

گروه ۵ (Sham): موش‌های سالمی که روزانه پودر بامیه با دز ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم به مدت ۴ هفته دریافت کردند.

القای دیابت با جیره‌ی غذایی پرچرب و تزریقی

استرپتوزوتوسین: برای القای دیابت، موش‌ها به مدت ۴ هفته جیره‌ی پرچرب (۶۰ درصد چربی، ۲۵ درصد کربوهیدرات و ۱۵ درصد پروتئین) دریافت کردند. بعد از اتمام این دوره، به میزان ۳۵ میلی‌گرم/کیلوگرم استرپتوزوتوسین به صورت داخل وریدی تزریق شد (۱۲). برای اثبات دیابت، ۳ روز پس از تزریق استرپتوزوتوسین، قند خون ناشتای موش‌ها اندازه‌گیری شد و موش‌هایی که قند خون آن‌ها بالاتر از ۲۰۰ میلی‌گرم/دسی‌لیتر بود، به عنوان مبتلا به دیابت در نظر گرفته شدند.

تهیه‌ی پودر بامیه: میوه‌ی بامیه از مزارع اطراف اهواز تهیه شد و سپس، جنس و گونه‌ی گیاه توسط دانشکده‌ی کشاورزی دانشگاه شهید چمران اهواز مورد شناسایی و تأیید قرار گرفت. میوه‌ها پس از شستشو در سایه خشک شدند. همه‌ی قسمت‌های میوه شامل غلاف و دانه‌ها توسط آسیاب برقی پودر و با پلت (غذای استاندارد) مخلوط گردید.

نمونه‌گیری: در پایان دوره، پس از اندازه‌گیری وزن و قند خون، حیوانات بیهوش شده و به منظور اندازه‌گیری تستوسترون و انسولین بلافاصله خون‌گیری از قلب آن‌ها به عمل آمد. سپس، موش‌ها آسان‌کشی شدند و پس از تشریح، بیضه و اپیدیدیم آن‌ها جدا گردید. دم اپیدیدیم جهت ارزیابی اسپرم و بیضه‌ی چپ به منظور مطالعات بافت‌شناسی استفاده شدند.

ارزیابی اسپرم: دم اپیدیدیم، در ظرف حاوی سرم فیزیولوژی با قیچی قطعه‌قطعه گردید و در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد انکوبه شد. پس از خارج شدن اسپرم‌ها، قطعات باقی‌مانده‌ی بافت از سوسپانسیون جدا گردید. جهت تحرک اسپرم، مقدار ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون اسپرمی بر روی لام گذاشته شد و میانگین اسپرم‌های متحرک در ۱۰ میدان دید میکروسکوپی به صورت درصد محاسبه گردید (۱۳). جهت محاسبه‌ی تعداد اسپرم، ۱۰ میکرولیتر سوسپانسیون اسپرمی بر روی لام نئوبار زیر میکروسکوپ نوری قرار داده و پس از شمارش، تعداد اسپرم‌ها در میلی‌لیتر محاسبه شد (۱۳). جهت بررسی ریخت‌شناسی، سوسپانسیون اسپرمی با محلول ائوزین-نگروزین مخلوط گردید و بر روی لام گسترش تهیه شد و با استفاده از میکروسکوپ نوری با بزرگ‌نمایی ۴۰۰، حداقل ۲۰۰ اسپرم مختلف برای هر موش بررسی شد (۱۳).

مطالعات بافت‌شناسی: بیضه‌ی چپ به منظور تثبیت به ظرف حاوی فرمالین ۱۰ درصد انتقال داده شد. پس از تثبیت نمونه‌ها و تهیه‌ی مقاطع بافتی به ضخامت ۵ میکرومتر و رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین، نمونه‌ها مورد بررسی قرار گرفتند.

اسپرماتوزئیک ایجاد می‌کند (۴). اعتقاد بر این است که افزایش رادیکال‌های آزاد و ایجاد استرس اکسیداتیو، در پاتوژنز عوارض دیابت بر دستگاه تناسلی نقش کلیدی دارد. استفاده از روش‌های درمانی که تولید رادیکال‌های آزاد را کاهش می‌دهد یا موجب تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی می‌شود، در درمان اختلالات تولید مثلی ناشی از دیابت مفید می‌باشد (۵).

استفاده از گیاهان دارویی، در جلوگیری و کنترل دیابت گزارش شده است (۶). از جمله‌ی این گیاهان دارویی، می‌توان به بامیه اشاره کرد. قسمت‌های مختلف این گیاه، قابل استفاده است و دارای ترکیبات مختلفی نظیر انواع ویتامین‌ها، عناصر معدنی، اسیدهای آمینه، لیپیدها و کربوهیدرات‌ها می‌باشد (۷).

فیبر موجود در بامیه، موجب ثبات قند خون از طریق تنظیم سرعت جذب قند از روده می‌گردد (۸). بامیه، خاصیت ضد دیابت و آنتی‌هیپرلیپیدمیک دارد (۹). خواص ضد دیابتی پودر بامیه را به داشتن خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالا و محتوای فنلی طبیعی آن نسبت می‌دهند (۱۰).

از آن جایی که گزارشی در رابطه با اثر بامیه بر تغییرات بافتی بیضه و شاخص‌های اسپرمی ناشی از دیابت با جیره‌ی پرچرب و استرپتوزوتوسین در دسترس نبود، مطالعه‌ی حاضر به منظور بررسی تأثیر پودر میوه‌ی بامیه بر روند این تغییرات انجام گردید.

