



Original Article

بررسی اثر سیر خام و سیر پخته بر تغییرات هیستوپاتولوژیک و هیستومورفومتریک بیضه و اپی دیدیم و اثر بر روند اسپرماتوژنز در موش صحرایی

خدیجه بهرامی^{۱*}، امیر اشکان مهجور^۲، حبیب اله جوهری^۳، رضا بهرامی^۴، علیرضا بهرامی^۵

۱- گروه زیست شناسی علوم جانوری تکوین، عضو باشگاه پژوهشگران جوان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد فسا، فسا، ایران.

۲- گروه پاتولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون، کازرون، ایران.

۳- گروه فیزیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد داراب، داراب، ایران.

۴- گروه نوزادان، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران.

۵- گروه کشاورزی- باغبانی، مدیریت جهاد کشاورزی فسا، فسا، ایران.

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۲/۰۵/۰۹

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۲/۰۸/۲۳

چکیده

زمینه و هدف: اسپرماتوژنز روندی است که طی آن سلول‌های جنسی نر تولید می‌شوند و اختلال در هر یک از مراحل آن، می‌تواند باعث ناباروری شود. در پژوهش حاضر اثر تجویز خوراکی سیر به دو صورت خام و پخته بر بافت بیضه و اپیدیدیم و فرآیند اسپرماتوژنز مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: تعداد ۴۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار در ۵ گروه شامل ۴ گروه تجربی و یک گروه کنترل تقسیم شدند. گروه تجربی ۱ و ۲ به ترتیب روزانه غذای پلت محتوی ۵٪ و ۱۵٪ سیر خام، گروه تجربی ۳ و ۴ به ترتیب روزانه غذای پلت محتوی ۵٪ و ۱۵٪ سیر پخته به صورت خوراکی دریافت نمودند. گروه کنترل نیز روزانه به مدت یک ماه غذای پلت استاندارد دریافت نمودند. در پایان، بیضه‌ها و اپیدیدیم مورد مطالعه میکروسکوپی قرار گرفتند. سپس داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS و آزمون Duncan-test تجزیه و تحلیل شدند.

نتایج: این مطالعه نشان داد که میزان تکثیر سلول‌های جنسی در گروهی که غذای محتوی ۱۵٪ سیر پخته مصرف کردند، در مقایسه با گروه کنترل، افزایش معنی‌داری داشته است ($P \leq 0.05$) و این میزان در گروهی که از غذای محتوی ۱۵٪ و ۵٪ سیر خام تغذیه شدند، کاهش معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل نشان داد.

نتیجه‌گیری: تجویز سیر پخته ضمن تأثیرگذاری بر تکثیر سلول‌های جنسی در توبول بیضه و اپیدیدیم، روند اسپرماتوژنز را نسبت به گروه کنترل سرعت می‌بخشد. تجویز سیر خام دارای اثرات مخرب روی بافت بیضه و فرایند اسپرماتوژنز در گروه تجربی در مقایسه با گروه کنترل است.

کلمات کلیدی: اسپرماتوژنز، هیستومورفومتریک، بیضه، اپیدیدیم، سیر، موش صحرایی.

مقدمه

سیر دارای ترکیبات مختلف از جمله ویتامین‌های B2، B6، A، B1، آلیسین، آجئون و ترکیبات سولفور و آنتی اکسیدان‌ها می‌باشد. ترکیبات سولفوری سیر دلیل اصلی بوی تند آن است (۵).

آلیسین در ترکیب دارویی سیر نقش اساسی دارد. بررسی‌های اخیر نشان می‌دهد که سیر از حدود ۴۰۰ ترکیب ساخته شده که اغلب خواص دارویی سیر ناشی از تجزیه آلیسین است. تجزیه آلیسین سیر را به یک مجموعه دارویی کامل تبدیل می‌کند. تاکنون خواص ضدباکتریایی، ضدویروسی، ضدسرطانی، ضدانگلی و تأثیر بر کاهش فشار خون و کاهش قند خون در بیماران دیابتی از طرف مراکز علمی مورد تأیید قرار گرفته است (۱۴-۶).

تأثیرات فارماکولوژیکی سیر شامل نقش آنتی اکسیدانی و محافظتی می‌باشد. مصرف عصاره سیر در بیماران با کلسترول خون بالا موجب کاهش معنی‌دار کلسترول نهایی و تری گلیسریدها می‌شود. بیشترین

اسپرماتوژنز روندی است که در طی آن سلول‌های جنسی نر تولید می‌شوند و اختلال در هر یک از مراحل آن، می‌تواند باعث ناباروری شود. بر اساس آمارهای موجود، ۳۵٪ موارد ناباروری زوجین مربوط به مردان و ۲۵٪ از موارد ناباروری مربوط به هر دو زوج است. شایع‌ترین علت ناباروری مردان، عدم توانایی آنان در تولید تعداد کافی اسپرم‌های سالم و فعال است (۳-۱).

امروزه تحقیقات وسیعی در دنیا در زمینه استفاده از خواص گیاهان دارویی در درمان ناتوانی جنسی انجام گرفته است. سیر با نام علمی Allium Sativum از تیره سوسنیان است که با پیاز هم‌خانواده است (۴) و یکی از گیاهانی است که دارای تاریخچه استفاده طولانی در علم پزشکی است. این گیاه به طور گسترده در بیشتر مناطق ایران کشت می‌شود. استفاده از آن به عنوان یک گیاه دارویی و طعم دهنده غذا بسیار متداول است (۵).

* نویسنده مسئول: خدیجه بهرامی، گروه زیست شناسی علوم جانوری تکوین، عضو باشگاه پژوهشگران جوان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد فسا، فسا، ایران. تلفن: ۰۹۱۷۱۳۳۱۹۳۸

Email: khadijehbahrami87@yahoo.com

اسپرم در لومن و تعداد سلول‌های لایدیگ سرتولی در ۵ لومن مختلف به صورت تصادفی در گروه‌های مختلف اندازه‌گیری شد. میانگین تعداد سلول‌های جنسی حاصل از شمارش میدان‌های تصادفی مربوط به هر نمونه نیز تعیین گردید.

