مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی
دوره ۲۲، شماره ۲، تابستان ۹۱، صفحات ۱۰۱ تا ۱۰۴

Original Article

بررسی اثر عصاره گل‌های نارنج بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی و میزان تستوسترون در موش سوری نر

مرضیه مینایی[۱]، شهرزاد خاکپور[۲]، مریم خسروی[۳]، صدیقه اربابیان[۳]

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال
[۲] گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات علوم پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد پزشکی شمال
[۳] عضو هیئت علمی، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال

چکیده

سابقه و هدف: *گیاه نارنج از جمله گیاهان دارویی پر مصرف و بومی کشور ایران به شمار می‌رود. این مطالعه با هدف بررسی اثرات عصاره گل‌های نارنج واریته جنوب ایران بر روی فعالیت آنتی‌اکسیدانی و سطح هورمون تستوسترون در موش کوچک آزمایشگاهی نر انجام شد.*

روش بررسی: *در این مطالعه تجربی، ۲۸ سر موش Balb/C بالغ نر پس از تعیین وزن به چهار گروه، شامل یک گروه کنترل و سه گروه تجربی، تقسیم شدند. عصاره گل‌های نارنج با دوزهای ۰/۰۴mg/kg و ۰/۰۲ ، ۰/۰۱ به صورت خوراکی (گاواژ) به حیوانات گروه-های تجربی به مدت ۷ هفته تجویز گشت.*

یافته‌ها: *میزان مالون‌دی‌آلدئید (MDA) در گروه‌های تجربی در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌داری داشت ($p<0/01$). میزان گلوتاتیون (GSH) ($p<0/01$)، گلوتاتیون پراکسیداز (GSH-Px) ($p<0/05$) و فعالیت کاتالاز(CAT) ($p<0/01$) در سرم خون حیوانات گروه تجربی نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری داشت و میزان تستوسترون سرم خون گروه‌های تجربی کاهش معنی‌داری را به صورت وابسته به دوز در مقایسه با گروه کنترل نشان داد ($p<0/01$ و $p<0/05$).*

نتیجه‌گیری: *به نظر می‌رسد ارتباطی منفی بین مصرف دراز مدت عصاره گل های نارنج و سطح هورمون تستوسترون وجود دارد.*

واژگان کلیدی: *عصاره گل‌های نارنج، تستوسترون، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، موش کوچک آزمایشگاهی.*

مقدمه

درمورد اهمیت گیاهان و اینکه بشر از دیرباز در جهت رفع نیازهای غذایی و دارویی خود از آنها بهره جسته، نوشته‌های فراوانی موجود است و همه نمایانگر نقش مهم و اساسی گیاهان در زندگی انسان است. بخشی از موارد مصرف گیاهان و استفاده از آنان به عنوان دارو از قدیم الایام بوده و با توجه به پیشرفت علم و صنعت داروسازی و نیاز هرچه بیشتر به مواد طبیعی دارویی ضرورت بازنگری در استفاده گیاهان دارویی امری اجتناب‌ناپذیر می‌باشد. بنا به ضرورت موجود لازم است تا در کشور ما که از نظر وسعت و موقعیت جغرافیایی خاص خود امکان رشد و پرورش انواع گیاهان را دارا است، از این سرمایه بزرگ طبیعت استفاده مطلوب به عمل آید و دامنه مطالعات و تحقیقات را برروی گیاهان دارویی افزایش دهد. از آنجایی که تعداد بی‌شماری از گیاهان در طب سنتی مورد استفاده قرار می‌گیرند، مطالعه بر روی اثرات گیاهان می‌تواند در درمان بیماری‌ها بسیار سودمند باشد. برخی از داروهای گیاهی به عنوان کنترل کننده باروری در انسان مورد مصرف دارند.

نارنج با نام علمی *Citrus aurantium* L. از خانواده مرکبات (Rutaceae) است (۱). نارنج از جمله گیاهان دارویی پرمصرف و بومی کشور ایران است. در طب سنتی ایران، گل‌های این

آدرس نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد پزشکی، دکتر شهرزاد خاکپور
(**email**: Shahrzad_khakpour@yahoo.com)
تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۰/۵/۲۳
تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۱/۱/۲۳

گیاه جهت درمان اختلالات عصبی نظیر هیستری، تشنج و ضعف اعصاب استفاده می‌شود. به علاوه، این گیاه به عنوان آرام‌بخش، خواب‌آور، اشتهاآور و برطرف کننده تپش قلب شناخته شده است (۲).

