

## Comparison of the Antidiabetic Activity of *Lepidium sativum* Seed Extract with that of Insulin in Diabetic Rats: A Comparative Study

Mehran Kamani<sup>1</sup>, Sara Hookari<sup>1</sup>, Hossein Nikzad<sup>3</sup>

1. Assistant Professor of Anatomical Sciences, Sirjan School of Medical Sciences, Sirjan, Iran. Tel: +98-9162307082, Email: mehrankamany@yahoo.com, ORCID ID: 0000-0002-6955-4103.

2. Instructor, Frarabi Hospital, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran. ORCID ID: 0000-0001-9811-3481.

3. Gametogenesis Research Center, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran (Corresponding Author): Tel: +98-086-46260390, Email: hosseinnikzad43@yahoo.com, ORCID ID: 0000-0003-1888-9365

### ABSTRACT

**Background and Aim:** Diabetes can adversely affect spermatogenesis. Garden cress plant, known as *Lepidium sativum*, contains antioxidants. This study aimed to evaluate and compare in vivo antidiabetic activities of hydroalcoholic garden cress seed extract and insulin on diabetic rats.

**Material and Methods:** In this experimental study, diabetes was induced in the animals using streptozotocin (STZ; 60 mg/kg). Fifty rats were divided into five equal groups as follows: Groups 1, nondiabetic rats; group 2, diabetic rats induced by streptozotocin; Group 3, diabetic animals that received streptozotocin plus insulin; and groups 4 and 5 were diabetic rats that received 200 and 400 mg/kg garden cress seed extract respectively by gavage for 4 weeks. At the end of the study, the sperm parameters obtained from the tail of the left epididymis and biochemical parameters were analyzed and compared among the groups. Data were analyzed by one-way ANOVA.

**Results:** The sperm parameters of the diabetic groups receiving 200 and 400 mg/kg of garden cress extract demonstrated a significant increase in all parameters compared to those of the diabetic control group. Administration of garden cress extract as a powerful antioxidant led to compensation for the streptozotocin toxicity and improved sperm quality.

**Conclusion:** Administration of the *Lepidium sativum* seed extract compensated for the Streptozotocin-induced harmful effects. Our findings suggested that use of the garden cress seed extract and insulin therapy may have a potential protective effect on diabetes mellitus.

**Keywords:** Antioxidants, Diabetes, Insulin, *Lepidium sativum*

**Received:** Aug 31, 2022

**Accepted:** Sep 26, 2022

**How to cite the article:** Mehran Kamani, Sara Hookari, Hossein Nikzad. Comparison of the Antidiabetic Activity of *Lepidium sativum* Seed Extract with that of Insulin in Diabetic Rats: A Comparative Study. SJKU 2023;28(4):24-38.

Copyright © 2018 the Author (s). Published by Kurdistan University of Medical Sciences. This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-Non Commercial License 4.0 (CCBYNC), where it is permissible to download, share, remix, transform, and buildup the work provided it is properly cited. The work cannot be used commercially without permission from the journal

## مقایسه فعالیت ضد دیابتی عصاره هیدروالکلی تخم شاهی (*Lepidium Sativum*) با

### انسولین در رت های دیابتی: مطالعه تطبیقی

مهران کمانی<sup>۱</sup>، سارا هوکری<sup>۲</sup>، حسین نیکزاد<sup>۳</sup>

۱. استادیار، گروه علوم تشریحی دانشکده علوم پزشکی سیرجان، سیرجان، ایران. کد ارکید: ۴۱۰۳-۶۹۵۵-۰۰۰۲-۰۰۰۰

۲. مربی، بیمارستان فارابی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران. کد ارکید: ۳۴۱۱-۹۸۱۱-۰۰۰۱-۰۰۰۰

۳. استاد مرکز تحقیقات گامتوزنزیس، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران. (نویسنده مسئول) تلفن: ۰۸۶-۴۶۲۶۰۳۹۰، پست الکترونیک:

hosseinnikzad43@yahoo.com و کد ارکید: ۱۸۸۸-۹۳۶۵-۰۰۰۳-۰۰۰۰

#### چکیده

**زمینه و هدف:** دیابت می‌تواند بر روند اسپرماتوزنر تأثیر منفی داشته باشد. گیاه شاهی که با نام علمی *Lepidium Sativum* شناخته می‌شود، حاوی آنتی‌اکسیدان‌هاست. این مطالعه با هدف بررسی و مقایسه فعالیت ضد دیابتی عصاره هیدروالکلی بذر شاهی با انسولین در موش های صحرایی دیابتی انجام شد.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه تجربی، دیابت در حیوانات با استفاده از استرپتوزوتوسین (STZ؛ ۶۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) ایجاد شد. ۵۰ سر موش به طور مساوی به پنج گروه تقسیم شدند: گروه ۱، کنترل نرمال. گروه ۲، رت های دیابتی ناشی از استرپتوزوتوسین. گروه ۳، حیوانات دیابتی که استرپتوزوتوسین به همراه انسولین دریافت کردند و گروه‌های ۴ و ۵ موش‌های دیابتی بودند که مقادیر ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره دانه شاهی (*Lepidium Sativum*) را از طریق گاوژ به مدت ۴ هفته دریافت کردند. در پایان مطالعه پارامترهای اسپرم به‌دست‌آمده از دم اپیدیدیم چپ و پارامترهای بیوشیمیایی مورد تجزیه و تحلیل و مقایسه قرار گرفت. یافته‌ها با استفاده از روش آماری واریانس یک‌طرفه آنالیز شدند.

**یافته‌ها:** پارامترهای مورد مطالعه در گروه‌های دیابتی دریافت کننده ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره دانه شاهی نسبت به گروه کنترل دیابتی افزایش معنی‌داری را نشان داد. تجویز عصاره دانه شاهی به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی توانست سمیت استرپتوزوتوسین را جبران کرده و کیفیت اسپرم را بهبود بخشد.

**نتیجه‌گیری:** مصرف عصاره دانه شاهی توانست اثرات مضر ناشی از استرپتوزوتوسین را جبران کند. یافته‌های ما پیشنهاد می‌کند که مصرف عصاره دانه شاهی و انسولین درمانی ممکن است یک اثر محافظتی بالقوه بر دیابت داشته باشند.

**کلمات کلیدی:** آنتی‌اکسیدان، انسولین، تخم شاهی، دیابت

وصول مقاله: ۱۴۰۱/۳/۹ اصلاحیه نهایی: ۱۴۰۱/۷/۴ پذیرش: ۱۴۰۱/۷/۴

## Reactive Oxygen Species (ROS) از گونه های

فعال است که از اکسیژن مشتق می شوند. عدم تعادل بین تولید و حذف ROS در بیماری دیابت شایع است و دارای اثرات زیان بار فراوانی است [۷]. مکانیسم های متفاوتی برای مهار استرس اکسیداتیو و کاهش اثرات سمی ROS وجود دارد. یکی از این مکانیسم ها سیستم آنتی اکسیدانی است که به عنوان پاک کننده رادیکال های آزاد عمل می کند. انواع مکانیسم های غیر آنزیمی شامل ویتامین A و E profiling, Ascorbic Carotenoids, Ubiquinone acid, Yorick acid, Taurine, Pyruvate, Glutathione, و کوآنزیم Q است و یکی از منابع اصلی این آنتی اکسیدان ها گیاهان دارویی است [۸]. ویتامین E در سال ۱۹۹۲ با عنوان «ویتامین تولید مثل» معرفی شد. این مطالعه نشان داده است که ویتامین E در اسپرم ها وجود دارد و نقش آنتی اکسیدان را در اسپرم ایفا می کند [۹].

