



اثر عصاره هیدروالکلی زنجبیل بر وزن بدن، وزن بیضه و اسپرما توژنز در موش‌های صحرائی نر تحت شیمی درمانی داروی سیکلوفسفامید

حبيب اله جوهری^۱، اسفندیار شریفی^۲، نسرین انصاری^{۳*}، مینا حسینی^۴، فاطمه امیری^۵

- ۱- استادیار گروه فیزیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد داراب
- ۲- مربی گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون
- ۳- دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون
- ۴- دانشجوی علوم آزمایشگاهی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز
- ۵- دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون

تاریخ پذیرش: ۱۳۸۸/۴/۱۸

تاریخ دریافت: ۱۳۸۸/۱۱/۱۸

چکیده

مقدمه: سیکلوفسفامید داروسی ضد سرطان است که در شیمی درمانی استفاده می‌شود. این دارو یک داروی آلکلیه کننده است و موجب اتصال بین دو رشته DNA و شکستن آن و مهار سنتز پروتئین و RNA می‌شود. اثرات جانبی این دارو شامل بی‌اشتهایی، تهوع، کاهش عملکرد غدد جنسی، ایجاد آمنوره، آزواسپرمی و الیگواسپرمی است. زنجبیل حاوی ترکیبات متعدد از جمله شوگا اولها (Shogols)، جینجرولها (Gingerols)، پیروگالولها (Pyrogalloles) و سزکوییترین (Sesquiterpen) می‌باشد. زنجبیل دارای خواص ضد تهوع، ضد سرطان، آنتی‌اکسیدان، حذف رادیکالهای آزاد بوده که به همراه داروی سیکلوفسفامید مصرف می‌شود تا اثرات مضر این دارو را در بدن تعدیل نماید.

روش بررسی: به ۵۶ موش‌های صحرائی به مدت ۲۱ روز داروی سیکلوفسفامید به همراه زنجبیل داده شد. پس از ۲۱ روز، حیوانات وزن شده و پس از بیهوشی، بیضه‌ها را بیرون آورده و مقاطع بافتی تهیه گردید.

نتایج: نتایج نشان داد که سیکلوفسفامید به تنهایی موجب کاهش وزن بدن، کاهش وزن بیضه و کاهش اسپرما توژنز نسبت به گروه مورد شده و با $P \leq 0/05$ معنی دار بوده و در گروه مورد که سیکلوفسفامید به همراه زنجبیل داده شد، با افزایش دوز زنجبیل، وزن بدن، وزن بیضه و اسپرما توژنز (نسبت به گروه تجربی ۴) افزایش یافت.

نتیجه گیری: به نظر می‌رسد ترکیبات موجود در زنجبیل موجب مهار تولید متابولیت‌های فعال حاصل از سیکلوفسفامید و اثرات مخرب این متابولیت‌ها می‌شود. بنظر می‌رسد تجویز زنجبیل به همراه سیکلوفسفامید به دلیل اثرات آنتی توموری زنجبیل و هم تأثیر آن بر حذف متابولیت‌های مخرب سیکلوفسفامید در بدن می‌تواند مفید و مؤثر باشد.

واژه‌های کلیدی: زنجبیل - سیکلوفسفامید - اسپرما توژنز - وزن - موش صحرائی - شیمی درمانی

* (نویسنده مسؤل): تلفن: ۰۷۱۱-۶۲۲۰۵۲۱، پست الکترونیکی: nasrin_ansari1617@yahoo.com

مقدمه

داروی سیکلوفسفامید یک داروی ضد سرطان است که موجب آلکیلاسیون مولکول DNA می‌گردد. این دارو به خوبی از دستگاه گوارش جذب می‌گردد و به طور گسترده‌ای در بافت‌ها و مایعات بدن توزیع می‌گردد و از سد خونی مغزی نیز می‌گذرد. این دارو در کبد به متابولیت‌های فعال تبدیل شده و سرانجام از طریق کلیه‌ها دفع می‌گردد (۱).

داروی سیکلوفسفامید با ایجاد اتصال بین دو رشته ملکولی DNA و شکستن DNA و نیز RNA و همچنین مهار سنتز پروتئین اثر سلول‌کشی خود را اعمال می‌کند. این داروی آلکیله کننده مولکول‌های واکنشی تشکیل می‌دهد که گروه نوکلئوفیلیک روی بازوی DNA بویژه موقعیت ۷-ان گوانیل را آلکیله می‌کند، این مسئله سبب ایجاد پیوندهای جانبی میان بازوها و جفت شدن غیرطبیعی بازوها و شکسته شدن مولکول DNA می‌شود (۲).

مصرف سیکلوفسفامید غالباً با بی‌اشتهایی، حالت تهوع و استفراغ همراه است. مهمترین عوارض جانبی دارو شامل کاهش سلول‌های خونی، افزایش غلظت اسید اوریک، کاهش عملکرد غدد جنسی، ایجاد آمنوره، آوزواسپرمی و الیگواسپرمی می‌باشد.

زنجبیل ریزوم گیاه تازه یا خشک شده *Zingiber officinale* است. زنجبیل به عنوان دارو از زمان باستان مصرف می‌شده است. پراکندگی آن از شرق آسیا تا نواحی گرمسیری استرالیا می‌باشد. مهمترین ترکیبات زنجبیل شامل شوگااول‌ها، جرانول، جینکل، جرانیل، سزکوئی‌ترین‌ها، جینجروول‌ها، پیروگالول‌ها، زینجیرن، ارکو کورمن، بتاسزکوئی‌فلاندرن و بتابیزابولن می‌باشد (۳، ۴).

