مقاله پژوهشی

ارمغان دانش، مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج
دوره ۱۸، شماره ۷، آبان۱۳۹۲(شماره پی در پی۷۹)

تأثیر اسید آبسیزیک بر میزان هورمون‌های جنسی سرم و بافت بیضه درموش‌های صحرایی نر بالغ

پروین حیدری، سعید خاتم ساز*، مهرداد شریعتی

گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کازرون، کازرون، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۱/۱۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۲/۲۵

چکیده

زمینه و هدف: امروزه تأثیرات مصرف مواد غذایی با منشا گیاهی در حفظ سلامت افراد و بهبود بسیاری از بیماری‌ها مورد توجه قرار گرفته است. هدف این بررسی مطالعه تأثیر اسید آبسیزیک بر میزان هورمون‌های جنسی سرم و بافت بیضه درموش‌های صحرایی نر بالغ بود.

روش بررسی: این مطالعه تجربی بر روی ۵۰ سر موش صحرایی نر که به صورت تصادفی به ۵ گروه مساوی کنترل، شاهد و تجربی ۱، ۲ و ۳ تقسیم شدند. در گروه کنترل هیچ تیمار دارویی صورت نگرفت. گروه شاهد روزانه آب مقطر به عنوان حلال دارو دریافت کردند. گروه‌های تجربی ۱، ۲ و ۳ به ترتیب مقادیر ۲۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصارهٔ حاوی هورمون گیاهی آبسیزیک اسید به مدت ۴۰ روز به صورت خوراکی دریافت کردند. از تمام گروه‌ها در پایان روز چهلم خون‌گیری به عمل آمد و غلظت سرمی هورمون‌های LH، FSH، دی هیدروتستوسترون و تستوسترون به روش الایزا اندازه‌گیری شدند. هم‌چنین تغییرات بافتی بیضه بعد از تهیهٔ نمونه‌های بافتی به وسیله میکروسکوپ نوری و شمارش سلول‌های دودمان اسپرم بین گروه‌های تجربی و کنترل نیز بررسی شد. داده ها با آزمون های آماری آنالیز واریانس و تست تی تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: مصرف عصاره حاوی اسید آبسیزیک با مقادیر ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در پایان روز چهلم باعث افزایش معنی‌دار غلظت سرمی هورمون تستوسترون نسبت به گروه کنترل شد($p<۰/۰۵$). اختلاف معنی‌داری در غلظت سرمی هورمون‌های LH، FSH و دی هیدروتستوسترون در گروه‌های تجربی نسبت به گروه کنترل مشاهده نشد($p>۰/۰۵$). در زنجیره اسپرماتوژنز نیز اختلاف معنی‌داری در تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتید، اسپرماتوسیت اولیه، سرتولی، بینابینی بین گروه‌های تجربی و کنترل مشاهده نشد($p\geq۰/۰۵$). از نظر بافت‌شناسی در لوله‌های منی‌ساز و نیز سلول‌های رده اسپرماتوژنز نیز تغییری دیده نشد.

نتیجه‌گیری: احتمالاً اسید آبسیزیک در طی دوره ۴۰ روزه **از** طریق تأثیر بر عملکرد گیرنده‌های N- متیل دی آسپارتات و رسپتورهای γ فعال شده به وسیله پروکسی زوم و فعال شدن گیرنده‌های LH در سلول‌های لایدیگ منجر به افزایش فعالیت بیضه برای ترشح تستوسترون می‌شود.

واژه‌های کلیدی: اسید آبسیزیک، تستوسترون، دی هیدروتستوسترون، LH، FSH، محور هیپوفیز گناد

*نویسنده مسئول: **دکتر سعید خاتم‌ساز**، کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، دانشکده علوم پایه، گروه زیست‌شناسی

Email: saeed1617@yahoo.com

مقدمه

فرآیند تولیدمثل در پستانداران تحت تأثیر عوامل مختلفی قرار دارد و با دخالت محورهای عصبی و هورمونی متعددی فعالیت می‌کند. به خاطر اهمیت حیاتی این فرآیند، در طول تاریخ توجه فراوانی به آن معطوف شده است و از روش‌های گوناگونی برای تنظیم باروری و رفع اختلالات آن در حیوانات اهلی و انسان استفاده شده است. در این میان گیاهان دارویی کاربرد فراوانی داشته اند و در برخی موارد برای مقابله با اختلالات تولیدمثلی به کار رفته‌اند و با موفقیت‌هایی همراه بوده‌اند. در میان ترکیبات گیاهی که کاربرد دارویی داشته‌اند، فیتوهورمون‌ها از پتانسیل بیشتری برخوردار هستند، زیرا طبق تعریف هورمون، باید بتوانند در تراکم‌های ناچیز اثرات فیزیولوژیکی فراوانی بر جای گذارند. هورمون تحریک کنندهٔ هورمون‌های گنادوتروپین ازناحیه پره اپتیک و هسته قوسی هیپوتالاموس ترشح می‌شود که یک هورمون دکا پپتیدی است. این هورمون پس از ساخته شدن، از طریق انتهای اعصاب تولید کنندهٔ هورمون، وارد برجستگی هیپوتالاموس شده و در آنجا وارد عروق باب هیپوتالاموس هیپوفیز می‌شود. سپس با جریان خون باب، به هیپوفیز پیشین انتقال یافته و با تأثیر بر سلول‌های ترشح کنندهٔ هورمون‌های گنادوتروپین، باعث تحریک ترشح LH و FSH می‌شود(۱ و۲). گنادو تروپین‌ها سبب تحریک ترشح و آزاد سازی هورمون‌های استروئیدی (استروژن، پروژسترون و آندروژن‌ها) می‌شوند و همچنین با اثر بر روی مغز رفتار تولید مثلی را کنترل می‌کنند(۳).

