

تأثیر عصاره‌ی آبی چای سفید بر مقادیر سرمی هورمون‌های LH، FSH و تستوسترون در رت‌های مواجهه شده با آرسنیک

فیروزه صابری سیس^۱، فلور زرگری^{۲*}

۱- گروه زیست‌شناسی، موسسه آموزش عالی غیردولتی- غیرانتفاعی ربع رشید، تبریز، ایران

۲- گروه علوم پزشکی، واحد مرند، دانشگاه آزاد اسلامی، مرند، ایران

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۶/۰۲/۰۶

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۵/۱۰/۰۵

چکیده

زمینه و هدف: سدیم آرسنیت یک آلاینده‌ی زیست‌محیطی با توان تولید رادیکال‌های آزاد و ایجاد استرس اکسیداتیو است. استرس اکسیداتیو به‌عنوان یک عامل مهم در ناباروری مردان با کاهش سطح هورمون‌های جنسی مطرح است. هدف از این مطالعه بررسی تأثیر عصاره‌ی آبی چای سفید به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان بر مقادیر سرمی هورمون‌های LH، FSH و تستوسترون در رت‌های نر مواجهه شده با آرسنیک است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه‌ی تجربی ۳۲ رت نر بالغ به‌صورت تصادفی در ۴ گروه (n=۸) شامل: کنترل با دریافت روزانه یک سی‌سی آب مقطر از طریق گاو، سدیم آرسنیت با غلظت ۱۰۰ ppm در آب آشامیدنی، عصاره‌ی آبی چای سفید ۱/۵ درصد و عصاره‌ی آبی چای سفید ۱/۵ درصد + ۱۰۰ ppm سدیم آرسنیت تقسیم‌بندی شدند. در پایان دوره (۳۰ روز) بعد از تهیه‌ی سرم از روش الیزا برای آنالیز هورمون‌ها و آزمون‌های آماری ANOVA و Duncan برای تشخیص و برآورد تفاوت‌ها استفاده شد.

نتایج: نتایج نشان داد که آرسنیک باعث کاهش معنی‌دار LH، FSH و تستوسترون نسبت به گروه کنترل می‌شود ($P < 0.05$) و مصرف عصاره‌ی آبی چای سفید همراه با سدیم آرسنیت باعث افزایش معنی‌دار LH، FSH و تستوسترون نسبت به گروهی که آرسنیک دریافت کرده بودند می‌شود ($P < 0.05$). نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد عصاره‌ی آبی چای سفید می‌تواند در کاهش اثرات سمی سدیم آرسنیت بر روی هورمون‌های جنسی مفید باشد.

کلمات کلیدی: آرسنیک، چای سفید، تستوسترون، هورمون محرک فولیکول، هورمون جسم زرد

مقدمه

قرار دارند (۴). استفاده از ترکیبات آرسنیک دار تولید شده به‌صورت صنعتی با کاربردهای کشاورزی مثل حشره‌کش‌ها، قارچ‌کش‌ها، خزنه‌کش‌ها، مواد نگهدارنده و رنگ‌آمیزی چوب و همچنین در دامپزشکی در جهت ریشه‌کن کردن کرم‌های نواری گاو و گوسفند و اخیراً استفاده از آرسنیک تری اکسید به‌عنوان یک داروی ضدسرطان در درمان سرطان خون (۵) ممکن است از راه‌های ورود آرسنیک به زنجیره‌ی غذایی باشد.

شواهد روزافزونی مبنی بر تقویت تولید رادیکال‌های آزاد و القای استرس اکسیداتیو در حیوانات در معرض آرسنیک غیرآلی و سمیت ناشی از گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) وجود دارد (۶). تحقیقات نشان داده که آرسنیک اثرات سمی روی سیستم تولیدمثل دارد و تجمع آن در بیضه و غده پروستات باعث اختلال در عملکرد اسپرم و عدم تعادل در هورمون‌های جنسی می‌گردد (۷-۹). این تأثیر آرسنیک به‌واسطه ایجاد استرس اکسیداتیو

آرسنیک شبه‌فلز و عنصر ۳۳ جدول تناوبی دارای رتبه‌بندی ۲۰ در پوسته‌ی زمین، ۱۴ در آب دریا و بالاترین رتبه در لیست مواد خطرناک سمی برای سلامت عمومی است که به دو فرم آلی و غیرآلی (معدنی) و به‌ندرت آرسنیک فلزی خالص در طبیعت یافت می‌شود (۱، ۲) در محیط زمین فرم غیرآلی آرسنیک (مانند آرسنیت سه‌ظرفیتی و آرسنات پنج‌ظرفیتی) شایع‌تر و سمی‌تر از اشکال آلی آن (مانند dimethylarsinate و monomethylarsonate) و سمیت آرسنیت بیشتر از آرسنات است (۳). آلودگی آب‌های آشامیدنی به آرسنیک یک فاجعه‌ی زیست‌محیطی جدی در سراسر جهان است. در حال حاضر تخمین زده می‌شود که حدود ۲۰۰ میلیون نفر از مردم جهان به‌طور فزاینده تحت تأثیر غلظت بالای آرسنیک در آب آشامیدنی

*نویسنده مسئول: فلور زرگری، گروه علوم پزشکی، واحد مرند، دانشگاه آزاد اسلامی، مرند، Email: zargarifkb@gmail.com ایران

چای سفید به‌عنوان یک چای جدید حاوی دامنه‌ی وسیعی از ترکیبات مفید از قبیل آنتی‌اکسیدان‌ها، ترکیبات ضد میکروبی و ضد سرطانی است. نام چای سفید برگرفته از ویژگی‌های ظاهری آن است، برگ‌های این گیاه قبل از این که به‌طور کامل باز شوند، با کرک‌های سفیدرنگ پوشیده شده است. کیفیت منحصر به فرد این چای نیز به خاطر روش فرآوری خاص این محصول است که بدون عمل تهییج و خرد کردن صورت می‌گیرد (۱۷).

