

## اثر عصاره هیدروالکلی زنجیل بر وزن بدن، وزن بیضه و اسپرماتوژن در موش‌های صحرایی نر تحت شیمی درمانی داروی سیکلوفسفامید

حبيب الله جوهری<sup>۱</sup>، اسفندیار شریفی<sup>۲</sup>، نسرین انصاری<sup>\*</sup><sup>۳</sup>، مینا حسینی<sup>۴</sup>، فاطمه امیری<sup>۵</sup>

- ۱- استادیار گروه فیزیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد داراب
- ۲- مری 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 آلکیله 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 جندی، ایجاد آمنوره، آزواسپرمی و الیگواسپرمی است. زنجیل حاوی ترکیبات متعدد از جمله شوگالوها(Shogoals)، جینجرولها(Gingerols)، پیروگالالوها(Pyrogalloles) و سزکوبیترپن(Sesquiterpen) می‌باشد. زنجیل دارای خواص ضد تهوع، ضد سرطان، آنتی اکسیدان، حذف رادیکالهای آزاد بوده که به همراه داروی سیکلوفسفامید مصرف می‌شود تا اثرات مضر این دارو را در بدن تعدیل نماید.

روش پژوهی: به ۵۶ موش‌های صحرایی به مدت ۲۱ روز داروی سیکلوفسفامید به همراه زنجیل 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 تنها یی موجب کاهش وزن بدن، کاهش وزن بیضه و کاهش اسپرماتوژن نسبت به گروه مورد شده و با  $P \leq 0.05$  معنی دار بوده و در گروه مورد که سیکلوفسفامید به همراه زنجیل داده شد، با افزایش دوز زنجیل، وزن بدن، وزن بیضه و اسپرماتوژن (نسبت به گروه تجربی) افزایش یافت.

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

**واژه‌های کلیدی:** زنجیل - سیکلوفسفامید - اسپرماتوژن - وزن - موش صحرایی - شیمی درمانی

\*نویسنده مسئول؛ تلفن: ۰۷۱۱-۶۲۲۰۵۲۱، پست الکترونیکی: nasrin\_ansari1617@yahoo.com

## مقدمه

**هدف تحقیق:** با توجه به این که داروهای شیمی درمانی مانند سیکلوفسفامید موجب کاهش اسپرماتوژن و کاهش فعالیت تولید مثلی همچنین عوارض دیگری مثل کاهش وزن می‌شود و زنجیل دارای ترکیبات آنتی‌اکسیدان و کاهنده متابولیت‌های فعال و رادیکال‌های آزاد است، پس می‌توان تا حدودی پیش‌بینی کرد که ترکیبات زنجیل 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

**جمع آوری و شناسایی گیاه زنجیل:** ریزوم این گیاه توسط آسیاب پودر گردید. ریزوم خریداری شده حدود ۳ کیلو گرم بود که پس از آسیاب کردن حدود ۲۷۰۰ گرم پودر زنجیل بدست آمد.

**عصاره گیری:** به مقدار مساوی آب و الکل را به پودر زنجیل 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 گردد. 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 سانتی گراد 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 مقداری لازم برداشته و به گروهای تجربی در ساعت ۹ صبح و توسط سرنگ مستقیماً به درون حلق حیوان ریخته شد. به مدت ۲۱ روز خورانده شد.

**روش آماده سازی 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 سی سی آب مقطر اضافه کرده و به سرعت نکان داده تا حل گردد. روزانه رأس ساعت ۹ صبح به کمک سرنگ و نیدل

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 گستردگی 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 RNA و نیز DNA و همچنین مهار سنتز پروتئین اثر سلول کشی خود را اعمال می‌کند. این داروی آلکیله کننده مولکول‌های واکنشی تشکیل می‌دهد که گروه نوکلوفیلیک روی بازوی DNA بویژه موقعیت ۷-ان گوایل را آلکیله می‌کند، این مسئله سبب ایجاد پیوندهای جانبی میان بازوها و جفت شدن غیرطبیعی بازوها و شکسته شدن مولکول DNA می‌شود (۲).

