

## **Effect of Aromatase Inhibitor, Sage and Flaxseed on Spermatogenesis in *Rat***

**Heba mohammed jasem<sup>1\*</sup>; Fadwa khalid tawfeek<sup>2</sup>**

<sup>1,2</sup>Department of Physiology Biochemistry and Pharmacology, College of Veterinary Medicine, University of Mosul, Mosul, Iraq

Email: <sup>1\*</sup> [hebaasem2010@gmail.com](mailto:hebaasem2010@gmail.com), <sup>2</sup> [fadwaameen@yahoo.com](mailto:fadwaameen@yahoo.com)

(Received April 29, 2019; Accepted August 06, 2019; Available online March 01, 2020)

DOI: [10.33899/edusj.2020.164369](https://doi.org/10.33899/edusj.2020.164369) © 2020, College of Education for Pure Science, University of Mosul.  
This is an open access article under the CC BY 4.0 license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

### **Abstract:**

The study was designed to investigate estrogen effect on testis, accessory sex glands and sex hormones in male rats from weaning age at 21 days by using aromatase inhibitor letrozole ( 1 mg/kg b. w. ) orally till 90 days of age and investigate Phytoestrogens effect ( sage extract *Salvia Officinalis* ) (1000 mg/kg b.w.) orally and flaxseed (25 gm/100 gm diet ) with diet till 90 days of age . Study groups include : Group one control. Group two treated with letrozole and caused a significant decrease in body and testis weights, sperm number (zero sperms), serum estrogen hormone and luteinizing hormone concentration, and significant increase in serum follicle stimulating hormone concentration. Group three treated with flaxseed and caused significant decrease in body and prostate weight, live sperm percentage, sperms number and significant increase in the dead sperm percentage and serum luteinizing hormone concentration. Group four treated with sage extract and caused significant decrease in the body and prostate weight, sperms number. Group five Treated with letrozole and flaxseed caused significant decrease in seminal vesicle weight, serum testosterone and follicular stimulating hormone concentration and significant increase in the sperms number, live sperm percentage. Sixth group treated with letrozole and sage extract and caused significant increase in sperms number and life sperm percentage, serum estrogen hormone concentration and significant decrease in serum testosterone hormone concentration. It was concluded that inhibition and reduction of estrogen hormone concentration in male rats by treatment with aromatase inhibitor letrozole produced negative effects by decreasing the body and testes weight, live sperm percentage, sperms count, concentration of estrogen hormone while administration of flaxseed and sage extract produced positive effects in reproductive efficiency through the increase in the percentage of live sperm, estrogen and luteinizing hormone concentrations and spermatogenesis in adult rats.

We concluded from the study the important role of estrogen hormone in reproductive function of male rats which cleared by the negative effects that resulted from lowering estrogen hormone level by using aromatase inhibitor letrozole and the administration of flaxseed and sage extract improved some effects produced by estrogen hormone deficiency.

**Key words :** estrogen, aromatase inhibitor, reproduction, sage, flaxseed.

## تأثير المعاملة بمثبط الاروماتيز والميرامية وبذور الكتان على عملية تكوين النطف في الجرذان

هبة محمد جاسم<sup>1\*</sup> و فدوى خالد توفيق<sup>2</sup>

<sup>2,1</sup> فرع الفلسفة والكيمياء والحياتية والادوية، كلية الطب البيطري، جامعة الموصل، الموصل، العراق

### الخلاصة

صممت الدراسة الحالية لتقصي تأثير الاستروجين على الخصى والغدد الجنسية الملحقة والهرمونات الجنسية في ذكور الجرذان من عمر الفطام 21 يوماً باستخدام مثبط الاروماتيز اللتروزول (1ملغم /كغم وزن الجسم ) عن طريق الفم الى عمر 90 يوماً وتقصي تأثير الاستروجينات النباتية ( المستخلص المائي للميرامية 1000 ملغم /كغم وزن الجسم ) عن طريق الفم وبذور الكتان (25غم/100 غم عليقة ) مع العليقة الى عمر 90 يوماً.

مجاميع المعاملة : المجموعة الأولى سيطرة . المجموعة الثانية عوملت باللتروزول وسبب انخفاضاً معنوياً في وزن الجسم والخصى وعدد النطف (عدد النطف صفر) وتركيز هرمون الاستروجين والهرمون اللوتيني في المصل وزيادة معنوية في تركيز الهرمون المحفز للجريبات في المصل. والمجموعة الثالثة عوملت ببذور الكتان وسبب انخفاضاً معنوياً في وزن الخصى والبروستات والنسب المئوية للنطف الحية وعدد النطف وزيادة معنوية في النسب المئوية للنطف الميتة وتركيز الهرمون اللوتيني في المصل. والمجموعة الرابعة عوملت بمستخلص الميرامية وسببت انخفاضاً معنوياً في وزن الجسم والبروستات وعدد النطف. والمجموعة الخامسة عوملت باللتروزول مع بذور الكتان وسببت انخفاضاً معنوياً في وزن الحويصلة المنوية وتركيز هرمون التستوستيرون والهرمون المحفز للجريبات وزيادة معنوية في عدد النطف، والنسب المئوية للنطف الحية. والمجموعة السادسة عوملت باللتروزول ومستخلص الميرامية وسبب زيادة معنوية في عدد النطف والنسب المئوية للنطف الحية وتركيز هرمون الاستروجين في المصل وانخفاضاً معنوياً في تركيز هرمون التستوستيرون في المصل. وقد استنتج بأن تثبيط تركيز هرمون الاستروجين في ذكور الجرذان من خلال المعاملة بمثبط الاروماتيز اللتروزول يولد تاثيرات سلبية من خلال تقليل وزن الجسم والخصى والنسب المئوية للنطف الحية وعدد النطف وتركيز هرمون الاستروجين في المصل في حين ان اعطاء بذور الكتان ومستخلص الميرامية ولد تاثيرات إيجابية على الكفاءة التناسلية من خلال الزيادة في نسب النطف الحية وتركيز هرمون الاستروجين والهرمون اللوتيني وعملية تكوين النطف في الجرذان البالغة. ونستنتج من الدراسة دور هرمون الاستروجين المهم في الوظيفة التكاثرية لذكور الجرذان والذي توضح من خلال التاثيرات السلبية التي نتجت عن خفض مستوى هرمون الاستروجين باستخدام مثبط الاروماتيز اللتروزول وان اعطاء بذور الكتان ومستخلص الميرامية سببت تحسن في بعض التاثيرات الناتجة عن نقص هرمون الاستروجين.