از اثرات زنجبیل بر بدن می‌توان به کاهش درد، درمان آرتریت روماتوئید (۵)، ضد التهاب (۵)، آنتی‌تومور (۵، ۶)، آنتی‌اکسیدانت (۵، ۷)، حذف رادیکال‌های آزاد (۵، ۸)، تحریک قاعدگی و رفع بی‌نظمی عادت ماهیانه (۹، ۱۰)، مؤثر در اسپرماتوزن (۱۰) و افزایش میل جنسی، اشاره نمود (۹). جینجروول‌های موجود در زنجبیل موجب از بین رفتن رادیکال‌های آزاد، آنتی‌سروتونرژیک، مهار تولید پروستاگلندین‌ها (۱۱) و اثر ضد التهابی می‌شوند (۱۲). سزکوئی‌ترین‌ها نیز موجب مهار تولید رادیکال‌های آزاد می‌گردد (۱۱).

هدف تحقیق: با توجه به این که داروهای شیمی درمانی مانند سیکلوفسفامید موجب کاهش اسپرماتوزن و کاهش فعالیت تولید مثلی همچنین عوارض دیگری مثل کاهش وزن می‌شود و زنجبیل دارای ترکیبات آنتی‌اکسیدان و کاهنده متابولیت‌های فعال و رادیکال‌های آزاد است، پس می‌توان تا حدودی پیش‌بینی کرد که ترکیبات زنجبیل کاهنده اثرات مخرب حاصل از سیکلوفسفامید در فرآیند تولید مثلی باشد، بخصوص در جوانان و نوجوانانی که تحت شیمی درمانی قرار می‌گیرند و هنوز سن تولید مثلی خود را شروع نکرده‌اند.

روش بررسی

جمع‌آوری و شناسایی گیاه زنجبیل: ریزوم این گیاه توسط آسیاب پودر گردید. ریزوم خریداری شده حدود ۳ کیلوگرم بود که پس از آسیاب کردن حدود ۲۷۰۰ گرم پودر زنجبیل بدست آمد.

عصاره‌گیری: به مقدار مساوی آب و الکل را به پودر زنجبیل اضافه نموده (۵۰ درصد آب، ۵۰ درصد الکل) و به مدت ۴۸ ساعت در مکانی مناسب و در دمای اتاق قرار داده و روزی چند مرتبه محلول به هم زده شد تا تمامی مواد قابل حل در آب و الکل حل گردند. پس از ۴۸ ساعت محلول را صاف کرده و مایع زیر صافی را به مدت یک هفته در محیط آزمایشگاه و دمایی حدود ۳۵-۳۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده تا آب و الکل آن تبخیر شده و مایع بصورت محلول کاملاً غلیظ شده و تیره رنگ در آید. سپس این محلول غلیظ و تیره که تقریباً ۲۵۰ گرم وزن داشت درون یخچال قرار داده شد و روزانه مقادیر لازم برداشته و به گروه‌های تجربی در ساعت ۹ صبح و توسط سرنگ مستقیماً به درون حلق حیوان ریخته شد. به مدت ۲۱ روز خورنده شد.

روش آماده‌سازی و تجویز سیکلوفسفامید: این دارو را از داروخانه‌های خاص به صورت قرص‌های ۵۰ میلی‌گرمی خریداری و روزانه یک عدد قرص را توسط هاون کاملاً کوبیده و پودر کرده و درون ظرف شیشه‌ای (بشر) ریخته و ۱۰ سی‌سی آب مقطر اضافه کرده و به سرعت تکان داده تا حل گردد. روزانه رأس ساعت ۹ صبح به کمک سرنگ و نیدل

شد. روزانه حدود ۸/۸ گرم زنجبیل به کل حیوانات دریافت کننده زنجبیل داده میشد که ۷ سی سی از محلول زنجبیل معادل این میزان بود.

روش تهیه نمونه های بافتی بیضه: پس از بیهوش کردن حیوان، بیضه های چپ و راست را از کیسه اسکروتوم خارج کرده، اپیدیدیم و سایر بافت های متصل به آن را توسط تیغ جدا کرده و سپس بیضه ها را در دو ظرف حاوی آب مقطر قرار داده تا تمامی بافت های اضافی و خونی که به آن چسبیده است جدا شود. بعد توسط گاز استریل آنها را خشک کرده و بیضه های چپ و راست را توسط ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم وزن شدند. پس از وزن کردن بیضه ها، بیضه های چپ و راست را به صورت جداگانه در ظرف هایی حاوی فیکساتور فرمالین قرار داده تا جهت تهیه بافت آماده شوند. پس از مراحل آماده سازی نمونه های بافتی، توسط میکروتوم مقطع گیری و قطر هر مقطع ۵ میکرون در نظر گرفته شد. سپس رنگ آمیزی به روش هماتوکسیلین-انوزین اسلایدهای بافتی آماده شد.

بررسی آماری: نتایج بدست آمده بر اساس برنامه آماری SPSS و تست های توکی و ANOVA مورد بررسی قرار گرفت و اختلاف $P \leq 0/05$ معنی دار در نظر گرفته شد. در این روش ابتدا داده های خام توسط نرم افزار SPSS وارد شد و جهت بررسی و مقایسه نتایج گروهها با همدیگر از توکی و ANOVA استفاده گردید. سپس بر اساس داده های به دست آمده هستیوگرام های مربوط توسط برنامه Excel رسم گردید و تجزیه و تحلیل داده ها انجام گرفت.

روش مطالعه هیستومورفولوژیکی بیضه و بررسی آماری: لام های تهیه شده از بیضه های چپ و راست موشهای صحرایی که به روش هماتوکسیلین-انوزین رنگ آمیزی شده به وسیله میکروسکوپ نوری با بزرگ نمایی های مختلف بررسی شد. پارامترهای مورد نظر در مطالعه مقاطع بافتی، آرایش لوله های سمینفر، تعداد سلولهای اسپرماتید و تراکم اسپرم در لومن بود. سلولهای اسپرماتید پس از شناسایی در زیر میکروسکوپ، از هر اسلاید حداقل ۵ لومن شمارش و میانگین گرفته شد و تراکم اسپرم در لومن به صورت مقایسه ای انجام گرفت که در

انسولینی به صورت تزریق درون صفاقی، تزریق گردید. به هر موش صحرایی ۰/۲ میلی لیتر از این محلول به مدت ۲۱ روز تزریق گردید (مقدار ۰/۲ میلی لیتر معادل ۵ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن، سیکلوفسفامید است). دوز انتخابی سیکلوفسفامید براساسی که در آزمایشگاه بدست آمد حدود ۱۵ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن است.