روش شمارش اسپرم: بیضه را درون سرم شستشو داده تا عاری از خون گردد. سپس آن را درون پتری دیش آزمایشگاهی حاوی cc2 محلول سدیم کلراید ۹٪ قرار داده و توسط قیچی به قطعات بسیار کوچک خرد گردید. cc1 محلول خرد شده را به یک لوله فالكون ۱۰ میلی لیتری اضافه کرده و روی آن cc3 محلول سدیم کلراید ۹٪ اضافه گردید. برای شمارش تعداد اسپرم از لام نئوبار استفاده شد؛ بدین منظور یک قطره از نمونه رقیق شده را روی لام قرار داده، بعد از قرار دادن لامل روی آن توسط میکروسکوپ دوربین دار و کامپیوتر تصویر گرفته شد و تعداد اسپرم‌های موجود در هر تصویر به‌طور دقیق شمارش شده و میانگین اعداد حاصل از شمارش اسپرم در خانه‌های مذکور محاسبه شد.

برای مطالعه هیستومورفولوژیکی بافت اپیدیدیم با استفاده از لام‌های مقاطع بافتی و میکروسکوپ نوری مدل نیکون مجهز به دوربین و نرم افزار اندازه‌گیری، از هر لام، ۵ توبول به طور تصادفی انتخاب شد و قطر داخلی، خارجی و ضخامت توبول اپیدیدیم با خط‌کش مدرج اندازه‌گیری شد. سپس تمامی داده‌ها تبدیل به میکرومتر شده و میانگین گرفته شد و نتایج آماری به‌دست آمده مورد بررسی قرار گرفت. کلیه آنالیزهای آماری این مطالعه با استفاده از نرم SPSS انجام شد. جهت تجزیه و تحلیل آماری در

مورد اطلاعات کمی روش آماری آنوا (ANOVA) استفاده گردید و نتایج آزمایش‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار گزارش شد. معیار استنتاج آماری $P \leq 0.05$ در نظر گرفته شد.

نتایج

با توجه به نتایج جدول ۱، در این مطالعه میانگین تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی موش‌هایی که رژیم غذایی آنان سیر بود افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل نشان دادند. میانگین تعداد سلول‌های اسپرماتوسیت گروه تجربی ۱ و ۲ کاهش معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل نشان داد. گروه تجربی ۳ و ۴ افزایش معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل نشان دادند. میانگین تعداد سلول‌های اسپرماتید در گروه تجربی ۱، ۲ و ۳ کاهش معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل نشان داد. گروه تجربی ۴، افزایش معنی‌داری را نشان داد. میانگین تعداد سلول‌های اسپرم در گروه تجربی ۱ و ۲ کاهش معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل در گروه تجربی ۳ اختلاف معنی‌داری با گروه کنترل نشان نداد و گروه تجربی ۴ افزایش معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل نشان داده است. میانگین تعداد سلول‌های سرتولی در گروه تجربی ۲ اختلاف معنی‌داری با گروه کنترل نشان نداد در حالی که سایر گروه‌ها کاهش معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل نشان دادند. میانگین تعداد سلول‌های لایدیگ گروه تجربی ۱ و ۲ کاهش معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل نشان داد. گروه تجربی ۳ و ۴ اختلاف معنی‌داری با گروه کنترل نشان نداد.

هم‌چنین طبق جدول ۲، در این مطالعه موش‌هایی که رژیم غذایی آنان حاوی سیر بود، کاهش معنی‌داری در وزن بدن در مقایسه با گروه کنترل نشان دادند، به ویژه گروه تجربی ۲ که بیشترین کاهش وزن بدن

تأثیر درمانی سیر، در روغن‌های مخصوص آن می‌باشد که محتوی ترکیبات سولفوری است. تیوسولفات‌ها و دیگر متابولیت‌های ثانویه سیر شامل استروئیدها موجب تأثیرات درمانی دیگر سیر می‌باشند (۱۵).

بیشتر مطالعات صورت گرفته بر روی عصاره سیر بوده و کمتر از پودر سیر و نحوه مصرف آن به شکل خام و پخته و تأثیر آن بر سیستم تولید مثلی استفاده شده است. با توجه به این که اسپرماتوژنز فرآیندی ضروری در ایجاد توان باروری مردان است؛ لذا هدف از مطالعه حاضر مقایسه‌ی اثر سیر خام و سیر پخته بر تغییرات هیستوپاتولوژیک و هیستومورفومتریک بیضه و اپیدیدیم و روند اسپرماتوژنز در موش صحرایی نر نژاد ویستار می‌باشد.

مواد و روش‌ها

جهت این تحقیق، ۴۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با ۸ هفته سن و وزن طبیعی بین 10 ± 220 g از مرکز انستیتو پاستور تهران خریداری شد و بر اساس شرایط نگهداری حیوانات آزمایشگاهی مطابق با راهنمای انستیتوی ملی سلامت در قفس‌هایی از جنس پلی‌کربنات پوشیده شده از خاک اره در خانه حیوانات دانشگاه آزاداسلامی واحد جهرم مورد مراقبت قرار گرفتند. حیوانات به طور تصادفی به ۵ گروه (۴ گروه تجربی و ۱ گروه کنترل) تقسیم شده در گروه تجربی ۱ و ۲ به ترتیب غذای پلت حاوی ۵٪ و ۱۵٪ سیر خام و گروه تجربی ۳ و ۴ به ترتیب غذای پلت حاوی ۵٪ و ۱۵٪ سیر پخته و گروه کنترل غذای پلت استاندارد به مدت ۳۰ روز دریافت نمودند.

مقدار سیر مورد نیاز برای انجام آزمایش از همدان خریداری، پس از حبه حبه کردن به دو قسمت مساوی تقسیم شد. جهت تهیه پودر سیر خام، به منظور خشک کردن سیرها، قسمت اول سیر در آون با دمای ۶۰ درجه سلیسیوس به مدت ۲ روز قرار داده شد و سپس سیر خشک شده آسیاب گردید و پودر سیر تهیه شد. با توجه به این که موش‌ها به طور طبیعی تمایلی به خوردن سیر ندارند، پودر سیر با مقدار مشخص از پودر غذای پلت شده مخلوط گردید و به صورت خمیر در آورده شد. مخلوط حاصل به شکل غذای پلت قالب‌گیری شد. برای تهیه پودر سیر پخته، قسمت دوم سیر آماده شده به مدت ۳۰ دقیقه بخار پز شد. سایر مراحل آماده سازی همانند آنچه در مورد سیر خام ذکر شد، انجام گرفت.

با توجه به این که میانگین غذای روزانه هر موش ۵۰-۳۰ گرم است، پلت‌ها تهیه شد. به عنوان مثال پلت حاوی ۱۵٪ سیر شامل gr5.4 پودر سیر به علاوه gr5.25 غذای استاندارد با ml5 آب می‌باشد. خمیر حاصل، مطابق دستورالعمل قالب‌گیری شد (۱۶).