صرف سیکلوفسفامید غالباً با بی‌اشتهاای، حالت تهوع واستفراغ همراه است. مهمترین عوارض جانبی دارو شامل کاهش سلول‌های خونی، افزایش غلظت اسید اوریک، کاهش عملکرد غدد جنسی، ایجاد آمنوره، آزواسپرمی و الیگواسپرمی می‌باشد. Zingiber officinale زنجیل ریزوم گیاه تازه یا خشک شده است. زنجیل به عنوان دارو از زمان باستان مصرف می‌شده است. پراکندگی آن از شرق آسیا تا نواحی گرمسیری استرالیا می‌باشد. مهمترین ترکیبات زنجیل شامل شوگاول‌ها، جرانیول، جینکل، جرانیل، سزکوئی ترپن‌ها، جینجرول‌ها، پیروگالول‌ها، زینجیرن، ارکوکورمن، بتاگریکوئی فلاندرن و بتاگریکوئی فلاندرن می‌باشد (۳).

از اثرات زنجیل بر بدن می‌توان به کاهش درد، درمان آرتریت روماتویید (۵)، ضد التهاب (۵)، آنتی تومور (۶،۵)، آنتی اکسیدانت (۷،۵)، حذف رادیکال‌های آزاد (۸،۵)، تحریک قاعده‌گی و رفع بی‌نظمی عادت ماهیانه (۱۰،۹)، مؤثر در اسپرماتوژن (۱۰) و افزایش میل جنسی، اشاره نمود (۹). جینجرول‌های موجود در زنجیل موجب از بین رفتن رادیکال‌های آزاد، آنتی سروتونرژیک، مهار تولید پروستاگلندین‌ها (۱۱) و اثر ضد التهابی می‌شوند (۱۲). سزکوئی ترپن‌ها نیز موجب مهار تولید رادیکال‌های آزاد می‌گردد (۱۱).

شد. روزانه حدود ۸/۸ گرم زنجيل به کل حيوانات دريافت گنده زنجيل داده ميشد که ۷ سى از محلول زنجيل معادل اين ميزان بود.

**روش تهييه نمونه هاي بافتى ييضه:** پس از بيهوش كردن حيوان، ييضه هاي چپ و راست را از كيسه اسکروتوم خارج كرده، اپيديديم و ساير بافت هاي متصل به آن را توسيط تيغ جدا كرده و سپس ييضه ها را در دو ظرف حاوي آب مقطر قرار داده تا تمامي بافت هاي اضافي و خونى که به آن چسبide است جدا شود. بعد توسيط گاز استريل آنها را خشک كرده و ييضه هاي چپ و راست را توسيط ترازوئي ديجيتال با دقت ۰/۰۱ گرم وزن شدند. پس از وزن کردن ييضه ها، ييضه هاي چپ و راست را به صورت جداگانه در ظرف هاي حاوي فيكساتور فرماليين قرار داده تا جهت تهييه بافت آماده شوند. پس از مراحل آماده سازی نمونه هاي بافتی، توسيط ميكروتوم مقاطع گيري و قطر هر مقاطع ۵ ميكرون در نظر گرفته شد. سپس رنگ آميزي به روش هماتوكسيلين-ائوزين اسلاميد هاي بافتی آماده شد.

**بورسي آماري:** نتایج بدست آمده بر اساس برنامه آماري SPSS و تست هاي توکي و ANOVA موربد بررسی قرار گرفت و اختلاف  $P \leq 0/05$  معنی دار در نظر گرفته شد. در اين روش ابتدا داده هاي خام توسيط نرم افزار SPSS وارد شد و جهت بررسی و مقایسه نتایج گروهها با همديگر از توکي و ANOVA استفاده گردید. سپس بر اساس داده هاي به دست آمده هسيتو گرام هاي مربوط توسيط برنامه Excel رسم گردید و تجزие و تحليل داده ها انجام گرفت.

**روش مطالعه هيستومورفولوژيکي ييضه و بورسي آماري:** لامهای تهييه شده از ييضه هاي چپ و راست موشهای صحرائي که به روش هماتوكسيلين-ائوزين رنگ آميزي شده به وسیله ميكروسكوب نوري با بزرگ نمایي هاي مختلف بررسی شد. پارامتر هاي مورد نظر در مطالعه مقاطع بافتی، آرایش لوله هاي سمينifer، تعداد سلولهای اسپرماتيد و تراکم اسپرم در لومن بود. سلولهای اسپرماتيد پس از شناسابي در زير ميكروسكوب، از هر اسلايد حداقل ۵ لومن شمارش و ميانگين گرفته شد و تراکم اسپرم در لومن به صورت مقاييسه ای انجام گرفت که در

انسولياني به صورت تزريرق درون صفاقى، تزريرق گردید. به هر موش صحرائي ۰/۲ ميلى لیتر از اين محلول به مدت ۲۱ روز تزريرق گردید(مقدار ۰/۲ ميلى لیتر معادل ۵ ميلى گرم بر كيلو گرم وزن بدن، سيكلوفسفاميد است). دوز انتخابي سيكلوفسفاميد برا ساسي که در آزمایشگاه بدست آمد حدود ۱۵ ميلى گرم بر كيلو گرم وزن بدن است.

