

BRIEF REPORT

Effect of Alcoholic Euphorbia Cyparissias Extract on Histologic Alteration in Prostate and Seminal Vesicle in Diabetic Model

Fardin Koohi¹,
Esmail Safavi²,
Mohammadreza Nasirzadehm²

¹ Doctor of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Tabriz Branch, Tabriz, Iran

² Assistant Professor, Department of Basic Science, Islamic Azad University, Tabriz Branch, Tabriz, Iran

(Received September 24, 2016, Accepted September 18, 2017)

Abstract

Background and purpose: Diabetes causes adverse effects on the activity of reproductive system, including impaired spermatogenesis, decreased sperm count, testosterone serum, seminal fluid volume, and loss of sexual desire. The aim of this study was to evaluate the effect of *E.cyparissias* extract on tissue changes of prostate and vesicle seminal in diabetic rats.

Materials and methods: Thirty male Wistar rats were randomly selected and divided into three groups ($n=10$), including a control group (healthy animals), a diabetic group and a treatment group. Diabetes was induced by streptozotocin in treatment group and the animals received *E.cyparissias* extract (500 mg/kg) for 28 days by oral gavage. Then, the samples of prostate and vesicle seminal tissue were taken and prepared for histological study using light microscope.

Results: Morphology findings showed increase in secretion and in diameter of tubules and decrease in interstitial space of prostate and vesicle seminal in treatment group compared with those of the diabetic group. Histomorphometric results indicated significant increases in epithelium height, diameter of the tubules of the prostate and thickness of the muscle layer of seminal vesicles in treatment group compared with those in diabetic group ($P<0.05$). The study also revealed that gland weight to body weight in treatment group increased significantly compared with that of the diabetic group ($P<0.05$).

Conclusion: According to current findings, oral administration of *E.cyparissias* extract prevented diabetic induced tissue changes in prostate and seminal vesicle in rats.

Keywords: *E.cyparissias*, diabetes, prostate, seminal vesicle, rat

J Mazandaran Univ Med Sci 2018; 27(158): 193 - 199 (Persian).

تأثیر عصاره الکلی افوریبا سپاریسیاس بر تغییرات بافت پروستات و سینیال وزیکول ناشی از مدل دیابتی

فریدین کوهی^۱

اسماعیل صفوی^۲

محمد رضا نصیرزاده^۲

چکیده

سابقه و هدف: دیابت موجب سوء فعالیت سیستم تولید مثلی از جمله اختلال در اسپر ماتوژنر، کاهش تعداد اسپرم، تستوسترون سرم، حجم مایع سینیال و از بین رفتن میل جنسی می‌شود. هدف از انجام این مطالعه بررسی اثر عصاره الکلی افوریبا سپاریسیاس بر تغییرات بافت پروستات و سینیال وزیکول موش صحرایی دیابتی می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه، تعداد ۳۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار در ۳ گروه ۱۰ تایی مطالعه شدند. گروه‌ها شامل کنترل، دیابتی شده و تیمار بودند. گروه تیمار پس از ایجاد دیابت با داروی، عصاره الکلی گیاه فرفیون را با دوز ۵۰۰ mg/kg به مدت ۲۸ روز از طریق گاواز دریافت کردند. در پایان دوره تجویز عصاره، از گروه‌های مختلف نمونه بافت پروستات و سینیال وزیکول اخذ شد و برای مطالعه بافت شناسی زیر میکروسکوپ نوری آماده گردید.

یافته‌ها: یافته‌های مورفلوژی یانگ افزایش میزان ترشحات، افزایش قطر واحد های ترشحی و نیز کاهش بافت همبند بینایی در غدد پروستات و غدد وزیکولی در گروه تیمار در مقایسه با گروه دیابتی بود. نتایج هیستومورفومتری نیز نشانگر افزایش معنی دار ارتفاع اپتیلیوم و قطر توبولهای پروستات و افزایش ضخامت لایه عضلانی و ارتفاع اپتیلیوم غدد وزیکولی در گروه تیمار نسبت به گروه دیابتی بود ($P < 0.05$). هم‌چنین مشخص گردید نسبت وزن غدد مطالعه به وزن بدن در گروه تیمار در مقایسه با گروه دیابتی افزایش معنی داری داشت ($P < 0.05$).

