردانی

این مقاله از طرح تحقیقاتی شماره PRC:43 مصوب معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی که پایان نامه دوره کارشناسی ارشد خانم مهشید بذر افکن می‌باشد استخراج شده است. نگارندگان این مقاله مراتب تقدیر و تشکر خود را از معاونت پژوهشی به دلیل تأمین مالی این مقاله اعلام می‌دارند.

References

[1] Cunningham FQ, Leveno KY, Bloomst. William D bstrics. 21 th ed USA: McGraw Hill professioud. 1996; 1334-75.

[2] Bone W, Jones AR, Morin C, Nieschiage E, Cooper TG. Susceptibility of glycolytic enzyme activity and motility of spermatozoa from rat, mouse, and human to inhibitory by proven and putative Chlorinated antifertility compounds in vitro. *J Androl* 2001; 22(3): 464-70.

[3] Rahim F, Saki G, Ghavamizadeh B, Jafaee A, kadkhodaeem. The Effect of Oxamate on Fertilization Capacity of Mouse Sperm in vitro. *Int J Pharmacol* 2009; 5: 178-80.

[4] Waites GM. Development of methods of male contraception: impact of World Health Organization Task Force. *Fertil Steril* 2003; 80(1): 1-15.

[5] Freitas TG, Augusto PM, Montanari T. Effect of Ruta graveolens L. on pregnant mice. *Contraception* 2005; 71(1): 74-7.

[6] Gutiérrez-Pajares JL, Zúñiga L, Pino J. Ruta graveolens aqueous extract retards mouse preimplantation embryo development. *Reprod Toxicol* 2003; 17(6): 667-72.

[7] Zargari A. Medicinal plants .Tehran University Press, Tehran 1990. [Farsi]

[8] Ojala T, Remes S, Haansuu P, Vuorela H, Hiltunen R, Haahtela K, et al. Antimicrobial activity of some coumarin containing herbal plants growing in Finland. *J Ethnopharmacol* 2000; 73(1-2): 299-305.

[9] Oliva A, Meepagala KM, Wedge DE, Harries D, Hale AL, Aliotta G, et al. Natural fungicides from Ruta graveolens L. leaves, including a new quinolone alkaloid. *J Agric Food Chem* 2003; 51(4): 890-6.

[10] Meepagala KM, Schrader KK, Wedge DE, Duke SO. Algicidal and antifungal compounds from the roots of Ruta graveolens and synthesis of their analogs. *Phytochemistry* 2005; 66(22): 2689-95.

[11] Raghav SK, Gupta B, Agrawal C, Goswami K, Das HR. Anti-inflammatory effect of Ruta graveolens L. in murine macrophage cells. *J Ethnopharmacol* 2006; 104(1-2): 234-9.

[12] Chiu KW, Fung AY. The cardiovascular effects of green beans (Phaseolus aureus), common rue (Ruta graveolens), and kelp (Laminaria japonica) in rats. *Genpharmacol* 1997; 29(5): 859-62.

[13] Ciganc labored A. Herbal infusion used for induced abortion. *J Toxical* 2003, 41(3): 235-9.

[14] Diawaraa MM, Chavez KJ, Simpleman D, Williams DE, Franklin MR, Hoyer PB. The psoralens adversely affect reproductive function in male wistar rats. *Reprod Toxicol* 2001; 15(2): 137-44.

[15] Khouri NA, EL-Akawi Z. Antiandrogenic activity of Ruta graveolens L. in male Albino rats with emphasis on sexual and aggressive behavior. *Neuro Endocrinal Lett* 2005; 26(6): 823-9.

[16] Ahmadi A, Nasirizadeh F, Parivar K. Effect of aqueous extract of the aerial part of the ruta graveolens on the spermatogenesis of immature balb/c mice. *Razi J Med Sci (J Iran Univ Med Sci)* 2007; 14(56): 13-20. [Farsi]

[17] Sailani MR, Moeini H. Effect of Ruta graveolens and Cannabis sativa alcoholic extract on spermatogenesis in the adult wistar male rats. *Indian J Urol* 2007; 23(3): 257-60.