ترکیبات اصلی برگ چای شامل پروتئین‌ها، پلی ساکاریدها، پلی فنل‌ها (فلاونوئیدها)، مواد معدنی، عناصر کمیاب، آمینواسیدها، آنزیم‌ها، لیگنین و متیل گزانترین (کافئین، تتو فیلین و تتو برومین) است (۲۰-۱۸). فلاونوئیدها حاصل متابولیسم ثانویه گیاهان می‌باشند که به‌طور گسترده‌ای در قلمرو گیاهان یافت می‌شوند، فلاونوئیدها را می‌توان بر اساس ساختار و موقعیت حلقه هتروسیکلیک اکسیژن به شش گروه فلاوون‌ها، فلاوانون‌ها، ایزوفلاوون‌ها، فلاوونول‌ها، فلاوانول‌ها و آنتوسیانین‌ها تقسیم‌بندی نمود. مهم‌ترین فلاونوئید موجود در چای فلاوونول یا به‌طور دقیق‌تر کاتچین‌ها می‌باشند. کاتچین‌ها آنتی‌اکسیدان هستند و دارای اثرات مفیدی در بدن می‌باشند (۲۱). کاتچین‌ها در چای شامل: (-) اپی گالوکاتچین EPG (-)، (-) اپی کاتچین EC (-)، (-) اپی گالوکاتچین-۳ گالات (-) GCG (-)، (-) اپی کاتچین-۳ گالات EPG (-)، (+) گالوکاتچین GC (+)، (-) گالوکاتچین GC (-)، (+) کاتچین C (+) و (-) کاتچین C (-) می‌باشد. EGCG بیشترین مقدار را در بین آن‌ها دارد (۱۷).

مطالعه‌ی حاضر طرح پیشنهادی باهدف بررسی اثر عصاره آبی چای در برابر پراکسیداسیون لیپیدی، کاهش دفاع آنتی‌اکسیدانی و عدم تعادل گنادوتروپین‌ها و تستوسترون در رت‌های نر نژاد ویستار مواجهه شده با آرسنیک است که در صورت مؤثر بودن آن، نتایج به‌دست‌آمده می‌تواند مورد استفاده مراکز آندوکرینی و تولیدمثلی قرار گیرند.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر از نوع تجربی بوده و در دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز انجام شد و کلیه ملاحظات اخلاقی و پروتکل‌های کار روی حیوانات آزمایشگاهی مورد تأیید کمیته نظارت بر حقوق حیوانات آزمایشگاهی بود.

در این تحقیق از ۳۲ رت نر بالغ با نام علمی *Rattus norvegicus allivias* از نژاد Wistar در محدوده وزنی ۲۰۰-

است (۱۱-۱۰). استرس اکسیداتیو القا شده توسط افزایش رادیکال‌های آزاد و یا کاهش دفاع آنتی‌اکسیدانی کاملاً در مدل‌های حیوانی نشان داده شده است (۱۲). پژوهش‌های اخیر نشان داده که اثرات منفی ROS و LPO بر ساختار اسپرم به‌عنوان یک عامل مهم در بروز ناباروری در انسان در نظر گرفته شده و از میان آن‌ها می‌توان به اختلالات وسیع غشا، کاهش قدرت تحرک و اختلالات آکروزومی اسپرم‌ها که موجب تضعیف اتصال اسپرم به تخمک و انجام لقاح می‌شود اشاره نمود (۱۳). چندین مکانیسم احتمالی برای فعالیت مواد شیمیایی مختلف ضد غدد جنسی وجود دارد. ممکن است آن‌ها یک عمل بازدارنده‌ی مستقیم روی بیضه‌ها اعمال کنند، یا با تأثیر روی هیپوفیز منجر به تغییراتی در غلظت گنادوتروپین‌ها و در نتیجه اختلال در فرآیند اسپرماتوزن شوند. مطالعه‌ی کولادپ و همکاران برای اولین بار نشان داد که مواجهه‌ی خوراکی مزمن با آرسنیک به‌عنوان ماده‌ی سمی زیست‌محیطی با کاهش حجم بیضه‌ها، مهار آندروژن بیضه، کاهش غلظت تستوسترون و گنادوتروپین‌ها و افزایش قشر آدرنال باعث تغییر عملکرد تولیدمثلی در رت‌های نر بالغ می‌شود. این کاهش در توده‌ی بیضه سازگار با حذف سلول‌های جنسی در حیوانات تیمار شده با آرسنیک است (۷). نیاز به آنتی‌اکسیدان‌های قوی با سمیت کمتر و اثربخشی بیشتر یک ضرورت اجتناب‌ناپذیر است. امروزه بسیاری از متخصصین تغذیه برای تأمین آنتی‌اکسیدان‌های موردنیاز بدن، مصرف گیاهان، میوه‌جات و سبزی‌ها را توصیه می‌نمایند، زیرا معمولاً مصرف آنتی‌اکسیدان‌های گیاهی عوارض جانبی کمتر و درمان بهتری ایجاد می‌نمایند. متابولیت‌های ثانویه مشتق از گیاهان مانند فنل و فلاونوئید تام مشتق از گیاهان دارای پتانسیل قوی برای پاک‌سازی رادیکال‌های آزاد می‌باشند که در قسمت‌های مختلف گیاهی مانند برگ، میوه، دانه، ریشه و پوست وجود دارند؛ بنابراین با توجه به شیوع بالای بیماری‌های مزمن و فرسایشی منطقی است که برای تأمین آنتی‌اکسیدان‌های موردنیاز بدن از گیاهان استفاده شود به‌خصوص گیاهانی که فنل و فلاونوئید تام بالایی داشته باشند (۱۴). چای یکی از نوشیدنی‌های محبوب است که بعد از آب به‌طور وسیعی مورد استفاده قرار می‌گیرد و به چهار نوع سبز، سیاه و سفید و اولانگ تقسیم می‌شود (۱۵). منشأ همه‌ی انواع چای گیاه (*Camellia sinensis* L. است که دو زیرگونه دارد (۱۶):