پوست میوه نارنج حاوی اسانس لیمونن ۹۰٪، فلاونوئیدها، کومارین‌ها، تری‌ترپن‌ها، ویتامین C، کاروتن و پکتین است. فلاونوئیدها خاصیت ضدالتهابی، ضدباکتریایی و ضدقارچی دارند. ترکیبات اسانس در برگ گیاه، گل و پوست میوه به طور قابل توجهی متفاوت می‌باشد. استات لینالیل ۵۰٪ عمدتا در اسانس برگ (پتیگرین) و لینانول ۳۵٪ در اسانس گل (نرولیNeroli) می‌باشد (۳).

اسانس فرا گرفته شده از گل نارنج (Neroli) شامل ترکیباتی چون هیدروکربورهای متفاوت، الکل‌های ترپنیک مانند لینالول، ترپینول، ژرانیول و نرول و استات آنها نرولیدول، دی متیل انترانیلات و فنل می‌باشد (۴، ۵).

ویتامین‌های E، C و بتا-کاروتن با دارا بودن خواص آنتی‌اکسیدانی در کاهش خطر بسیاری از بیماری‌ها از جمله بیماری‌های قلبی- عروقی مؤثرند (۶). ترکیبات دیگر مانند فلاونوئیدها تأثیرات فارماکولوژیک وسیعی از جمله ممانعت از اکسیداسیون را دارا می‌باشند. نارنج غنی از ویتامین C و فلاونوئیدها است و در بین عموم مردم به عنوان میوه‌ای با خواص دارویی شناخته شده است (۲).

گونه‌های اکسیژن آزاد Reactive Oxygen Species (ROS) عوامل اکسیده کننده فعالی هستند که به رده رادیکال‌های آزاد تعلق دارند. هرچند، تولید ROS موجب آسیب DNA سلول‌ها می‌شود. اما تولید آن در اندام‌های مختلف بدن مانند بیضه، پدیده طبیعی فیزیولوژیک است (۷). غشای پلاسمایی اسپرم‌ها حاوی مقادیر زیادی از اسیدهای چرب غیر اشباع است. بنابراین بسیار مستعد آسیب‌های پراکسیداتیو می‌باشد. پراکسیداسیون لیپیدها موجب تخریب ساختار لیپیدها در غشای اسپرم‌ها می شود که این اثر با کاهش تحرک و آسیب بخش‌های غشایی اسپرم‌ها همراه است (۱۰-۸).

به طور کلی، آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که مانع تشکیل ROS و پراکسیداسیون لیپیدها می‌شوند. در بین آنتی‌اکسیدان‌های شناخته شده بیولوژیکی می‌توان گلوتاتیون (GSH)، گلوتاتیون پراکسیداز (GSH-Px)، کاتالاز (CAT) و سوپراکساید دسموتاز (SOD) را نام برد. تمامی آنتی‌اکسیدان‌های نام برده شده، رادیکال‌های آزاد دارند. بنابراین، استفاده از تخریب کنندگان ROSها می‌تواند موجب تقویت عملکرد اسپرم‌ها گردد (۱۱،۷).

تاکنون هیچ مطالعه‌ای درمورد اثرات مثبت یا منفی عصاره گل‌های نارنج بر روی باروری جنس نر انجام نشده است. در مطالعه حاضر، اثرات عصاره گل‌های نارنج بر روی باروری جنس نر، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، سطح تستوسترون سرم خون و میزان پراکسیداسیون لیپیدها در موش سوری نر مورد اندازه گیری و بررسی قرار گرفت. جهت بررسی، موش‌های سوری نر به مدت ۷ هفته تحت تیمار عصاره گل‌های نارنج با دوزهای mg/kg ۰/۰۱، ۰/۰۲ و ۰/۰۴ به صورت خوراکی قرار گرفتند. از آنجایی که گیاه نارنج در استان فارس در دسترس اکثر مردم قرار دارد، بررسی اثرات درمانی آن اهمیت به سزایی دارد و نتایج این بررسی می‌تواند نقش مهمی در تحقیقات مربوط به تغذیه، پزشکی و داروسازی داشته باشد.

