

تأثیر عصاره الکلی گیاه بومادران بر روند اسپرماتوژنز در رت

چکیده

نسرین تک زارع^{*۱}سیده حمیده مرتضوی^۲غلامرضا حسن‌زاده^۱سحر صفایی^۲، میرجمال حسینی^۴^۱ - گروه آناتومی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.^۲ - مرکز پژوهش‌های علمی دانشجویان، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.^۳ - دانشکده پرستاری و مامایی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.^۴ - گروه سم‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، زنجان، ایران.^{*} نویسنده مسئول: تهران، بلوار کشاورز، خیابان قدس، خیابان پورسینا، دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده پزشکی
تلفن: ۰۲۱-۸۸۹۵۳۰۰۸
E-mail: takzaree@yahoo.com

مقدمه

جمعیت جهان در طی قرون گذشته با آهنگ متفاوتی افزایش پیدا کرده است. رشد جمعیت اگر از حد معمول بیش‌تر شود، می‌تواند به یک مشکل اجتماعی و اقتصادی پیچیده تبدیل شود. با توجه به اطلاعات فراوانی که درباره دستگاه تولیدمثل مردان در دسترس می‌باشد، تحقیقات وسیع و گسترده‌ای برای کشف و مطالعه عوامل ضدباروری مردانه انجام می‌گیرد.^۱ با توجه به عوارض جانبی

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۱/۰۷/۲۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۰۸/۱۶

زمینه و هدف: امروزه استفاده از گیاهان دارویی بسیار متداول گشته است. بومادران با اسم علمی *Achillea millefolium L.* به دلیل وجود ترکیبات شیمیایی گوناگون، در طب سنتی و مدرن استفاده می‌شود. امروزه مسئله کنترل جمعیت اهمیت زیادی دارد و دارویی لازم است که بدون عوارض جانبی بوده و باعث مهار تولید اسپرماتوزیدها گردد. هدف این تحقیق بررسی اثر عصاره الکلی سرشاخه‌های گل‌دار گیاه بومادران بر روی باروری و روند اسپرماتوژنز می‌باشد.

روش بررسی: در این مطالعه ۳۲ رت بالغ نر، نژاد ویستار به چهار گروه تقسیم شدند. گروه اول؛ هشت رت، ۲۰۰ mg/kg عصاره الکلی بومادران، گروه دوم؛ هشت رت، ۴۰۰ mg/kg از عصاره الکلی بومادران و گروه آزمایشی سوم؛ هشت رت، ۸۰۰ mg/kg عصاره الکلی بومادران را به صورت تزریق داخل صفاقی دریافت کردند. گروه شاهد؛ هشت رت، آب مقطر استریل تزریقی را دریافت کردند. پس از ۲۰ روز موش‌ها کشته شده و برش‌های بافتی از بیضه تهیه شد و روند اسپرماتوژنز مورد بررسی دقیق هیستولوژی قرار گرفت.

یافته‌ها: در مقایسه بین گروه‌های تجربی با گروه شاهد گروه‌هایی که دوز بالای عصاره را دریافت کرده بودند تغییراتی مانند ضخیم‌شدگی غشای پایه لوله اسپرم‌ساز، کاهش سلول‌های اپیتلیوم ژرمینال، پرخونی در بافت بیضه را نشان دادند ($P < 0.001$).

نتیجه‌گیری: غلظت بالای عصاره منجر به ایجاد تغییرات ساختمانی و تغییر روند اسپرماتوژنز در بیضه می‌گردد. این امر می‌تواند زمینه بررسی‌های جامع‌تر جهت آزمایش بر روی انسان به عنوان داروی ضد باروری طبیعی و بدون خطر گردد.

کلمات کلیدی: اسپرماتوژنز، عصاره الکلی بومادران، بیضه، موش صحرایی رت.

متعدد داروهای ضدباروری موجود در بازار دارویی ایران و جهان و تمایل اکثر مردم به مصرف داروهای گیاهی به دلیل عوارض کم‌تر، مطالعه روی گیاهان دارای اثرات ضدباروری ارزشمند می‌باشند.^۲ امروزه استفاده از گیاهان دارویی بسیار متداول گشته است. بومادران با اسم علمی *Achillea millefolium* به دلیل وجود ترکیبات شیمیایی گوناگون، از جمله گیاهان دارویی است که در طب سنتی و طب مدرن استفاده‌های گوناگونی برای آن ذکر شده است.^{۳-۵} از جمله موارد استفاده کلینیکی این گیاه می‌توان به مواردی مانند توقف رشد و

سال ۲۰۱۰ به زبان انگلیسی در مجله Human & Experimental Toxicology در شماره ۳۰ مجله و در صفحات ۳۲۸-۳۳۴ به چاپ رسیده است.