**الكلمات المفتاحية :** الاستروجين ، مثبطات الاروماتيز ، التكاثر ، ميرامية ، بذور الكتان.

### المقدمة :

تلعب الاستروجينات الدور الرئيسي في ادامة وظيفة التكاثر والخصوبة، ولها دور مهم في العمليات الإمبراضية لأنسجة جهاز التكاثر [1] . أن للاستروجين دوراً فسلجياً مهماً في الذكور [2]، حيث لم يعد التستوستيرون هرموناً ذكرياً فقط ولا الاستروجين هرموناً انثوياً فقط حيث إن كلا الهرمونين مهمان لكلا الجنسين [3]. ويصنع الاستروجين من الأندروجينات الدائرة في الدم بواسطة أنزيم يسمى الاروماتيز [4]. وتحدث عملية تحول الأندروجينات بصورة عامة في الخصى والنسيج الدهني والعضلات وبأنسجة ذكورية أخرى

لكن بصورة أقل [4]. ويعمل الاستروجين وتظهر تأثيراته في جسم الأنسان والحيوان من خلال الارتباط بمستقبلات خاصة به، وقد أكدت الدراسات على وجود نوعين من مستقبلات الاستروجين وهي الفا وبيتا [5]. ويعمل الاستراديول -17 بينا بصورة مباشرة وبالتراكم العالية ككانس للأكسدة [6]. فضلاً عن ذلك يزيد الاستروجين التعبير الجيني وإنتاج الأنزيمات المضادة للأكسدة [7]. وقد ذكر Lewis وآخرون [8] أن المستويات العالية من أصناف الأوكسجين الفعالة والمستويات المنخفضة لمضادات الأكسدة في السائل المنوي والدم تقترن مع أسباب متنوعة لفقدان الخصوبة في الذكور. وأن تثبيط مستقبلات الأستروجين - الفا في ذكور الجرذان يعيق عملية تكوين النطف عند البلوغ ويسبب انخفاضاً في أعداد النطف وتقليل قابلية الأخصاب، وبالتالي فقدان الخصوبة فضلاً عن حدوث إعاقة في إعادة امتصاص السوائل إعاقة في عملية تكوين النطف [10]. ويعد التوازن مابين الأندروجين والاستروجين ضرورياً للتطور الجنسي الطبيعي والتكاثر في الثدييات، وتتم المحافظة على هذا التوازن من خلال عوامل صمية endocrine وجنبي صمية paracrine وهو أيضاً يرتبط مع فعالية إنزيم الأروماتيز [11]. وللاستروجين فعالية معنوية في بدء وظيفة خلايا سرتولي في الخصى النامية [12] وفي بدء التصاق الخلايا الجرثومية مع خلايا سرتولي [13]. ويعد الاستراديول ضرورياً لبقاء أرومات النطف الدائرية، وإن نقص الاستروجين يزيد من حدوث الموت المبرمج لأرومات النطف الدائرية قبل أن تتمايز الى أرومات نطف طويلة [12]. وتعد مثبطات الأروماتيز مركبات تستخدم لمنع الأندروجينات من التحول إلى استروجين، وبذلك فهي تخفض كمية الاستروجين في الجسم وتعمل كركيزة خاطئة false substrate لانزيم الأروماتيز من خلال الارتباط التنافسي مع إنزيم الأروماتيز وتثبيط فعاليته [14]. ويتم إيقاف تأثير الاستروجين في القوارض بوساطة مثبطات الأروماتيز أو من خلال إعاقة مستقبلات الاستروجين وبالتالي إعاقة الخصوبة [15]. وتعد بذور الكتان (*Linum usitatissimum*) من بين الأغذية الصحية و تمتلك تأثيرات مفيدة وفعالية في منع أمراض عديدة [16]. وتحتوي بذور الكتان على استروجينات نباتية ومن أهمها اللكتان lignan حيث تعد بذور الكتان أغنى مصدر غذائي للكتان [17]. وهي مصدر غني بالحامض الدهني لينوليك الذي يعد مادة بادئة غير مباشرة indirect precursor للبروستاغلاندينات، والتي بدورها تسرع حركة النطف واختراق النطف للمخاط في عنق الرحم [18]. وإن عشبة الميرامية Salvia وتدعى شاي الميرامية sage tea والتي تعود إلى العائلة النباتية Lamiacea والنوع الشائع منها يسمى *Salvia officinalis* [19]. وتحتوي الميرامية على التيرينويد terpenoid والفلافونويد flavonoid والفلافونز flavones وهي استروجينات نباتية غير ستيرويدية مشابهة للاستروجين ترتبط مع مستقبلات الاستروجين الفا وبيتا، وتحدث تأثيرات الاستروجين البايولوجية [20,21] وبسبب ماتحتويه الميرامية من مركبات كيميائية، لذلك فهي تمتلك فعالية قوية مضادة للأكسدة و كائسة للجذور و مضادة للبكتريا [22]. وبينت الدراسات الحديثة امتلاك الميرامية تأثيرات إيجابية فسلجية على الخصى [23]. وللزيوت الأساسية وفيتامين C و E المستخلصة من الميرامية تأثيرات إيجابية على الخصوبة وفي علاج فقدان الخصوبة في ذكور الفئران [24]. لذا فقد استهدفت الدراسة الحالية معرفة دور الاستروجين في تكوين النطف لذكور الجرذان من خلال إعطاء مثبط الأروماتيز للتروزول من عمر الفطام (21 يوماً)، ومن ثم الكشف عن تأثير إعطاء مصادر لاستروجينات نباتية متمثلة ببذور الكتان والميرامية في إصلاح ماسببه فقدان الاستروجين على خصوبة الذكور .

#### المواد وطرائق العمل :

تضمنت الدراسة استخدام (42) ذكراً من الجرذان البيض (albino rats) بعمر (21) يوماً من الجرذان المرباة في بيت الحيوان التابع لكلية الطب البيطري /جامعة الموصل، فقد وضعت الجرذان في أقفاص بلاستيكية ذات أبعاد (20×25×20) سم، وأخضعت لظروف مختبرية خاصة متمثلة بدورة ضوئية طبيعية (10 ساعات ضوء و14 ساعة ظلام) وبدرجة حرارة  $18 \pm 2$  م°، وأعطيت الماء والعليقة الخالية من فول الصويا بشكل مفتوح *ad libitum*. وتضمنت الدراسة 6 مجاميع من ذكور الجرذان (العدد لكل مجموعة 7) غير البالغة بعمر 21 يوماً واستمرت فترة المعاملة إلى عمر 90 يوماً. والمجاميع هي: مجموعة السيطرة التي أعطيت الجرذان فيها الماء المقطر بوساطة التغذية الأنبوبية gavage needle لمدة 90 يوم . والمجموعة المعاملة بمثبط الأروماتيز للتروزول (letrozole) أعطيت الجرذان فيها للتروزول بجرعة (1 ملغم/كغم بوساطة التغذية الأنبوبية [25]. والمجموعة المعاملة ببذور الكتان أعطيت