[18] Nghibi Harat Zh, Sadeghi MR. Immobilization effect of ruta graveolens: A new hope for male contraception. *J Ethnophamacol* 2008; 115: 36-41.

[19] Rethy B, Zupko I, Minorics R, Hohmann J, Ocsovski I, Falky G. Investigation of cytotoxic activity on human cancer cell lines arborinine and

furanoacridones isolated from Ruta graveolens . *Planta Med* 2007; 73(1); 41-8.

[20] Petrunkina AM, Harrison RA, Hebel M, Weitze KF, Töpfer-Petersen E. Role of quinine-sensitive ion channels in volume regulation in boar and bull spermatozoa. *Reproduction* 2001; 122(2): 327-36.

[21] Ramesh B, Pugalendi KV. Antihyperglycemic effect of umbelliferone in streptozotocin-diabetic rats. *J Med Food* 2006; 9(4): 562-6.

Study of the Efects of Ruta Graveolens Aqueos Extract Effects on the Spermatogenesis of Mature Wistar Rat

M. Bazrafkan[1], M. Panahi[2], A. Ahangarpour[3], G. Saki[4]

Received: 06/06/2012 Sent for Revision: 17/06/2012 Received Revised Manuscript: 04/09/2012 Accepted: 08/09/2012

Background and Objectives: Nowadays men hava accepted their role in pregnancy prevention. Some of these methods are non-hormonal. In non-hormonal methods plants are used. Ruta graveolens is one of these plants. This plant grows in Iran and was used as a contraceptive plant in the ancient medicine in both sexes. In this study the effect of aqueous extract of this plant on the time of rat spermatogenesis on testis tissue has been investigated.

Materials and Methods: In this experimental study 30 rats allocated randomly to three groups (n=10) as control which did not receive anything, vehicle which received only normal saline, and experimental which received ruta extract. Lethal dose 50 (LD50) extract was considered as 620 mg/kg. Based on this, sub LD 50 dose of aqueous extract 300mg/kg was injected intraperitoneally once every other day for 40 days. A day after last injection the animals were deeply anesthetized and dissected. The right testis were extruded and fixed for histological studies. For statistical analysis ANOVA and Tukey as a post hoc test were used.

Results: Intraperitoneal injection of 300mg/kg Ruta graveolens showed a significant decrease in the number of spermatogonia, primary spermatocyte, spermatid, lydig cell in experimental group as compared to control and vehicle. Also there were a significant increase in thickness of tunica albugina and a decrease in somniferous tubule diameter (p=0.01).

Conclusion: The aqueous extract of R.G diminishes the reproductive system activity and might be a useful substance for birth control process.

Key words: Aqueos extract, Ruta graveolens, Testis tissue, Rat, Spermatogenesis

Funding: This research was funded by physiology research center of Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences.

Conflict of interest: None declared.

Ethical approval: The Ethics Committee of Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences approved the study.

How to cite this article: Bazrafkan M, Panahi M, Ahangarpour A, Saki G. Study of the Efects of Ruta Graveolens Aqueos Extract Effects on the Spermatogenesis of Mature Wistar Rat. *J Rafsanjan Univ Med Scie* 2013; 12(5): 343-52. [Farsi]

1- MSc, Dept. of Anatomical Sciences, School of Medicine, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran
2- Associated Professor, Dept.Of Anatomical Sciences, School of Medicine, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran
3- Associated Prof., Dept. of Physiology, School of Medicine, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran
4- Associated Prof., Dept. of Anatomical Sciences, Physiology Research Center, Ahvaz Jundishapour University of Medical Sciences, Ahvaz , Ira
(Corresponding Author) Tel: (0611) 3738073, Fax: (0611) 3332036, E- mail: ghasemsaki@yahoo.com