شاهی گیاهی یکساله از خانواده Brassicacea با رشد سریع است و از نظر بومی مربوط به کشور مصر و منطقه غرب آسیاست که تا ارتفاع ۶۰ سانتیمتر رشد می کند. گیاه شاهی در تمام نقاط با آب و هوای معتدل رشد می کند و اغلب به عنوان چاشنی یا سبزی برگ دار به دلیل طعم تند و عطر آن در غذاهای مختلف استفاده می شود. دانه ها، برگ ها و ریشه های گیاه شاهی از نظر داروشناختی دارای ترکیبات مفیدی هستند و از همین رو این گیاه دارای مصرفی گسترده در صنعت داروسازی در کشورهای مختلف است [۱۰-۱۲]. تخم شاهی یک منبع قوی و طبیعی از فلاونوئیدها، کومارین ها، سولفور گلیکوزیدها، استرول ها و طیف گسترده ای از ایمیدازول آلکالوئیدها است [۱۳]. مطالعات انجام شده نشان داده اند که دانه شاهی حاوی حدود ۲۵ درصد پروتئین و ۱۶ درصد چربی می باشد و سبوس آن به دلیل داشتن مقدار زیادی فیبر غذایی (۷۴/۳ درصد) ظرفیت نگهداری آب زیادی را دارد که در صنایع غذایی کاربرد دارد [۱۴]. در زمینه پزشکی از گیاه شاهی از دیرباز در درمان آسم، سرفه و

دیابت یکی از شایع ترین بیماری های متابولیک در سراسر جهان است و متأسفانه در گروه های اقتصادی و اجتماعی ضعیف جامعه شایع تر است. تقریباً ۲/۵ درصد از جمعیت جهان از بیماری دیابت رنج می برند و تخمین زده می شود که تا سال ۲۰۲۵ این عدد به ۵/۴ درصد از جمعیت جهان برسد [۱]. مهم ترین علامت بالینی بیماری دیابت افزایش قند خون است که منجر به قنددار شدن پروتئین های مختلف در بدن و به دنبال آن بروز اختلال در عملکرد آن ها می شود طوری که اثرات زیانباری در اندام های مهم بدن مانند قلب، کلیه ها و چشم ها ایجاد می کند [۲]. یکی از موضوعات بسیار مهم مورد بحث در زمینه دیابت، نقش استرس اکسیداتیو و رادیکال های آزاد در روند این بیماری است. به نظر می رسد استرس اکسیداتیو و رادیکال های آزاد اثرات نامطلوبی بر دستگاه تناسلی داشته باشند. عوارض دیابت در دستگاه تناسلی مردان مورد مطالعه قرار گرفته است که سبب بروز اختلالاتی از قبیل اختلالات نعوظ، کوچک شدن بیضه ها، کاهش میل جنسی و تغییر در پارامترهای مایع منی است [۳, ۴].

انسولین یکی از هورمون هایی است که نقش مهمی را در متابولیسم بدن ایفا می کند. انسولین از جزایر لانگرهانس که در قسمت غدد درون ریز لوزالمعده قرار دارد به جریان خون ترشح می شود. دیابت توانایی بدن در تولید انسولین را کاهش می دهد؛ بنابراین بیماران دیابتی نیاز به تزریق روزانه انسولین دارند [۵]. انسولین درمانی از رایج ترین درمان های بیماری دیابت است که بعضاً این روش درمانی دارای محدودیت هایی مانند مصرف غیر خوراکی، اثرات کوتاه مدت و نیاز به نگهداری در جای خنک است و می تواند مشکلات زیادی را برای بیماران از قبیل کمای دیابتی ایجاد کند. به دلیل مشکلات زیاد در استفاده از انسولین، محققان به دنبال جایگزین مناسبی از منابع مصنوعی و گیاهی برای این روش درمانی هستند [۶].

اخلاقی دانشگاه علوم پزشکی کاشان در طول آزمایش رعایت شد [۱۶].

#### تهیه عصاره دانه شاهی

دانه های شاهی از شرکت باریج اسانس در کاشان، تهیه شد. برای تهیه عصاره الکلی دانه های شاهی، میزان ۵۰۰ گرم دانه شاهی را آسیاب کرده تا به شکل پودر درآید و سپس این پودر را با اتانول ۹۶ درصد مخلوط کرده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق گذاشته شد. سپس مخلوط را از صافی عبور داده و تصفیه کردیم، سپس مجدداً آن را با اتانول ۹۶٪ مخلوط کرده و ۱۲ ساعت گذاشته شد، سپس دوباره از صافی عبور داده و دوباره تصفیه کردیم. مواد آماده شده در اون ۵۰ درجه سلیسیوس رطوبت گیری می شوند. در نهایت، وزن عصاره خشک شده اندازه گیری شده و محلول های ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم در آب مقطر تهیه و برای گاوژ در موش های صحرایی دیابتی استفاده گردید [۱۷، ۱۸].

#### حیوانات

این مطالعه آزمایشگاهی بر روی ۵۰ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار (۸ هفته ای و دامنه وزن ۲۸۰-۳۲۰ گرم) طراحی شد که در یک اتاق با دمای کنترل شده و یک برنامه ۱۲ ساعت روشنی/۱۲ ساعت تاریکی و با یک رژیم غذایی استاندارد و آب نگهداری شده اند. تمام مراقبت های حیوانی طبق کمیته اخلاقی دانشگاه علوم پزشکی کاشان بر اساس قوانین اخلاقی حیوانات هلسنکی ۱۹۶۴ مورد تأیید است.

#### تنظیم غلظت انسولین تزریقی

موش های دیابتی با قند خون ناشتا بیش از ۲۵۰ میلی گرم بر دسی لیتر، انسولین را روزانه به صورت تزریق زیر جلدی در میزان 3U / 100 g / 3U / 100 g وزن بدن (Sigma-Aldrich USA) به صورت تزریق صبحگاهی (10 am, 2U) و بعد از ظهر (4 pm, 4U) به مدت ۲۸ روز دریافت کردند [۱۹]. گروه های مورد مطالعه

خونریزی استفاده شده است. برگ های گیاه شاهی محرکی ملایم و ادرار آور هستند که در درمان بیماری های اسکوربوت و مشکلات کبدی مفید هستند. از ریشه های گیاه شاهی در درمان سفلیس ثانویه و تنسوموس رکتوم استفاده می شود. از اثرات دانه های گیاه شاهی بعنوان قرمز کننده پوست استفاده می شود. دانه های گیاه شاهی سبب تحریک یا افزایش جریان قاعدگی در زنان می شود. از دیگر خصوصیات دانه های گیاه شاهی می توان به ملین و مقوی بودن و ادرار آور بودن آن اشاره کرد [۱۵]. عوارض بیماری دیابت بر روی سیستم تولید مثل مردان یک چالش در علم پزشکی است؛ بنابراین، مطالعه حاضر به منظور بررسی تأثیر عصاره هیدروالکلی دانه گیاه شاهی، وضعیت دیابت/انسولین و همچنین استرس اکسیداتیو بر روی پارامترهای اسپرم و فاکتورهای بیوشیمیایی خون در موش های دیابتی ناشی از استرپتوزوتوسین طراحی شده است.

#### مواد و روش ها

##### روش ایجاد مدل حیوانی دیابت

برای ایجاد دیابت، موش ها را یک شب گرسنه نگه داشتیم. سپس استرپتوزوتوسین (streptozotocin (Sigma-Aldrich, USA), (STZ) به میزان ۶۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن به صورت داخل صفاقی تزریق شد. با حل کردن ۱۰ میلی گرم استرپتوزوتوسین در ۱/۰ میلی لیتر بافر سترات ۰/۱ میلی لیتر، محلول القایی دیابت در موش ها تهیه شد و پتانسیل یون هیدروژن (Potential of Hydrogen (PH) (Ion) محلول می بایست در حدود ۴,۵ حفظ شود. حدود سه روز پس از تزریق استرپتوزوتوسین، قند خون موش ها توسط دستگاه گلوکومتر (BeurerGL40، مجارستان) مورد ارزیابی قرار گرفت. موش های صحرایی با قند خون بیشتر از ۲۵۰ میلی گرم بر دسی لیتر در این مطالعه به عنوان موش های دیابتی در نظر گرفته شد. اصول مراقبت از حیوانات آزمایشگاهی (موسسه ملی بهداشت (NIH 1985) و تمام دستورالعمل های کمیته

در این مطالعه تجربی پنجاه سر موش به طور تصادفی انتخاب و به پنج گروه مساوی به شرح زیر تقسیم شدند (هر گروه=۱۰ سر): گروه ۱ یا کنترل نرمال ۰٫۱ میلی لیتر نرمال سالین با استفاده از گاواژ دهانی دریافت کردند در این مطالعه روزانه نرمال سالین را با حجم برابر عصاره از طریق گاواژ در گروه کنترل نرمال انجام دادیم. موش‌های گروه ۲ یا کنترل دیابتی تحت درمان خاصی قرار نگرفتند و تحت هیچ‌گونه مداخله‌ای قرار نگرفتند. گروه ۳ موش‌های دیابتی بودند که انسولین دریافت کردند. گروه‌های ۴ و ۵ موش‌های دیابتی بودند که عصاره دانه شاهی را به مدت ۲۸ روز از طریق گاواژ دهانی در دوزهای ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم به مقدار ۰٫۱ میلی لیتر دریافت کردند [۲۰].

