



بررسی اثر عصاره قارچ کامبوجا و سیر بر آسیب بیضه‌ای در موش‌های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوتوسین

غزاله یآوری^۱، سحر ملزمی^{۲*}، ویدا حجتی^۳، زهرا کردی^۴

- ۱- کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شاهرود، شاهرود، ایران.
 ۲- گروه مهندسی بافت و علوم سلولی کاربردی، دانشکده فناوری‌های نوین پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.
 ۳- گروه زیست‌شناسی، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران.
 ۴- معاونت تحقیقات و فناوری، دانشگاه علوم پزشکی شاهرود، شاهرود، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۱/۱۰، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۲/۰۵

چکیده

مقدمه: دیابت سبب آسیب به بافت‌های مختلف از جمله بافت بیضه می‌شود. گیاه سیر و قارچ کامبوجا به دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی نقش عمده‌ای را در پیشگیری عوارض ناشی از آسیب‌های بیماری دیابت در بیضه اعمال می‌نمایند. مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر عصاره قارچ کامبوجا و سیر بر آسیب بیضه‌ای در موش‌های صحرایی سالم و دیابتی انجام شد.

مواد و روش‌ها: ۴۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار، به ۵ گروه ۸ تایی شامل: گروه کنترل، گروه کنترل منفی (دیابتی) (دیابتی، با ۵۵mg/kg استرپتوزوتوسین به صورت درون صفاقی)، گروه تجربی ۱ (دیابتی + ۵۰mg/kg عصاره سیر) تقسیم شدند. بعد گذشت دو ماه از دیابتی شدن موش‌ها عصاره‌ها را به صورت زیر جلدی (دیابتی + ۵۰mg/kg قارچ کامبوجا و ۵۰mg/kg عصاره سیر) تقسیم شدند. بعد گذشت دو ماه از دیابتی شدن موش‌ها عصاره‌ها را به صورت زیر جلدی به مدت ۲ هفته دریافت کردند. بعد از آن موش‌ها با کتامین و زایلیزین بیهوش شده و بیضه‌ها از نظر ماکروسکوپی و میکروسکوپی مورد بررسی قرار گرفتند. **نتایج:** در گروه دیابتی کاهش معنی‌داری را در سلول‌های اسپرماتوگونی نسبت به گروه کنترل مشاهده گردید همچنین در گروه‌های تجربی نیز افزایش معنی‌داری در سلول‌های اسپرماتوژنز نسبت به گروه دیابتی مشاهده گردید.

نتیجه‌گیری: این تحقیق نشان داد که مصرف خوراکی دراز مدت عصاره سیر و کامبوجا باعث بهبود ترشح هورمون‌های انسولین و تستوسترون خون شده و فرآیند اسپرماتوژنز را افزایش می‌دهد.

واژه‌های کلیدی: دیابت، سیر، قارچ کامبوجا، آسیب بیضه‌ای.

*نویسنده مسئول: دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، دانشکده فناوری‌های نوین پزشکی، گروه مهندسی بافت و علوم سلولی کاربردی، تلفن: ۰۹۱۹۲۷۳۹۲۵۵، نمابر: ۰۲۱۸۸۶۶۱۴۰،

Email: saharmlzemi@yahoo.com

ارجاع: غزاله یآوری، سحر ملزمی، ویدا حجتی، زهرا کردی. بررسی اثر عصاره قارچ کامبوجا و سیر بر آسیب بیضه‌ای در موش‌های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوتوسین. مجله دانش و تندرستی در علوم پایه پزشکی ۱۹:۱۴۰۳(۱):۲۱-۱۴.



مقدمه

دیابت شیرین یک اختلال متابولیکی است که سبب اختلال عملکرد در اندام‌ها به‌خصوص اندام تولید مثل مردان و زنان می‌شود. مطالعات نشان داده است که دیابت با ناباروری به‌ویژه در مردان مبتلا به آن همراه است (۱). دیابت همچنین تأثیر مضر بر سطح تستوسترون و شاخص‌های اسپرم و فرآیند اسپرماتوژنیز دارد (۲). استرس اکسیداتیو نیز نقش مهمی در پاتوژنز بافت‌های بدن، به‌خصوص بافت بیضه دارد. در بیماران مبتلا به دیابت به‌دلیل آسیب اکسیداتیو تعداد اسپرم کاهش یافته که به‌دنبال آن DNA میتوکندری نیز تکه تکه می‌شود و گونه‌های اکسیژن واکنش‌پذیر (ROS) در سلول جمع شده و مقدار آنها افزایش می‌یابد و سبب افزایش مکانیسم آپوپتوز در سلول می‌شوند و بر روی عملکرد و کیفیت اسپرم تأثیر می‌گذارد (۱). مطالعات انجام شده در حوزه دیابت نشان داد که مصرف آنتی‌اکسیدان‌ها می‌تواند اثرات مخرب دیابت و فعالیت ROS را کاهش دهد (۳). گیاهان دارویی از زمان‌های قدیم برای مراقبت‌های بهداشتی انسان مانند داروهای سنتی، ادویه‌جات و سایر اجزای غذایی استفاده می‌شدند (۴).

کامبوچا می‌تواند یک نوشیدنی تخمیر شده با منشا آسیایی است. با این حال، به‌دلیل اثرات درمانی آن، مانند ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدان، ضد سرطان‌زا، ضد دیابت، درمان زخم معده و کلسترول بالا، در غرب محبوبیت پیدا کرده است. همچنین بر پاسخ ایمنی و سم‌زدایی کبد تأثیر گذاشته است. این نوشیدنی سنتی از تخمیر، در اصل، چای سیاه شیرین شده (Camellia sinensis) ساخته شده است. با این حال می‌توان، از چای‌های دیگر نیز برای تهیه آن استفاده کنند (۵).

