

بررسی اثر عصاره هیدروالکلی پوست گیاه لیمو آب (*Citrus aurantifolia*) بر هورمون های محور هیپوفیز- گناد و اسپرماتوژنز در موش صحرایی نر بالغ

وحید حمایت خواه جهرمی^{۱*}، محسن فروزانفر^۲، مهسا فرجمند^۱ و حسین کارگر جهرمی^۱

^۱ جهرم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم، گروه زیست‌شناسی

^۲ مرودشت، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت، گروه زیست‌شناسی

تاریخ پذیرش: ۹۲/۳/۲۱

تاریخ دریافت: ۸۹/۹/۱

چکیده

لیموآب یکی از مهمترین گیاهانی است که در درمان بیماری‌های مختلف استفاده می‌شود. این مطالعه، برای بررسی اثرات عصاره لیموآب روی هورمون‌های گنادی-هیپوفیزی و اسپرماتوژنز در موش‌های صحرایی نر بالغ انجام شد. پوست لیموترش خشک گردید و بعد از تهیه عصاره از آن جهت تزریق استفاده شد. موش‌های گروه کنترل آب آشامیدنی شهر دریافت کردند. آزمایش در دو دوره تیمار و پس از آن انجام شد. در دوره تیمار موش‌های گروه تجربی غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن حیوان، عصاره هیدروالکلی را به مقدار ۱ سی سی و به مدت ۲ هفته به صورت درون صفاقی دریافت کردند و دوره پس از تیمار به مدت ۱ هفته بدون تزریق انجام گردید. پایان هر دوره موش‌ها به کمک اتر بیهوش شده و پس از خونگیری از قلب آنها تشریح شدند. تعداد سلول‌های سرتولی و لایدیگ در مقاطع بافتی هرگروه شمارش گردید. همچنین غلظت هورمون‌های تستوسترون، LH و FSH به روش الیزا اندازه‌گیری شد. نتایج این مطالعه نشان داد که تعداد سلول‌های سرتولی و لایدیگ کاهش معنی‌داری ($P < 0/05$) در گروه‌های تجربی در مقایسه با گروه کنترل دارد. هم چنین نتایج نشان داد که غلظت هورمون LH در گروه‌های تجربی در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌داری ($P < 0/05$) پیدا کرده است. ولی اختلاف معنی‌داری در غلظت هورمون‌های تستوسترون و FSH مشاهده نشد. می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که پوست لیموترش موجب کاهش تعداد سلول‌های لایدیگ در لوله‌های منی‌ساز شده و با تاثیر بر محور هورمونی هیپوفیز- گناد باعث کاهش غلظت هورمون LH در موش صحرایی نر بالغ گردیده است.

واژه‌های کلیدی: پوست لیموترش، موش صحرایی نر، تستوسترون، LH، FSH

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۷۹۱ ۳۳۳۱۰۱۹، پست الکترونیکی: hemayatkhahr@jia.ac.ir

مقدمه

مهمترین ترکیبات لیموترش و پوست آن فلاونوئیدها، مونوترین‌ها و کومارین است. فلاونوئیدها که نقش اصلی در این پژوهش دارد. متعلق به دسته‌ای از مواد طبیعی به نام فیتواستروژن‌ها با ساختمان فنلی است و بهترین خواص توصیف شده همه گروه‌های فلاونوئیدی خواص آنتی‌اکسیدانی آنها است (۴). هم چنین دارای خاصیت ضد آلرژی، ضد التهابی و ضد سرطانی می‌باشد (۴). تحقیقات

گیاه لیمو آب (*Citrus aurantifolia*) از خانواده مرکبات (Rutaceae) گیاهی به صورت درختچه‌ای به ارتفاع ۳-۶ متر است. میوه لیموترش با پوست نازک، صاف و به رنگ سبز مایل به زرد قسمت دارویی گیاه را تشکیل می‌دهد. این گیاه در مناطق مختلف جنوب و جنوب شرقی ایران نظیر بندرعباس، میناب، جهرم و شیراز به طور فراوان کاشت می‌شود (۸).