جمع‌آوری نمونه‌ها

پس از ۲۸ روز و ۲۴ ساعت پس از دریافت دوز نهایی دارو، موش‌ها توسط کلروفورم به طور عمیق بی‌هوش شدند. سپس نمونه خون حیوانات برای بررسی سطح قند خون ناشتا، میزان تستوسترون و ظرفیت کل آنتی اکسیدانی (TAC) جمع‌آوری شد [۲۱].

روش جمع‌آوری اسپرم از دم اپیدیدیم و سنجش تحرک اسپرم

دم اپیدیدیم با قیچی خرد شد و در ۱ میلی لیتر محلول Hams F10 قرار داده شد و به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سلسیوس انکوبه شد تا اسپرم‌ها از آن خارج شوند. سپس یک قطره از سوسپانسیون آماده شده را روی اسلاید قرار دادیم و آن را زیر میکروسکوپ نوری مطالعه کردیم. برای برآورد درصد اسپرم‌های متحرک در هر نمونه، حداقل ده میدان میکروسکوپی با بزرگنمایی X۴۰۰ برای هر نمونه بررسی شد [۲۲].

روش شمارش اسپرم

از لام نئوبار (Neubauer) برای شمارش تعداد اسپرم در هر نمونه در این مطالعه پس از رقیق کردن سوسپانسیون اسپرم با فرمالین ۱۰ درصد استفاده شد [۲۲].

مورفولوژی طبیعی اسپرم

برای محاسبه تعداد اسپرم‌های طبیعی، سوسپانسیون اسپرم با پاپانیکولا رنگ آمیزی شد و درصد اسپرم‌های غیرطبیعی با استفاده از لام Neubauer شمارش شد (WHO 2010) [۲۲].

سنجش ظرفیت کل آنتی اکسیدانی

ظرفیت کل آنتی اکسیدانی (TAC) در سرم با استفاده از روش اسید فسفاتاز مقاوم در برابر فلوراید (FRAP) با مکانیسم زیر ارزیابی شد. این روش توانایی سرم را برای بازیابی یون‌های آهن نشان می‌دهد. هنگامی که مجموعه فریک تری پیریدیل تریازین Fe III-TPTZ در pH اسیدی به Fe II تبدیل می‌شود و در حداکثر طول موج ۵۹۳ نانومتر جذب می‌شود، یک نور آبی ایجاد می‌شود. این روش به مقدار زیادی Fe III نیاز دارد. تنها عامل تعیین کننده سرعت Fe II-TPTZ و تولید رنگ آبی قدرت حیاتی نمونه‌ها است [۲۳].

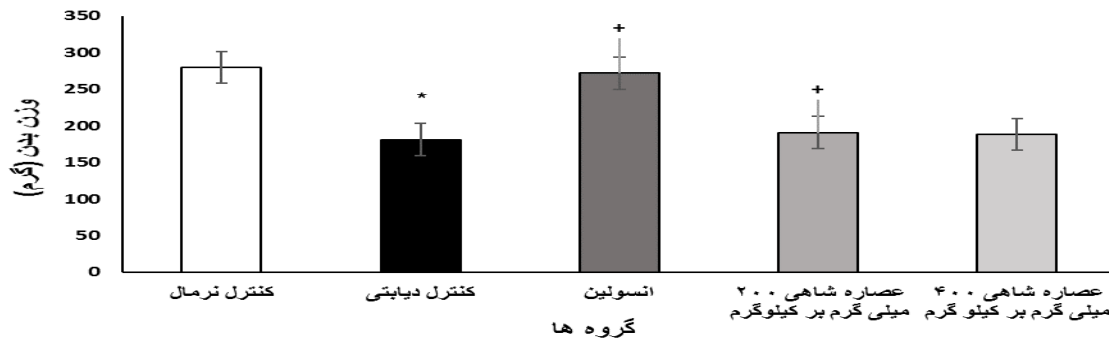
آنالیز آماری

با استفاده از SPSS، نسخه ۲۰ (Chicago)، بررسی نرمال بودن توزیع داده‌ها به کمک آزمون کلموگروف اسمیرنوف انجام شد. سپس داده‌ها با استفاده از آزمون‌های ANOVA و Tukey's post hoc تجزیه و تحلیل شد. مقدار P-value کمتر از ۰/۰۵ از نظر آماری معنی دار بود.

### یافته‌ها

یافته‌ها نشان می‌دهد در مقایسه با گروه انسولین مصرف عصاره دانه شاهی به میزان ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم می‌تواند وزن بدن را به ترتیب با احتمال‌های (P=0.046) و (P=0.042) به طور معنی داری کاهش دهد؛ اما در گروه

کنترل دیابتیک وزن بدن در مقایسه با گروه کنترل نرمال به شکل معنی داری کاهش یافته است ( $P=0.022$ ) (نمودار ۱).



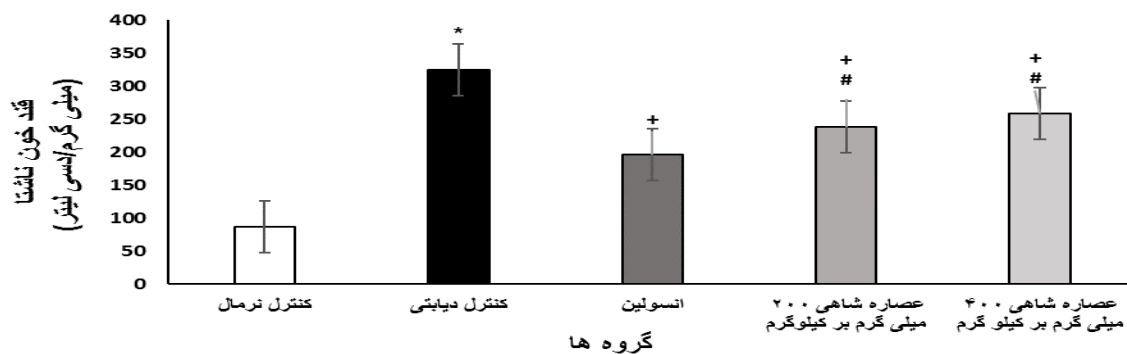
نمودار ۱. اثر عصاره دانه شاهی و تزریق انسولین بر وزن بدن. نمودار ۱ تأثیر عصاره تخم شاهی و انسولین را در گروه‌های مختلف مقایسه می‌کند ( $P < 0.05$ ).

\*: در مقایسه با گروه کنترل نرمال، گروه کنترل دیابتیک ( $P=0.022$ ) دارای اختلاف آماری معنادار

+: در مقایسه با گروه کنترل دیابتیک، گروه تحت درمان با انسولین ( $P=0.031$ ) دارای اختلاف آماری معنادار

#: در مقایسه با گروه تحت درمان با انسولین، گروه عصاره شاهی ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم ( $P=0.046$ ) و عصاره شاهی ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم ( $P=0.042$ ) دارای اختلاف آماری معنادار

نتایج بیوشیمیایی خون در موش‌های صحرایی دیابتی، سطح قند خون ناشتا (FBS) به طور معنی داری در مقایسه با گروه کنترل نرمال افزایش یافت ( $P < 0.0001$ ). در حالی که مصرف ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره دانه شاهی توانست FBS را به طور معنی داری در مقایسه با گروه کنترل دیابتیک کاهش دهد ( $P=0.022$  و  $P=0.030$ ). در این مطالعه، تغییرات قند خون در گروه‌های مختلف در نمودار ۲ نشان داده شده است.