تخمیر چای محصول یک کلنی همزیستی از باکتری‌ها و مخمرها است که در یک فیلم سلولزی نصب شده است. این فیلم سلولزی (کلنی همزیستی باکتری‌ها و مخمرها) نامیده می‌شود. قارچ کامبوچا غنی از اسید استیک مانند گلوکونیک، لاکتیک، مالیک، سیتریک و تارتاریک می‌باشد که فعالیت ضدباکتری داشته و بدن را در برابر طیف وسیعی از باکتری‌ها محافظت می‌کند (۶).

اثرات مفید کامبوچا به وجود میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک (باکتری‌های استیک و لاکتیک)، آنتی‌بیوتیک‌ها، اسیدهای آمینه، پلی‌فنول‌های چای، قندها، اسیدهای آلی، اتانول، ویتامین‌های محلول در آب و انواع مواد مغذی تولید شده در طول تخمیر نسبت داده می‌شود. طعم کامبوچا کمی اسیدی و کمی گازدار است که پذیرش بیشتری را در میان مصرف‌کنندگان فراهم می‌کند. به‌دلیل درجه کربناسیون بالا، یک جایگزین سالم‌تر نسبت به نوشیدنی‌های الکل‌دار و نوشیدنی‌های گازدار می‌باشد لکن با وجود فعالیت ضداکسیدانی آن یک گزینه مناسب برای کاهش اثرات مخرب دیابت در بافت بیضه می‌باشد (۷).

سیر (*Allium sativum* L.) یک گیاه علفی معطر است که در سراسر جهان به‌عنوان غذا و درمان سنتی برای بیماری‌های مختلف مصرف می‌شود. گزارش شده است که دارای چندین خاصیت بیولوژیکی از جمله فعالیت‌های ضدسرطان‌زا، آنتی‌اکسیدان، ضددیابت، ضدآترواسکلروتیک، ضدباکتری، ضد قارچی و ضد فشار خون در داروهای سنتی است. سیر غنی از گوگرد، آلین، آلپسین، آژون، وینیلدیتین و فلاونوئیدها مانند کوئرستین است (۸). عصاره‌ها و ترکیبات جدا شده *A. sativum* برای فعالیت‌های بیولوژیکی مختلف از جمله فعالیت‌های ضد باکتری (۹)، ضد ویروسی، ضد قارچی، ضد پروتوزوا، آنتی‌اکسیدان، ضد التهابی (۱۰) و ضدسرطان در میان محققان ارزیابی شده است (۱۱).

بر طبق گزارشات پزشکی افزایش شیوع دیابت در کشور ما بسیار سریع است حدود پنج میلیون و چهارصد هزار نفر از جمعیت کشور در معرض خطر ابتلا به دیابت هستند و با توجه به خطرات ناشی از آن بیماری پیشگیری از دیابت حائز اهمیت می‌باشد. لذا هدف این مطالعه بررسی تأثیر عصاره قارچ کامبوچا و عصاره سیر بر آسیب بیضه‌ای در موش‌های دیابتی شده با استرپتوزوتوسین است و موش‌های سالم به‌عنوان گروه کنترل مورد بررسی قرار می‌گیرند.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه ۴۰ سر موش صحرایی نر از نژاد ویستار، با محدوده وزنی ۲۰۰ تا ۲۲۰ گرم، انتخاب و به ۵ گروه ۸ تایی شامل: گروه کنترل، گروه کنترل منفی (دیابتی) (دیابتی)، با ۵۵mg/kg استرپتوزوتوسین به‌صورت درون صفاقی، گروه تجربی ۱ (دیابتی + ۵۰mg/kg عصاره سیر) تجربی ۲ (دیابتی + ۵۰mg/kg قارچ کامبوچا) و گروه تجربی ۳ (دیابتی + ۵۰mg/kg قارچ کامبوچا و ۵۰mg/kg عصاره سیر) تقسیم شدند. گروه دیابتی، که از طریق تزریق درون صفاقی استرپتوزوتوسین (محصول شرکت سیگما با کد علمی S0130) با دوز ۵۵mg/kg دیابتی شده و سنجش قندخون برای القای دیابت، ۷۲ ساعت بعد از تزریق یک بار (STZ) و با استفاده از خون سیاهرگ دمی، به کمک دستگاه کلوگوکارد صفر و یک انجام شد و موش‌های با قندخون بالاتر از (۲۵۰mg/dl) دیابتی در نظر گرفته شدند.

گروه‌های دیگر نیز همزمان با دیابتی شدن گروه کنترل منفی، آنها بافر سیترات به‌منظور حفظ تعادل بدن به‌صورت درون صفاقی دریافت کردند. موش‌ها در قفس‌های تمیز با درجه حرارت ۲۲-۲۴ درجه سانتی‌گراد و سیکل نوری ۱۲ ساعت نور، ۱۲ ساعت تاریکی و رطوبت نسبی ۶۰-۴۰ درصد در آزمایشگاه نگهداری شدند. در ابتدای هفته سوم پس از بیهوشی توسط (کتامین و زایلزین) از نمونه‌ها خون‌گیری مستقیم از قلب به عمل آمده و فاکتورهای بیوشیمیایی و هورمونی خون و مشاهدات ماکروسکوپی اعم از (وزن، قطر، طول، حجم بیضه) مورد ارزیابی قرار گرفت و مقاطع بیضه‌ها

محاسبه آماری با استفاده از نرم افزار آماری نسخه SPSS انجام شد و برای مقایسه میانگین بین گروه‌ها از آنالیز واریانس یک طرفه و در مواردی که پاسخ معنی‌داری دیده شد از پس آزمون توکی برای یافتن جایگاه اختلاف استفاده شد. $P > 0.05$ از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته و مقادیر به صورت (میانگین \pm انحراف معیار) بیان شدند (دامنه‌های $P < 0.001$ و $P < 0.05$ و $P < 0.01$ تعریف گردیده است) (میانگین \pm انحراف معیار).