استنتاج: این مطالعه نشان داد که تجویز عصاره الکلی افوریبا سپاریسیاس از تغییرات بافتی غده پروستات و غدد وزیکولی ناشی از دیابت در موش صحرایی جلوگیری می‌کند.

واژه‌های کلیدی: افوریبا سپاریسیاس، دیابت، پروستات، سینیال وزیکول، موش صحرایی

مقدمه

دو می‌باشد. دیابت ملیتوس نوع ۱ تأثیرات مختلفی روی فعالیت‌های جنسی و تولید مثلی نر دارد که شامل اختلال اسپرماتوژنر، کاهش شمار اسپرم، تستوسترون سرم، حجم مایع سینیال و ناتوانی و از بین رفتن میل

دیابت مجموعه‌ای از اختلالات متابولیکی می‌باشد که با افزایش قند خون همراه با اختلال در متابولیسم پروتئین، چربی و کربوهیدرات‌ها مشخص می‌شود. علت دیابت نقص در ترشح انسولین یا کاهش اثر آن و یا هر

Email: safavi.s.e@gmail.com

مؤلف سئول: اسماعیل صفوی - تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، دانشکده دامپزشکی، گروه علوم پایه

۱. دانش آموخته دامپزشکی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران

۲. استادیار، گروه علوم پایه، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۷/۳ تاریخ ارجاع چهت اصلاحات: ۱۳۹۶/۴/۱۷ تاریخ تصویب: ۱۳۹۶/۶/۲۷

دیابتی انتخاب شدند. حیوانات گروه تیمار به مدت ۲۸ روز عصاره‌ی افوریبیا با دوز ۵۰۰ mg/Kg به صورت گاواز (۱۰) دریافت کردند. گروه‌های دیگر، هم حجم عصاره، سرم فیزیولوژی دریافت کردند. در پایان دوره، تمامی حیوانات آسان‌کشی شدند. پس از توزین غدد نمونه‌های اخذ شده از پروستات و سمتیال وزیکول، در محلول فرم آلدھید ۱۰ درصد فیکس و برای مطالعات بافت شناسی در زیر میکروسکوپ نوری آماده شدند. نمونه‌های تازه گل گیاه فرفیون با استفاده از جریان هوای خشک در سایه خشک شدند. ۱۰۰ گرم از پودر حاصله با استفاده از اتانول عصاره‌گیری شد، پس از تبخیر حلال با استفاده از دستگاه روتاری اوپراتور باقی‌مانده به عنوان عصاره مورد استفاده قرار گرفت (۱۰). جهت بررسی هیستومورفومتری پروستات و سمتیال وزیکول پس از تهیه مقاطع هیستولوژیک و رنگ آمیزی هماتوکسیلین - ائوزین، با استفاده از عدسی مدرج ۱۰x مدل نیکون، ضخامت لایه عضلانی غده وزیکولی، ارتفاع اپسی تلیوم غدد وزیکولی، قطر توبول‌های پروستات و ارتفاع اپسی تلیوم غده پروستات اندازه گیری گردید.

روش تجزیه و تحلیل آماری:

داده‌ها به صورت mean ± SEM بیان شدند و از نرم افزار spss نسخه ۱۷ و روش آماری آنالیز واریانس یک طرفه ANOVA و به دنبال آن تست‌های مقایسه‌ای چند گانه دانکن برای مقایسه وجود اختلاف بین گروه‌ها استفاده شد. مقدار $P < 0.05$ برای تعیین سطح معنی‌دار بودن بین گروه‌ها در نظر گرفته شد.