نمودار ۲. اثر عصاره دانه شاهی و تزریق انسولین بر قند خون. نمودار ۲ تأثیر عصاره تخم شاهی و انسولین را بر قند خون ناشتا در گروه‌های مختلف مقایسه می‌کند ( $P < 0.05$ ).

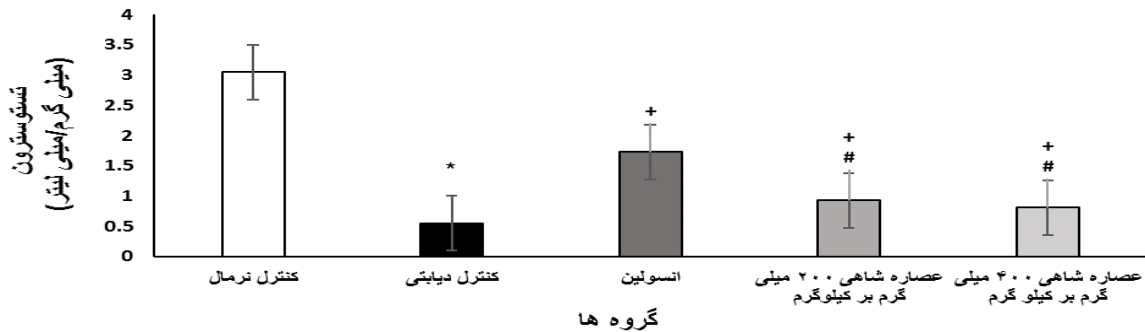
\*: در مقایسه با گروه کنترل نرمال، گروه کنترل دیابتیک ( $P < 0.0001$ ) دارای اختلاف آماری معنادار

+: در مقایسه با گروه کنترل دیابتیک، گروه تحت درمان با انسولین ( $P=0.001$ )، گروه عصاره شاهی ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم ( $P=0.022$ ) و عصاره شاهی ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم ( $P=0.030$ ) دارای اختلاف آماری معنادار

# در مقایسه با گروه تحت درمان با انسولین، گروه عصاره شاهی ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم ( $P=0.046$ ) و عصاره شاهی ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم ( $P=0.038$ ) دارای اختلاف آماری معنادار

کیلوگرم عصاره دانه شاهی برای حیوانات دیابتی منجر به افزایش معنی داری در مقدار تستوسترون در مقایسه با موش های دیابتی شاهد شد ( $P=0.037$ ) (نمودار ۳).

استرس اکسیداتیو ناشی از تزریق STZ باعث کاهش سطح تستوسترون در گروه کنترل دیابتی شد ( $P<0.0001$ ). این کاهش در گروه انسولین در مقایسه با گروه کنترل دیابتی نیز معنی دار بود ( $P=0.010$ ). مصرف ۲۰۰ میلی گرم بر



نمودار ۳. اثر عصاره دانه شاهی و تزریق انسولین بر هورمون تستوسترون. نمودار ۳ تأثیر عصاره تخم شاهی و انسولین را بر میزان تستوسترون در گروه های مختلف مقایسه می کند ( $P<0.05$ ).

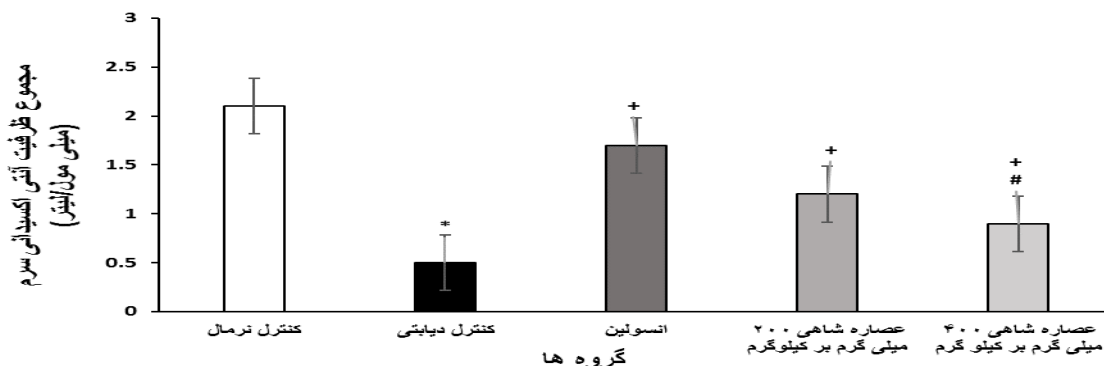
\*: در مقایسه با گروه کنترل نرمال، گروه کنترل دیابتیک ( $P<0.001$ ) دارای اختلاف آماری معنادار

+ : در مقایسه با گروه کنترل دیابتیک، گروه تحت درمان با انسولین ( $P=0.010$ )، گروه عصاره شاهی ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم ( $P=0.041$ ) و عصاره شاهی ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم ( $P=0.037$ ) دارای اختلاف آماری معنادار

# : در مقایسه با گروه تحت درمان با انسولین، گروه عصاره شاهی ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم ( $P=0.029$ ) و عصاره شاهی ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم ( $P=0.021$ ) دارای اختلاف آماری معنادار

کیلوگرم باعث افزایش معنی دار TAC در مقایسه با گروه کنترل دیابتی شد ( $P<0.0001$ ). همچنین در دوز ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم، این تفاوت در مقایسه با گروه انسولین معنی دار بود ( $P=0.001$ ) (نمودار ۴).

نتایج این مطالعه نشان داد که سطح مجموع ظرفیت آنتی اکسیدانی سرم (TAC) در گروه موش های دیابتی نسبت به گروه کنترل نرمال به میزان قابل توجهی کاهش یافته است ( $P<0.0001$ ). مصرف عصاره دانه شاهی ۲۰۰ میلی گرم در

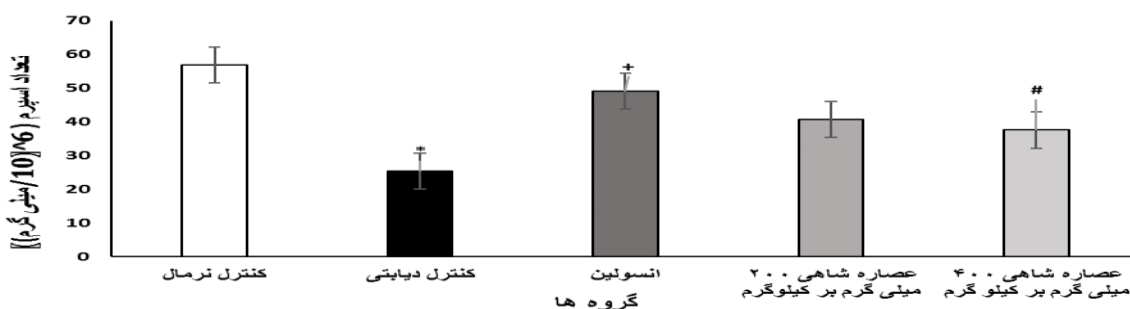


نمودار ۴- اثر عصاره دانه شاهی و تزریق انسولین بر میزان TAC. نمودار ۴ تأثیر عصاره تخم شاهی و انسولین را بر میزان TAC در گروه‌های مختلف مقایسه می‌کند ( $P < 0.05$ ).

