بررسی اثر عصاره هیدروالکلی کرفس بر کیفیت منی و اسپرم زایی در سمیت تحت مزمن با دیازینون در موش صحرایی

ریحانه قاسمی[۱]، فرشته میرمحمدرضائی[*۲]، سیما نصری[۱]، امیر نیلی احمدآبادی[۳]

۱) گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور تهران، تهران، ایران

۲) گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران

۳) گروه سم شناسی و فارماکولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱/۱۶ **تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۷/۲۶**

چکیده

مقدمه: ناباروری از مهم ترین معضلات بهداشتی در کشورهای در حال توسعه است. قرار گرفتن طولانی مدت در معرض آفت کش های ارگانوفسفره می تواند بر کیفیت منی تاثیر بگذارد. در مطالعه حاضر اثر عصاره هیدروالکلی کرفس بر کیفیت منی و اسپرم زایی در تماس تحت مزمن با دیازینون در موش های صحرایی بررسی گردید.

مواد و روش ها: ۳۰ موش نر نژاد ویستار به ۵ گروه تقسیم شدند. گروه ۱(کنترل) تیماری دریافت نکرد، گروه ۲(شم) روغن ذرت و سالین(۵۰۰ میکرولیتر) دریافت کرد، گروه ۳ سم دیازینون(غلظت ۱۶ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن) دریافت کرد. گروه های ۴ و ۵ به ترتیب عصاره کرفس با غلظت های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم همراه با دیازینون دریافت نمودند. بعد از دو ماه، تعداد، تحرک و قابلیت حیات اسپرم ها بررسی شد و مقاطع بافت بیضه با هماتوکسیلین–ائوزین پس از تثبیت بیضه رنگ آمیزی گردید.

یافته های پژوهش: یافته ها نشان داد تعداد و تحرک اسپرم ها در گروه دیازینون در مقایسه با گروه شم به طور معنی داری کاهش یافت($P<0.001$). تعداد اسپرم در گروه دریافت کننده دیازینون و دوز بالای عصاره کرفس به طور قابل توجهی در مقایسه با گروه دیازینون افزایش یافت($P<0.001$). عصاره کرفس با غلظت ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم تعداد اسپرماتوسیت های اولیه و اسپرماتیدها را به طور معنی داری در مقایسه با گروه دیازینون افزایش داد($P<0.05$). به علاوه دوز پایین عصاره کرفس(۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) به طور قابل توجهی توانست حرکت اسپرم را در مقایسه با گروه دیازینون افزایش دهد($P<0.001$).

بحث و نتیجه گیری: به نظر می رسد عصاره کرفس می تواند کیفیت اسپرم و فرآیند اسپرم زایی را در برابر سمیت دیازینون بهبود بخشد.

واژه های کلیدی: دیازینون، عصاره کرفس، اسپرم، موش صحرایی

* نویسنده مسئول: گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران

Email: fereshteh.mmrezaei@gmail.com

Copyright © 2018 Journal of Ilam University of Medical Science. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution international 4.0 International License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/) which permits copy and redistribute the material, in any medium or format, provided the original work is properly cited.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-04-24]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.5.61]

