

## The Effect of Hydroalcoholic Extract of *Terfezia Boudieri* on Sperm Parameters and Testosterone Levels in Rats

Zabihi E<sup>1</sup>, Motavalli bashi SE<sup>2</sup>, Pourmohammad P<sup>2</sup>, Abedi A<sup>1\*</sup>

1. Department of Physiology, School of Medicine, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran

2. Department of Biochemistry, School of Medicine, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran

\* **Corresponding author.** Tel: +984533512788, Fax: +984533516514, E-mail: a.abedi@arums.ac.ir

Accepted: Jun 10, 2017

Received: Mar 15, 2017

### ABSTRACT

**Background & objectives:** *Terfezia Boudieri* (TB) has been used as a sexual stimulant for men in traditional medicine. TB containing fatty acid, flavonoids, beta-carotene, minerals and antioxidants such as, catechin, therefore, this study aimed to investigate the effects of the hydroalcoholic extract of *Terfezia Boudieri* on sperm and testosterone levels in male rats.

**Methods:** In this study, 21 adult male Wistar rats, each weighing approximately 250±20g, were randomly divided into three groups (n=7). The first group (control) with no treatment, the second group (sham group) received normal saline (extract solvent) and the third group, was injected intraperitoneally (IP) with 105 mg / kg of methanolic extract of *Terfezia boudieri* (TBME) (0.2 ml) for 21 days. The blood samples were collected to determine the concentration of testosterone and finally, the weight and size of the testicles and epididymis, the number and the percentage of sperm moving were evaluated Data were analyzed using ANOVA and Turkey's post- hoc tests.

**Results:** The results of the present study showed that serum levels of testosterone, body weight of rat, testis weight , sperm count and sperm motility in the experimental group were significantly increased compared with the control group ( $p<0.001$ ).

**Conclusion:** The results of this study showed that TB at 105 mg/kg dosage can increase the levels of testosterone and improve sperm parameters and therefore, TB can be used to treat sexual impotence and infertility in males.

**Keywords:** *Terfezia Boudieri*; Testosterone; Sperm motility; Rat

## تأثیر عصاره هیدروالکلی قارچ دنبلان (*Terfezia Boudieri*) بر پارامترهای اسپرم و میزان هورمون تستوسترون در موش صحرایی

اسلام ذبیحی<sup>۱</sup>، سید اقبال متولی باشی<sup>۲</sup>، پیروز پورمحمد<sup>۲</sup>، علی عابدی<sup>۱\*</sup>

۱. گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران

۲. گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران

\* نویسنده مسئول. تلفن: ۰۴۵۳۳۵۱۲۷۸۸ - فاکس: ۰۴۵۳۳۵۱۶۵۱۴ - پست الکترونیک: a.abedi@arums.ac.ir

### چکیده

**زمینه و هدف:** قارچ دنبلان (*TB*) در طب سنتی به عنوان محرک جنسی مورد استفاده قرار می‌گیرد و دارای اسید چرب، فلاونوئید، بتاکاروتن، مواد معدنی و همچنین مواد آنتی‌اکسیدان از جمله کاتچین می‌باشد. هدف از این مطالعه تأثیر عصاره هیدروالکلی قارچ دنبلان بر پارامترهای اسپرم و میزان هورمون تستوسترون در موش صحرایی می‌باشد.

**روش کار:** این مطالعه بر روی ۲۱ سر موش صحرایی نر در ۳ گروه انجام شد. گروه اول (کنترل) هیچ دارویی دریافت نکردند. به گروه دوم (شاهد) نرمال سالین (حلال عصاره) و گروه سوم، ۱۰۵ mg/kg عصاره *TB* بمدت ۲۱ روز داخل صفاقی با حجم ۰/۲ میلی لیتر تزریق گردید. سپس نمونه‌های خونی به منظور تعیین غلظت هورمون تستوسترون جمع‌آوری شد و در نهایت وزن بیضه و اپیدیدیم، تعداد و درصد تحرک اسپرم مورد بررسی قرار گرفت. داده‌ها با استفاده از آزمون‌های آماری آنوا و تست تعقیبی توکی تجزیه و تحلیل گردید.

**یافته‌ها:** سطح سرمی تستوسترون، وزن موش صحرایی، وزن بیضه و تعداد اسپرم، درصد تحرک اسپرم در گروه تجربی تیمار شده با ۱۰۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم از عصاره دنبلان نسبت به گروه کنترل به صورت معنی‌دار افزایش یافت ( $p < 0.001$ ).

**نتیجه‌گیری:** نتایج این مطالعه نشان داد عصاره هیدروالکلی *TB* می‌تواند بر بهبود پارامترهای اسپرم و افزایش میزان هورمون تستوسترون موثر باشد و می‌توان از آن به عنوان محرک جنسی و در ناباروری (جنس مذکر) استفاده نمود.