\*: در مقایسه با گروه کنترل نرمال، گروه کنترل دیابتیک ( $P < 0.0001$ ) دارای اختلاف آماری معنادار  
 +: در مقایسه با گروه کنترل دیابتیک، گروه تحت درمان با انسولین ( $P < 0.0001$ )، گروه عصاره شاهی ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم ( $P < 0.0001$ ) و عصاره شاهی ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم ( $P = 0.009$ ) دارای اختلاف آماری معنادار  
 #: در مقایسه با گروه تحت درمان با انسولین، گروه عصاره شاهی ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم ( $P = 0.031$ ) و عصاره شاهی ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم ( $P = 0.001$ ) دارای اختلاف آماری معنادار

مقایسه با گروه کنترل دیابتی تجویز عصاره شاهی 200 و 400 میلی گرم بر کیلوگرم به ترتیب با احتمال‌های ( $P = 0.003$ ) و ( $P = 0.011$ ) سبب افزایش معنی‌دار تحرک اسپرم‌ها شد (نمودار ۵).

آنالیز نتایج اسپرم  
 نتایج این مطالعه کاهش معنادار تعداد اسپرم‌های متحرک در موش‌های صحرایی دیابتی را نشان می‌دهد ( $P < 0.0001$ ). درمان با انسولین باعث افزایش قابل توجه اسپرم‌های متحرک در مقایسه با گروه کنترل دیابتیک شد ( $P < 0.0001$ ).



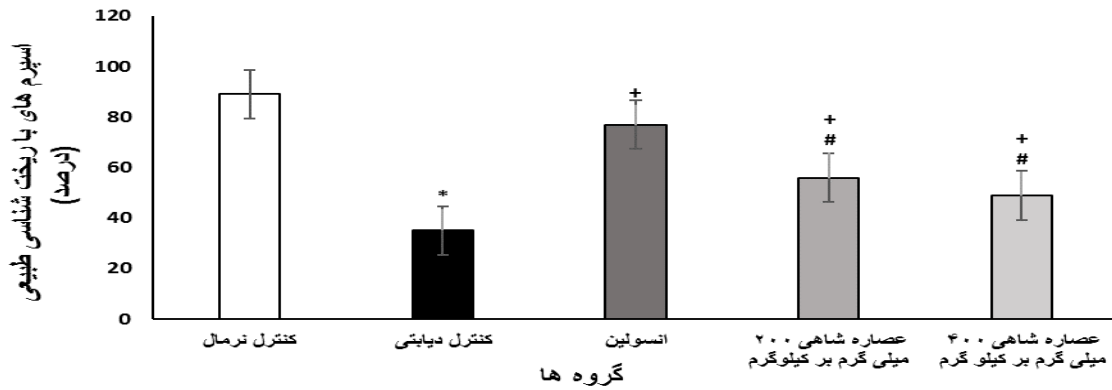
نمودار ۵. اثر عصاره دانه شاهی و تزریق انسولین بر تعداد اسپرم‌های متحرک. نمودار ۵ تأثیر عصاره تخم شاهی و انسولین را بر روی تعداد اسپرم‌های متحرک در گروه‌های مختلف مقایسه می‌کند ( $P < 0.05$ ).

\*: در مقایسه با گروه کنترل نرمال، گروه کنترل دیابتیک ( $P < 0.0001$ ) دارای اختلاف آماری معنادار  
 +: در مقایسه با گروه کنترل دیابتیک، گروه تحت درمان با انسولین ( $P < 0.0001$ )، گروه عصاره شاهی ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم ( $P = 0.003$ ) و عصاره شاهی ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم ( $P = 0.011$ ) دارای اختلاف آماری معنادار  
 #: در مقایسه با گروه تحت درمان با انسولین، گروه عصاره شاهی ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم ( $P = 0.042$ ) و عصاره شاهی ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم ( $P = 0.033$ ) دارای اختلاف آماری معنادار



نتایج ریخت شناسی اسپرم حاکی از افزایش معنی دار در اشکال طبیعی اسپرم در گروه های تخم شاهی ۲۰۰ (P=0.011) و عصاره شاهی ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم (P=0.028) در مقایسه با گروه کنترل دیابتی است. سایر تغییرات در پارامترهای اسپرم از قبیل ریخت شناسی اسپرم های نرمال در نمودار ۶ نشان داده شده است.

نتایج ریخت شناسی اسپرم حاکی از افزایش معنی دار در اشکال طبیعی اسپرم در گروه های تخم شاهی ۲۰۰ (P=0.011) و عصاره شاهی ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم (P=0.028) در مقایسه با گروه کنترل دیابتی است. سایر تغییرات در پارامترهای اسپرم از قبیل ریخت شناسی اسپرم های نرمال در نمودار ۶ نشان داده شده است.



نمودار ۶. اثر عصاره دانه شاهی و تزریق انسولین بر ریخت شناسی اسپرم های طبیعی. نمودار ۶ تأثیر عصاره تخم شاهی و انسولین را در گروه های مختلف مقایسه می کند (P < 0.05).

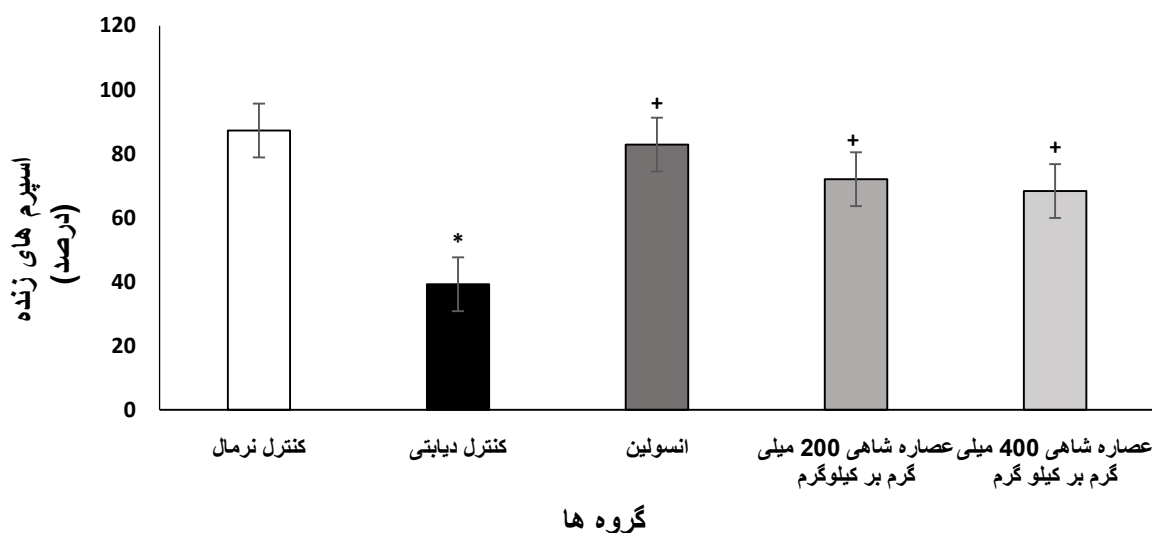
\*: در مقایسه با گروه کنترل نرمال، گروه کنترل دیابتیک (P < 0.0001) دارای اختلاف آماری معنادار

+ : در مقایسه با گروه کنترل دیابتیک، گروه تحت درمان با انسولین (P < 0.0001)، گروه عصاره شاهی ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم (P = 0.011) و عصاره شاهی ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم (P = 0.028) دارای اختلاف آماری معنادار

# : در مقایسه با گروه تحت درمان با انسولین، گروه عصاره شاهی ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم (P = 0.010) و عصاره شاهی ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم (P = 0.001) دارای اختلاف آماری معنادار

موش های تحت درمان با STZ افزایش دهد (P < 0.0001) (نمودار ۷).