روزانه وزن موش‌ها اندازه‌گیری شد و در پایان دوره، موش‌ها با کلروفرم بیهوش شدند. بیضه و اپیدیدیم از محوطه شکمی خارج گردید و در سرم فیزیولوژی شستشو داده و بعد از توزین، نمونه‌ها در داخل فیکساتور بوئن قرار گرفته و پس از ۴۸ ساعت مراحل تهیه بافت انجام و برای تهیه مقاطع میکروسکوپی با ضخامت ۵ میکرون از میکروتوم دوار استفاده و لام‌ها به روش همتاکسیلین و ائوزین، رنگ آمیزی شده و برای مطالعه با میکروسکوپ نوری آماده شدند (۱۷).

در مطالعه هیستوپاتولوژیک پارامترهای مورد مطالعه، مقاطع بافتی، شمارش سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت، اسپرماتید، تراکم

جدول ۱ - مقایسه تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت، اسپرماتید، اسپرم، سرتولی، لایدیگ بافت بیضه در گروه‌های تجربی و کنترل به دنبال تجویز سیر خام و سیر پخته

گروه	تعداد	اسپرماتوگونی	اسپرماتوسیت	اسپرماتید	اسپرم	سرتولی	لایدیگ
کنترل	n=8	۵۴/۲۵±۰/۲۱۱	۱۴۰/۷۵±۰/۲۸۰	۱۸۷/۲۵±۰/۴۱	۱۵۸/۲۵±۰/۰۲۱	۱۸/۵±۰/۱۰	۸/۷۵±۰/۱۴
تجربی ۱	n=8	۵۵/۲۵±۰/۳۸۱	۱۲۰±۰/۳۱	۱۲۸/۵±۰/۲۹	۶۷/۱۳±۰/۰۳۴	۱۳±۰/۱۲	۷/۷۵±۰/۲۲ ***
تجربی ۲	n=8	۵۷/۷۵±۰/۳۲۴	۹۸/۲۵±۰/۳۱۴	۹۵±۰/۱۸	۸۲/۳۷±۰/۰۳۱	۱۷/۸۷±۰/۲۰	۵/۹±۰/۳۱ ***
تجربی ۳	n=8	۶۱/۵±۰/۱۱۱	۱۴۸/۷۵±۰/۲۸۴	۱۴۲/۷۵±۰/۳۷	۱۵۱/۱۳±۰/۰۴۰	۱۴/۶۳±۰/۲۲	۹/۲۵±۰/۲۰ **
تجربی ۴	n=8	۶۱/۲۵±۰/۱۸۳	۱۵۱/۵±۰/۳۲۲	۲۱۶/۸±۰/۵۱	۱۹۸/۳۷±۰/۰۲۸	۱۴±۰/۱۵	۹/۲۵±۰/۱۲ **

داده‌ها به صورت میانگین ± خطای معیار میانگین ارائه شده است. راهنما: گروه تجربی ۱: سیر خام ۵٪، گروه تجربی ۲: سیر خام ۱۵٪ - گروه تجربی ۳: سیر پخته علامت * اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل و ** اختلاف معنی‌دار گروه‌های تجربی با یکدیگر (P≤0.05, t test) - ۵٪، گروه تجربی ۴: سیر پخته ۱۵٪

را نشان داد. میانگین وزن بیضه در گروه تجربی ۴ افزایش معنی‌داری با گروه کنترل نشان داد و گروه تجربی ۱، ۲ و ۳ کاهش معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل نشان داده است.

جدول ۳ نشان می‌دهد که میانگین قطر خارجی اپیدیدیم در گروه تجربی ۲ و ۴، افزایش معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل و سایر گروه‌ها نشان داده است. میانگین قطر داخلی اپیدیدیم گروه تجربی ۲ و ۳ و ۴، افزایش معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل و سایر گروه‌ها نشان داده است. میانگین ضخامت اپیدیدیم نشان می‌دهد که گروه تجربی ۲، افزایش معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل و سایر گروه‌ها دارد و گروه تجربی ۴ از کاهش معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل برخوردار است.

نتایج هیستوپاتولوژیکی بافت بیضه در گروه‌های تیمار شده با سیر خام، ایجاد فضا در بافت بینابینی و کاهش میزان سلول‌های لایدیگ و آپوپتوزیس، ایجاد حفرات و بی‌نظمی و کاهش اسپرماتوزن در توبول بیضه را نشان داد. در گروه‌های تیمار شده با سیر پخته، ضایعات هیستوپاتولوژیکی کمتر و تعداد اسپرم بیشتر مشاهده گردید (تصویر ۱).

نتایج هیستوپاتولوژیکی بافت اپیدیدیم گروه‌های تیمار شده با

جدول ۲ - مقایسه میانگین وزن بدن و وزن بیضه در گروه‌های مختلف تجربی در مقایسه با گروه کنترل

اسپرماتید	اسپرم	سرتولی	لایدیگ
کنترل	n=8	۲۶۶/۷۳±۰/۱۷۴	۱/۴۳±۰/۰۷۷
تجربی ۱	n=8	۲۵۶/۱۲۱±۰/۱۸۲*	۱/۴۱±۰/۰۷۲*
تجربی ۲	n=8	۲۲۵/۸۵±۰/۲۷۰*	۱/۴۰±۰/۰۲۰***
تجربی ۳	n=8	۲۴۷/۰۱۸±۰/۲۷۱*	۱/۳۶±۰/۰۳۰***
تجربی ۴	n=8	۲۴۱/۳۵±۰/۱۷۸*	۱/۴۷±۰/۰۴۴***

داده‌ها به صورت میانگین ± خطای معیار میانگین ارائه شده است. راهنما: گروه تجربی ۱: سیر خام ۵٪، گروه تجربی ۲: سیر خام ۱۵٪ - گروه تجربی ۳: سیر پخته ۵٪، گروه تجربی ۴: سیر پخته ۱۵٪ - (P≤0.05, t test). علامت * اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل و ** اختلاف معنی‌دار گروه‌های تجربی با یکدیگر

جدول ۳ - مقایسه میانگین قطر و ضخامت اپیدیدیم در گروه‌های مختلف تجربی در مقایسه با گروه کنترل

