

اثر ضد باروری عصاره آبی - الکی برگ گیاه پونه در موش صحرائی نر بالغ

مهرداد شریعتی^۱، آرش اسفندیاری^۲، مهرداد مدرسی^۳، زهرا رحمانی^۴

^۱ دانشیار دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کازرون، گروه بیولوژی، کازرون، ایران

^۲ استادیار دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کازرون، گروه دامپزشکی، کازرون، ایران

^۳ دانشیار دانشگاه آزاد اسلامی، واحد خوراسگان، گروه بیولوژی، خوراسگان، ایران

^۴ کارشناس ارشد دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کازرون، گروه بیولوژی، کازرون، ایران

آدرس نویسنده مسؤول: استان فارس، کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون، بخش تحصیلات تکمیلی، دکتر مهرداد شریعتی

E-mail: mehrdadshariati@hotmail.com

وصول: ۹۰/۴/۱۸، اصلاح: ۹۰/۷/۷، پذیرش: ۹۰/۸/۲۱

چکیده

زمینه و هدف: عرضه فراوان فرآورده‌های گیاهی با وسعت زیاد در جوامع بشری امروز، مطالعات بافتی و هورمونی را ایجاب می‌کند و آگاهی از اثرات آن‌ها می‌تواند کمک مؤثری به بهداشت باروری محسوب شود. با توجه به مصرف گیاه پونه در صنایع غذایی و دارویی به علت داشتن اثرات مفید درمانی، در این مطالعه اثرات عصاره آبی - الکی این گیاه بر عملکرد محور هیپوفیز - گناده مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، ۴۰ سر موش صحرائی نر با وزن تقریبی ۲۲۰-۱۹۰ گرم در پنج گروه ۸ تایی به مدت ۲۸ روز مورد آزمایش قرار گرفت. گروه‌ها شامل کنترل، شاهد و گروه‌های تجربی دریافت‌کننده دوزهای ۴۰۰ و ۸۰۰ و ۱۶۰۰ mg/kg.b.w از عصاره آبی - الکی برگ گیاه پونه به صورت درون صفاقی بودند. پس از آخرین دوز دریافتی، از تمام گروه‌ها نمونه خونی گرفته شده و بیضه‌ها خارج شدند. میزان هورمون‌های تستوسترون، FSH و LH اندازه‌گیری شد و بیضه‌ها پس از توزین مورد بررسی‌های بافت‌شناسی قرار گرفت. نتایج داده‌ها در سطح معناداری $P < 0/05$ بررسی گردید.

یافته‌ها: سطوح سرمی تستوسترون و هورمون‌های هیپوفیزی FSH و LH در گروه‌های تجربی کاهش معناداری ($P < 0/05$) نسبت به گروه کنترل نشان داد. در بررسی‌های بافت‌شناسی کاهش تعداد اسپرماتیدها در دوزهای بالا و در بافت بینابینی کاهش معنادار تعداد سلول‌های لیدینگ مشاهده گردید.

نتیجه‌گیری: عصاره آبی - الکی برگ گیاه پونه در دوزهای پایین باعث کاهش هورمون‌های گنادوتروپ و تستوسترون می‌شود و در دوزهای بالا، این اثرات کاهشی با تخریب بافتی بیضه نیز همراه است. (مجله دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی سبزوار، دوره ۱۹/ شماره ۱/ صص ۴۱-۳۴).

واژه‌های کلیدی: پونه؛ تستوسترون؛ گنادوتروپین؛ موش‌های صحرائی.

مقدمه

گیاه پونه با نام علمی *Mentha pulegium* (L) از خانواده نعنا Labiatae (۱) از جمله گیاهان ارزشمند در طب سنتی و نیز در صنایع غذایی با مصارف گسترده می-باشد که پراکنش جغرافیایی وسیعی در اقصی نقاط دنیا و نیز مناطق مختلف ایران به صورت وحشی دارد. این گیاه علفی آروماتیک به دلیل داشتن اسانس فراوان و بوی بسیار مطبوع به صورت گسترده کشت می شود (۲,۳). گیاه پونه به طور سنتی به عنوان داروی ضد اسپاسم، ضد نفخ، معرق و مدر، مسکن، سقط کننده جنین (۴)، مسکن درد قاعدگی و همچنین رفع تهوع، استفراغ، اسهال، افسردگی و تشنج، استفاده فراوانی داشته است (۴,۵). به همین دلیل، این گیاه از جمله گیاهانی است که معمولاً جزء گروه گیاهان دارویی یا خوراکی در بسیاری از منازل وجود دارد.