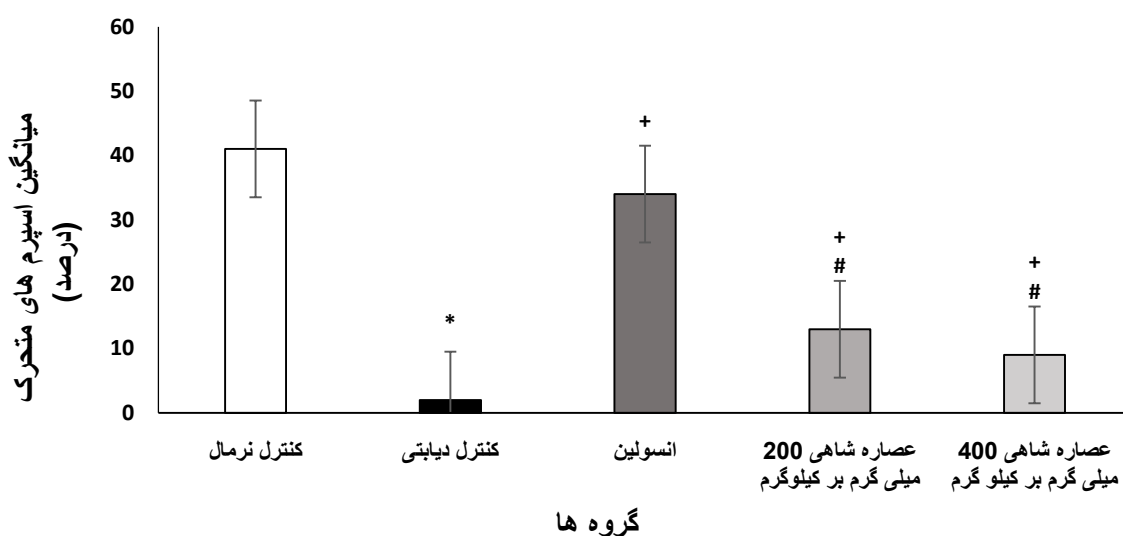
نتایج نشان داد که کاهش معنی دار اسپرم های زنده در موش های دیابتی مشاهده می شود (P < 0.0001). همچنین تزریق انسولین توانست تعداد اسپرم های زنده را در مقایسه با



نمودار ۷- اثر عصاره دانه شاهی و تزریق انسولین بر قدرت زنده مانی اسپرم‌ها. نمودار ۷ تأثیر عصاره تخم شاهی و انسولین را بر قدرت زنده مانی اسپرم ها در گروه های مختلف مقایسه می کند ( $P < 0.05$ ).

\*: در مقایسه با گروه کنترل نرمال، گروه کنترل دیابتیک ( $P < 0.0001$ ) دارای اختلاف آماری معنادار  
 +: در مقایسه با گروه کنترل دیابتیک، گروه تحت درمان با انسولین ( $P < 0.0001$ )، گروه عصاره شاهی ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم ( $P = 0.001$ ) و عصاره شاهی ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم ( $P = 0.007$ ) دارای اختلاف آماری معنادار

نتایج حاکی از کاهش معنی دار تحرک اسپرم ها در موش های دیابتی در مقایسه با گروه کنترل نرمال ( $P < 0.0001$ ) است. همچنین، تحرک اسپرم‌ها در گروه انسولین در مقایسه با موش های تحت درمان با STZ ( $P < 0.0001$ ) به میزان قابل توجهی افزایش یافته است (نمودار ۸).



نمودار ۸- اثر عصاره دانه شاهی و تزریق انسولین بر تعداد اسپرم‌های متحرک. نمودار ۸ تأثیر عصاره تخم شاهی و انسولین را بر روی میاتگین اسپرم‌های متحرک در گروه‌های مختلف مقایسه می‌کند ( $P < 0.05$ ).

\*: در مقایسه با گروه کنترل نرمال، گروه کنترل دیابتیک ( $P < 0.0001$ ) دارای اختلاف آماری معنادار

+ : در مقایسه با گروه کنترل دیابتیک، گروه تحت درمان با انسولین ( $P < 0.0001$ )، گروه عصاره شاهی ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ( $P = 0.019$ ) و عصاره شاهی ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ( $P = 0.037$ ) دارای اختلاف آماری معنادار

# : در مقایسه با گروه تحت درمان با انسولین، گروه عصاره شاهی ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ( $P = 0.009$ ) و عصاره شاهی ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ( $P = 0.002$ ) دارای اختلاف آماری معنادار

## بحث

انسولین و سولفونیل اوره دارو هایی هستند که معمولاً برای درمان دیابت بیشتر مورد استفاده قرار می‌گیرند که استفاده از آن‌ها ممکن است خطر هایپوگلیسمی را افزایش دهد و حتی منجر به مرگ شود. از این رو، نیاز به پژوهش در زمینه یافتن جایگزین های ایمن تر و مؤثر همیشه وجود دارد [۲۴]. در این راستا این مطالعه تأثیر عصاره الکلی دانه شاهی را بر تغییرات بیوشیمیایی خون و پارامترهای اسپرم در موش‌های صحرایی دیابتی ناشی از استرپتوزوتوسین در قیاس با انسولین مورد مطالعه قرار داده است.

این مطالعه نشان داد که کاهش قند خون ناشتا در موش های دیابتی با مصرف عصاره دانه شاهی ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم معنی دار بود. نتایج به دست آمده در این مطالعه مورد تأیید Kang و همکاران (۲۰۱۰) است که در مطالعه‌ای تأثیر مصرف پیاز بر دیابت را مورد مطالعه قرار دادند و نشان دادند که رژیم غذایی پیاز می‌تواند قند خون ناشتا را به میزان قابل توجهی کاهش دهد [۲۵]. این نتایج با مطالعه Amavi و همکاران (۲۰۱۲) نیز همخوانی دارد که در مطالعه‌ای بر روی موش‌های دیابتی نشان دادند که مصرف عصاره دانه شاهی با دوز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم باعث کاهش قابل توجه قند خون ناشتا در موش صحرایی می‌شود که می‌تواند به دلیل وجود آنتی‌اکسیدان های موجود در این گیاه باشد [۱۷]. در مطالعه‌ای دیگر در سال ۲۰۱۷ که توسط Attia و همکاران صورت گرفت، آن‌ها تأثیر عصاره متانول دانه شاهی را در رت های دیابتی شده با آلوکسان بررسی کردند و بعد از چهار هفته

نتایج نشان داد که مصرف شاهی در رت های دیابتی سبب کاهش معنی دار قند خون در مقایسه با گروه دیابتی شد که هیچ درمان خاصی را در طول آزمایش دریافت نکرده بود [۱۳].

نتایج ما نشان داد که مصرف عصاره الکلی دانه شاهی با دوز ۲۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر باعث افزایش وزن شد. نتایج ممکن است به دلیل وجود دی سولفید در ترکیب دانه‌های شاهی باشد که از نظر ساختاری شبیه به انسولین است که توسط Amavi و همکاران (۲۰۱۲) گزارش شده است [۲۶]. یکی از نتایج قابل توجه در این مطالعه اثر متفاوت عصاره الکلی دانه شاهی در دوز ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بر وزن بدن بود که مشابه نتایج مطالعه Meikle و همکاران است که در مطالعه‌ای نشان داد که مصرف عصاره الکلی تخم شاهی در دوزهای بالا به سیستم تولید مثل آسیب می‌رساند. آن‌ها در مطالعه خود نشان دادند که تجویز اسیدهای چرب ضروری مانند اسید اولیک و کلسترول استراز که برای سنتز تستوسترون در سلول های لایدیگ در غلظت های بالا ضروری است، می‌تواند اثر معکوس بر روی سیستم تناسلی داشته باشد [۲۷].

پارامترهای اسپرم در گروه دیابتی نسبت به گروه کنترل کاهش معنی داری داشت. افزایش معنی‌دار تحرک اسپرم در گروه دیابتی شاهی ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در مقایسه با گروه دیابتی مشاهده شد. چندین مطالعه با نتایج به دست آمده در این مطالعه موافق است. Aghaei و همکاران (2016) در مطالعه‌ای بر روی موش‌های تحت درمان با سیکلوفسفامید نشان دادند که تغییرات بافت شناسی در اپیدیدیم مانند

انسولین در این مطالعه بهبود ببخشد. انسولین درمانی در این مطالعه پارامترهای اسپرم را به طور قابل توجهی در مقایسه با گروه کنترل دیابتی افزایش داد. نتایج حاصل از تأثیر انسولین در این مطالعه مشابه کار انجام شده توسط Bahey و همکاران است که در سال ۲۰۱۴ نشان دادند که درمان با انسولین باعث بهبود تغییرات هیستوپاتولوژیک در غده پروستات شده است که یکی از غدد ضمیمه دستگاه تناسلی محسوب می شود [۳۳]. Jan Melin و همکاران در سال ۲۰۰۲ اثر محافظتی انسولین را بر آسیب ایسکمیک کلیه در بیماری دیابت بررسی کرده و نشان دادند که با نتایج مطالعه حاضر همخوانی دارد و سبب کاهش گونه های کنش گر اکسیژنی حاصل از هایپرگلیسمی در بیماری دیابت می شود [۳۴]. یافته ها نشان داده است که استرس اکسیداتیو ایجاد شده در دیابت باعث کاهش قابل توجه مجموع ظرفیت آنتی اکسیدانی سرم (TAC) در مقایسه با گروه کنترل نرمال می شود. مصرف عصاره دانه شاهی ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم در این مطالعه در مقایسه با گروه کنترل دیابتی باعث افزایش قابل توجه TAC شد. این استرس اکسیداتیو خود را به شکل افزایش ROS و پراکسیداسیون چربی و کاهش TAC نشان می دهد [۳۵].