**واژه‌های کلیدی:** قارچ دنبلان، تستوسترون، تحرک اسپرم، موش صحرایی

پذیرش: ۱۳۹۶/۰۳/۲۰

دریافت: ۱۳۹۵/۱۲/۲۵

### مقدمه

امروزه ناباروری یکی از مسائل مهم در زندگی زوجین می‌باشد. براساس آمارهای موجود ۳۵ درصد موارد ناباروری مربوط به مردان می‌باشد. شایعترین علت ناباروری در مردان، ناتوانی آنها در تولید کافی اسپرم‌های سالم است. تولید اسپرم تحت کنترل هورمون تستوسترون مترشح از بیضه می‌باشد که با محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-بیضه کنترل می‌شود. عوامل زیادی در کاهش تولید اسپرم موثر هستند از جمله مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها، مواد سمی، استرس،

عدم دریافت کافی ویتامین‌ها و غیره که این عوامل می‌توانند با ایجاد رادیکال‌های آزاد در بافت بیضه تعداد و تحرک اسپرم را کاهش دهند [۱،۲]. در طب سنتی از انواع گیاهان به عنوان محرک جنسی و برای بهبود عملکرد جنسی استفاده شده است. برای قرن‌ها، اعراب از داروهای گیاهی به منظور بهبود عملکرد جنسی و افزایش میل جنسی استفاده می‌نمودند [۳،۴]. مطالعات نشان می‌دهد برخی از گیاهان دارویی باعث افزایش باروری شده و نیز بر عدم تعادل هورمونی، ناتوانی جنسی، الیگواسپرم و

گرم از آن داخل ظروف مخصوص ریخته شده و در یک لیتر از اتانول و آب مقطر با نسبت ۳ به ۷ به مدت ۴۸ ساعت نگه داشته شد و هر ۸ ساعت به مدت ۲۰ دقیقه روی شیکر تکان داده شد. پس از دو بار گذراندن از صافی واتمن، اتانول و آب مقطر در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد با استفاده از دستگاه فور از محلول برداشته شد. عصاره به دست آمده برای درست کردن غلظت  $105 \text{ mg/kg}$  در نرمال سالین حل گردید و سپس به مدت ۲۱ روز بصورت داخل صفاقی تزریق گردید.

#### گروه بندی

موش‌های صحرایی نر ویستار با وزن  $250 \pm 20$  گرم از محل لانه حیوانات مستقر در دانشگاه علوم پزشکی اردبیل تهیه گردید. حیوانات در دمای  $22 \pm 2$ ، ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و در بستری از پوشال با دسترسی آزاد به آب شهری و غذای مخصوص حیوانات نگهداری شدند. پس از سازگاری با محیط جدید به طور تصادفی به ۳ گروه ۷ تایی تحت عنوان گروه کنترل، گروه شاهد و گروه تجربی تقسیم شدند. گروه کنترل هیچ دارویی دریافت نکرد. گروه شاهد و گروه تیمار به ترتیب نرمال سالین و ۱۰۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن عصاره هیدروالکلی دنبلان را با حجم  $0.2$  سی سی به مدت ۲۱ روز به صورت داخل صفاقی دریافت می‌کردند.

#### نمونه گیری و سنجش پارامترها

انجام آزمایشات و سنجش پارامترها در آزمایشگاه فیزیولوژی دانشکده پزشکی اردبیل انجام شد. در روز ۲۱ ام پس از تزریق آخرین دوز عصاره، موش‌ها با کتامین و زایلازین بیهوش شدند و بعد از باز کردن قفسه سینه از هر موش ۳ تا ۴ میلی لیتر خون از ناحیه بطن چپ (در لوله‌های آزمایش) جمع‌آوری شد. نمونه‌های جمع‌آوری شده به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۳۵۰۰ دور در دقیقه (دستگاه سانتریفیوژ شرکت Soofer، آمریکا) سانتریفیوژ گردید. اندازه‌گیری سطح هورمون تستوسترون با کیت

غیره می‌توانند تأثیر مثبت داشته باشند [۵]. با توجه به عوارض جانبی داروهای شیمیایی، امروزه طب سنتی کاربرد بیشتری پیدا کرده است. مطالعه بر روی گیاهان دارای فلاونوئید نشان داده است که آنها حاوی آنتی‌اکسیدان‌های موثری در خنثی‌سازی رادیکال‌های اکسیژن‌دار می‌باشند [۶]. در ایران نیز که یکی از هفت کشور آسیایی با بیشترین گیاهان دارویی است، در سه دهه گذشته روند رو به رشدی از استفاده از داروهای گیاهی و احیای طب سنتی مشاهده می‌شود [۷]. در طب سنتی از قارچ دنبلان<sup>۱</sup> به عنوان محرک جنسی استفاده شده است [۸]. نتایج تحقیقات قبلی نشان می‌دهد که عصاره اتانولی این قارچ فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی داشته و در صنعت دارویی از آن استفاده می‌شود [۹]. مطالعات انجام شده بر روی قارچ دنبلان نشان داده است که این قارچ باعث افزایش سطح استروژن و پروژسترون و کاهش قند خون شده و نیز دارای خاصیت محافظت‌کنندگی از بافت کبد است [۱۰-۱۲]. همچنین بررسی‌های انجام شده بر روی قارچ دنبلان نشان داده است که قارچ دنبلان مواد معدنی، اسید چرب ضروری و ترکیبات فنلی زیادی دارد [۹، ۱۳].