گروه	تعداد	قطر خارجی اپیدیدیم (میکرومتر) mean±SEM	قطر داخلی اپیدیدیم (میکرومتر) mean±SEM	ضخامت اپیدیدیم (میکرومتر) mean±SEM
کنترل	n=8	290±0.011	237.66±0.014	26±0.14
تجربی ۱	n=8	*،**281.62±0.012	*،***231.75±0.016	**24.87±0.22
تجربی ۲	n=8	*،***313.5±0.017	*،***260±0.024	**،***33.25±0.37
تجربی ۳	n=8	**294.87±0.020	*،***241.5±0.025	**26.62±0.41
تجربی ۴	n=8	*،*312±0.028	*،***267.12±0.012	**،*23±0.11

داده‌ها به صورت میانگین ± خطای معیار میانگین ارائه شده است. راهنما: گروه تجربی ۱: سیر خام ۵٪، گروه تجربی ۲: سیر خام ۱۵٪ - گروه تجربی ۳: سیر پخته ۵٪، گروه تجربی ۴: سیر پخته ۱۵٪ (P≤0.05, t test)

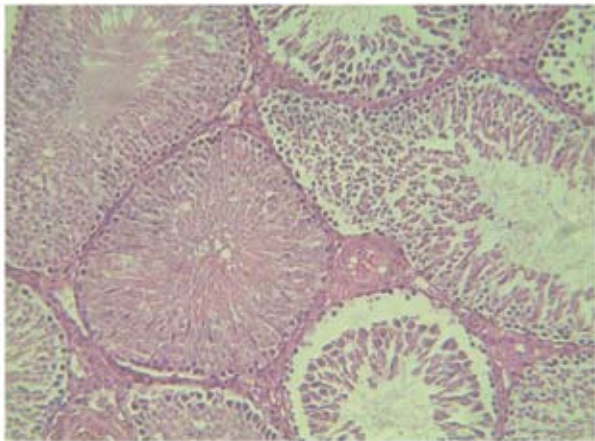
علامت * اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل و ** اختلاف معنی‌دار گروه‌های تجربی با یکدیگر

طب سنتی، این احتمال می‌رود که استفاده از گیاهان دارویی جهت افزایش باروری می‌تواند تأثیر مثبت داشته باشد (۱۸).

تحقیقات نشان می‌دهد که استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها و ویتامین‌های C، E و B از طریق کاهش آسیب‌های ایجاد شده توسط رادیکال‌های آزاد، تقویت و استحکام سد خونی بیضه‌ای و حفاظت و ترمیم DNA اسپرم‌ها می‌تواند در درمان ناباروری مردان مؤثر واقع گردد (۲۰، ۱۹، ۲۱).

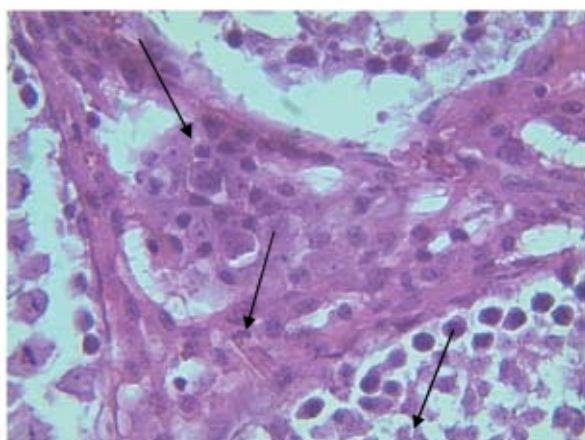
ویتامین‌های C، E، B در کاهش اثرات سمی کادمیم بر روی بافت بیضه مفید بوده و بر روند اسپرماتوژنز مفید واقع شده‌اند (۳۴).

ویتامین‌های C و B همراه با روی و اسید فولیک با مکانیسم‌های کاهش در گونه‌های فعال شده اکسیژن سبب بهبود کیفیت منی و کاهش آپوپتوز اسپرماتوزوها خواهد شد (۲۱، ۱۸).

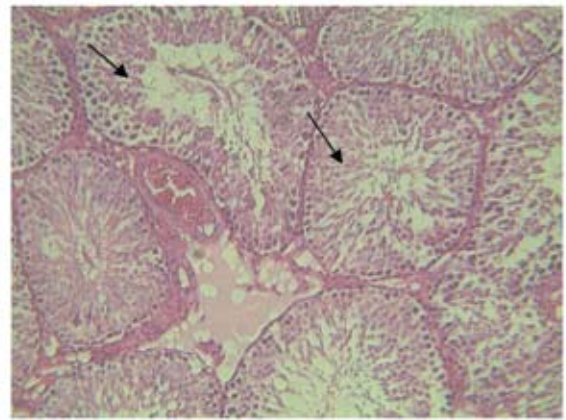


تصویر ۳- مقطع هیستوپاتولوژیک لوله‌های اسپرم ساز بافت بیضه در گروه تجربی ۲ با بزرگنمایی $100\times$ رنگ آمیزی H&E تعداد سلول‌های جنسی کاهش یافته است.

سیر حاوی ترکیبات متنوعی از جمله ترکیبات آلی گوگرددار، آمینواسیدها، ویتامین‌ها و مواد معدنی است. برخی از ترکیبات آن

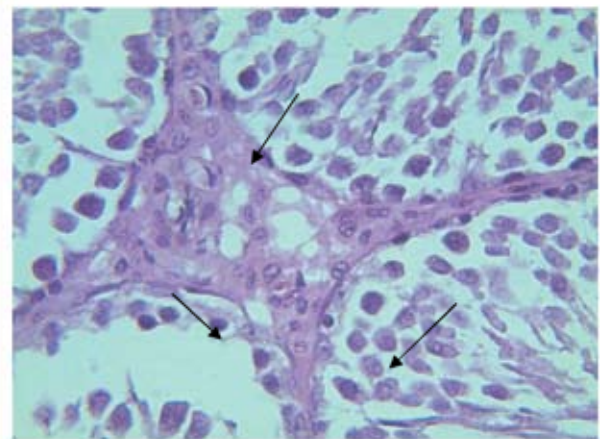


تصویر ۴- مقطع هیستوپاتولوژیک سلول‌های لایدیگ بافت بیضه در گروه تجربی ۲ با بزرگنمایی $400\times$ رنگ آمیزی H&E کاهش میزان سلول‌های لایدیگ و آپوپتوزیس، ایجاد حفرات و بی‌نظمی در توبول بیضه را نشان می‌دهد.



