



# Effect of Hydroalcoholic Extract of *Plantago major* Leaf on the Testis Morphology, Sperm Parameters and Testosterone Level in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats

## ARTICLE INFO

### Article Type

Original Research

### Authors

Nejati V.<sup>1</sup> PhD,

Khanshi F.\* PhD

### How to cite this article

Nejati V, Khanshi F. Effect of hydroalcoholic extract of *Plantago major* Leaf on the Testis Morphology, Sperm Parameters and Testosterone Level in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Horizon of Medical Sciences*. 2014;20(1):49-55.

## ABSTRACT

**Aims** Diabetes can cause sexual dysfunction in people. The aim of this study was to investigate the effect of leaf extract of plantain (*Plantago major*) on testis morphology, sperm parameters and serum testosterone levels in the diabetic rats.

**Materials & Methods** 24 male rats were randomly divided into three control (C; received normal saline), diabetic (DP) that received 100mg/kg of body weight of extract daily for 42 days intraperitoneally and the diabetic control (D) groups. After treatment, blood samples were collected to determine serum testosterone immediately. Sperms were collected from the epididym tail and sperm count and morphology were evaluated. Tissue sections were prepared from testis and Hematoxylin-Eosin and Oil-Red-Oil staining were done and the slides were examined by light microscope. Data was analyzed by ANOVA test.

**Findings** Treatment with plantain leaf extract significantly increased serum testosterone level significantly in DP group compared to group D ( $p < 0.05$ ), but there was no significant difference between C and DP groups. The number of Leydig cells in the DP group was significantly increased compared to group D ( $p < 0.05$ ), whereas no significant difference was seen between C and DP groups. Treatment with plantain leaf extract significantly increased sperm count and decreased the level of abnormal sperm in DP group compared with group D ( $p < 0.001$ ), but no significant difference was seen between DP and C groups.

**Conclusion** Plantain increases the fertility of diabetic patients by increasing spermatogenesis.

**Keywords** Leydig Cells; Rat; Diabetes; Plantain; Sperm

## CITATION LINKS

[1] Practical ... [2] The Effects of Ginger on Spermatogenesis and Sperm parameters of ... [3] Goodman and Gilman's the pharmacological basis of ... [4] Role of oxidative stress in diabetic complications: a new perspective ... [5] Early oxidative stress in testis and epididymal sperm in ... [6] Preliminary studies on the inorganic constituents of some indigenous hypoglycemic herbs on ... [7] Insulin dependent diabetes affects testicular function by FSH- and LH-linked ... [8] Gonadal dysfunction in the spontaneously diabetic BB rats: alteration of the ... [9] Comparative study of semen in diabetic and ... [10] Quercetin, a flavonoid antioxidant, prevents and protects streptozotocin-induced oxidative stress and ... [11] Effects of garlic juice on diabetes-induced testicular damage in ... [12] Effects of onion and ginger on spermatogenesis in ... [13] Cytotoxic effect of *Plantago* spp. on ... [14] The traditional uses, chemical constituents and biological activities of ... [15] Medicinal properties of *plantago major*: hypoglycaemic and ... [16] Spermatogenic activity of rhizomes of ... [17] Effects of hydro-alcoholic extract of ... [18] Antihyperglycemic, anti hyperlipidemic, and ... [19] Sesame effects on testicular damage in ... [20] Effect of ciprofloxacin on caudal epididymis sperm ... [21] Effect of Cr (VI) exposure on sperm quality ... [22] Experimental diabetes has adverse effects on ... [23] Effect of Saffron on histomorphometric changes of ... [24] Gonadotropin-releasing hormone analogs stimulate and ... [25] Effect of melatonin on testicular damage in Streptozotocin-induced ... [26] Fecundity and infertility in the United States: incidence and ... [27] The influence of obesity on the ... [28] Role of reactive oxygen species in the pathophysiology of ... [29] Ribavirin induced sperm shape abnormalities in ... [30] Study of changes ultrastructure seminiferous tubule and hormone changes gonadotropin and ... [31] Induction of apoptosis in the germ cells of ... [32] Evaluation of rat testes treated with ... [33] Effects of pomegranate juice consumption on ... [34] Effect of acyclovir on the sperm parameters of ... [35] Pathological changes in the acute phase of streptozotocin-induced...

\* Comparative Histology Department, Veterinary Medicine Faculty, Urmia University, Urmia, Iran

<sup>1</sup> Biology Department, Science Faculty, Urmia University, Urmia, Iran

### Correspondence

Address: Biology Department, Sciences Faculty, 11th Kilometer of Sarv Road, Daneshgah Boulevard, Urmia, Iran. Postal Code: 5756151818

Phone: +984412752740-4

Fax: +984412753172

f.khaneshi@yahoo.com

### Article History

Received: June 21, 2013

Accepted: August 4, 2013

ePublished: February 1, 2014

## اثر عصاره هیدروالکلی برگ بارهنگ بر شکل بیضه، پارامترهای اسپرمی و سطح تستوسترون در موش‌های نر دیابتی شده با استرپتوزوتوسین

وحید نجاتی PhD

گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

فرشته خانوشی\* PhD

گروه بافت‌شناسی مقایسه‌ای، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

### چکیده

**اهداف:** ابتلا به دیابت، سبب اختلالات جنسی در افراد می‌شود. هدف از این مطالعه، بررسی اثر عصاره برگ بارهنگ بر مورفولوژی بافتی بیضه، پارامترهای اسپرمی و غلظت سرمی تستوسترون در موش‌های صحرایی دیابتی شده بود.