با توجه به اینکه از دیدگاه علمی، داروی مفید و موثر باید در کار آزمایشگاهی و بالینی اثبات شده باشد، بنابراین این مطالعه با هدف بررسی تأثیر عصاره هیدروالکلی قارچ دنبلان (TB) بر اندام‌های تناسلی، پارامترهای اسپرم و میزان هورمون تستوسترون در موش صحرایی نر انجام شد.

#### روش کار

##### عصاره گیری

در این مطالعه تجربی قارچ دنبلان از دشت پارس آباد مغان (اردبیل) توسط محقق جمع‌آوری شد و در حرارت ۳۵ درجه سانتیگراد و در شرایط سایه خشک گردید. بعد از آسیاب کردن قارچ خشک شده، ۱۵۰

<sup>1</sup> Terfezia Boudieri

واریانس ANOVA و به دنبال آن آزمون تکمیلی توکی استفاده شده و  $p < 0.05$  به عنوان درجه معناداری در نظر گرفته شد.

#### محدودیت‌های پژوهش

برای بررسی تاثیر عصاره دنبلان، انجام کارهای بیشتر بر روی بافت اندام‌های تناسلی لازم و ضروری بود که بخاطر مشکلات مالی انجام نشد.

#### یافته‌ها

نتایج حاصل از تحلیل داده‌های این مطالعه نشان داد که تیمار ۲۱ روزه حیوانات با عصاره هیدروالکلی قارچ دنبلان (TB) طبق نمودار ۱، میانگین غلظت هورمون تستوسترون در گروه تجربی تیمار شده با ۱۰۵ میلی گرم بر کیلوگرم، (میانگین  $7/01 \pm 0/56$ ) نسبت به گروه‌های کنترل (میانگین  $4/43 \pm 0/46$ ) و شم (میانگین  $4/99 \pm 0/34$ ) افزایش معنی‌داری داشت ( $p < 0.001$ ).

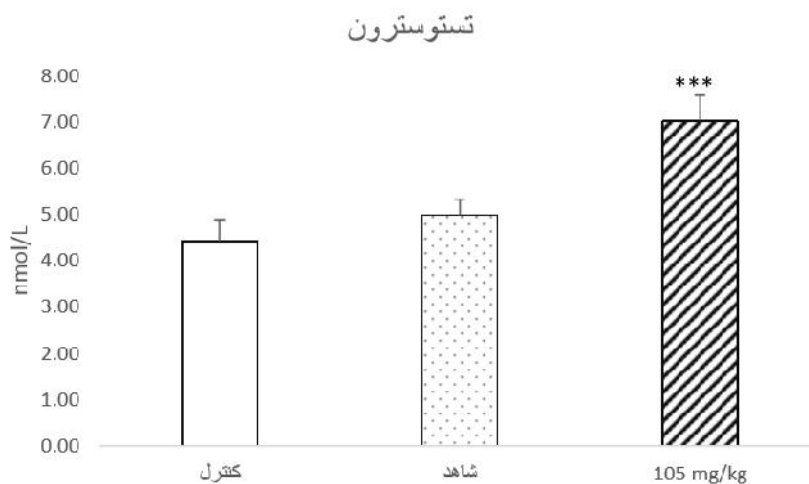
یکی دیگر از نتایج حاصل از تحلیل داده‌های این مطالعه طبق جدول ۱ نشان داد که عصاره قارچ دنبلان (TB) باعث افزایش معنی‌دار در میانگین وزنی گروه تجربی ( $49/76 \pm 1/50$ )، نسبت به میانگین گروه کنترل ( $13/44 \pm 0/59$ ) و شم ( $20/23 \pm 1/43$ ) شده است ( $p < 0.001$ ).

ساخت کشور آلمان (IBL) و به روش الیزا (با الیزا ریدر BioTech ساخت آمریکا) انجام شد. نمونه‌ها تا زمان سنجش هورمونی در دمای ۲۰ - درجه سانتیگراد برای اندازه‌گیری غلظت سرمی تستوسترون نگهداری شدند.

برای تعیین درصد اسپرم‌های متحرک، قطره ای از نمونه رقیق شده بر روی لام گذاشته شد و با بزرگنمایی ۴۰۰ با استفاده از میکروسکوپ Olympus ساخت ژاپن بررسی گردید. برای تعیین درصد اسپرم‌های متحرک، میانگین چندین میدان بررسی شده به عنوان درصد تحرک ثبت شد [۱۴]. برای شمارش تعداد اسپرم‌ها از لام نئوبار (ساخت آلمان) استفاده شد. ابتدا برای بی‌حرکت نمودن اسپرم‌ها نمونه‌ها ۱ به ۹ با نرمال سالین ۳ درصد رقیق شدند. سپس قطره ای از محلول به آرامی روی لام نئوبار منتقل گردید و با لامل پوشانده شد. اسپرم‌های دارای سر، ناحیه میانی و دم با بزرگنمایی ۴۰ شمارش شدند [۱۴].