الجرذان فيها بذور الكتان بتركيز ( 25% ) مع العليقة (25 غم / 100 غم عليقة ) [26]. والمجموعة المعاملة بمستخلص الميرامية عوملت الجردان فيها بالمستخلص المائي للميرامية (1000 ملغم / كغم وزن الجسم ) عن طريق الفم وبوساطة التغذية الأنبوبية [27]. والمجموعة المعاملة باللتروزول ومستخلص الميرامية وأعطيت جردان هذه المجموعة لللتروزول بجرعة ( 1 ) ملغم / كغم وزن الجسم، ومستخلص الميرامية بجرعة (1000) ملغم / كغم وزن الجسم عن طريق الفم وبوساطة التغذية الأنبوبية. والمجموعة المعاملة باللتروزول وبذور الكتان التي عوملت الحيوانات باللتروزول (1) ملغم / كغم وزن الجسم عن طريق الفم وبوساطة التغذية الأنبوبية وبذور الكتان بتركيز ( 25% ) مع العليقة (25 غم / 100 غم عليقة ).

بعد انتهاء الفترة الزمنية المحددة للمعاملة وزنت الجردان بوساطة ميزان لوزن الحيوانات، وتم سحب الدم عن طريق الظفيرة المشيمية الوريدية للعين Choroid Venous Plexus لغرض إجراء تقدير لمعايير الدراسة وتقييم الكفاءة التناسلية لحيوانات كل مجموعة . وخدرت الحيوانات، ثم فصلت كل من الخصية اليمنى واليسرى ورأس البربخ وجسمه وذيله والحوصلة المنوية وغدة البروستات ووزنت بوساطة ميزان الكتروني. وحسب محتوى رأس البربخ من النطف باستخدام طريقة Noakes and Parkinson [28]. وتم حساب نسب النطف الحية ونسب التشوهات النطفية باستخدام طريقة Bruning and Kintz [29]. واستخدمت تقنية الـ ELISA لغرض تقدير مستوى هرمون الاستروجين، والهرمون اللوتيني، والهرمون المحفز للجريبات والتستوستيرون باستخدام العدد الجاهزة Kits من شركة (Elabscience) USA.

#### التحليل الإحصائي :

تم تحليل البيانات باستخدام برنامج spss (ANOVA) one – way analysis of variance ودرجت البيانات كمعدل  $\pm$  الخطأ القياسي وتم تحديد الاختلافات مابين المجاميع باستخدام اختبار دنكن [31] Duncans multiple range test . وحدد الاختلاف المعنوي في الدراسة عند مستوى احتمالية (  $p < 0.05$  ) .

#### النتائج :

يظهر من الجدول رقم (1) أن المعاملة باللتروزول أحدثت انخفاضاً معنوياً (  $p < 0.05$  ) في وزن الجسم والخصى وانخفاضاً حسابياً في وزن البروستات والحوصلة المنوية. وأن معاملة ذكور الجردان ببذور الكتان وبالمستخلص المائي للميرامية سببت انخفاضاً معنوياً (  $p < 0.05$  ) في وزن الجسم و البروستات والخصى بالمقارنة مع مجموعة السيطرة. ولم يسبب إعطاء ذكور الجردان اللتروزول مع بذور الكتان ومستخلص الميرامية تغييراً معنوياً في أوزان الجسم والخصى والبروستات والحوصلة المنوية بالمقارنة مع مجموعة الجردان المعاملة باللتروزول وحده، ولم ترجع إلى قيم مجموعة السيطرة. ويبين الجدول رقم (2) أن معاملة ذكور الجردان من عمر الفطام باللتروزول ( 1 ملغم / كغم وزن الجسم ) إلى عمر 90 يوماً سببت انخفاضاً معنوياً في أعداد النطف (حيث كان هناك اختفاء كامل للنطف عدد النطف يساوي الصفر Aapermia ) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة . وسببت معاملة ذكور الجردان ببذور الكتان انخفاضاً معنوياً في النسب المئوية للنطف الحية وفي عدد النطف مع زيادة معنوية في النسبة المئوية للنطف الميتة بالمقارنة مع مجموعة السيطرة . وأحدثت معاملة ذكور الجردان بمستخلص الميرامية انخفاضاً معنوياً في عدد النطف مقارنة مع مجموعة السيطرة. وأحدثت معاملة ذكور الجردان المعاملة باللتروزول ببذور الكتان ومستخلص الميرامية زيادة معنوية في أعداد النطف بالمقارنة مع المجموعة المعاملة باللتروزول وحده. ويظهر من الشكل (3) أن المعاملة باللتروزول سببت انخفاضاً معنوياً في مستوى هرمون الاستروجين مقارنة مع مجموعة السيطرة. كما سببت المعاملة زيادة غير معنوية لمستوى التستوستيرون في المجموعة المعاملة باللتروزول والمجموعة المعاملة ببذور الكتان مقارنة مع مجموعة السيطرة مع انخفاض غير معنوي في المجموعة المعاملة بالميرامية مقارنة مع مجموعة السيطرة، وظهر مستواه منخفضاً في المعاملات المزدوجة مقارنة مع مجموعة السيطرة ومجموعة اللتروزول. وسببت المعاملة زيادة

معنوية في الهرمون المحفز للجريبات لمجموعة اللتروزول مقارنة مع مجموعة السيطرة، ولم يحدث تغيير معنوي في الهرمون المحفز للجريبات لمجموعة الميرامية وبذور الكتان مقارنة مع السيطرة، وسببت المعاملة باللتروزول انخفاضاً معنوياً في تركيز الهرمون اللوتيني مقارنة مع مجموعة السيطرة، مع ارتفاع معنوي في الهرمون اللوتيني في المجموعة المعاملة ببذور الكتان مقارنة مع مجموعة السيطرة، وعدم وجود فروق معنوية في مستوى الهرمون اللوتيني في المجاميع المعاملة باللتروزول مع الميرامية واللتروزول مع بذور الكتان مقارنة مع مجموعة السيطرة. أن معاملة الجرذان باللتروزول مع الميرامية وكذلك اللتروزول مع بذور الكتان قد أعادت مستوى هرمون الاستروجين إلى المستوى الطبيعي (مستواه في مجموعة السيطرة). ولم تسبب المعاملة بالميرامية لحيوانات اللتروزول إرجاع مستوى الهرمون المحفز للجريبات المرتفع إلى مستوى مجموعة السيطرة، في حين سببت معاملة بذور الكتان لحيوانات اللتروزول إرجاع مستوى الهرمون المحفز للجريبات إلى مجموعة السيطرة .