در بسیاری از گزارش های علمی اثرات این گیاه در مداوای سندرم روده تحریک پذیر، اختلالات هاضمه (۶)، کاهش موضعی درد، فعالیت ضد باکتریایی و ضد التهاب مورد مطالعه قرار گرفته است (۷,۸). این گیاه علفی با برگ های پوشیده از کرک و گل هایی به رنگ ارغوانی مایل به بنفش که در مناطق مرطوب می روید (۹) دارای ترکیبات اصلی شامل ۹۰ درصد ترکیب پوله ژون، تانن، آزولن، منتول، لیمونن، هسپریدین و دیوسمین است (۱۰).

برخی از گزارش ها حاکی از تأثیر عصاره این گیاه بر سیستم تولید مثلی نر و کاهش میل جنسی است (۱۱). لذا با توجه به وسعت گسترده مصرف این گیاه در رژیم غذایی و صنایع غذایی و دارویی، در تحقیق حاضر سعی شده است اثر عصاره آبی الکلی برگ گیاه پونه بر پارامترهای عملکرد محور هورمونی هیپوفیز-بیضه و تغییرات بافتی بیضه در موش های صحرائی مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روش ها

در این مطالعه تجربی، از ۴۰ سر موش صحرائی نر بالغ نژاد ویستار استفاده شد که از خانه پرورش حیوانات دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون تهیه گردید. وزن موش ها در روز شروع آزمایش ۱۹۰-۲۲۰ گرم و سن آن ها ۳-۲/۵ ماه بوده است. درجه حرارت محیط در زمان آزمایش 25 ± 2 درجه سلسیوس در طول شبانه روز بود.

حیوانات در قفس های استاندارد از جنس پلی کربنات با سقف مشبک از جنس استیل و طی دوره نوری ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی قرار داشتند. آب و غذا بدون محدودیت در اختیار آن ها قرار می گرفت. تعویض هوای درون آزمایشگاه توسط دستگاه تهویه صورت می گرفت. کف قفس ها با خاک اره مفروش بود و هر ۲ روز یک بار تعویض و تمیز می گردید. طول مدت تجویز دارو ۲۸ روز به صورت درون صفاقی بود.

گروه های مورد آزمایش

پس از تعیین LD 50 عصاره آبی-الکلی برگ گیاه پونه که 2000 mg/kg.bw تعیین گردیده بود، موش های صحرائی در ۵ گروه ۸ تایی به صورت زیر طبقه بندی شدند و میزان دوز مصرفی تعیین گردید:

گروه کنترل (A): از آب و غذای استاندارد بدون محدودیت استفاده کردند ولی هیچ گونه تیمار دارویی دریافت نکردند.

گروه شاهد (B): از آب و غذای استاندارد بدون محدودیت استفاده کردند، همچنین روزانه 2 ml آب مقطر به عنوان حلال به صورت درون صفاقی دریافت کردند.

سه گروه تجربی تیمار با عصاره آبی-الکلی برگ گیاه پونه (C): این سه گروه C1، C2 و C3 به ترتیب دریافت کننده روزانه مقدار حداقل (400 mg/kg.bw)، متوسط (800 mg/kg.bw) و حداکثر (1600 mg/kg.bw) از عصاره مورد نظر به صورت درون صفاقی علاوه بر آب و غذای استاندارد بودند.