یکی از گروه‌های پنج‌گانه فیتوهورمون‌های اصلی اسید آبسیزیک است که در بخش‌های مختلف تمام گیاهان، از جمله ریشه‌ها و دانه‌ها وجود دارد(٤). اسید آبسزیک در فرآیندهای مهم فیزیولوژیکی گیاهان، مانند پاسخ به استرس، تنش خشکی و خفتگی دخالت دارد(٥). از آنجا که غذای عمده انسان و جانوران از گیاهان، به ویژه ریشه و دانه به عنوان منبع اسید آبسزیک، تأمین می‌شود، توجه خاصی به اسید آبسزیک به عنوان یک نامزد برای کاربردهای زیست پزشکی شده است. براساس تحقیقاتی که بر روی اسید آبسیزیک انجام شده است، نقش این ماده در موارد زیر مشخص شده است؛ می‌تواند قند خون ناشتا را بهبود بخشد(٦)، با تأثیر برگیرندهٔ هسته‌ای PPARγ[1] اثرات آنتی‌دیابتیک خود را برجای می‌گذارد(۷)، گنادوتروپین‌های کریونی انسان را کاهش و سطح آنها را تغییر می‌دهد، در فاز S چرخه سلولی تأثیر می‌گذارد و باعث القاء آپوپتوزسیس می‌شود(۹ و ۸). از آنجا که کلسیم از طریق سیگنال‌دهی یک نقش کلیدی را در تنظیم آپوپتوزسیس بازی می‌کند، تغییر در توزیع کلسیم در سلول‌های فعال می‌تواند آبشاری را القا نماید که به مرگ سلولی می‌انجامد. ظاهراً اسید آبسزیک به طور مکانیکی بعضی از این مسیرها را فعال می‌کند(۱۰). بنابراین، اسید آبسیزیک می‌تواند به درمان سرطان کمک نماید، زیرا از طریق افزایش تراکم(peroxisomeproliferator-activated receptor γ(PPARγ و (*N*-methyl-D-aspartate)

NMDA، کلسیم داخل سلولی منجر به مرگ سلول‌های سرطانی می‌شود(۹ و ۸)، مقاومت به انسولین را در موش‌های مبتلا به چاقی مفرط بهبود می‌بخشد و چاقی و التهاب را در آنها درمان می کند(۱۰). بدون تأثیر بر وزن بدن باعث کاهش تری گلیسرید پلاسما در موش می‌شود(۶)، فعالیت PPARγPG را در سیستم ایمنی بدن افزایش می‌دهد(۱۰).

مطالعات نشان داد که تستوسترون عامل بقای روند اسپرماتوژنز می‌باشد، به خصوص تبدیل اسپرماتیدهای گرد به اسپرماتیدهای دراز نیاز شدید به تستوسترون دارند. به‌علاوه FSH و تستوسترون در مرحله نهایی اسپرمیوژنز از طریق افزایش میزان کلسیم درون سلولی و اتصالات شکاف‌دار بین سلول‌ها نقش خود را اعمال می‌کنند و باعث تشدید این مرحله می‌شوند(۱۱). با توجه به اثرات گسترده حیاتی فوق برای اسید آبسیزیک و دخالت گیرنده‌های هسته‌ای PPARγ در فرایندهای گوناگون، این احتمال وجود دارد که اسیدآبسیزیک بر محور هیپوفیز_ گناد و فرآیند اسپرماتوژنز نیز تأثیر بگذارد. از طرف دیگر، به‌خاطر پایداری زیاد ملکول اسیدآبسیزیک و وجود آن در دانه‌ها، از جمله غلات مانند گندم، خواسته یا ناخواسته به‌طور روزانه مقداری اسید آبسزیک وارد بدن انسان‌ها می‌شود. لذا هدف این مطالعه بررسی مطالعه تأثیر اسید آبسیزیک بر میزان هورمون‌های جنسی سرم و بافت بیضه درموش‌های صحرایی نر بالغ بود.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی، ۵۰ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۲۰-۲۱۰ گرم و سن ۳ تا ۲/۵ از مرکز پرورش حیوانات آزمایشگاهی مؤسسه سرم‌سازی رازی شیراز تهیه شده و جهت انجام آزمایش به مرکز پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون منتقل شدند. کلیه حیوانات در شرایط نوری استاندارد ۱۲ ساعت روشنایی(از ساعت ۶ صبح تا ۶ عصر) و ۱۲ ساعت تاریکی(از ساعت ۶ عصر تا ۶ صبح) قرار گرفته‌اند و در هر قفس یک ظرف آب‌خوری قرار می‌گرفت. هر روز غذای فشرده شده مخصوص رت در اختیار آنها قرار می‌گرفت. از لحاظ خوردن و آشامیدن هیچ محدودیتی ایجاد نمی‌شد. حیوانات به صورت تصادفی به ۵ گروه مساوی در قالب گروه‌های کنترل، شاهد و تجربی۱، ۲ و ۳ تقسیم شدند. در گروه کنترل کلیه شرایط با سایر گروه‌ها یکسان بود. حیوانات این گروه به جزء آب و غذا هیچ تیمار خاصی را دریافت نکردند. گروه شاهد که هر روز ۲ سی سی آب مقطر به صورت خوراکی(گاواژ به داخل دهان) دریافت کردند. در این گروه کلیه شرایط با گروه کنترل یکسان بود از لحاظ خوردن و آشامیدن هیچ محدودیتی ایجاد نمی‌شد. گروه‌های تجربی۱، ۲ و ۳ به ترتیب مقادیر ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی گرم برکیلوگرم عصاره آبسیزیک اسید را دریافت نمودند(۱۰، ۹ و ۴). از تمام گروه‌ها در پایان روز چهلم ۲۴ ساعت بعد از دریافت آخرین نوبت عصارهٔ حاوی هورمون، خون‌گیری