ضد عفونی می‌گردید. دوره آزمایش در دو دوره تیمار و پس از آن تنظیم شده بود. در دوره تیمار موش‌های گروه تجربی مقادیر ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره هیدروالکلی پوست لیموترش به مدت ۲ هفته روزانه ۱ سی سی به صورت درون صفاقی دریافت کردند و دوره پس از تیمار یک هفته بدون تزریق در نظر گرفته شد. در طی آزمایش موش‌های گروه کنترل از آب آشامیدنی شهر و غذای مخصوص موش استفاده کردند. طرز تهیه عصاره پوست لیموترش به این صورت بود که بعد از تهیه مستقیم لیموترش از باغات جهرم، به دقت شسته شده و پوست خشک شده آن توسط آسیاب برقی پودر گردیده و ۱۰۰ گرم پودر لیموترش را در ۱۰۰۰ سی سی هیدروالکل ۵۰ درصد حل گردید و به روش پرکولاسیون عصاره‌گیری انجام شد (۳). از ۱۰۰ گرم پودر خشک شده عصاره ۲۳/۲ گرم عصاره به دست آمد. جهت جلوگیری از آلودگی، عصاره در یخچال نگهداری می‌شد. بعد از اتمام تزریقات، از قلب جانور خونگیری به عمل آمده و بعد از ساترفیوژ کردن خون، غلظت هورمون‌های تستوسترون، LH و FSH به روش الیزا اندازه‌گیری شد. در مرحله بعد بیضه‌ها خارج و با نرمال سایلین شستشو و بعد از اندازه‌گیری وزن بیضه‌ها به وسیله ترازوی دقیق آنالیتیکال نمونه‌ها در ثابت کننده فرمالین قرار گرفت. بعد از تهیه بلوک‌های پارافینی، برش‌گیری و رنگ‌آمیزی (هماتوکسیلین - اتوزین)، برش‌های بافتی به ضخامت ۵ میکرون با دستگاه میکروتوم تهیه و نمونه‌ها جهت مطالعات میکروسکوپی نوری آماده شدند.

زیادی روی لیموترش و ترکیبات موثر آن انجام شده است که از جمله می‌توان به تاثیر *limonen* این گیاه علیه تومورهای معده، ریه و پوست اشاره نمود (۱۴). همچنین خاصیت ضد ویروسی، ضد باکتریایی و ضد لاروی آن نیز به اثبات رسیده که نتیجه آن دال بر وجود سیترال و کومارین در ترکیبات بوده است (۱۲۶). با توجه به اینکه مطالعات اندکی در مورد اثرات این ماده بر روی سیستم تولید مثلی انجام شده است، بنابراین در تحقیق حاضر به بررسی اثر عصاره پوست گیاه لیموترش بر روی اسپرماتوژن و میزان هورمون‌های تستوسترون، LH و FSH در موش‌های صحرایی نر پرداخته شده است.

مواد و روشها

در این مطالعه از ۳۵ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار و در محدوده وزنی ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم و در سن ۸۰ تا ۹۰ روز که از موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی شیراز تهیه گردیده بود استفاده شد. حیوانات به مدت ۲ هفته جهت سازگاری با محیط در حیوان خانگی نگاهداری شدند. دوره نوری - تاریکی برای حیوانات به صورت ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی در نظر گرفته شد. درجه حرارت محیط ۲۴-۲۲ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۵۵-۵۰ درصد انتخاب و در طول مدت آزمایش غذا و آب کافی در اختیار موش‌ها قرار گرفت. حیوانات مورد مطالعه شامل گروه‌های کنترل و تجربی بودند. در هر گروه به طور تصادفی ۱۰ سر موش قرار گرفت. کف قفس حیوانات با خاک اره و تراشه چوب پوشیده و هفته‌ای ۲ بار شستشو و

جدول ۱ - نتایج اثر عصاره پوست لیموترش بر میانگین وزن بدن (gf) در گروه‌های تجربی و کنترل ($\bar{X} \pm SE$)

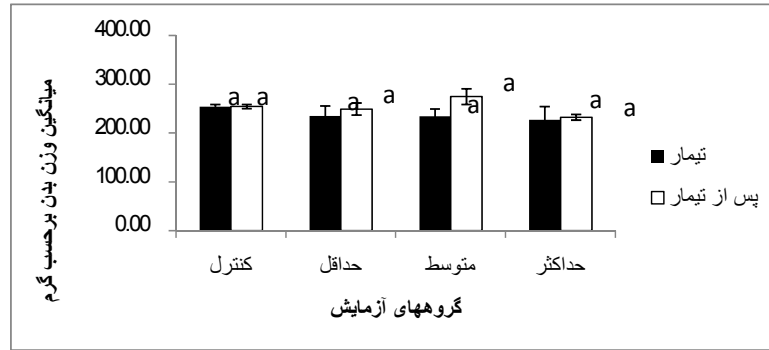
گروه‌های مختلف دوره آزمایش	کنترل	گروه تجربی با دوز حداقل عصاره (۵۰ mg/kg)	گروه تجربی با دوز متوسط عصاره (۱۰۰ mg/kg)	گروه تجربی با دوز حداکثر عصاره (۱۵۰ mg/kg)
تیمار	۲۵۴/۳۰ ± ۴/۲۸ a	۲۳۵/۲۰ ± ۲۰/۰۱ a	۲۳۴/۶۰ ± ۱۴/۷۶ a	۲۲۷/۲۰ ± ۲۷/۰۸ a
پس از تیمار	۲۵۴/۳۰ ± ۴/۲۸ a	۲۴۹/۲۰ ± ۱۲/۱۷ a	۲۷۴/۶۰ ± ۱۵/۸۶ a	۲۳۲/۴۰ ± ۵/۷۰ a