نتایج

نتایج بررسی ساختار بافتی بیضه: بافت بیضه در گروه دیابتی (کنترل منفی) با لایه‌ی آلبوژینه پوشیده و مجموعه‌های سلولی توبول سمینفروس مورد بررسی و شمارش میکروسکوپی قرار گرفت. ساختارهای بافتی بیضه اعم از سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت اولیه، اسپرماتوسیت ثانویه و اسپرماتید در گروه دیابتی (کنترل منفی) به دلیل افزایش قند خون و نبود درمان مناسب و همچنین کاهش هورمون تستوسترون، تخریب شده و کاهش قابل توجه‌ای در سلول‌های تغذیه رسان بافت بیضه (سلول سرتولی) در گروه کنترل منفی مشاهده گردید همچنین در این مطالعه به بررسی ضخامت غشای سمینفروس نیز پرداخته شده است به طوری که در گروه کنترل منفی باز هم به دلیل افزایش کنترل نشده گلوکز سرم و آسیب به بافت بیضه افزایش معنی‌داری در غشای سمینفروس نسبت به گروه کنترل و سایر گروه‌های تجربی مشاهده گردید و ساختارهای بافتی بیضه اعم از اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت اولیه، اسپرماتوسیت ثانویه و اسپرماتید در گروه‌های تجربی با توجه به مصرف عصاره سیر و کامبوجا افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل منفی داشته است (جدول ۱). ضخامت غشای سمینفروس در گروه‌های تجربی با توجه به مصرف عصاره سیر در گروه (تجربی ۱) و عصاره کامبوجا (گروه تجربی ۲) و عصاره توام سیر و کامبوجا (تجربی ۳) کاهش معنی‌داری نسبت به گروه دیابتی (کنترل منفی) داشته است.

Average Diameter

$$= \sqrt{L * \text{magnification B} * \text{magnification}}$$

L: Length (Large Diameter)

B: Breadth (Small Diameter)

در جدول ۳ نیز کاهش معنی‌داری در هورمون تستوسترون در گروه دیابتی (کنترل منفی) نسبت به گروه کنترل و گروه‌های تجربی مشاهده گردید. در گروه توأم که دریافت‌کننده عصاره سیر و کامبوجا با هم هستند افزایش معنی‌داری در میزان هورمون تستوسترون و انسولین نسبت به سایر گروه‌های تجربی که هر کدام عصاره سیر و کامبوجا را جداگانه دریافت کردند، مشاهده گردید.

شکل ۱- A, B, C, D, E نشان‌دهنده لوله‌های اسپرم‌ساز با بزرگنمایی X40 هستند. A- گروه کنترل که شامل موش‌های سالم بودند لوله اسپرم‌ساز و سلول سرتولی را نشان می‌دهد. B- نمایان‌گر گروه دیابتی (کنترل منفی) بوده که چروکیده شدن لوله اسپرم‌ساز، افزایش فضای بینایی و کاهش سلول‌های زاینده و سلول‌های سرتولی را نشان می‌دهد C-

برای انجام آزمایشات هستیولوژیک در فرمالین ۱۰ درصد قرار داده شد و به آزمایشگاه منتقل شد.

تهیه عصاره هیدروالکلی سیر: ۳۰۰ گرم از پودر سیر به با یک لیتر الکل ۸۰ درصد اضافه گردید و به مدت ۷۲ ساعت بر روی دستگاه چرخاننده به آرامی مخلوط گردیده تا استخراج به خوبی صورت گیرد. سپس مخلوط حلال و گیاه توسط صافی از هم جدا تا عصاره‌های اولیه به دست آید. عصاره اولیه وارد دستگاه تقطیر در خلاء گردیده و در دمای ۸۰ درجه سانتیگراد حلال آنها به مدت یک ساعت به آرامی تبخیر گردید و عصاره تغلیظ شده به دست آمد.

تهیه عصاره هیدروالکلی کامبوجا: ۳۰۰ گرم از پودر کامبوجا به با یک لیتر الکل ۸۰ درصد اضافه گردید و به مدت ۷۲ ساعت بر روی دستگاه چرخاننده به آرامی مخلوط گردیده تا استخراج به خوبی صورت گیرد. سپس مخلوط حلال و گیاه توسط صافی از هم جدا تا عصاره‌های اولیه به دست آید. عصاره اولیه وارد دستگاه تقطیر در خلاء گردیده و در دمای ۸۰ درجه سانتیگراد حلال آنها به مدت یک ساعت به آرامی تبخیر گردید و عصاره تغلیظ شده به دست آمد.

بررسی ماکروسکوپی: برای بررسی وزن بیضه از ترازوی با دقت ۰/۰۰۱ gr استفاده شد. طول و قطر بیضه نیز با استفاده از کولیس و حجم بیضه نیز با کمک استوانه مدرج اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری قطر توبول سمینفروس: اندازه‌گیری قطر توبول سمینفروس: قطر توبول سمینفروس با استفاده از روش سینگ اندازه‌گیری شد (۱۲). ۲۵ توبول به طور تصادفی در هر برش عرضی بیضه انتخاب و میانگین قطر توبولی با اندازه‌گیری قطر کوچک و بزرگ هر توبول با استفاده از یک میکرومتر کالیبره شده و متصل به چشمی میکروسکوپ محاسبه گردید و همچنین برای بررسی سلول‌های اسپرماتوژنز در همان تعداد توبول نیز تعداد اسپرماتوسیت‌های ۱ و ۲، اسپرماتید، تعداد دستجات اسپرمی لومینال، ضخامت غشا پایه مورد بررسی قرار گرفته است.

شمارش سلول‌های سرتولی: ۲۵ توبول در هر فیلدو در هر برش عرضی بیضه انتخاب و سپس در زیر میکروسکوپ تعداد سلول‌های سرتولی شمارش شد. میانگین این تعداد برای هر گروه محاسبه گردید.