مستقیم از قلب به عمل آمد. از هر موش حدود ۴-۳ میلی‌لیتر خون در لوله آزمایش استریل شده که فاقد ماده ضد انعقاد بود جمع‌آوری شد. نمونه‌های خونی جمع آوری شده به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد تا سرم از لخته جدا شود سرم‌های جدا شده تا زمان سنجش هورمونی در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد برای اندازه‌گیری غلظت سرمی هورمون‌های LH، FSH، تستوسترون و دی هیدرو تستوسترون نگهداری شدند. اندازه‌گیری هورمونی بر اساس روش‌های معمول با استفاده از روش‌های الایزای و ELISA انجام گرفت.

پس از خون‌گیری مستقیم از قلب به سرعت بیضه‌های حیوانات خارج شده و بیضه‌های چپ و راست هر گروه به تفکیک توزین گردید. هم‌چنین برش بافتی از بیضه‌ها انجام شد. آن‌گاه تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت اولیه، اسپرماتید، سرتولی و بینابینی در گروه‌های مختلف مورد شمارش میکروسکوپی و بررسی آماری قرار گرفت.

در این پژوهش برای استخراج اسید آبسیزیک از دانه گندم استفاده گردید. گندم مورد استفاده در این پژوهش از نوع پیشتاز با کشت دیم بود. در ابتدا گندم مورد استفاده به وسیله آسیاب برقی پودر شد. سپس ۲۰۰ گرم از گندم پودر شده برای انحلال بهتر در ۴۰۰۰ میلی‌لیتر محلول استخراج در هاون چینی طی چند مرحله ساییده شد. نمونه‌های پودر شده در تاریکی و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت حداقل ۲۴ ساعت نگهداری شد تا عمل انحلال هورمون‌ها به خوبی صورت گیرد. نمونه‌های پودر شده به وسیله کاغذ صافی واتمن شماره ۱ فیلتر شد و بافت‌های باقیمانده بر روی فیلتر سه بار توسط محلول استخراج شستشو شدند. متانول اضافی به وسیله دستگاه تقطیر، تقطیر شده و سپس هم حجم محلول باقیمانده، بافر فسفات ۰/۵ مولار اضافه شد. سپس با اضافه کردن پتاس ۰/۲ نرمال pH محلول به ۸/۵ رسانیده شد. به محلول به دست آمده به میزان برابر اتیل‌استات اضافه شد تا بخشی از ناخالصی‌ها در آن حل شود. در این مرحله محلول دارای دو فاز متفاوت می‌گردد. این محلول را ورتکس(با دست این قدر تکان داده تا محلول دو فازی شود) کرده و فاز بالایی(اتیل‌استات) دور ریخته شد و باقیمانده اتیل‌استات به وسیله دستگاه تقطیر شد(۱۲). برای تهیه اسید آبسیزیک مورد نیاز در این پژوهش به دفعات مکرر مراحل استخراج انجام شد.

روش تجویزعصارهٔ حاوی هورمون گیاهی آبسیزیک اسید به صورت خوراکی(گاواژ به داخل دهان) بود، به این صورت که هر روز سر ساعت معین(حدود ۸ صبح) به مدت ۴۰ روز، با کمک سرنگ انسولینی دارای فیدر به هر کدام از موش‌های گروه‌های تجربی مختلف۲ سی‌سی از محلول حاوی عصاره اسیدآبسیزیک با غلظت‌های مناسب خورانیده می‌شود. برای خوراندن دارو موش‌ها در وضعیت خاص نگهداشته می‌شد، سپس به آرامی نوک نیدل را از طرف دهان وارد حلق و مری کرده و پس از

اطمینان از ورود نیدل به مری، سرنگ حاوی عصاره تخلیه می‌شد.

یافته‌ها

داده‌های جمع آوری شده با نرم افزار SPSS و آزمون‌های آماری آنالیز واریانس و تست تی تجزیه و تحلیل شدند. نتایج به دست آمده نشان داد، مصرف عصاره حاوی اسید آبسیزیک با مقادیر ذکر شده در پایان روز چهلم باعث تغییر معنی‌داری در غلظت سرمی هورمون LH، FSH و دی هیدروتستوسترون در گروه‌های تجربی نسبت به گروه کنترل نشد($P>۰/۰۵$). مصرف عصارهٔ حاوی اسید آبسیزیک در پایان روز چهلم باعث افزایش معنی‌دار غلظت سرمی تستوسترون در گروه‌های دریافت کننده اسید آبسیزیک نسبت به گروه کنترل شد($P<۰/۰۵$)(جدول۱).