روش‌ها

حیوانات: در این مطالعه، تعداد ۲۵ سر موش صحرایی نر (نژاد Wistar) به‌ظاهر سالم و بالغ با وزن ۲۵۰-۲۰۰ گرم، به ۵ گروه ۵ تایی تقسیم شدند. موش‌ها تحت شرایط کنترل‌شده‌ی آزمایشگاهی با دمای ثابت 2 ± 21 درجه‌ی سانتی‌گراد مجهز به سیستم ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، همراه با تهویه‌ی مناسب نگهداری شدند. **گروه‌بندی حیوانات:** گروه ۱ (شاهد): در این گروه موش‌ها، روزانه به میزان لازم جیره‌ی غذایی دریافت کردند.

گروه ۲ (مبتلا به دیابت): در این گروه، پس از القای دیابت، موش‌ها با تغذیه‌ی معمولی به مدت ۴ هفته نگهداری شدند.

گروه ۳ (مبتلا به دیابت دریافت‌کننده‌ی پودر بامیه): در این گروه، موش‌ها پس از القای دیابت، روزانه پودر بامیه با دز ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم به صورت مخلوط با پلت خوراکی به مدت ۴ هفته دریافت کردند (۹).

گروه ۴ (مبتلا به دیابت دریافت‌کننده‌ی متفورمین): در این گروه، موش‌ها پس از القای دیابت، روزانه داروی متفورمین با دز ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم به صورت گاوآژ به مدت ۴ هفته دریافت کردند (۱۱).

جدول ۱. مقایسه میانگین \pm خطای استاندارد وزن موش‌ها، وزن و حجم بیضه در گروه‌های مورد مطالعه

گروه	متغیر	وزن موش‌ها (g)		وزن بیضه و اپیدیدیم	
		هفته‌ی صفر	هفته‌ی چهارم	بیضه (g)	اپیدیدیم (g)
شاهد		$^{a}225/120 \pm 8/370$	$^{a}274/400 \pm 8/490$	$^{a}1/372 \pm 0/023$	$^{a}0/546 \pm 0/020$
مبتلا به دیابت		$^{a}234/362 \pm 3/610$	$^{b}324/400 \pm 7/032$	$^{b}1/212 \pm 0/050$	$^{b}0/467 \pm 0/012$
مبتلا به دیابت + بامیه		$^{a}235/000 \pm 3/834$	$^{b}326/200 \pm 7/123$	$^{ac}1/527 \pm 0/088$	$^{ab}0/529 \pm 0/020$
مبتلا به دیابت + متفورمین		$^{a}226/800 \pm 4/480$	$^{b}322/200 \pm 5/323$	$^{bc}1/374 \pm 0/075$	$^{ab}0/505 \pm 0/026$
سالم + بامیه		$^{a}221/200 \pm 5/508$	$^{a}273/240 \pm 13/527$	$^{a}1/624 \pm 0/025$	$^{ab}0/530 \pm 0/017$

حروف متفاوت a-c در هر ستون، نشانگر اختلاف معنی‌دار ($P < 0/05$) در بین گروه‌ها می‌باشد.

جلوگیری شد ($P < 0/05$). وزن بیضه‌ی موش‌های مبتلا به دیابت نسبت به گروه شاهد، کاهش معنی‌داری نشان داد ($P < 0/05$). تیمار موش‌های مبتلا به دیابت با پودر بامیه، باعث افزایش معنی‌دار وزن بیضه در مقایسه با موش‌های مبتلا به دیابت بدون تیمار گردید ($P < 0/05$). وزن اپیدیدیم در گروه مبتلا به دیابت بدون تیمار در مقایسه با گروه شاهد، کاهش معنی‌داری نشان داد ($P < 0/05$). میانگین وزن اپیدیدیم سایر گروه‌ها، با یکدیگر تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول ۱).

قند و هورمون‌های انسولین و تستوسترون

میزان قند خون در پایان مطالعه در موش‌های مبتلا به دیابت به طور معنی‌داری بیشتر از گروه شاهد بود ($P < 0/05$). در گروه‌های مبتلا به دیابت دریافت‌کننده‌ی بامیه و متفورمین، قند خون به طور معنی‌داری نسبت به موش‌های مبتلا به دیابت بدون تیمار کاهش نشان داد ($P < 0/05$) (جدول ۲). میزان انسولین در گروه مبتلا به دیابت، بالاترین سطح و در گروه شاهد، کمترین سطح را دارا بود. میزان انسولین در گروه‌های مبتلا به دیابت تیمار شده با بامیه و متفورمین، نسبت به گروه مبتلا به دیابت بدون تیمار کاهش یافت، اما اختلاف سطح انسولین در گروه‌های مختلف معنی‌دار نبود (جدول ۲). میزان تستوسترون در موش‌های مبتلا به دیابت بدون تیمار در مقایسه با موش‌های شاهد، کاهش معنی‌داری نشان داد ($P < 0/05$), اما کاهش تستوسترون در موش‌های تیمار با بامیه و متفورمین معنی‌دار نبود (جدول ۲).