حیوانات آزمایشگاهی: حیوانات مورد آزمایش در این تحقیق ۵۶ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با وزن متوسط ۱۸۵-۱۹۵ گرم و سن ۲-۳ ماه بود. موش های صحرایی به ۷ گروه ۸ تایی تقسیم شدند. در تمام مدت ۲۱ روز آزمایش، حیوانات طی دوره ۱۲ ساعت تاریکی، ۱۲ ساعت روشنایی قرار گرفتند. آب آشامیدنی حیوانات در تمام طول آزمایش آب لوله کشی شهری و تغذیه بصورت غذای مخصوص موش (کنجاله) بود. درجه حرارت در طول آزمایش $25^{\circ}C$ و تابش نور به صورت غیرمستقیم و از طریق پنجره های آزمایشگاه صورت می گرفت.

تجویز عصاره و دارو: موش های صحرایی به ۷ گروه ۸ تایی تقسیم شدند. گروه اول بعنوان کنترل بدون دریافت هیچ حلال دارویی، گروه دوم روزانه رأس ساعت ۹ صبح ۰/۲ میلی لیتر آب مقطر بعنوان حلال دارو و به صورت درون صفاقی تزریق گردید. گروه سوم یعنی گروه تجربی اول روزانه ۰/۰۸ سی سی $5mg/Kg/day$ داروی سیکلوفسفامید به صورت تزریق درون صفاقی و $0.5gr/Kg/day$ عصاره هیدروالکلی زنجبیل به صورت خوراکی دریافت کردند. گروه چهارم یعنی گروه تجربی دوم روزانه ۰/۰۶ سی سی $5mg/Kg/day$ داروی سیکلوفسفامید به صورت تزریق درون صفاقی و $1gr/Kg/day$ عصاره هیدروالکلی زنجبیل به صورت خوراکی دریافت کردند. گروه پنجم یعنی گروه تجربی سوم روزانه ۰/۳۲ سی سی $5mg/Kg/day$ داروی سیکلوفسفامید به صورت تزریق درون صفاقی و $2gr/Kg/day$ عصاره هیدروالکلی زنجبیل به صورت خوراکی دریافت کردند. گروه ششم یا گروه تجربی چهارم نیز روزانه $5mg/Kg/day$ داروی سیکلوفسفامید به صورت تزریق درون صفاقی دریافت کردند. در نهایت گروه هفتم یا گروه تجربی پنجم روزانه ۰/۳۲ سی سی $2gr/Kg/day$ عصاره هیدروالکلی زنجبیل خورانده

فتو میکرو گراف‌ها مشخص می‌باشد. سپس توسط میکروسکوپ دوربین دار مدل NIKON ساخت ژاپن و با استفاده از فیلم کونیکا فتو میکرو گراف مربوط تهیه گردد و نتایج آماری بدست آمده مورد بررسی قرار گرفت.

نتیجه گیری

تغییرات وزن بدن در گروه‌های تجربی در مقایسه با گروه

کنترل: با توجه به جدول ۱ مشاهده می‌شود در گروه‌های تجربی ۱ و ۲ و ۳ و ۴ وزن بدن نسبت به گروه کنترل کاهش یافته و در گروه‌های تجربی ۱ و ۲ و ۳ و ۴ در سطح $P \leq 0/05$ معنی دار است. در گروه‌های تجربی ۱ و ۲ و ۳ با افزایش دوز زنجبیل از گروه ۱ تا ۳ وزن بدن نسبت به گروه تجربی ۴ افزایش یافته است که البته این افزایش معنی دار نمی‌باشد.

تغییرات وزن بیضه در گروه‌های تجربی در مقایسه با گروه

کنترل: با توجه به جداول ۲ و ۳ مشاهده می‌شود در گروه‌های تجربی ۱ و ۲ و ۳ و ۴ وزن بیضه نسبت به گروه کنترل کاهش یافته و در گروه‌های تجربی ۱ و ۲ و ۳ در سطح $P \leq 0/05$ معنی دار است. در گروه‌های تجربی ۱ و ۲ و ۳ با افزایش دوز زنجبیل از گروه ۱ تا ۳ وزن بیضه نسبت به گروه تجربی ۴ افزایش یافته به طوری که در گروه تجربی ۳ این افزایش معنی دار می‌باشد. در گروه‌های تجربی ۱ و ۲ و ۳ و ۴ وزن بیضه چپ نسبت به گروه کنترل کاهش یافته و در گروه‌های تجربی ۱ و ۲ و

۳ و ۴ در سطح $P \leq 0/05$ معنی دار است. در گروه‌های تجربی ۱ و ۲ و ۳ با افزایش دوز زنجبیل از گروه ۱ تا ۳ وزن بیضه نسبت به گروه تجربی ۴ افزایش یافته به طوری که در گروه تجربی ۲ و ۳ این افزایش معنی دار می‌باشد.

تغییرات اسپرما توژن در گروه‌های تجربی در مقایسه با گروه

کنترل: اسپرما تیدها پس از شناسایی در زیر میکروسکب، از هر اسلاید حداقل ۵ لومن شمارش شده و میانگین گرفته شد. با توجه به جدول ۴ مشاهده می‌شود در گروه‌های تجربی ۱ و ۲ و ۳ و ۴ تعداد سلول‌های اسپرما تید نسبت به گروه کنترل کاهش یافته و در گروه‌های تجربی ۱ و ۲ و ۳ و ۴ در سطح $P \leq 0/05$ معنی دار است و در گروه‌های تجربی ۲ و ۳ تعداد سلول‌های اسپرما تید نسبت به گروه تجربی ۴ افزایش معنی داری در سطح $P \leq 0/05$ نشان می‌دهد.