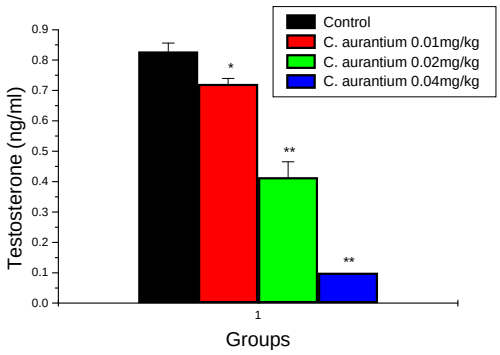
مواد و روشها

در این مطالعه تجربی، عصاره هیدروالکلی (اتانول ۸۰٪) گل-های نارنج در شرایط استاندارد در آزمایشگاه تحقیقات فیزیولوژی– فارماکولوژی واحد پزشکی تهران دانشگاه آزاد اسلامی تهیه گردید. موش‌های نر بالغ نژاد Balb/C درمحدوده وزنی ۲۵-۲۰ گرم تهیه گردیدند و تحت شرایط استاندارد (۱۲ ساعت روشنایی، ۱۲ ساعت تاریکی و درجه حرارت ۳±۲۱ سانتی‌گراد) در قفس‌های مخصوص و با دسترسی کافی به آب و غذا نگهداری شدند. حیوانات به ۴ گروه ۷ تایی تقسیم شدند. گروه کنترل سرم فیزیولوژی دریافت کردند و سه گروه تجربی به ترتیب دوزهای mg/kg ۰/۰۱ (دوز کم)، mg/kg ۰/۰۲ (دوز متوسط) و mg/kg۰/۰۴ (دوز زیاد) عصاره گل‌های نارنج را دریافت کردند. سرم فیزیولوژی و عصاره گل‌های نارنج به مدت ۷ هفته هر روز به حیوانات به صورت خوراکی (گاواژ) تجویز گردید. بعد از گذشت ۲۴ ساعت از آخرین گاواژ، موش‌ها توزین گشته و خون‌گیری از قلب حیوانات برای اندازه‌گیری میزان هورمون تستوسترون صورت گرفت. سرم خون‌های جمع آوری شده با سانتریفیوژ ۱۰۰۰ دور در دقیقه جدا شده و تا زمان اندازه‌گیری، در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. اندازه‌گیری هورمون تستوسترون با روش Elisa صورت گرفت. از سرم‌های خون برای اندازه‌گیری میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز (CAT)، گلوتاتیون (GSH)، گلوتاتیون پراکسیداز (GSH-Px) و مالون دی آلدئید (MDA) نیز استفاده گشت.

تعیین اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های تجربی با گروه کنترل توسط آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) انجام گرفت. $p<0/05$ از لحاظ آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

بعد از اندازه‌گیری میزان هورمون‌ها مشخص گردید که میزان تستوسترون سرم خون گروه‌های تجربی کاهش معنی‌داری را به صورت وابسته به دوز در مقایسه با گروه کنترل نشان می‌دهند ($p<0/01$ و $p<0/05$) (شکل ۱).



شکل ۱- مقایسه غلظت هورمون تستوسترون در گروه‌های تجربی و کنترل. غلظت هورمون تستوسترون در گروه‌های تجربی نسبت به کنترل کاهش معنی‌داری را نشان می‌دهد. داده‌ها به صورت میانگین ± خطای استاندارد نشان داده شده‌اند. n=۷، $^{*}p<0/05$، $^{**}p<0/01$.

جدول ۱- اثر عصاره بهار نارنج بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی MDA، GSH-Px، GSH و CAT

	کنترل	عصاره بهار نارنج		
		۰/۰۱mg/kg	۰/۰۲mg/kg	۰/۰۴mg/kg
کاتالاز(*KUL*)	۳۰/۵۱±۰/۱۶	۳۶/۴۸±۰/۱۶**	۳۹/۴۷±۰/۲۱	۵۹/۹۶±۰/۴۱**
گلوتاتیون پراکسیداز (*IUL*)	۸/۰۶±۰/۰۴	۸/۲۷±۰/۰۴	۸/۲۵±۰/۰۴	۸/۹۰±۰/۰۶*
گلوتاتیون (*nMol/ml*)	۰/۰۹±۰/۰۰۲	۰/۰۹±۰/۰۰۱	۰/۱±۰/۰۰۴**	۰/۱±۰/۰۰۳**
مالون دی آلدئید (*nMol/ml*)	۱/۵۰±۰/۰۸	۰/۷۵±۰/۰۱**	۰/۹۱±۰/۰۱**	۰/۸۷±۰/۰۱**

داده‌ها به صورت میانگین ± خطای استاندارد نشان داده شده‌اند. n=۷، $^{*}p<0/05$، $^{**}p<0/01$.