**مواد و روش‌ها:** ۲۴ سر موش صحرایی نر به‌طور تصادفی به سه گروه کنترل (C: دریافت‌کننده نرمال سالین)، دیابتی (DP) که عصاره برگ بارهنگ را با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به‌طور روزانه به مدت ۴۲ روز و به روش داخل صفاقی دریافت کردند و کنترل دیابتی (D) تقسیم شدند. پس از اتمام تیمار، برای تعیین غلظت سرمی تستوسترون بلافاصله خون‌گیری انجام شد. اسپرم‌ها از دم آیدیدیم جمع‌آوری و تعداد و شکل اسپرم‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت. مقاطع بافتی از بیضه تهیه و رنگ‌آمیزی‌های هماتوکسیلین-اوتوزین و ایل-رد-ایل انجام شد و اسلایدها با میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفتند. داده‌ها با استفاده از آزمون واریانس یک‌طرفه تحلیل شدند.

**یافته‌ها:** تیمار با عصاره برگ بارهنگ در گروه DP باعث افزایش معنی‌داری در غلظت سرمی تستوسترون نسبت به گروه D شد ( $p < 0.05$ )، اما بین گروه‌های C و DP اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده نشد. تعداد سلول‌های لاییدگ در گروه DP افزایش معنی‌داری نسبت به گروه D داشت ( $p < 0.05$ )، درحالی‌که بین گروه C و DP اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. تیمار با عصاره برگ بارهنگ در گروه DP باعث افزایش معنی‌داری در تعداد اسپرم و کاهش معنی‌داری در درصد اسپرم‌های غیرطبیعی نسبت به گروه D شد ( $p < 0.01$ )، اما بین گروه DP و C اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد.

**نتیجه‌گیری:** بارهنگ با افزایش اسپرماتوزن موجب افزایش باروری در موش‌های دیابتی می‌شود.

**کلیدواژه‌ها:** بیضه، موش، دیابت، بارهنگ، اسپرم

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۰۳/۲۱

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۱۲/۱۰

\* نویسنده مسئول: f.khaneshi@yahoo.com

اسپرم‌های سالم و فعال به تعداد کافی است [2, 3]. ابتلا به دیابت، سبب اختلالات جنسی در افراد می‌شود و در ۹۰٪ بیماران دیابتی، میل جنسی و قدرت باروری کاهش می‌یابد [4]. در حیوانات آزمایشگاهی نیز با استفاده از داروی استرپتوزوتوسین برای القای دیابت، نقص در فعالیت بافت بیضه و تجزیه آن مشاهده می‌شود [5]. بیماری دیابت اثرات منفی متنوعی بر عملکرد و ساختار سیستم تولیدمثلی جنس نر دارد و موجب کاهش تولید تستوسترون و فرآیند اسپرماتوزن می‌شود [6, 7]. همچنین کاهش تعداد اسپرم و افزایش اسپرم‌های ناهنجار در افراد دیابتی گزارش شده است [8, 9].

طی سالیان متمادی، در سراسر جهان برای درمان و پیشگیری از دیابت و عوارض ناشی از آن گیاهان دارویی استفاده می‌شود، اما تنها اثرات تعداد کمی از گیاهان به‌طور علمی بررسی شده است. استفاده از گیاهان دارویی که بر افزایش باروری و نیز درمان عدم تعادل هورمونی، ناتوانی جنسی، ضعف جنسی، اولیگواسپرمیا، حرکت کُند اسپرم، التهاب پروستات، واریکوسل و غیره تاثیر مثبت دارد، از دیرباز مورد توجه بوده است [10]. از جمله گیاهان مورد استفاده در درمان دیابت گونه‌های آلوم (*allium*) متعلق به خانواده لیلیاسیائه (*Liliaceae*) است. عصاره آبی سیر از این خانواده، اثر درمانی و پیشگیری بر آسیب‌های بافتی بیضه در موش‌های دیابتی شده دارد و از کاهش میزان اسپرماتوزن و تخریب بافتی بیضه جلوگیری می‌کند [11]. پیاز نیز به‌عنوان آنتی‌اکسیدان، با کاهش رادیکال‌های آزاد در موش‌های دیابتی می‌تواند تعداد اسپرم را افزایش دهد [12]. در حال حاضر، طب گیاهی سهم عمده‌ای در تهیه داروهای تجاری دارد [11].