**حيوانات آزمایشگاهی:** حيوانات مورد آزمایش در این تحقیق ۵۶ سر موش صحرائي نر بالغ نژاد ويستار با وزن متوسط ۱۸۵-۱۹۵ گرم و سن ۲-۳ ماه بود. موش هاي صحرائي به ۷ گروه تابي تقسيم شدند. در تمام مدت ۲۱ روز آزمایش، حيوانات طی دوره ۱۲ ساعت تاریکی، ۱۲ ساعت روشنایي قرار گرفتند. آب آشامیدنی حيوانات در تمام طول آزمایش آب لوله کشی شهری و تغذيه بصورت غذای مخصوص موش (كجاله) بود. درجه حرارت در طول آزمایش ۲۵°C و تابش سور به صورت غير مستقيم و از طريق پنجه هاي آزمایشگاه صورت مي گرفت.

**تجویز عصاره و دارو:** موش هاي صحرائي به ۷ گروه ۸ تابي تقسيم شدند. گروه اول بعنوان کتتل بدون دريافت هيچ حلال دارويي، گروه دوم روزانه رأس ساعت ۹ صبح ۰/۲ ميلى لیتر آب مقطر بعنوان حلال دارو و به صورت درون صفاقى تزريرق گردید. گروه سوم يعني گروه تجربى اول روزانه ۰/۰۸ سى mg/Kg/day داروى سيكلوفسفاميد به صورت تزريرق درون صفاقى و ۰/۵gr/Kg/day عصاره هيدرولالکلى زنجيل به صورت خوراکي دريافت کردند. گروه چهارم يعني گروه تجربى دوم روزانه ۰/۰۶ سى mg/Kg/day داروى سيكلوفسفاميد به صورت تزريرق درون صفاقى و ۱gr/Kg/day عصاره هيدرولالکلى زنجيل به صورت خوراکي دريافت کردند. گروه پنجم يعني گروه تجربى سوم روزانه ۰/۳۲ سى mg/Kg/day داروى سيكلوفسفاميد به صورت تزريرق درون صفاقى و ۲gr/Kg/day عصاره هيدرولالکلى زنجيل به صورت خوراکي دريافت کردند. گروه ششم يا گروه تجربى چهارم نيز روزانه ۵mg/Kg/day داروى سيكلوفسفاميد به صورت تزريرق درون صفاقى دريافت کردند. در نهايىت گروه هفتم يا گروه تجربى پنجم روزانه ۰/۰۳۲ سى mg/Kg/day عصاره هيدرولالکلى زنجيل خورانده

و ۴ در سطح  $\leq 0.05$  معنی دار است. در گروههای تجربی ۱ و ۲ با افزایش دوز زنجیل 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 می باشد.

**تفییرات اسپرماتوژندر گروههای تجربی در مقایسه با گروه کنترل:** اسپرماتیدها پس از شناسایی در زیر میکروسکوب، از هر اسلاید حداقل ۵ لومن شمارش شده و میانگین گرفته شد. با توجه به جدول ۴ مشاهده می شود در گروههای تجربی ۱ و ۲ و ۳ و ۴ تعداد سلول های اسپرماتید نسبت به گروه کنترل کاهش یافته و در گروههای تجربی ۱ و ۲ و ۳ و ۴ در سطح  $\leq 0.05$  معنی دار است و در گروههای تجربی ۲ و ۳ تعداد سلول های اسپرماتید نسبت به گروه تجربی ۴ افزایش معنی داری در سطح  $\leq 0.05$  نشان می دهد.

فتومیکرو گراف های ۱ تا ۶ نیز بیان گر این موضوع است، در گروههای تجربی ۱ و ۲ و ۳ و ۴ کاهش اسپرماتیدها نسبت به گروه کنترل مشاهده می شود. 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 زنجیل به تعداد اسپرم ها در لومن افزوده شده و در گروه تجربی ۵ میزان اسپرم ها نسبت به گروه کنترل نیز بیشتر شده است که البته معنی دار نمی باشد.