مقدمه

ناباروری یکی از شایع ترین مشکلات بهداشتی و درمانی در جهان است و حدوداً ۱۵ درصد زوج ها را شامل می شود(۱). تقریباً ۴۰ درصد از علل ناباروری ها به مردان تعلق دارد. کاهش تعداد و تحرک اسپرم و ناهنجاری های اسپرمی از مهم ترین عوامل ناباروری در مردان می باشد(۲). عوامل متعددی می تواند با روند اسپرم زایی تداخل داشته باشد و کمیت و کیفیت اسپرم را کاهش دهد. گزارش ها حاکی از آن است که برخی از بیماری ها، سیگار کشیدن، آلاینده هایی از نوع حشره کش ها، آلاینده های هوا و مصرف ناکافی ویتامین ها، تاثیرات نامطلوبی بر روند اسپرم زایی دارند(۳). بسیاری از اثرات آفت کش ها از طریق تولید رادیکال هـــای آزاد و در نتیـــجه تغیـــیر در سیستم آنتی اکسیدانی سلول و پراکسیداسیون لیپیدهای غشا القا می شود(۴). تولید رادیکال های آزاد و گونه های فعال اکســیژن از جمله آنیـــون ســـوپراکســـید و پراکسیدهیدروژن می توانـــد در عمـــلکرد اسپرم ها تغییرات مثبت ایجاد کند با این حال تولید بیش از حد گونه های فعال اکسیژن می تواند برای اسپرم مضر باشد و ممکن است منجر به ناباروری مردان شود(۵). دیازینون یکی از شـــایع ترین آفـــت کـــش های ارگانوفسفره مورد استفاده در جهان است(۶). مانند دیگر ارگانو فسفره ها، دیازینون علاوه بر تاثیر بر فعالیت آنزیم استیل کولین استراز، می تواند در سیستم تولید مثلی نیز از طریق اثر بر محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گناد و تغییـــر هـــورمون های جنسی، اختلال ایجاد کند(۷). هم چنین استرس اکسیداتیو در سمیت با دیازینون نقش دارد که این امر منجر به شکل گیری گونه های فعال اکسیژن و تغییر فعالیت های آنزیمی در ارتباط با مکانیـــسم های دفاعی آنتی اکسیدانی بدن است. استرس اکسیداتیو منجر به آسیب DNA اسپرم، مورفولوژی غیرطبیعی اســـپرم و در نهـــایت ناباروری مردان می شود(۸). مطالعات متعدد گزارش کرده اند که آنتی اکسیدان ها و ویتامین های E، A، B، C در رژیم غذایی می توانند DNA اسپرم را در برابر رادیکال های آزاد محافظت کنند و ثبـــات ســـد خونی بیضه ای را افزایش دهند(۹). امروزه توجه زیادی به فعالیت زیستی عصاره های گیاهی به دلیل استخراج آن ها از منابع طبیعی شده است. گیاهان دارویی تاثیر مثبت در افزایش باروری و حـــل مـــسائلی مانند عدم تعادل هورمونی، اولیـــگواسپرمی، تحـــرک اسپرم، التهاب پروستات و واریکوسل دارند(۱۰). کرفس با نام علمی Apium graveolens مـــتعلق به گـــونه جعفری از خانواده چتریان است. دانه کرفس حاوی ۳-۲ درصد اسید چرب ضروری است. این چربی غالباً شامل لیمونن (معمولاً ۶۰ درصد)، سلنین(۱۰ درصد)، فوروکومارین، گلیکوزیدهای فوروکومارین، پالمیتیک اسید و فلاونوئید است. کرفس حاوی ویتامین C و دیگر ترکیباتی مانند کومارین ها است که ترکیبات افزایش دهنده سلامتی هستند(۱). آپی ژنین فلاونوئید اصلی کرفس و دارای خواص ضد التهابی است. آپی ژنین به عـــنوان یک آنتی اکسیدان تولید پراکسیدهیدروژن را مهار می کند و هم چنین مسئول واکنش های التهابی و آلرژیک است هم چنین دارای اثـــرات مهـــاری بر آنـــزیم های سیکلواکسیژناز و لیپواکسیژناز است. بنا بر این، کرفس به دلیل خواص ضد التهابی و آنتـــی اکســـیدانی اش، دارای توانایی کاهش اثرات مضر رادیکال های آزاد بر سلول ها است و مانع از مرگ سلول و از دست دادن وزن و حجم بافت می شود(۱). با توجه به استفاده گسترده از آفت کش ها در کشاورزی و اثرات شناخته شده ارگانو فسفره ها بر سیستم تولید مثل انسان از یک سو و عدم وجود شواهدی مبنی بر اثرات گیاه کرفس بر روی کیفیت منی و اسپرم زایی در حیوانات مسموم با ارگانوفسفره ها از سوی دیـــگر سبـــب شد تا در این مطالعه اثرات عصاره هیـــدروالکلی این گیاه بر روی کیفیت منی و اسپرم زایی در موش های صحرایی نر نژاد ویستار مسموم با دیازینون مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روش ها

حیوانات و گروه های تجربی: در این پژوهش، ۳۰ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار، با وزن ۵±۲۰۰ از پژوهشکده انستیتو پاستور آمل خریداری گردید. حیوانات در اتاق حیوانات و در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و دمای ۲۵-۲۳ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. سپس موش ها به طور تصادفی به ۵ گروه شش تایی تقسیم شدند. گروه ۱

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-04-24]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.5.61]

(کنترل) چیزی دریافت نکرد، گروه ۲ (شم): گروهی که به مدت دو ماه روغن ذرت و نرمال سالین ۰/۹ درصد را به روش خوراکی و گاواژ دریافت کرد، گروه ۳: گروهی که ۲ ماه سم دیازینون با غلظت ۱۶ میلی گرم بر کیلوگرم به شیوه گاواژ دریافت کرد، گروه ۴ و ۵: که علاوه بر سم دیازینون با غلظت ۱۶ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره کرفس را به ترتیب با غلظت های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم از طریق گاواژ به مدت ۲ ماه دریافت کردند(۱). لازم به ذکر است، هر هفته سم دیازینون با غلظت ۱۶ میلی گرم بر کیلوگرم در روغن ذرت(حلال سم) تهیه شد و بر اساس وزن حیوانات به آن ها از طریق گاواژ تجویز شد.