در این پژوهش از بارهنگ کبیر (*Plantago major*) از خانواده پلاتانتاجیناسیائه (*Plantaginaceae*) که دارای خواص درمانی گسترده در طب سنتی و حاوی متابولیت‌های ثانویه‌ای مانند ویتامین ث و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی است، استفاده شده است [13, 14]. پژوهش‌ها نشان داده‌اند که بارهنگ دارای خاصیت هیپوگلیسمی و کاهشنده قند خون است [15]. همچنین این گیاه با دارابودن گلیکوزیداز فنولی به‌عنوان عامل ضدسرطان قوی، در مهار کارسینوما سیینه موثر است. گلیکوزیداز فنولی با تاثیر بر بافت بیضه موجب افزایش اسپرماتوزن در موش‌های صحرایی نر می‌شود [16]. از آنجا که مواد فلاونوتیدی و آنتی‌اکسیدانی موجب از بین بردن رادیکال‌های آزاد در بیماران دیابتی می‌شوند، این مطالعه با هدف بررسی اثر عصاره برگ بارهنگ بر مورفولوژی بافتی بیضه، پارامترهای اسپرمی و غلظت سرمی تستوسترون در موش‌های صحرایی نر دیابتی شده با استرپتوزوتوسین انجام شد.

### مواد و روش‌ها

این مطالعه تجربی آزمایشگاهی در گروه زیست‌شناسی دانشگاه ارومیه انجام شد. در این مطالعه از ۲۴ سر موش صحرایی نر ویستار

### مقدمه

ناباروری و مشکلات مربوط به آن، از مسایل مهم در زندگی زوجین است [1]. شایع‌ترین علت ناباروری مردان، عدم توانایی آنان در تولید

با وزن متوسط ۲۰۰ تا ۲۳۰ گرم (مرکز نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه ارومیه؛ ایران) استفاده شد. حیوانات در اتاقی با حرارت  $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$  و تحت شرایط نوری ۱۴ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت تاریکی نگهداری شدند. رژیم غذایی معمولی (پلت) در اختیار موش‌ها به‌طور یکسان قرار گرفت و در طول مدت آزمایش طبق دستورالعمل‌های بین‌المللی مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی، با آنها رفتار شد. موش‌ها به‌طور تصادفی به ۳ گروه هشت‌تایی تقسیم شدند. به موش‌های صحرایی سالم گروه کنترل (C) معادل حجم عصاره تزریقی به سایر گروه‌ها، سرم فیزیولوژی تزریق شد. موش‌های صحرایی دیابتی گروه دوم (DP) عصاره برگ بارهنگ را با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن (پس از بررسی غلظت‌های مختلف به‌صورت آزمایشی) به‌طور روزانه به‌مدت ۴۲ روز با سرنگ انسولین و به روش داخل صفاقی در شرایط استریل دریافت کردند. موش‌های صحرایی دیابتی گروه سوم (D) نیز به‌عنوان کنترل دیابتی در نظر گرفته شدند.

نمونه‌های بارهنگ از حومه شهرستان ارومیه (استان آذربایجان غربی) در مهر ماه سال ۱۳۸۹ جمع‌آوری شد و مورد بررسی و تایید گروه سیستماتیک دانشکده علوم دانشگاه ارومیه قرار گرفت. ابتدا برگ‌های گیاه بارهنگ در سایه، خشک و پس از پودرشدن در درون ارلن یک‌لیتری ریخته شد و به آن الکل اتیلیک ۹۶٪ اضافه گردید (۲۴ گرم به ازای هر ۲۰۰ سی‌سی الکل اتیلیک) و به‌مدت ۲۴ ساعت روی دستگاه شیکر قرار گرفت. عصاره بارهنگ توسط دستگاه روتاری (برای حذف الکل) تغلیظ شده و به‌منظور خشک‌شدن، در دستگاه آن به‌مدت ۲۴ ساعت با دمای  $50^{\circ}\text{C}$  قرار داده شد [17].

برای ایجاد دیابت نوع I از استرپتوزوتوسین (Sigma؛ ایالات متحده) استفاده شد. دوز داروی به‌کار برده شده برای دیابتی‌کردن موش‌های صحرایی ۶۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن بود که پس از حل کردن در بافر سیترات ( $\text{pH}=5/4$ ) به‌صورت داخل صفاقی به آنها تزریق شد [18]. در طول ۵ روز پس از تزریق استرپتوزوتوسین وضعیت ظاهری حیوان و میزان مصرف آب نسبت به گروه کنترل مقایسه و در روزهای سوم و هفتم غلظت گلوکز سرم با خونگیری از دم موش و با استفاده از دستگاه گلوکومتر (On-Call® EZ؛ ایالات متحده) اندازه‌گیری شد تا از ایجاد بیماری اطمینان حاصل شود. موش‌هایی که ۷ روز پس از تزریق استرپتوزوتوسین، دارای غلظت گلوکز بالاتر از ۳۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بودند دیابتی در نظر گرفته شدند [19].