۱- *var. assamica* (Assam - ۲ *var. sinensis* (China tea)

tea)

اختصاصی قرار گیرد، یک آنتی‌بادی برای به دام انداختن آنتی‌ژن به چاهک کوت می‌شود و آنتی‌بادی دوم که با آنزیم نشان دار شده است به‌عنوان شناساگر عمل می‌کند. برای اندازه‌گیری FSH، نمونه سرم بیمار و آنتی FSH کونژوگه با HRP رقیق شده به چاهک‌های پوشش یافته با آنتی‌بادی مونوکلونال تولید شده علیه زیرواحد β ی FSH اضافه می‌شود. FSH موجود در سرم به آنتی‌بادی مونوکلونال FSH کف چاهک‌ها (به‌عنوان آنتی‌بادی اول) و بعد از آن به آنتی FSH کونژوگه با HRP (به‌عنوان آنتی‌بادی دوم) اتصال می‌یابد، آنتی FSH کونژوگه و پروتئین‌های متصل نشده با محلول شستشو، شسته می‌شوند، در ادامه سوبسترای آنزیم که طی واکنش آنزیمی از آن محلول رنگی حاصل می‌شود اضافه می‌گردد. شدت رنگ متناسب با غلظت FSH نمونه خواهد بود، در واقع یک منحنی استاندارد وابسته به شدت رنگ که متناسب با غلظت FSH نیز هست به دست می‌آید (IBL- IB19103(96 tests)

اساس سنجش LH نیز مشابه هورمون FSH به روش ساندویچ و با استفاده از آنتی‌بادی مونوکلونال LH در کف چاهک‌ها و آنتی LH کونژوگه با HRP رقیق شده است (IBL- IB19104(96 tests).

سنجش تستوسترون با کیت Dmeditec Testosterone ELISA ساخت کشور آلمان و بر اساس رقابت برای اتصال انجام می‌گیرد، به‌این ترتیب که چاهک‌ها با یک آنتی‌بادی منحصربه‌فرد علیه یک جایگاه آنتی ژنیک اختصاصی در مولکول تستوسترون پوشش داده می‌شود و تستوسترون درون‌زاد نمونه بیمار با یک تستوسترون کونژوگه با پراکسیداز (horseradish) برای اتصال به آنتی‌بادی پوشش‌دهنده‌ی کف چاهک رقابت می‌کند، بعد از آنکوباسیون تستوسترون کونژوگه متصل نشده با محلول شستشو شسته می‌شود، مقدار پراکسیداز کونژوگه شده نسبت معکوس با غلظت تستوسترون نمونه دارد. بعد از اضافه کردن محلول سوبسترا شدت رنگ در حال توسعه با غلظت تستوسترون نسبت معکوس دارد (Demeditec Diagnostics GmbH, Lise-) Meitner-Strabe 2, D-24145 Kiel(Germany) در پایان دوره داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS به‌صورت میانگین \pm انحراف معیار برای هر گروه گزارش شد و از روش الیزا برای آنالیز هورمون‌ها و آزمون‌های آماری ANOVA و Duncan برای تشخیص و برآورد تفاوت‌ها استفاده گردید. $p < 0.05$ به‌عنوان درجه معناداری در نظر گرفته شد.

۲۵۰ گرم که از دانشکده پزشکی تبریز خریداری و در اتاق حیوانات دانشکده دامپزشکی واحد تبریز در دمای ۲۳ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۶۵ درصد و دوره روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعته نگهداری شده و به آب و غذای کافی همواره دسترسی داشتند، استفاده شد.