بررسی فتومیکروگراف تهیه شده از مقطع عرضی لوله‌های اسپرم ساز در گروه تجربی ۳(دریافت کننده ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره آبسیزیک) و مقایسه آن با گروه کنترل نشان داد که تفاوت معنی‌داری در تعداد، شکل و اندازهٔ سلول‌های دودمان اسپرم(اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت اولیه، سلول های سرتولی و لایدیگ) در گروه‌های تجربی نسبت به گروه کنترل و شاهد بعد از یک دوره زمانی ۴۰ روزه نشان نداد($P\geq۰/۰۵$)(جدول۲).

جدول۱: مقایسهٔ میانگین و انحراف معیار غلظت سرمی هورمون‌هایLH، FSH، تستوسترون و دی هیدروتستوسترون در گروه‌های مورد مطالعه ۴۰ روز پس از مصرف عصارهٔ حاوی آبسیزیک اسید

متغیر / گروه	LH (واحد بین المللی بر میلی‌لیتر)	FSH (واحد بین المللی بر میلی‌لیتر)	تستوسترون (نانوگرم بر میلی‌لیتر)	دی هیدرو تستوسترون (نانوگرم بر میلی‌لیتر)
کنترل	۰/۲۹ ± ۰/۰۲	۰/۴۹± ۰/۰۲	۲/ ۳± ۰/۲۴	۱/۷۹ ± ۰/۲۱
شاهد	۰/۲۷ ± ۰/۰۳	۰/۵۰ ± ۰/۰۳	۲/۴۱ ± ۰/۳۹	۱/۸± ۰/ ۲۳
تجربی۱	۰/۲۸ ± ۰/۰۲	۰/۵۰ ± ۰/۰۳	۲/۹۳ ±۰ /۵۶	۱/ ۸±۰ /۲۴
تجربی۲	۰/۲۹ ± ۰/۰۳	۰/۵۱ ± ۰/۰۲	۴/۳۲ ±۰ /۶۱*	۱/۹۵ ±۰ /۲۶
تجربی۳	۰/۳۴ ± ۰/۰۱	۰/۵۲± ۰/۰۵	۵/۴۷ ± ۰/۵۷*	۱/۹۳ ± /۲۷

* اختلاف معنی‌دار بین گروه های تجربی و کنترل($P\leq۰/۰۵$)

جدول ۲ : مقایسهٔ میانگین و انحراف معیار تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت اولیه، اسپرماتید، بینابینی و سرتولی در گروه‌های مورد مطالعه ۴۰ روز پس از مصرف عصارهٔ حاوی اسیدآبسیزیک

متغیر / گروه	تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی	تعداد سلول‌های اسپرماتوسیت اولیه	تعداد سلول‌های اسپرماتید	تعداد سلول های سرتولی	تعداد سلول‌های بینابینی
کنترل	۵۸/۵۶ ± ۱/۳۳	۵۶/۷ ±۱/.۵	۱۵۰/۵ ± ۴/۳۷	۱۱/۴±/۴۵	۱۳/۷ ±/۶۳
شاهد	۵۶/۹۲ ±۲/۳۴	۵۶/۸۰ ±۱/۳۴	۱۴۹/۶۰ ±۲/۱۳	۱۱/۴ ± ۰/۳۷	۱۳/۵± ۰/۵۵
تجربی۱	۵۷/۷۶ ± ۲/۴۲	۵۶ ± ۱/۲۹	۱۴۸/۷ ± ۲ /۰۱	۱۱/۲ ± ۰/۵۳	۱۳/۴ ± ۰/۵۶
تجربی۲	۵۹/۳ ± ۲/۲۷	۵۶ ± ۱/۳۲	۱۵۲/۶ ± ۲/۲۱	۱۰/۸± ۰/۴۹	۱۳/۸ ± ۰/۶۶
تجربی۳	۵۹/۶ ± ۱/۹۸	۵۵/۳ ± ۱/۲۹	۱۴۸/۵ ± ۲/۳۳	۱۰/۶ ± ۰/۴۵	۱۳/۵ ± ۰/۴۵