عصاره گیری: کرفس پس از شناسایی توسط گیاه شناس جهت عصاره گیری مورد استفاده قرار گرفت. به منظور تهیه عصاره هیدروالکلی کرفس، برگ و ساقه کرفس به روش خیساندن در حلال متانول ۸۰ درصد ۳ بار، هربار به مدت ۷۲ ساعت قرار گرفت(۱۱). پس از تهیه عصاره، غلظت های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن از طریق حل کردن در نرمال سالین تهیه و به موش ها داده شد. بعد از پایان دوره گاواژ، موش ها با تزریق مخلوط کتامین(۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم) و زایلازین(۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم) (شرکت آلفاسان، هلند) به ازای هر کیلوگرم وزن حیوان به صورت داخل صفاقی، بیهوش شدند(۱۲). پس از تشریح حیوانات، به منظور انجام مطالعات بافت شناسی، بیضه هر حیوان به منظور فیکس شدن، در ظرف فرمالین ۱۰ درصد قرار داده شد. هم چنین اپیدیدیم حیوان پس از شستشو در سالین ۳۷ درجه سانتی گراد، در پتری دیش محتوی یک سی سی محیط کشت قرار داده شد و پس از خراش توسط تیغ در اپیدیدیم، اسپرم ها در سرم آزاد شده و پارامترهای اسپرمی بر اساس معیارهای سازمان بهداشت جهانی با میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفتند. ابتدا بر روی لام هموسیتومتر نئوبار ۱۰ میکرولیتر از محیط حاوی اسپرم گذاشته و در ۵ شان میکروسکوپی اسپرم ها شمارش شدند. پس از به دست آوردن میانگین اسپرم های شمارش شده تعداد اسپرم ها محاسبه گردید(هر نمونه دو بار شمارش گردید). برای *بررسی درصد تحرک اسپرم ها تعداد ۱۰۰ اسپرم بر اساس نحوه حرکت اسپرم ها شامل:* حرکات رو به جلو یا حرکات پیشرونده، حرکات آهسته درجا یا حرکات غیر پیشرونده و ساکن شمارش شد و درصد تحرک اسپرم محاسبه گردید(۱۳). جهت بررسی حیات اسپرم ها از رنگ آمیزی ائوزین-نیگروزین مطابق روش سازمان بهداشت جهانی استفاده گردید. به این صورت که مقدار ۱۰ میکرولیتر از محیط حاوی اسپرم را روی لام تمیزی گذاشته، سپس ۱۰ میکرولیتر از محلول رنگی ائوزین-نیگروزین را به آن اضافه کردیم. سپس گسترش های نازکی از مخلوط تهیه و پس از خشک شدن در دمای آزمایشگاه، توسط میکروسکوپ نوری بررسی گردید. سر اسپرم های زنده بی رنگ و اسپرم های مرده رنگی شدند(۱۳). هم چنین بافت بیضه که پس از خارج شدن از بدن حیوان در فرمالین ۱۰ درصد تثبیت شده بود، با استفاده از پارافین، از آن قالب هایی تهیه شد و پس از تهیه مقاطع بافتی به ضخامت ۵µm با میکروتوم، با رنگ هماتوکسیلین-ائوزین رنگ آمیزی شد و مراحل اسپرم زایی توسط میکروسکوپ نوری بررسی گردید(۱۴).

آنالیز آماری: داده های جمع آوری شده توسط نرم افزار prism نسخه ۵ و آزمون آنالیز واریانس یک طرفه One way ANOVA و post hoc Tukey و سطح معنی دار در $P<0.05$ تجزیه و تحلیل آماری شدند.

یافته های پژوهش

تعداد اسپرم در گروهی که به مدت دو ماه سم دیازینون دریافت کرد در مقایسه با گروه شم به طور قابل توجهی کاهش نشان داد($P<0.001$) در صورتی که تعداد اسپرم در گروه دریافت کننده سم دیازینون و عصاره کرفس با غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم نسبت به گروه دیازینون افزایش معنی داری را نشان نداد. این در حالی است که در گروه دریافت کننده سم دیازینون و عصاره کرفس با غلظت ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم در مقایسه با گروه سم دیازینون تعداد اسپرم افزایش معنی داری نشان داد($P<0.001$). گروه دریافت کننده سم دیازینون به مدت دو ماه، کاهش معنی داری در تحرک اسپرم در مقایسه با گروه شم

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-04-24]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.5.61]

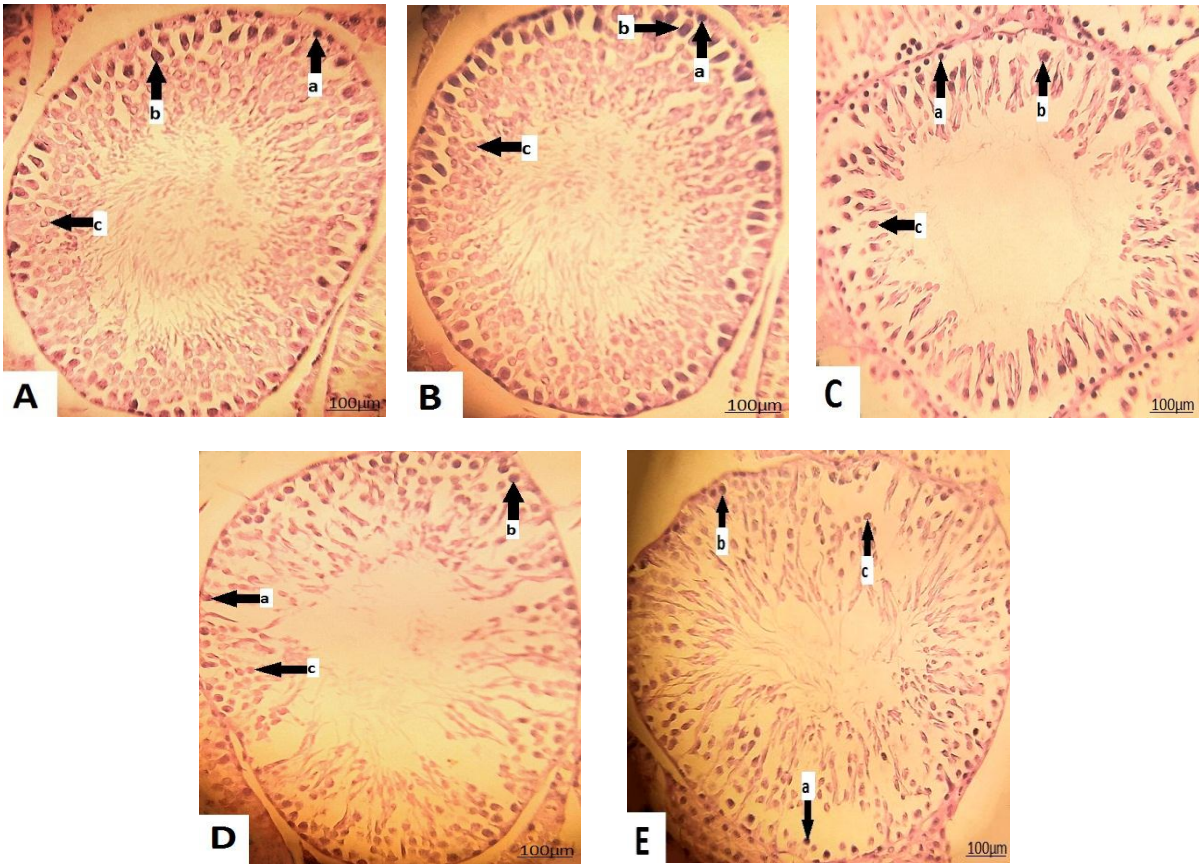
نشان داد($P<0.001$) و هم چنین تحرک اسپرم ها در گروه دریافت کننده سم دیازینون و عصاره کرفس با غلظت ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم نسبت به گروه دیازینون افزایش معنی دار نشان نداد. در صورتی که در گروه دریافت کننده سم دیازینون و عصاره کرفس با غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم در مقایسه با گروه دیازینون افزایش معنی داری در تحرک اسپرم ها مشاهده گردید($P<0.001$)(جدول شماره ۱).