نتایج به دست آمده در این مطالعه نشان می دهد که هورمون تستوسترون در موش های دیابتی در مقایسه با گروه کنترل نرمال به میزان قابل توجهی کاهش یافت. در حالی که در گروه انسولین، تستوسترون افزایش قابل توجهی را در مقایسه با گروه دیابتی نشان می دهد. مصرف عصاره شاهی ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم در کیلوگرم در این مطالعه باعث افزایش قابل توجه تستوسترون در مقایسه با گروه دیابتی شد ولی این افزایش در مقایسه با اثر انسولین قابل توجه بود. نتایج این مطالعه مطابق با نتایج مطالعه Khaki و همکاران (۲۰۰۹) است که در یک مطالعه نشان دادند که مصرف روزانه عصاره پیاز تازه در دوزهای نیم گرم در هر موش و یک گرم در موش به مدت

واکوئلیزاسیون، بهم ریختگی و جداسازی اپیتلیوم و همچنین پارامترهای اسپرم با مصرف عصاره تخم کدو به میزان قابل توجهی بهبود پیدا کرد [۲۲]. Jalili و همکاران (۲۰۱۸) در مطالعه ای گزارش دادند که تجویز عصاره *Falcaria Vulgaris* می تواند پارامترهای اسپرم مانند تحرک، تعداد و زنده ماندن اسپرم را افزایش دهد [۲۸]. اسپرمتوژنز فرآیند تولید اسپرم در مردان است که تحت تأثیر عوامل مختلفی قرار دارد. یکی از این عوامل استرس اکسیداتیو ناشی از تجمع ROS است. در دیابت، تعادل بین استرس اکسیداتیو و آنتی اکسیدان ها به هم می خورد و باعث عوارض جانبی جبران ناپذیری مانند کاهش باروری یا عدم توانایی تولید مثل در بیماران دیابتی می شود [۲۹]. Jalili و همکاران (۲۰۱۶) در تحقیقی تأثیر یک ایزوفلاون شناخته شده به نام جنیستین را بر روی پارامترهای دستگاه تناسلی بررسی کردند و نشان دادند که گونه های واکنش گر اکسیژن (ROS) می تواند سبب بروز اختلال در تولید ریبونوکلیئیک اسید (RNA) و عملکرد میتوکندری در اسپرم شود [۳۰]. Salahshour و همکاران (۲۰۱۸) در مطالعه ای تأثیر تیموکونین را بر روی پارامترهای سیستم تناسلی بررسی کردند و نتایج مطالعه آن ها نشان داد که افزایش قند خون در موش های دیابتی می تواند پارامترهای اسپرم را به میزان قابل توجهی کاهش دهد که با نتایج به دست آمده در این مطالعه مطابقت دارد [۳۱]. گیاهان زیادی وجود دارند که با محتوای آنتی اکسیدانی بالا می توانند تحرک و ویژگی های مورفولوژیکی اسپرم را بهبود بخشند. Jalili و همکاران (۲۰۱۷) در تحقیقی تأثیر رزوراترول را بر روی سیستم تناسلی موش های تیمار شده با مورفین بررسی کردند و نشان دادند که آنتی اکسیدان های موجود در انگور قرمز می تواند اسپرم را از آسیب رادیکال های آزاد محافظت کنند [۳۲]. با توجه به نتایج به دست آمده در این مطالعه به نظر می رسد که مواد آنتی اکسیدانی موجود در گیاه شاهی می تواند برخی از پارامترهای اسپرم را مشابه با اثرات درمانی

نتایج تحقیق ما نشان داد که مصرف عصاره دانه شاهی می تواند عوارض ناشی از دیابت را بر روی پارامترهای اسپرم در موش های دیابتی کاهش دهد. بر اساس این مطالعه می توان پیشنهاد کرد که مصرف عصاره تخم شاهی همراه با انسولین درمانی می تواند یک اثر محافظتی بالقوه ای در درمان دیابت داشته باشد. یافته های این مطالعه نشان می دهد که استفاده از دانه های شاهی به عنوان منبع قدرتمند آنتی اکسیدان به عنوان مکمل دارای کاربرد هست و برای درمان دیابت می تواند مفید باشد. مطالعات بیشتر برای روشن شدن مکانیسم مولکولی تأثیر افزایشی مصرف عصاره تخم شاهی بر پارامترهای اسپرم ضروری به نظر می رسد.

### تشکر و قدردانی

مطالعه حاضر توسط دانشگاه علوم پزشکی کاشان و مرکز تحقیقات علوم تشریحی کاشان مورد بررسی مالی و علمی قرار گرفته و تأیید شده است (شماره ۹۱۱۰). نویسندگان از همکاری همه کارکنان مرکز تحقیقات علوم تشریحی دانشگاه علوم پزشکی کاشان سپاسگزارند. نویسندگان این مطالعه هیچ تضاد منافی ندارند.

۲۰ روز می تواند باعث افزایش قابل توجه تستوسترون در موش ها شود [۳۶]. Muchtaromah و همکاران در سال ۲۰۱۵ تأثیر دم نوش برگ توت را بر پارامترهای دستگاه تناسلی رت های نر دیابتی بررسی کردند و نشان دادند که گاوآژ دم نوش برگ توت که حاوی آنتی اکسیدان است در رت های دیابتی توانست سبب افزایش تعداد سلول های اسپرماتوگونی (سلول های زایا)، سلول های سرتولی، وزن بیضه، قطر لوله های اسپرم ساز و میزان هورمون تستوسترون شود که با نتایج به دست آمده در این مطالعه هم خوانی دارد [۳۷، ۳۸].

در این مطالعه مصرف عصاره تخم شاهی تا حدودی توانست از عوارض جانبی دیابت جلوگیری کند. مصرف عصاره تخم شاهی ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم نتوانست پارامترهای اسپرم را مشابه با انسولین درمانی بهبود بخشد؛ اما تأثیر انسولین در کاهش قند خون ناشتا بیشتر بود. ما قصد داشتیم که مطالعات تکمیلی انجام دهیم که گروه های مختلف آزمایش را در زمان های مختلف (۶، ۷ و ۸ هفته) بررسی کند و همچنین شامل فاکتورهای بیوشیمیایی از قبیل HbA1c باشد.

### نتیجه گیری

### منابع

- 1.Kumar BD, Mitra A, Manjunatha M. In vitro and in vivo studies of antidiabetic Indian medicinal plants: A review. *J Herbal Med Toxicol*. 2009;3(2):9-14.
- 2.Welsh KJ, Kirkman MS, Sacks DB. Role of Glycated Proteins in the Diagnosis and Management of Diabetes: Research Gaps and Future Directions. *Diabetes Care*. 2016;39(8):1299-1306.
- 3.Furukawa S, Fujita T, Shimabukuro M, et al. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *J Clin Invest*. 2004;114(12):1752-1761.
- 4.Gandhi J, Dagur G, Warren K, et al. The Role of Diabetes Mellitus in Sexual and Reproductive Health: An Overview of Pathogenesis, Evaluation, and Management. *Curr Diabetes Rev*. 2017;13(6):573-581.
- 5.Agulnick AD, Ambruzs DM, Moorman MA, et al. Insulin-Producing Endocrine Cells Differentiated In Vitro From Human Embryonic Stem Cells Function in Macroencapsulation Devices In Vivo. *Stem Cells Transl Med*. 2015;4(10):1214-1222.