یافته‌ها و بحث

یافته‌های مورفولوژیک سمتیال وزیکول:

در بررسی گروه دیابتی کاهش شدید میزان ترشحات داخل لومن و کاهش ضخامت بافت پوششی مشهود است. سیتوپلاسم سلول‌های ترشحی روشن بوده

جنسي می‌باشد (۱، ۲). تستوسترون مهم‌ترین آندروژنی است که برای تکامل پروستات و حفظ توان عملکردی و ساختاری آن ضروری است. تغییر اندک در سطح تستوسترون موجب تغییراتی در رشد و وزن غده پروستات می‌شود (۳). دیابت باعث تغییراتی در پروستات می‌گردد. کاهش وسعت منطقه اپیتلیالی و افزایش منطقه استرومایی همراه با هیپرتروفی کلائز و ماهیچه در غده پروستات از جمله تغییرات ناشی از دیابت می‌باشد (۴). اگرچه مکانیسم‌هایی که موجب تغییرات در دیابت می‌شوند هنوز ناشناخته است اما افزایش قند خون موجب افزایش استرس اکسیداتیو می‌گردد (۵). استفاده از طب گیاهی برای درمان بیماری دیابت در دنیا اهمیت فراوانی پیدا کرده است (۶). گیاه فرفیون با نام علمی cypress spurge معروف به E.cyparissias خانواده افوریبیسه است که در مناطق مختلف جهان وجود دارد (۷). اثرات ضدالتهابی، آنتی اکسیدانی و ضد توموری فلاونوئیدهای خانواده افوریبیسه کاملاً شناخته شده است (۸، ۹). بررسی‌های انجام شده نشان داد که عصاره الکلی افوریبیا سیپاریسیاس دارای اثرات هیپوگلیسمی، هیپولیپیدمی و آنتی اکسیدانی است (۱۱)، هدف از انجام این مطالعه بررسی اثر عصاره الکلی افوریبیا سیپاریسیاس بر تغییرات بافت پروستات و سمتیال وزیکول در موش‌های صحرایی دیابتی بود.

مواد و روش‌ها

جهت انجام این مطالعه ۳۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۲۰ ± ۲۰ گرم، به ۳ گروه ده تابی کنترل، دیابتی و تیمار تقسیم شدند. برای ایجاد دیابت نوع ۱ از داروی استرپتوزوتوسین به میزان $mg/Kg 60$ به صورت تک دز و تزریق داخل صفاقی استفاده شد (۱۱). ۷۲ ساعت پس از تزریق، حیواناتی که قند خون بالای $mg/dl 300$ داشتند، به عنوان حیوان

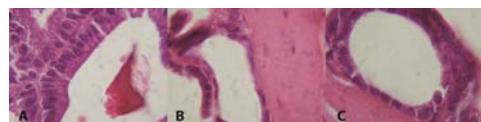
واحدهای ترشحی به وضوح مشهود است (تصویر ۲). در گروه تیمار، قطر لوله‌ها در مقایسه با گروه دیابتی بیشتر بوده و میزان ترشحات داخل واحدهای ترشحی نیز افزایش یافته است، وسعت بافت همبند بینایینی در مقایسه با گروه دیابتی کمتر می‌باشد (تصویر ۲).



تصویر ۲: مقطع بافت پروستات در گروه شاهد: (A) ارتفاع سلول‌های پوششی بلند بوده داخل واحدهای ترشحات دیده می‌شود. در گروه دیابتی: (B) ارتفاع سلول‌های پوششی کوتاه بوده و واحدهای فاقد ترشحات هستند. در گروه تیمار: (C) ارتفاع سلول‌های پوششی در مقایسه با گروه دیابتی بلند تر می‌باشد و داخل واحدهای ترشحات دیده می‌شود) درشت نمایی X400 H&E)

آنالیز آماری داده‌های حاصل از اندازه‌گیری ارتفاع اپیتیلیوم غدد، توزیع غدد و محاسبه نسبت وزن غدد به وزن بدن در پروستات و سینیال وزیکول در گروه‌های مختلف نشان داد که در گروه دیابتی، میانگین این پارامترها در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی داری کاهش یافته است ($P < 0.05$). در حالی که میانگین فاکتورهای مورد نظر در گروه تیمار در مقایسه با گروه دیابتی افزایش معنی داری نشان می‌دهد ($P < 0.05$) (جدول ۱). (جدول ۱).

و کاهش ترابکول‌ها در دیواره غده، آترووفی شدید واحدهای ترشحی و افزایش ضخامت لایه عضلانی دیواره سینیال وزیکول نیز در رت‌های دیابتیک دیده می‌شود (تصویر ۱). در گروه تیمار در مقایسه با گروه دیابتی، ارتفاع سلول‌های اپیتیلیال، ضخامت لایه عضلانی و میزان ترشحات نیز افزایش پیدا کرده است (تصویر ۱).