بررسی تصاویر میکروسکوپی از رنگ آمیزی ائوزین-نیگروزین تغییری در حیات اسپرم ها در گروه شم با دیازینون و هم چنین درگروه های دریافت کننده سم دیازینون و عصاره کرفس در دو غلظت ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم نشان نداد.

نتایج بافت شناسی در گروه کنترل و شم ساختمان نرمال بافت بیضه را نشان می دهد به طوری که لوله های منی ساز و سلول های جنسی شامل اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت اولیه، اسپرماتید که به طور منظم در لوله های منی ساز قرار گرفته اند و تاژک سلول های اسپرم در فضای لومن لوله ها مشاهده می شوند. در گروه دریافت کننده سم دیازینون تغییری در ساختمان لوله های منی ساز مشاهده نشد اما تعداد سلول های اسپرماتوسیت اولیه و اسپرماتید کاهش معنی داری در مقایسه با گروه شم نشان داد($P<0.05$). هم چنین تعداد اسپرم در فضای لومن لوله های منی ساز کاهش قابل توجهی در مقایسه با گروه شم نشان داد. بنا بر این نتایج نشان می دهد که سم دیازینون با غلظت ۱۶ میلی گرم بر کیلوگرم با اثر بر روند اسپرم زایی و کاهش تعداد سلول های اسپرماتوسیت اولیه سبب کاهش تولید اسپرماتید و اسپرم در لوله های منی ساز می شود. از طرف دیگر تعداد سلول اسپرماتوگونی در گروه دریافت کننده سم دیازینون و عصاره کرفس با غلظت ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم نسبت به گروه دیازینون افزایش قابل توجهی نشان نداد. گروه دریافت کننده سم دیازینون و عصاره کرفس با غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم افزایش معنی داری در مقایسه با گروه دیازینون در تعداد سلول اسپرماتوسیت اولیه نشان نداد. اما تعداد سلول اسپرماتوسیت اولیه در گروه دریافت کننده سم دیازینون و عصاره کرفس با غلظت ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم نسبت به گروه دیازینون افزایش معنی دار داشت($P<0.05$). در گروه دریافت کننده سم دیازینون و عصاره کرفس با غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم افزایش معنی داری در تعداد سلول اسپرماتید نسبت به گروه دیازینون مشاهده نشد. اما در مقایسه گروه دیازینون با گروه دریافت کننده سم دیازینون و عصاره کرفس با غلظت ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم افزایش تعداد سلول اسپرماتید مشاهده گردید($P<0.05$)(جدول شماره ۲)(شکل شماره ۱). بنا بر این عصاره کرفس در غلظت ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم با اثر بر بهبود روند اسپرم زایی سبب افزایش اسپرم گردید.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-04-24]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.5.61]



شکل شماره ۱. تصاویر میکروسکوپی بافت بیـــضه در حضـــور دیازینون و عصاره کرفس با غلظت های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم(٤٠×). 100 µm, Scale bar A. گروه کنترل، B گروه شم، C گروه دیازینون(١٦ mg/kg)، D گروه دیازینون+عصاره کرفس(۱۰۰ mg/kg)، E گروه دیازینون+عصاره کرفس(۲۰۰ mg/kg).
a: اسپرماتوگونی b: اسپرماتوسیت اولیه c: اسپرماتید

جدول شماره ۱. اثر دوزهای ۱۰۰و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره هیدرو الکلی کرفس بر تعداد و تحرک اسپرم در سمیت تحت مزمن دیازینون