روش تهیه عصاره آبی - الکی گیاه پونه

بافت بیضه و رنگ آمیزی آن‌ها با رنگ‌های هماتوکسین و ائوزین، با استفاده از میکروسکوپ نوری Nikon ساخت ژاپن شمارش سلولی انجام گردید. برای این منظور از لام-های مخصوص نئوبار و عدسی چشمی گراتیکول کمک گرفته شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

نتایج داده‌ها در تمامی تیمارها بر اساس برنامه آماری SPSS و آزمون‌های آنالیزواریانس شامل توکی و دانکن در سطح معنادار $P < 0/05$ برای تمام گروه‌ها به تفکیک مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها

پس از ۲۸ روز تیمار با عصاره آبی-الکی برگ گیاه پونه، میزان هورمون‌ها در گروه‌های مختلف مورد مقایسه آماری قرار گرفت. میزان هورمون تستوسترون در گروه‌های تجربی حداقل، متوسط و حداکثر به ترتیب $3/06 \pm 0/27$ ، $4/03 \pm 0/53$ و $5/06 \pm 0/36$ نانوگرم بر میلی مول بود که در مقایسه با گروه کنترل ($8/23 \pm 0/69$) اختلاف معناداری را نشان داد ($P < 0/05$) (جدول ۱). همچنین براساس نتایج به دست آمده، غلظت سرمی FSH در گروه‌های تجربی حداقل، متوسط و حداکثر به ترتیب $19/55 \pm 1/03$ ، $19/55 \pm 1/03$ و $16/55 \pm 0/89$ بود که نسبت به گروه کنترل ($14/25 \pm 0/89$) کاهش معناداری را نشان داد ($P < 0/05$).

مقدار یک کیلوگرم از پودر برگ گیاه پونه که در شرایط مناسب و دور از نور آفتاب خشک شده بود به نسبت مساوی با اتانول ۹۶ درصد و آب مقطر به مدت ۴۸ ساعت خیسانده شد. پس از صاف کردن با دور ۴۵۰۰ و به مدت ۸ دقیقه سانتریفیوژ گردید تا ذرات معلق در آن جدا شود. سپس مایع به دست آمده در فور با دمای ۷۰ درجه سلسیوس قرار داده شد تا آب و الکل تبخیر شده و کاملاً خشک شود (روش پرکولاسیون).

روش تجویز دارو

تجویز دارو به میزان ۴۰۰، ۸۰۰ و ۱۶۰۰ mg/kg.b.w و به صورت تزریق درون صفاقی انجام شد. حلال آب مقطر در تمام گروه‌ها یکسان بود. تیمار حیوانات به مدت ۲۸ روز بین ساعت ۱۱-۱۰ صبح انجام گرفت.

روش خون‌گیری و خارج کردن بیضه

۲۴ ساعت پس از پایان آخرین تیمار در پی بیهوشی با اتر، از ناحیه بطن قلب خون‌گیری انجام شد. نمونه‌های خونی در دستگاه سانتریفیوژ با دور ۳۰۰۰ و به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید و سرم آن‌ها با سمپلر جداسازی و تا زمان سنجش هورمونی که با روش RIA انجام گرفت، در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگه‌داری شد. برای انجام سنجش هورمونی از دستگاه گاماکانتر ساخت کشور سوییس استفاده شد. پس از آماده‌سازی

جدول ۱: مقایسه میانگین غلظت سرمی هورمون‌های تستوسترون، LH و FSH در گروه‌های تجربی در مقایسه با گروه کنترل پس از تیمار درون صفاقی (IP) عصاره آبی‌الکی برگ گیاه پونه

غلظت هورمون‌ها	میانگین غلظت سرمی هورمون تستوسترون بر حسب (ng/ml) \pm خطای معیار میانگین	میانگین غلظت سرمی هورمون LH بر حسب (ML/MIU) \pm خطای معیار میانگین	میانگین غلظت سرمی FSH بر حسب (ML/MIU) \pm خطای معیار میانگین	گروه‌های مورد مطالعه
کنترل	$8/23 \pm 0/69$	$0/92 \pm 0/24$	$22/42 \pm 1/36$	کنترل
شاهد	$8/35 \pm 0/74$	$0/82 \pm 0/06$	$22/37 \pm 1/38$	شاهد
تجربی ۱ با دوز ۴۰۰ mg/Kg.b.w	$5/06 \pm 0/36$	$0/77 \pm 0/046$	$19/55 \pm 1/03 *$	تجربی ۱ با دوز ۴۰۰ mg/Kg.b.w
تجربی ۲ با دوز ۸۰۰ mg/Kg.b.w	$4/03 \pm 0/56$	$0/38 \pm 0/077$	$16/55 \pm 0/89 *$	تجربی ۲ با دوز ۸۰۰ mg/Kg.b.w
تجربی ۳ با دوز ۱۶۰۰ mg/Kg.b.w	$3/06 \pm 0/27$	$0/12 \pm 0/042$	$14/25 \pm 0/89 *$	تجربی ۳ با دوز ۱۶۰۰ mg/Kg.b.w