سطح مالون دی آلدئید (MAD) سرم خون گروه‌های تجربی کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل داشت ($p<0/01$)، در حالی که در سطح گلوتاتیون (GSH) ($p<0/01$)، گلوتاتیون پراکسیداز (GSH-Px) ($p<0/05$) و فعالیت کاتالاز (CAT) ($p<0/01$) افزایش معنی‌داری در گروه‌های تجربی نسبت به گروه کنترل داشت (جدول ۱).

بحث

بیشترین ترکیبات موجود در میوه نارنج، سینفرین و اکتاپامین هستند، البته پوست میوه نارنج محتوی فلاونوئیدهایی شامل لیمونن، هسپریدین، نئوهسپریدین، نارنجین، تارنجاتین و فورانوکومارین‌ها نیز است (۱).

میوه نارنج همچنین منبع غنی از ویتامین‌های C، E و بتاکاروتن می‌باشد. این ویتامین‌ها خواص آنتی‌اکسیدانی دارند (۶). بر اساس تحقیقات انجام یافته، فلاونوئیدها اثرات فارماکولوژیک وسیعی از جمله ممانعت از اکسیداسیون لیپوپروتئین‌ها با وزن مولکولی پایین (LDL) را دارا هستند (۲). نارنج میوه‌ای غنی از ویتامین C و فلاونوئیدها است و در بین عموم مردم به عنوان میوه‌ای با خواص دارویی شناخته شده است (۱).

فعالیت آنتی‌اکسیدانی و تخریب‌کنندگی رادیکال آزاد ترکیبات فنولی مشتق از میوه نارنج و ویتامین C گزارش شده است (۶). در این مطالعه، مشاهده گردید که سطح هورمون تستوسترون در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌داری نشان داده است.

بیشتر ترکیبات حاصل از متابولیسم سلول‌ها، باعث افزایش سطح رادیکال‌های الکتروفیلیک گردیده که می‌توانند با اکسیژن ناشی از ROS واکنش دهند. از منابع اصلی رادیکال‌های آزاد، هیدروژن پراکساید (H_2O_2)، ($^1O_2$)، هیدروکسیل ($^{*}OH$) و پراکسی‌نیتریت می‌باشند. ROS به طور طبیعی در فرایندهای متابولیکی حیاتی سلول‌های زنده مثل اسپرماتوزوآ ساخته می‌شود. تولید بیش از حد ROS در اسپرماتوزوآها (۱۲، ۸) یا عملکرد گزنوبیوتیک‌ها (۱۴،۱۳) و عوامل سرکوب کننده سیستم ایمنی (۱۵)، تولید پراکسیدکننده‌های لیپیدی را القا می‌کنند. با تجمع ROS در سلول‌ها، مکانیسم‌های دفاعی با فعال شدن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی راه‌اندازی می‌گردد. سیستم‌های اصلی سم زدایی پراکسید کننده‌ها، کاتالاز و گلوتاتیون هستند. کاتالاز یک آنزیم آنتی‌اکسیدانی است که H_2O_2 را تخریب کرده و می‌تواند هیدروکسیل (OH) فعال شده را در حضور آهن ایجاد کند. از طرفی در چرخه کاهش گلوتاتیون، H_2O_2 و لیپید پراکسیداز به ترکیبات غیرسمی تبدیل می‌شوند (۱۶،۱۰،۷). ترکیبات ترپنوئیدی، ملاتونین و اسانس نرولی از عوامل

آنتی‌اکسیدانی مشتق از عصاره گل‌های نارنج می‌باشند که آسیب‌های ناشی از پراکسیداسیون لیپیدها در اندام‌های مختلف را ممانعت می‌کنند (۱۷). در مطالعه حاضر، کاهش معنی‌داری در سطح MDA و افزایش معنی‌داری در میزان گلوتاتیون، گلوتاتیون پراکسیداز و فعالیت کاتالاز در نمونه‌های سرم خون گروه‌های تجربی در مقایسه با گروه کنترل مشاهده گردید. این یافته‌ها مؤید اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره گل‌های نارنج می‌باشند (جدول ۱). ROS می‌تواند با بسیاری از مولکول‌های درون سلولی، به ویژه اسیدهای چرب غیر اشباع (فسفو لیپیدها، گلیکو لیپیدها، گلیسریدها و استرول‌ها) و برخی پروتئین‌های درون غشایی واکنش نشان دهد. اکسیداسیون این مولکول‌ها باعث افزایش نفوذپذیری غشای سلولی می‌گردد. ROS می‌تواند به پیوندهای غیراشباع لیپیدهای غشایی با تولید پراکسیدازها، الکل و آلدئیدهای لیپیدی اتصال برقرار کند. بنابراین، افزایش رادیکال‌های آزاد در سلول‌ها می‌تواند پراکسیداسیون لیپیدها را با تجزیه اکسیداتیو اسیدهای چرب غیراشباع غشای سلول‌ها القا کند (۹،۸).