تصویر ۱: مقطع بافتی واحدهای ترشحی وزیکول سینیال در گروه شاهد (A) سلول‌های ترشحی از نوع استوانه‌ای بوده، واحد ترشحی حاوی ترشحات است. در گروه دیابتی (B) ارتفاع سلول‌های پوششی کاهش یافته و واحد ترشحی فاقد ترشحات است. در گروه تیمار (C) ارتفاع سلول‌های پوششی در مقایسه با گروه دیابتی بیشتر است (درشت نمایی X400، رنگ آمیزی H&E)

یافته‌های مورفو‌لورژیک پروستات: در بررسی بافت شناسی پروستات در گروه دیابتی سلول‌های بافت پوششی از فرم استوانه‌ای و مکعبی به فرم کشیده و دوکی شکل در آمدیده‌اند. سیتوپلاسم سلول‌های پوششی نیز به حالت روشن دیده می‌شوند. قطر توبول‌ها و ترشحات داخل واحدهای ترشحی محسوس کاهش نشان می‌دهد. در واحدهای ترشحی افزایش چین خوردگی‌های دیواره واحدهای و برجستگی‌های انگشتی به داخل حفره واحدهای ترشحی دیده می‌شود. وسعت بافت همبند بینایینی در فضای بین

جدول ۱: نتایج هیستومورفومتری غده سینیال وزیکول و پروستات در موش صحرایی

پارامتر	گروه کنترل	گروه دیابتی	گروه تیمار
ضخامت لایه عضلانی غده سینیال وزیکول (μm)	334.42 ± 12.39	185.41 ± 11.84	200.57 ± 13.46^b
ارتفاع ای تیلوم غدد سینیال وزیکول (μm)	20.10 ± 2.11^a	14.50 ± 3.81^c	17.58 ± 5.25^b
وزن غدد سینیال وزیکول (gr)	3.11 ± 0.12^a	2.15 ± 0.13^c	2.58 ± 0.14^b
نسبت وزن غدد سینیال وزیکول به وزن بدن	0.1015 ± 0.005^a	0.0945 ± 0.0045^c	0.0913 ± 0.006^b
قطر توبول پروستات (μm)	337.71 ± 33.69	251.14 ± 21.95^c	277.74 ± 55.08^b
ارتفاع ای تیلوم بروستات (μm)	17.11 ± 3.72^a	6.9 ± 1.4^c	10.91 ± 5.2^b
وزن غدد پروستات (gr)	2.20 ± 0.05^a	1.26 ± 0.18^c	1.88 ± 0.78^b
نسبت وزن غدد پروستات به وزن بدن	0.12 ± 0.01^a	0.108 ± 0.01^c	0.11 ± 0.02^b

آندروروژن، استروژن و پرولاتکتین گیرنده‌هایی در پروستات دارند که مشخص شده تحت شرایط دیابت کاهش می‌یابند^(۴). کاهش سطوح آنتی اکسیدانی در نتیجه افزایش تولید رادیکال‌های آزاد در دیابت توسط تعدادی از محققان گزارش شده است^(۱۸). استفاده از آنتی اکسیدان‌های رایج به تنها یا به صورت ترکیبی عوارض دیابت را به تعویق اندخته یا حتی از آن‌ها جلوگیری می‌کند. گزارش شده که سطوح L-آسکوربیک اسید در افراد و موش‌های صحراوی دیابتی کاهش می‌یابد و تیمار افراد دیابتی با این ویتامین عوارض دیابت را به علت خاصیت ترشح کنندگی انسولین آن و آنتی اکسیدان بودنش کاهش می‌دهد^(۱۹). در مطالعه حاضر، به دنبال استفاده از عصاره افوريما در گروه تیمار قطر لوله‌ها و میزان ترشحات داخل واحدهای ترشحی در مقایسه با گروه دیابتی افزایش یافه است. همچنین وسعت بافت همبند بینایی در مقایسه با گروه دیابتی کمتر می‌باشد. این نتایج نشان‌گر این است که عصاره فرفیون از آسیب بافت پروستات و غدد وزیکولی می‌کاهد. ارتفاع اپیتلیوم و ضخامت لایه عضلاتی غدد وزیکولی و قطر توبول‌های ترشحی پروستات در گروه تیمار نسبت به گروه دیابتی به طور معنی داری افزایش یافته است در مطالعه انجام شده توسط نصیرزاده و همکاران مشخص شده است که عصاره فرفیون اثرات هیوگلیسمیک دارد و می‌تواند قند خون را به طور معنی داری در گروه تیمار در مقایسه با گروه دیابتی کاهش دهد^(۱۰).