* نشان‌دهنده سطح آماری معنادار می‌باشد ($P < 0/05$).

جدول ۲: مقایسه میانگین تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت اولیه، اسپرماتید و لیدیک در گروه‌های تجربی در مقایسه با گروه کنترل پس از تیمار درون صفاقی (IP) عصاره آبی الکلی برگ گیاه پونه

میانگین تعداد سلول‌ها	میانگین تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی ± خطای معیار	میانگین تعداد سلول‌های اسپرماتوسیت اولیه ± خطای معیار	میانگین تعداد سلول‌های اسپرماتید ± خطای معیار	میانگین تعداد سلول‌های لیدیک ± خطای معیار
کنترل	۹۰/۱۲±۰/۴۴	۱۰۳±۰/۹۶	۲۱۴±۰/۷۱	۱۵±۰/۸۷
شاهد	۸۹/۷۵±۱/۳۴	۱۰۱±۱/۱۶	۲۱۱/۱۲±۳/۶۹	۱۵±۱/۰۵
تجربی ۱ با دوز ۴۰۰ mg/Kg.b.w	۸۶/۸۷±۱/۸۵	۹۹/۲۵±۱/۱۶	۲۰۵±۳/۵۳	۱۲±۰/۷۱
تجربی ۲ با دوز ۸۰۰ mg/Kg.b.w	۸۵/۵±۱/۷۳	۹۷/۰۳۷/۹۲	۱۶۱/۵±۲/۶۴	۱۰/۱۲±۰/۵۵
تجربی ۳ با دوز ۱۶۰۰ mg/Kg.b.w	۶۲±۴/۳۲	۸۱/۵±۳/۹۳	۱۴۷/۱۲±۰/۹۸ *	۸±۰/۷۱ *

* نشان‌دهنده سطح آماری معنادار نسبت به گروه کنترل می‌باشد (P<۰/۰۵).

تحریک و تبدیل سلول‌های اسپرماتوگونی به سلول‌های اسپرماتوزوئید می‌شود. FSH با اتصال به سلول‌های سرتولی سبب تحریک آدنیلات سیکلاز و افزایش cAMP و باعث ساخت و ترشح ABP (پروتئین متصل شونده به آندروژن) می‌شود. این پروتئین با اتصال به تستوسترون، آندروژن را جهت فرآیند اسپرم زایی به درون لوله‌های اسپرم ساز هدایت می‌کند. با کاهش غلظت FSH، این عمل کاهش یافته و در نتیجه میزان اسپرم‌های موجود در مقاطع اپیدیدیم با کاهش محسوسی همراه خواهد بود.

عامل دیگری که می‌توان در فرآیند تولید اسپرم مؤثر باشد، هورمون تستوسترون می‌باشد که در نتیجه تحریک هورمون LH و از سلول‌های لیدیک موجود در بیضه ترشح می‌شود و احتمالاً انجام مراحل انتهایی اسپرماتوزن را برعهده دارد.

با وجود استفاده وسیع از برگ گیاه پونه جهت درمان بسیاری از بیماری‌ها و نیز کاربرد آن به عنوان چاشنی و معطر کننده بسیاری از غذاها، نتایج آزمون آماری در تحقیق حاضر نشان‌دهنده کاهش معنادار سطح تستوسترون آزاد پلاسما در گروه‌های تجربی نسبت به گروه کنترل پس از ۲۸ روز تیمار با عصاره آبی-الکلی برگ این گیاه بوده است. این نتایج در حالی که دست آمد که تغییر معناداری در وزن بیضه‌ها حاصل نشده است. به نظر می‌رسد کاهش سطح تستوسترون آزاد به علت افزایش تولید گلوبولین متصل‌کننده هورمون جنسی

غلظت سرمی LH نیز پس از پایان دوره آزمایش در گروه‌های تجربی متوسط و حداکثر به ترتیب ۰/۳۸±۰/۷۸ و ۰/۱۲±۰/۴۲ بود که نسبت به گروه کنترل (۰/۹۲±۰/۲۴) کاهش معناداری را نشان داد (P<۰/۰۵).