فتومیکرو گراف ها مشخص می باشد. سپس توسط میکروسکوپ دوربین دار مدل NIKON ساخت ژاپن و با استفاده از فیلم کونیکا فتو میکرو گراف مربوط تهیه گرد و نتایج آماری بدست آمده مورد بررسی قرار گرفت.

### نتیجه گیری

**تفییرات وزن بدن در گروههای تجربی در مقایسه با گروه کنترل:** با توجه به جدول ۱ مشاهده می شود 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  $\leq 0.05$  معنی دار است. در گروههای تجربی ۱ و ۲ و ۳ با افزایش دوز زنجیل از گروه ۱ تا ۳ وزن بدن نسبت به گروه تجربی ۴ افزایش یافته است که البته این افزایش معنی دار نمی باشد.

**تفییرات وزن بیضه در گروههای تجربی در مقایسه با گروه کنترل:** با توجه به جداول ۳ و ۲ مشاهده می شود در گروههای تجربی ۱ و ۲ و ۳ و ۴ وزن بیضه راست نسبت به گروه کنترل کاهش یافته و در گروههای تجربی ۱ و ۲ و ۳ و ۴ در سطح  $\leq 0.05$  معنی دار است. در گروههای تجربی ۱ و ۲ و ۳ با افزایش دوز زنجیل 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 می باشد. 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

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 mean±SD |
|---|-------|--|
| کنترل                                   | ۸     | ۲۴۶/۱۴±۷/۴۸  |
| شاهد                                    | ۸     | ۲۳۳/۱۴±۳/۷۸  |
| گروه تجربی ۱(سیکلوفسفامید+حدائق زنجیل)  | ۸     | *۱۸۶/۵۵±۴/۷۷   |
| گروه تجربی ۲(سیکلوفسفامید+متوسط زنجیل)  | ۸     | *۱۹۵/۳۷±۴/۷۶   |
| گروه تجربی ۳(سیکلوفسفامید+حداکثر زنجیل) | ۸     | *۱۹۶/۵±۴/۲۹  |
| گروه تجربی ۴(سیکلوفسفامید)              | ۸     | *۱۸۳/۲۸±۲/۸۳   |
| گروه تجربی ۵(زنジل)                      | ۸     | ۲۴۷±۳/۲۴   |

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

سطح اختلاف معنی داری  $\leq 0.05$  P 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 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 گرم                             |  |
|-------|--|---|--|
| ۸     | ۱/۳۹±۰۲۱   | کنترل                                   |  |
| ۸     | ۱/۴±۰۶۹  | شاهد                                    |  |
| ۸     | *۱/۲۴±۰۲۲  | گروه تجربی ۱(سیکلوفسفامید+حداقل زنجیل)  |  |
| ۸     | *۱/۲۵±۰۲۵  | گروه تجربی ۲(سیکلوفسفامید+متوسط زنجیل)  |  |
| ۸     | **۱/۳۱±۰۳۲   | گروه تجربی ۳(سیکلوفسفامید+حداکثر زنجیل) |  |
| ۸     | *۱/۱۸±۰۳۰  | گروه تجربی ۴(سیکلوفسفامید)              |  |
| ۸     | ۱/۴۱±۰۸۲   | گروه تجربی ۵(زنجلیل)                    |  |

مقادیر براساس 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 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 | mean±SD گرم                             |  |
|-------|---|---|--|
| ۸     | ۱/۴۴±۰۱۴  | کنترل                                   |  |
| ۸     | ۱/۴۲±۰۵۸  | شاهد                                    |  |
| ۸     | *۱/۲۶±۰۲۵   | گروه تجربی ۱(سیکلوفسفامید+حداقل زنجیل)  |  |
| ۸     | **۱/۳۰±۰۲۰  | گروه تجربی ۲(سیکلوفسفامید+متوسط زنجیل)  |  |
| ۸     | ***۱/۳۱±۰۲۵   | گروه تجربی ۳(سیکلوفسفامید+حداکثر زنجیل) |  |
| ۸     | *۱/۱۸±۰۳۰   | گروه تجربی ۴(سیکلوفسفامید)              |  |
| ۸     | ۱/۴۱±۰۸۲  | گروه تجربی ۵(زنجلیل)                    |  |

مقادیر براساس 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 با گروه تجربی ۴ است.