تصویر ۱- مقطع هیستوپاتولوژیک لوله‌های اسپرم‌ساز بافت بیضه در موش گروه تجربی ۱ با بزرگنمایی $100\times$ رنگ آمیزی H&E. کاهش سلول‌های جنسی و ایجاد کلیرانس سلولی در سلول‌های اسپرماتوسیت

سیر پخته، عدم تحریک و التهاب را نشان داد. همچنین هسته‌های اپیتلیوم اپیدیدیم به صورت کشیده در آمده که نشان دهنده افزایش حجم اسپرم و قطر توبول در این گروه می‌باشد. در گروه‌های تیمار شده با سیر خام، تعداد توبول‌های خالی افزایش یافته و جدار اپیتلیوم اپیدیدیم ضخیم‌تر شده است (تصویر ۲).

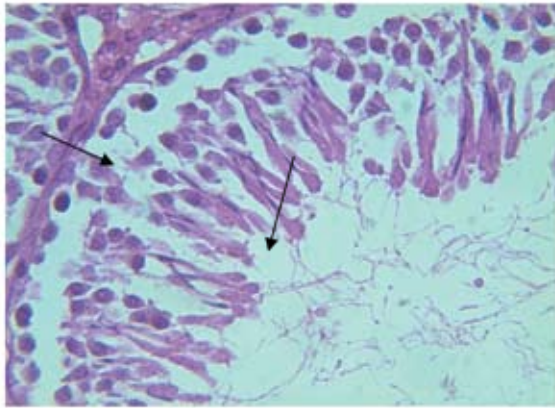


تصویر ۲- مقطع هیستوپاتولوژیک سلول‌های لایدیگ بافت بیضه در گروه تجربی ۱ با بزرگنمایی $400\times$ رنگ آمیزی H&E ایجاد فضا در بافت بینابینی، کاهش تعداد سلول‌های لایدیگ و آپوپتوزی و بی‌نظمی سلولی

بحث و نتیجه‌گیری

در این مطالعه، از روش‌های مرفولوژیک و هیستوپاتولوژیک استفاده شده است. بر اساس برش‌های بافتی به دست آمده از بیضه و اپیدیدیم در گروه‌های تجربی و کنترل شمارش رده‌های مختلف سلول‌های جنسی، سعی گردید تا اثرات احتمالی سیر خام و سیر پخته بر فرآیند اسپرماتوژنز مورد ارزیابی قرار گیرد. بر طبق کتب

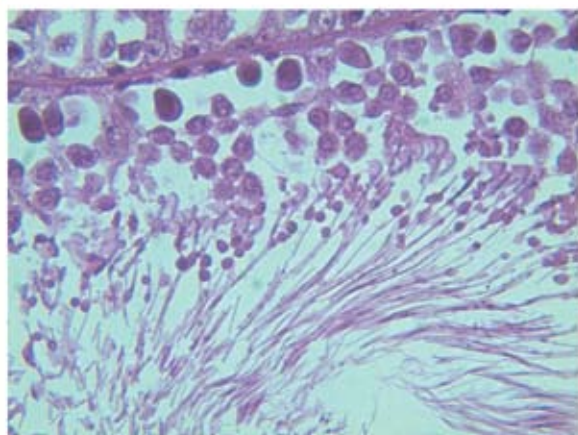
میزان لیپیدهای پلازما جلوگیری کند و باعث افزایش اثرات آنتی اکسیدانی در پلاسمای موش شود (۲۸).



تصویر ۶- مقطع هیستوپاتولوژیک سلول‌های سرتولی بافت بیضه در گروه تجربی ۴ با بزرگنمایی $\times 400$. رنگ آمیزی H&E. هسته سلول‌های سرتولی بیضی کم رنگ بوده و نزدیک به غشاء پایه لوله منی ساز قرار دارد.

بر اساس نتایج جدول ۱، از آن جا که آنتی اکسیدان‌ها می‌توانند اثر رادیکال‌های آزاد اکسیژن را خنثی کنند و باعث افزایش اسپرم شوند، ممکن است یکی از عواملی باشند که بر گروه تیمار شده با سیر پخته مؤثر بوده است. سولفور موجود در سیر تغییرات هیستولوژیکی را در بیضه و اپیدیدم و سلول‌های لایدیگ ایجاد می‌کند (۲۹).

بر اساس نتایج جدول ۳، قطر داخلی توبول اپی‌دیدیم موش‌هایی که رژیم غذایی آنان حاوی سیر پخته ۱۵٪ بود، افزایش بیشتری یافته است. یانگ در سال ۲۰۰۶ گزارش کرد که تجویز سولفور، تغییرات هیستولوژیکی را در بیضه و اپیدیدیم و سلول‌های لایدیگ



تصویر ۷- مقطع هیستوپاتولوژیک سلول‌های اسپرماتید بافت بیضه در گروه تجربی ۴ با بزرگنمایی $\times 400$. رنگ آمیزی H&E. جمعیت سلول‌های جنسی بالغ در حاشیه داخلی آن به خوبی مشهود است.

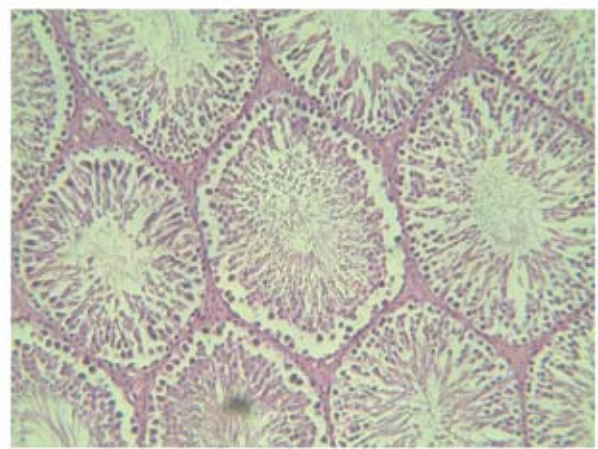
از جمله آلیسین، آجوتن، S- آلیل سیستین و دی آلی دی سولفید مسئول خواص درمانی سیر می‌باشند (۵).

با توجه به این که ارگانوسولفورهای موجود در سیر پخته قادر به کاهش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن هستند، از روند تولید اسپرم و سلامت آن‌ها در برابر استرس‌های اکسیداتیو محافظت می‌کنند. نتایج تحقیقات ما نشان داده است که مصرف سیر پخته می‌تواند بر روی پارامترهای سلامتی اسپرم مؤثر باشد. کاسویا و همکاران نشان دادند که سیر پخته بر نارسایی‌های جنسی و عدم تحرک اسپرم اثر مثبت داشته ولی سیر خام اثرات کمتری دارد (۲۳).

سیر کهنه و سیر پخته از آنجایی که در روند اسپرماتوژنز اکسیژن و مواد مغذی نقش مهمی دارند، اثر مثبتی را بر گردش خون بیضه اعمال می‌کنند و به نظر می‌رسد اثر مثبت سیر کهنه روی بیضه به علت افزایش گردش خون است (۲۴).