روش بررسی

جمع‌آوری گیاه و تأیید علمی: سرشاخه‌های گل‌دار گیاه بومادران *Achillea millefolium* در خردادماه از هرباریوم طبیعی دانشکده داروسازی دانشگاه تهران جمع‌آوری شد. سرشاخه‌های گل‌دار در شرایط مناسب و سایه خشکانده شدند. گل‌های خشک‌شده توسط آسیاب برقی ساییده شدند و به‌صورت پودر درآمدند.

روش تهیه عصاره الکلی: به‌طور کلی عصاره‌گیری از گیاهان با روش‌های گوناگون و توسط دستگاه‌های مختلفی صورت می‌گیرد، که به تناسب حجم نمونه، نوع ماده موثر، مورد مصرف عصاره و پارامترهای دیگر روش عصاره‌گیری تعیین می‌شود. در این بررسی، روش استفاده برای عصاره‌گیری روش خیساندن می‌باشد.

به این منظور حدود ۱۰۰ گرم از پودر تهیه شده را با ۱۰۰۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۶٪ مخلوط کرده و به‌مدت سه روز (۷۲ ساعت) خیسانده و در دمای معمول آزمایشگاه قرار دادیم. سپس مخلوط حاصل صاف شده و با دستگاه Rotatory Evapoator تغلیظ گردید.^{۱۷،۱۸}

حیوانات مورد آزمایش: در این تحقیق از موش‌های بالغ نر، نژاد ویستار (Wistar)، با میانگین سنی سه ماه و وزن تقریبی ۳۵۰-۳۰۰ gr استفاده شد. حیوانات در شرایط دمایی $22 \pm 2^\circ\text{C}$ و سیکل روشنایی-تاریکی ۱۲ ساعت و دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری می‌شدند.

گروه‌های آزمایشی: در این تحقیق ۳۲ سر موش صحرایی نر بالغ با مشخصات ذکر شده وارد مطالعه شدند. در ابتدا پس از تعیین LD50 (Lethal Dose 50) که بر اساس مطالعات قبلی^{۱۵} بیش‌تر از دوز ۱۰ g/kg بوده است، کلیه موش‌ها به‌دقت با ترازوی دیجیتالی وزن شدند تا همگی در محدوده وزنی ذکر شده باشند. سپس موش‌ها به‌طور کاملاً تصادفی به چهار گروه آزمایشی تقسیم شدند.

گروه آزمایشی اول؛ شامل هشت سر موش که به‌مدت ۲۰ روز به‌صورت یک روز در میان عصاره الکلی بومادران را با غلظت ۲۰۰ mg/kg به‌صورت تزریق داخل صفاقی دریافت کردند. گروه

تخریب سلول‌های سرطانی،^۳ اثر ضد درد و ضد التهابی^{۶،۷} و اثر ضد دیابت^۸ اشاره نمود. بومادران دارای اثرات آنتی‌هموروئید و ضد تشنج بوده و دم کرده آن در درمان سوءهاضمه همراه با نفخ و زخم معده مؤثر می‌باشد.^{۹،۱۰}

بومادران گیاهی است علفی، خودرو، ریزوم‌دار که دارای ساقه‌ای مستقیم به ارتفاع یک متر می‌باشد. بخش‌های مورد استفاده گیاه، سرشاخه‌های گل‌دار آن است که طعم تلخ و بوی قوی دارد. مهم‌ترین ترکیبات آن؛ روغن فرار، ترکیبات پلی‌فنلی، انواع فلاونوئیدها، سسکوئترین، لاکتون، بتائین، ترکیبات استیلن، رزین، تانن، آشیلین، فسفات، نیترات، نمک‌های پتاسیم و اسیدهای آلی است. بیش از صد ترکیب بیولوژیک فعال در این گیاه شناسایی شده است.^۵ مصرف گیاهان دارویی همیشه به این معنی نیست که هیچ‌گونه ضرر و عوارض توکسیک با مصرف آن اتفاق نمی‌افتد.^{۱۱} گزارشات زیادی از مصرف گیاهان و عصاره‌های آن‌ها بر دستگاه تولید مثل نر و ماده وجود دارد که خاصیت ضدباروری داشته‌اند.^{۱۲،۱۳}