روش آنالیز هورمون تستوسترون: بررسی تستوسترون در سرم پلازما با کیت (Gamma-B Testosterone kit) (محصول شرکت زیست شیمی) با روش الایزا انجام گرفت.

روش آنالیز هورمون انسولین: بعد از جدا کردن سرم خون از محتویات خونی توسط کیت زیست شیمی انسولین خون مورد سنجش قرار گرفت. روش آنالیز گلوکز خون: بعد از جدا کردن سرم خون از محتویات خونی توسط کیت پارس آزمون، گلوکز خون مورد سنجش قرار گرفت، به منظور اطمینان از قند خون بالای گروه‌ها یک روز در میان با دستگاه گلوکوکارد صفر- یک از سیاهرگ دمی خونگیری تا پایان طول آزمایش خون‌گیری به عمل می‌آمد.

با توجه به نتایج حاصل از رنگ آمیزی بافت بیضه تعداد سلول های اسپرماتوژنیک در گروه دیابتی (کنترل منفی) نسبت به کنترل کاهش داشته و تعداد سلول های اسپرماتوژنیک در گروه تجربی ۱ و ۲ و ۳ نسبت به گروه دیابتی افزایش معنی داری یافته است (شکل ۱). در گروه تجربی ۳ که گروه دریافت کننده سیر و کامبوجا به طور همزمان هستند، بافت بیضه ترمیم شده و همانطور که در شکل ۱ هم مشخص هست.

نشان دهنده گروه تجربی ۱ که عصاره سیر را به تنهایی دریافت کرده اند و کاهش قطر لوله های اسپرم ساز و افزایش سلول های سرتولی و کاهش چشم گیر فضای بینابینی نسبت به دیابتی را نشان می دهد. D- نیز نشان دهنده گروه تجربی ۲ که دریافت کننده عصاره کامبوجا به تنهایی بوده نیز کاهش معنی داری در قطر لوله های اسپرم ساز و افزایش معنی داری در تعداد سلول های سرتولی و کاهش چشم گیر در فضای بینابینی نسبت به گروه دیابتی نشان داد.

جدول ۱- مقایسه (شاخص های میکروسکوپی) تغییرات بافتی در گروه کنترل، دیابتی (کنترل منفی)، تجربی ۱، ۲ و ۳

شاخص ها	کنترل	دیابتی (کنترل منفی)	تجربی اول	تجربی دوم	تجربی سوم
اسپرماتوگونی (number)	76±2/1	35/2±3/10***	40/22±1/6*	46/33±2/00*	55/33±2/02**
اسپرماتوسیت (number)	78/1±5/8	40/41±5/18***	50/3±2/15*	54/24±2/01*	60/6±2/25**
اسپرماتید (number)	190/1±2/04	98/36±8/40***	135/32±5/17*	142/14±4/06*	159/31±3/01**
سلول های سرتولی (number)	22/2±2/2	2/14±0/76***	6±1/02*	9/33±1/01*	15/1±2/01**
ضخامت غشای پایه	4±0/9	8/2±0/35***	2/3±0/2*	2/1±1/00*	2/4±0/04**

(علامت * نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح $P < 0.05$, ** در سطح $P < 0.01$ و *** در سطح $P \leq 0.001$ است)

جدول ۲- مقایسه حجم بیضه و طول بیضه و قطر بیضه و وزن بیضه در بین گروه کنترل و کنترل منفی و گروه های تجربی

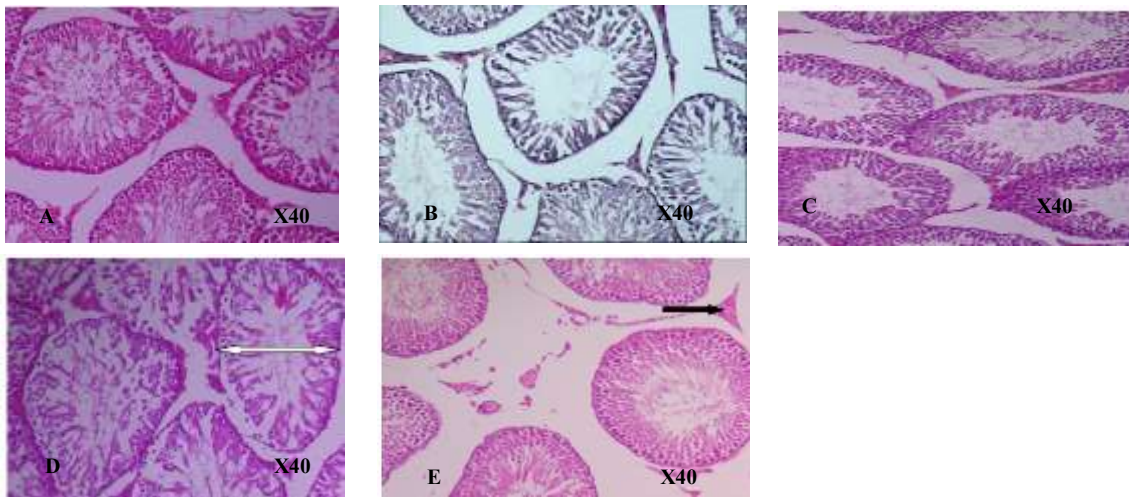
متغیرها	کنترل	دیابتی (کنترل منفی)	تجربی اول	تجربی دوم	تجربی سوم
وزن بیضه (گرم)	3/9±0/02	0/84±0/01**	1/01±0/05*	1/2±0/04*	2/08±0/03**
قطر بیضه (میلی متر)	2/1±0/04	0/58±0/013**	0/7±0/03*	0/99±0/04*	1/03±0/04**
طول بیضه (میلی متر)	3/4±0/06	0/51±0/01**	0/98±0/02*	1/00±0/04*	1/8±0/07**
حجم بیضه (سانتی متر مکعب)	3±0/15	0/92±0/04**	1/01±0/07*	1/6±0/04*	2/16±0/06**