#### تجزیه و تحلیل آماری

داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS-16 به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار میانگین برای هر گروه گزارش شد. سپس به منظور بررسی وجود یا عدم وجود اختلاف معنی دار بین گروه‌ها از آزمون آنالیز



نمودار ۱. تاثیر عصاره هیدروالکلی قارچ دنبلان بر سطح سرمی هورمون تستوسترون (نانومول بر لیتر) در موش صحرایی نر (n=7). \*\*\* نشان دهنده اختلاف معنی‌دار گروه تیمار نسبت به گروه کنترل و شاهد ( $p < 0.001$ )

جدول ۱. تأثیر عصاره هیدروالکلی قارچ دنبلان بروزن موش صحرائی نر (برحسب گرم) و (n=7)

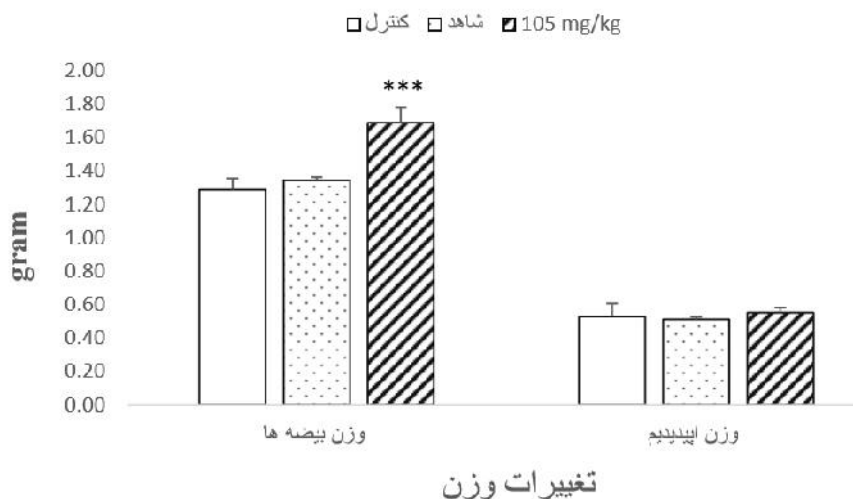
گروه تیمار	گروه شاهد	گروه کنترل	
۲۳۸/۲۵	۲۵۰/۶۷	۲۴۱/۱۷	وزن اولیه
۲۸۸/۰۱	۲۷۰/۹	۲۵۴/۶۱	وزن نهایی
۴۹/۷۶±۱/۵۰ ***	۲۰/۲۳±۱/۴۳	۱۳/۴۴±۰/۵۹	میانگین افزایش وزن (برحسب گرم)

\*\*\* نشان دهنده اختلاف معنی‌دار گروه تیمار نسبت به گروه‌های شم و کنترل (p&lt;۰/۰۰۱)

عصاره هیدروالکلی قارچ دنبلان (TB)، با میانگین (۲۷۹/۷۱±۴/۵۰) نسبت به میانگین گروه کنترل (۲۴۲/۴۳±۳/۹۹) و میانگین شم (۲۳۸/۵۷±۳/۹۹) افزایش معنی‌داری داشت (p<۰/۰۰۱).

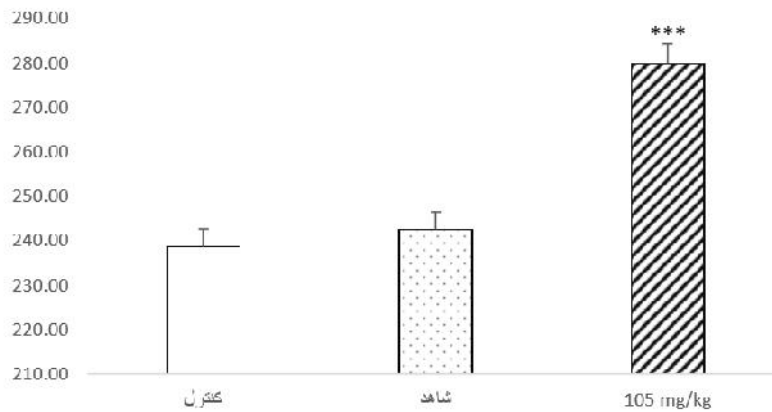
همچنین میانگین درصد تحرک اسپرم گروه تیمار با مقدار ۱۰۵ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره هیدروالکلی قارچ دنبلان (TB) (۶۲/۱۴±۲/۶۱) بود که نسبت به میانگین گروه کنترل (۵۲/۴۳±۳/۶۹) و میانگین شم (۵۰/۸۶±۲/۲۷) افزایش معنی‌داری داشت (p<۰/۰۰۱) (نمودار ۴).