امروزه مطالعاتی وجود دارد که اثرات سویی را از گیاهان دارویی مثل گیاه بومادران بر سیستم‌های مختلف بدن از جمله سیستم تناسلی نشان می‌دهد.^{۱۴،۱۵} در طی چند سال اخیر استقبال و موفقیت‌های بیش‌تری در خصوص تأثیرات سینتیک طبیعی و گیاهی بر روی دستگاه تناسلی دیده می‌شود. به‌تازگی، مطالعاتی بر روی تغییرات مورفولوژیک در روند اسپرماتوژنز در اثر مصرف عصاره بومادران صورت گرفته که نشان می‌دهند که تأثیرات سمی بومادران اغلب وابسته به دوز است.^۳ سلول‌های سرتولی نقش اصلی در تمایز و تکامل روند اسپرماتوژنز دارند. این سلول‌ها با تولید فاکتورهای رشد مانند اکتیوین در حضور یون کلسیم، باعث انجام کاربوکینز، سیتوکینز و روند تمایز اسپرماتوزوئیدها می‌شوند.^{۱۶} با توجه به تأثیر گیاه بومادران بر روند اسپرماتوژنز حدس زده می‌شود، با تحقیقات بیش‌تر و با بررسی نتایج آن بتوان از این گیاه به‌عنوان یک ماده ضدباروری طبیعی استفاده نمود.

هدف این تحقیق بررسی اثر عصاره الکلی سرشاخه‌های گل‌دار گیاه بومادران روی باروری و روند اسپرماتوژنز می‌باشد. در این تحقیق سعی شده تا با بررسی‌های دقیق مورفومتریک و هیستولوژیک اثرات عصاره هیدروالکلی بومادران بر بافت بیضه و روند اسپرماتوژنز در موش صحرایی بررسی گردد. لازم به ذکر است مقاله حاضر در

Tukey Post-hoc Test صورت گرفت و $P < 0/05$ معنی دار در نظر گرفته شد و با استفاده از نرم افزار Microsoft Excel 2009، هیستوگرام های مربوطه رسم شد.

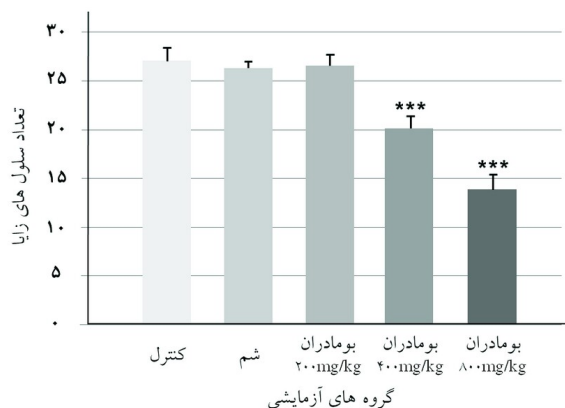
یافته ها

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که در مقایسه بین گروه های تجربی با گروه شاهد تغییراتی مانند ضخیم شدن غشای پایه لوله های اسپرم ساز، تغییر قطر لوله های اسپرم ساز، کاهش سلول های اپیتلیوم ژرمینال در درون لوله های اسپرم ساز، پرخونی در بافت بیضه، کاهش تراکم سلولی و بی نظمی سلول ها (اسپرمتوگونی، اسپرماتوسیت، اسپرماتید و اسپرم ها) در درون لوله های اسپرم ساز مشاهده گردید (شکل ۱). نتایج به دست آمده از بررسی مقاطع مربوط به هر حیوان (۲۰ مقطع + ۱۰ میدان) ۲۰۰ میدان بود میانگین پارامترهای مورد نظر مربوط به هر گروه محاسبه و با یکدیگر مقایسه گردید (نمودار ۱). در بررسی های میکروسکوپی نمونه های رنگ آمیزی شده با همتاکسیلین - ائوزین شمارش سلولی با بزرگ نمایی ۴۰۰ (عدسی ابژکتیو ۴۰) صورت پذیرفت (شکل ۲) در نتایج مقایسه ای بین سلول های درون لوله های اسپرم ساز گروه شاهد و گروه آزمایشی اول (عصاره گیاهی بومادران با دوز تزریقی ۲۰۰ mg/kg) تفاوت معنی داری مشاهده نگردید ($P > 0/05$). بررسی نمونه های میکروسکوپی