گروه/ تعداد سلول	تعداد اسپرم(۱۰۶ ×)	تحرک اسپرم
کنترل	۱۰۵/۲۵±۲۱/۰۷	۴۵/۶۸±۰/۹۶
شم (روغن ذرت+سالین)	۱۴۷/۱۲±۲۹/۴۵	۳۹/۸۵±۵/۴۹
دیازینون(۱۶ mg/kg)	۴۶/۶۶±۸/۷۱***	۵/۱±۱/۲۵***
دیازینون(۱۶ mg/kg)+عصاره کرفس(۱۰۰ mg/kg)	۶۰/۳۵±۲۴/۱۹	۳۳/۳۳±۰/۰۰+++
دیازینون(۱۶ mg/kg)+عصاره کرفس(۲۰۰ mg/kg)	۱۰۲/۱۲±۱۴/۹۲+++	۱۱/۴۱±۱/۶۴

نتایج به صورت Mean±SD برای ۶ سر موش در هر گروه بیان شده است. *** و +++ برابر با $P<0.001$ به ترتیب در مقایسه با شم و دیازینون می باشد.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-04-24]
[DOI: 10.29252/sjimu.26.5.61]

جدول شماره ۲. اثر دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره هیدرو الکلی کرفس بر سلول های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت اولیه، اسپرماتید در سمیت تحت مزمن با دیازینون

گروه/ تعداد سلول	تعداد اسپرماتوگونی	تعداد اسپرماتوسیت اولیه	تعداد اسپرماتید
کنترل	۳۷/۷۱±۷/۶۶	۵۳/۲۵±۱۲/۳۶	۱۵۲/۰۸±۳۴/۹۳
شم(روغن ذرت+سالین)	۴۳/۲۳±۸/۶۷	۶۳/۱۸±۱۰/۶۷	۱۷۱/۶۸±۲۹/۲۱
دیازینون(۱۶ mg/kg)	۳۶/۷۵ ±۵/۲۴	۴۲/۲۰±۷/۷۱*	۱۴۰/۸۸±۲۵/۳۳*
دیازینون(۱۶ mg/kg)+عصاره کرفس(۱۰۰ mg/kg)	۳۸/۲۶±۶/۶۲	۵۷/۵۹±۸/۵۴	۱۴۴/۴۷±۳۱/۹۷
دیازینون(۱۶ mg/kg)+عصاره کرفس(۲۰۰ mg/kg)	۴۲/۰۷±۶/۳۳	۶۳/۲۸±۱۰/۲۳+	۱۶۲/۲۱±۲۳/۸۵+

نتایج به صورت Mean±SD برای ۶ سر موش در هر گروه بیان شده است. * و + برابر با $P<0.05$ به ترتیب در مقایسه با شم و دیازینون می باشد.

بحث ونتیجه گیری

در این مطالعه اثر تجویز عصاره هیدروالکلی گیاه کرفس بر شاخص های باروری موش های صحرایی نر تحت سمیت مزمن با دیازینون مورد بررسی قرار گرفت. آنالیز منی نشان داد که دریافت سم دیازینون با غلظت ۱۶ میلی گرم بر کیلوگرم به مدت دو ماه باعث کاهش قابل توجهی در تعداد اسپرم و تحرک اسپرم گردید. مطالعات نشان داده است که موش هایی که در معرض ۳ میلی گرم بر کیلوگرم سم دیازینون به مدت ۶ هفته قرار گرفتند سم دیازینون سبب افـــزایش تخریب سلول های زایا در لوله های منی ساز گردید به طوری که کیفیت اسپرم نیز در این موش ها کاهش یافت(۱۵). افزایش تخریب سلول های زایا سبب کاهش تعداد اسپرم می گردد. هم چنین مطالعات نشان داده است که حشره کش های ارگانوفسفره ساخت استروئید ها را در سلول های آدرنال مهار می کنند و کاهش سطح سرمی تستوسترون به علت اثرات دیازینون می تواند باعث کاهش در اسپرم زایی و باروری در حیوانات شود(۱۶). در این مطالعه بررسی مایع منی نشان داد که مصرف خوراکی غلظت ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره کرفس باعث افزایش معنی داری در تعداد اسپرم های موش هایی شد که به مدت دو ماه تحت تاثیر سم دیازینون با غلظت ۱۶ میلی گرم بر کیلوگرم قرار داشتند. در صورتی که عصاره در دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم افزایش معنی داری در تعداد اسپرم در سمیت با دیازینون نشان نداد. همسو با مطالعات ما کوتی و همکاران نشان دادند که تجـــویز عصـاره هیدروالکلی کرفس در دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم تعداد اسپرم را در موش های نر افزایش داده است(۱). هم چنین کریشچی و همکاران نشان دادند که تعداد اسپرم در گروه دریافت کننده دوز ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره هیدروالکلی دانه کرفس به صورت داخل صفاقی در موش های نر، افزایش یافت(۱۷). به نظر می رسد عصاره کرفس در دوز بالاتر می تواند باعث افزایش تعداد اسپرم شده و سمیت ناشی از دیازینون را کاهش دهد. هم چنین مطالعات بافتی نشان داد که سم دیازینون با غلظت ۱۶ میلی گرم بر کیلوگرم به مدت دو ماه باعث کاهش تعداد سلول اسپرماتوسیت اولیه و اسپرماتید شده است. همسو با یافته های ما نتایج بافتی فتاحی و همکاران نیز نشان داد که تزریق درون صفاقی دیازینون با غلظـــت ۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم باعث کاهش معنی دار در تعداد سلول های اســـپرماتوسیـــت و اســـپرماتید شد(۱۸). هم چنین در مطالعه فتاحی و همکاران نشان داده شد که تجویز دراز مدت سم دیازینون می تواند بر بافت بیضه تاثیر گذاشته و باعث کاهش بیشتر در سلول های زایا شود که این تاثیر می تـــواند ناشـــی از تولید رادیکال های آزاد توسط دیازینون باشد. رادیکال های آزاد با اثر بر روی غشـــای پلاسمایی باعث از هم گسیختگی بافت بیضه می شود. به علاوه سموم ارگانوفسفره در فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی تغییر ایجاد می کنند و به احتمال زیاد می توانند از طریق تولید رادیکال های آزاد و گونه های فعال اکسیژن و پراکسیداسیون لیپیدی سبب آسیب های تولید مثلی شوند(۱۹،۲۰). بنا بر این در بافت بیضه استرس اکسیداتیو با میزان بالایی از سوخت و ساز و تکثیر سلولی، می تواند آسیب رسان باشد(۲۱). هم چنین مطالعات ما نشان داد عصاره کرفس با غلظت ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم تعداد سلول های اسپرماتوسیت اولیه و اسپرماتید که تحت سمیت مزمن دیازینون بودند