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

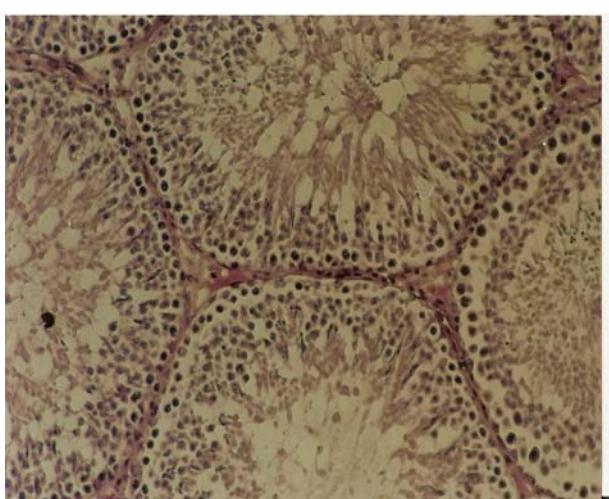
| تعداد | انحراف معیار + میانگین سلول های اسپرماتید | mean±SD | گروههای مختلف                           |
|-------|---|---------|---|
| n=8   | ۱۵۸/۶±۵/۴                                 |         | کنترل                                   |
| n=8   | ۱۵۶/۶±۳/۵۸                                |         | شاهد                                    |
| n=8   | *۶۶/۶±۳/۴۷                                |         | گروه تجربی ۱(سیکلوفسفامید+حداقل زنجیل)  |
| n=8   | ***۹۵/۶±۷/۵۵                              |         | گروه تجربی ۲(سیکلوفسفامید+متوسط زنجیل)  |
| n=8   | ***۱۱۷/۴±۱۱/۰۷                            |         | گروه تجربی ۳(سیکلوفسفامید+حداکثر زنجیل) |
| n=8   | *۶۵±۵/۲                                   |         | گروه تجربی ۴(سیکلوفسفامید)              |
| n=8   | ۱۵۸/۲±۴/۲۴                                |         | گروه تجربی ۵(زنجلیل)                    |

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

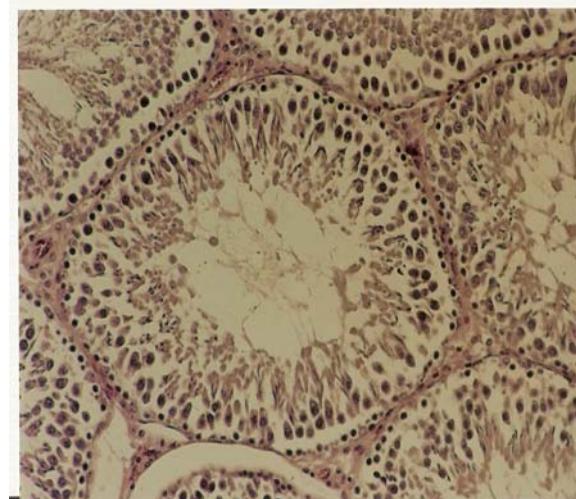
سطح اختلاف معنی دار  $P \leq 0.05$  است.

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

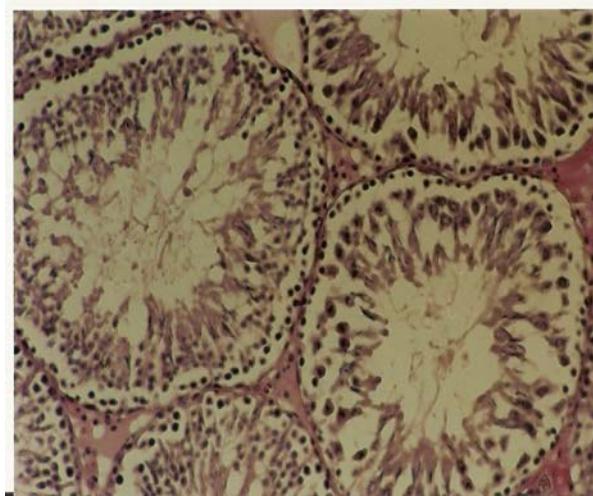
علامت \*\* نشان دهنده اختلاف معنی دار گروه های تجربی ۱ و ۲ با گروه تجربی ۴ است.