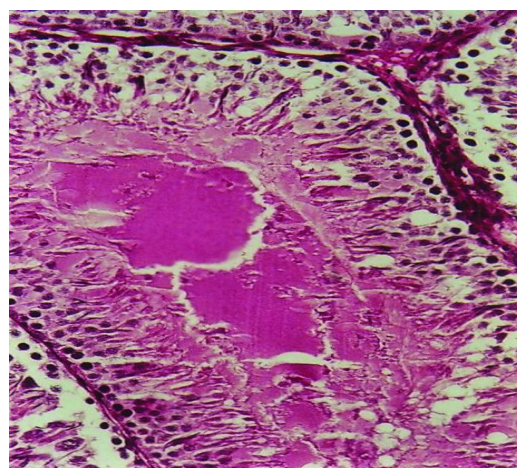
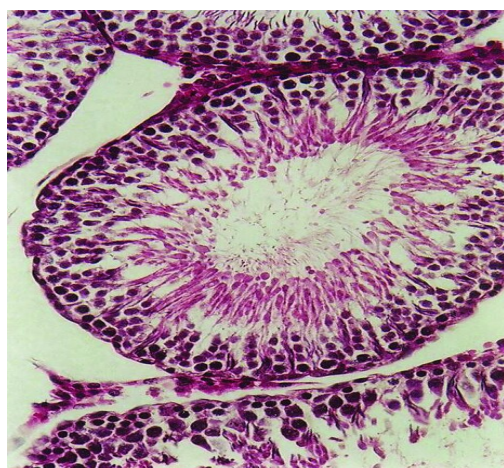
آزمایشی دوم؛ شامل هشت سر موش مانند گروه اول به مدت ۲۰ روز، یک روز در میان عصاره الکلی بومادران را با غلظت ۴۰۰ mg/kg به صورت تزریق داخل صفاقی دریافت کردند. گروه آزمایشی سوم؛ شامل هشت سر موش به مدت ۲۰ روز، یک روز در میان عصاره الکلی بومادران را با غلظت ۸۰۰ mg/kg به صورت تزریقی دریافت کردند. گروه شاهد (شم)؛ شامل هشت سر موش، با همان شرایط گروه های آزمایشی، آب مقطر استریل را به صورت تزریقی دریافت نمودند.

هر گروه مشتمل بر هشت حیوان بود، اما در طول مطالعات یک رت از گروه تزریقی ۲۰۰ mg/kg و دو رت از گروه تزریقی با غلظت ۸۰۰ mg/kg از بین رفتند، لذا این تعداد از مطالعه حذف شدند. پس از سپری شدن دوره ۲۰ روزه، در روز ۲۲ موش ها با استنشاق کلروفرم (Merck, Germany) تحت بیهوشی خفیف قرار گرفتند، پس از شکافتن شکم، بیضه ها با دقت برداشته شدند و موش ها کشته شدند. بیضه های جدا شده جهت بررسی اثرات عصاره بر وزن اندام های تولید مثلی در طی مدت درمان در گروه های آزمایشی مختلف و شاهد وزن شدند، سپس به منظور فیکس کردن به شیشه های کدگذاری شده محتوی محلول ثابت کننده (فرمالین ۱۰ درصد) انتقال یافتند. در مرحله بعد مطابق روش های معمول بافت شناسی نمونه های بافتی در پارافین قالب گیری، مقطع گیری و با روش همتاکسیلین - ائوزین رنگ آمیزی شده و توسط میکروسکپ نوری مورد ارزیابی قرار گرفتند. برای شمارش اسپرم ها در ساختمان بافتی بیضه در نمونه های گروه های مختلف آزمایشی سعی گردید تا به بهره گیری از روش های مورفومتریک، قطر داخلی و خارجی توبول های بیضه مشخص شود و سلول های جداری درون لوله ها نیز با استفاده از تکنیک شمارش میکروسکوپی دقیق و نرم افزار Image Tools مورد شمارش قرار گرفتند.