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-04-24]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.5.61]

را افزایش داد. به نظر می رسد عصاره کرفس با خاصیت آنتی اکسیدانی در غلظت های بالاتر می تواند اثرات سمیت دیازینون بر بافت بیضه را بهبود بخشد. در توافق با یافته های ما در مطالعه ای که توسط هالا و همکاران روی اثرات حفاظتی روغن های سیاهدانه، دانه کتان و کرفس بر سمیت بیضه ای القا شده توسط سدیم والپروات انجام شده، مشخص شد که گروه دریافت کننده روغن کرفس با غلظت ۲۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم به مدت ۴ هفته، ساختار بافتی لوله های اسپرم ساز را طبیعی نشان داد. اثر حفاظتی روغن کرفس در برابر آسیب بیضه ای ایجاد شده توسط اثرات سمی سدیم والپروات در موش های نر ممکن است به دلیل اثرات آنتی اکسیدانی و یا فعالیت آندروژنی آن باشد. هم چنین فعالیت آنتی اکسیدانی روغن کرفس ممکن است استرس اکسیداتیو در بافت بیضه و اثرات آسیب رسان رادیکال های آزاد بر اسپرم ها را کاهش دهد(۲۲).

تحرک اسپرم ها از ویژگی های اصلی و از فاکتورهای مهم باروری مردان است(۲۳). تاژک بخش حرکتی اسپرم است که برای حرکت اسپرم و نفوذ اسپرم به سمت تخمک برای لقاح ضروری است(۲۴). بررسی پارامترهای اسپرمی ما نشان داد در گروهی که دو ماه سم دیازینون با غلظت ۱۶ میلی گرم بر کیلوگرم دریافت کرده بود، تحرک اسپرم ها به طور قابل توجهی کاهش یافت. مطالعات نیز نشان دادند که دیازینون می تواند باعث کاهش تحرک اسپرم شود(۲۵). در توافق با یافته های ما مطالعه دیگری نشان داد که سم دیازینون در دوزهای ۱ و ۳/۵ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن به مدت ۶۵ روز سبب کاهش تحرک اسپرم گردید(۱۵). به نظر می رسد سم دیازینون ممکن است به واسطه تحریک پراکسیداسیون لیپیدی، تغییر در فعالیت های آنتی اکسیدانی، آسیب DNA و تولید رادیکال های آزاد بر اسپرم اثر می گذارد(۱۷). به طوری که استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپیدی تحرک اسپرم را تحت تاثیر قرار می دهد. مطالعات ارتباط بین تشکیل پراکسید لیپیدی و حرکت اسپرم در انواع گونه های مختلف را نشان داده است(۲۶). از آن جایی که غشای پلاسمایی اسپرم شامل سطح بالایی از اسیدهای چرب غیر اشباع است بنا بر این مستعد پراکسیداسیون لیپیدی است. پراکسیداسیون لیپیدی می تواند منجر به آسیب ساختار ماتریکس لیپید غشای اسپرم شود و به این ترتیب سبب مختل شدن حرکت اسپرم گردد(۲۷). بنا بر این به نظر می رسد دیازینون با تولید رادیکال های آزاد و اثر بر غشای اسپرم می تواند باعث کاهش تحرک آن ها شود. از طرف دیگر این مطالعه نشان داد که عصاره کرفس با افزایش تحرک اسپرم، سمیت دیازینون بر تحرک اسپرم را کاهش می دهد. در توافق با این یافته ها نتایج مطالعه کریشچی و همکاران نیز افزایش تحرک اسپرم ها را در موش های نرمال دریافت کننده دوزهای ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم از عصاره هیدروالکلی دانه کرفس را نشان داد(۱۹) خواص درمانی کرفس اغلب به دلیل روغن های ضروری و فلاونوئید های آن، مانند آپی ژنین است(۲۸). لی و همکاران اثرات آپی ژنین، بر پارامترهای حرکتی اسپرم در موش را نشان داده اند(۲۹). هم چنین بگم و همکاران اثر حفاظتی آپی ژنین بر تغییرات سلولی ناشی از تشعشع را نشان دادند که ممکن است به علت فعالیت آنتی اکسیدانی آپی ژنین باشد(۳۰). بنا بر این به نظر می رسد اثرات حفاظتی عصاره کرفس بر افزایش تحرک اسپرم در سمیت ناشی از دیازینون به واسطه حضور آپی ژنین و ترکیبات فلاونوئیدی آن باشد که می تواند اختلال حرکتی اسپرم را بهبود بخشد. به طور کلی نتایج مطالعه ما نشان داد که مصرف کرفس در موش هایی که تحت سمیت مزمن دیازینون بودند سبب بهبود و حفاظت در برابر آسیب های ناشی از این سم بر تحرک و تعداد اسپرم و هم چنین حفاظت بافت بیضه می گردد. مطالعات آینده نیاز به جداسازی ترکیبات موثره کرفس و بررسی اثرات حفاظتی آن ها بر عملکرد ژن های موثر در اسپرم زایی و تحرک اسپرم می باشد که توسط سم دیازینون دچار آسیب می شوند.