بعد از ۵ روز سازگاری با محیط، نمونه‌ها به‌صورت تصادفی ساده به چهار گروه مساوی (۸تایی) تقسیم شدند: گروه اول: به نام گروه کنترل که از رژیم غذایی استاندارد استفاده نموده و روزانه یک سی‌سی آب مقطر از طریق گاوژ دریافت کردند.

گروه دوم: رت‌هایی که سدیم آرسنیت (SA) را با غلظت ۱۰۰ ppm در آب آشامیدنی دریافت کردند. گروه سوم: رت‌هایی که عصاره آبی چای سفید (۱/۵ درصد) را یک‌بار در روز از طریق گاوژ دریافت کردند. گروه چهارم: رت‌هایی که عصاره آبی چای سفید (۱/۵ درصد) را به‌صورت گاوژ همراه با سدیم آرسنیت (۱۰۰ ppm) در آب آشامیدنی دریافت کردند.

چای سفید از عطاری خریداری و پس از شناسایی توسط کارشناس هرباریوم دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد تبریز، کد شناسایی ۲۶۱۹۹۹۹ به آن اختصاص یافت. برای تهیه عصاره آبی چای سفید ۱۵ گرم پودر آن در ۱ لیتر آب مقطر جوش به مدت ۱۵ دقیقه قرار گرفت و سپس این محلول با کاغذ صافی واتمن ۲۴ فیلتر شد تا عصاره ۱/۵ درصد چای سفید تهیه گردد.

پس از پایان دوره تیمار (۳۰ روز)، ۱۶ ساعت قبل از خون‌گیری مواد غذایی از دسترس حیوانات خارج و موش‌ها توسط اتر بی‌هوش شدند و خون‌گیری از قلب موش‌ها انجام و در لوله‌های استریل جمع‌آوری شد. پس از عمل سانتریفیوژ (۳۰۰۰ دور در دقیقه) در ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد و به مدت ۵ دقیقه، جداسازی سرم انجام و از روش الیزا برای آنالیز هورمون‌ها و آزمون‌های آماری ANOVA و Duncan برای تشخیص و برآورد تفاوت‌ها استفاده شد. سنجش هورمون‌های LH و FSH با استفاده از کیت‌های الیزای IBL (Immuno-Biological Laboratories-) (America) ساخت کشور آمریکا انجام گرفت.

اساس این کیت‌ها به روش ساندویچ و با استفاده از آنتی‌بادی مونوکلونال است. روش Ab Sandwich شایع‌ترین روش الیزا بوده و یک آنتی‌ژن (مثل LH، FSH، TSH، HCG و PSA) باید دو ناحیه‌ی آنتی ژنیک متفاوت داشته باشد تا بین دو آنتی‌بادی

نتایج

آرسنیک منجر به مهار آندروژنز بیضه می‌شود. ممکن است کاهش وابسته به دوز در غلظت پلاسمایی و داخل بیضه‌ای تستوسترون در رت‌های تیمار شده با آرسنیک به دلیل مهار فعالیت آنزیم‌های آندروژنی بیضه رخ دهد، چراکه این آنزیم‌ها مسئول تنظیم بیوسنتز تستوسترون می‌باشند (۷). مطالعات نشان داده‌اند که ROS حاصل از آرسنیک با کاهش بیان ژن‌های StAR و Cyp11a1 که به ترتیب در انتقال کلسترول به داخل میتوکندری و شکستن زنجیر جانبی کلسترول و تبدیل آن به پروگنولون نقش دارند، تولید تستوسترون را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۲۵). علاوه بر این مهار آنزیم‌های آندروژنی بیضه در موش‌های تیمار شده با آرسنیک ممکن است در نتیجه ی سطوح

نتایج به‌دست‌آمده از مطالعه حاضر نشان می‌دهد که سدیم آرسنیت باعث کاهش معنی‌دار در غلظت هورمون‌های FSH ($p=0/02$)، LH ($p=0/04$) و تستوسترون ($p=0/04$) نسبت به گروه کنترل می‌شود. مصرف عصاره آبی چای سفید همراه با سدیم آرسنیت منجر به افزایش معنی‌دار در غلظت هورمون‌های FSH ($p=0/03$)، LH ($p=0/04$) و تستوسترون ($p=0/04$) نسبت به گروه دریافت‌کننده سدیم آرسنیت گردید. میانگین و انحراف معیار مقادیر سرمی هورمون‌های LH, FSH و تستوسترون در گروه‌های مورد بررسی در جدول (۱) نشان داده شده است.

جدول ۱. مقایسه تأثیر عصاره آبی چای سفید بر مقادیر سرمی هورمون‌های LH, FSH و تستوسترون در گروه‌های مورد مطالعه

گروه‌ها	FSH (IU/L)	LH (IU/L)	تستوسترون (mIU/ml)
شاهد	$0/08 \pm 0/01^b$	$0/80 \pm 0/03^b$	$4/50 \pm 0/13^b$
سدیم آرسنیت	$0/05 \pm 0/01^c$	$0/71 \pm 0/05^d$	$4/13 \pm 0/14^c$
عصاره چای سفید	$0/09 \pm 0/01^a$	$0/88 \pm 0/01^a$	$4/82 \pm 0/17^a$
عصاره چای سفید همراه سدیم آرسنیت	$0/07 \pm 0/01^b$	$0/76 \pm 0/02^c$	$4/63 \pm 0/05^b$

Follicle Stimulating Hormone :FSH
Luteinizing Hormone :LH

(a,b,c,d): حروف غیرمشابه در هر ستون نشانگر اختلاف معنی‌دار مابین گروه‌های مورد مطالعه است ($p < 0/05$). مقادیر به‌صورت میانگین \pm انحراف معیار مشخص شده است.