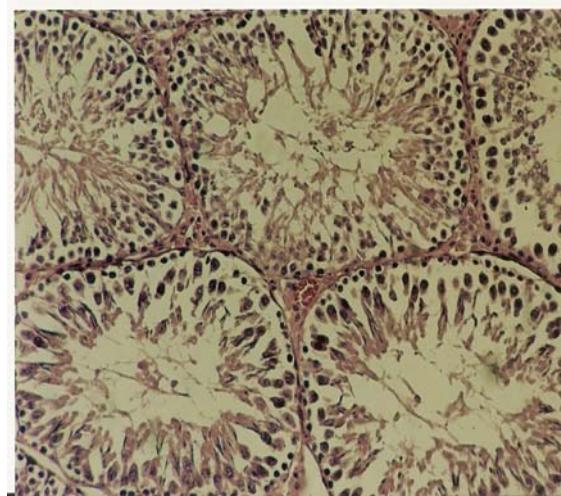
شکل ۲: فتومیکروگراف لوله های اسپرم ساز در گروه کنترل (بزرگنمایی  $\times 100$ )



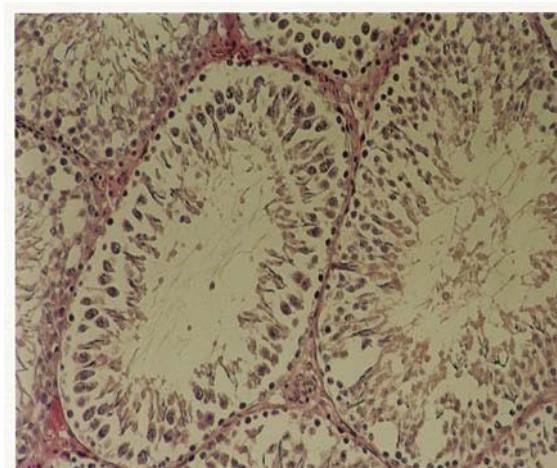
شکل ۱: فتومیکروگراف لوله های اسپرم ساز در گروه تجربی ۱ (بزرگنمایی  $\times 100$ )



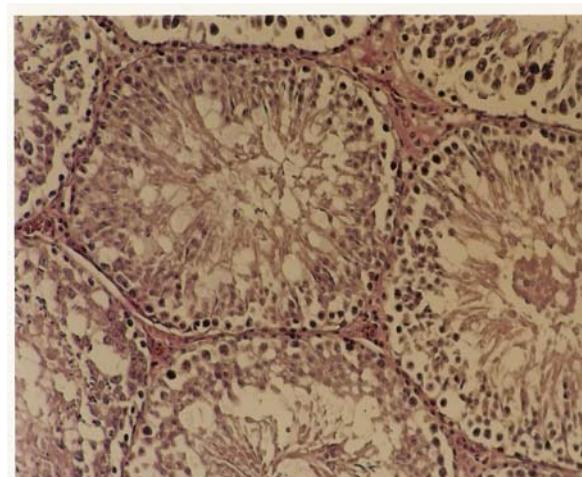
شکل ۴: فتومیکروگراف لوله های اسپرم ساز در گروه تجربی ۲ (بزرگنمایی  $\times 100$ )



شکل ۳: فتومیکروگراف لوله های اسپرم ساز در گروه تجربی ۳ (بزرگنمایی  $\times 100$ )



شکل ۶: فتومیکروگراف لوله های اسپرم ساز در گروه تجربی ۴ (بزرگنمایی  $\times 100$ )



شکل ۵: فتومیکروگراف لوله های اسپرم ساز در گروه تجربی ۵ (بزرگنمایی  $\times 100$ )

## بحث

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 جینجرول با کاهش سروتونین موجب افزایش هورمون رشد می‌شود. پس با افزایش دوز زنجیل 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 زنجیل 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 زنجیل بر وزن بیضه:** یکی از دلایل کاهش وزن بیضه و آتروفیه شدن بیضه‌ها عواملی است که در اسپرماتوژنر اختلال ایجاد می‌کند مانند داروی سیکلوفسفامید. این دارو موجب الیگو اسپرمی یا آزواسپرمی 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، اسپرماتوسيت 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 زنجیل کاهش وزن بیضه‌ها تا حدودی جبران می‌شود و وزن بیضه‌ها در این سه گروه نسبت به گروه تجربی ۴

**تأثیر داروی سیکلوفسفامید و زنجیل 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 کم اشتها و چلوگیری از سنتز پروتئین‌ها و کاهش توده‌پروتئینی و چربی موجب کاهش وزن بدن می‌شود.