در پایان می‌توان نتیجه گرفت که عصاره الکلی افوريما سپاریسیاس در بافت غدد پروستات و وزیکول سینیال موش صحراوی دیابتی اثرات محافظتی دارد، هر چند برای شناخت مکانیسم اثر به مطالعات بیشتری نیاز است.

حروف غیر همنام در هر ردیف نشان دهنده تفاوت معنی دار است ($P < 0.05$). مشخص گردیده که دیابت ملیتوس باعث کاهش وزن غدد ضمیمه تولیدمثلی و تعداد اسپرم در اپیدیدیم می‌شود^(۱۲). نتایج مطالعه حاضر مشخص نمود که نسبت وزن غدد پروستات و سینیال وزیکول به وزن بدن در گروه دیابتی در مقایسه با گروه کنترل کاهش یافت. همچنین نتایج مورفو‌لوزی نشان داد که در گروه دیابتی، قطر توبول‌های پروستات به طور محسوسی کاهش یافته است. در واحدهای ترشحی هر دو غده میزان ترشحات در مقایسه با گروه کنترل بسیار کمتر شده است. افزایش وسعت بافت همبند بینایی در فضای بین واحدهای ترشحی نیز به وضوح مشهود است. موافق با نتایج مطالعه حاضر Soudomani و همکاران طی مطالعه‌ای نشان داده‌اند که دیابت موجب آتروفی پروستات و کاهش وزن خالص آن می‌شود^(۱۳). همچنین Carvalho و همکارانش نشان دادند که در بافت پروستات استروما ضخیم می‌شود و سلول‌های اپیتلیالی ترشحی دچار آتروفی شده و ارگانل‌های درگیر در فرآیند ترشح دچار بی‌نظمی شده و در نهایت فعالیت غدهای مختلط می‌شود^(۱۴). برای تکوین و فعالیت طبیعی پروستات حضور آندروروژن‌ها ضروری می‌باشد^(۱۵). نشان داده شده است که عدم کفایت آندروروژنی باعث شکستن غشای داخلی سلولی، فعال شدن لیزوژوم و چروکیده شدن هسته و در نهایت از بین رفتن سلول‌ها در نتیجه آپویتوز اپیتلیوم غدهای می‌شود^(۱۶). محققان نشان دادند که غلظت تستوسترون سرم و داخل بیضه‌ای در حیوانات دیابتی کاهش می‌یابد. بنابراین کاهش تستوسترون در سطح پروستات و تبدیل آن به دی‌هیدروتستوسترون مسئول تغییرات بافتی در دیابت می‌باشد. علاوه بر این دیابت باعث کاهش محتوای گیرنده آندروروژنی و جذب و کاهش ۳-هیدروکسی تستوسترون در غدد ضمیمه جنسی می‌گردد^(۱۷).

سپاسگزاری

نویسنده کان مقاله از زحمات کارشناس آزمایشگاه
بافت شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی
واحد تبریز قردادنی می نمایند.