**الجدول (1):تأثير المعاملة باللتروزول وبذور الكتان والميرامية على أوزان الجسم والأعضاء التناسلية**

وزن الحوصلة المنوية ملغم / 100 غم وزن الجسم	وزن البروستات ملغم / 100 غم وزن الجسم	وزن ذيل البربخ ملغم / 100 غم وزن الجسم	وزن جسم البربخ ملغم / 100 غم وزن الجسم	وزن رأس البربخ ملغم / 100 غم وزن الجسم	وزن الخصى ملغم / 100 غم وزن الجسم	وزن الجسم (غم)	
78.14 ± 21.33 a	75.14 ± 24.36 a	50.71 ± 7.9 a	11.57 ± 1.21 a	64.29 ± 5.04 a	667.14 ± 28.16 a	110.71 ± 13.4 a	سيطرة
47.57 ± 9.7 a b	34.43 ± 6.93 a b	55.71 ± 10.42 a	7.17 ± 1.64 a	41.93 ± 9.88 a	327.57 ± 51.66 d	58.57 ± 3.9 c	لتروزول
40.86 ± 7.88 a b	22.14 ± 5.45 b	44.14 ± 5.58 a	13.86 ± 2.82 a	50.86 ± 6.38 a	539.57 ± 67.55 a b c	79.86 ± 3 b	بذور الكتان
59.43 ± 8.17 a b	29.86 ± 2.48 b	37.86 ± 4.65 a	12.71 ± 2.33 a	56.71 ± 7.11 a	587.43 ± 69.83 a b	84.00 ± 3.35 b	ميرامية
50.57 ± 4.69 a b	45.86 ± 6.73 a b	48.43 ± 7.41 a	8.71 ± 2.32 a	63.57 ± 7.92 a	454.86 ± 40.15 b c d	69.29 ± 5.34 b c	لتروزول + بذور الكتان
36.00 ± 6.36 b	38.71 ± 6.81 a b	39.86 ± 10.42 a	8.10 ± 2.5 a	47.57 ± 8.27 a	382.14 ± 66.94 c d	58.14 ± 4.61 c	لتروزول + ميرامية

القيم تمثل المعدل ± الخطأ القياسي

الحروف المختلفة بين المجاميع تعني فرقاً معنوياً عند مستوى احتمالية ( $p < 0.05$ )

**الجدول (2): تأثير المعاملة باللتروزول وبذور الكتان والميرامية على النسب المئوية للنطف الحية والميتة وأعداد النطف**

عدد النطف (نطفة 1 ملم <sup>3</sup> )	النسبة المئوية للنطف المشوهة %	النسبة المئوية للنطف الميتة %	النسبة المئوية للنطف الحية %	
204285.7 ± 25714 b	12.60 ± 0.49 b	34.65 ± 2.15 c	65.35 ± 2.15 a	سيطرة
0.00 ± 0.00 *	0.00 ± 0.00 *	0.00 ± 0.00 *	0.00 ± 0.00 *	لتروزول
71428.6 ± 18313 b	13.71 ± 0.96 b	49.00 ± 2.81 b	51.00 ± 2.81 b	بذور الكتان
101428.6 ± 20404 b	12.56 ± 0.74 b	39.00 ± 3.58 c	61.00 ± 3.58 a	ميرامية
60000 ± 20816 b	23.02 ± 1.94 a	73.00 ± 1.57 a	27.00 ± 1.57 c	لتروزول + بذور الكتان
33333 ± 23333 b	20.17 ± 2.81 a	79.95 ± 5.82 a	20.05 ± 5.82 c	لتروزول + ميرامية

القيم تمثل المعدل ± الخطأ القياسي

الحروف المختلفة بين المجاميع تعني فرقاً معنوياً عند مستوى احتمالية ( $p < 0.05$ )

\*تمثل عدم وجود نطف (عدد النطف = 0)

**الجدول (3): تأثير المعاملة باللتروزول وبذور الكتان والميرامية على تركيز الهرمونات الجنسية**

الهرمون اللوتيني LH (مل وحدة دولية / مل) (mIU / ml)	الهرمون المحفز للجريبات FSH (نانوغرام / مل) (ng / ml)	التستوستيرون T (نانوغرام / مل) (ng / ml)	الاستروجين E <sub>2</sub> (بيكوغرام / مل) (pg / ml)	
105.91 ± 10.8 b	156.4 ± 15.6 b	6.8 ± 0.45 a b	182.32 ± 29.76 a	سيطرة
59.99 ± 8.27 c	236.83 ± 4.83 a	10.03 ± 2.69 a	70.48 ± 2.21 c	لتروزول
160.01 ± 20.44 a	146.95 ± 30.7 a	9.63 ± 1.8 a	149.57 ± 21.26 a b	بذور الكتان
96.36 ± 8.56 b c	172.68 ± 18.12 b	4.49 ± 1.48 b c	143.28 ± 19.74 a b	ميرامية
93.48 ± 8.48 b c	147.93 ± 7.9 b	1.02 ± 0.44 c	120.68 ± 15.9 b c	لتروزول + بذور الكتان
81.58 ± 9.1 b c	219.9 ± 10.67 a	0.49 ± 0.1 c	134.28 ± 15.5 a b	لتروزول + ميرامية

القيم تمثل المعدل ± الخطأ القياسي

الحروف المختلفة بين المجاميع تعني فرقاً معنوياً عند مستوى احتمالية (p<0.05)

#### المناقشة :

بينت نتائج الدراسة الحالية أن معاملة ذكور الجرذان من عمر الفطام (21 يوماً) باللتروزول (1 ملغم/كغم وزن الجسم) إلى عمر 90 يوماً سببت انخفاضاً معنوياً في وزن الجسم وخصى ذكور الجرذان، وهذا يتطابق مع دراسة قام بها Anurage وآخرون [24]، حيث ذكر أن إعطاء اللتروزول لذكور الجرذان بعمر ما قبل البلوغ prepubertal سبب انخفاضاً معنوياً بوزن الجسم مقارنة مع السيطرة. وعلى العكس من ذلك فقد وجد بأن معاملة ذكور الفئران البالغة باللتروزول لمدة 15 يوماً سبب زيادة في وزن الجسم [30]. وان تثبيط النمو بتثبيط انزيم الأروماتيز قد يكون سببه تثبيط إنتاج عامل النمو الشبيه بالأنسولين insulin like growth factor.