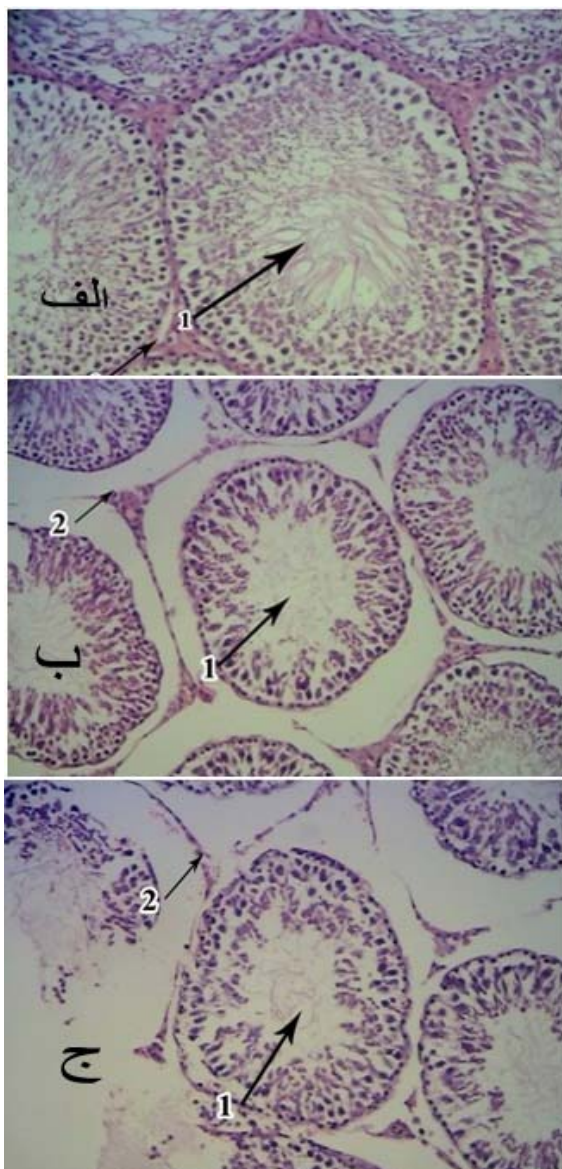
در بررسی‌های بافت‌شناسی بیضه نیز کاهش مشخص و معنادار سلولی در لوله‌های سمینفر و بافت بینابینی مشاهده شد (شکل ۱ الف؛ ب؛ ج). مقایسه آماری نشان داد که میانگین تعداد اسپرماتوگونی در گروه تجربی دریافت‌کننده حداکثر عصاره، ۶۲±۴/۳۲ بود که نسبت به گروه کنترل (۹۰/۱۲±۰/۴۴) کاهش معناداری داشته است.

همچنین میانگین تعداد اسپرماتوسیت اولیه در گروه حداکثر (۸۱/۵±۳/۹۳) نسبت به گروه کنترل (۱۰۳±۰/۹۶) و نیز میانگین تعداد اسپرماتیدها در گروه تجربی دریافت‌کننده میزان متوسط عصاره (۱۶۱/۵±۲/۶۴) و گروه حداکثر (۱۴۷/۱۲±۱/۹۸) نسبت به گروه کنترل (۲۱۴±۰/۷۱) کاهش معناداری را نشان داد.

میانگین تعداد سلول‌های لیدیک در گروه‌های تجربی دریافت‌کننده میزان متوسط و حداکثر عصاره نیز به ترتیب ۱۰/۱۲±۰/۵۵ و ۸±۰/۷۱ بود که نسبت به گروه کنترل (۱۵±۰/۸۷) کاهش معناداری نشان داد (جدول ۲).