فتو میکرو گراف‌های ۱ تا ۶ نیز بیان گر این موضوع است، در گروه‌های تجربی ۱ و ۲ و ۳ و ۴ کاهش اسپرما تیدها نسبت به گروه کنترل مشاهده می‌شود. در گروه تجربی ۴ نسبت به گروه کنترل لومن تقریباً خالی از اسپرم است و در گروه‌های تجربی ۱ و ۲ و ۳ با افزایش دوز زنجبیل به تعداد اسپرم‌ها در لومن افزوده شده و در گروه تجربی ۵ میزان اسپرم‌ها نسبت به گروه کنترل نیز بیشتر شده است که البته معنی دار نمی‌باشد.

جدول ۱: مقایسه میانگین وزن بدن در گروه‌های مختلف تجربی در مقایسه با گروه کنترل

گروه‌های مختلف	تعداد	انحراف معیار وزن بدن بر حسب گرم + میانگین وزن بدن بر حسب گرم $\pm SD$ mean
کنترل	۸	۲۴۶/۱۴ \pm ۷/۴۸
شاهد	۸	۲۳۳/۱۴ \pm ۳/۷۸
گروه تجربی ۱ (سیکلو فسفامید + حداقل زنجبیل)	۸	* ۱۸۶/۵۵ \pm ۴/۷۷
گروه تجربی ۲ (سیکلو فسفامید + متوسط زنجبیل)	۸	* ۱۹۵/۳۷ \pm ۴/۷۶
گروه تجربی ۳ (سیکلو فسفامید + حداکثر زنجبیل)	۸	* ۱۹۶/۵۴ \pm ۴/۲۹
گروه تجربی ۴ (سیکلو فسفامید)	۸	* ۱۸۳/۲۸ \pm ۲/۸۳
گروه تجربی ۵ (زنجبیل)	۸	۲۴۷ \pm ۳/۲۴

مقادیر بر اساس میانگین \pm انحراف معیار (mean \pm SD) آورده شده است.

سطح اختلاف معنی داری $P \leq 0/05$ است.

علامت * نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه کنترل است.

علامت ** نشان دهنده اختلاف معنی دار گروه‌های تجربی ۱ و ۲ و ۳ با گروه تجربی ۴ است.

جدول ۲: مقایسه میانگین وزن بیضه راست در گروههای مختلف تجربی در مقایسه با گروه کنترل

تعداد	انحراف معیار وزن بیضه راست بر حسب گرم + میانگین وزن بیضه راست بر حسب گرم	
	mean±SD	
۸	۱/۳۹±۰/۲۱	کنترل
۸	۱/۴±۰/۶۹	شاهد
۸	*۱/۲۴±۰/۲۲	گروه تجربی ۱ (سیکلو فسفامید + حداقل زنجبیل)
۸	*۱/۲۵±۰/۲۵	گروه تجربی ۲ (سیکلو فسفامید + متوسط زنجبیل)
۸	**۱/۳۱±۰/۳۲	گروه تجربی ۳ (سیکلو فسفامید + حداکثر زنجبیل)
۸	*۱/۱۸±۰/۳۰	گروه تجربی ۴ (سیکلو فسفامید)
۸	۱/۴۱±۰/۸۲	گروه تجربی ۵ (زنجبیل)

مقادیر بر اساس میانگین ± انحراف معیار (mean±SD) آورده شده است.

سطح اختلاف معنی دار $P \leq 0/05$ است.

علامت * نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه کنترل است.

علامت ** نشان دهنده اختلاف معنی دار گروه های تجربی ۱ و ۲ و ۳ با گروه تجربی ۴ است.

جدول ۳: مقایسه میانگین وزن بیضه چپ در گروههای مختلف تجربی در مقایسه با گروه کنترل

تعداد	انحراف معیار وزن بیضه چپ بر حسب گرم + میانگین وزن بیضه چپ بر حسب گرم	
	mean±SD	
۸	۱/۴۴±۰/۱۴	کنترل
۸	۱/۴۲±۰/۵۸	شاهد
۸	*۱/۲۶±۰/۲۵	گروه تجربی ۱ (سیکلو فسفامید + حداقل زنجبیل)
۸	**،*۱/۳۰±۰/۲۰	گروه تجربی ۲ (سیکلو فسفامید + متوسط زنجبیل)
۸	**،*۱/۳۱±۰/۲۵	گروه تجربی ۳ (سیکلو فسفامید + حداکثر زنجبیل)
۸	*۱/۱۸±۰/۳۰	گروه تجربی ۴ (سیکلو فسفامید)
۸	۱/۴۱±۰/۸۲	گروه تجربی ۵ (زنجبیل)

مقادیر بر اساس میانگین ± انحراف معیار (mean±SD) آورده شده است.

سطح اختلاف معنی دار $P \leq 0/05$ است.

علامت * نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه کنترل است.

علامت ** نشان دهنده اختلاف معنی دار گروه های تجربی ۱ و ۲ و ۳ با گروه تجربی ۴ است.

جدول ۴: تغییر تعداد سلول های اسپرماتید در گروههای تجربی مختلف در مقایسه با گروه کنترل

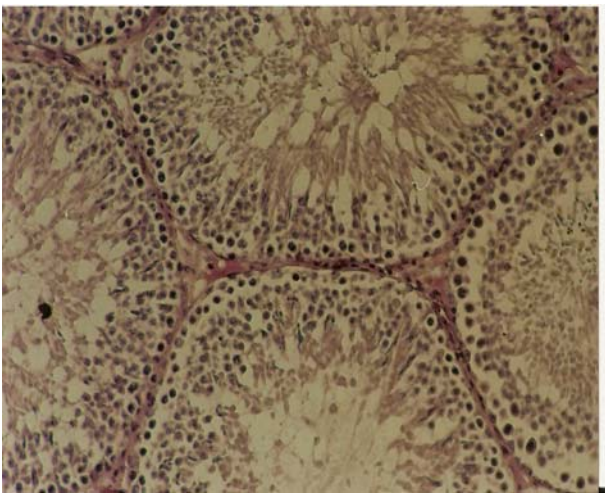
تعداد	انحراف معیار + میانگین سلول های اسپرماتید	گروههای مختلف
	mean±SD	
n=۸	۱۵۸/۶±۵/۴	کنترل
n=۸	۱۵۶/۶±۳/۵۸	شاهد
n=۸	*۶۶/۶±۳/۴۷	گروه تجربی ۱ (سیکلو فسفامید + حداقل زنجبیل)
n=۸	**،*۹۵/۶±۷/۵۵	گروه تجربی ۲ (سیکلو فسفامید + متوسط زنجبیل)
n=۸	**،*۱۱۷/۴±۱۱/۰۷	گروه تجربی ۳ (سیکلو فسفامید + حداکثر زنجبیل)
n=۸	*۶۵±۵/۲	گروه تجربی ۴ (سیکلو فسفامید)
n=۸	۱۵۸/۲±۴/۲۴	گروه تجربی ۵ (زنجبیل)

مقادیر بر اساس میانگین ± انحراف معیار (mean±SD) آورده شده است.