وتأثير نقص الإستروجين على التعبير الجيني لمستقبلات هرمون النمو growth hormone receptor expression أو على نقل الإشارات signaling أو فقدان إنتاج الكبد لعامل النمو المشابه للنسولين -1 غير المعتمد على هرمون النمو [31]. وعلى العكس من الإنخفاض الحاصل في أوزان الخصى في البحث الحالي، فقد ذكر Jurner وآخرون [32] أن معاملة ذكور الجرذان البالغة بمثبط الأروماتيز انسترازول anastrozole عن طريق ماء الشرب سبب زيادة معنوية في أوزان الخصى. وقد يعود الانخفاض في وزن الخصى إلى الانخفاض العام في وزن الجسم. وأظهرت نتائج الدراسة الحالية أن المعاملة ببذور الكتان والميرامية سببت انخفاضاً معنوياً في وزن الجسم وعدة البروستات. وتتفق نتائج الدراسة الحالية مع ما ذكره Delcos وآخرون [33] من أن معاملة ذكور الجرذان البالغة بالجنستين genistein والذي هو نوع من الأيزوفلافون (استروجينات نباتية) سبب انخفاضاً في أوزان غدة البروستات. وأشار Takgi وآخرون [34] أن الجنستين ايزوفلافون لم يكن له تأثير على أوزان الأعضاء التناسلية في ذكور الجرذان. وقد ذكر Alshubaily and Jambi [35] أن تغذية ذكور الجرذان على غذاء عالي الكوليسترول مع إعطاء المستخلص المائي للميرامية، وسبب زيادة معنوية في البروتينات الدهنية عالية الكثافة وزيادة في الأنظمة المضادة للأكسدة، وأن المستخلص المائي للميرامية يوفر حماية للجسم ضد الاضطرابات المحدثة بالغذاء عالي الكوليسترول. وقد يكون السبب في انخفاض وزن الجسم في المجموعة المعاملة بالميرامية إلى تأثيراته الإيجابية على دهون الجسم. وقد تم عزل حامض الكاموسك camosic acid والكاموسول camisole من أوراق الميرامية، وتعود إليها تأثيرات الميرامية في خفض مستوى الشحوم الثلاثية، حيث لها فعالية مثبطة لانزيم اللايباز البنكرياسي الذي يساهم في هضم الدهون، و يقلل تجمع الدهون في البربخ ويقلل وزن البربخ مع خفض معنوي لدهون الأحشاء الداخلية، وانخفاض معنوي في مستوى كوليسترول المصل في الفئران المغذاة غذاء عالي الدهون [36]. وأدت المعاملة باللتروزول في الدراسة الحالية إلى انخفاضاً معنوياً في عدد النطف واختفاء كامل للنطف (عدد النطف صفر)، وهذا يتفق مع دراسة قام بها Junker Walker and Nogue [37] حيث ذكر أن معاملة ذكور الكلاب باللتروزول لمدة 3 أشهر سببت فرط تنسج خلايا لايدك hyperplasia وتوقف في عملية تكوين النطف. وذكر Shetty وآخرون [38] أن المعاملة الطويلة الأمد (55 يوماً) لذكور القردة البالغة بنظير اللتروزول analogue of letrozole سببت انخفاضاً في إنتاج النطف بنسبة (90 %) وانخفاضاً في أعداد السبيرماتيدات الدائرية والطولية. وتتواجد مستقبلات الأستروجين في خلايا سرتولي فضلاً عن البربخ، ويتواجد الأروماتيز في الخلايا الجرثومية للقوارض، لذلك فإن للأستروجين المتولد من الخلايا الجرثومية دوراً في تكوين الخلايا المولدة للنطف وفي وظيفة الخلايا الظهارية للبربخ، وقد يكون سبب الانخفاض في عدد وحركة النطف في الحيوانات المعاملة بمثبط الأروماتيز لفقدان تأثير الأستروجين في خلايا سرتولي والخلايا الجرثومية [14]. ومنع وإعاقة block فعل الأستروجين في القوارض باستعمال مثبطات الأروماتيز أو من خلال إعاقة مستقبلات الأستروجين إلى إعاقة عامة في الخصوبة، وهناك مؤشرات لحدوث إعاقة في وظيفة الخصى مثل ضمور الخلايا الخلالية واضطراب في وظيفة الظهارة المنوية، وانخفاض في عدد النطف والفعالية الجنسية [14]. وسببت المعاملة ببذور الكتان انخفاضاً معنوياً في النسب المئوية للنطف الحية وأعداد النطف وزيادة معنوية في النسب المئوية للنطف الميتة مقارنة مع مجموعة السيطرة، وأن المعاملة بالميرامية سببت انخفاضاً معنوياً في أعداد النطف مقارنة مع مجموعة السيطرة، وسبب إعطاء الميرامية وبذور الكتان للجرذان المعاملة باللتروزول زيادة معنوية في النسب المئوية للنطف الحية وعدد النطف مع عدم رجوعها إلى قيم السيطرة كذلك فإن النسب المئوية للنطف الميتة والمشوهة كانت مرتفعة معنوياً مقارنة مع مجموعة السيطرة. وتعد بذور الكتان مصدراً غنياً باللجنين lignin والحامض الدهني لينوليك، ويعد الأخير مادة بادئة غير مباشرة indirect precursor للبروستاكلاندينات والتي بدورها تسرع حركة النطف