* سطح معنی دار ($P < 0.05$) Duncan^{a,b}

در مطالعات میکروسکوپی، تعداد سلولهای سرتولی و لایدیگ شمارش گردید (۶). اطلاعات حاصله به کمک نرم افزار SPSS، آنالیز واریانس یک طرفه ANOVA و آزمون Duncan مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج

نتایج وزن بیضه در گروه تجربی در مقایسه با گروه کنترل

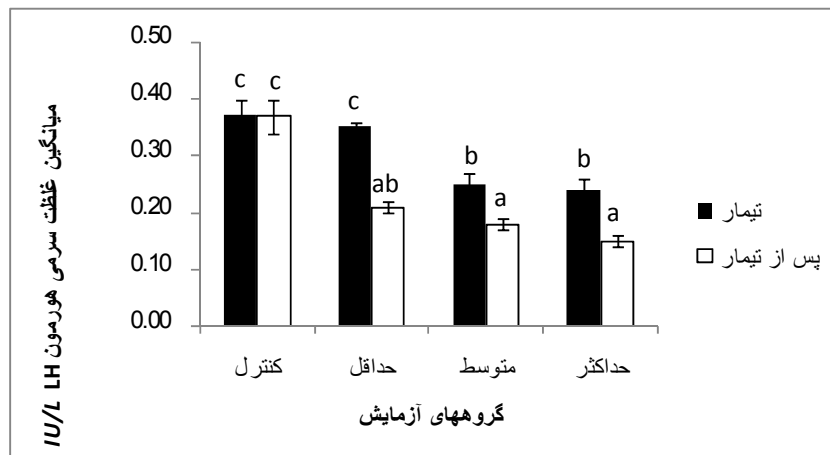


نمودار ۱ - مقایسه میانگین وزن بدن برحسب گرم در گروه‌های مختلف بعد از انجام آزمایش گروه‌های دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی داری را با هم نشان نمی‌دهند.

جدول ۲ - نتایج اثر عصاره پوست لیمو ترش بر غلظت هورمون LH (IU/L) در گروه‌های تجربی و کنترل ($\bar{X} \pm SE$)

گروه‌های مختلف دوره آزمایش	کنترل	گروه تجربی با دوز حداقل (عصاره ۵۰ mg/kg)	گروه تجربی با دوز متوسط (عصاره ۱۰۰ mg/kg)	گروه تجربی با دوز حداکثر (عصاره ۱۵۰ mg/kg)
تیمار	۰/۳۷ ± ۰/۰۳ c	۰/۳۵ ± ۰/۰۱ c	۰/۲۵ ± ۰/۰۲ * b	۰/۲۴ ± ۰/۰۲ * b
پس از تیمار	۰/۳۷ ± ۰/۰۳ c	۰/۲۱ ± ۰/۰۱ * ab	۰/۱۸ ± ۰/۰۱ * a	۰/۱۵ ± ۰/۰۱ * a

* سطح معنی دار ($P < 0.05$) Duncan^{a,b}

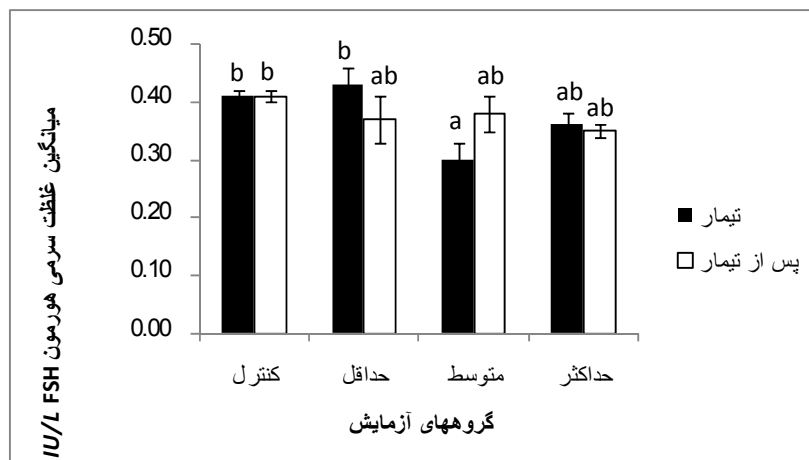


نمودار ۲ - مقایسه میانگین غلظت پلاسمایی هورمون LH برحسب IU/L در گروه‌های مختلف دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی داری را با هم نشان نمی‌دهند

جدول ۳ - نتایج اثر عصاره پوست لیمو ترش بر غلظت هورمون FSH (IU/L) در گروه‌های تجربی و کنترل ($\bar{X} \pm SE$)

گروه‌های مختلف	کنترل	گروه تجربی با دوز حداقل عصاره (۵۰ mg/kg)	گروه تجربی با دوز متوسط عصاره (۱۰۰ mg/kg)	گروه تجربی با دوز حداکثر عصاره (۱۵۰ mg/kg)
دوره آزمایش				
تیمار	۰/۴۱ ± ۰/۰۱ b	۰/۴۳ ± ۰/۰۳ b	۰/۳۰ ± ۰/۰۳* a	۰/۳۶ ± ۰/۰۲ ab
پس از تیمار	۰/۴۱ ± ۰/۰۱ b	۰/۳۷ ± ۰/۰۴ ab	۰/۳۸ ± ۰/۰۳ ab	۰/۳۵ ± ۰/۰۱ ab

* سطح معنی دار ($P < 0/05$) Duncan^a



نمودار ۳ - مقایسه میانگین غلظت پلاسمایی هورمون FSH برحسب IU/L در گروه‌های مختلف گروه‌های دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی داری را با هم نشان نمی‌دهند.