بحث

نتـایج مطالعـه حاضـر نـشان داد، مـصرف عصارهٔ حاوی اسید آبسیزیک با مقادیر داده شـده در پایان ۴۰ روز تغییری در میزان هورمون‌های LH، FSH و دی‌هیدروتستوسترون نسبت به گروه کنتـرل ایجـاد نکرد. نتایج به‌دسـت آمـده از تـأثیر عـصارهٔ فـوق بـر میـزان هورمـون تـستوسترون نـشان مـی‌دهـد، ایـن عصاره با مقادیر ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگـرم در پایان روز چهلم باعـث افـزایش معنـی‌داری در غلظـت سرمی هورمون تستوسترون نسبت به گروه کنتـرل و شاهد می‌شد($P<۰/۰۵$). با توجه به تحقیقات گذشته بر روی اسید آبسیزیک مکانیزم عمل آن نـشان داده شـد کـه رسـپتورهای هـسته‌ای بـه‌خـصوص PPARγ در عملکرد اسـید آبـسیزیک بـسیار مهـم هـستند و اسـید آبسیزیک به عنوان یک آگونیسم PPARγ شناخته شـده است کـه باعـث افـزایش فعالیـت PPARγ مـی‌شـود(۱۴ و۱۳). از طرف دیگر در مطالعاتی کـه بـر روی توزیـع گیرنده‌های هسته‌ای به‌خصوص PPARγ صورت گرفته است، پراکندگی این رسپتورها در محور هیپوتالاموس هیپوفیز گناد اثبات شده است. تجمع زیاد رسپتورهای PPARγ در گنادهـای جنـسی تخمـدان‌هـا و بیـضه‌هـا به‌خصوص به صورت گسترده در سلول‌های بینابینی لیدیگ و سلول‌های لوله‌های منی‌ساز و هم‌چنـین نقـش آن را در استروئیدوژنز و متابولیسم چربی‌ها به اثبات رسیده است(۱۵). با توجه به مطالعه‌ای که ارتباط منفی افزایش بیان رسپتورهای LH و FSH بـا mRNA مربـوط به PPARγ را نشان می‌دهـد، فـرض بـر ایـن اسـت کـه تنظیم PPARγ در پاسخ به موج LH و FSH بـه صـورت تنظـیم پـایینی مـی‌باشـد(۱۶). از طـرف دیگـر مهـار رسپتورهای هسته‌ای PPARγ موجـود در سـلول‌هـای لیدیگ باعث مهار انتقال کلسترول به درون میتوکندری و مهار سـنتز اسـتروئیدها مـی‌شـود(۱۷). PPARγ بـه وسیله ژن‌های NR_1C_3 رمزگذاری می‌شود به‌طوری‌کـه موش‌های با نقص NR_1C_3 کاهش میزان تستوسترون را نشان می‌دهند (۱۸). بنابراین احتمالاً با توجه به شواهد اثبات شده احتمال دارد که یکی از دلایل افزایش غلظت تستوسترون اثر مستقیم اسید آبسیزیک بر PPARγ در سلول‌هـای لایـدیگ موجـود در بیـضه باشـد(۱۵). در مطالعه‌ای افزایش[۱] NMDA در جنس نر نسبت به ماده را نـشان داده و تـأثیر آن در نـورون‌هـای ناحیـه پـره‌اپتیـک هیپوتـالاموس در ترشـح GnRH و افـزایش تستوسترون را به اثبات رسانیده اسـت(۱۹). بنـابراین می‌توان یکی دیگر از دلایل افزایش تستوسترون را بـه اثر تقویتی اسید آبسیزیک بر NMDA و اثر آن بر تولید تستوسترون دانست(۲۰).

از طـرف دیگـر NMDA منجـر بـه افـزایش LH می‌شود(۲۳-۲۱). اثرات تحریکـی گیرنـده NMDA روی ترشحLH هنگامی که با فعالیت سیـستم سـروتونرژیک همراه باشد بلوکه می‌شود(۲۴). بنـابراین بـا توجـه بـه مطلب ذکر شـده و نتیجـه حاصـل از پـژوهش حاضـر اسید آبسیزیک باعث افزایش تستوسترون می‌شـود و با تأثیر برفعالیت سیستم سـروتونرژیک ترشـح LH را بلوکه می‌کند. اسـید آبـسیزیک بـه عنـوان یـک پیـامبر ثانویه عمل کرده و با اتصال متـوالی بـه گیرنـده‌هـای

غشایی باعث فعال شدن سcADP ریبوز و در نتیجه آزادسازی انسولین از جزایر لانگرهانس پانکراس انسان می‌شود(۲۵) .با افزایش میزان انسولین، میزان لپتین نیز افزایش می‌یابد(۲۷ و ۲۶) لپتین برپالس‌های هورمون LH مترشحه از هیپوفیز پیشین اثر گذاشته ومیزان LH کاهش می‌یابد(۲۸).

در این پژوهش غلظت هورمون تستوسترون در گروه‌های تجربی افزایش معنی‌داری را نسبت به گروه کنترل نشان می‌دهد. مطالعات نشان داده‌اند تستوسترون اثرات فیدبک منفی بر ترشح LH و GnRH دارا می‌باشد. به طوری که افزایش میزان هورمون تستوسترون باعث مهار ترشح LH می‌گردد، که این عمل از طریق مهار ترشح GnRH از هیپوتالاموس و اثر مستقیم بر گنادوتروپ‌های هیپوفیزی انجام می‌دهد(۳۰ و ۲۹). پس این احتمال وجود دارد که اگر هورمون LH در طی آزمایش زیاد شده باشد و منجر به افزایش تستوسترون شده باشد، ولی طی عمل فیدبک منفی و عملکرد لپتین و رسپتور PPARγ وNMDA کنترل شده است.

در مورد FSH احتمالاً مکانیزم فیدبکی فقط به وسیله استروئیدهای بیضه اعمال نمی‌شود، بلکه هورمون‌های اینهیبین اکتیوتین و فلوستاتین نیز تأثیر مرکزی بر روی GnRH در تنظیم غلظت FSH نقش دارند(۳۲ و ۳۱). از طرف دیگر در مطالعه تستو و همکاران(۲۰۰۲) اثر تقویتی PPARγ برهورمون‌های اینهیبین اکتیوتین و فلوستاتین به اثبات رسیده است که تعدیل FSH به وسیله اسید آبسیزیک به واسطه PPARγ را توجیه می‌کند(۳۳). با توجه به مطالعه‌ای که ارتباط منفی افزایش بیان رسپتورهای LH و FSH با mRNA مربوط به PPARγ را بیان می‌کند، نشان می‌دهد که تنظیم PPARγ در پاسخ به موج LH و FSH به صورت تنظیم پایینی می‌باشد(۱۶). پس به طور کلی می‌توان احتمال داد که کنترل مکانیسم فیدبکی اینهیبین و اکتیوین و عملکرد اسید آبسیزیک بر PPARγ دلیل عدم تغییر احتمالی FSH می‌باشد.