نتایج میکروسکوپی

هیستولوژی: بررسی میکروسکوپی ساختار بافتی بیضه در شکل‌های ۱ تا ۴ نشان داده شده است. در گروه شاهد، لوله‌های اسپرم‌ساز با تراکم زیادی در کنار یکدیگر قرار گرفته‌اند؛ به طوری که بافت همبند داریست نسبت کمتری دارد. در دیواره‌ی لوله‌های اسپرم‌ساز، تمام رده‌های سلولی اسپرماتوزونیک و سلول سرتولی قابل مشاهده بود و در حفره‌ی مرکزی، سلول‌های اسپرماتوزوآ به تعداد زیادی مشاهده شد. سلول‌های لیدیگ به صورت دستجاتی در بافت همبندی داریست بین لوله‌ها مشاهده گردید (شکل ۱).

مطالعات بافت‌شناسی به دو صورت هیستولوژی و میکروتری با استفاده از لنز دیجیتال Dino-Lite و نرم‌افزار Dino-Capture، میکروسکوپ نوری و سیستم کامپیوتری در میدان‌های دید میکروسکوپی انجام شد. جهت مطالعه‌ی میکروتری به صورت تصادفی از هر نمونه ۵ برش بافتی و از هر لام، ۱۰ میدان میکروسکوپی انتخاب و شمارش گردید. جهت تعیین ضریب اسپرمیونژن، لوله‌های اسپرم‌ساز که در داخل لومن (حفره‌ی میانی) خود دارای اسپرماتوزوآ بودند، به عنوان لوله‌های اندیس اسپرمیونژن مثبت و آن دسته از لوله‌هایی که دارای لومن خالی از اسپرماتوزوآ بودند، به عنوان لوله‌هایی با اندیس منفی در نظر گرفته شدند. تعداد ۱۰۰ لوله در مقاطع بافتی هر نمونه مورد شمارش قرار گرفت و نتایج به صورت درصد لوله‌های با اندیس اسپرمیونژن مثبت، گزارش شد (۱۴).

اندازه‌گیری هورمون: هورمون تستوسترون و انسولین با استفاده از کیت Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) اندازه‌گیری شد.

واکاوی داده‌ها: تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ (SPSS Inc., Chicago, IL, version 16) انجام شد. داده‌های حاصل به صورت میانگین \pm انحراف معیار بیان و به استفاده از آزمون One-way ANOVA و نیز آزمون تکمیلی Tukey ارزیابی شد. $P < 0/05$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

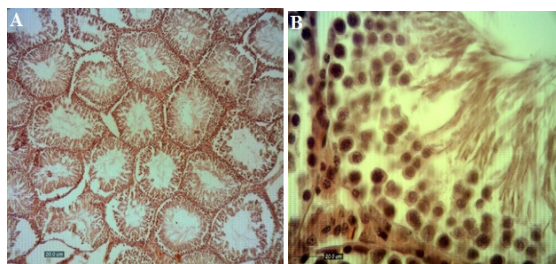
یافته‌ها

تغییرات وزن بدن، بیضه و اپیدیدیم در موش‌های صحرائی

تغییرات وزن بدن موش‌ها، بیضه و اپیدیدیم در جدول ۱ آمده است. وزن موش‌هایی که به مدت ۴ هفته جیره‌ی پرچرب دریافت کرده بودند، نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری نشان داد ($P < 0/05$). در پایان مطالعه، کاهش معنی‌دار وزن موش‌ها در گروه‌های مبتلا به دیابت نسبت به گروه شاهدی که ۸ هفته جیره‌ی غذایی معمولی دریافت کرده بودند، مشاهده گردید ($P < 0/05$). در گروه‌های مبتلا به دیابت تیمار شده با متفورمین و بامیه، از کاهش شدید وزن بدن

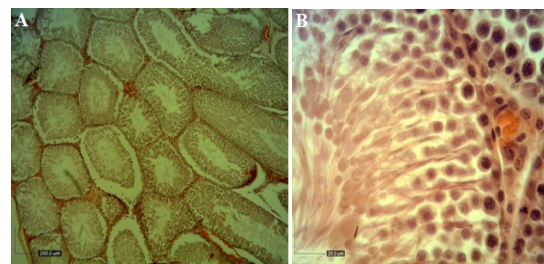
جدول ۲. مقایسه‌ی میانگین \pm انحراف معیار قند خون، هورمون تستوسترون و انسولین در گروه‌های مورد مطالعه

متغیر	گروه شاهد	مبتلا به دیابت	مبتلا به دیابت + بامیه	مبتلا به دیابت + متفورمین	سالم + بامیه
قند (میلی‌گرم/دسی‌لیتر)	$^{a}10.8/4.00 \pm 3/529$	$^{b}377/6.00 \pm 54/850$	$^{c}278/8.00 \pm 22/391$	$^{c}282/0.00 \pm 17/012$	$^{a}95/8.00 \pm 2/059$
تستوسترون (نانوگرم/دسی‌لیتر)	$^{a}3/160 \pm 0/046$	$^{b}1/340 \pm 0/039$	$^{ab}2/980 \pm 0/043$	$^{ab}1/640 \pm 0/032$	$^{ab}1/760 \pm 0/039$
انسولین (میلی واحد بین‌المللی/دسی‌لیتر)	$^{a}0/680 \pm 0/368$	$^{a}1/740 \pm 0/184$	$^{a}1/260 \pm 1/250$	$^{a}1/620 \pm 0/162$	$^{a}1/815 \pm 0/295$

حروف متفاوت a-c در هر ردیف، نشانگر اختلاف معنی‌دار ($P < 0/05$) در بین گروه‌ها می‌باشد.