جدول ۴ - نتایج اثر عصاره پوست لیمو ترش بر غلظت هورمون تستوسترون (ng/ml) در گروه‌های تجربی و کنترل ($\bar{X} \pm SE$)

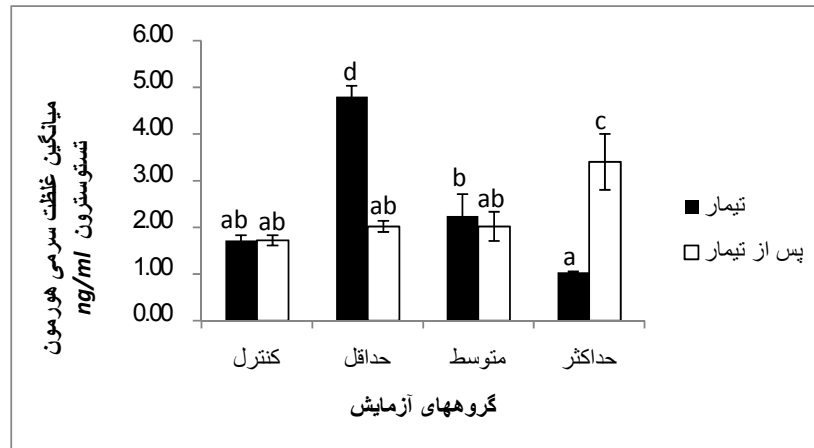
گروه‌های مختلف	کنترل	گروه تجربی با دوز حداقل عصاره (۵۰ mg/kg)	گروه تجربی با دوز متوسط عصاره (۱۰۰ mg/kg)	گروه تجربی با دوز حداکثر عصاره (۱۵۰ mg/kg)
دوره آزمایش				
تیمار	۱/۷۲ ± ۰/۱۱ ab	۴/۸۰ ± ۰/۲۳* d	۲/۲۴ ± ۰/۴۷ b	۱/۰۴ ± ۰/۰۲ a
پس از تیمار	۱/۷۲ ± ۰/۱۱ ab	۲/۰۲ ± ۰/۱۲ ab	۲/۰۲ ± ۰/۳۱ ab	۳/۴۰ ± ۰/۶۰* c

* سطح معنی دار ($P < 0/05$) Duncan^{a,b}

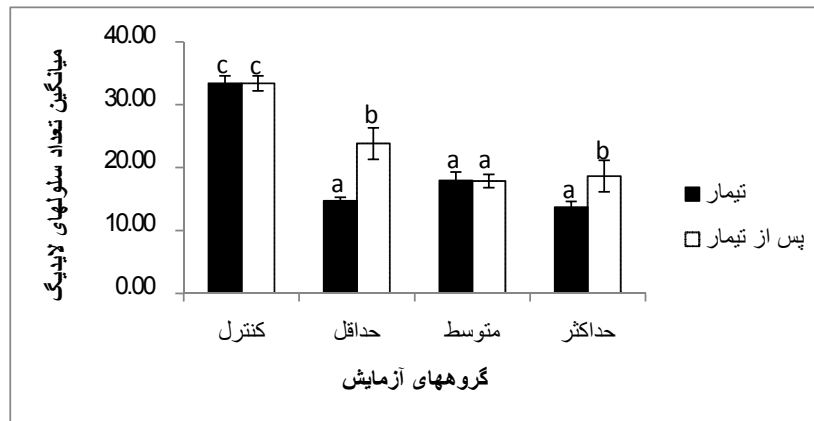
جدول ۵ - نتایج اثر عصاره پوست لیمو ترش بر تعداد سلولهای لایدیگ در گروه‌های تجربی و کنترل ($\bar{X} \pm SE$)

گروه‌های مختلف	کنترل	گروه تجربی با دوز حداقل عصاره (۵۰ mg/kg)	گروه تجربی با دوز متوسط عصاره (۱۰۰ mg/kg)	گروه تجربی با دوز حداکثر عصاره (۱۵۰ mg/kg)
دوره آزمایش				
تیمار	۳۳/۴۰ ± ۱/۲۰ c	۱۴/۷۴ ± ۰/۵۸* a	۱۷/۹۹ ± ۱/۳۳* a	۱۳/۷۱ ± ۰/۹۱* a
پس از تیمار	۳۳/۴۰ ± ۱/۲۰ c	۲۳/۸۳ ± ۲/۵۰* b	۱۷/۸۸ ± ۱/۰۶* a	۱۸/۶۶ ± ۲/۵۰* b