References

1. Meyer K, Deutscher J, Anil M, Berthold A, Bartsch M, Kiess W. Serum androgen levels in adolescents with type I diabetes: relationship to pubertal stage and metabolic control. *J Endocrinol Invest*. 2000; 23(26): 362–368.
2. Abdolahnejad A, GOL A, Dabiri SH, Javadi AR. Preventive and protective effects of garlic juice on histologic alternation in the prostate of Streptozotocin induced diabetic rats. *Iranian Journal of Biology* 2011; 24(6):904-914. (persian).
3. Bahey NG, Soliman GM El-Deeb TA, El-Drieny EA. Influence of insulin and testosterone on diabetic rat ventral prostate: Histological, morphometric and Immunohistochemical study. *JMAU*.2014;2(3): 151–160.
4. Risbridger G1, Wang H, Young P, Kurita T, Wang YZ, Lubahn D, et al. Evidences that epithelial and mesenchymal estrogen receptor alpha mediates effects of estrogen on prostatic epithelium. *Dev Biol*. 2001; 229(2): 157–166.
5. Palmeira CM, Santos DL, Seiya R, Moreno AJ, Santos MS. Enhanced mitochondrial testicular antioxidant capacity in Goto-Kakizaki diabetic rats: role of coenzyme Q. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2001; 281(3): 1023-1028.
6. Annup KM, Smriti T, Zabeer A, Ram . Antidiabetic and antihyperlipidemic effect of Euphorbia hirta in Streptozotocin induced diabetic rats. *Scholars Research Library* . 2012; 4 (2): 703-707.
7. Nasiri Semnani SH, Rahnema M, Alizadeh H, Ghasempour H. Evaluation of Antimicrobial Effects of Euphorbia cyparissias extracts on Intramacrophages *Salmonella typhi*. *Journal of Biologically Active Products from Nature* .2013; 3(1): 64-71.
8. AslanTurk OS, Çelik TA. Antioxidant, cytotoxic and apoptotic activities of extracts from medicinal plant *Euphorbia platyphyllos* .*JMPR* .2013; 7(19): 1293-1304.
9. Kumar S, Rashmi M, Kumar D. Evaluation of antidiabetic activity of euphorbia hirta Linn.hn stereptozocin induced diabetic mice. *IJNPR*. 2010; 1(2): 200-203.
10. Nasirzadeh MR, Heykalabadi M, Nourazar AR. Effect of Alcoholic Extract of Euphorbia cyparissias on Serum Glucose and Antioxidant Enzymes Level in Diabetic Male Rats. *J Ardabil Univ Med Sci*. 2014;14(2):193-202.(persian).
11. Nezami M, Nasirzadeh MR , Semnani nasiri SH, Rahnema M. Effect of alcoholic extract of *Euphorbia*

- cyparissias on serum lipid profile in streptozotocin induced diabetic male rats. Veterinary Clinical Pathology .2016; 9(4): 297-304. (persian).
12. Balasubramanian K , Sivashanmugam P , Thameemdeen S , Govindarajulu, P. Effect of diabetes mellitus on epididymal enzymes of adult rats . Indian J Exp Biol .1991;29(10):907-909.
 13. Soudamani S, Yuvaraj S, Malini T, Balasubramanian K. Experimental Diabetes has Adverse Effects on the Differentiation of Ventral Prostate during Sexual Maturation of Rats. Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol. 2005;287(2):1281–1289.
 14. Carvalho CAF, Camargo AM, Cagnon VHA, Padovani CR. Effects of experimental diabetes on the structure and ultrastructure of the oagulating gland of C57BL/6J and NOD mice. Anat Rec 2006; 38:142-151.
 15. Cunha GR, Donjacour AA, Cooke PS, Mee S, Bigsby RM, Higgins SJ,etal. The endocrinology and developmental biology of the prostate. Endocr Rev .1987; 8(3): 338–362.
 16. Gobbo MG, Ribeiro DL, Taboga SR, de Almeida EA, Góes RM. Oxidative stress markers and apoptosis in the prostate of diabetic rats and the influence of vitamin C treatment. J Cell Biochem. 2012; 113(7):2223-2233.
 17. Oksanen A,Tuohimaa P. Impaired 3Htestosterone uptake and metabolism in the accessory sex gland of diabetic castrated male rats. Horm Res.1975; 6(3): 157–168.
 18. Ashour M, Salem S, Hassaneen H, El-Gadban H, Elwan N, Awad A, Basu TK. Antioxidant Status and Insulin dependent diabetes mellitus (IDDM). J Clin Biochem Nutr. 1999; 26: 99-105.
 19. Cheng JT, Hsieh-Chen SC, Tasi C. L-ascorbic acid produces hypoglycemia and hyperinsulinemia in anaesthetized rats. J Pharm Pharmacol.1989; 41(5):345-3 53