نتایج به دست آمده از پژوهش حاضر نشان می‌دهد از نظر بافت شناسی سلول‌های دودمان اسپرم تغییر معنی‌داری پیدا نکرده است. هورمون FSH اثرات مستقیمی بر روی سرعت تکثیر سلول‌های اسپرماتوگونی دارد(۳۴). به دنبال افزایش هورمون FSH سرعت تکثیر سلول‌های اسپرماتوگونی افزایش می‌یابد و با کاهش ترشح هورمون FSH کاهش در تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی دیده می‌شود، زیرا ارتباط مستقیمی بین ترشح FSH و تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی و تکثیر آنها دارد(۳۵ و ۳۲). ترشح هورمون LH برای رشد و تقسیم مناسب سلول‌های اسپرماتوگونی لازم است و ارتباط مستقیمی بین تکثیر و تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی با LH موجود در گردش خون افراد بالغ وجود دارد. با کاهش و افزایش ترشح این هورمون تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی هم کم و زیاد می‌شود(۳۰). یافته‌ها نشان می‌دهد که هورمون FSH اثرات مستقیمی بر تولید اسپرماتوسیت‌ها دارد و با کاهش و افزایش ترشح این هورمون تعداد این سلول‌ها هم کم و زیاد می‌شود(۳۵

و ۳۳). هم‌چنین هورمون FSH اثرات مستقیمی بر تولید اسپرماتوسیت‌ها در مرحله لپتوتن و پاکی تن دارد(۳۴). هورمون FSH باعث تکثیر سلول‌های اسپرماتوگونی و تمایز آنها به اسپرماتوسیت‌های اولیه می‌شود(۳۶). سلول‌های اسپرماتید کوچک‌ترین سلول‌های رده اسپرماتوژن می‌باشند و بین ۷ تا ۸ میکرون قطر دارند(۳۷). از طرفی مطالعات نشان می‌دهند که FSH برای اتصال و چسبیدن سلول‌های اسپرماتید به سلولهای سرتولی ضروری هستند(۳۸). پس با توجه به عدم تغییر مقدار سرمی FSH و هم‌چنین تبدیل شدن اسپرماتید به اسپرماتوزوا و عدم تغییر سلول‌های اسپرماتوسیت در پژوهش حاضر احتمال عدم تغییر تعداد سلول‌های اسپرماتید وجود دارد. از طرف دیگر سلول‌های تمایز نیافته در بافت بینابینی تحت اثر هورمون LH مترشحه از هیپوفیز پیشین قرار گرفته و به سلول‌های بینابینی تبدیل می‌شود(۳۹). بنابراین با توجه به عدم تغییر سرمی هورمون LH در تحقیق حاضر عدم تغییر در تعداد سلول‌های بینابینی منطقی به نظر می‌رسد. نتایج حاصله از مطالعات بافتی اختلاف معنی‌داری بین تعداد سلول‌های سرتولی و لایدیگ بین گروه‌های تجربی و کنترل نشان نمی‌دهد، هر چند مطالعات بیشتری در این زمینه لازم است.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق می‌توان نتیجه‌گیری کرد که مصرف اسید آبسیزیک باعث افزایش غلظت سرمی هورمون تستوسترون می‌شود. احتمال داده می‌شود افزایش کلسترول، مهار فعالیت آنزیم ۵- آلفا رودکتاز، افزایش فعالیت رسپتور PPARγ و افزایش رسپتور NMDA سنتز آندروژن‌ها از جمله تستوسترون را افزایش داده است. در صورتی که مطالعات بافتی سلول‌های دودمان اسپرم تغییرات معنی‌داری را نشان نداده است. پس احتمالاً مصرف اسید آبسیزیک بر محور هیپوفیز ـ گناد و روند اسپرماتوژنز تأثیر معنی‌داری ندارد، هر چند مطالعات بیشتری در این زمینه لازم است.

تقدیر و تشکر

این مطالعه حاصل پایان‌نامه کارشناسی ارشد علوم جانوری گرایش فیزیولوژی مصوب دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون است که با حمایت مالی این دانشگاه انجام شد.

REFERENCES:

1. Pralong F. The HPG axis, training cours in reproductive health research, 2008.
2. Groof LJ, Jameson JL. Endocrinology. 4th ed. WB: Saunders company; 2001; 2209-25.
3. Eun-Jin Y, Brian T, Naspak Darcy B. Kelley: Direct acyion of go nadotropin in brian integrates behavioral and reproductive function. PNAS 2007;1(7): 2477-82.
4. Bassaganya-Riera J, Skoneczka J, Kingston DGJ. Mechanisms of action and medicinal applications of abscisic acid. Current Medicinal Chemistry 2009; 14: 60.
5.Hoag T, Baolian L, Zhideng L, Jinyan Z, Jie Y, Juan Z. New use of natural abscisic acid in developing "differentation inducer" drugs of tumor cells. 2006.
6. Livingston V, Abscisic acid tablets and process. 1976.
7.Parihar A, Parihar MS, Ghafourifar P. Significance of mitochondrial calcium and nitric oxide for apoptosis of human breast cancer cells induced by tamoxifen and etoposide. *Int J Mol Med* 2008; *21*(3): 317-24.
8. Kruman I, Guo Q, Mattson MP. Calcium and reactive oxygen species mediate staurosporine-induced mitochondrial dysfunction and apoptosis in PC12 cells. J Neurosci Res 2003; 51(3): 293-308.
9.Guri AJ, Hontecillas R, Si H, Liu D, Bassaganya-Riera J. Dietary abscisic acid ameliorates glucose tolerance and obesity-related inflammation in db/db mice fed high-fat diets. *ClinNutr* 2007; 26: 107–16.
10.Guri AJ, Hontecillas R, Ferrer G, Casagran O, Wankhade U, Noble AM, et al. Loss of PPAR gamma in immune cells impairs the ability of abscisic acid to improve insulin sensitivity by suppressing monocyte chemoattractant protein-1 expression and macrophage infiltration into white adipose tissue. J Nutr Biochem 2008; 19(4): 216-28.
11. Soonlee RM, Catherine R. Anatomical and Functional Evidence for a nearal Hypothalamic – Testicular pathway that is Independent of the pituitary. Endocrinology 2002; 143(11): 4447-58.
12. Hassibip Reaserching of cold stress effect in priode of different rice genetic vegetable Ahvaz chamranmartyr university dissertation doctoral 1386, 145.
13.Braissant O, Foufelle F, Scotto C, Dauca M, Wahli W. Differential expression of peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs): tissue distribution of PPAR- alpha, -beta, and -gamma in the adult rat. Endocrinology 1996; 137: 354-66.
14.Bassaganya- R, GuriAj L , Climnnt M , Carboa A, Sobril BW , Home WT, et al. Abscisic Acid regulates inflammation via ligand –binding domain –independent activation of PPAR. *J Biol Chem 2010;* 18: 120-8.
15.Froment P, Gizard F, Defever D, Staels B, Dupont J, Monget P. Peroxisome proliferator-activated receptors in reproductive tissues: from gametogenesis to parturition.; Journal of Endocrinology 2006; 189: 199–209.
16.KongL J, Wang AG, FuJ L, Lai CHH, Wang XF, LinH CH. Peroxisome proliferator-activated receptor γis involved in weaning to estrusofprimiparoussows by regulating the expression of hormone genes in hypothalamus-pituitary-ovaryaxis. Asian-Aust J Anim Sci 2007; 20(3): 340 – 50.
17.Maria G, Zhi-Xing Y, NoureddineBoujradJ, CHristophherC ,Martine C, and VassiliosP.EffectofPeroxisomeProliferatorson LeydigCell Peripheral-TypeBenzodiazepineReceptorGene Expression,Hormone-StimulatedCholesterol Transport,andSteroidogenesis:Roleofthe PeroxisomeProliferator-ActivatorReceptor; Endocrinology2002:143(7):2571–2583byThe EndocrineSociety.
18. Luc J, Martin and Jacques J. Trembla; Nuclear Receptors in Leydig Cell Gene Expression and Function. BIOLOGY OF REPRODUCTION 83, 3–14, published online before print 7 April 2010. DOI 10.1095/biolreprod.110.083824.
19. HSU C, HSIEH YL, YANG RC, AND HSU HK. Blockage of *N*-methyl-D-aspartate receptors decreases testosterone levels and enhances postnatal neuronal apoptosis in the preoptic area of male rats. Neuroendocrinology 2000; 71: 301–7.
20. Pidoplichko Vladimir I, Reymann Klaus G. Abscisic acid potentiates NMDA-gated currents in hippocampal neurons. Neuroreport 1996; 5(17): 2311-6.