بحث و نتیجه‌گیری

پلاسمایی پایین LH باشد که تنظیم‌کننده‌ی نخست فعالیت آنزیم‌های آندروژنز بیضه است. ممکن است سطوح پایین گنادوتروپین‌ها حاصل ترشح مقادیر زیاد کورتیکوئیدها از غده‌ی ادرنال باشد، سطح بالایی از کورتیکواسترون در حیوانات تیمار شده با آرسنیک مشاهده شده است. علاوه بر این آرسنیک مسیر سیگنال‌های استرس محور آدرنوکورتیکال-هیپوفیزال را فعال کرده و ترشح ACTH را از هیپوفیز افزایش می‌دهد. افزایش سطوح پلاسمایی کورتیکواسترون ممکن است حساسیت سلول‌های گنادوتروپ را نسبت به هورمون‌های GnRH سرکوب و در نتیجه ترشح هورمون‌های FSH و LH را مهار کند، از طرفی سطوح بالای ACTH و کورتیکواسترون مستقیماً تولید و ترشح تستوسترون را به‌وسیله‌ی کاهش گیرنده‌های LH در سطح بیضه مهار می‌کند بنابراین در نتیجه‌ی کاهش روند اسپرماتوژنز تعداد اسپرم‌ها نیز کاهش می‌یابد. در مطالعات دیگر کاهش وابسته به

نتایج مطالعه حاضر حاکی از افزایش معنی‌دار سطح هورمون‌های گنادوتروپین (FSH و LH) و تستوسترون در گروه آزمایشی دریافت‌کننده ترکیب عصاره آبی چای سفید و آرسنیک نسبت به گروه تیمار شده با آرسنیک که در آن غلظت گنادوتروپین‌ها و تستوسترون به‌طور معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل کاهش یافته، است که این نتایج در توافق با مطالعات قبلی است (۹-۲۳، ۲۲).

مکانیسم‌های مختلفی برای کاهش غلظت گنادوتروپین‌ها و تستوسترون در اثر آرسنیک وجود دارد: 3β -HSD ($\Delta^5, 3\beta$) و 17 beta-HSD ($\Delta^5, 3\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase) نقش نظارتی کلیدی به‌عنوان آنزیم‌های نخست در آندروژنز بیضه دارند (۲۴)، طبق مطالعات انجام شده کاهش این آنزیم‌ها در اثر تیمار با سدیم

گنادوتروپین ناشی از خواص فیتواستروژنی فلاونوئیدهای موجود در عصاره برگ این گیاه است. از طرفی نتایج حاصل از یک مطالعه نشان داد که تجویز آپی ژنین که یکی از ترکیبات اصلی موجود در عصاره برگ جعفری است در موش‌های دیابتی باعث افزایش سطح هورمون‌های تیروئیدی می‌شود؛ بنابراین یکی از راه‌های احتمالی افزایش هورمون‌های محور مورد مطالعه به‌وسیله عصاره جعفری از طریق افزایش هورمون‌های تیروئیدی است.

تجویز فیتواستروژن‌های آپی ژنین، کوئرستین و لوتئولین که از مهم‌ترین فلاونوئیدهای موجود در عصاره برگ جعفری هستند، به موش‌های هیپرگلیسمیک باعث کاهش سریع گلوکز خون و افزایش سنتز گلیکوژن می‌شود و چون این اثر به‌وسیله مهارکننده‌های انسولینی خنثی می‌گردد، این مطالعه نشان می‌دهد که آپی ژنین با افزایش ترشح انسولین این اثر خود را اعمال می‌نماید، از طرف دیگر آپی ژنین و کوئرستین با جلوگیری از گلیکوزیلاسیون انسولین، آن را در فرم فعال باقی نگه می‌دارند از آنجاکه در یک مطالعه نشان داده شد که انسولین با فعال کردن مسیر سیگنالی MAPK Erk1/2 در نورون‌های هیپوتالاموسی میزان ترشح هورمون آزادکننده گنادوتروپین‌ها را افزایش می‌دهد، با توجه به مطالعات گذشته فلاونوئیدهای موجود در عصاره برگ جعفری از این طریق در سطح هیپوتالاموس در ترشح گنادوتروپین‌ها و در نتیجه افزایش ترشح هورمون‌های این محور تأثیر می‌گذارند. آپی ژنین و کوئرستین می‌توانند آنزیم آروماتاز را مهار کرده و از تبدیل تستوسترون به استروژن جلوگیری کنند. این مواد با اتصال رقابتی به آنزیم آروماتاز و کاهش بیان آن این عمل را انجام می‌دهند و در این بین آپی ژنین تأثیر چشم‌گیرتری دارد، به‌علاوه آپی ژنین افزایش بیان ژن سازنده پروتئین تنظیم‌کننده سریع استروئیدوژنی درون سلول‌های لایدیگ از طریق افزایش میزان (cAMP) از یک طرف و مسدود کردن پروتئین مهاری آن یعنی پروتئین DAX1 حساسیت سلول‌های لایدیگ را افزایش می‌دهد و میزان تولید هورمون‌های استروئیدی از جمله تستوسترون را بالا می‌برد (۲۶). با توجه به اینکه جای سفید منبع غنی از فلاونوئید است و اثرات حفاظتی آن بر استرس اکسیداتیو ناشی از آرسنیک در بافت کبد، و افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز (SOD)، گلوکاتانیون پراکسیداز (GPX) و کاتالاز (CAT) و ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی (TAC) و کاهش معنی‌دار در غلظت مالون دی