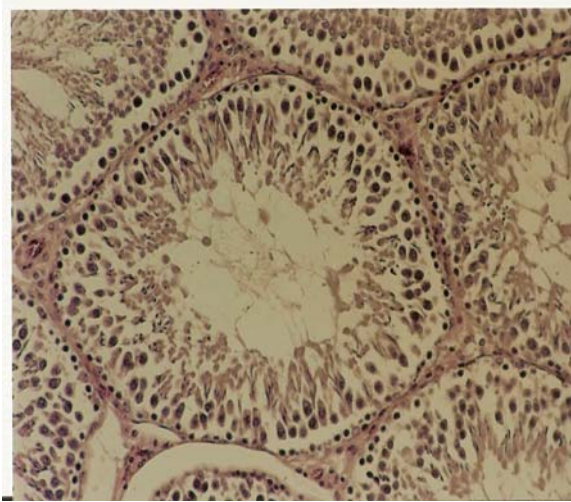
سطح اختلاف معنی دار $P \leq 0/05$ است.

علامت * نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه کنترل است.

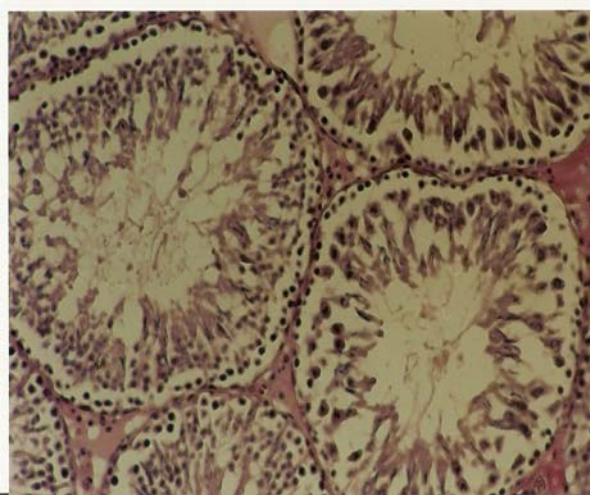
علامت ** نشان دهنده اختلاف معنی دار گروه های تجربی ۱ و ۲ و ۳ با گروه تجربی ۴ است.



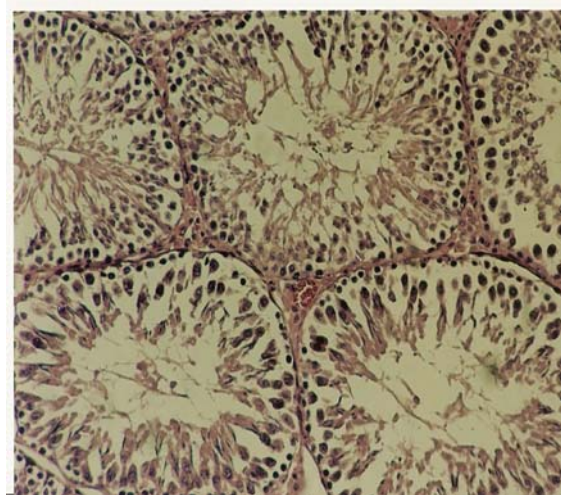
شکل ۲: فتومیکروگراف لوله های اسپرم ساز در گروه کنترل (بزرگنمایی ۱۰۰×)



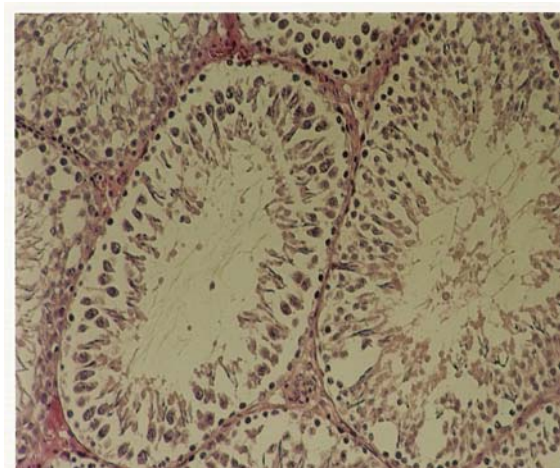
شکل ۱: فتومیکروگراف لوله های اسپرم ساز در گروه تجربی ۱ (بزرگنمایی ۱۰۰×)



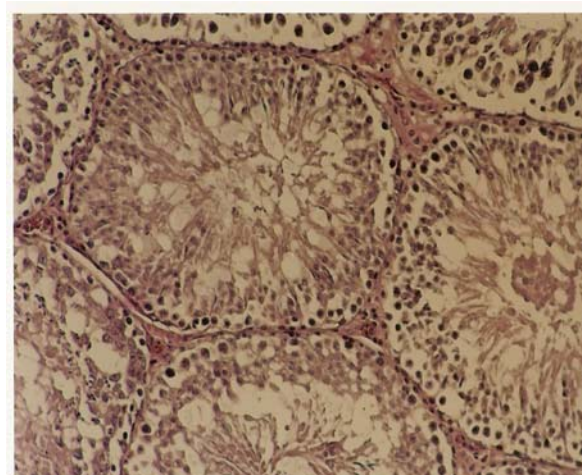
شکل ۴: فتومیکروگراف لوله های اسپرم ساز در گروه تجربی ۲ (بزرگنمایی ۱۰۰×)