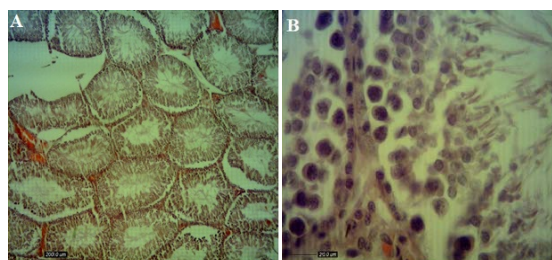
شکل ۳. ساختار بافتی بیضه‌ی گروه مبتلا به دیابت + بامیه (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین): A- بهبود نظم شکل و آرایش لوله‌های اسپرم‌ساز و کاهش بافت همبند ($\times 4$)، B- افزایش تراکم سلولی و آرایش منظم انواع سلول‌های اسپرماتوژنیک در مقایسه با موش‌های مبتلا به دیابت ($\times 40$)

میکرومتری: نتایج میکرومتری بافت بیضه در جدول ۳ آمده است. تعداد سلول اسپرماتوگونی و اسپرماتوسیت اولیه، در گروه مبتلا به دیابت، در مقایسه با گروه شاهد کاهش معنی‌داری را نشان داد ($P < 0/05$).



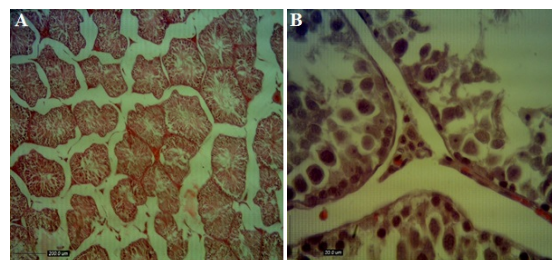
شکل ۱. ساختار بافتی بیضه‌ی گروه شاهد (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین): A- آرایش منظم و تراکم زیاد لوله‌های اسپرم‌ساز ($\times 4$) و B- نظم و تراکم سلول‌های اسپرماتوژنیک ($\times 40$)

در گروه مبتلا به دیابت، لوله‌های اسپرم‌ساز دارای اشکال نامنظم بودند و با کاهش قطر لوله‌های اسپرم‌ساز، بافت همبند داریستی افزایش قابل توجهی پیدا کرد و تراکم سلول‌های اسپرماتوژنیک کاهش یافت و آرایش آن‌ها به هم خورد (شکل ۲).



شکل ۴. ساختار بافتی بیضه‌ی گروه مبتلا به دیابت + متفورمین (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین): A- بهبود نظم شکل و آرایش لوله‌های اسپرم‌ساز و کاهش بافت همبند داریستی ($\times 4$)، B- افزایش تراکم سلولی و آرایش منظم انواع سلول‌های اسپرماتوژنیک در مقایسه با موش‌های مبتلا به دیابت ($\times 40$)

تیمار موش‌های مبتلا به دیابت با بامیه و متفورمین، باعث بهبود سلول‌های اسپرماتوگونی و اسپرماتوسیت اولیه در مقایسه با گروه مبتلا به دیابت شد ($P < 0/05$). تعداد سلول‌های سرتولی و لیدیک در موش‌های مبتلا به دیابت بدون تیمار در مقایسه با موش‌های شاهد کاهش معنی‌داری نشان داد ($P < 0/05$). کاهش سلول‌های سرتولی و لیدیک در موش‌های تیمار با متفورمین و بامیه نسبت به گروه شاهد معنی‌دار نبود.



شکل ۲. ساختار بافتی بیضه‌ی گروه مبتلا به دیابت (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین): A- جمع شدن و تغییر شکل لوله‌های اسپرم‌ساز همراه با افزایش بافت همبند داریستی در بین لوله‌ها ($\times 4$)، B- کاهش تعداد و به هم ریختگی سلول‌های اسپرماتوژنیک ($\times 40$)

در موش‌های مبتلا به دیابت دریافت‌کننده‌ی پودر بامیه (شکل ۳) و متفورمین (شکل ۴)، با افزایش قطر و تراکم لوله‌های اسپرم‌ساز، بافت همبند کاهش یافت و همچنین، سلول‌های اسپرماتوژنیک پرتراکم و منظم‌تر دیده شدند. ساختار بافتی بیضه در موش‌های سالمی که پودر بامیه دریافت کرده بودند، تغییری نشان نداد و شبیه به موش‌های شاهد بود.

جدول ۳. مقایسه‌ی میانگین \pm انحراف معیار مشخصه‌های میکرومتری بافت بیضه‌ی موش‌ها در گروه‌های مورد مطالعه

گروه	متغیر	اسپرماتوگونی	اسپرماتوسیت	سر تولی	لیدیگ	ضریب	قطر لوله‌های اسپرم‌ساز (میکرومتر)
شاهد		$14/764 \pm 0/584$	$16/438 \pm 0/606$	$4/896 \pm 0/227$	$11/587 \pm 0/639$	$93/587 \pm 1/664$	$293/680 \pm 4/785$
مبتلا به دیابت		$14/764 \pm 0/584$	$11/794 \pm 0/538$	$2/610 \pm 0/233$	$7/192 \pm 0/531$	$81/675 \pm 0/570$	$284/010 \pm 2/089$
مبتلا به دیابت + بامیه		$14/764 \pm 0/584$	$15/023 \pm 0/682$	$3/916 \pm 0/360$	$10/266 \pm 0/653$	$81/675 \pm 0/570$	$284/740 \pm 3/733$
مبتلا به دیابت + متفورمین		$13/392 \pm 0/661$	$14/363 \pm 0/706$	$3/770 \pm 0/392$	$9/764 \pm 0/899$	$79/106 \pm 0/467$	$281/040 \pm 3/819$
سالم + بامیه		$14/640 \pm 0/225$	$15/078 \pm 0/672$	$4/625 \pm 0/462$	$10/737 \pm 0/751$	$84/821 \pm 1/138$	$287/390 \pm 4/071$

حروف متفاوت a-c در هر ستون، نشانگر اختلاف معنی‌دار ($P < 0/05$) در بین گروه‌ها می‌باشد.