پس از اتمام دوره تیمار بلافاصله خونگیری از قلب حیوانات مورد آزمایش انجام شد و نمونه‌های خونی به لوله‌هایی حاوی هپارین منتقل و پس از سانتریفیوژ در  $3000 \text{ rpm}$  برای ۱۰ دقیقه، غلظت سرمی تستوسترون اندازه‌گیری شد. پس از آسان‌کشی موش‌ها، ناحیه تحتانی دم اپیدیدیم به طرف محتوی سرم فیزیولوژی منتقل و اسپرم‌ها جداسازی شد. سوسپانسیون اسپرمی حاصله به نسبت

## یافته‌ها

قطر لوله‌های منی‌ساز، ضخامت اپیتلیوم و ضریب اسپرمیوژن در گروه D در مقایسه با گروه‌های C و DP به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ( $p < 0.05$ ). بین گروه C و DP اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نشد. ضخامت بافت بینابینی مابین لوله‌ها در گروه دیابتی در مقایسه با گروه‌های C و DP افزایش معنی‌داری نشان داد ( $p < 0.001$ ) ولی اختلاف آماری معنی‌داری بین گروه‌های C و DP وجود نداشت. تیمار با عصاره برگ بارهنگ در گروه DP باعث افزایش معنی‌داری در غلظت سرمی تستوسترون نسبت به گروه D شد ( $p < 0.05$ )، اما بین گروه‌های C و DP اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده نشد. تعداد سلول‌های لایدیگ در گروه DP

افزایش معنی‌داری نسبت به گروه D داشت ( $p < 0.05$ )، در حالی که بین گروه C و DP اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. تیمار با عصاره برگ بارهنگ در گروه DP باعث افزایش معنی‌داری در تعداد اسپرم و کاهش معنی‌داری در درصد اسپرم‌های غیرطبیعی نسبت به گروه D شد ( $p < 0.001$ )، اما بین گروه DP و C اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۱).

**جدول ۱** مقایسه میانگین قطر لوله‌های سمینیفروس، ضریب اسپرمیونژن، ضخامت بافت بینابینی، ضخامت اپیتلیوم، سطح سرمی تستوسترون، میانگین تعداد اسپرم و اسپرم‌های غیرطبیعی در گروه‌های مختلف آزمایشی

گروه کنترل (C)	گروه دیابتی (D)	گروه عصاره (DP)
قطر لوله‌های سمینیفروس (میکرومتر)		
۲۱۱/۷۵±۱/۷۰	۱۶۵/۷۵±۲/۲۱*	۲۱۰/۲۵±۱/۷۰
ضریب اسپرمیونژن (%)		
۹۴/۷۵±۰/۹۵	۶۶/۲۵±۱/۵۰*	۹۳/۷۵±۰/۵۰
ضخامت بافت بینابینی (میکرومتر)		
۷/۱۳±۰/۱۰	۱۹/۵۷±۰/۰۶**	۶/۹۵±۰/۰۵
ضخامت اپیتلیوم (میکرومتر)		
۴۴/۰۰±۰/۸۱	۳۴/۰۲±۰/۹۵*	۴۳/۰۰±۰/۸۱
تعداد اسپرم ( $10^6 \times$ )		
۴۹/۰۰±۱/۷۷	۳۰/۷۹±۱/۱۱**	۴۹/۰۰±۱/۷۷
اسپرم غیرطبیعی (%)		
۱۱/۷۳±۰/۲۳	۱۸/۵۰±۰/۷۵**	۱۰/۸۷±۰/۲۵
تستوسترون (نانوگرم/میلی‌لیتر)		
۰/۷۸±۰/۰۲	۰/۴۸±۰/۰۱*	۰/۷۹±۰/۰۱

\* $p < 0.05$  (نسبت به گروه‌های C و DP); \*\* $p < 0.001$  (نسبت به گروه‌های C و DP)

در گروه C، لوله‌های منی‌ساز از لحاظ ظاهری کاملاً سالم بودند و تمامی رده‌های سلولی اسپرماتوژن وجود داشتند (شکل ۱، A)، اما در گروه D کاهش رده‌های سلولی اسپرماتوژن مشاهده شد (شکل ۱، B). در گروه DP وضعیت ظاهری لوله‌های منی‌ساز طبیعی بود و تمامی رده‌های سلولی به‌طور کامل در کنار هم به‌صورت منظم مشاهده شد (شکل ۱، C). سلول‌های لایدیگ در گروه‌های C (شکل ۱، D) و DP (شکل ۱، F) حالت طبیعی داشتند ولی وضعیت این سلول‌ها در گروه D (شکل ۱، E) غیرطبیعی بود. بررسی‌های بافتی با رنگ‌آمیزی ایل-رد-اُیل با نتایج حاصل از سنجش غلظت سرمی تستوسترون همخوانی داشت.

## بحث

عصاره برگ بارهنگ توانست در بهبود بافت بیضه از طریق کاهش تعداد اسپرم‌های غیرطبیعی و آتروفی لوله‌های منی‌ساز و همچنین افزایش فرآیند اسپرماتوژن و افزایش تعداد سلول‌های لایدیگ و تستوسترون موثر واقع شود.