اومین و همکاران نشان دادند که آلیسین موجود در سیر خام باعث فعالیت کاسپازها و در نتیجه مهار سلول‌های سرطانی می‌شود (۲۵). حمامی و همکاران در تحقیقی اثرات مهاری سیر خام بر دستگاه تولید مثلی را بررسی کردند و بیان کردند که خوردن سیر باعث اختلال در عملکرد دستگاه تولید مثل موش نر و روند اسپرماتوژنز و کاهش وزن غدد ضمیمه می‌شود (۱۶).

براساس مطالعات انجام شده، روند پیچیده اسپرماتوژنز و گذر از



تصویر ۵- مقطع هیستوپاتولوژیک لوله‌های اسپرم‌ساز بافت بیضه در گروه تجربی ۳ با بزرگنمایی $\times 100$. رنگ آمیزی H&E. ساختار سلول‌ها شکل منظم‌تری به خود گرفته و تعداد سلول‌های جنسی افزایش یافته است.

سلول‌های ژرمینال تا رسیدن به مرحله بلوغ سلول‌های جنسی در گرو مصون ماندن از ضایعات پاتولوژیکی است که این پدیده را مورد تهدید قرار می‌دهند (۲۶).

زیاد شدن رادیکال‌های آزاد بر تکثیر، فعالیت و باروری اسپرم‌ها اثرات نامطلوب دارد و چنانچه سطح این رادیکال‌ها به طور مرتب تعدیل نشود، عملکرد طبیعی سلول‌ها را مختل می‌نماید (۲۲، ۲۷). گورین اشتاین و همکاران در سال ۲۰۱۰ گزارش کردند که حرارت دادن به سیر قبل از مصرف خوراکی آن می‌تواند از افزایش

آنتی اکسیدان‌ها از بدن در برابر آسیب‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد محافظت می‌کنند (۲۲،۲۳).

در اثر پختن و بخارپز کردن سیر ممکن است برخی از مواد مضر روند اسپرماتوژنز تجزیه شود و یا از بین برود و تبدیل به مواد مفیدتری شوند. برخی از پژوهشگران معتقدند که پختن سیر خواص آن را افزایش می‌دهد و از حساسیت بدن نسبت به آن می‌کاهد. اثرات منفی ایجاد شده در دستگاه تولید مثلی موش نر مثل کاهش وزن بیضه در برخی از گروه‌ها و کاهش وزن بدن موش‌ها مشابه نتایج مطالعه دکسی و جوشی (۱۹۸۲)، حمامی و ناهدی (۲۰۰۸) می‌باشد (۳۲،۱۶).

مطالعه گزانی و پاپتی (۱۹۹۸) نشان داد که حرارت می‌تواند روی فعالیت آنتی‌اکسیدانی سیر تاثیر به‌سزایی داشته باشد. همچنین مطالعه نر سینی و همکاران (۲۰۰۷) نشان داد که اثرات آنتی‌اکسیدانی سبزیجات باید بیشتر از یک روش پایه ریزی شود، هرچند این روش‌ها دارای اختلافات جزئی هستند (۳۴،۳۵).

فعالیت آنتی‌اکسیدانی سبزیجاتی که در آون پخته می‌شوند، نسبت به آن‌هایی که در آب پخته می‌شوند، عموماً بالاتر است. از سوی دیگر آلکسین موجود در سیر ترکیب‌های هیدروکسیل را بعد از فرآیندی همچون آون کردن حفظ می‌کند (۳۷،۳۶).

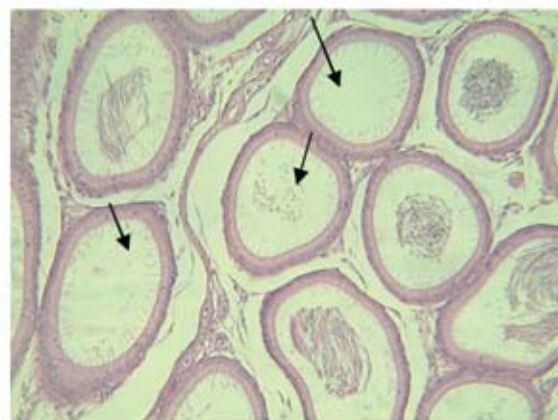
براساس نتایج جدول ۲، افزایش وزن بیضه در گروه تجربی ۴ به دلیل افزایش تعداد اسپرم در بافت بیضه می‌باشد. به طور کلی وزن و اندازه بیضه ارتباط مستقیمی با عملکرد آن دارند. بنابراین کاهش وزن باعث نقصان در عمل اسپرماتوژنز و تولید هورمون در بیضه می‌شود. این امر ناشی از تعداد اسپرم و اختلالات ایجاد شده در روند اسپرماتوژنز می‌باشد (۳۸،۳۹).

عدم توانایی در پروسه اسپرم‌سازی در موش‌های تیمار شده با سیر خام به دلیل تغییرات ایجاد شده در اتصال اسپرماتید و سلول سرتولی و اپیتلیوم ژرمینال به همراه آپوپتوز و فعالیت کاسپازها می‌باشد (۱۵).

پیشنهاد می‌شود از سیر به صورت پخته استفاده شود چون سیر خام به ویژه در مردان مبتلا به آزو اسپرمی، اسپرماتوژنز را مختل می‌کند (۱۶). در اثر پختن یا بخارپز کردن سیر ممکن است برخی از مواد مضر در روند اسپرماتوژنز تجزیه شود یا از بین رود و تبدیل به مواد مفیدتری شود. تمام انواع سیر (خام، پخته، روغن و غیره)، برای درمان بیماری‌ها مفید می‌باشند و همواره تاکید می‌شود حبه‌های سیر دانه‌های طلا هستند. لذا شایسته است توجه محققین و داروسازان به این امر بیش از پیش معطوف گردد که استفاده از گیاهان دارویی می‌تواند به همراه سایر درمان‌ها در افزایش باروری و ناتوانی‌های جنسی مؤثر باشد (۲،۲۰).