شکل ۳: فتومیکروگراف لوله های اسپرم ساز در گروه تجربی ۳ (بزرگنمایی ۱۰۰×)



شکل ۶: فتومیکروگراف لوله های اسپرم ساز در گروه تجربی ۴ (بزرگنمایی ۱۰۰×)



شکل ۵: فتومیکروگراف لوله های اسپرم ساز در گروه تجربی ۵ (بزرگنمایی ۱۰۰×)

بحث

تأثیر داروی سیکلوفسفامید و زنجبیل بر وزن بدن:

سیکلوفسفامید موجب اختلال و کاهش اشتها و حالت تهوع و استفراغ می‌شود (۲،۱) که می‌تواند ناشی از تحریک ناحیه‌ی گیرنده شیمیایی واقع در کف بطن چهارم در بصل النخاع باشد (۱۳). همچنین موجب اثرات سمی بر اندام‌های جنسی و کبد و پروتئین‌سازی می‌گردد (۲،۱). بر این اساس در این پژوهش احتمالاً این ماده با تأثیر بر میزان چربی‌ها در اثر کم‌اشتهایی و جلوگیری از سنتز پروتئین‌ها و کاهش توده پروتئینی و چربی موجب کاهش وزن بدن می‌شود.

با توجه به جدول ۱ در گروه‌های تجربی ۱ و ۲ و ۳ با افزایش دوز زنجبیل، افزایش وزن را نسبت به گروه تجربی ۴ مشاهده می‌کنیم که علت آن می‌تواند ناشی از ترکیبات زیر در زنجبیل باشد.

جینجروها از جمله ترکیبات زنجبیل است که محرک اشتها و ضد تهوع می‌باشد (۵) که می‌تواند حالت تهوع و بی‌اشتهایی ناشی از سیکلوفسفامید را جبران نماید. جینجروها به همراه سزکویی‌ترین‌ها موجب حذف رادیکال‌های آزاد می‌شود، پس خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارد (۵،۱۴) و همچنین موجب جلوگیری از تولید و موجب حذف متابولیت‌های فعال در بدن می‌گردند (۵،۱۴)، پس با حذف متابولیت‌های فعال حاصل از سیکلوفسفامید در بدن، جلوی کاهش سنتز پروتئین و در نتیجه کاهش وزن بدن، با افزایش دوز زنجبیل، گرفته و کاهش وزن تا حدودی جبران می‌شود. جینجروها موجود در زنجبیل، آنتی‌سروتونرژیک هستند و می‌توانند گیرنده نوع ۳ سروتونین را مهار کنند (۱۵،۱۶)، پژوهشگران معتقد هستند مصرف طولانی مدت مهار کننده‌های اختصاصی باز جذب سروتونین، باعث افزایش وزن بدن می‌شوند (۱۶). یافته‌ها نشان می‌دهند مهار کننده‌های اختصاصی باز جذب سروتونین در طولانی مدت از طریق فعال کردن گیرنده‌های 5HT_{2A} باعث افزایش ترشح پرولاکتین می‌شود (۱۶)، پرولاکتین از طریق افزایش ذخیره چربی در بدن و افزایش رشد، وزن بدن را افزایش می‌دهد، در گروه‌های تجربی ۱ و ۲ و ۳ با افزایش دوز زنجبیل کاهش وزن

نسبت به گروه تجربی ۴، تا حدودی جبران شده است.

مطالعات نشان می‌دهد افزایش سروتونین موجب کاهش هورمون رشد می‌گردد (۱۷). با توجه به مطالب بالا جینجروها با کاهش سروتونین موجب افزایش هورمون رشد می‌شود. پس با افزایش دوز زنجبیل افزایش وزن را در گروه‌های تجربی ۱ و ۲ و ۳ نسبت به گروه تجربی ۴ نشان می‌دهد.

زنجبیل دارای ویتامین A نیز می‌باشد (۱۸). ویتامین A یکی از عوامل رشد حیوانات است و فقدان تجربی این ویتامین در موش موجب توقف رشد حیوان می‌گردد. ویتامین A به رتینوئید تبدیل شده که موجب ذخیره چربی به صورت تری‌گلیسرید در بدن شده و موجب افزایش وزن بدن می‌گردد (۱۹). پس می‌توان نتیجه گرفت ویتامین A موجود در زنجبیل می‌تواند موجب افزایش وزن بدن و جبران کاهش وزن در گروه‌های تجربی ۱ و ۲ و ۳ نسبت به گروه تجربی ۴ گردد.

زنجبیل دارای ویتامین B6 نیز می‌باشد. این ویتامین هم به عنوان ضد تهوع عمل می‌کند و هم موجب افزایش رشد بدن می‌شود (۱۳). پس می‌توان نتیجه گرفت این ویتامین حالت تهوع حاصل از مصرف سیکلوفسفامید را در گروه‌های تجربی ۱ و ۲ و ۳ و نیز کاهش وزن بدن را در این گروه‌ها نسبت به گروه تجربی ۴ بهبود می‌بخشد.

تأثیر داروی سیکلوفسفامید و زنجبیل بر وزن بیضه: یکی از دلایل کاهش وزن بیضه و آتروفیه شدن بیضه‌ها عواملی است که در اسپرماتوژنز اختلال ایجاد می‌کند مانند داروی سیکلوفسفامید. این دارو موجب الیگو اسپرمی یا آزو اسپرمی می‌شود (۱) و کاهش تعداد اسپرم موجب کاهش وزن بیضه‌ها می‌گردد. همچنین سیکلوفسفامید با تأثیر بر مولکول DNA مانع تکثیر سلول‌های زاینده شده در نتیجه تعداد سلول‌های اسپرم، اسپرماتید، اسپرماتوسیت اولیه و ثانویه نیز کم شده پس وزن بیضه کاهش می‌یابد.