بحث

با توجه به دانش محققان، مطالعه‌ای مبنی بر بررسی اثرات پودر بامیه بر تغییرات بافتی بیضه و شاخص‌های اسپرمی ناشی از دیابت القا شده توسط جیره‌ی پرچرب و استریتوزتوسین در دسترس نمی‌باشد و مطالعه‌ی حاضر، برای اولین بار به این مهم پرداخته است. نتایج به دست آمده در این مطالعه، نشان داد که جیره‌ی پرچرب و به دنبال آن تزریق استریتوزتوسین، می‌تواند سبب هیپرگلیسمی، افزایش انسولین و در پی آن، موجب تغییرات ساختار بافتی بیضه‌ها گردد. مطالعات انجام شده نشان داده‌اند در پایین استریتوزتوسین بعد از یک دوره جیره‌ی پرچرب، باعث مقاومت انسولینی، افزایش قند خون و در نهایت منجر به ایجاد دیابت نوع ۲ می‌گردد (۱۵). دیابت نوع ۲، نقش مهمی در پاتوژنز اختلالات تولید مثلی دارد (۱۶). گزارش شده است که ترکیبات فلاونوئیدی موجود در بامیه نظیر کوئرستین و ایزوکوئرستین، می‌تواند موجب بهبود قند خون و انسولین سرم در موش‌های مبتلا به دیابت ناشی از رژیم چاقی شود (۱۷). Roy و همکاران، مشاهده کردند که بامیه دارای اثرات کاهش دهنده‌ی قند خون در بیماری دیابت می‌باشد (۱۸). در مطالعه‌ی حاضر نیز تیمار با استفاده از پودر بامیه در موش‌های مبتلا به دیابت به مدت ۴ هفته، توانست میزان قند خون و انسولین را کاهش دهد.

ضریب اسپرمیونژ در گروه‌های مبتلا به دیابت نسبت به موش‌های سالم، کاهش معنی‌داری را نشان داد ($P < 0/05$). تیمار موش‌های مبتلا به دیابت با پودر بامیه و متفورمین، باعث افزایش معنی‌دار ضریب اسپرمیونژ در مقایسه با موش‌های مبتلا به دیابت بدون تیمار گردید ($P < 0/05$). قطر لوله‌های اسپرم‌ساز در گروه مبتلا به دیابت نسبت به سایر گروه‌ها کاهش معنی‌داری را نشان داد ($P < 0/05$). تیمار موش‌های مبتلا به دیابت با بامیه، باعث بهبود قطر لوله‌های اسپرم‌ساز در مقایسه با موش‌های مبتلا به دیابت شد.

ارزیابی شاخص‌های اسپرمی: نتایج حاصل از این مطالعه، کاهش معنی‌داری در میزان درصد تحرک و تعداد و زنده‌مانی اسپرم گروه مبتلا به دیابت نسبت به گروه شاهد نشان داد ($P < 0/05$). تیمار موش‌های مبتلا به دیابت با بامیه و متفورمین، درصد تحرک و تعداد اسپرم را نسبت به موش‌های مبتلا به دیابت تیمار نشده، به شکل معنی‌داری بهبود بخشید. درصد زنده‌مانی اسپرم موش‌های مبتلا به دیابت تیمار با بامیه نسبت به موش‌های مبتلا به دیابت بدون درمان، افزایش معنی‌داری داشت ($P < 0/05$). تعداد اسپرم‌های ناهنجار در گروه مبتلا به دیابت بدون تیمار در مقایسه با گروه شاهد، افزایش معنی‌داری نشان داد ($P < 0/05$). افزایش ناهنجاری اسپرم در گروه‌های مبتلا به دیابت تحت تیمار با بامیه و متفورمین، در مقایسه با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری نشان نداد (جدول ۴).

جدول ۴. مقایسه‌ی میانگین \pm انحراف معیار متغیرهای اسپرمی در گروه‌های مورد مطالعه

گروه	متغیر	تحرک (%)	تعداد $\times 10^6$	زنده‌مانی (%)	ناهنجاری (%)
شاهد		$66/750 \pm 4/050$	$28/630 \pm 0/924$	$88/620 \pm 3/020$	$5/370 \pm 0/820$
مبتلا به دیابت		$33/620 \pm 6/220$	$20/978 \pm 1/129$	$71/120 \pm 8/500$	$13/750 \pm 1/160$
مبتلا به دیابت + بامیه		$48/190 \pm 2/120$	$25/280 \pm 2/133$	$80/720 \pm 4/620$	$8/120 \pm 0/870$
مبتلا به دیابت + متفورمین		$47/190 \pm 3/220$	$23/375 \pm 1/061$	$78/620 \pm 2/750$	$8/030 \pm 0/820$
سالم + بامیه		$53/330 \pm 3/250$	$26/306 \pm 1/348$	$82/220 \pm 1/980$	$7/100 \pm 0/730$

حروف متفاوت a-c در هر ستون، نشانگر اختلاف معنی‌دار ($P < 0/05$) در بین گروه‌ها می‌باشد.