برای اندازه گیری این پارامترها از میکروسکوپ زایس دارای میکرومتر مدرج استفاده شد. مقاطع عرضی گرد از مجاری اسپرم ساز با غشای پایه کاملاً مشخص برای شمارش سلولی انتخاب شدند.^{۱۹} نتایج به دست آمده به صورت داده های خام به کامپیوتر وارد شده و تحلیل و مقایسه میانگین ها با در نظر گرفتن انحراف معیار (SEM) انجام گردید. سنجش های آماری به وسیله نرم افزار SPSS ویراست ۱۴ و با استفاده از تست ANOVA و در صورت معنی دار بودن با



نمودار ۱: مقایسه میانگین تعداد سلول های ژرمینال درون لوله سمنی فروس در چهار گروه آزمایشی ($P < 0/05$ معنی دار در نظر گرفته شد)



شکل ۲: فتومیکروگراف لوله‌های اسپرم‌ساز و بافت بینابینی بیضه رت در گروه شاهد (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین اتوزین، بزرگ‌نمایی $\times 40$)
ساختار سلولی داخل لوله‌های منی‌ساز و اپیتلیوم ژرمینال و روند اسپرماتوژنز کاملاً طبیعی است.

شکل ۱: فتومیکروگراف لوله‌های اسپرم‌ساز و بافت بینابینی بیضه رت در گروه آزمایشی 800 mg/kg/day (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین اتوزین، بزرگ‌نمایی $\times 40$)
کاهش معنی‌دار و نامنظمی در ترتیب قرارگیری اپیتلیوم ژرمینال، ضخیم شدن غشای پایه لوله‌های اسپرم‌ساز و واکوئل شدن فضای درون لوله‌ها نسبت به گروه کنترل قابل مشاهده است.

جدول ۱: میانگین و انحراف معیار ($\text{Mean} \pm \text{SD}$) تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت و اسپرماتید در گروه‌های مختلف و مقایسه با گروه شاهد در واحد سطح (21 cm^2)، $P < 0.05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

گروه‌ها	اسپرماتوگونی ($\text{M} \pm \text{SD}$)	اسپرماتوسیت ($\text{M} \pm \text{SD}$)	اسپرماتید ($\text{M} \pm \text{SD}$)	ژرم سل نابالغ
گروه آزمایشی اول (200 mg/kg)	$3/65 \pm 0/67$	$4/05 \pm 0/82$	$4/5 \pm 0/6$	۰
گروه آزمایشی دوم (400 mg/kg)	$3/7 \pm 0/65$	۰	۰	$13/65 \pm 1/95$
گروه آزمایشی سوم (800 mg/kg)	$6/05 \pm 1/6$	۰	۰	$8/4 \pm 1/95$
گروه شاهد	$4/2 \pm 0/89$	$4/5 \pm 0/83$	$5/7 \pm 0/92$	۰

به‌طوری که تست‌های آماری اختلاف معنی‌داری را بین سلول‌های این گروه با گروه شاهد نشان دادند ($P < 0.001$). در بررسی نمونه‌های گروه آزمایشی سوم (عصاره گیاهی بومادران با دوز تزریقی 800 mg/kg)، غشای پایه لوله‌های اسپرم‌ساز ضخیم شده و درون اکثر لوله‌های اسپرم‌ساز حالت واکوئل وجود داشت. پرخونی در بافت بیضه، کاهش چشم‌گیر و بی‌نظمی در سلول‌های درون لوله‌ها وجود داشت. سلول‌های در حال آپوپتوز، سلول‌هایی با هسته پیکنوز شده

گروه آزمایشی اول نشان داد ضخامت غشای پایه و قطر لوله‌های اسپرم‌ساز به‌طور کامل طبیعی بوده و نظم قرارگیری سلول‌های درون لوله اسپرم‌ساز و تعداد آن نیز نرمال بود.
در بررسی هیستولوژی گروه آزمایشی دوم (عصاره گیاهی بومادران با دوز تزریقی 400 mg/kg) روند قرارگیری سلول‌های دودمان منوی بر روی غشای پایه نامنظم شده و واکوئل شدن فضای درون لوله‌ها مشهود بود و کاهش تراکم سلولی مشاهده گردید،

وجود دارد که افزایش تعداد دفعات تزریق و یا افزایش میزان دوز تزریقی بتواند باعث کاهش بیش‌تر اسپرماتوزویدها گردد.^{۲۱} البته در بعضی مقالات مکانیسم اثر عصاره گیاهی در ایجاد ناباروری را کاهش میزان پروژسترون می‌دانند ولی مکانیسم دقیق آن هنوز مشخص نشده است.^{۲۲}