سپاسگزاری

بدین وسیله از همکاری خانم ها زهرا احسانی فرد و نجمه نائیجی در انجام این پژوهش تشکر و سپاسگزاری می نماییم.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-04-24]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.5.61]

References

1.Kooti W, Mansouri E, Ghasemiboroon M, Harizi M, Ashtary-Larky D , Afrisham R. The Effects of hydroalcoholic extract of Apium graveolens leaf on the number of sexual cells and testicular structure in rat. Jundishapur J Nat Pharm Prod 2014;9:1-6.

2.Jalili C, Salahshoor MR, Naseri A. Protective effect of Urtica dioica L against nicotine-induced damage on sperm parameters, testosterone and testis tissue in mice. Iran J Reprod Med 2014;12:401-8.

3.Hafez DA. Effect of extracts of ginger goots and cinnamon bark on fertility of male diabetic Rats. J Am Sci 2010;6:940-7.

4.Salehi M, Jafari M, Asgari AR, SalehMoghaddam M, Salimian M, Abbasnejad M, et al. [Study of diazinon Effect on antioxidant enzymes and lipid peroxidation in Rats brain]. Razi J Med Sci 2010;17:15-23. (Persian)

5.Abshenas J, Babaei H, Zare MH, Allahbakhshi A, Sharififar F. The effects of green tea (Camellia sinensis) extract on mouse semen quality after scrotal heat stress. Vet Res Forum 2012;2:242-7.

6.Bazrafshan E, Balarak D. Diazinon removal from aqueous environments by electrocoagulation process. J Sci eng res 2016;3:320-5.

7.Rahimi A F, Nikravesh M. R, Jalali M, Sadeghnia HR , Sargazi Z. Assessment of erythrocyte and serum cholinesterase activity in male rats treated with diazinon, and protective role of vitamin E. J Sabzevar Univ Med Sci 2014;21:550-8. (Persian)

8.Sargazi Z, Nikravesh MR, Jalali M, Sadeghnia H, Anbarkeh FR Mohammadzadeh L. Gender related differences in sensitivity to diazinon in gonads of adult rats and the protective effect of vitamin E. Int J Womens Health Reprod Sci 2015;3:40-7.

9.Fathiazad F, Khaki A, Nouri M ,Afshin K A. Effect of cinnamon zeylanicum on serum testosterone and anti-oxidants levels in rats. Int J Womens Health Reprod Sci 2013;1:29-35.

10.Alizadeh H, Khaki A, Farzadi L, Nouri M, Ahmadiasrbadr Y, Seyedghiasi G , et al. The therapeutic effects of a medicinal plant mixture in capsule form on catalase levels in the semen of men with oligospermia. Crescent J Med Biol Sci 2015;2:6-9.

11. Tofighi Z, Molazem M, Doostdar B, Taban P, Shahverdi AR, Samadi N, et al. Antimicrobial activities of three medicinal plants and investigation of flavonoids of tripleurospermum disciforme. Iran J Pharm Res 2015;14:225-31

12.Larkiharchegani A, Hemmati AA, Niliahmadabadi A, Darabi B, Shabib S. Cromolyn sodium attenuates paraquat induced lung injury by modulation of proinflammatory cytokines. Drug Res 2017;67:283-8 doi: 10.1055/s-0042-123711

13. World Health Organization. WHO laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction. Cambridge UK Cambridge Uni Publication. 2012; P.1-286.

14.Gunasegaran JP. Text book of histology and practical guide. 1th ed. Elsevier India Priv Lim Publication. 2007; P.1-396.