بحث

هورمون FSH باعث تسریع در تقسیم سلول،



شکل ۱: الف: فتومیکروگراف لوله‌های اسپرم‌ساز در گروه کنترل. رنگ‌آمیزی با هماتوکسیلین - ائوزین. 40X. فلش ۱: سلول‌های اسپرماتوژنیک و فضای لومنی - فلش ۲: فضای بینابینی و سلول‌های لیدیک را نشان می‌دهد. ب: فتومیکروگراف لوله‌های اسپرم‌ساز در گروه تجربی تیمار با مقدار متوسط عصاره. رنگ‌آمیزی با هماتوکسیلین - ائوزین. 40X. فلش ۱: کاهش نسبی سلول‌های اسپرماتوژنیک و کاهش تراکم اسپرم در فضای لومنی را نشان می‌دهد - فلش ۲: کاهش نسبی سلول‌های لیدیک و دژنره شدن بافت بینابینی را نشان می‌دهد. ج: فتومیکروگراف لوله‌های اسپرم‌ساز در گروه تجربی تیمار با مقدار حداکثر عصاره. رنگ‌آمیزی با هماتوکسیلین - ائوزین. 40X. فلش ۱: کاهش سلول‌های اسپرماتوژنیک و کاهش تراکم اسپرم در فضای لومنی را نشان می‌دهد - فلش ۲: کاهش سلول‌های لیدیک و دژنره شدن بافت بینابینی را نشان می‌دهد.

اسپرم‌ها، آپوپتوسیس و کاهش توان تولید گامت شود (۲۱، ۲۲). همچنین کاهش سطح تستوسترون و FSH که

SHBG توسط کبد باشد (۱۲). همچنین مطالعات پیشین حاکی از آن است که پوله ژون درون برگ گیاه و مشتقات آن با میل ترکیبی زیاد با پروتئین اختصاصی وابسته به جنس به نام $\alpha 2u$ -globulin است که در کبد پستانداران نیز تولید می‌شود، متصل گردیده (۱۴) و از عملکرد آن در بیضه که افزایش فعالیت آنزیم $17\text{-}\beta\text{HSD}$ و تولید تستوسترون بیضه‌ای است جلوگیری می‌کند (۱۵).

برخی از ترکیبات تشکیل‌دهنده عصاره برگ گیاه پونه از جمله هسپریدین که به وفور در برگ‌های آن یافت می‌شود نیز در رقابت با تستوسترون برای اتصال به گیرنده‌های آندروژونی از سنتز آندروژن‌ها ممانعت به عمل می‌آورد که نوعی اثر فیدبکی محسوب می‌شود (۱۶). در نتایج حاصل از تأثیر عصاره گیاه پونه بر غلظت پلاسمایی گنادوتروپین‌های هیپوفیزی نیز کاهش معنادار هورمون‌های LH و FSH در گروه‌های تجربی نسبت به گروه کنترل مشاهده شد، که این نتایج احتمالاً حاصل القاء استرس اکسیداسیونی در هیپوتالاموس است که از اثرات بارز گیاهان تیره نعنا در دوزهای بالا می‌باشد که به وسیله پوله ژون و از طریق ایجاد رادیکال‌های آزاد توسط آن اعمال می‌شود (۱۷) و با کاهش میزان GnRH، سبب کاهش تولید و آزادسازی گنادوتروپین‌های هیپوفیزی می‌شود (۱۸).

همچنین مشخص شده است که متول ماده اصلی عصاره گیاه پونه، به‌طور مستقیم تحریک‌کننده نورون‌های بویایی گاباآرژیک در هیپوکامپ است و باعث افزایش اثر مهارتی این نورون‌ها بر سلول‌های گنادوتروپ هیپوفیزی و نیز نورون‌های GnRH هیپوتالاموسی می‌شود (۱۹، ۲۰). در خصوص کاهش معنادار تعداد سلول‌های لیدیک و سلول‌های اسپرماتوژنیک نیز القاء استرس اکسیداسیون در اثر تولید رادیکال‌های آزاد به‌وسیله پوله ژون به‌صورت وابسته به دوز می‌تواند باعث تخریب غشاء سلولی به دنبال پراکسیداسیون لیپیدی در سلول‌های لیدیک، تخریب DNA سلول‌های اسپرماتوژنیک، تخریب میتوکندریایی

بافتی بیضه نیز همراه است. لازم به ذکر است که درک و تفهیم کامل تر مکانیسم عمل ترکیبات برگ این گیاه نیاز به مطالعات بیشتری دارد.