(علامت * نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح $P < 0.05$, ** در سطح $P < 0.01$ و *** در سطح $P \leq 0.001$ است)

جدول ۳- مقایسه میانگین \pm انحراف معیار میزان هورمون های انسولین، تستوسترون خون در بین گروه های کنترل، دیابتی (کنترل منفی) و گروه های تجربی

متغیرها	کنترل	دیابتی (کنترل منفی)	تجربی اول	تجربی دوم	تجربی سوم
تستوسترون (میلی گرم بر دسی لیتر)	5/3±0/59	0/50±0/05*	1/32±0/032*	2/32±0/032**	3/72±0/04**
انسولین (میلی گرم بر دسی لیتر)	6/12±0/41	0/42±0/013*	2/38±0/046*	2/73±0/033**	3/46±0/06**

(علامت * نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح $P < 0.05$, ** در سطح $P < 0.01$ و *** در سطح $P \leq 0.001$ است)



شکل ۱- بررسی بافت بیضه

A: گروه کنترل B: دیابتی (گروه کنترل منفی) C: تجربی ۱ (گروه دریافت کننده عصاره سیر) D: گروه تجربی ۲ (گروه دریافت کننده عصاره کامبوجا) E: گروه تجربی ۳ (گروه دریافت کننده عصاره سیر و کامبوجا)

۱) و گروه تجربی ۲ که تحت درمان با کامبوجا به تنهایی و گروه تجربی ۳ که تحت درمان عصاره‌های سیر و کامبوجا بودند نتایج مطلوبی را نسبت به گروه دیابتی نشان دادند. وجود مواد آنتی‌اکسیدانی و خاصیت ضد التهابی و کاهش قند خون در گروه‌های تحت درمان با عصاره‌ها سبب شد که تعداد رده سلول‌های اسپرمتوگونی در بررسی میکروسکوپی افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل منفی (دیابتی) نشان دهند. بررسی سلول‌های تغذیه‌رسان در بافت بیضه (سلول سرتولی) در گروه کنترل منفی کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل داشته است که باز هم به دلیل افزایش کنترل نشده قند خون و عدم تولید مناسب انسولین سرم نیز بوده است و به دنبال آن افزایش رادیکال‌های آزاد در موش‌های دیابتی می‌باشد، که باز هم با مصرف عصاره سیر در گروه تجربی ۱ افزایش معنی‌داری در تعداد سلول‌های سرتولی نسبت به گروه دیابتی مشاهده شد (جدول ۱)، همچنین در گروه تجربی ۲ موش‌های دیابتی، که دریافت‌کننده عصاره قارچ کامبوجا نیز به تنهایی بوده‌اند، افزایش معنی‌داری در تعداد سلول‌های سرتولی نشان دادند که به دلیل وجود خاصیت افزایش‌دهنده‌ی هورمون تستوسترون و کاهش قند خون قارچ کامبوجا می‌باشد (۱۸). اما اثرات معنی‌داری چشمگیری در گروه تجربی ۳ مشاهده گردید (گروه دیابتی که عصاره قارچ کامبوجا و سیر را به صورت توأم دریافت کردند)، در این گروه با توجه به خواص آنتی‌اکسیدانی هر دو عصاره که سبب کاهش گلوکز سرم و افزایش انسولین سرم شده و به دنبال آن افزایش تولید هورمون تستوسترون، تعداد سلول‌های رده اسپرمتوژنیک و سرتولی نیز افزایش یافت (جدول ۳ و ۱).

در این بررسی کاهش معنی‌داری در حجم، طول، قطر و وزن بیضه در گروه دیابتی نسبت به کنترل مشاهده شد و مصرف ۲ هفته‌ای عصاره هیدروالکلی سیر و کامبوجا باعث افزایش معنی‌دار وزن، حجم، طول، قطر و وزن بیضه می‌شود که بدلیل افزایش هورمون تستوسترون می‌باشد و اثرات آنتی‌اکسیدانی سیر و کامبوجا بوده است. لازم به ذکر است که در گروه تجربی ۳ نتایج بسیار بهتری در روند بهبود اسپرمتوژن مشاهده گردید (جدول ۲).

نتایج این پژوهش نشان داد که تجویز طولانی مدت عصاره هیدروالکلی سیر و کامبوجا به صورت توأم به موش‌های دیابتی شده به مدت ۲ هفته باعث تغییر معنی‌دار هورمون تستوسترون و هورمون انسولین در گروه‌های مورد بررسی شده است (جدول ۳). به طوری که میزان هورمون انسولین و تستوسترون در گروه دیابتی (کنترل منفی) نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری داشته به دلیل نقص به وجود آمده در سلول‌های بتای پانکراس تولید انسولین با کاهش روبرو خواهد شد و همین امر سبب افزایش گلوکز خون شده و متعاقباً آسیب به دیگر بافت‌ها می‌شود. اما در گروه تجربی اول که گروه دیابتی دریافت‌کننده عصاره هیدروالکلی سیر با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و گروه تجربی دوم گروه که گروه دیابتی دریافت‌کننده عصاره هیدروالکلی کامبوجا با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بودند نسبت به گروه

مقایسه شاخص‌های ماکروسکوپی بیضه در بین گروه کنترل، گروه دیابتی (کنترل منفی) و گروه‌های تجربی در جدول ۲ ارایه شده است. در بررسی شاخص‌های ماکروسکوپی بیضه اعم از وزن، قطر، طول و حجم بیضه در گروه دیابتی (کنترل منفی) کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل و سایر گروه‌های تجربی مشاهده گردید، اما در گروه‌های تجربی که مورد دریافت عصاره سیر (تجربی ۱) و عصاره کامبوجا (تجربی ۲) و گروه دریافت‌کننده سیر و کامبوجا (تجربی ۳) قرار گرفتند شاخص‌های ماکروسکوپی افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل منفی مشاهده گردید. در بین این گروه‌های مورد درمان با عصاره‌های گیاهی، گروه تجربی ۳ به طور همزمان عصاره‌ی سیر و کامبوجا را دریافت کرده بودند، بررسی شاخص‌های ماکروسکوپی نتایج بهتری را نسبت به سایر گروه‌های تجربی نشان داد.