میانگین وزن بیضه نیز طبق نمودار ۲ در گروه دریافت کننده عصاره هیدروالکلی قارچ دنبلان (۱/۶۹±۰/۰۹) نسبت به میانگین گروه کنترل (۱/۲۹±۰/۰۷) و شم (۱/۳۴±۰/۰۸) افزایش معنی‌داری داشت (p<۰/۰۰۱). با وجود افزایش جزئی در وزن اپیدیدیم در گروه تیمار با عصاره دنبلان (میانگین ۰/۵۵±۰/۰۳)، اختلاف معنی‌داری نسبت به میانگین گروه‌های شم (۰/۵۱±۰/۰۱) و کنترل (۰/۵۳±۰/۰۲) مشاهده نشد. نتایج حاصل از نمودار ۳ نشان داد که تعداد اسپرم در گروه تیمار با مقدار ۱۰۵ میلی گرم بر کیلوگرم از



نمودار ۲. تأثیر عصاره هیدروالکلی قارچ دنبلان بر وزن بیضه و اپیدیدیم موش صحرائی نر (برحسب گرم) و (n=7) \*\*\* نشان دهنده اختلاف معنی‌دار گروه تیمار نسبت به گروه‌های شم و کنترل (P<۰/۰۰۱)

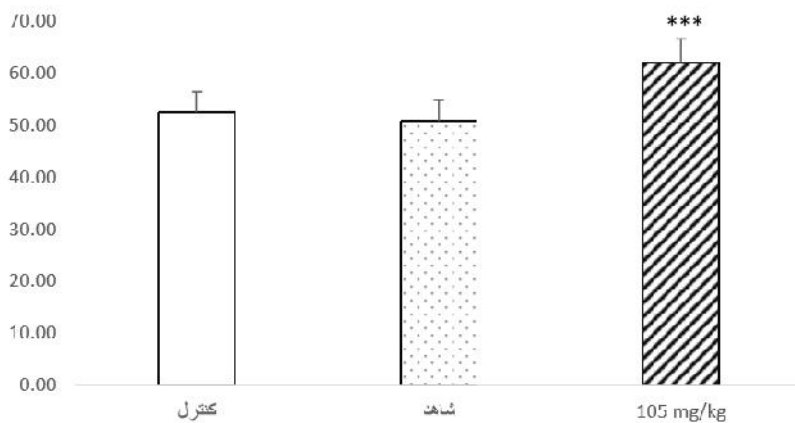
تعداد اسپرم



نمودار ۳. تاثیر عصاره هیدروالکلی قارچ دنبلان بر تعداد اسپرم (n=7).

\*\*\* نشان دهنده اختلاف معنی دار گروه تیمار نسبت به گروه های شم و کنترل (p<0/001)

درصد تحرک اسپرم



نمودار ۴. تاثیر عصاره هیدروالکلی قارچ دنبلان بر درصد تحرک اسپرم (n=7).

\*\*\* نشان دهنده اختلاف معنی دار گروه تیمار نسبت به گروه های شم و کنترل (p<0/001)

## بحث

بر هیپوفیز و افزایش LH بوده یا به علت تاثیر مستقیم عصاره بر بافت بیضه باشد که سبب تحریک ترشح تستوسترون می شود [۱۵]. با توجه به اینکه هورمون تستوسترون با مکانیسم فیدبک منفی ترشح هورمون LH را از هیپوفیز قدامی کنترل می کند احتمالاً دنبلان به طور مستقیم و با تاثیر بر بافت بیضه باعث افزایش تستوسترون می شود [۱۶]. نتیجه حاصل از این مطالعه تایید کننده این موضوع می باشد.

یافته های این مطالعه نشان داد که قارچ دنبلان توانسته است غلظت سرمی هورمون تستوسترون را افزایش دهد. از آنجایی که تستوسترون در پاسخ به تحریک با LH مترشحه از غده هیپوفیز توسط سلول های لایدیگ بیضه تولید می گردد، احتمال دارد مکانیسمی که باعث افزایش هورمون تستوسترون پس از کاربرد دنبلان شده است از طریق تاثیر غیرمستقیم این دارو

که نتایج حاصل از این پژوهش با مطالعات گذشته مطابقت دارد.

در میان آنتی اکسیدان‌های موجود، امروزه منابع گیاهی توجه بسیاری از پژوهشگران را جلب کرده است. تحقیقات نشان می‌دهند که آنتی اکسیدان‌ها با مکانیسم استحکام سد خونی- بیضه ای، کاهش آسیب توسط رادیکال‌های آزاد و حفاظت و ترمیم DNA اسپرم، می‌توانند در ناباروری مردان موثر باشند. گیاهان با خاصیت آنتی اکسیدانی (در نتیجه عملکرد فلاونوئیدهای آن) باعث جمع‌آوری رادیکال‌های آزاد می‌شوند [۲۲]. لذا در مطالعه حاضر، وجود آنتی‌اکسیدان‌ها در عصاره ممکن است موجب کاهش آسیب بافتی شده و با افزایش ترشح تستوسترون از بیضه‌ها باعث بهبود کمی و کیفی اسپرم شده باشد. از طرف دیگر این پژوهش نشان داد که دنبلان باعث افزایش تحرک اسپرم می‌شود. استرس اکسیداتیو با پراکسیداسیون لیپیدهای غشای اسپرم باعث کاهش حرکت اسپرم و کاهش کیفیت و کمیت اسپرم می‌شود [۲۳]. روش‌های مختلفی برای مهار تنش اکسیداتیو و کاهش آسیب‌های ناشی از گونه‌های اکسیژن آزاد<sup>۱</sup> (ROS) وجود دارد که یکی از این مکانیسم‌ها، سیستم آنتی اکسیدان است. آنتی‌اکسیدان‌ها در طرف مقابل رادیکال‌های آزاد قرار دارند که تولید رادیکال‌های آزاد را کنترل و سرکوب می‌کنند و به عنوان پاکسازی کننده رادیکال‌های آزاد، اسپرم را در برابر ROS محافظت می‌کنند [۲۴-۲۷]. قارچ دنبلان حاوی مقادیر زیادی از مواد آنتی‌اکسیدان از قبیل فلاونوئیدها، گلوکاتینون و مواد معدنی موثر است [۲۸]. مطالعات نشان داده اند که فلاونوئیدها و کاتچین با مکانیسم واکنش با آنزیم گلوکاتینون پروکسیداز عملکرد آنتی اکسیدانی خود را انجام می‌دهد [۲۹]. عدم وجود گلوکاتینون پروکسیداز منجر به کاهش ظرفیت و توان باروری می‌شود [۳۰]. از طرف دیگر مطالعات گذشته افزایش میزان گلوکاتینون