در سطح سلول‌های سرتولی دارای گیرنده هستند، احتمالاً باعث کاهش عملکرد سلول‌های سرتولی و عدم حمایت فیزیکی و شیمیایی آن‌ها از اسپرماتوگونی‌ها و تکامل آن‌ها می‌شود (۲۳).

تشکر و قدردانی

نویسندگان مراتب سپاس و قدردانی خود را از معاونت پژوهشی و آموزشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون و دانشکده پزشکی شیراز اعلام می‌نمایند.

به‌طور عملی، نتیجه حاصل از این پژوهش آزمایشگاهی نشان می‌دهد که عصاره آبی- الکلی برگ گیاه پونه در دوزهای پایین باعث کاهش هورمون‌های گنادوتروپ هیپوفیزی (FSH و LH) و تستوسترون می‌شود و در دوزهای بالا، این اثرات کاهشی با تخریب

References

- Zargari A. Pharmaceutical plants. Tehran university Press; Volume 4, 1997. [Persian]
- Shirazi FH, Ahmadi N, Kamalinejad M. Evaluation of Northern Iran Mentha Pulegium L. Cytotoxicity. DARU.2004; 12(3):106-10. [Persian]
- Chalchat JC, Gorunovic ZA, Petrovic SD. Essential oil of wild growing Mentha pulegium L from Yugoslavia. J Essential Oil Res. 2000;12: 598-600.
- Panetta D. Weed Research ,population studies on pennyroyal Mint(Mentha pulegium) II. Seed Banks. 2006; 25(4): 311-15.
- Newell CA .Plant transformation technology. Developments and applications. Molecular biotechnology. 2000; 16(1):53-65.
- Daniel L, Daniel P, Eduardo D. Essential oils of Mentha pulegium and Mentha rotundifolia from Uruguay. Brazilian Archives of Biology and Technology. 2002; 45 (4) : 519-24.
- Mahboubi M, Haghi G. Antimicrobial activity and chemical composition of Mentha pulegium L. essential oil. Journal of Ethno pharmacology. 2008; 119(2): 325-27.
- Estrada-Soto S, González-Maldonado D, Castillo-España P. Spasmolytic effect of Mentha pulegium L. involves ionic flux regulation in rat ileum strips .J Smooth Muscle Res. 2010;46(2):107-17.
- Razavi M. Medical Plants. Tehran,Talash Press. 2009; 3: 91-2.
- Shahidivagheidahande F. Study of phytochemical and antimicrobial effects of mentha pulegium [dissertation].Tehran Univ. 1987. [Persian]
- Douglas S,Kalman MS. Eat Like a T-Man .Can diet affect Testosterone and estrogen levels?, T Nation. 2000; 6: 1998-2009.
- Laaksonen DE, Niskanen L, Punnonen K. Testosterone and sex hormone-binding globulin predict the metabolic syndrome and diabetes in middle-aged men. Diabetes Care. 2004;27:1036-41.
- Lita L. Estrogen - Progesterone and Female Problems. www.Litalitalee.com. 2001.
- Lebetkin EH, Fred B, Tomer KB. 14C-labeled pulegone and metabolites binding to alpha2u-globulin in kidneys of male F-344 rats, J Toxicol Environ Health. 2007;70(17):1416-23.
- Biswas NM, Ghosh PK, Ghosh KK, Neuhaus OW. Effect of alpha 2u-globulin on serum concentration of gonadotrophins and testicular activity in oestrogen-treated rats. J Endocrinol. 1983;96(2): 321-27.
- Choong Jae L, Leslie W, Mary Ann J. Hesperidin suppressed proliferations of both Human breast cancer and androgen-dependent prostate cancer cells. University of California. Phytother Res. 2009;69(20):8058-66.
- Vikas K, Mool Raj K, Partha R. Spearmint induced hypothalamic oxidative stress and testicular anti-androgenicity in male rats – altered levels of gene expression, enzymes and hormones. Indian Institute of Technology Roorkee.2008; 46(12): 3563-70.
- James A, Bakerink M, Gospe JR, Robert J, Dimand Marlowe W. Multiple Organ Failure After Ingestion of Pennyroyal Oil From Herbal Tea in Two Infants. J Endocrinol.1996; 98: 944-47.
- Xiao-Bing Z, Peng J ,Neng G. A-Type GABA Receptor as a Central Target of TRPM8 Agonist Menthol. Chinese Academy of Sciences, Shanghai, Plos one.2008; 3(10): 3389-92.
- Peilin C,Suzanne M, Moenter F. GABAergic Transmission to Gonadotropin-Releasing Hormone (GnRH) Neurons Is Regulated by GnRH in a Concentration-Dependent Manner Engaging Multiple Signaling Pathways. University of Virginia. J Neurosci.2009;29(31): 9809-18.