سطح سرمی هورمون تستوسترون در گروه‌های تجربی کاهش معنی‌داری را به صورت وابسته به دوز در مقایسه با گروه کنترل نشان داد (شکل ۱). این مطلب مؤید اثر بازدارندگی عصاره گل‌های نارنج بر میزان آزادسازی تستوسترون می‌باشد.

REFERENCES

1. Huang YT, Wang GF, Chen CF, Chen CC, Hong CY, Yang MC. Fructus aurantii reduced portal pressure in portal hypertensive rats. Life Sci 1995; 57: 2011-20.
2. Mahmoodi M, ShamsiMeimandi M, Foroumadi AR, RaftariSh, AsadiShekari M. Antidepressant effect of sour orange flowers extract on lipopolysaccharide-i. Journal of Kerman University of Medical Sciences 2005; 4: 244-51. (In Persian)
3. Monsef–esfahani HR, Amanzade Y, Alhani Z, Hajimehdipour H, Faramarzi MA. GC/MS Analysis of *Citrus aurantium*L. Hydrolate and its companant with the commercial samples. Iranian Journal of pharmaceutical Research 2004; 177-179.
4. Zargary A. Medicinal Plants. 7th ed. Tehran, Iran: Tehran University; 1997. p.78-485. (In Persian)
5. Fleming T. PDR for herbal medicines, Citrus aurantium. 2nd ed. New York: Medical Economics Company ; 2011. p.86-87.
6. Tribble DL. Antioxidant consumption and risk of coronary heart disease: emphasis on vitamin C, vitamin E, and-β Carotene: a statement for healthcare professionals form American Heart Association. Circulation 1999; 99: 591-95.
7. Sikka SC. Oxidative stress and role of antioxidants in normal and abnormal sperm function. Front Biosci 1996; 1: e78-86.
8. de Lamirande E, Jiang H, Zini A, Kodama H, Gagnon C. Reactive oxygen species and sperm physiology. Rev Reprod 1997; 2: 48-54.
9. Sanocka D, Kurpisz M. Reactive oxygen species and sperm cells. Reprod Biol Endocrinol 2004; 2: 1-7.
10. Varnet P, Aitken RJ. Drevet JR. Antioxidant strategies in the epidydimis. Mol Cell Endocrinol 2004; 216: 31-39.
11. Aitken RJ, Clarkson JS, Cellular basis of defective sperm function and its association with the genesis of reactive oxygen species by human spermatozoa. J Reprod Fertil 1987; 81: 459-69.
12. Ateşşahin A, Karahan I, Türk G, Gür S, Yilmaz S, Ceribaşi AO. Protective role of lycopene on cisplatin-induced changes in sperm characteristics, testicular damage and oxidative stress in rats. Reprod Toxicol 2006; 21: 42-47.
13. Ateşşahin A, Türk G, Karahan I, Yilmaz S, Ceribaşi AO, Bulmuş O. Lycopene prevents adriamycin-induced testicular toxicity in rats. Fertil Steril 2006; 85: S1216-22.
14. Turk G, Atessahin A, Sonmez M, Yuce A, Ceribasi AO. Lycopene protects against cyclosporine A-induced testicular toxicity in rats. Theriogenology 2007; 67: 778-85.
15. Calvin HI, Cooper GW, Wallace EW. Evidence that selenium in rat sperm is associated with cysteine-rich structural proteins of the mitochondrial capsule. Gamete Res 1981; 4: 139-45.
16. Sonmez M, Yuce A, Turk G. The protective effects of melatonin and vitamin E on antioxidant enzyme activities and epididymal sperm characteristics of homocysteine treated male rats. Reprod Toxicol 2007; 23: 226-31.