واختراق النطف لمخاط عنق الرحم [17]. ويشابه اللكنان الاستروجينات الداخلية المنشأ وهو يظهر تأثيرات استروجينية وتأثيرات مضادة للاستروجين antiestrogenic activity بالاعتماد على مستوى هرمون الاستروجين الداخلي، حيث إنه عند انخفاض مستوى الاستروجين الداخلي يرتبط اللكنان مع مستقبلات الاستروجين ويحدث فعلاً مشابهاً لفعل الاستروجين، وعلى العكس عندما يكون مستوى الاستروجين الداخلي عالياً فإن اللكنان يتنافس مع الاستراديول للارتباط مع مستقبلات الاستروجين، ويمنع فعل الاستراديول الداخلي المنشأ الذي يعد الأكثر قوة مؤدياً إلى تأثيرات مضادة للاستروجين antiestrogenic effects [39]. وقد يكون السبب في كون المعاملة ببذور الكتان قللت معنوياً النطف الحية وعدد النطف إلى كونها سببت تأثيرات مضادة للاستروجين. ويمتلك مستخلص الميرامية القابلة على تحفيز نمو الخصى ويزيد تكاثر ونضج وتمايز الحيوانات المنوية، وذلك بسبب احتوائه على مادة الصابونين والقلويات [40]. وذكر Al-Chalabi وآخرون [41] أن المستخلص المائي للميرامية نوع *salvia officinalis* سبب تأثيرات إيجابية على بعض معايير الخصوبة وهرمونات محور الغدة النخامية والخصى في ذكور الجرذان من خلال زيادة مستوى هرمون التستوستيرون والهرمون اللوتيني والهرمون المحفز للجريبات، ويعود التأثير المحسن للمستخلص المائي للميرامية في الجهاز التناسلي لذكور الجرذان لتأثيرات مكونات الميرامية من فيتامين C و E والفلافونويدز ومضادات الأكسدة، وقد تعود التأثيرات الإيجابية للميرامية على معايير الخصوبة إلى كونها تعد مصدراً للاستروجينات النباتية، حيث تحتوي الميرامية على مادة التيرينويد و الفلافونويد اللذان يعدان كاستروجينات نباتية وهي مصدر غني بالمركبات متعددة الفينول مثل حامض الكارنوسك *carosic acid* وحامض الروزمارنيك *rosmarinic acid* وحامض الكافيك *caffic acid* [19]. وانعكست مكونات الميرامية على نتائج الدراسة الحالية حيث رفعت الميرامية مع اللتروزول مستوى الاستروجين، وبالتالي خفضت تركيز التستوستيرون ولم يتغير معنوياً مستوى الهرمون المحفز للجريبات والهرمون اللوتيني. وسبب حقن ذكور الجرذان البالغة والمصابة بداء السكر المستحدث بالالوكسان (100 ملغم/كغم وزن الجسم) بالمستخلص المائي للميرامية (300 ملغم/كغم وزن الجسم) في البريتون *intraperitonally* لمدة 5 أسابيع تحسناً معنوياً في العدد الكلي للنطف وحركة النطف وشكل النطف، وعزيت هذه التأثيرات الإيجابية إلى تأثير الميرامية المضاد للأكسدة [41]. وبينت الدراسة الحالية أن معاملة ذكور الجرذان بعمر الفطام باللتروزول (1 ملغم/كغم وزن الجسم) إلى عمر 90 يوماً، سببت انخفاضاً معنوياً في تركيز هرمون الاستروجين والهرمون اللوتيني وزيادة معنوية في تركيز الهرمون المحفز للجريبات مقارنة مع مجموعة السيطرة. وهذا يتفق مع دراسة قام بها Mauras وآخرون [42] بينت أن إعطاء مثبط الاروماتيز الانستروزول *anastrozole* (1 ملغم يومياً) لمدة عشرة أسابيع للذكور الشبان بعمر (15-22) سنة، سببت انخفاضاً في تركيز الاستراديول في المصل بمقدار (50%) وزيادة في تركيز هرمون التستوستيرون والهرمون اللوتيني والهرمون المحفز للجريبات مع رجوع مستوى الهرمونات إلى الحالة الطبيعية عند توقف إعطاء الانستروزول. يفرز تحت المهاد الهرمون المحرر للكوندوتروبين *gonadotropin – releasing hormone* الذي يحفز الغدة النخامية على إفراز الهرمون اللوتيني والهرمون المحفز للجريبات الذي يدخل خلايا سرتولي، ويسرع عملية تكوين النطف ويدخل الهرمون اللوتيني خلايا لايدك، ويسبب تحراً للتستوستيرون، وبالتالي يحسن عملية تكوين النطف كذلك فإن خلايا سرتولي تفرز هرمون الانهيبين *inhibin* ويثبط كل من التستوستيرون والانهيبين إفراز الهرمون المحرر للكوندوتروبين من تحت المهاد، وبالتالي يثبط إفراز الكوندوتروبينات، وإعطاء هرمون التستوستيرون يسبب انخفاضاً في مستوى الهرمون اللوتيني والهرمون المحفز للجريبات، في الرجال وأن إعطاء مثبط الاروماتيز يثبط تأثير التستوستيرون على إفراز الكوندوتروبين ويزيد مستوى الهرمون اللوتيني والهرمون المحفز للجريبات، وهذا يدل على أن التستوستيرون يحدث التغذية الاسترجاعية الطبيعية للكوندوتروبين عند مستوى الغدة النخامية من خلال

أرمتته إلى الاستراديول، وأن إعطاء الاستروجين بدل مثبط الأروماتيز سبب انخفاضاً معنوياً في مستوى الهرمون المحفز للجريبات والهرمون اللوتيني [43]، وهذا قد يكون السبب في نتائج الدراسة الحالية والمتمثلة بزيادة تركيز الهرمون المحفز للجريبات عند إعطاء مثبط الأروماتيز وأن الانخفاض الحاصل في تركيز الهرمون اللوتيني في الدراسة الحالية قد يعود إلى الزيادة الحسابية الحاصلة في تركيز التستوستيرون، وهذا يتفق مع دراسة قام بها Pitteloud وآخرون [44]، الذي ذكر أن إعطاء التستوستيرون سبب انخفاضاً معنوياً في تركيز الهرمون اللوتيني في الرجال الأسوياء من خلال إبطاء تعداد نبضات الهرمون المحرر للكوندوتروبين، ويعود السبب في ذلك أن التستوستيرون يمتلك تغذية استرجاعية سالبة على إفراز الهرمون اللوتيني، وأن هذا التأثير في الغدة النخامية يكون من خلال أرمتته إلى استروجين، ولكن هذا التأثير للتستوستيرون في تحت المهاد يكون بطريقتين مباشرة من خلال مستقبلات التستوستيرون وغير مباشرة من خلال أرمتته إلى استروجين. كما أن إعطاء مثبط الأروماتيز الانسترازول (100 و400 ملغم / لتر ) عن طريق ماء الشرب لذكور الجرذان البالغة ولمدة 12 أسبوعاً إلى سنة، سبب زيادة في تركيز الهرمون المحفز للجريبات والتستوستيرون والهرمون اللوتيني في الدم، ولم يحدث انخفاض في تركيز الاستراديول في الدم لكنه سبب انخفاضاً في تركيز الاستراديول في السائل الخلالي للخصية بنسبة ( 18 % ) [32]. وبينت دراسة أخرى قام بها Michael وآخرون [45] أن معاملة اناث الجرذان البالغة بمثبط الأروماتيز الاكزمستان (1000 ملغم / كغم ) لمدة 28 يوماً سببت انخفاضاً معنوياً في مستوى الهرمون اللوتيني وهرمون البروجستيرون وزيادة معنوية في مستوى الهرمون المحفز للجريبات. وسبب إعطاء الاكزمستان ومضادات أروماتيز أخرى لإنات الجرذان انخفاضاً في حجم الخلايا في منطقة *pars distalis* من الغدة النخامية، الذي سبب انخفاضاً في وزن الغدة النخامية [46]. ويعزى هذا الانخفاض إلى فعل الأكزمستان على مستقبلات الأندروجين في الغدة النخامية، ويؤدي إلى تثبيط في إفراز الهرمون اللوتيني [47]. على الرغم من كون تحرر الهرمون المحفز للجريبات يكون تحت سيطرة الانهيبين *inhibin* إلا أن الاستراديول يمتلك دوراً في مستويات الهرمون المحفز للجريبات في الرجال، و تسبب مثبطات الأروماتيز زيادة 3 مرات في مستويات الهرمون المحفز للجريبات في الذكور الأسوياء *eugonadal* [48]. وفي دراسة أخرى وجد أن معاملة ذكور الجرذان البالغة بالانسترازول (مثبط أروماتيز ) *anastrozole* لم يحدث تغييراً معنوياً في تركيز التستوستيرون والهرمون المحفز للجريبات مقارنة مع السيطرة [49]. وأظهرت الدراسة الحالية أن المعاملة باللتروزول مع بذور الكتان أحدثت انخفاضاً معنوياً في تركيز هرمون التستوستيرون والهرمون المحفز للجريبات مقارنة مع المجموعة المعاملة باللتروزول، في حين أحدثت المعاملة زيادة حسابية غير معنوية في تركيز هرمون الأستروجين والهرمون اللوتيني مقارنة مع المجموعة المعاملة باللتروزول، فضلاً عن ذلك أحدثت المعاملة باللتروزول مع الميرامية زيادة معنوية في تركيز هرمون الأستروجين وانخفاضاً معنوياً في تركيز التستوستيرون مقارنة مع المجموعة المعاملة باللتروزول، في حين لم تحدث المعاملة تغييراً معنوياً في تركيز الهرمون المحفز للجريبات والهرمون اللوتيني مقارنة مع المجموعة المعاملة باللتروزول. وتتفق النتائج في الدراسة الحالية مع دراسة قام بها Rad وآخرون [50] بينت أن إعطاء حبوب الميرامية للنساء بعد سن اليأس سببت زيادة في تركيز الأستروجين، وقد تعود الزيادة في مستوى الأستروجين إلى الفلافونويد الموجود في نبات الميرامية. وقد سجل أن إعطاء إناث الجرذان في عمر الرضاعة جرماً قليلة من الجنسيتين (استروجين نباتي) رفعت تحرر الهرمون اللوتيني، في حين ان الجرعة العالية من الجنسيتين قللت من تحرر الهرمون اللوتيني [33]. وأن التأثيرات المختلفة للميرامية وبذور الكتان قد تعود إلى أن كلاً منهما غنيان بالاستروجينات النباتية، وقد ذكر Ososkiy and Kennelly [51] أن الاستروجينات النباتية إما تعمل كشادة أو تعمل كضادة بالاعتماد على تركيزها أو تركيز الأستروجين في البيئة. إن التعرض للأستروجين الخارجي *exogenous estrogen* خلال فترة الحمل والرضاعة يعزز