21. Terry T, Jeffry JL. Oxidative Stress: A Common Factor in Testicular Dysfunction. University of Virginia School of Medicine. *J Andrology*. 2008;29:488-98.
22. Aitken RJ, Shaun DR. Antioxidant systems and oxidative stress in the testes. University of Newcastle; *Oxid Med Cell Longev*. 2008;1(1):15-24.
23. Karen AL, Tankarel De G, Nina A. The Role of Androgens in Sertoli Cell Proliferation and Functional Maturation: Studies in Mice with Total or Sertoli Cell-Selective Ablation of the Androgen Receptor. University of Edinburgh. *Endocrinology*. 2005;146(6):2674-83.

Antifertility Effects of Hydro-Alcoholic Extract of *Mentha pulegium* Leaves in Adult Male Rats

Shariati M., Ph.D

Department of Biology, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran.

Esfandiari A., Ph.D

Department of Veterinary Medicine, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran.

Modarresi M., Ph.D

Department of Biology, Khorasgan Branch, Islamic Azad University, Khorasgan, Iran.

Rahmani Z., MSc

Department of Biology, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran.

Received:09/07/2011, Revised:29/09/2011, Accepted:12/11/2011

Correspondence:

Dr. Mehrdad Shariati, Graduate Studies Department, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran.
E-mail: mehrdadshariati@hotmail.com

Abstract

Background: Extensive supply of herbal products in today's societies in normal diet or as medications necessitates conduction of toxicological, histological, and hormonal studies. Awareness of the effects of medicinal plants and their inclusion in the diet can contribute to reproductive health. Since *Mentha pulegium* is widely used in pharmaceutical and food industries due to its strong fragrance and beneficial therapeutic effects, this study examined the effects of hydro-alcoholic extract of *Mentha pulegium* leaves on the function of pituitary-testicular axis.

Materials and Methods: In this experimental study, 40 male rats of Wistar strain weighing about 190-220 g were divided into five groups of eight. The control group received nothing, the sham group received distilled water and ethanol, and the experimental groups received 400, 800, and 1600 mg/kg b.w. hydro-alcoholic extract of *Mentha pulegium* leaves intraperitoneally. The experiment period was 28 days.

Results: In this study, testosterone, follicle-stimulating hormone (FSH), and luteinizing hormone (LH) levels showed a significant decrease compared to the control group. Furthermore, the number of spermatozoa and Leydig cells had declined in the experimental groups receiving the high dose of the extract. Histological examinations also revealed extensive degenerative changes in the germinal epithelium and spermatogenesis arrest in the experimental groups receiving the high dose of the extract.

Conclusion: Hydro-alcoholic extract of *Mentha pulegium* leaves in low dose had a significant decreasing effect on plasma total testosterone, FSH, and LH levels. The effects of this extract on histological changes of testis were dose-related. (*Quarterly Journal of Sabzevar University of Medical Sciences, Volume 19, Number 1, pp.34-41*).

Key Words: *Menthapulegium*; Testosterone; Gonadotropins; Rats