مطالعات قبلی نشان داده است که ترکیبات فلاونوئیدی و اسیدهای چرب با مهار فعالیت آنزیم آروماتاز بر ترشح تستوسترون موثر می‌باشد. مهار فعالیت این آنزیم باعث افزایش آندروژن (تستوسترون و دی-هیدروتستوسترون) در خون می‌شود [۱۷]. قارچ دنبلان با داشتن ترکیبات اسیدهای چرب، احتمالاً قادر خواهد بود باعث تحریک ترشح تستوسترون گردد.

همچنین تحقیقات گذشته نشان داده است که کاتچین، یکی از پلی فنل‌هایی است که فعالیت آنتی اکسیدانی پلاسما را افزایش داده و باعث از بین رفتن رادیکال‌های آزاد می‌شود. بنابراین کاتچین موجود در عصاره دنبلان می‌تواند به عنوان یک آنتی اکسیدان طبیعی بر تولید مثل و همچنین بر روی تحریک تولید تستوسترون توسط سلول‌های لیدیک موثر باشد [۱۸]. بنابراین احتمالاً دنبلان با تأثیر مستقیم بر بافت بیضه باعث افزایش تستوسترون شده است.

همچنین دنبلان باعث افزایش معنی‌داری در وزن بدن و بیضه موش صحرایی گردید. مطالعه بر روی گیاهان حاوی ترکیبات کومارینی و فلاونوئیدی نشان داده است که عصاره این گیاهان قادر است وزن اندام‌های تناسلی و کیفیت اسپرم را بصورت معنی‌داری افزایش دهد. مطالعه ذبیحی و همکاران نشان داد که عصاره هیدروالکی قارچ دنبلان با داشتن ترکیبات فلاونوئیدی و کومارینی در مدت ۱۲ روز باعث افزایش وزن موش صحرایی شده است، که احتمالاً بدلیل کوتاه بودن دوره درمان می‌باشد. لذا در این کار پژوهشی با افزایش طول دوره درمان، عصاره دنبلان توانسته است باعث افزایش معنی‌دار وزن موش و اندام‌های تناسلی شود [۱۲، ۱۹]. از طرف دیگر از آنجایی که وزن بدن و بیضه‌ها تحت تأثیر هورمون تستوسترون قرار دارد [۲۰، ۲۱] و قارچ دنبلان توانسته است سطح هورمون تستوسترون را افزایش دهد لذا احتمال دارد با همین مکانیسم دنبلان باعث افزایش وزن شده باشد

<sup>1</sup> Reactive Oxygen Species

ظرفیت آنتی اکسیدانی موثر آنها در پلاسما منی می‌باشد و گیاهان دارای پلی فنل‌ها این خاصیت را دارند [۳۴]. پس دنبلان می‌تواند به علت داشتن پلی فنل‌ها به عنوان آنتی اکسیدان قوی، باعث مهار اکسیژن واکنش پذیر و افزایش کیفیت و کمیت اسپرم گردد.

### نتیجه گیری

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که عصاره هیدروالکلی دنبلان تاثیر چشمگیری بر میزان تستوسترون داشته و باعث بهبود کیفیت پارامترهای اسپرم می‌شود. نتایج بدست آمده احتمالاً بدلیل وجود ترکیبات فلاونوئیدی و کومارینی موجود در دنبلان است. لذا احتمالاً این قارچ می‌تواند بعد از آزمایشات بالینی به عنوان یک آنتی اکسیدان برای بهبود ناباروری مردان مورد استفاده قرار گیرد.

پیشنهاد می‌شود کارهای علمی بیشتری روی عوامل سلولی و مولکولی موثر در اسپرماتوژنز با استفاده از این قارچ انجام شود.

### تشکر و قدردانی

این مقاله، حاصل بخشی از پایان نامه مصوب دانشگاه علوم پزشکی اردبیل به شماره ۰۲۶ سال ۱۳۹۵ برای اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته فیزیولوژی پزشکی می‌باشد. نویسندگان بر خود لازم می‌دانند که از معاونت محترم پژوهشی، مدیر محترم گروه فیزیولوژی جناب آقای دکتر پناهپور و خانم دکتر سعادت‌ی تقدیر و تشکر نمایند.