التنافس الموضوعي local competition مع الاستروجين الداخلي الذي بدوره يثبط إنتاج الأندروجين الخصوي [52] وفي دراسة قام بها Ludmila وآخرون [25] بينت أن تغذية أمهات الجرذان على غذاء يحتوي على بذور الكتان (25 %) خلال فترة الرضاعة والاستمرار على تغذية الذكور بنفس الجرعة من بذور الكتان إلى عمر 250 يوماً سببت زيادة في تراكيز الاستراديول لكن من دون تغيير في تراكيز التستوستيرون، ولم تسبب المعاملة تأثيرات ضارة على شكل القضيب penis morphology والبربخ والخلايا التي تساهم في عملية تكوين النطف. إن التأثيرات المختلفة في الدراسة الحالية تعود إلى كون كل من الميرامية وبذور الكتان مصادر غنية بالأسروجينات النباتية وكلاهما يظهر تأثيرات تعتمد على الجرعة ومدة المعاملة وتركيز الاستروجين داخلي المنشأ.

#### شكر وتقدير

انقدم بجزيل الشكر والتقدير لكلية الطب البيطري / جامعة الموصل للتسهيلات التي قدمتها لاكمال البحث .

#### المصادر

- 1- Nilsson S. , Makela S. , Treuter E. , Tujague M. , Thomsen J. and Andersson G . ,Physiol. Rev ., 81 (4) : 1535 – 65(2001) .
- 2- Rochira V., Granata A.R.M. , Madeo B., Zirilli L. , Rossi G. and Carani C., Asian J. Androl., 7 : 3 – 20 (2005).
- 3 - Rex A. H.,Reprod. Biol. Endocrinol ., 1 (52) (2003) .
- 1- 4- Simpson E.R. , Mahendroo M.S. , Means G.D. , Kilgore M.W., Hinshelwood M.M. , Graham-Lorence S., Amarneh B. , Ito Y. , Fisher C.R. and Michael M.D. , Endocrine reviews ., 15 :342 - 355 (1994).
- 5- Lund S.A. , Murdoch J. , Vankirk E.A. , Murdoch W.J. , Biol. of Reprod. , 61 (2) : 388 – 392(1999)
- 6- Mooradian A.D. , J. Steroid. Biochem. Mol. Biol., 45 : 509 – 511(1993) .
- 7- Borrás C. , Sastre J. , Garcia – Sala D Lioret A., Pallardo F.V .and Vina J. , Free Radi. Biol. Med., 34 : 546 – 552(2003) .
- 8- Lewis S.E.M. , Boyle P.M. , Mckinny K.A. , Young I.S . and Thompson W., Fert.and Steri., 64 (4): 868 -870 1995).
- 9- Hess R.A. , Bunich D. , Lee K.H. , Bahar J. , Taylor J. A. , Korach K.S. and Lubahn D.B.,Nature ., 390 : 509 – 512(1997) .
- 10- Carreau S. , Lambard S. , Delaland C. , Denis – Galeraud I. , Bilinska A. and Bourguiba S. , Reprod. Biol. Endocrinol ., 1(35) ( 2003).