دیابت تغییرات بافتی بیضه‌ای را از طریق ایجاد آپوپتوزیس، آتروفی لوله‌های منی‌ساز، کاهش قطر لوله‌های منی‌ساز و کاهش مجموعه سلولی اسپرماتوژن ایجاد می‌کند [25] و اثرات زیان‌آوری بر تولید اسپرم‌های طبیعی و اسپرماتوژن دارد [26]. نقش مهم گونه‌های فعال اکسیژن در ایجاد مشکلات و ناهنجاری‌های بافت بیضه در موش‌های صحرایی دیابتی شده، گزارش شده است [27]. آسیب‌دیدگی DNA ناشی از رادیکال‌های آزاد می‌تواند فرآیند آپوپتوزیس سلول‌های جنسی را سرعت بخشیده و باعث کاهش در تعداد سلول‌های جنسی شود که در نهایت، منجر به ناباروری می‌شود [28]. در پژوهش حاضر نیز کاهش تعداد اسپرم در گروه دیابتی وجود داشت، در صورتی که در گروه تیمار شده با عصاره افزایش چشم‌گیری در تعداد اسپرم مشاهده شد که این یافته با نتایج بررسی تاثیر پیاز در موش‌های دیابتی سازگار بود. آب پیاز می‌تواند با کاهش گونه‌های فعال اکسیژن بر سلامتی کلی اسپرم در موش‌های دیابتی موثر واقع شود [12]. همچنین با توجه به وجود رابطه بین میزان گونه‌های فعال اکسیژن و تعداد اسپرم‌های ناهنجار [29]، احتمال می‌رود که بارهنگ نیز از طریق کاهش گونه‌های فعال اکسیژن موجب کاهش تعداد اسپرم‌های ناهنجار و تولید طبیعی آنها شود.

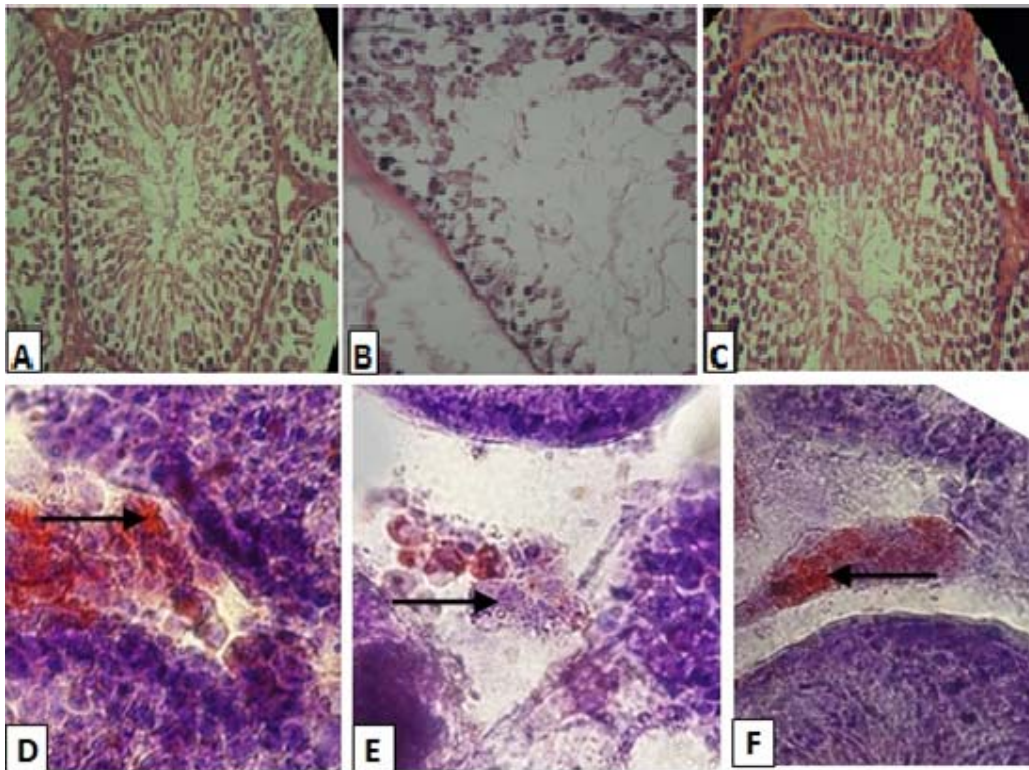
تغییرات فراساختاری سلول‌های دیواره لوله‌های منی‌ساز در بافت بیضه در موش‌های صحرایی نر دیابتی با تغییر در میزان هورمون‌های دخیل در فرآیند اسپرماتوژن می‌تواند موجب اختلال در روند اسپرماتوژن و در نتیجه کاهش باروری شود [30]. مطالعات هیستومورفومتری و هیستولوژیکی تغییرات بافتی وسیعی را در گروه دیابتی نشان داد؛ با توجه به اینکه آتروفی لوله‌های منی‌ساز نیز نشانه اختلال‌های مورفولوژیک و اسپرماتوژن در بافت بیضه است [31] و ارتباط مثبتی بین قطر لوله‌های منی‌ساز و فعالیت اسپرماتوژن وجود دارد [32]، کاهش قطر لوله‌های منی‌ساز و فرآیند اسپرماتوژن در گروه دیابتی کاملاً طبیعی به‌نظر می‌رسد که نشان‌دهنده آتروفی لوله‌های منی‌ساز بود، در حالی که در گروه تیمار شده با عصاره برگ بارهنگ افزایش قطر لوله‌های منی‌ساز و بهبود فرآیند اسپرماتوژن در این گروه مشاهده شد. به‌طوری‌که کاهش آتروفی لوله‌های منی‌ساز نشان‌دهنده تاثیر مثبت برگ بارهنگ در بافت بیضه بود. یافته‌های مورفولوژی پژوهش حاضر با نتایج تورک و همکاران در مورد تاثیر آب انار در بافت بیضه موش‌های دیابتی سازگار است. آب انار نیز می‌تواند با افزایش فرآیند اسپرماتوژن و قطر لوله‌های منی‌ساز سبب کاهش عوارض ناشی از دیابت شود [33].