15.Adamkovicova M, Toman R, Martiniakova M, Omelka R, Babosova R, Krajcovicova V, et al. Sperm motility and morphology changes in rats exposed to cadmium and diazinon. Reprod Biol Endocrinol 2016;14:1-7. doi.org/10.1186/s12958-016-0177-6

16.Betancourt M, Reséndiz A, Fierro EC. Effect of two insecticides and two herbicides on the porcine sperm motility patterns using computer-assisted semen analysis in vitro. Reprod Toxicol 2006;22:508-12. doi: 10.1016/j.reprotox.2006.03.001

17.KerishchiKhiabani P, Nasri S. [The effect of Apium graveolens hydroalcoholic seed extract on sperm parameters and serum testosterone concentration in Mice]. Armaghane danesh 2014;19:592-601. (Persian)

18.Fattahi E, Parivar K, Jorsaraei SGA Moghadamnia AA. The effects of diazinon on testosterone, FSH and LH levels and testicular tissue in Mice. Int J Reprod Biomed 2009;7:59-64

19.Sarkar R, Mohanakumar KP, Chowdhury M. Effects of an organophosphate pesticide quinalphos on the hypothalamo pituitary gonadal axis in adult male Rats. J Reprod Fertil 2000;118:29-38.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-04-24]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.5.61]

20.Fattahi E, Jorsaraei SGA, Parivar K, Moghaddamnia AA. [The effects of a single dosage of Diazinon and Hinosan on the structure of testis tissue and sexual hormones in Mice]. Yakhteh 2010;12:405-10. (Persian)
21.Elshaari FA, Fatum AE, Sheriff DS. Spermatozoa an unique representation of oxygen-antioxidant paradox. Acta Med Med 2010;49:48-53.
22.Hala MA. Protective effect of Nigella sativa linseed and celery oils against testicular toxicity induced by sodium valproate in male rats. J Am Sci 2011;7:687-93.
23.Holdcraft RW, Braun RE. Hormonal regulation of spermatogenesis. Int J Androl 2004;27:335-42. doi: 10.1111/j.1365-2605.2004.00502.x
24.Inaba K. Molecular architecture of the sperm flagella molecules for motility and signaling. Zoolog Sci 2003;20:1043-56. doi: 10.2108/zsj.20.1043
25.PinaGuzman B, SolisHeredia MJ, QuintanillaVega B. Diazinon alters sperm chromatin structure in Mice by phosphorylating nuclear protamines. Toxicol Appl Pharmacol 2005;202:189-98. doi:10.1016/j.taap.2004.06.028
26.Aitken RJ, Smith TB, Jobling MS, Baker MA , De Iuliis GN. Oxidative stress and male reproductive health. Asian J Androl 2014;16:31-8. doi:10.4103/1008-682X.122203
27.Mansour SW, Sangi S, Harsha S, Khaleel MA, Ibrahim ARN. Sensibility of male rats fertility against olive oil, Nigella sativa oil and pomegranate extract. Asian Pac J Trop Biomed 2013;3:563-8. doi: 10.1016/S2221-1691(13)60114-8
28.Popovic M, Kaurinovic B, Trivic S, Mimicadukic N, Bursac M. Effect of celery Apiumgraveolens extracts on some biochemical parameters of oxidative stress in Mice treated with carbon tetrachloride. Phytother Res 2006;20:531-7. doi.org/10.1002/ptr.1871
29.Li H, Li HB, Zhang M, Yan F, Zhang ZX , Li ZL. Effect of apigenin on the reproductive system in male Mice. Health 2010;2:435-40.
doi:10.4236/health.2010.25065
30. Begum N, Prasad NR. Apigenin, a dietary antioxidant, modulates gamma radiation induced oxidative damages in human peripheral blood lymphocytes. Biomed Prev Nutr 2012;2:16-24. doi.org/10.1016/j.bionut.2011.11.003

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-04-24]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.5.61]

Effect of Hydroalcoholic Extract of Apium graveolens on Semen Quality and Spermatogenesis in Subchronic Toxicity by Diazinon in Rats

Ghasemi R[1], Mir Mohammadrezaei F[2], Nasri S[1], Nili Ahmadabadi A[3]*

(Received: April 5, 2017 Accepted: October 18, 2017)

Abstract

Introduction: Infertility is one of the most important health problems in developing countries. Long-term exposure to organophosphate insecticides can affect semen quality. This study aimed to investigate the effects of hydroalcoholic extract of Apium graveolens on semen quality and spermatogenesis in subchronic exposure to diazinon in rats.

Materials & Methods: This study was conducted on 30 male Wistar rats. The rats were divided into five groups. The rats in group1 (control) did not receive any treatment, those group 2 (sham) were given corn oil and saline (500 µL). Group 3 consisted of rats received diazinon (16 mg/kg body weight). Rats in group 4 and 5 were treated with 100 and 200 mg/kg of hydroalcoholic extract of Apium graveolens and Diazinon, respectively. The number, motility, and viability of sperms were determined after two months, and tissue sections were stained by hematoxylin-eosin after the fixation of testis.

Findings: The findings of this study showed that the number and motility of sperms significantly decreased in diazinon group, compared to sham group (P<0.001). The number of sperm remarkably increased in the group that received diazinon and high dose of Apium graveolens extract in comparison with diazinon group (P<0.001). The number of primary spermatocytes and spermatids increased in dose of 200 mg/kg of Apium graveolens extract (P<0.05). In addition, low-dose Apium graveolens extract (100 mg/kg) could significantly increase the sperms motility, compared to diazinon group (P<0.001).

Discussion & Conclusions: It seems Apium graveolens extract can improve sperm quality, as well as spermatogenesis against diazinon toxicity.

Keywords: Diazinon, Apium graveolen extract, Sperm, Rat

1. Dept of Biology, Payame Noor University, Tehran, Iran
2. Dept of Biology, Faculty of Science, University of Mazandaran, Babolsar, Iran
3. Dept of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Pharmacy, Hamadan University of Medical Science, Hamedan, Iran
** Correspondin author Email: fereshteh.mmrezaei@gmail.com*

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-04-24]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.5.61]