- 11- O'Donnell L. , Robertson K.M. , Jones M.E . and Simpson E.R . , *Endcr. Rev .* , 22 :289 – 318(2001).
- 12- MacCalman C. D. , Getsios S. , Farookhi R. and Blaschuk O.W. , *Endocrinol .* , 138 : 41-48(1997)
- 13- Mitwally M.F.M. , Casper R. F. and Diamond MP. ,*Reprod. Biol. Endocrinol .* , 3 : 54(2005) .
- 14- Eddy E.M. , Washburn T.S. , Bunch D.O. , Goulding E.H. , Gladen B.C. , Lubahn D.B. and Korach K.S., *Endocrymol .* , 137 (11) : 4796 – 4805(1996) .
- 15- Fukumitsu S. , Aida K. , Shimizu H .and Toyoda K, *Nutr. Res.*, 30 (7) : 441 – 446(2010) .
- 16-Thompson L.U. , Robb P. , Serraino M. and Gheung F. , *Nutr. Cancer.*, 16 : 43 – 52(1991) .
- 17- Bygedman M. , Gottlieb C. , Swanborg K. and Swahn M.L .," Role of prostaglandins in human reproduction : recent advances in : *Advances in prostaglandin . Thomboxane and Leukotriene Research Vol 17"* . (samueission B. paoletti R. and Ramwell P.W. eds.). Raven press . NewYork (1987) .
- 18- Ayatollah A , Shojairi A , Kobarfard F , Mohammadzadeh M and Choudhary M. , *Iran J. Pharm. Res .* , 2009 ; 8 : 197 -84 .
- 19- Yurtseven S , Cetin M , Sengiil T and Sogut B. , *S. Afr. J. Anim. Sci.*, 38 : 145 -152 (2008).
- 20- Ososki A L and Kennelly E J. , *Phytother Res.*,17 : 845 – 869 (2003).
- 21- Baranauskiene R , Dambrauskiene E and Venskutonis P. , *Food balt .* 105 – 9 (2011) .
- 22- Chien C.F. , Wu. Y.T. and Tsai T.H., *B. M. C .* , 25 (1-2) : 21 -38 (2011).
- 23- Aron P. M.and Kennedy J. A., *Nature .* , *Mol. Nutr. Food Res.*, 52 : 79 – 104 (2008).
- 24- Anurage B. , Peter J. S. , Stephen J. M. , Vincenzo C. R. , Walid J.A. , John D W, Gail PR and George AW., *J.of Endocrino .* , 207 pp 27 -34 (2010).
- 25- Ludmila F. M. D. C. , Gilson T. B. , Livia H. C. B. , Mauricio A. C. , *Food and Chem. Toxic .* , 50 : 4092 – 4096 (2012) .
- 26- Amin A , Hamza A A. , *ELSEVIER Life Sciences.*, 77 : 266- 278 (2005).
- 27- Sakamoto J. , Hashimoto K . , *Arch. Toxicol.*,59 :201 – 205 (1986).
- 28- Noakes D. E. , Parkinson T. J. "Arthurs , *Veterinary reproduction and obstetrics"* 8 th ed . Gary C.W. England (2001).
- 29-Bruning JL and Kintz BL.*Computation handbook of statistics.*Scott.Foresman and Co.Gleniew.Illinois.
- 30- Eshet R. , Maor G. , Ben A. T. , Ben E.M. , Gat-Yablonski G. , Phillip M., *J. of Endoc .* , 182 : 165 – 172 (2004).

- 31- Venken K. , Schuit F. , Van Lommel L. , Tsukamoto K. , Kopchick J. , Coschigano K., Ohlsson C. , Moverare S., Boonen S. , Bouillon R. , J. of Bone and Mineral Res., 20 : 2138 – 2149 (2005).
- 32- Jurner K. J. , Morly M. , Atanassona N. , Swanton I. D. , Sharp R. M. , J.of Endoc., 164 : 225 – 238 (2000).
- 33- Delclos K.B. , Bucci T.J. , Lomax L.G. , Latendressa J.R. , Warbritton A. , Weis C.C. , *Reprod. Toxicol.*, 15 : 647 – 63 (2000).
- 34-Takgi H. , Shibutani M. , Lee K. Y. , Lee H.C. , Nishihara M. , Uneyame C. , *Reprod. Toxicol.*, 18 : 687 – 700 (2004).
- 35- Alshubaily F.A. , Jambi E.J. , *Intern. J.of Pharm. and Phytopharm. Res. (Eijppr)*., 8 (1) : 62 – 68 (2018).
- 36- Wang T. , Takikawa Y. , Sotoh T. , Yoshioka K. , Tatemichi Y. , Suzuki K., *Hepato.Res.*, 41 : 87 – 92 (2011).
- 37- Junker Walker U. , Nogues V., *Exper. Toxi. and pathology* , 46 : 211 – 213 (1994).
- 38- Shetty G. , Krishamurthy H. , Bhatnagar A. , Moudgal N., *Steroids* . , 63 : 414 – 420 (1998).
- 39- Jordon V.C. , Mittal S. , Gosden B. , Koch R. , Lieberman M.E. , 61 : 97 – 110 (1985).
- 40- Oakenfull D. Saponins in the treatment of hypercholesterolemia . In : Spiller (ed) *Handbook of lipids in human nutrition* . BocaRaton : CRC Press ; 1996 ).
- 41- Al – Chalabi S.M.M. , Shukri H.M. , Mahmood R.I. , Khalid L.B. , *J of Babylon University/Pure and Applied Scie.*, 24 (2) :390 – 399 (2016).
- 42- Mauras N. , O'Brien K.O. , Klein K.O. , Hayes V., *The J. of Clinical endo. and met.* , 85 : 2370 – 2377 (2000).
- 43-Finkelstein J.S. ,Odea L.S.,Whitcomb R.W.,Crowley W.F., *The J.of clinical endoc. and meta.* 73:621-628(1991) .
- 44- Pitteloud N.,Dwyer A.A.,Decruz S.,Lee H.,Boepple P.A.,Crowley W.F. and HayesF.J., *J. Clin. Endocrinol. Metab.*,93(3):784-791 (2008).
- 45- Michael L.M. , Lakshmi S. , Christopher H. *Histological , cytologic detection of endocrine and reproductive tract effects of exemestane in female rats treated for up to twenty – eight day s.* *SAGE Journals* . 2 : 1- 31(2011).
- 46- Shirai M. , Sakurai K. , Saitoh W. , Matsuyama T. , Teranishi M. , Furukawa T. , Sanbuissho A. , *J. Toxicol. Sc.* 34 : 91 – 9 (2009).
- 47- Zacco T. , Giudici D. , Oranti G. , Panzeri A. , Salle E. ,*Eur. J. Cancer* . 27 : 1145 – 50 (1991).
- 48- Raven G. , De jong F.H., Kaufman J. M. , De Ronde W., *J. Clin. Endocrinol. Metab* . 91 : 3324 – 3328 (2006).

- 49- Turner K.J. , Morly M. , Atanassova N. , Swanston I.D. , Sharpe R.M. J. of Endo ., 164 : 225 – 238(2000).
- 50- Rad S. K. , Forouhari A.S. ,Dehaghani A. S. , Vafaei H. , Sayadi M. and Asadi M., International J.of Med. Res. and Health Scie ., 2016 5 (8) : 257 – 263 (2000).
- 51- Ososki A.L. , Kennelly E.J., Phytother Res . 17 : 845 – 69 (2000).
- 52- Wohlfahrt-Veje C. , Main K.M. and Skakkebaek N.E . Clin. Endoc. Oxford . 71 : 459 – 465 (2009).