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

جینجرول‌ها از جمله ترکیبات زنجیل است که محرك اشتها و ضد تهوع می‌باشد(۵) که می‌تواند حالت تهوع و بی‌اشتها ای ناشی از سیکلوفسفامید را جبران نماید. جینجرول‌ها به همراه سزکوکی‌ترین‌ها موجب حذف رادیکال‌های آزاد می‌شود، پس خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارد(۵،۱۴) و همچنین موجب جلوگیری از تولید و موجب حذف متابولیت‌های فعال در بدن می‌گردد(۵)، پس با حذف متابولیت‌های فعال حاصل از سیکلوفسفامید در بدن، جلوی کاهش سنتز پروتئین و در نتیجه کاهش وزن بدن، با افزایش دوز زنجیل، گرفته و کاهش وزن تا حدودی جبران می‌شود. جینجرول‌های موجود در زنجیل، 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 5HT2A 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 زنجیل کاهش وزن

همچنین مطالعات نشان می‌دهد مصرف زنجیل به مقدار قابل توجهی میزان آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز را افزایش می‌دهد (۵).

پس احتمالاً ترکیبات زنجیل با افزایش میزان آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز، موجب جلوگیری از اثرات مخرب و شکستن DNA در سلول‌های اسپرم و مولد اسپرم می‌شود.

تأثیر داروی سیکلوفسفامید و عصاره زنجیل بر تغییرات تعداد سلول‌های اسپرماتید: جدول ۴ نشان می‌دهد که میانگین تعداد سلول‌های اسپرماتید در گروه‌های تجربی ۱ و ۲ و ۳ و ۴ نسبت به گروه کنترل کاهشیافته است. کاهش در گروه تجربی ۴ که فقط داروی سیکلوفسفامید دریافت کرده‌اند ناشی از متابولیت‌های فعال سیکلوفسفامید و تأثیر این دارو بر روی DNA در نتیجه تقسیمات میوزی را کاهش می‌دهد. پس تعداد سلول‌های اسپرماتید حاصل از تقسیم سلول‌های اسپرماتوسیت اولیه و ثانویه کاهش می‌یابد که کتاب‌های فارماکولوژی این را ثابت کرده‌اند (۱،۲). در گروه‌های تجربی ۱ و ۲ و ۳ و ۴ این کاهش نیز مربوط به متابولیت‌های حاصل از داروی سیکلوفسفامید است و با توجه به این که در گروه‌های تجربی ۱ و ۲ و ۳ علاوه بر سیکلوفسفامید، زنجیل نیز دریافت می‌کنند و با افزایش دوز زنجیل در این گروه‌ها، تعداد سلول‌های اسپرماتید، نسبت به گروه تجربی ۴ افزایش می‌یابد، به طوری که در گروه تجربی ۳ که حداقل دوز زنجیل دریافت کرده‌اند این کاهش نسبت به گروه کنترل معنی دار می‌باشد ولی به آنها نزدیک شده است.

این افزایش نسبی سلول‌های اسپرماتید را می‌توان ناشی از ترکیبات فعال موجود در زنجیل دانست. این ترکیبات شامل جینجرول‌ها، شوگاول‌ها و سزکوئی‌ترپین‌ها می‌باشند. همان‌گونه که قبل‌آنیز اشاره شده است این ترکیبات آنتی‌اسکسیدانت هستند و موجب حذف رادیکال‌های آزاد و متابولیت‌های فعل از بدن می‌شوند پس می‌توانند اثرات مخرب داروهای شیمیایی مثل سیکلوفسفامید را کم کنند.

تحقیقات نشان می‌دهد ترکیبات موجود در زنجیل موجب ترمیم مولکول DNA می‌شوند (۳،۲۰،۲۲)، پس DNA شکسته شده توسط سیکلوفسفامید را ترمیم می‌نمایند و موجب ادامه