پروکسیداز را در نتیجه استفاده از آنتی اکسیدان‌های کاتچین و فلاونوئید ثابت کرده است که نتیجه نهایی این فرایند افزایش میزان اسپرم‌های متحرک است [۲۹]. بتاکاروتن قادر است با حذف رادیکال آزاد اکسیژن و اکسید کردن خود از اکسیداسیون سایر مولکول‌ها جلوگیری نماید [۳۱]. لذا افزایش میزان تحرک اسپرم به دنبال استفاده از دنبلان در این مطالعه را می‌توان به بتاکاروتن و آنتی اکسیدان‌های دنبلان نسبت داد. همچنین از نتایج دیگر این کار تحقیقاتی افزایش تعداد اسپرم بود. پژوهش‌های قبلی بیانگر آن است که تستوسترون با اثر مستقیم بر سلول‌های سرتولی و ترشح مایع لوله ای نقش موثری در تغذیه سلول‌های جنسی در حال تقسیم و تولید اسپرم دارند [۱۵] و همچنین به علت نقش موثر و مهم هورمون تستوسترون در مراحل اسپرماتوژنز، واضح است که با افزایش این هورمون، تعداد اسپرم‌ها افزایش یابد.

از طرف دیگر اسپرم‌ها به گونه‌های فعال شده اکسیژن که به مایع منی وارد می‌شود حساس می‌باشد و کاهش میزان گلوکوتایون پراکسیداز به خصوص گلوکوتایون پراکسیداز ۳، ۴، ۵ سبب نازایی می‌گردد [۳۲]. این آنزیم با قرار گرفتن در غشای پلاسمایی اسپرم و ناحیه اپیدیدیم، اسپرم‌ها را از گزند اکسیژن فعال شده و رادیکال‌های آزاد محافظت نموده و باعث بلوغ و تکامل اسپرم‌ها می‌شود [۳۳]. بنابراین احتمال دارد عصاره دنبلان باعث افزایش بیان گلوکوتایون پراکسیداز ۳، ۴، ۵ گردیده و از این طریق منجر به تکامل اسپرم و افزایش تعداد اسپرم گردد. توانایی زنده ماندن و تحرک اسپرم وابسته به بیان

### References

- 1- Olsen J, Rachootin P. Invited commentary: Monitoring fecundity over time-if we do it, then let's do it right. *Am J Epidemiol*. 2003 Jan; 157(2): 94-7.
- 2- Ranjbar A, Zareian P. Human physiology: Endocrinology & reproduction, 1<sup>st</sup> ed. Tehran: Ilia publication, 2007: 112-8. [Full text in Persian]
- 3- Islam MW, Tariq M, Ageel AM, Al-Said MS, Al-Yhya AM. Effect of *Salvia haematodes* on sexual behaviour of male rats. *J Ethnopharmacol*. 1991 May-Jun;33(1-2):67-72.
- 4- Puri H. Vegetable aphrodisiacs of India. *Int J Crude Drug Res*. 1971 Aug; 11(2): 1742-53.