اسپرمتوزونیک کاهش می‌یابد و آرایش آن‌ها به هم می‌خورد و بیشتر لوله‌های اسپرم‌ساز، خالی از اسپرماتوزوآ می‌شوند (۲۵). نتایج مطالعه‌ی حاضر نیز بیانگر کاهش ضخامت و قطر لوله‌های اسپرم‌ساز و همچنین، به هم خوردن آرایش سلول‌های اسپرماتوزونیک و افزایش بافت بینابینی در موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت می‌باشد. تعداد سلول‌های لیدینگ و هورمون تستوسترون در دیابت نوع ۲ کاهش می‌یابد (۲۶). در مطالعه‌ی حاضر نیز کاهش تعداد سلول‌های لیدینگ و میزان هورمون تستوسترون سرم مشاهده گردید. گزارش شده است که کاهش میزان تستوسترون به دنبال دیابت متأثر از کاهش تعداد سلول‌های لیدینگ و افزایش استرس اکسیداتیو ناشی از دیابت می‌باشد (۲۷). کاهش تستوسترون موجب تخریب سلول‌های بینابینی و تحلیل اپیتلیوم زاینده‌ی لوله‌های اسپرم‌ساز می‌شود (۲۸). تیمار موش‌های مبتلا به دیابت توسط پودر بامیه، موجب افزایش هورمون تستوسترون و همچنین، بهبود اختلالات ساختاری ناشی از دیابت در سیستم تولید مثلی شد.

وزن و حجم بیضه با تعداد سلول‌های سرتولی و تولید اسپرم مرتبط است؛ به طوری که اندازه‌ی بیضه منعکس‌کننده‌ی تعداد سلول‌های اسپرماتوزونیک موجود در آن می‌باشد (۲۹). در مطالعه‌ی حاضر نیز به همراه افزایش وزن بیضه، تعداد سلول‌های سرتولی، سلول‌های اسپرماتوزونیک و پارامترهای اسپرم در گروه مبتلا به دیابت تحت تیمار با پودر بامیه افزایش یافت. به طور کلی، بررسی میکروسکوپی بافت بیضه در موش‌های مبتلا به دیابت نشان داد که لوله‌های اسپرم‌ساز دچار تغییر شکل و جمع شدگی گردیده و بافت همبند داریست بین لوله‌ها به میزان قابل توجهی افزایش یافته است. در حالی که در گروه مبتلا به دیابت تیمار شده با پودر بامیه، قطر لوله‌های اسپرم‌ساز افزایش و انسجام لوله‌ها و سلول‌های اسپرماتوزونیک بهبود یافت.

به طور کلی، نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان می‌دهد که مصرف پودر بامیه در موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت شده با رژیم غذایی پرچرب و استرپتوزوتوسین، می‌تواند در سطح قابل توجهی موجب بهبود اختلالات ساختاری بافت بیضه، شاخص‌های اسپرمی و همچنین، هیپرگلیسمی شود.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز جهت همکاری در انجام این پژوهش تشکر و قدردانی می‌شود.

Srinivasan و همکاران، نشان دادند که وزن بدن به دنبال رژیم پرچرب افزایش می‌یابد، اما پس از تزریق استرپتوزوتوسین کاهش یافته است (۱۹).

در مطالعه‌ی حاضر نیز افزایش وزن بدن با اعمال رژیم پرچرب و کاهش آن پس از تزریق استرپتوزوتوسین در گروه مبتلا به دیابت مشاهده گردید. از طرفی، نشان داده شده است که دیابت نوع ۲ در موش‌های صحرایی، موجب کاهش مواردی نظیر وزن بدن، وزن بیضه و هورمون تستوسترون می‌شود (۲۰). در مطالعه‌ی حاضر نیز وزن بیضه و تستوسترون در گروه مبتلا به دیابت کاهش یافت. پیشنهاد شده است که استفاده از پودر غلاف و دانه‌ی بامیه در موش‌های مبتلا به دیابت شده با استرپتوزوتوسین، باعث کاهش قند خون و افزایش وزن بدن می‌شود (۹). بامیه غنی از موادی نظیر کربوهیدرات‌ها، فیتواسترول‌ها، تانن‌ها، فلاونوئیدها و موسیلاژ می‌باشد. قسمت اعظم ترکیبات فنلی موجود در پوست و دانه‌ی گیاه بامیه، کوئرستین می‌باشد (۲۱). کوئرستین، می‌تواند موجب کاهش قند خون در موش‌های مبتلا به دیابت شده توسط استرپتوزوتوسین شود (۲۲). بر این اساس، به نظر می‌رسد ترکیبات کوئرستین و فلاونوئیدی موجود در بامیه که از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مهم نیز به شمار می‌روند، در مطالعه‌ی حاضر موجب کاهش قند خون مرتبط با دیابت شده باشند.

نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که القای دیابت با جیره‌ی پرچرب و استرپتوزوتوسین، موجب کاهش معنی‌دار تعداد، حرکت، زنده‌مانی و افزایش ناهنجاری در موش‌های صحرایی می‌شود. کاهش کیفیت و کمیت پارامترهای اسپرم در دیابت نوع ۲ گزارش شده است (۱۳). استرس اکسیداتیو و رادیکال‌های آزاد، نقش اصلی را در کاهش پارامترهای تولید مثلی نظیر اسپرم‌ها و باروری در دیابت نوع ۲ بر عهده دارند (۲۳). گزارش شده است که مقادیر مختلف از پوست و دانه‌ی بامیه در موش‌های مبتلا به دیابت، باعث افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و همچنین، کاهش نشانگر آسیب غشای سلولی (پراکسیداسیون لیپیدی) در کبد و کلیه‌ی موش‌های مبتلا به دیابت می‌شود (۹). در مطالعه‌ی حاضر، بهبود پارامترهای اسپرم شاید به خاطر فعالیت آنتی‌اکسیدانی بامیه باشد. دیابت، تغییرات بافت بیضه را از طریق کاهش قطر و کاهش ضخامت اپیتلیوم لوله‌های اسپرم‌ساز و همچنین، افزایش بافت بینابینی لوله‌های اسپرم‌ساز ایجاد می‌کند (۲۴).

همچنین، گزارش شده است که به دنبال مصرف جیره‌ی پرچرب و دز پایین استرپتوزوتوسین در موش‌های صحرایی، تراکم سلول‌های

References

1. Gheibi S, Bakhtiarzadeh F, Ghasemi A. A review of high fat diet-streptozotocin model for induction of

type 2 diabetes in rat. Iran J Endocrinol Metab 2016; 18 (2):135-48. [In Persian].

2. Pitteloud N, Hardin M, Dwyer AA, Valassi E, Yialamas M, Elahi D, et al. Increasing insulin resistance is associated with a decrease in Leydig cell testosterone secretion in men. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90(5): 2636-41.
3. Ballester J, Munoz MC, Dominguez J, Rigau T, Guinovart JJ, Rodriguez-Gil JE. Insulin-dependent diabetes affects testicular function by FSH- and LH-linked mechanisms. *J Androl* 2004; 25(5): 706-19.
4. Guneli E, Tugyan K, Ozturk H, Gumustekin M, Cilaker S, Uysal N. Effect of melatonin on testicular damage in streptozotocin-induced diabetes rats. *Eur Surg Res* 2008; 40(4): 354-60.
5. Khaki A, Nouri M, Fatemeh F, Ahmadi-Ashtiani HR, Rastgar H, Rezazadeh S. Protective effects of quercetin on spermatogenesis in streptozotocin induced diabetic rat. *Journal of Medicinal Plants* 2009; 8(5): 57-64. [In Persian].
6. Mukesh R, Namita P. Medicinal plants with antidiabetic potential - a review. *Am-Euras J Agric Environ Sci* 2013; 13(1): 81-94.
7. Gemedede HF, Ratta N, Haki GD, Woldegiorgis AZ, Beyene F. Nutritional quality and health benefits of okra (*Abelmoschus esculentus*): A review. *J Food Process Technol* 2015; 6: 458.
8. Sengkhampan N, Verhoef R, Schols HA, Sajjaanantakul T, Voragen AG. Characterisation of cell wall polysaccharides from okra (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench). *Carbohydr Res* 2009; 344(14): 1824-32.
9. Sabitha V, Ramachandran S, Naveen KR, Panneerselvam K. Investigation of in vivo antioxidant property of *Abelmoschus esculentus* (L) moench. fruit seed and peel powders in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Ayurveda Integr Med* 2012; 3(4): 188-93.
10. Kumar DS, Tony DE, Kumar AP, Kumar KA, Rao DBS, Nadendla R. A review on: *Abelmoschus esculentus* (OKRA). *Int Res J Pharm App Sci* 2013; 3(4): 129-32.
11. Kabiri N, Tabandeh MR, Tabatabaie SR. Beneficial effects of pioglitazone and metformin in murine model of polycystic ovaries via improvement of chemerin gene up-regulation. *DARU J Pharm Sci* 2014; 22: 39.
12. Binh DV, Dung NTK, Thao LTB, Nhi NB, Chi PV. Macro- and microvascular complications of diabetes induced by high-fat diet and low-dose streptozotocin injection in rats model. *J Diabetes Res* 2013; 2(3): 50-5.
13. Parastesh M, Heidarianpour A, Bayat M, Saremi A. Effects of resistance training on serum level of reproductive hormones and sperm parameters in type 2 diabetes rats. *J Arak Univ Med Sci* 2016; 19(8): 26-36. [In Persian].
14. Kalantari Hesari A, Shahrooz R, Ahmadi A, Malekinejad H, Saboory E. Crocin prevention of anemia-induced changes in structural and functional parameters of mice testes. *J Appl Biomed* 2015; 13(3): 213-23.
15. Skovso S. Modeling type 2 diabetes in rats using high fat diet and streptozotocin. *J Diabetes Investig* 2014; 5(4): 349-58.
16. Zakerabasali A, Keshavarz M, Mozafar A, Takhshid M A, Meshkibaf M H. Protective effects of vitamin E and selenium on spermatogenesis in adult male rat insulin-resistant. *J Fasa Univ Med Sci* 2013; 2(4): 308-13. [In Persian].
17. Fan S, Zhang Y, Sun Q, Yu L, Li M, Zheng B, et al. Extract of okra lowers blood glucose and serum lipids in high-fat diet-induced obese C57BL/6 mice. *J Nutr Biochem* 2014; 25(7): 702-9.
18. Roy A, Shrivastava SL, Mandal SM. Functional properties of Okra *Abelmoschus esculentus* L. (Moench): Traditional claims and scientific evidences. *Plant Science Today* 2014; 1(3): 121-30.
19. Srinivasan K, Viswanad B, Asrat L, Kaul CL, Ramarao P. Combination of high-fat diet-fed and low-dose streptozotocin-treated rat: A model for type 2 diabetes and pharmacological screening. *Pharmacol Res* 2005; 52(4): 313-20.
20. Ahangarpour A, Oroojan AA, Heidari H, Ehsan G, Rashidi Nooshabadi MR. Effects of hydro-alcoholic extract of *Rhus coriaria* (Sumac) seeds on reproductive complications of nicotinamide-streptozotocin induced type-2 diabetes in male mice. *World J Mens Health* 2014; 32(3): 151-8.
21. Jarret RL, Wang ML, Levy IJ. Seed oil and fatty acid content in okra (*Abelmoschus esculentus*) and related species. *J Agric Food Chem* 2011; 59(8): 4019-24.
22. Vessal M, Hemmati M, Vasei M. Antidiabetic effects of quercetin in streptozotocin-induced diabetic rats. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol* 2003; 135C(3): 357-64.
23. La Vignera S, Condorelli R, Vicari E, D'Agata R, Calogero AE. Diabetes mellitus and sperm parameters. *J Androl* 2012; 33(2): 145-53.
24. Hadi MA, Zaidan HK, Natah TM, Al-Saadi AH. Protective effect of plants extracts mixture on sperm abnormalities, testicular and epididymal tissues in diabetic male rats. *Journal of Natural Sciences Research* 2013; 3(9): 28-37.
25. Liu GL, Zhang YM, Dai DZ, Ding MJ, Cong XD, Dai Y. Male hypogonadism induced by high fat diet and low dose streptozotocin is mediated by activated endoplasmic reticulum stress and IkappaBbeta and attenuated by argirein and valsartan. *Eur J Pharmacol* 2013; 713(1-3): 78-88.
26. Cheung KK, Luk AO, So WY, Ma RC, Kong AP, Chow FC, et al. Testosterone level in men with type 2 diabetes mellitus and related metabolic effects: A review of current evidence. *J Diabetes Investig* 2015; 6(2): 112-23.
27. Turk G, Sonmez M, Aydin M, Yuce A, Gur S, Yuksel M, et al. Effects of pomegranate juice consumption on sperm quality, spermatogenic cell density, antioxidant activity and testosterone level in male rats. *Clin Nutr* 2008; 27(2): 289-96.
28. Mokhtari M, Shariatie M, Gharamanie R. Effect of *Trigonella foenum - graecum* L. seed extract on concentration of testosterone and spermatogenesis in rats. *Journal of Medicinal Plants* 2008; 7(1): 12-20. [In Persian].
29. Shariati M, Sharifi E, Kaveh M. The effect of phoenix dactylifera (Date-palm) pit powder on testosterone level and germ cells in adult male rats. *J Zanjan Univ Med Sci* 2007; 15(61): 21-8. [In Persian].