سدیم آرسنیت در گنادوتروپین‌های پلاسمایی را به سطوح پایین دوپامین و مقادیر بالای نورآدرنالین و HT5- در هیپوتالاموس و هیپوفیز نسبت داده‌اند چون کاتکول آمین‌ها تنظیم‌کننده‌ی مهم ترشح و سنتز گنادوتروپین‌ها هستند (۷).

به نظر می‌رسد افزایش سطح هورمون‌های گنادوتروپین ناشی از خواص فیتواستروژنی فلاونوئیدهای موجود در عصاره‌ی آبی جای سفید باشد.

استروژن عامل محرک پرولاکتین است و پرولاکتین دارای اثرات مستقیمی در ترشح گنادوتروپین‌ها در پاسخ به هورمون آزادکننده گنادوتروپین‌ها است. همچنین استروژن در خودمهار ی نورون‌های ترشح‌کننده گاما آمینوبوتیریک اسید در نواحی پره اپتیک بر روی هورمون لوتئینی مؤثر است. نورون‌های گاما آمینوبوتیریک اسید با فیدبک منفی باعث کاهش هورمون لوتئینی می‌گردند که در صورت مهار نورون‌های ترشح‌کننده گاما آمینوبوتیریک اسید، افزایش هورمون لوتئینی را می‌توان انتظار داشت. پس در حضور استروژن و مهار نورون‌های ترشح‌کننده گاما آمینوبوتیریک اسید هورمون لوتئینی افزایش می‌یابد (۲۶). همچنین مشخص شده است که بعضی از فیتواستروژن‌ها در غلظت کم با افزایش هورمون تری یدوتیرونین (T3) که باعث افزایش استروئیدوژنز در سلول‌های لیدیگ می‌گردد، قادرند میزان سنتز و ترشح هورمون تستوسترون را در این سلول‌ها افزایش دهند (۲۷). این در توافقی با مطالعات Rojdmak و همکاران (۲۸) است که نشان داد در بیماران مبتلا به هیپرتیروئیدیسم که میزان هورمون تری یدوتیرونین (T3) بالاست، میزان هورمون آزادکننده گنادوتروپین‌ها، LH،FSH و تستوسترون بالاتر از حد طبیعی است. فلاونوئیدها همچنین از طریق ممانعت از عملکرد آنزیم 5-آلفا ردوکتاز از تبدیل تستوسترون به دی هیدروتستوسترون ممانعت کرده و از این طریق میزان هورمون تستوسترون را افزایش می‌دهند (۲۹).

نتایج حاصل از مطالعه بسطام پور و همکاران حاکی از افزایش معنی‌دار سطح هورمون‌های گنادوتروپین LH و FSH در گروه‌های آزمایشی دریافت‌کننده مقادیر مختلف عصاره هیدروالکلی برگ جعفری نسبت به گروه کنترل و افزایش معنی‌دار هورمون تستوسترون در دوزهای حداقل و متوسط و کاهش معنی‌دار هورمون مذکور در دوز حداکثر عصاره هیدروالکلی برگ جعفری است. افزایش سطح هورمون‌های

آبی چای سفید به دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌تواند در بهبود عملکرد سیستم باروری مؤثر باشد. هرچند بررسی‌های بیشتر برای شناسایی مکانیسم عمل و ماده مؤثره و تأثیر دوزهای مختلف این عصاره، همراه با بررسی قابلیت باروری حیوانات مورد مطالعه و تغییرات بافتی توصیه می‌شود.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه خانم فیروزه صابری سیس برای اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته بیوشیمی از موسسه غیرانتفاعی ربع رشید تبریز است. بدین‌وسیله از مسئولین مربوطه تشکر به عمل می‌آید؛ همچنین از کمک‌های ارزشمند آقای محمدحسن رسولی فرد در این مطالعه صمیمانه سپاسگزاری می‌شود.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ گونه تعارض منافی را اعلام نکرده‌اند.

الدهید (MDA) (۳۰) و نیز اثر حفاظتی چای سفید بر استرس اکسیداتیو و مسمومیت سلولی ناشی از H_2O_2 در نورون‌ها در مطالعات دیگر به اثبات رسیده است (۳۱). به نظر می‌رسد این گیاه نیز از طریق مکانیسم‌های مشابه عصاره‌ی گیاه جعفری باعث افزایش غلظت گنادوتروپین‌ها و تستوسترون شده باشد که در این زمینه نیاز به تحقیق و مطالعه‌ی بیشتر است.