- 5- Coskun O, Kanter M, Korkmaz A, Oter S. Quercetin, a flavonoid antioxidant, prevents and protects streptozotocin-induced oxidative stress and  $\beta$ -cell damage in rat pancreas. *Pharmacol Res.* 2005 Feb; 51(2): 117-23.
- 6- Rekka EA, Kourounakis AP, Kourounakis PN. Investigation of the effect of chamazulene on lipid peroxidation and free radical processes. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol.* 1996 Jun; 92(3): 361-4.
- 7- Modaresi M, Tavanaei F. The effect of hydro-alcoholic extracts of lettuce (*Lactuca sativa*) on spermatogenesis and sexual hormones in male mice. *J Zanjan Univ Med Sci.* 2013 Jun; 21(87): 32-41. [Full text in Persian]
- 8- Mandeel QA, Al-Laith AAA. Ethnomycological aspects of the desert truffle among native Bahraini and non-Bahraini peoples of the Kingdom of Bahrain. *J Ethnopharmacol.* 2007 Mar; 110(1): 118-29.
- 9- Dođan H, Aydin S. Determination of antimicrobial effect, antioxidant activity and phenolic contents of desert truffle in Turkey. *Afr J Tradit Complement Altern Med.* 2013 May; 10(4): 52-8.
- 10- Mahmoudzade Y, Motavallibashi S, Bamdad K, Zabihi E, Sheikhkanloui Milan H, Hamidi N. Effect of hydroalcoholic extracts of truffle (*terfezia boudieri*) premedication on improving hepatic factors in ccl4-induced liver injury in male rats. *J Ardabil Univ Med Sci.* 2017 Mar; 17(1): 58-68. [Full text in Persian]
- 11- Shakshak K, Afan A, Auzi A, Hamrouni A. The hypoglycemic effect of libyan truffle "terfeziaboudieri" in experimentally induced diabetic rats. *J Tri Med.* 2014 Nov; 3(1): 1-4.
- 12- Zabihi E, Motavallibashi SE, Bamdad K, Pilevaribadi F, Sheikhkanloui Milan H. The effect of hydroalcoholic extract of truffle on estrogen and progesterone levels in experimental model of multiple sclerosis (ms) in female rats. *J Arak Med Univ Sci.* 2017 Apr; 20(3): 48-56. [Full text in Persian]
- 13- Hamza A, Zouari N, Zouari S, Jdir H, Zaidi S, Gtari M, et al. Nutraceutical potential ,antioxidant and antibacterial activities of *Terfezia boudieri* Chatin, a wild edible desert truffle from Tunisia arid zone. *Arabian J Chem.* 2016 Jun; 9(3): 383-9.
- 14- Seed J, Chapin RE, Clegg ED, Dostal LA, Foote RH, Hurtt ME, et al. Methods for assessing sperm motility, morphology, and counts in the rat, rabbit, and dog: a consensus report. *Reprod Toxicol.* 1996 May-Jun; 10(3): 237-44.
- 15- Carlson B. *Human embryology and developmental biology*, 4<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Mosby, 2004: 202-12.
- 16- Selvage DJ, Lee SY, Parsons LH, Seo DO, Rivier CL. A hypothalamic-testicular neural pathway is influenced by brain catecholamines, but not testicular blood flow. *J Endocrinol.* 2004 Apr; 145(4): 1750-9.
- 17- Yang NY, Li K, Yang YF, Li YH. Aromatase inhibitory fatty acid derivatives from the pollen of *Brassica campestris* L. var. *oleifera* DC. *J Asian Nat Prod Res.* 2009 Oct; 11(2): 132-7.
- 18- Zhang Q, Kelly AP, Wang L, French SW, Tang X, Duong HS, et al. Green tea extract and-(−) epigallocatechin-3-gallate inhibit mast cell-stimulated type I collagen expression in keloid fibroblasts via blocking PI-3K/Akt signaling pathways. *J Invest Dermatol.* 2006 Jul; 126(12): 2607-13.
- 19- Hatami L, Estakhr J. The effects of hydroalcoholic extract of *matricaria recutita* on the hormonal pituitary-testis axis and testis tissue changes of mature male rats. *J Fasa Univ Med Sci.* 2013 Mar; 3(1): 56-62. [Full text in Persian]
- 20- Jahromi VH, Parivar K, Forozaifar M. The effect of cinnamon extract on spermatogenesis hormonal axis of pituitary gonad in mice. *Iranian J App Anim Sci.* 2011 Feb; 1(2): 99-103.
- 21- Nouri M, Khaki A, Fathi Azad F, Rashidi MR. The protective effects of carrot seed extract on spermatogenesis and cauda epididymal sperm reserves in gentamicin treated rats. *Cell J (Yakhteh).* 2009 Oct; 11(3): 327-33.
- 22- Popovi M, Kaurinovi B, Trivi S, Mimica-Duki N, Bursa M. Effect of celery (*Apium graveolens*) extracts on some biochemical parameters of oxidative stress in mice treated with carbon tetrachloride. *Phytother Res.* 2006 Jul; 20(7): 531-7.
- 23- Kamkar A, JebeliJavan A, Jamshidi R. Antioxidant capacity of essential oil and extract of Iranian *Mentha spicata*. *J Vet Lab Res.* 2009 Apr; 1(1): 69-77.
- 24- Agarwal A, Saleh RA. Role of oxidants in male infertility: rationale, significance, and treatment. *Urol Clin North Am.* 2002 Dec; 29(4): 817-27.

- 25- 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.
- 26- Halliwell B, Gutteridge J. *Free Radical in Biology and Medicine*, 2<sup>nd</sup> ed. New York: Oxford Univ Press, 1999 Oct: 353-425.
- 27- Lector C. Oxidative stress and role of antioxidants in normal and abnormal sperm function. *Front Biosci*. 1996 Aug; 1: 78-86.
- 28- Akyüz M. Nutritive value, flavonoid content and radical scavenging activity of the truffle (*Terfezia boudieri* Chatin). *J Soil Sci Plant Nutr*. 2013 Jan; 13(1): 143-51.
- 29- Nagta H, Takekoshi S, Takagi T, Honma T, Watanabe K. Antioxidative action of flavonoids, quercetin and catechin, mediated by the activation of glutathione peroxidase. *Tokai J Exp Clin Med*. 1999 Oct; 24(1): 1-11.
- 30- Len H, Williams K, Perry AC, Frayne J. The majority of human glutathione peroxidase type 5 (GPX5) transcripts are incorrectly spliced: implications for the role of GPX5 in the male reproductive tract. *Biochem J*. 1998 Jul; 333(1): 5-9.
- 31- Duru NK, Morshedi M, Oehninger S. Effects of hydrogen peroxide on DNA and plasma membrane integrity of human spermatozoa. *Fertil Steril*. 2000 Dec; 74(6): 1200-7.
- 32- 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. *Biol Reprod*. 2001 Dec; 64(2): 674-83.
- 33- Drevet JR. The antioxidant glutathione peroxidase family and spermatozoa: a complex story. *Mol Cell Endocrinol*. 2006 May; 250(1): 70-9.
- 34- Frei B, Higdon JV. Antioxidant activity of tea polyphenols in vivo: evidence from animal studies. *J Nutr*. 2003 Oct; 133(10): 3275-3284.