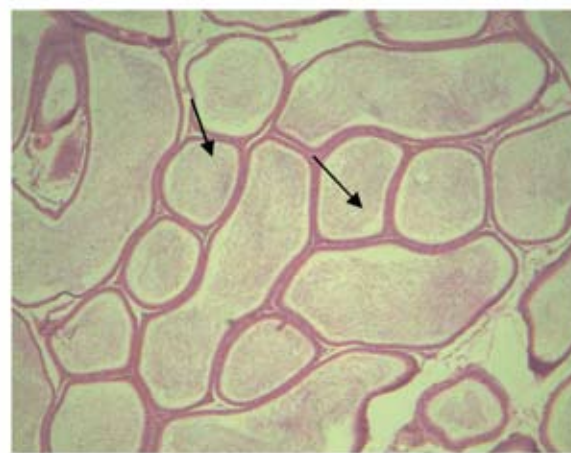
تشکر و قدردانی

این مقاله از پایان‌نامه استخراج گردیده است. بدین وسیله از ریاست محترم دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم و مسئولین محترم آزمایشگاه تکوین و معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی فسا و معاونت محترم پژوهش و فناوری دانشگاه آزاد اسلامی فسا تقدیر می‌گردد.



تصویر ۸- مقطع هیستوپاتولوژیک توبول اپی‌دیدیم در گروه دریافت کننده سیر خام با بزرگنمایی $400\times$. رنگ آمیزی H&E. تعداد کم اسپرم در توبول قابل مشاهده است.

ایجاد می‌کند و باعث افزایش سلول‌های اسپرم ساز می‌گردد (۲۹). مصرف سیر، خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی-عروقی را کاهش می‌دهد ولی مصرف طولانی مدت آن اثر منفی بالقوه بر فرآیند اسپرماتوژنز دارد و باعث سرگیجه، کاهش فشار خون، آلرژی و غیره می‌شود (۳۰).



تصویر ۹- مقطع هیستوپاتولوژیک توبول اپی‌دیدیم در گروه دریافت کننده سیر پخته با بزرگنمایی $400\times$. رنگ آمیزی H&E. تعداد زیاد اسپرم در توبول قابل مشاهده است.

خوردن سیر تازه خرد شده و بیان آنزیم‌های استروئیدوژنیک در سلول‌های لایدیدگ را مهار می‌کند و مرگ سلول‌های پایه را در سلول‌های اسپرماتوسیت و اسپرماتید در اثر فرآیند آپوپتوز القا می‌کند (۱۶). خوردن سیر خام بر دستگاه تولید مثلی موش نر و اسپرماتوژنز اثر مهاری دارد. دیگر داده‌ها اثرات سیر خام بر سلامتی و هاپیوگنادیسم بیضه‌ای را نشان می‌دهند که این اختلال ناشی از نوع مصرف سیر دارد (۳۳،۳۱-۳۳).

به طور کلی، حبه‌های سیر غنی از سولفور است و خواص دارویی فراوانی دارند. مطالعات نشان می‌دهد که سیر، به‌خصوص نوع کهنه و پخته آن، اثر آنتی اکسیدان قوی دارد و همان‌طور که می‌دانیم



References

1. Aitken RJ. The Amoroso lecture. The human spermatozoon-a cell in crisis? *J Reprod Fertil*. 1999;115(1):1-7.
2. Amin A, Hamza AA. Effects of Roselle and Gingeron cis-platin-induced reproductive toxicity in rats. *Asian J Androl*. 2006; 8(5): 607-12.
3. Imai H, Suzuki K, Ishizaka K, Ichinose S, Oshima H, Okayasu I, et al. Failure of the expression of phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase in the spermatozoa of human infertile males. *J Biol Reprod*. 2001;64(2):674-683.
4. Shaath NA, Flores FB, Egyptian onion oil. *Dev food sci*. 1998;40:443-530.
5. Zargari A. Medicinal Plant. 6th ed. Tehran: Tehran University publication;1997.P. 538
6. Brace A, Larry D. Cardiovascular benefits of garlic. *Journal of cardiovascular Nursing*. 2002; 16(4): 33-49.
7. Chu Q, Ling MT, Feng H. A novel anticancer effect of garlic derivatives inhibition of cancer cell invasion through restoration of E-cadherin expression. *Nutrition J*. 2006;27(11):316-9.
8. Daisy j, Judith S. Effect of garlic on Vancomycin resistant enterococci. *AACJ*. 1999; 43(12): 3045.
9. Garcia Gomez LJ, Sanchez- Muniz FJ. Review: Cardiovascular effect of garlic. *Journal of Nutrition*. 2000; 50(3):219-29.
10. Lun ZR, Burri C, Menzinger M, Kaminsky R. Antiparasitic activity of diallyl trisulfide on human and animal pathogenic protozoa. *Ann Soc Belg Med Trop*. 1994; 74(1): 51-9.
11. Johnson MG, Vaughn RH. Death of salmonella typhimurium and escherichia coli in the presence of freshly reconstituted dehydrated garlic and onion. *Appl Microbiology*. 1969;17(6) :903-905.
12. Serge A, Mirelman D. Antimicrobial properties of allicin from garlic. *Sci Dir*. 1999;1(2):125-129.
13. Urbina JA, Marchan E, Lazard K, Visbal G. Inhibition of phosphatidyl choline biosynthesis and cell proliferation in trypanosoma cruzi by ajoene, an antiplatelet compound isolated from garlic. *Biochem Pharmacol*. 1993;45(12):3281-7.
14. Weber ND, Hughes BG. In vitro virucidal effect of Allium Sativum (garlic) extracts and compounds. *Planta Med*. 1992; 58(5):417-23.
15. Blumenthal M, Goldberg A, Brinkman J. Herbal medicine: Expanded commission E monographs. Boston, Mass: Integrative Medicine communication; 2000.P.153-159.
16. Hammami I, Nahdi A, Mauduit C, Benahmed M, Amri M, Ben Amar A, et al. The inhibitory effects on adult male reproductive functions of crude garlic (Allium sativum) feeding. *Asian J Androl*. 2008; 10(4): 593-601.
17. Wannang NN, Jimam I NS, Gyang I SS, Bukar I BB, Gotom S. Effects of Cucumis metuliferus E Mey. Ex Naud (Cucurbitaceae) fruit extract on some male reproductive parameters in adult rats. *Afr J Pharm*. 2008; 2(3): 48-51.
18. Ebisch IM, Thomas CM, Peters WH, Braat DD, Steegers-Theunissen RP. The importance of folate, zinc and antioxidants in the pathogenesis and prevention of subfertility. *J Hum Reprod Update*. 2007; 13(2): 163-74.
19. Brooks DE. Activity of androgenic control of glycolytic enzymes in the epididymal spermatozoa of the rats. *J Biochem*. 1976;15(3):527-37.
20. World Health Organization. WHO Laboratory Manual for the Examination of Human Semen and Semen-Cervical Mucus interaction. 4th ed, Cambridge University Press, New York;1999.P. 103-107.
21. Pedraza H, Conrad M, Roethlein D, Kyriakopoulos A, Brielmeier M, Bornkamm GW, et al. Identification of a specific sperm nuclei selenoenzyme necessary for protamine thiol crosslinking during sperm. *J maturation FASEB*. 2001;15 (7):1236-1238.
22. Agarwal A, Prabakaran SA, Said TM. Prevention of oxidative stress injury to sperm. *J Androl*. 2005; 26(6):654-60.
23. Kasuga S, Uda N, Kyo E, Ushijima M, Morihara N, Itakura Y. Pharmacologic activities of aged garlic extract in comparison with other garlic preparations. *J Nutr*. 2001;131(3) :1080-1084.
24. Gupta YK, Dahiya AK, Gowsala PS. Protection against helicobacter pylori and other bacterial infections by garlic. *Journal of Nutrition*. 2001; 131(3):1106-1108.
25. Oommen S, Anto RJ, Srinivas G, Karunakaran D. Allicin (from garlic) induces caspase-mediated apoptosis in cancer cells. *Eur J Pharmacol*. 2004;485(1-3):97-103.
26. Agarwal A, Nallella KP, Allamaneni SS, Said TM. Role of antioxidants in treatment of male infertility:an overview of the literature. *Reprod Biomed Online*. 2004;8(6):616-27.
27. Kaur R, Kaur K. Effects of dietary selenium (SE) on morphology of testis and cauda epididymis in rats. *Indian J Physiol Pharmacol*. 2000;44(3):265-72.
28. Gorinstein S, Leontowicz H, Leontowicz M, Jesion I, Namiesnik J, Drzewiecki J, et al. Influence of two cultivars of persimmon on atherosclerosis indices in rats fed cholesterol-containing diets: Investigation in vitro and in vivo. *Nutrition*. 2011;27(7-8):838-46.
29. Yang Z , Kong LS, Guo Y, Yin JQ, Mills N. Histological changes of the testis and epididymis in adult rats as a result of Leydig cell destruction after ethane dimethane sulfonate treatment: a morphometric study. *Asian J Androl*. 2006;8(3):289-99.
30. Meistrich ML, Samuels RC. Reduction in sperm levels after testicular irradiation of the mouse: a comparison with man. *Radiat Res*. 1985;102(8):138-147.
31. Bekairi AM, Shah AH, Qureshi S. Effect of Allium sativum on epididymal spermatozoa, estradiol-treated mice and general toxicity. *J Ethnopharmacol*. 1990;29(2):117-25.
32. Dixit VP, Joshi S. Effects of chronic administration of garlic (Allium sativum Linn) on testicular function. *Indian J Exp Biol*. 1982;20(7):534-6.
33. Oi Y, Imafuku M, Shishido C, Kominato Y, Nishimura