با نظر به اینکه LH مترشح از هیپوفیز با اثر بر روی سلول‌های بینابینی و ترشح تستوسترون و FSH با تأثیر بر روی سلول‌های سرتولی و ایجاد محیط مناسب جهت فرآیند اسپرماتوژنز سبب تبدیل موفق سلول‌های اسپرماتوگونی به اسپرم‌های بالغ می‌شوند و بر اساس نتایج این پژوهش که طی آن آرسنیک باعث کاهش هورمون‌های LH و FSH و متعاقباً کاهش قابل‌ملاحظه میزان تستوسترون شده، کاهش شدید اسپرماتوژنز و ناباروری ناشی از آب‌های آلوده به آرسنیک محتمل بوده و به نظر می‌رسد عصاره

References

1. Dua TK, Dewanjee S, Gangopadhyay M, Khanra R, Zia-Ul-Haq M, De Feo V. Ameliorative effect of water spinach, *Ipomea aquatica* (Convolvulaceae), against experimentally induced arsenic toxicity... *J Transl Med*. 2015 Mar 5;13(1):81...
2. Chen SJ, Zhou GB, Zhang XW, Mao JH, Thé Hd and Chen Z. From an old remedy to a magic bullet: molecular mechanisms underlying the therapeutic effects of arsenic in fighting leukemia. *Blood*. 2011 Jun 16; 117(24): 6425–6437.
3. Chung JY, Lim HJ, Kim YJ, Song KH, Kim BG, Hong YS. The separation of arsenic metabolites in urine by high performance liquid chromatography inductively coupled plasma-mass spectrometry. *Environ Health Toxicol*. 2014; 29
4. Jan AT, Azam M, Siddiqui K, Ali A, Choi I, Rizwanul Haq QM. Heavy Metals and Human Health: Mechanistic Insight into Toxicity and Counter Defense System of Antioxidants. *Int J Mol Sci*. 2015 Dec; 16(12): 29592–29630.
5. Tchounwou PB, Yedjou CG, Patlolla AK, Dwayne J Sutton DJ. Heavy Metals Toxicity and the Environment. *EXS*. 2012;101:133-164. doi: 10.1007/978-3-7643-8340-4_6.
6. Faita F, Cori L, Bianchi F, Andreassi MG. Arsenic-Induced Genotoxicity and Genetic Susceptibility to Arsenic-Related Pathologies. *Int J Environ Res Public Health*. 2013 April; 10(4): 1527–1546.
7. Jana K, Jna S, Samanta PK. Effects of chronic exposure to sodium arsenite on hypothalamo-pituitary-testicular activities in adult rats: possible an estrogenic mode of action. *Rpord Biol Endocrinol* 2006;4:9.. doi:10.1186/1477-7827-4-9.
8. Sarkar M, Chaudhuri GR, Chattopadhyay A, Biswas NM. Effect of sodium arsenite on spermatogenesis, plasma gonadotrophins and testosterone in rats. *Asian J Androl* 2003;1:27-31.
9. Soleimani Mehranjani M, Hemadi M. The effects of sodium arsenite on the testis structure and sex hormones in vasectomised rats. *Iranian J of Reproductive Medicine* 2007; 5(3):127-133.
10. Tremellen K. Oxidative stress and male infertility—a clinical perspective. *Human Reproduction Update* 2008;1430 :243-258.
11. Agrawal A, Makker K, Sharma R. Clinical relevance of oxidative stress in male factor infertility: an update. *AJRI* 2008; 59(1):2-11.
12. Sahreen S, Khan MR, Khan RA, Shah NA. Effect of *Carissa opaca* leaves extract on lipid peroxidation, antioxidant activity and reproductive hormones in male rats. *Lipids Health Dis*. 2013; 12: 90. doi: 10.1186/1476-511X-12-90
13. Arabi M, Mohammadpoor AA. Mercury and Nicotine-induced Oxidative Stress Changes in Bull Spermatozoa: Modulation by Manganese and Albumin. *J Reprod Infertil*. 2005;6(2):153-162.