* سطح معنی دار ($P < 0/05$) Duncan^{a,b}



نمودار ۴ - مقایسه میانگین غلظت پلاسمایی هورمون تستوسترون برحسب ng/ml در گروه‌های مختلف گروه‌های دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی داری را با هم نشان نمی‌دهند



نمودار ۵ - مقایسه میانگین تعداد سلولهای لایدیگ در گروه‌های مختلف گروه‌های دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی داری را با هم نشان نمی‌دهند

دارویی نقش مهمی بر روی کاهش تولیدمثل ایفا می‌کند (۱)

نتایج حاصل از تعداد سلول‌های سرتولی و لایدیگ کاهش معنی‌داری ($P < 0.05$) را در گروه‌های تجربی در مقایسه با گروه کنترل نشان داد (جدول ۵ و ۶).

مدت‌هاست که مشخص شده باروری مردان با غلظت اسپرم متناسب است. حد بحرانی تعداد اسپرم که برای بروز حاملگی ضروری است، ۲۰ میلیون اسپرم در هر میلی‌متر مکعب مایع منی است و مردانی که تعداد اسپرم آنها از ۲۰ میلیون اسپرم در میلی‌لیتر کمتر است میزان باروری آنها کاهش می‌یابد. بقای نسل، انسان را به این سمت می‌کشاند که تاثیرمواد مختلف بر سیستم‌های بدن از جمله سیستم تولیدمثلی را که ادامه نسل، به آن وابسته است بررسی نماید (۷، ۹ و ۱۵).

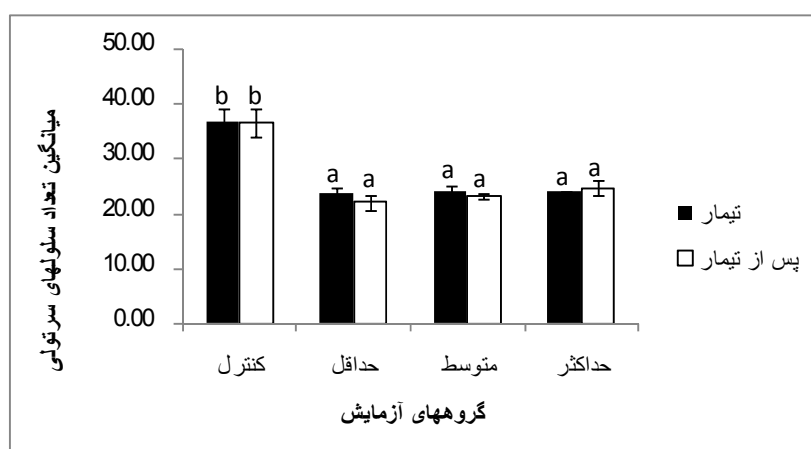
بحث و نتیجه‌گیری

در عصر حاضر با توجه به اثرات درمانی و تأثیرات قابل توجه گیاهان دارویی نسبت به داروهای شیمیایی بررسی اثر این گیاهان در دستور کار محققین قرار گرفته است. از آنجایی که یکی از مهمترین مشکلات در جوامع افزایش رشد جمعیت است به همین منظور بررسی روی اثرات گیاهان دارویی ضروری می‌باشد زیرا بعضی از گیاهان

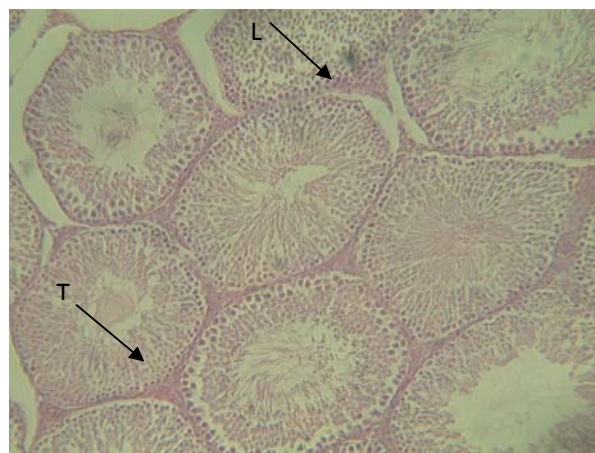
جدول ۶ - نتایج اثر عصاره پوست لیمو ترش بر تعداد سلولهای سرتولی در گروه‌های تجربی و کنترل ($\bar{X} \pm SE$)