براساس نتایج مطالعات، در بیماری دیابت کاهش تولید تستوسترون دیده می‌شود [30]. کاهش قابل توجه تستوسترون می‌تواند یکی از علل تغییرات مشاهده‌شده در بافت بیضه باشد [34]. این کاهش موجب آسیب سلول‌های بافت بینابینی و تحلیل اپیتلیوم زاینده لوله‌های منی‌ساز می‌شود [33]. کاهش ضخامت بافت بینابینی در

تیمار شده با بارهنگ سیتوپلاسم سلول‌های لایدیگ به علت افزایش ترشح تستوسترون قرمزتر مشاهده شد. در مطالعات نشان داده شده که کاهش میزان آندروژن‌های بیضه‌ای بعد از دیابتی شدن به دلیل کاهش تبدیل پرگنولون و پروژسترون به تستوسترون است. بنابراین دیابت علاوه بر تاثیر مستقیم بر بافت بیضه می‌تواند با اثر بر گنادوتروپین‌های هیپوفیزی در بیوسنتز و تولید تستوسترون اختلال ایجاد کند<sup>[35]</sup>. پژوهش حاضر نشان داد که گیاه بارهنگ از طریق تاثیر مستقیم بر بافت بیضه و حفظ غلظت سرمی تستوسترون سبب محافظت بافت بیضه در موش‌های صحرایی نر دیابتی شده و عوارض ناشی از دیابت را کاهش می‌دهد. از آنجاکه به منظور روشن شدن مکانیسم عمل این ترکیبات بر سیستم تولیدمثلی نیاز به تحقیقات بیشتری در این زمینه است، پیشنهاد می‌شود بررسی‌های سیتولوژیکی بیشتری در این زمینه انجام گیرد.

گروه دیابتی تیمار شده با برگ عصاره بارهنگ نشان داد که بارهنگ توانسته آثار تخریبی ناشی از دیابت را بهبود بخشد. همچنین ضخامت اپیتلیوم در گروه تیمار شده با برگ بارهنگ نسبت به گروه دیابتی افزایش نشان داد. با افزایش سلول‌های لایدیگ در گروه تحت درمان در این پژوهش در مقایسه با گروه دیابتی، می‌توان اینگونه نتیجه گرفت که احتمالاً ترکیبات فنولی موجود در بارهنگ سبب مهار آسیب سلول‌های لایدیگ در حضور رادیکال‌های آزاد می‌شود و از کاهش سنتز تستوسترون جلوگیری می‌کند و تغییرات بافتی بیضه را به حداقل می‌رساند.

افزایش غلظت سرمی تستوسترون در گروه تیمار شده با برگ بارهنگ در رنگ‌آمیزی ایل-رد-ایل نیز تایید شد. در گروه دیابتی سیتوپلاسم سلول‌های لایدیگ روشن‌تر شد که نشان‌دهنده کاهش تولید تستوسترون توسط سلول‌های لایدیگ است. اما در گروه