در تحقیق ما بررسی‌های هیستولوژیکی مقاطع تهیه شده از بیضه نشان داد عصاره با دوز بالا بر مراحل مختلف اسپرماتوژنز در لوله‌های اسپرم‌ساز تأثیر گذاشته و سیر طبیعی اسپرماتوژنز را تغییر داده است. این اختلال شامل کاهش معنی‌دار سلول‌های اپیتلیوم ژرمینال، نامنظمی در ترتیب قرارگیری اپیتلیوم ژرمینال، ضخیم شدن غشای پایه لوله‌های اسپرم‌ساز و واکنش شدن فضای درون لوله‌ها نسبت به گروه کنترل می‌باشد (شکل ۱). این نتایج در راستای نتایج Montanari می‌باشد.^{۱۴} با توجه به این‌که تزریق عصاره گیاه بومادران باعث کاهش اپیتلیوم ژرمینال و در نهایت اسپرماتوزویدها یعنی سلول‌های جنسی نر شده است، به نظر می‌رسد عوامل موجود در این گیاه به‌خصوص فلاونوئیدها مانع تقسیم سلولی شده‌اند.^{۱۹،۲۳} براساس گزارشات موجود فلاونوئیدها با اثر بر DNA سلولی می‌توانند همانندسازی DNA را مهار کرده و مانع تکثیر سلول‌ها و هم‌چنین تحریک روند آپوپتوز سلولی شوند.^{۲۴}

با توجه به نتایج به‌دست‌آمده از مطالعه حاضر، تزریق عصاره الکلی بومادران با دوز بالا می‌تواند منجر به ایجاد تغییرات ساختمانی بر لوله‌های اسپرم‌ساز و تغییر در روند اسپرماتوژنز گردد. افزایش دوز تزریقی و یا دفعات تزریق می‌تواند منجر به ایجاد تغییرات بیش‌تر شود. نتایج نشان‌دهنده اثر بارز و مشخصی در ایجاد ناباروری در جنس نر می‌باشد، این امر می‌تواند زمینه بررسی‌های جامع‌تر جهت آزمایش بر روی انسان به‌عنوان داروی ضدبارداری طبیعی و بدون خطر در انسان گردد. گیاهان دارویی به‌دلیل سهولت دسترسی، عوارض جانبی کم‌تر، سمیت محدودتر و قیمت ارزان‌تر می‌توانند به‌عنوان جایگزین‌های مناسب داروهای شیمیایی، قرار گیرند.

سپاسگزار: این مقاله حاصل بخشی از طرح تحقیقاتی تحت عنوان "تأثیر عصاره الکلی گیاه بومادران بر روند اسپرماتوژنز در رت" مصوب دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران در سال ۱۳۸۶ به کد ۱۲۸۷ می‌باشد که با حمایت دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران اجرا شده است.

نیز مشاهده شدند. بین تعداد سلول‌های درون لوله‌های گروه شاهد و گروه آزمایشی سوم اختلاف معنی‌داری ($P < 0/001$) مشاهده گردید (جدول ۱).

بحث

مطالعات هیستولوژیک و مقایسه شمارش سلولی جدار لوله‌های منی‌ساز در گروه‌های آزمایشی و شاهد نشان داد، در هنگام مصرف عصاره با دوز بالا تعداد سلول‌های جنسی شمارش شده در گروه آزمایشی سوم نسبت به شاهد اختلاف معنی‌داری وجود دارد که تأثیرگذاری عصاره الکلی گیاه بومادران را بر روند اسپرماتوژنز و کنترل باروری مورد تأیید قرار می‌دهد. در مطالعه Montanari، مشخص گردید که مصرف عصاره اتانولیک بومادران می‌تواند تغییراتی همانند نکروز، پراکندگی و افزایش متافاز در اپیتلیوم ژرمینال ایجاد نماید.^{۱۴} در بررسی هیستوپاتولوژیکی ساختار سلولی داخل لوله‌های منی‌ساز و اپیتلیوم ژرمینال گروه شاهد مشاهده گردید که رده‌های سلولی جدار لوله‌های منی‌ساز و اپیتلیوم ژرمینال و روند اسپرماتوژنز طبیعی است (شکل ۲).