گروه‌های مختلف	کنترل	گروه تجربی با دوز حداقل عصاره (۵۰ mg/kg)	گروه تجربی با دوز متوسط عصاره (۱۰۰ mg/kg)	گروه تجربی با دوز حداکثر عصاره (۱۵۰ mg/kg)
دوره آزمایش				
تیمار	۳۶/۶۰ ± ۲/۵۶ b	۲۳/۵۸ ± ۱/۰۸* a	۲۴/۱۰ ± ۱/۱۲* a	۲۳/۹۴ ± ۰/۲۹* a
پس از تیمار	۳۶/۶۰ ± ۲/۵۶ b	۲۲/۰۹ ± ۱/۳۵* a	۲۳/۲۷ ± ۰/۶۱* a	۲۴/۸۲ ± ۱/۳۰* a

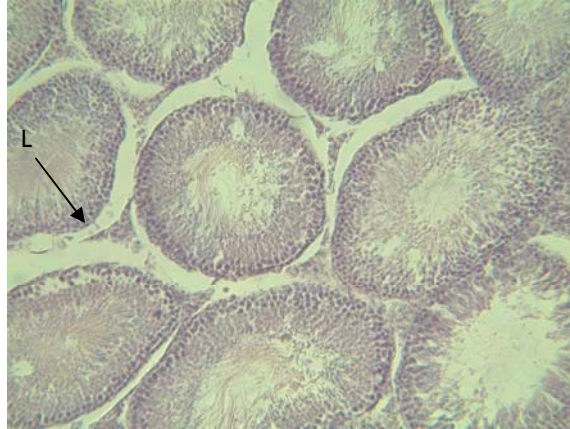
* سطح معنی دار ($P < 0.05$) Duncan^{a,b}



نمودار ۶ - مقایسه میانگین تعداد سلولهای سرتولی در گروه‌های مختلف گروه‌های دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی داری را با هم نشان نمی‌دهند.



تصویر ۱- فتومیکروگراف از برش عرضی لوله‌های منی‌ساز در گروه کنترل بزرگنمایی ۱۰ X: رنگ آمیزی: هماتوکسیلین - اتوزین T: توبول
L: سلول بینابینی



تصویر ۲- فتو میکروگراف از لوله های منی ساز در گروه تجربی با دوز حداقل (۵۰mg/kg) بزرگنمایی ۱۰ X: رنگ آمیزی: هماتوکسیلین - اتوزین L: سلول بینابینی



تصویر ۳- فتومیکروگراف از لوله های منی ساز در گروه تجربی با دوز متوسط (۱۰۰mg/kg) بزرگنمایی ۱۰ X: رنگ آمیزی: هماتوکسیلین - اتوزین L: سلول بینابینی



تصویر ۴- فتومیکروگراف از برش عرضی لوله های منی ساز در گروه تجربی با دوز حداکثر عصاره (۱۵۰mg/kg) بزرگنمایی ۱۰ X: رنگ آمیزی: هماتوکسیلین - اتوزین T: توبول L: سلول بینابینی

(جدول و نمودار ۳) در بقیه گروه‌ها نسبت به گروه کنترل اختلاف معنی‌داری نداشته است که می‌تواند به علت اثرات تعدیلی اینهیبین، اکتیوین و فولیستاتین باشد به استثنای مکانیسم فیدبکی که به وسیله استروئیدهای بیضه اعمال می‌گردد، با تاثیر مرکزی بر هورمون آزاد کننده گنادوتروپین در تعدیل و تنظیم هورمون محرکه فولیکولی نقش ایفا می‌نماید و همچنین عدم تغییرات هورمون محرکه فولیکولی ناشی از آهسته‌تر بودن کلیرانس متابولیکی آن نسبت به هورمون LH نیز می‌باشد (۲).

میانگین غلظت پلاسمایی هورمون تستوسترون به جز در گروه تجربی با دوز حداقل در دوره تیمار و گروه تجربی با دوز حداکثر در دوره پس از تیمار در بقیه گروه‌های دریافت کننده عصاره پوست گیاه لیموترش نسبت به میانگین غلظت پلاسمایی هورمون تستوسترون در گروه کنترل تغییر معنی‌داری نشان نداده است اما افزایش کمی که در این دو گروه مذکور مشاهده شده است (جدول و نمودار ۴) ممکن است به دلیل وجود ترکیبات فلاونوئیدی موجود در پوست گیاه باشد چرا که فلاونوئیدها با ممانعت از فعالیت آنزیم‌های مداخله‌گر در متابولیسم تستوسترون مانند آروماتاز باعث افزایش سطح سرمی هورمون تستوسترون می‌گردند. تحقیقات نشان داده است که در پوست گیاه، فلاونوئیدها مانع از عملکرد ۵ آلفا ردوکتاز می‌گردند پس بدین ترتیب از تبدیل تستوسترون به دی-هیدرو تستوسترون ممانعت به عمل می‌آورند و در نتیجه میزان هورمون تستوسترون افزایش می‌یابد. (۲) بعلاوه احتمال دارد که تستوسترون از بقیه بافتها ترشح شده باشد. مثلاً احتمال دارد از لایه رتیکولاریس بخش قشری آدرنال که آندروژنهایی مثل تستوسترون را ترشح می‌کند به علت تحریک پذیری این ناحیه، تستوسترون اضافی از این ناحیه ترشح شده باشد. (۵)