14. Mirzaei A, Mohammadi J, Mirzaei N, Mirzaei M. The Antioxidant Capacities and Total Phenolic Contents of Some Medicinal Plants in Iran. *J Fasa Univ Med Sci*. 2011;1(3): 160-67. [Article in persian]
15. Lamberta JD, Elias RJ. The antioxidant and pro-oxidant activities of green tea polyphenols: a role in cancer prevention. *Arch Biochem Biophys*. 2010 Sep 1; 501(1): 65-72.
16. Zhao C, Li C, Liu S, Yang L. The Galloyl Catechins Contributing to Main Antioxidant Capacity of Tea Made from *Camellia sinensis* in China. *ScientificWorld Journal*... 2014(2014): 863984.
17. Roozbehani A, chemical compounds found in white tea and factors affecting the quality of this product *civilica*. BSCONF01- _492.
18. Yen GC, Chen HY, Peng HH. Antioxidant and pro-oxidant effects of various tea extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 1997; 45(1): 30-34.
19. Lin YL, Juan IM, Chen YL, Liang YC, Lin JK, Composition of polyphenols in fresh tea leaves and associations of their oxygen-radical-absorbing capacity with antiproliferative actions in fibroblast cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 1996; 44(6): 1387-1394.
20. Costa RM, Magalhães AS, Pereira JA, Andrade PB, Valentão P, et al. Evaluation of free radical scavenging and antihemolytic activities of quince (*Cydonia oblonga*) leaf: A comparative study with green tea (*Camellia sinensis*). *Food and Chemical Toxicology* 2009; 47(4): 860-865.
21. Nasiri rad R, Hadad khodaparast MH, Amirhossein elhami rad AH, Roofigari Hagigat SH. Study of total polyphenole content variance in Iranian green tea brew. 18 National Congress of Food Industry from 2008-15-16 oct. Mashhad. *civilica*. NCFOODI18_112.
22. Morakinyo AO, Achema PU, Adegoke OA. Effect of *Zingiber Officinale* (Ginger) on Sodium Arsenite-Induced Reproductive Toxicity in Male Rats. *African journal of Biomedical Research*. 2010;13(1):39-45.
23. Zubair M, Ahmad M, Ahmad N, Naveed MR, et al. Toxic Effects of Arsenic on Reproductive Functions of Male Rabbit and Their Amelioration with Vitamin E. *Global Veterinaria*. 2014; 12 (2): 213-218, 2014.
24. Jana K, Samanta PK. Evaluation of single intratesticular injection of calcium chloride for non-surgical sterilization in adult albino rats. *Contraception*. 2006, 73(3):289-300.
25. Wang JY, Lee YJ, Chou MC, Chang R, Chiu CH, Liang YJ, et al. Astaxanthin Protects Steroidogenesis from Hydrogen Peroxide-Induced Oxidative Stress in Mouse Leydig Cells. *Mar Drugs*. 2015 Mar; 13(3): 1375-1388.
26. Bastampoor F, Sadeghi H, Hosseini SE. The *Petroselinum crispum* L. hydroalcoholic extract effects on pituitary- gonad axis in adult Rats. *YUMSJ*. 2014;4(19). [Article in persian]
27. Gunnarsson D, Selstam G, Ridderstråle Y, Holm L, Ekstedt E, Madej A. Effects of dietary phytoestrogens on plasma testosterone and triiodothyronine (T3) levels in male goat kids. *Acta Veterinaria Scandinavica* 2009; 51(1): 1-6.
28. Rojdmarm S, Berg A, Kallner G. Hypothalamic-pituitary-testicular axis in patients with hyperthyroidism. *Hormone Research in Paediatrics* 1988; 29(5-6):185-90.
29. Bialymstoku W. Influence of nargenin on the activating of enzymes participating in steroidogenesis in male rats. *Ruczyniki Akademii Medycznej* 2004; 49(suppl 1): 37-46.
30. Rasoulifard, M.H, Zargari, F. The effects of aqueous extract of white tea on serum antioxidant enzymes in rats exposed to arsenic. *Vet Clin Pathol* 2015;9(34):153-161 [Article in persian].
31. Almajano MP, Vila I, Gines S. Neuroprotective Effects of White Tea Against Oxidative Stress-Induced Toxicity in Striatal Cells. *Neurotoxicity Research* 2011; 20(4): 372-378



Original Article

The Effect of Aqueous Extract of White Tea on Serum Levels of FSH, LH and Testosterone in Rats Exposed to Arsenic

Saberi Sis F¹, Zargari F^{2*}

1. Department of Biology, Rabe Rashidi Nonprofit University, Tabriz, Iran

2. Department of Medical Sciences, Marand Branch, Islamic Azad University, Marand, Iran

Received: 25 Dec 2016

Accepted: 26 Apr 2017

Abstract

Background & Objective: Sodium arsenite is an environmental pollutants capable of generating free radicals causing oxidative stress. Oxidative stress is regarded as a major factor in male infertility by reducing sex hormone levels. The aim of this study was to investigate the antioxidant effect of white tea on serum levels of FSH, LH and testosterone in male rats exposed to arsenic.

Materials & Methods: In this experimental study, 32 adult male rats were randomly divided into four groups with eight rats in each. The first group was healthy rats (control group) that received distilled water with standard diet via gavage daily. The second group of rats was treated with 100 ppm sodium arsenite in drinking water, The third group of rats was treated with white tea (1.5%) and the fourth group received aqueous extract of white tea (1.5%) with arsenic (100 ppm in drinking water) via gavage. At the end of a 30-day time period, after providing serum, the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), was used to analyze the hormones, and analysis of variance (ANOVA) and Duncan were applied to diagnose the differences.

Results: The results showed that arsenic caused a significant decrease in FSH, LH and testosterone compared to the control group ($p < 0.05$). Also, it was found that white tea extract with sodium arsenite significantly increased FSH, LH, and testosterone compared to the group that received arsenic ($p < 0.05$).

Conclusion: It seems that the aqueous extract of white tea may be helpful in reducing the toxic effects of sodium arsenite on sex hormones.

Keywords: Arsenic, White Tea, Testosterone, FSH, LH

*Corresponding author: Flor Zargari, Department of Medical Sciences, Marand Branch, Islamic Azad University, Marand, Iran.
Email: zargarifkb@gmail.com