بحث

در بیماران مبتلا به دیابت، هیپرگلیسمی طولانی مدت منجر به نورپاتی عروقی دیابتی، آسیب استرس اکسیداتیو، سندرم مقاومت به انسولین می‌شود که به دنبال آن آسیب به ارگان‌های مختلف از جمله دستگاه تناسلی نیز می‌باشد (۱۳). در آقایان دیابتی نیز افزایش قند خون و مقاومت به انسولین سبب اختلال در تولید و ترشح هورمون تستوسترون می‌شود و کاهش هورمون تستوسترون منجر به آتروفی بافت بیضه، آتروفی سلولی استرومال، آسیب به لوله‌های سمینی فر، آسیب سلولی اسپرمتوژنیک در اندام تولید مثل مرد شود. این آسیب‌ها سبب اختلال در روند اسپرم‌زایی و تولید مثل می‌شود (۱). لذا یافتن راهی برای درمان آسیب‌های بیضه‌ای حاصل از بیماری دیابت در افراد دیابتی حائز اهمیت می‌باشد. بدین ترتیب در این مطالعه به بررسی اثر عصاره هیدروالکلی سیر و کامبوجا در آسیب بیضه‌ای حاصل از استرپتوزوتوسین در موش‌های سالم و دیابتی پرداختیم.

سیر دارای خواص آنتی‌اکسیدانی (۱۴ و ۱۵)، ضد التهاب (۱۵) و کاهش قند خون (۱۰) می‌باشند و همچنین سیر حاوی مواد فعالی مانند آلیسین است که خواص ضد التهابی و ضد میکروبی دارد. این ترکیبات می‌توانند به بهبود حساسیت به انسولین و کنترل قند خون کمک کنند (۱۶). قارچ کامبوجا نیز دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی (۱۷)، ضد التهابی (۱۸) و کاهش قند خون (۱۹) بوده است و کامبوجا دارای ترکیبات فعالی مانند فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها می‌باشد که می‌توانند به بهبود حساسیت به انسولین و کنترل قند خون کمک کنند (۲۰) و با وجود این خواص بسیار مهم در این گیاهان نقطه امیددی در کاهش عوارض ناشی از دیابت در بافت بیضه در افراد دیابتی می‌باشد. در این تحقیق به بررسی میکروسکوپی بافت بیضه با رنگ‌آمیزی اختصاصی H&E پرداختیم. میزان سلول‌های رده اسپرمتوگونی در گروه دیابتی نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌دار نشان داد (جدول ۱). که به دلیل افزایش گلوکز سرم و کاهش هورمون تستوسترون و افزایش استرس اکسیداتیو می‌باشد. گروه‌های تجربی که تحت درمان با عصاره سیر به تنهایی (تجربی

گردید و باتوجه به اینکه تأثیر عصاره سیر و کامبوجا با هم بیشتر از هر کدام به تنهایی بوده پیشنهاد می‌شود برای کاهش اثرات مخرب ناشی از دیابت به صورت توأم استفاده شود.

تشکر و قدردانی

این مقاله مستخرج از پایان‌نامه کارشناسی ارشد رشته بیوشیمی از دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان با کد طرح IR.SHMU.REC.1399.126 می‌باشد.

بدین‌وسیله نویسندگان از کلیه افرادی که در انجام این پژوهش مساعدت و همکاری داشته‌اند کمال تشکر و قدردانی را دارند.

ملاحظات اخلاقی

بدین‌وسیله نویسندگان اعلام می‌دارند که این نتایج این پژوهش پیش از این در هیچ مجله و یا کنفرانسی ارائه و منتشر نشده و کلیه ملاحظات اخلاقی مرتبط با نگارش و تحقیقات مقاله رعایت شده است.

تعارض منافع

هیچ تعارض منافی در ارتباط با این پژوهش وجود ندارد.

مشارکت نویسندگان

هر یک از نویسندگان نقش مهمی در تهیه و تدوین این مقاله داشته‌اند

طراحی و مفهوم پژوهش: سحرملزمی

جمع‌آوری داده‌ها و تحلیل: زهرا کردی

نگارش و بازبینی مقاله: غزاله یآوری

نظارت بر مطالعه: ویدا حجتی، سحر ملزمی

حمایت مالی

منابع مالی در این پژوهش توسط نویسندگان تهیه شد.

کد اخلاق

این مقاله ادامه مطالعات پایان‌نامه کارشناسی ارشد رشته بیوشیمی از دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان به راهنمایی خانم دکتر ویدا حجتی با کد طرح IR.SHMU.REC.1399.126 می‌باشد.

References

- Ojo OO, Olorunsogo OO. Quercetin and vitamin E attenuate diabetes-induced testicular anomaly in Wistar rats via the mitochondrial-mediated apoptotic pathway. *Andrologia* 2021;53:e14185. doi: 10.1111/and.14185
- Chen H, Murray E, Sinha A, Laumas A, Li J, Lesman D, et al. Dissecting mammalian spermatogenesis using spatial transcriptomics. *Cell Rep* 2021;37:109915. doi: 10.1016/j.celrep.2021.109915
- Adamiec-Mroczek J, Zajac-Pytrus H, Misiuk-Hojlo M. Caspase-dependent apoptosis of retinal ganglion cells during the development of diabetic retinopathy. *Adv Clin Exp Med* 2015;24:531-5. doi: 10.17219/acem/31805
- Chen X, Famurewa AC, Tang J, Olatunde OO, Olatunji OJ. Hyperoside attenuates neuroinflammation, cognitive impairment and oxidative stress via suppressing TNF- α /NF- κ B/caspase-3 signaling in type 2 diabetes rats. *Nutritional Neuroscience* 2022;25:1774-84. doi: 10.1080/1028415X.2021.1901047