در بررسی میکروسکوپی گروه آزمایشی اول و بررسی تجزیه و تحلیل آماری این گروه نیز مشاهده گردید تغییر چندانی در اپیتلیوم ژرمینال ایجاد نشده و روند اسپرماتوژنز نیز طبیعی است ($P > 0/05$)، در حالی‌که در دو گروه آزمایشی (۸۰۰ mg/kg و ۴۰۰) کاهش چشم‌گیری در سلول‌های جنسی و نظم قرارگیری اپیتلیوم ژرمینال ایجاد شده است ($P < 0/001$) که این امر مؤید تأثیر عصاره گیاهی بر روند اسپرماتوژنز و آنتی‌اسپرماتوژنیک بودن آن می‌باشد.^{۱۴،۲۰} بیضه‌ها به دو بخش اسپرماتوژنیک (لوله‌های منی‌ساز) و استروئیدوژنیک (سلول‌های بینابینی) تقسیم می‌شوند. ترکیباتی که بر روی روند اسپرماتوژنز تأثیر گذاشته و باعث مهار تولید اسپرم می‌گردند به روش‌های مختلفی عمل می‌کنند. همان‌گونه که از نتایج مشخص است، تزریق عصاره بومادران با دوز بالا باعث کاهش تعداد اپیتلیوم ژرمینال شده است.

بنابراین به نظر می‌رسد تزریق عصاره گیاه بومادران با اثر مهاری خود بر تقسیم بیش‌تر سلول‌های اسپرماتوگونی، مانع روند تکامل سلول‌های جنسی نر یعنی اسپرماتوزویدها می‌شود. این احتمال

References

1. Tulsiani DR, Abou-Haila A. Male contraception: an overview of the potential target events. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets* 2008;8(2):122-31.
2. Zhen QS, Ye X, Wei ZJ. Recent progress in research on Tripterygium: a male antifertility plant. *Contraception* 1995;51(2):121-9.
3. Innocenti G, Vegeto E, Dall'Acqua S, Ciana P, Giorgetti M, Agradi E, et al. In vitro estrogenic activity of Achillea millefolium L. *Phyto-medicine* 2007;14(2-3):147-52.
4. Maffei M, Mucciarelli M, Scannerini S. Essential oils from Achillea species of different geographic origin. *Biochem Systematics Eco* 1994;22(7):679-87.
5. Csupor-Löffler B, Hajdú Z, Zupkó I, Réthy B, Falkay G, Forgo P, et al. Antiproliferative effect of flavonoids and sesquiterpenoids from Achillea millefolium s.l. on cultured human tumour cell lines. *Phytother Res* 2009;23(5):672-6.
6. Graf J. Herbal anti-inflammatory agents for skin disease. *Skin Therapy Lett* 2000;5(4):3-5.
7. Cavalcanti AM, Baggio CH, Freitas CS, Rieck L, de Sousa RS, Da Silva-Santos JE, et al. Safety and antiulcer efficacy studies of Achillea millefolium L. after chronic treatment in Wistar rats. *J Ethnopharmacol* 2006;107(2):277-84.
8. Jerald E, Joshi SB, Jain DC. Diabetes and Herbal Medicines. *Iran J Pharmacol Ther* 2008;7(1):97-106.
9. Vender RB. Adverse reactions to herbal therapy in dermatology. *Skin Therapy Lett* 2003;8(3):5-8.
10. Potrich FB, Allemand A, da Silva LM, Dos Santos AC, Baggio CH, Freitas CS, et al. Antiulcerogenic activity of hydroalcoholic extract of Achillea millefolium L.: involvement of the antioxidant system. *J Ethnopharmacol* 2010;130(1):85-92.
11. Wichtl M. Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals. 3rd ed. Stuttgart, Germany: Medpharm Scientific Publishers; 2004.
12. Desta B. Ethiopian traditional herbal drugs. Part III: Anti-fertility activity of 70 medicinal plants. *J Ethnopharmacol* 1994;44(3):199-209.
13. Sinha RK, Nathawat GS. Anti-fertility effects of some plants used by the street herbal vendors for birth control. *Anc Sci Life* 1989;9(2):66-8.
14. Montanari T, de Carvalho JE, Dolder H. Antispermatic effect of Achillea millefolium L. in mice. *Contraception* 1998;58(5):309-13.
15. Dalsenter PR, Cavalcanti AM, Andrade AJ, Araújo SL, Marques MC. Reproductive evaluation of aqueous crude extract of Achillea millefolium L. (Asteraceae) in Wistar rats. *Reprod Toxicol* 2004;18(6):819-23.
16. Grootegoed JA, Siep M, Baarends WM. Molecular and cellular mechanisms in spermatogenesis. *Baillieres Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2000;14(3):331-43.
17. Porter NG, Lammerink JP. Effect of temperature on the relative densities of essential oils and water. *J Essent Oil Res* 1994;6(3):269-77.
18. Nilforoushzadeh MA, Shirani-Bidabadi L, Zolfaghari-Baghbaderani A, Saberi S, Siadat AH, Mahmoudi M. Comparison of Thymus vulgaris (Thyme), Achillea millefolium (Yarrow) and propolis hydroalcoholic extracts versus systemic glucantime in the treatment of cutaneous leishmaniasis in balb/c mice. *J Vector Borne Dis* 2008;45(4):301-6.
19. Wing TY, Christensen AK. Morphometric studies on rat seminiferous tubules. *Am J Anat* 1982;165(1):13-25.
20. Rauchensteiner F, Nejati S, Saukel J. The Achillea millefolium group (Asteraceae) in Middle Europe and the Balkans: a diverse source for the crude drug Herba Millefolii. *J Trad Medicines* 2004;21(3):113-19.
21. Khouri NA, El-Akawi Z. Antiandrogenic activity of Ruta graveolens L in male Albino rats with emphasis on sexual and aggressive behavior. *Neuro Endocrinol Lett* 2005;26(6):823-9.
22. Keshri G, Bajpai M, Lakshmi V, Setty BS, Gupta G. Role of energy metabolism in the pregnancy interceptive action of Ferula assafoetida and Melia azedarach extracts in rat. *Contraception* 2004;70(5):429-32.
23. Barnes CS, Price JR, Hughes RL. An examination of some reputed antifertility plants. *Lloydia* 1975;38(2):135-40.
24. Kim HP, Mani I, Iversen L, Ziboh VA. Effects of naturally-occurring flavonoids and biflavonoids on epidermal cyclooxygenase and lipoxygenase from guinea-pigs. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 1998;58(1):17-24.