با توجه به جداول ۲، ۳ در گروه‌های تجربی ۱ و ۲ و ۳ با افزایش میزان زنجبیل کاهش وزن بیضه‌ها تا حدودی جبران می‌شود و وزن بیضه‌ها در این سه گروه نسبت به گروه تجربی ۴

افزایش می‌یابد. که باید علت آن را در ترکیبات زنجبیل جستجو کرد. همان طور که قبلاً گفته شده است در زنجبیل ترکیباتی مانند جینجروول ها، شوگااول ها و سزکویی ترپن ها وجود دارند که آنتی اکسیدان بوده و موجب از بین رفتن رادیکال های آزاد شده و همچنین موجب جلوگیری از متابولیت فعال و حذف این رادیکال ها می شوند، با توجه به اینکه این اثرات مخرب سیکلوفسفامید ناشی از متابولیت فعال آن مانند آکروئین است، پس می توان گفت ترکیبات ذکر شده در زنجبیل موجب حذف متابولیت فعال سیکلوفسفامید شده و موجب می گردند که جلوی تقسیمات میتوزی و میوزی درون بیضه گرفته نشود و با افزایش میزان زنجبیل، افزایش وزن بیضه در گروه های تجربی ۱ و ۲ و ۳ نسبت به گروه تجربی ۴ مشاهده شود. همچنین مطالعات نشان می دهد عصاره زنجبیل موجب ترمیم مولکول DNA می گردد (۲۲-۳۰، ۳۱). پس در صورت تخریب DNA سلول های موجود در بیضه در اثر متابولیت های سیکلوفسفامید، ترکیبات زنجبیل آنرا ترمیم می کند و تقسیمات ادامه می یابد و کاهش وزن بیضه نسبت به گروه تجربی ۴ جبران می گردد.

همچنین تحقیقات دانشگاه تبریز در سال ۱۳۸۷ نشان می دهد عصاره زنجبیل موجب افزایش تستوسترون و افزایش وزن بیضه ها می گردد (۲۰). پس در گروه های تجربی ۱ و ۲ و ۳ با افزایش دوز زنجبیل وزن بیضه ها افزایش می یابد به طوری که در گروه تجربی ۵ که فقط زنجبیل دریافت کرده اند افزایش وزن بیضه از گروه کنترل نیز بیشتر شده است البته معنی دار نبوده و ممکن است مربوط به دوز داروی مصرفی یا طول دوره آزمایش باشد. جینجروول ها و شوگااول ها تحریک کننده آندروژن می باشند و توانایی افزایش وزن بیضه را دارند و می توانند هورمون تستوسترون را افزایش دهند.

آنزیم گلوکوتایون پراکسیداز به عنوان یک آنتی اکسیدانت در حفاظت اسپرم ها در بافت بیضه و اپیدیدیم نقش ویژه ای ایفا می کنند و کاهش این آنزیم در بدن سبب نازایی می گردد. این آنزیم با قرار گرفتن در غشای پلاسمایی اسپرم، هسته اسپرم، مایع اپیدیدیم و ناحیه اپیدیدیم، اسپرم ها را از گزند رادیکال های آزاد حفظ می کند و سبب بلوغ نهایی و تکامل اسپرم ها می شود (۲۰).

همچنین مطالعات نشان می دهد مصرف زنجبیل به مقدار قابل توجهی میزان آنزیم گلوکوتایون پراکسیداز را افزایش می دهد (۵).

پس احتمالاً ترکیبات زنجبیل با افزایش میزان آنزیم گلوکوتایون پراکسیداز، موجب جلوگیری از اثرات مخرب و شکستن DNA در سلول های اسپرم و مولد اسپرم می شود.

تأثیر داروی سیکلوفسفامید و عصاره زنجبیل بر تغییرات تعداد سلول های اسپرماتید: جدول ۴ نشان می دهد که میانگین تعداد سلول های اسپرماتید در گروه های تجربی ۱ و ۲ و ۳ و ۴ نسبت به گروه کنترل کاهش یافته است. کاهش در گروه تجربی ۴ که فقط داروی سیکلوفسفامید دریافت کرده اند ناشی از متابولیت های فعال سیکلوفسفامید و تأثیر این دارو بر روی DNA در نتیجه تقسیمات میوزی را کاهش می دهد. پس تعداد سلول های اسپرماتید حاصل از تقسیم سلول های اسپرماتوسیت اولیه و ثانویه کاهش می یابد که کتاب های فارماکولوژی این را ثابت کرده اند (۱، ۲). در گروه های تجربی ۱ و ۲ و ۳ و ۴ این کاهش نیز مربوط به متابولیت های حاصل از داروی سیکلوفسفامید است و با توجه به این که در گروه های تجربی ۱ و ۲ و ۳ علاوه بر سیکلوفسفامید، زنجبیل نیز دریافت می کنند و با افزایش دوز زنجبیل در این گروه ها، تعداد سلول های اسپرماتید، نسبت به گروه تجربی ۴ افزایش می یابد، به طوری که در گروه تجربی ۳ که حداکثر دوز زنجبیل دریافت کرده اند این کاهش نسبت به گروه کنترل معنی دار می باشد ولی به آنها نزدیک شده است.

این افزایش نسبی سلول های اسپرماتید را می توان ناشی از ترکیبات فعال موجود در زنجبیل دانست. این ترکیبات شامل جینجروول ها، شوگااول ها و سزکویی ترپن ها می باشند. همان گونه که قبلاً نیز اشاره شده است این ترکیبات آنتی اکسیدانت هستند و موجب حذف رادیکال های آزاد و متابولیت های فعال از بدن می شوند پس می توانند اثرات مخرب داروهای شیمیایی مثل سیکلوفسفامید را کم کنند.

تحقیقات نشان می دهد ترکیبات موجود در زنجبیل موجب ترمیم مولکول DNA می شوند (۲۲، ۳۰، ۳۱)، پس DNA شکسته شده توسط سیکلوفسفامید را ترمیم می نمایند و موجب ادامه

تقسیمات سلولی می گردند.