6. Mazloom Z, Yousefinejad A, Dabbaghmanesh MH. Effect of probiotics on lipid profile, glycemic control, insulin action, oxidative stress, and inflammatory markers in patients with type 2 diabetes: a clinical trial. *Iran J Med Sci*. 2013;38(1):38-43.
7. Agarwal, A. and S. Gupta, Role of reactive oxygen species in female reproduction and the effects of antioxidant supplementation-Part 2. *Agro Food Industry Hi-Tech*. 2005. 16(4): p. 38.
8. Valko M, Morris H, Cronin MT. Metals, toxicity and oxidative stress. *Curr Med Chem*. 2005;12(10):1161-1208.
9. Surai P, Sparks N, Speake B. The role of antioxidants in reproduction and fertility of poultry. XII European Poultry Conference. 2006;1-5.
10. Singh CS, Paswan VK. The Potential of Garden Cress (*Lepidium sativum* L.) Seeds for Development of Functional Foods [Internet]. *Advances in Seed Biology*. InTech; 2017;70355
11. Al-Jasass FM, Al-Jasser MS. Chemical composition and fatty acid content of some spices and herbs under Saudi Arabia conditions. *ScientificWorldJournal*. 2012;2012:859892.
12. Tiwari P, Kulmi G. *Performance of Chandrasur (Lepidium sativum) under different levels of nitrogen and phosphorus*. *J Med Arom Plant Sci*. 2004;26(3):479-481.
13. Attia ES, Amer AH, Hasanein MA. The hypoglycemic and antioxidant activities of garden cress (*Lepidium sativum* L.) seed on alloxan-induced diabetic male rats. *Nat Prod Res*. 2019;33(6):901-905.
14. Sharma S, Agarwal N. Nourishing and healing prowess of garden cress (*Lepidium sativum* Linn.)-A review. *Indian J Nat Prod Resour*. 2011;2(3):292-297.
15. Mali RG, Mahajan SG, Mehta AA. *Lepidium sativum* (Garden cress): a review of contemporary literature and medicinal properties. *Adv Tradit Med*. 2007;7(4):331-335.
16. Soudamani S, Malini T, Balasubramanian K. Effects of streptozotocin-diabetes and insulin replacement on the epididymis of prepubertal rats: histological and histomorphometric studies. *Endocr Res*. 2005;31(2):81-98.
17. Moloudi MR, Hassanzadeh K, Abdi M, Zandi F, Rahimi K, Izadpanah E. Hepatoprotective effect of the hydroalcoholic extract of *Cichorium intybus* in a rat model of obstructive cholestasis. *Arab J Gastroenterol*. 2021;22(1):34-39.
18. Servatyari K, Ahmadi A, Kashefi H, Manbari MN, Rostami A, Moulodi MR. The effect of hydroalcoholic extract of *Medicago sativa* on liver function tests, blood biochemical factors and coagulation system in male rats. *SJKU*. 2017; 21(6):16-26.
19. Nikzad H, Hookari S, Kamani M. Comparison of the Effects of *Allium cepa* L. Extract Together with Insulin on Sperm Parameters in Diabetic Rats. *Jundishapur J Nat Pharm Prod*. 2022;17(3):119516.
20. Kamani M, Mhabadi JA, Atlasi MA, Seyedi F, Kamani E, Nikzad H. Protective Effect of Alcoholic Extract of Garden Cress Seeds on the Histopathological Changes of the Ventral Prostate in Streptozotocin Diabetic Rats. *Int J Morphol*. 2017 Sep 1;35(3).
21. Mohamadi F, Nikzad H, Taherian A, Taghizadeh M, Azami-Tameh A, Naderian H, et al. Combined effect of ginger and pumpkin seed extracts on rat testis and serum biochemical parameters after cyclophosphamide treatment. *ASJ*. 2014;11(1):33-40.
22. Aghaie S, Nikzad H, Mahabadi JA, Taghizadeh M, Azami-Tameh A, Taherian A, Sajjadian SM, Kamani M. Protective effect of combined pumpkin seed and ginger extracts on sperm

- characteristics, biochemical parameters and epididymal histology in adult male rats treated with cyclophosphamide. *Anat Sci Int*. 2016;91(4):382-390.
23. Bolanos de la Torre AA, Henderson T, Nigam PS, Owusu-Apenten RK. A universally calibrated microplate ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay for foods and applications to Manuka honey. *Food Chem*. 2015;174:119-123.
24. Frier BM. Hypoglycaemia in diabetes mellitus: epidemiology and clinical implications. *Nat Rev Endocrinol*. 2014;10(12):711-722.
25. Kang MJ, Kim JH, Choi HN, Kim MJ, Han JH, Lee JH, Kim JI. Hypoglycemic effects of Welsh onion in an animal model of diabetes mellitus. *Nutr Res Pract*. 2010;4(6):486-491.
26. Amawi K, Aljamal A. *Effect of Lepidium sativum on lipid profiles and blood glucose in rats*. *J Phys Pharm Adv*. 2012;2(8):277-281.
27. Meikle AW, Cardoso de Sousa JC, Hanzalova J, Murray DK. *Oleic acid inhibits cholesteryl esterase and cholesterol utilization for testosterone synthesis in mouse Leydig cells*. *Metabolism*. 1996;45(3):293-299.
28. Jalili C, Kamani M, Roshankhah S, Sadeghi H, Salahshoor MR. Effect of *Falcaria vulgaris* extracts on sperm parameters in diabetic rats. *Andrologia*. 2018;50(10): e13130.
29. Kellogg AP, Pop-Busui R. Peripheral nerve dysfunction in experimental diabetes is mediated by cyclooxygenase-2 and oxidative stress. *Antioxid Redox Signal*. 2005;7(11-12):1521-1529.
30. Jalili C, Ahmadi S, Roshankhah S, Salahshoor M. Effect of Genistein on reproductive parameter and serum nitric oxide levels in morphine-treated mice. *Int J Reprod Biomed*. 2016;14(2):95-102.
31. Salahshoor MR, Haghjoo M, Roshankhah S, Makalani F, Jalili C. Effect of thymoquinone on reproductive parameter in morphine-treated male mice. *Adv Biomed Res*. 2018;7(1):13-18.
32. Jalili C, Salahshoor MR, Jalili F, Kakabaraei S, Akrami A, Sohrabi M, et al. Therapeutic Effect of Resveratrol on Morphine-Induced Damage in Male Reproductive System of Mice by Reducing Nitric Oxide Serum Level. *Int J Morphol*. 2017;35(4):1342-1347.
33. 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. *J Microsc Ultrastruct*. 2014;2(3):151-160.
34. Melin J, Hellberg O, Larsson E, Zezina L, Fellström BC. Protective effect of insulin on ischemic renal injury in diabetes mellitus. *Kidney Int*. 2002;61(4):1383-1392.
35. Aitken RJ, Roman SD. Antioxidant systems and oxidative stress in the testes. *Advances in Experimental Medicine and Biology, book series (volume 636)*. 2008;1(1):15-24.
36. Khaki A, Fathiazad F, Nouri M, Khaki AA, Khamenehi HJ, Hamadeh M. Evaluation of androgenic activity of *Allium cepa* on spermatogenesis in the rat. *Folia Morphol (Warsz)*. 2009;68(1):45-51.
37. Muchtaromah B, Romaidi R, Putri RE, Nuraini, FD. Effect of mulberry (*Morus alba* L.) leaves infusion on the reproduction status of chronic diabetic model. *J Appi Enviorn Biol Sci*. 2015;5(5):14-18.
38. Naseri R, Jegarloee EA, Kamani M, Hematabadi FK, Rashidi I, Zhaleh M, Jalili C., *Anti-proliferative and apoptotic effects of Rosa canina fruit extract on thyroid cancer cells (B-CPAP and Thr. C1-PI 33)*. *WCRJ*, 2022. **9**: p. e2246.