افزایش می‌یابد. که باید علت آن را در ترکیبات زنجیل جستجو کرد. همان طور که قبلاً گفته شده است در زنجیل ترکیباتی مانند جینجرول‌ها، شوگاول‌ها و سزکوئی‌ترپین‌ها وجود دارند که آنتی‌اسکسیدان بوده و موجب از بین رفت رادیکال‌های آزاد شده و همچنین موجب جلوگیری از متابولیت فعل و حذف این رادیکال‌ها می‌شوند، با توجه به اینکه این اثرات مخرب سیکلوفسفامید ناشی از متابولیت فعل آن مانند آکرولوئین است، پس می‌توان گفت ترکیبات ذکر شده در زنجیل موجب حذف متابولیت فعل سیکلوفسفامید شده و موجب می‌گردد که جلوی تقسیمات میتوزی و میوزی درون ییضه گرفته نشود و با افزایش میزان زنجیل، افزایش وزن ییضه در گروه‌های تجربی ۱ و ۲ و ۳ نسبت به گروه تجربی ۴ مشاهده شود. همچنین مطالعات نشان می‌دهد عصاره زنجیل موجب ترمیم مولکول DNA می‌گردد (۲۰-۲۲). پس در صورت تخریب DNA سلول‌های موجود در ییضه در اثر متابولیت‌های سیکلوفسفامید، ترکیبات زنجیل آنرا ترمیم می‌کند و تقسیمات ادامه می‌یابد و کاهش وزن ییضه نسبت به گروه تجربی ۴ جبران می‌گردد.

همچنین تحقیقات دانشگاه تبریز در سال ۱۳۸۷ نشان می‌دهد عصاره زنجیل موجب افزایش تستوسترون و افزایش وزن ییضه‌ها می‌گردد (۲۰). پس در گروه‌های تجربی ۱ و ۲ و ۳ با افزایش دوز زنجیل وزن ییضه‌ها افزایش می‌یابد به طوری که در گروه تجربی ۵ که فقط زنجیل دریافت کرده‌اند افزایش وزن ییضه از گروه کنترل نیز بیشتر شده است البته معنی دار نبوده و ممکن است مربوط به دوز داروی مصرفی یا طول دوره آزمایش باشد. جینجرول‌ها و شوگاول‌ها تحریک کننده آندروروژن می‌باشند و توانایی افزایش وزن ییضه را دارند و می‌توانند هورمون تستوسترون را افزایش دهند.

آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز به عنوان یک آنتی‌اسکسیدانت در حفاظت اسپرم‌ها در بافت ییضه و اپیدیدیم نقش ویژه‌ای ایفا می‌کنند و کاهش این آنزیم در بدن سبب نازایی می‌گردد. این آنزیم با قرار گرفتن در غشای پلاسمایی اسپرم، هسته اسپرم، مایع اپیدیدیم و ناحیه اپیدیدیم، اسپرم‌ها را از گزند رادیکال‌های آزاد حفظ می‌کند و سبب بلوغ نهایی و تکامل اسپرم‌ها می‌شود (۲۰).

حافظت اسپرم‌ها در بافت بیضه و اپیدیدیم نقش ویرهای ایفا می‌کنند و کاهش این آنزیم در بدن سبب نازایی می‌گردد. این آنزیم با قرار گرفتن در غشای پلاسمایی اسپرم، هسته اسپرم، مایع اپیدیدیم و ناحیه اپیدیدیم، اسپرم‌ها را از گزند رادیکال‌های آزاد حفظ می‌کند و سبب بلوغ نهایی و تکامل اسپرم‌ها می‌شود(۲۰). همچنین مطالعات نشان می‌دهد مصرف زنجیل به مقدار قابل توجهی میزان آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز را افزایش می‌دهد(۵). پس احتمالاً ترکیبات زنجیل با افزایش میزان آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز، موجب جلوگیری از اثرات مخرب و شکستن DNA در سلول‌های اسپرم و مولد اسپرم می‌شود.

تقسیمات سلولی می‌گردد.

تحقیقات نشان می‌دهد عصاره زنجیل موجب افزایش تستوسترون و افزایش وزن بیضه‌ها می‌گردد(۲۰) پس در گروههای تجربی ۱ و ۲ و ۳ با افزایش دوز زنجیل غلظت هورمون تستوسترون افزایش می‌باشد و هورمون تستوسترون با همکاری هورمون FSH موجب اسپرم‌سازی و تقسیم شدن سلول‌های اسپرماتوگونی می‌گردد. جینجرول‌ها و شوگاول‌ها تحریک کننده آندروژن می‌باشند و توانایی افزایش وزن بیضه را دارند و می‌توانند هورمون تستوسترون را افزایش دهند. آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز به عنوان یک آنتی‌اکسیدانت در

#### منابع:

- 1- Shahraz S, Ghaziyan 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- Yu Y, Anderson Ol, Wong J, Chang P. *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. *Selected 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*. Mol Nutr Food Res 2007 Dec;51(12): 1492-502.