Protective Effects of Okra Powder (*Abelmoschus esculentus*) on Histomorphometric Changes of Testis and Sperm Parameters in High-Fat Diet/Streptozotocin (HFD/STZ) Diabetic Rat

Naeem Erfani-Majd¹, Khodabaksh Rashidi², Ali Shahriari³, Ghodratoolah Mohammadi⁴

Original Article

Abstract

Background: Diabetes tends to disorders in male reproductive system. Okra (*Abelmoschus esculentus*) has antidiabetic and antioxidant effects. The aim of this study was to investigate the protective effects of okra powder on testis structure and sperm parameters in diabetic rats.

Methods: 25 rats were divided randomly into five groups including control, diabetic, diabetic/okra (200 mg/kg), diabetic/metformin (200 mg/kg), and okra (200 mg/kg). Diabetes was induced by high-fat diet fed (HFD), and injection of streptozotocin (STZ) (35 mg/kg) for four weeks. Groups were treated for 4 weeks. After treatment, blood glucose levels, testosterone levels, sperm parameters, and histomorphological structure of testes were studied.

Findings: Induction of diabetes decreased testosterone levels, and sperm movement, numbers, and survival. Number of spermatogonia, primary spermatocyte, sertoli, and leydig cells, diameter of seminiferous tubules, and spermiogenesis index decreased significantly in diabetic group as compared to control group ($P < 0.05$). Okra treatment improved significantly the harmful effects of diabetes on testis tissue and sperm parameters in diabetic rats.

Conclusion: The results suggest that okra powder supplemented diet in HFD/STZ diabetic rats improves testosterone level and sperm parameters as well as ameliorates diabetes-induced structural disorders in rat male reproductive system.

Keywords: Diabetes, Okra, Testis, Sperm, Rat

Citation: Erfani-Majd N, Rashidi K, Shahriari A, Mohammadi G. **Protective Effects of Okra Powder (*Abelmoschus esculentus*) on Histomorphometric Changes of Testis and Sperm Parameters in High-Fat Diet/Streptozotocin (HFD/STZ) Diabetic Rat.** J Isfahan Med Sch 2017; 35(438): 834-41.

1- Professor, Department of Basic Sciences, School of Veterinary Medicine AND Stem Cell and Transgenic Technology Research Center, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

2- PhD Student, Department of Basic Sciences, School of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

3- Associate Professor, Department of Basic Sciences, School of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

4- Associate Professor, Department of Clinical Sciences, School of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

Corresponding Author: Naeem Erfani-Majd, Email: naeemalbo@yahoo.com