**شکل ۱) A تا C** برش عرضی از بافت بیضه با رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین را با بزرگنمایی ۴۰۰ برابر نشان می‌دهند. در شکل A (گروه C) لوله‌های منی‌ساز در کنار یکدیگر قرار گرفته و فضای مابین لوله‌ها در حد طبیعی است. همچنین، بین سلول‌های نسل اسپرماتوژنز و سرتولی اتصال‌های سلولی وجود دارد که باعث می‌شود تمامی سلول‌ها به‌طور منظم در کنار یکدیگر قرار بگیرند. در شکل B (گروه D) تعداد لایه‌های سلول‌های نسل اسپرماتوژنز کاهش قابل توجهی یافته و نظم و ارتباط بین سلولی به هم خورده است. همچنین اتصال بین سلول‌های رده اسپرماتوژنز و سلول‌های سرتولی دچار آسیب شده که در نتیجه، سلول‌ها از هم جدا شده‌اند و فضای میان لوله‌های منی‌ساز به‌طور چشم‌گیری افزایش یافته که خود نشان از تروپی لوله‌های منی‌ساز است. در شکل C (گروه DP) سلول‌ها به‌صورت منظم در کنار یکدیگر قرار دارند و تمامی سلول‌های اسپرماتوژنز به‌صورت منظم در کنار یکدیگر هستند و فضای مابین لوله‌های منی‌ساز در حد طبیعی است. در شکل D تا F برش عرضی از بافت بیضه با رنگ‌آمیزی ایل-رد-ایل را با بزرگنمایی ۱۰۰۰ برابر نشان می‌دهند. در شکل D (گروه C) سلول‌های بینابینی پر از ذرات لیپیدی هستند به‌طوری‌که واکوئل‌های قرمز رنگ به مقدار زیادی در سیتوپلاسم این سلول‌ها به چشم دیده می‌شود که نشان‌دهنده تولید هورمون تستوسترون است. در شکل E (گروه D) سنتز هورمون‌های استروئیدی به حداقل رسیده است. در سیتوپلاسم سلول‌های لایدیگ تراکم رنگ قرمز کم و سیتوپلاسم روشن است که دلالت بر کاهش تولید تستوسترون دارد. در شکل F (گروه DP) ذرات لیپیدی در سیتوپلاسم سلول‌های لایدیگ به وضوح دیده می‌شود و سیتوپلاسم قرمز شده که نشان‌دهنده تولید طبیعی تستوسترون است.

## نتیجه گیری

بارهنگ با تاثیر مستقیم بر بافت بیضه، عوارض ناشی از دیابت را به حداقل رسانده و با بهبود غلظت سرمی تستوسترون و افزایش اسپرماتوژنز موجب افزایش باروری در افراد دیابتی می‌شود.

**تشکر و قدردانی:** بدین وسیله از معاونت پژوهشی و آموزشی دانشگاه ارومیه که در تامین هزینه‌های این مطالعه یاری کردند، قدردانی می‌شود.