21.DonsonA O, Lopez F, Negro- Vilar A. Glutamat receptor of the non –N methy –aspartatic acid type mediate the incrase in luteinizing hormone releasing hormone by excitatory amino acid . Endocrrinology 1990; 126; 414-20.
22. Pinilla L ,Tena –Sempere M, Aguilar E. The role of excitatory amino acid pathways ine the control of pituitary function in nronatallyoesterogenized male rats . Journal of Endocrinology 1995; 147; 51-7.
23.Urbanski HF, Ojeda SR. Activation of luteinizing hormone –realasing hormone release advances the onset of female puberty. Neuroe-Ndocrinology 1987; 476; 273-9.
24.Santia B, Nicolrtta B, Cesave U, Lucrezia G. Abscisic acid is an endogenous stimulator of Insulin Release from Human pancreatic Islets with cyclic ADP Ribose as second Messenger. Raffaele Scientific Instiute , Via Olgettina 2008; 60 , 20132.
25. Benattia FB, Antonio H, Lanchaj J. Leptin and endurance exercises Implication of adipocytes and insulin. Review Ariticle English Version 2007.
26. Douglass J, Mckinzie AA, Couceyro P. PCR differential display identifies a rat brain mRNA that is transcriptionally regulated by cocaine and amphetamine .JNeuroSci 1995; 15: 2471-81.
27.Yaying T. Testestron levels in hypertensive Nigerian men, Turkish Journal of Biochemistry 2005; 30; 258-89.
28. Rivests C. Luteining hormone –Relasing Hormone (LHRH) Neuronal systeme: Frome basic to labora120ory of Molecular endocrinology. Boul Laurier Canalla GIV 2000; 2705:59.
29. Johnson E. Essential reproduction.3th ed. Blackwell Scientific: Publication; 1995; 5,7-39.
30.Guytone and Hall. Text book of medical physiology, WB Saunders co. Etabolic syndrome. Obes Rev 2001; 8(2):109-18.
31.lapo H, Andrze J. Bartke, prespective: male reproduction Department of obstetrics and Gyneacology (I.H)university Aberdeen ,united kingdome and Department of physiology A. Bosothern University of Medicine CarbodaleIL Linosis 2002; 2901-6512.
32. Guyton AC, Hall JE. Medical physiology. 10th ed. WB: Saunders Company; 2001; 922-1014.
33.Tetsu K, Shingo N, Toru K, Masamichi F, Hayakawa T. Changesinperoxisome proliferator-activatedreceptorg- regulated gene expression andinhibin/activinfollistatinsystemgene expression inrattestisafteranadministrationof di-n- butylphthalate. Toxicology Letters 2003; 38: 215-25.
34. Canosa LF, Ceballos NR. Effects of diffects steroid –biosynthesis inhibitors on the testicular steriodogensis of the toad Bufoarenarum.J Compphysiol [B] 2001; 171(6): 516-26.
35.Collu R, Du Rusisseau P, Tache Y. Role of putative neurotransmitters in prolactin ,GH and LH response to acuta immobilization stress in male rats; EndocrinolJpn 1996; 23(4): 281-7.
36. Kilgour RJ, Pisselet C, Dubois MP, Courot M, Ram; Oct, lambs need FSH, LH for normal testicular growth. Sertoli cell numbers and onest of spermatogenesis Repord Nutr Dev 1998; 38(5): 539-50.
37. Courot M, Ortavant R. Spermatogensis in the rat . J repored fertile. 2003; 30: 46-7.
38. Van Alphen MW. Van decant HJ, de Rooij DG. Sep FSH stimulate spermatogenesis. Endocrenology 2005; 123(3): 1449-55.
39. Junqueira L, Carnerrio J, Kelley R. Basic histology .11th ed. MacGril: USA; 2005; 422-3.
40. Berrne A, Robert M. Mattew N, LevyBruce M, Koeppen Bruce A. Physiology. Secrection 8: The endocrine system, Chapter. The Reproductive Gland 2004; 46: 920-79.
41. Willams, Text Book of endocrinology by Sanuders company u.D.S,2002; 799-825:231-235,.
42.Jedrzejowska R, Walczak J, Slowikowska H, Marchlewska E, Oszukowska, Krzysztof K. During seminiferous tubulematuration testosterone and synergistic action of FSH with estradiol support germ cell survival while estradiol alone has pro-apoptotic effect. Folia Histochemica Et Cytobiologica 2007; 45: 1.
43. Bagdelli MR, Ansari SH, Azizi A, Fathiyan H. Hagi; in translation Text book of medical physiology. 1th ed. Thran; Institution effluxiontymorzadi and tabib emission, winterer: 1384; 1108-112.

Armaghane-danesh, Yasuj University of Medical Sciences Journal (YUMSJ)

Original Article

The Study of Effects of Abscisic Acid (ABA) on Measure Serum Sex Hormones and Testis Tissue in Adult Male Rats

Heidari P, Khatamsaz S*, Shariati M

Department of Physiology,Islamic azad University of Kazeroon branch, Kazeroon Iran

Received: 5 Feb 2013 Accepted: 16 March 2013

Abstract

Background & aim: Nowadays the effects of plant-based foods in maintaining and improving the health of many diseases have been considered. The aim of this study was to investigate the effect of Abscisic acid on serum sex hormone levels and testis of adult male rats, respectively.

Methods: In this experimental study, 50 male Wistar rats were randomly divided into 5 groups: control, sham and experimental groups 1, 2 and 3 respectively. The control group received no drug treatment. The sham group received distilled water as a solvent. Groups 1, 2 and 3 were administered orally with 20, 400 and 800 mg /kg of extract containing plant hormone Abscisic acid for 40 days respectively. At the end of the fortieth day from all groups blood samples were taken and serum hormones LH, FSH, dihydrotestosterone, and testosterone were measured by ELISA. Testicular tissue changes were studied by optical microscopy after preparation of tissue samples and lineage sperm counts between experimental and control groups were studied. The data were analyzed by ANOVA and t-test.

Results : Abscisic acid extract with doses of 400 and 800 mg/ kg at the end of the fortieth day significantly increased serum testosterone levels than the control group ($p<0.05$). No significant differences in serum hormones LH, FSH and DHT were observed in the experimental group compared to the control group ($p<0.05$). Primary spermatocytes, borderline Sertoli between experimental and control groups were not seen ($p<0.05$). Histology of seminiferous tubules and spermatogenesis cell also had not changed.

Conclusion : Possibly during a period of 40-day the effects of Abscisic acid on receptor function , through the impact on N- methyl-D-aspartate receptors and γ receptor by proxysom (PPARγ) and activation of LH receptors in Leydig cells lead to testes activation and cause increase in secretion of testosterone.

Key words: Abscisic acid, testosterone, dihydrotestosterone, LH, FSH, pituitary-gonadal axis

***Corresponding Author: Khatamsaz S,** Department of biology, Islamic Azad University, Kazeroon branch, Kazeroon, Iran

Email: saeed1617@yahoo.com