Male rat spermatogenesis influenced by *Achillea millefolium* L.

Nasrin Takzaree M.Sc.^{1*}
Hamideh Mortazavi²
Golamreza Hassanzadeh Ph.D.¹
Sahar Safaye B.Sc.³
Mirjamal Hossini Ph.D.⁴

1- Department of Anatomy, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

2- Medical Student, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

3- Midwifery B.Sc., Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

4- Department of Pharmacology, Zanjan University of Medical Sciences, Zanjan, Iran.

* Corresponding author: Poursina St., Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
Tel: +98-21-88953008
E-mail: takzaree@yahoo.com

Abstract

Received: October 13, 2012 Accepted: November 06, 2012

Background: *Achillea millefolium* or yarrow is a native plant in Europe and Iran. Yarrow has been used as a medicine historically, mainly because of its astringent effects. It is reported to be associated with the treatment of several ailments. Nowadays use of plants for medical purpose has become very common. *Achillea millefolium* L, Yarrow, is being used in traditional and modern medicine due to various chemical compounds. Considering the importance of birth control, finding a drug with less side effects inhibiting spermatogenesis seems to be necessary. The aim of the present study was to investigate the effect of ethanol extract of *Achillea millefolium* L. on spermatogenesis of male wistar rats.

Methods: In this study, 32 adult male wistar rats were used. The animals were divided to four groups of eight rats. The first group, received 200 mg/kg *Achillea millefolium* L. interaperitoneally, the second and third groups received 400, 800 mg/kg *Achillea millefolium* L. interaperitoneally, respectively. In the fourth group (control) distilled water was administered. After 20 days, the rats were sacrificed and testis tissues were histologically evaluated.

Results: Comparing to control group, in the experimental groups received the high doses of the extract, thickening of seminiferous tubules basement membrane, loss of germinal epithelium and testicular hyperemia were demonstrated ($P < 0.001$).

Conclusion: Based on the results, high concentrations of *Achillea millefolium* L. leded to structural and spermatogenesis changes in testis tissue.

Keywords: alcoholic extract of *Achillea millefolium* L, spermatogenesis, testis, wistar rat.