دیابتی یا کنترل منفی به دلیل خاصیت کاهشدهنده قند خون و خاصیت آنتی‌اکسیدانی، ضد سرطانی و فلاونویدی آن، افزایش معنی‌داری در میزان انسولین و تستوسترون سرم داشت (جدول ۳)

در بررسی میکروسکوپی حاصل از رنگ‌آمیزی هماتوکسین / اتوزین بافت بیضه نتایج معنی‌داری نیز مستخرج شد تعداد اسپرماتوسیت در گروه دیابتی (کنترل منفی) کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل داشته است (تصویر B) و در گروه تجربی‌های نیز افزایش معنی‌دار در تعداد اسپرماتوسیت‌ها مشاهده شد (تصویر C و E و D) که می‌تواند به این علت باشد که افزایش هورمون تستوسترون در افزایش فرآیند اسپرماتوژنز مؤثر است.

در مقاله‌ای به بررسی اثرات اسید الازیک در بیضه موش‌های دیابتی ناشی از استرپتوزوتوسین پرداختند که بیان داشتند که وجود اسید الازیک سبب کاهش آپیتوز و ترمیم آسیب‌های بیضه‌ای ناشی از دیابت شد، که تحقیق حاضر هم‌خوانی دارد (۲۱).

در مقاله‌ای دیگر محمد و تیم تحقیقاتی اش به بررسی نقش دیابت در آپیتوز وابسته به کاسپاز و التهاب ناشی از دیابت پرداختند و بیان داشتند که متفورمین قدرت کاهش فعالیت‌های رادیکال‌های آزاد حاصل از دیابت را کاهش داد و با افزایش سطح انسولین و کاهش گلکز تا حدودی آثار مخرب دیابت را از بین می‌برد که با نتایج حاصل از (این پروژه) اثرات کاهشدهنده قند خون و افزایش‌دهنده انسولین سرم در گروه‌های سیر و کامبوجا هم‌خوانی داشت (۲۲).

در مقاله‌ای دیگر حجتی و همکاران بیان داشتند که مصرف توأم عصاره هیدروالکلی سیر و کامبوجا به مدت دو هفته سبب کاهش معنی‌دار سطح گلکز و افزایش معنی‌دار سطح انسولین می‌شود که ادامه کار این مقاله با استناد به آن طراحی شده است (۶).

در این پروژه از عصاره هیدروالکلی سیر و کامبوجا با روش تزریق زیر جلدی به مدت ۲ هفته به موش‌ها داده شده است، که علت انتخاب روش زیر جلدی این است که به دلیل مویرگ‌های فراوانی که در ناحیه زیر پوست وجود دارد اثرگذاری داروی دریافتی با سرعت بیشتری انجام می‌شود (۲۳).

این مقاله دارای نقاط ضعف و قوت نیز می‌باشد، از نقاط ضعف آن می‌توان به عدم بررسی و آزمایش، فعالیت ضد رادیکال آزاد عصاره‌های هیدروالکلی سیر و کامبوجا می‌توان اشاره کرد که در این پروژه به مطالعات قبلی استناد شده است.

نقاط قوت این مقاله نیز به تعداد جامعه آماری مناسب و روش دریافت دارو که به صورت زیر جلدی هست (۲۳) و بررسی کامل میکروسکوپی بافت بیضه و بررسی کامل شاخص‌های ماکروسکوپی می‌توان اشاره کرد.

با توجه به نتایج به دست آمده، ترکیب عصاره سیر و کامبوجا به طور معنی‌داری سبب افزایش انسولین و تستوسترون سرم در گروه‌های تجربی