- S, Iwai K. Garlic supplementation increases testicular testosterone and decreases plasma corticosterone in rats fed a high protein diet. *J Nutr.* 2001;131(8):2150-6.
34. Gazzani G, Papetti A, Massolini G, Daylia M. Ant-pro-oxidant activity of water soluble components of some common diet vegetables and the effect of thermal tereatment. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.*1998;46(10): 4118-22.
35. Nencini C, Cavallo F, Capasso A, Franchi GG, Giorgio G, Micheli L. Evaluation of antioxidative properties of Allium species growing wild in Italy. *Phytother Res.* 2007; 21(9): 874-8.
36. Jimenez -Monreal AM, Garcia-Diz L, Martinez-Tome M, Mariscal M, Murcia AM. Influence of cooking methods on antioxidant activity of vegetables. *J Food Sci.* 2009;74(3): 97-103.
37. Pedraza-Chaverri J, Medina-Campos ON, Avila-Lombardo R, Zuniga-Bustos A, Orozco-Ibara M. Reactive oxygen species scavenging capacity of different cooking garlic preparation. *Life Sci.* 2006; 78(7):761-70.
38. Ono K, Sofikitis N. A Novel Mechanism to Explain the Detrimental Effect of left cryptorchidism on Right Testicular functions. *Yanago Acta medical.* 1997;40:79-89.
39. Sadik NA. Effects of diallyl sulfide and zinc on testicular steroidogenesis in cadmium-treated male rats. *J Biochem Mol Toxicol.* 2008;22(5):345-53.



Original Article

Comparative Study on Histopathological and Histomorphometric Effect of Raw and Cooked Garlic on Spermatogenesis in Testis and Epididymis of Rats

Bahrami KH^{1*}, Mahjor AA², Johary H³, Bahrami R⁴, Bahrami A⁵

1- Young Researchers clud, Fasa Branch, Islamic Azad university, Fasa, Iran.

2- Department of Pathology, Kazroon Branch, Islamic Azad university, Kazroon, Iran .

3- Department of Physiology, Darab Branch, Islamic Azad university, Darab, Iran.

4- Department of Medical science , Shiraz university Medical science , Shiraz, Iran.

5- Agricultural Engineering Horticulture, Agricultural Management, Fasa, Iran.

Received: 31 Jul 2013

Accepted: 14 Nov 2013

Abstract

Background & Objective: The present study aims at studying two forms of raw and cooked garlic to identify the effect of this plant on the amount of change in histopathological of spermatogenesis of wistar rat.

Materials & Methods: 40 male rats were divided into five equal groups (4 treatment 1 control group) the first and second treatment were received palete food consisted of 5% and 15% of raw garlic every day. The third and fourth treatment were received palete food consisted of 5% and 15% of cooked garlic as a food . The control group received standard palete food every day in a month. Finally, the testis were taken out of stomach and after preparing tissue and coloring, they were gone under microscopic studies. Thence, the data were analyzed using SPSS and Duncan test.

Results: The study indicated that the amount of sexual cells in the group having cook garlic for 15% compared with that of controlled group had a significant increase and the amount of sexual cells in the group using raw garlic as a food had significant decrease compared with that of the controlled group

Conclusion: Prescription of cooked garlic has an influence on Proliferation of sexual cells in testicular tubules and epididymis and so increased spermatogenesis in this group in comparison with the control group. However, prescribing raw garlic has harmful effects on tissue of testis and process of spermatogenesis in empiric compared with the control group.

Keywords: Spermatogenesis, histomorphometric, testis, epididyme, garlic, rat.

* Corresponding author: Bahrami Khadijeh, Young Researchers clud, Fasa Branch, Islamic Azad University, Fasa, Iran.

Tel: + 98 9365842991

Email: khadijehbahrami87@yahoo.com.