تحقیقات نشان می دهد عصاره زنجبیل موجب افزایش تستوسترون و افزایش وزن بیضه ها می گردد (۲۰) پس در گروه های تجربی ۱ و ۲ و ۳ با افزایش دوز زنجبیل غلظت هورمون تستوسترون افزایش می یابد و هورمون تستوسترون با همکاری هورمون FSH موجب اسپرم سازی و تقسیم شدن سلول های اسپرماتوگونی می گردند.

جینجرونها و شوگا اولها تحریک کننده آندروژن می باشند و توانایی افزایش وزن بیضه را دارند و می توانند هورمون تستوسترون را افزایش دهند.

آنزیم گلوکوتایون پراکسیداز به عنوان یک آنتی اکسیدانت در

حفاظت اسپرم ها در بافت بیضه و اپیدیدیم نقش ویژه ای ایفا می کنند و کاهش این آنزیم در بدن سبب نازایی می گردد. این آنزیم با قرار گرفتن در غشای پلاسمایی اسپرم، هسته اسپرم، مایع اپیدیدیم و ناحیه اپیدیدیم، اسپرم ها را از گزند رادیکال های آزاد حفظ می کند و سبب بلوغ نهایی و تکامل اسپرم ها می شود (۲۰).

همچنین مطالعات نشان می دهد مصرف زنجبیل به مقدار قابل توجهی میزان آنزیم گلوکوتایون پراکسیداز را افزایش می دهد (۵).

پس احتمالاً ترکیبات زنجبیل با افزایش میزان آنزیم گلوکوتایون پراکسیداز، موجب جلوگیری از اثرات مخرب و شکستن DNA در سلول های اسپرم و مولد اسپرم می شود.

منابع:

- 1- Shahraz S, Ghaziyani T. *Iranpharma*. Tehran: Teymourzadeh 1383,194-7. [persian]
- 2- Katzung-Bertram J. *Basic Medical Pharmacology*. Niyayesh M, Modares Musavi F, Fathallahi A(Translators). Tehran: Arjomand 1378:372-8. [persian]
- 3- Bhattaria S, Tran VH, Duke CC. *The stability of gingerol and shogaol in aqueous solutions*. J Pharm Sci 2001; 90(10):1658-64.
- 4- Gupta YK, Sharma M. *Reversal of pyrogallol-induced delay in gastric emptying in rats by ginger (Zingiber officinale) Methods Find. Exp Cline Pharmacol* 2001;23:501-3.
- 5- Prasanna K, Kalpagam P, Nirmala K. *Alterations in antioxidant status of rats following intake of ginger through diet*. Food chemistry 2007;106:991-6.
- 6- Pan MH, Hsieh MC, Kuo JM, Lai CS, Wu H, Sang S, Ho CT. *6-Shogaol induces apoptosis in human colorectal carcinoma cells via ROS production, caspase activation, and GADD 153 expression*. Mol Nutr Food Res 2008;52(5):527-37.
- 7- Kavoli Haghghi M, Tooliat T. *Ginger(Zingiber officinale Roscoe)*. Journal of Medicinal Plants 2002;1(1): 19-28. [persian]
- 8- Altman RD, Marcussen KC. *Effects of a ginger extract on knee pain in patients with osteoarthritis*. Arthritis-Rheum 2001;44(11):2531-8.
- 9- Zargari A. *Medicinal Plants*. Vol. 4. Tehran; Tehran University Press 1999. [persian]

- 10- Mir Heydar H. *Herbal application in preventing and treatment of disease*. Tehran; Islamic emission bureau 1996. [persian]
- 11- Amin A, Hamza AA. *Effects of Roselle and Ginger on cisplatin-induced reproductive toxicity in rats*. Asian J Androl 2006 Sep;8(5):607-12.
- 12- Moallem SA, Tafazoli M, Niapour M. *Evaluation of teratogenic effects of Zingiber Officinale in mice*. Iranian Journal of Basic Medical Sciences 2003;6(1): 43-52. [persian]
- 13- Guyton C, Hall JE. *Medical physiology*. Shadan F (translators), Tehran: Chehr Publication 1999:1329. [persian]
- 14- Koo KL, Ammit AJ, Tran VH, Duke CC, Roufogalis BD. *Gingerols and related analogues inhibit arachidonic acid – induced human platelet serotonin release and aggregation thromb*. Res 2001;103(5):387-97.
- 15- Sharma SS, Gupta YK. *Reversal of cis platin induced delay in gastric emptying in rats by ginger (Zingiber officinale)*. Ethonopharmacology 1998; 62:19-55.
- 16- Riyazi A, Hensel A, Bauer K, Geissler N, Schaaf S, Verspohl EJ. *The effect of the volatile oil from ginger rhizomes (Zingiber officinale), its fractions and isolated compounds on the 5-HT₃ receptor complex and the serotonergic system of the rat ileum*. Planta Med 2007 Apr;73(4):355-62.
- 17- Yh Yu, Anderson Ol, Wong ,John P. *chang.Serotonin interferes with Ca and PKC signaling to reduce gonadotropin-releasing hormone-stimulated GH serotonin in goldfish pituitary cells*. General and Comparative Endocrinology 2008;159:58-66.
- 18- H Samsam Shariat. *Sellected Herbal Medicine*. Tehran: Mani 2004:187. [persian]
- 19- Shahbazi P, Maleknia N. *General Biochemistry*. Vol. 2. Tehran; Tehran University Press:1380:71. [persian]
- 20- Khaki A, Nouri M, Fathiazad F, Khaki A. *Evaluation of Zingiber Officinalis and Allium Cepa on spermatogenesis in rat*. Medical Journal of Tabriz University of Medical Sciences 2008; 30(2): 53-8. [persian]
- 21- Kaneko T, Aoki T, Kondo Y, Nagase H. *DNA damage and the effect of antioxidants in streptozotocin-treated mice*. Food and chemical toxicology 2002; 40:979-87.
- 22- Shukla Y, Prasad S, Tripathi C, Singh M, George J, Kalra N. *In vitro and in vivo modulation of testosterone mediated alterations in apoptosis related proteins by [6]-gingerol*. Mul Nutr Food Res 2007 Dec;51(12): 1492-502.