5. Vorobyeva VM, Vorobyeva IS, Sarkisyan VA, Frolova YV, Kochetkova AA. Technological features of fermented beverages production using kombucha. *Vopr Pitan* 2022;91:115-20. doi: 10.33029/0042-8833-2022-91-4-115-120
6. Dufossé L, Fouillaud M, Caro Y. Fungi and Fungal Metabolites for the Improvement of Human and Animal Nutrition and Health. *J Fungi* (Basel). 2021;7. doi: 10.3390/jof7040274
7. Kluz MI, Pietrzyk K, Pastuszczyk M, Kacaniova M, Kita A, Kapusta I, et al. Microbiological and Physicochemical Composition of Various Types of Homemade Kombucha Beverages Using Alternative Kinds of Sugars. *Foods* 2022;11. doi: 10.3390/foods11101523
8. Ribeiro M, Alvarenga L, Cardozo LF, Chermut TR, Sequeira J, Moreira LdSG, et al. From the distinctive smell to therapeutic effects: Garlic for cardiovascular, hepatic, gut, diabetes and chronic kidney disease. *Clinical Nutrition* 2021;40:4807-19. doi: 10.1016/j.clnu.2021.03.005
9. Rahmani G, Farajdokht F, Mohaddes G, Babri S, Ebrahimi V, Ebrahimi H. Garlic (*Allium sativum*) improves anxiety-and depressive-related behaviors and brain oxidative stress in diabetic rats. *Archives of Physiology and Biochemistry* 2020;126:95-100. doi: 10.1080/13813455.2018.1494746
10. Saikat ASM, Hossain R, Mina FB, Das S, Khan IN, Mubarak MS, et al. Antidiabetic effect of garlic. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 2021;1-11. doi:10.1007/s43450-021-00193-y
11. El-Saber Batiha G, Magdy Beshbishy A, L GW, Elewa YHA, A AA-S, Abd El-Hack ME, et al. Chemical Constituents and Pharmacological Activities of Garlic (*Allium sativum* L.): A Review. *Nutrients* 2020;12. doi: 10.3390/nu12030872
12. Chen Z, Hauser R, Trbovich AM, Shifren JL, Dorer DJ, Godfrey-Bailey L, et al. The relationship between human semen characteristics and sperm apoptosis: a pilot study. *Journal of Andrology* 2006;27:112-20. doi: 10.2164/jandrol.05073
13. Ghamaridaz S, Hojati V, Molzemi S, Roudi B. The Effect of Kombucha Mushroom and Garlic Extracts on Blood Biochemical Parameters of Healthy and Diabetic Rats. *Iranian Journal of Diabetes and Lipid Disorders* 2023;23:214-24.
14. Lee Y-M, Gweon O-C, Seo Y-J, Im J, Kang M-J, Kim M-J, et al. Antioxidant effect of garlic and aged black garlic in animal model of type 2 diabetes mellitus. *Nutrition Research and Practice* 2009;3:156-61. doi: 10.4162/nrp.2009.3.2.156
15. Arreola R, Quintero-Fabián S, López-Roa RI, Flores-Gutiérrez EO, Reyes-Grajeda JP, Carrera-Quintanar L, et al. Immunomodulation and anti-inflammatory effects of garlic compounds. *Journal of Immunology Research* 2015;2015. doi: 10.1155/2015/401630
16. Liu CT, Sheen LY, Lii CK. Does garlic have a role as an antidiabetic agent? *Mol Nutr Food Res* 2007;51:1353-64. doi: 10.1002/mnfr.200700082
17. Sknepnek A, Pantić M, Matijašević D, Miletić D, Lević S, Nedović V, et al. Novel kombucha beverage from lingzhi or reishi medicinal mushroom, *Ganoderma lucidum*, with antibacterial and antioxidant effects. *Int J Med Mushrooms* 2018;20:243-58. doi: 10.1615/IntJMedMushrooms.2018025833
18. Motafeghi F, Mortazavi P, Shahsavari R, Shaker M, Mohammadi-Berenjestanaki H, Shokrzadeh M. Kombucha mushroom extract: anticancer, antioxidant, and antimicrobial properties. *Applied In Vitro Toxicology* 2023;9:90-103. doi:10.1089/aivt.2023.0005
19. Pavlović MO, Stajić M, Gašić U, Duletić-Laušević S, Čilerdžić J. The chemical profiling and assessment of antioxidative, antidiabetic and antineurodegenerative potential of Kombucha fermented *Camellia sinensis*, *Coffea arabica* and *Ganoderma lucidum* extracts. *Food & Function* 2023;14:262-76. doi: 10.1039/D2FO02979K
20. Dasgupta A. *Effects of Herbal Supplements in Medicine*: Walter de Gruyter;2011. doi .10.1515/9783110245622.fm
21. Akarca Dizakar SÖ, Saribas GS, Tekcan A. Effects of ellagic acid in the testes of streptozotocin induced diabetic rats. *Drug and Chemical Toxicology* 2022;45:2123-30. doi: 10.1080/01480545.2021.1908714
22. Nna VU, Bakar ABA, Ahmad A, Mohamed M. Diabetes-induced testicular oxidative stress, inflammation, and caspase-dependent apoptosis: the protective role of metformin. *Archives of Physiology and Biochemistry* 2020;126:377-88. doi: 10.1080/13813455.2018.1543329
23. Buford TW, Sun Y, Roberts LM, Banerjee A, Peramsetty S, Knighton A, et al. Angiotensin (1-7) delivered orally via probiotic, but not subcutaneously, benefits the gut-brain axis in older rats. *Geroscience* 2020;42:1307-21. doi: 10.1007/s11357-020-00196-y



Study of the Effect of Cambodian Mushroom Extract and Garlic on Testicular Damage in Diabetic Desert Mice with Streptozotocin

Ghazale Yavari (M.D.)¹, Sahar Molzemi (Ph.D. Student)^{2*}, Vida Hojati (Ph.D.)³, Zahra Kordi (M.Sc.)⁴

1- Student Research Committee, School of Medicine, Shahroud University of Medical Sciences, Shahroud, Iran.

2- Department of Tissue Engineering and Applied Cell Sciences, Faculty of Modern Medical Technologies, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

3- Department of Biology, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, Iran.

4- Vice-chancellery for Research, Shahroud University of Medical Sciences, Shahroud, Iran.

Received: 30 January 2024, Accepted: 5 March 2024

Abstract:

Introduction: Diabetes causes damage to various tissues, including the testicles. Garlic and Cambodian mushrooms play an important role in preventing diabetes complications in the testicles due to their antioxidant properties. The present study aimed to investigate the effect of Cambodian mushroom extract and garlic on testicular damage in healthy and diabetic desert mice.

Methods: 40 male Wistar rat heads were divided into 5 groups of 8, including control group, negative control group (witness) (diabetic, with mg/kg 55 Streptozotocin intraperitoneal), experimental group 1 (diabetic + mg/kg 50 garlic extract), experimental group 2 (diabetic + 50 mg/kg Cambodian mushroom), and experimental group 3 (diabetic + mg/kg 50 Cambodian mushroom and mg/kg 50 garlic extract). After two months of diabetes, the mice received the extracts subcutaneously for two weeks. The mice were then anesthetized with ketamine and xylazine, and the testes were examined macroscopically and microscopically.

Results: The diabetic group showed a significant decrease in spermatogenic cells compared to the control group. Conversely, the experimental groups showed a significant increase in spermatogenic cells compared to the diabetic group.

Conclusion: The findings of this study demonstrate that prolonged oral intake of garlic and Cambodian extract enhances the secretion of the blood hormones insulin and testosterone, and promotes the spermatogenesis process.

Keywords: Diabetes, Garlic, Cambodian fungus, Testicular damage.

Conflict of Interest: No

*Corresponding author: S. Molzemi, Email: saharmolzemi@yahoo.com

Citation: Yavari Gh, Molzemi S, Hojati V, Kordi Z. Study of the effect of Cambodian mushroom extract and garlic on testicular damage in diabetic desert mice with Streptozotocin. Journal of Knowledge & Health in Basic Medical Sciences 2024;19(1):14-21.