اثر فیتواستروژن‌ها بر LH و FSH در رت‌ها بحث برانگیز است. برخی تحقیقات نشان داده اند که فیتواستروژن‌ها بر

در تحقیق حاضر اثر عصاره پوست لیموترش بر اسپرماتوژنز و مقدار هورمون‌های FSH، LH و تستوسترون در موش صحرائی نر مورد بررسی قرار گرفته است. نتایج حاصل از تزریق عصاره نشان داد تعداد سلول‌های لایدیگ و سرتولی در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌داری ($P < 0.05$) پیدا کرده است (جدول و نمودار ۵ و ۶). گزارش‌های موجود، حاکی از این است که روند اسپرماتوژنز به یک سری تداخل‌های سلول به سلول بستگی دارد (۱۳). در این میان می‌توان به تداخل عمل سلول‌های لایدیگ و سرتولی اشاره نمود. تحقیقات نشان می‌دهد که فقدان سلول‌های لایدیگ و کاهش ترشح اکسی‌توسین توسط سلول‌های لایدیگ به افزایش تخریب اسپرماتوسیت‌ها منجر می‌شود. همچنین با توجه به اینکه تمایز و ترشحات سلول‌های لایدیگ توسط لوله‌های منی ساز کنترل می‌شود و برعکس، عمل تکثیر سلول‌های زاینده در لوله‌های اسپرم ساز را سلول‌های لایدیگ کنترل می‌کنند، باید پذیرفت که کاهش معنی‌دار انواع سلول‌های زاینده در لوله‌های منی‌ساز باعث مهار سلول‌های لایدیگ و مهار این سلول‌ها نیز به نوبه خود باعث کاهش پیشرفت روند اسپرماتوژنز شده است (۱۰). نتایج این تحقیق نشان داد که غلظت هورمون LH در گروه‌های تجربی در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌داری ($P < 0.05$) پیدا کرده است (جدول و نمودار ۲) که به نظر می‌رسد به دلیل کاهش GnRH از هیپوتالاموس می‌باشد (۱۰). همانگونه که ذکر شد در این گیاه ترکیباتی از جمله فلاونوئیدها و مونوترپن‌ها موجود می‌باشد. فلاونوئیدها جزء دسته‌ای از ترکیبات به نام فیتواستروژن‌ها هستند (۱۰). فیتواستروژن‌ها ترکیبات طبیعی مشتق از گیاهانی می‌باشند که عملاً ساختمانی مشابه استروژن دارند و می‌توانند بر محور هورمون‌های جنسی موثر باشند. همچنین دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی، ضدآلرژی، ضد التهابی و ضد سرطانی هستند (۴) و میانگین غلظت پلاسمایی هورمون FSH به جز گروه تجربی با دوز متوسط عصاره در دوره تیمار

لیموترش از طریق کاهش هورمون‌های LH و کاهش تعداد سلول‌های بینابینی، احتمالاً عامل تغییر دهنده پتانسیل تولید مثلی جنس نر باشد و ممکن است مهار تکثیر سلولی را موجب گردیده و در نتیجه باعث کاهش روند اسپرماتوزن شده است. به هر حال لازم است تحقیقات گسترده‌تری در این زمینه انجام گیرد. پیشنهاد می‌شود در پژوهش‌های بعدی اثرات گیاه در دراز مدت نیز بررسی شود.

سپاسگزاری

بدین وسیله از تمامی همکارانی که ما را در اجرای این تحقیق یاری رسانده اند تشکر و قدردانی می‌گردد.

خصوصیات اسپرم اثر گذار نیستند. از طرف دیگر نتایج برخی مطالعات حاکی از آن است که تعداد و تحرک اسپرم وابسته به دوزهای فیتواستروژن، کاهش نشان داده است. همچنین مشاهده شده است که برخی فیتواستروژن‌ها مثل زارالنون (Zearalenone) اثر رقابتی دارد اما برخی مثل ژنستین (Genestin) اثر افزایشی نشان می‌دهد. گزارش شده است که اثر رژیم فیتواستروژن مستقل از تغییرات محور هیپوفیز - گناده است و امکان دارد اثر مستقیم بر گناده داشته و باعث تغییرات سطح هورمون‌ها شود (۱۱). مقایسه مطالعات مختلف ممکن است بیانگر تفاوت نوع ترکیبات شیمیایی - گیاهی، سن حیوان آزمایش شده و نوع فیتواستروژن مطالعه شده در هر پژوهشی باشد و از نتایج حاصله به نظر می‌رسد که عصاره هیدروالکلی پوست