**تاییدیه اخلاقی:** موردی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

**تعارض منافع:** موردی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

**منابع مالی:** موردی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

## منابع

- 14- Samuelsen AB. The traditional uses, chemical constituents and biological activities of *Plantago major* L. A review. *J Ethnopharmacol.* 2000;71(1):1-21.
- 15- Noor H, Juing M, Chee BJ, Kueh BL, Othman Z. Medicinal properties of *plantago major*: hypoglycaemic and male fertility studies. *Pertanika J Trop Agric Sci.* 2000;23(1):29-35.
- 16- Chauhan NS, Dixit VK. Spermatogenic activity of rhizomes of *CurculigoorchioidesGaertn* in male rats. *J Appl Res Nat Prod.* 2008;1(2):26-31.
- 17- Nejati V, Khaneshi F. Effects of hydro-alcoholic extract of *plantago major* leaf on serum level of glucose and insulin, morphology of pancreas and kidney streptozotocin-induced diabetic rats. *Qom Uni Med Sci J.* 2013;5(29):14-20. [Persian]
- 18- Sancheti S, Bafna M, Seo SY. Antihyperglycemic, anti hyperlipidemic, and antioxidant effects of *Chaenomelessinisfruit* extract in streptozotocin induced diabetic rats. *Eur Food Res Technol.* 2010;231(3):415-21.
- 19- Khaneshi F, Nasrolahi O, Azizi Sh, Nejati V. Sesame effects on testicular damage in streptozotocin-induced diabetes rats. *Avicenna J Phytomed.* 2013;3(4)347-55. [Persian]
- 20- Khaki A, Peyrovi T. Effect of ciprofloxacin on caudal epididymis sperm quality and apoptosis. *Urmia Med J.* 2008;19(1):29-35.
- 21- Li H, Chen Q, Li S, Yao W, Li L, Shi X, et al. Effect of Cr (VI) exposure on sperm quality: human and animal studies. *Ann Occup Hyg.* 2001;45(7):505-11.
- 22- Soudmani S, Yuvaraj S, Malini T, Balasubramanian K. Experimental diabetes has adverse effects on the differentiation of ventral prostate during sexual maturation of rats. *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol.* 2005;287(2):1281-9.
- 23- Khayatnouri MH, Safavi SE, Safarmashaei S, Mikailpourardabili B, Babazadeh D. Effect of Saffron on histomorphometric changes of testicular tissue in Rat. *Am J Anim Vet Sci.* 2011;6:153-9.
- 24- Shetty G, Wilson G, Huhtaniemi I, Shuttlesworth GA, Reissmann T, Meistrich ML. Gonadotropin-releasing hormone analogs stimulate and testosterone inhibits the recovery of spermatogenesis in irradiated rat. *Endocrinology.* 2000;141:1735-45.
- 25- Guneli E, Tugyan K, Ozturk H, Gmustekin M, Cilaker S, Uysal N. Effect of melatonin on testicular damage in Streptozotocin-induced diabetic rats. *Eur Surg Res.* 2008;40(4):354-60.
- 26- Mosher WD, Pratt WF. Fecundity and infertility in the United States: incidence and trends. *Fertil Steril.* 1991;56(2):192-3.
- 27- Stefanovic A, Stevuljevic JK, Spasic S, Stanojevic NB, Bujisic N. The influence of obesity on the oxidative stress status and the concentration of leptin in type 2 diabetes mellitus patients. *Diabetes Res Clin Pract.* 2008;79(1):156-63.
- 28- Agarwal A, Saleh RA, Bedaiwy MA. Role of reactive oxygen species in the pathophysiology of human reproduction. *Fertil Steril.* 2003;79(4):829-43.
- 29- Narayana K, Dsouza UJ, Pao KP. Ribavirin induced sperm shape abnormalities in Wistar rat. *Mutat Res.* 2002;513(1):193-6.
- 30- Kiyani fard D, Hassanzadeh SH, Sadrkhanlor A, Farshid. Study of changes ultrastructure seminiferous tubule and hormone changes gonadotropin and gonadal in diabetic rats. *Urmia Med J.* 2010;22(3):239-48.
- 31- Cai L, Hales BF, Robaire B. Induction of apoptosis in the germ cells of male rats after exposure to cyclophosphamide. *Gynecol Reprod Biol.* 1997;56(6):1490-7.
- 1- Jiang GY. Practical diabetes. 1st ed. Beijing: People's Health Publishing House; 1996.
- 2- Khaki A, Fathiazad F, Nouri M, Khaki AA, ozanci CC, Ghafari-Novin M, et al. The Effects of Ginger on Spermatogenesis and Sperm parameters of Rat. *Iranian J Reproduc Med.* 2009;7(1):7-12.
- 3- Brunton L, Chabner B, Knollman B. Goodman and Gilmans the pharmacological basis of therapeutics. 12<sup>th</sup> ed. New York: McGraw-Hill; 2006.
- 4- Baynes JW, Thorpe SR. Role of oxidative stress in diabetic complications: a new perspective on an old paradigm. *Diabetes.* 1999;48(1):1-9.
- 5- Shrilatha B. Early oxidative stress in testis and epididymal sperm in streptozotocin-induced diabetic mice: its progression and genotoxic consequences. *Reprod Toxicol.* 2007;23(4):578-87.
- 6- Kar A, Choudhary BK, Bandyopadhyay NG. Preliminary studies on the inorganic constituents of some indigenous hypoglycemic herbs on oral glucose tolerance test. *J Ethnopharmacol.* 1999;64(2):179-184.
- 7- Ballester J, Munoz MC, Dominguez J, Rigau T, Gunovart JJ, Rodríguez-Gil JE. Insulin dependent diabetes affects testicular function by FSH- and LH-linked mechanisms. *J Androl.* 2004;25(5):706-19.
- 8- Murray FT, Cameron DF, Orth JM, Katovich MJ. Gonadal dysfunction in the spontaneously diabetic BB rats: alteration of the testes morphology, serum testosterone and LH. *Horm Metab Res.* 1985;17(10):495-501.
- 9- Vignon F, Le Faou A, Montagnon D, Pradignac A, Cranz C, Winiszewsky P, et al. Comparative study of semen in diabetic and healthy men. *Diabete Metab.* 1991;17(3):350-4.
- 10- Coskun O, Kanter M, Korkmaz A, Oter S. Quercetin, a flavonoid antioxidant, prevents and protects streptozotocin-induced oxidative stress and beta-cell damage in rat pancreas. *Pharmacol Res.* 2005;51(2):117-23.
- 11- Abdullahnejad A, Gol A, Dabiri S, Javadi A. Effects of garlic juice on diabetes-induced testicular damage in rats. *Iranian Endocr J.* 2009;11(4):443-53.
- 12- Khaki A, Nouri M, Fathi Azad F, Khaki AF. Effects of onion and ginger on spermatogenesis in rats. *Med J Tabriz Uni Med Sci.* 2008;30(2):53-8.
- 13- Galvez M, Cordero MC, Cortes F, Ayus MY. Cytotoxic effect of *Plantago* spp. on cancerallins. *J Ethopharmacology.* 2003;88:125-30.

- 34- Bairy KL, Kumar G, Rao Y. Effect of acyclovir on the sperm parameters of albino mice. *Indian j Pharmacol.* 2009;53(4):327-33.
- 35- Ozdemin O, Akalin PP, Baspinar NURI, Hatipoglu FATIH. Pathological changes in the acute phase of streptozotocin-induced diabetic rats. *Bull Vet Inst Oulawy.* 2009;53(4):783-90.
- 32- Predes FS, Monterio JC, Paula TA, Dmatta SLP. Evaluation of rat testes treated with arctiumlappa 1: Morphometric study. *Braz J Morphol Sci.* 2007;24(4):112-7.
- 33- Turk G, Sonmez M, Aydin M, Yuce A, Yuksel M. Effects of pomegranate juice consumption on sperm quality spermatogenic cell density antioxidant activity and testosterone level in male rats. *Clin Nutr.* 2008;27(2):289-96.