منابع

۱. نسیمی، م.، حیدری نصرآبادی، م.، و شیروی، ع.، ۱۳۹۱. اثرات عصاره الکلی میوه عروسک پشت پرده (*Physalis alkekengi*) بر تولید مثل و جنین در موش صحرایی نژاد
۲. Azarneoshan, F., Khatamsaz, S., and Sadegh, H., 2009. The effects of hydroalcoholic extract of *Dorema aucheri* on blood concentration of gonadotropin and androgen hormones in adult rats. *Armaghan Danesh*: 14(3):65-70.
۳. Dehghani, F., Azizi, M., and Panjeshahin, M. R., 2008. Toxic effects of hydroalcoholic extract of *Citrullus colocynthis* on pregnant mice. *Iranian Journal of Veterinary Research, Shiraz University*: 9: 42-5.
۴. Farsam, H., Amanlou, M., Dehpour, A. R., and Jahaniani, F., 2000. Antiinflammatory and analgesic activity of *Biebersleinia multifida* DS, Root extract. *J Ethnopharm*, 71(3):443-447.
۵. Ganong, W. F., 1999. Text book of medical physiology. 19th ed. Translated by Shadan, and Motamedi, F. Vol. 1:591
۶. Kirbaslar, F. G., Tavman, A., Dulger, B., and Tavman, G. 2009. Antimicrobial activity of turkish citrus peel oil. *Pak J Bot*, 41(6): 3207-3212.
۷. Kuroyangi, M., Ishii, H., Kawahara, N., Sugimoto, H., Yamada, H., Okihara, K., and Shirota, O., 2008. Flavonoid glycosides and limonoid from *Citrus molasses*. *J Nat Med Pharmacognosy*, 62: 107-111.
۸. Leung, A. Y., and Foster, S., 1996. *Encyclopedia of common natural ingredients used in food, drugs and cosmetics*. 2th ed, New York. 152-4.
۹. Miyake, Y., Yamamoto, K., Tsujihara, N. and Osawa, T., 1998. Protective effects of lemon flavonoids on oxidative stress in diabetic rats. *Lipids*, 33: 689-695.
۱۰. Norman, J. F., and Way, J. M., 1998. Some ecological observation on the use of date pollen in hypothalamic hormones. *Endocrinol. Journal of chemical Ecology, ogy* . Vol (2), 532-548.
۱۱. Panjeshahin, M., Dehghani, F., Tahei, T., and Panahi, Z., 2005. The effects of hydroalcoholic extract of *Actindia chinesis* on sperm count and motility, and on the blood levels of estradiol and testosterone in male rats. *Archives of Iranian medicine*. 8(3): 211-216.
۱۲. Salvatore, A., Borkosky, S., Willink, E., and Bardon, A., 2003. Toxic effects of lemon peel constituents on *Ceratitis capitata*: 323-333.
۱۳. Sharp, R. M., 2006. Intratesticular factors controlling testicular function. *Biology of reproduction, Edinburgh, Scotland*, 30: 29-49.

14. Silalahi, J., 2002. Anticancer and health protective properties of citrus fruit components .department of pharmacy, University of Sumatra Utra, Medan, Indonesia, Asia Pac J clin Nutr 11(1): 79-84.
15. Tsai, B. Y., 2008. Effect of peels of lemon, orange and grapefruit against *Meloidogyne incognita*. Plant Pathol Bull.17:195-201.

The effect of hydro-alcoholic extracts of *Citrus aurantifolia* (bark) on the spermatogenesis and pituitary- gonadal axis hormones in adult male rats

Hemayatkhah Jahromi V.¹, Forozanfar M.², Farajmand M.¹ and Kargar Jahromi H.¹

¹ Biology Dept., Islamic Azad University, Jahrom Branch, Jahrom, I.R. of Iran

² Biology Dept., Islamic Azad University, Marvdasht Branch, Marvdasht, I.R. of Iran

Abstract

Citrus aurantifolia is one of the important herbs which are used in the treatment of various diseases. This investigation was carried out to evaluate the effects of *Citrus aurantifolia* bark on the pituitary-gonadal axis hormones and spermatogenesis in adult male rats. The control animals received food and drinking water. The experimental groups were divided into two periods: treatment (by two weeks injection) and post treatment (one week without injection). The hydro-alcoholic extracts *Citrus aurantifolia* at different dose of 50,100 and 150 mg/kg body weight, were injected intraperitoneally for two weeks in the treatment animals. The control group was untreated. After the last injection, the number of Sertoli and Leydig cells was calculated. Also, the hormonal changes were analyzed by ELIZA technique. Statistical analysis of the results revealed a significant decrease ($p \leq 0.05$) on the number of Sertoli and Leydig cells. In addition, the results showed a significance decrease in the level of LH in the treatment group; while the level of testosterone and FSH hormone didn't indicate significant change in the treatment group with respect to the control group. According to the results of this study, the hydro-alcoholic extract of *Citrus aurantifolia* may affect on the pituitary-gonadal axis activity and decrease the level of LH hormone and the number of Leydig cells in adult male rats.

Key words: *Citrus aurantifolia* bark, rat, testosterone, FSH, LH