Archive of SID

Original Article

Antioxidant Effect of Satureja khuzistanica on Fertility and In Vitro Fertilization Embryos Development in Adult Male Mice Treated with Nonylphenol

***Abbas Ahmadi*[1*], *Parisa Rahimi*[1]**

[1]*Department of Basic Sciences, School of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran.*

[*]***Corresponding Author:*** **Abbas Ahmadi;** Department of Basic Sciences, School of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran.

Email: a.ahmady@urmia.ac

Received: 22 Oct, 2018
Accepted: 17 Dec, 2018

Abstract

Background and Objectives: Nonylphenol (NP), is a type of environmental chemicals, which is thought to act as androgenic hormones, inhibit the actions of hormones, and induce reproductive abnormalities and oxidative stress. In this study, the protective effect of *Satureja khuzistanica* (SJKH) on *in vitro* fertilization of adult male mice treated with nonyl phenol (NP), was investigated.

Methods: In this experimental study, 24 adult male mice (8 weeks of age), were randomly divided into three groups (n=8), including control group receiving corn oil, group receiving NP (250mg/kg bw), and group receiving NP+SJKH essential oil group (250 and 225mg/kg bw, respectively) orally by gavage for 35 consecutive days. At the end of the treatment period, animals were sacrificed and sperm sample was taken from caudal epididymis. For each male mouse, 3 female mice were considered. Then, ovulation was induced by PMSG and hCG to collect oocyte. *In vitro* fertilization was performed in the culture medium (HTF+4mg/ml BSA), the fertilized oocytes were incubated for 120 hours and embryo development stages were studied.

Results: The results of *in vitro* fertilization rate of sperms indicated decreased fertilization rate, percentage of 2-cell embryos, and quality of blastocyst and embryo in NP group compared to the control and experimental groups and also a significant increase in these parameters in the experimental group compared to the NP group.

Conclusion: The result of this study revealed that SJKH as an antioxidant can decrease the toxic effects of NP on the fertility rate of adult male mice.

Keywords: Nonylphenol; Spermatozoa; *In vitro* fertilization

DOI: 10.29252/qums.13.1.21

www.SID.ir

International License Creative Commons Attribution License 4.0

مجله دانشگاه علوم پزشکی قم
دوره سیزدهم، شماره اول، فروردین ۹۸
صفحه ۲۱ الی ۲۹
Archive of SID

مقاله پژوهشی
(Original Article)

تأثیر آنتی‌اکسیدانتی مرزه خوزستانی بر باروری و رشد جنین‌های حاصل از لقاح داخل آزمایشگاهی موش‌های سوری نر بالغ تحت درمان با نانیل‌فنل

عباس احمدی[1*]، پریسا رحیمی[1]

[1]گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

*نویسنده مسئول مکاتبات:
عباس احمدی؛ گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

آدرس پست الکترونیکی:
a.ahmady@urmia.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۷/۷/۲۲
تاریخ پذیرش: ۹۷/۹/۲۶

چکیده

زمینه و هدف: نونیل‌فنل نوعی از مواد شیمیایی محیطی است که مانند هورمون آندروژن عمل کرده و مانع از فعالیت هورمون‌ها، سبب ایجاد اختلالات سیستم تولیدمثلی و القای استرس اکسیداتیو می‌شود. در این مطالعه اثر محافظتی مرزه خوزستانی بر روی لقاح داخل آزمایشگاهی موش سوری نر بالغ تیمارشده با نونیل‌فنل بررسی گردید.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، تعداد ۲۴ عدد موش سوری نر بالغ ۸ هفته‌ای، به‌طور تصادفی انتخاب و به سه گروه کنترل (دریافت‌کننده روغن ذرت)، گروه دریافت‌کننده نونیل‌فنل (دوز ۲۵۰ میلی‌گرم به‌ازای هرکیلوگرم وزن بدن) و گروه دریافت‌کننده نونیل‌فنل (دوز ۲۵۰ میلی‌گرم به‌ازای هرکیلوگرم وزن بدن) + اسانس مرزه خوزستانی (دوز ۲۲۵ میلی‌گرم به‌ازای هرکیلوگرم وزن بدن) تقسیم شدند (هرگروه ۸ قطعه)، سپس به‌مدت ۳۵ روز تیمار دهانی با گاواژ صورت گرفت. پس از اتمام دوره تیمار، حیوانات آسان‌کشی و نمونه اسپرم از دم اپیدیدیم گرفته شد. به‌ازای هر موش نر، ۳ موش ماده در نظر گرفته شد. سپس به‌وسیله PMSG و HCG، تحریک تخمک‌گذاری جهت گرفتن تخمک صورت گرفت. با انجام لقاح در محیط کشت (۴ میلی‌گرم BSA به‌اضافه HTF)، تخمک‌های لقاح‌یافته به مدت ۱۲۰ ساعت انکوبه شدند و مراحل رشد جنینی در این مدت بررسی گردید.

یافته‌ها: نتایج بررسی درصد لقاح داخل آزمایشگاهی اسپرم‌ها، نشان از کاهش درصد لقاح، جنین‌های دوسلولی، کیفیت جنین و بلاستوسیست در گروه نونیل‌فنل نسبت به گروه‌های کنترل و تجربی، همچنین افزایش معنی‌دار این پارامترها در گروه تجربی نسبت به نونیل‌فنل داشت.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد *ساتوره جاخوزستانیکا* به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدانت می‌تواند باعث کاهش اثرات سمی نونیل‌فنل بر روی میزان باروری موش‌های نر بالغ شود.

کلیدواژه‌ها: نونیل‌فنل، اسپرماتوزوئیدها، بارورسازی آزمایشگاهی.

لطفاً به این مقاله به‌صورت زیر استناد نمایید:

Ahmadi A, Rahimi P. Antioxidant effect of *Satureja khuzistanica* on fertility and in vitro fertilization Embryos development in adult male mice treated with nonylphenol. Qom Univ Med Sci J 2019;13(1):21-29. [Full Text in Persian]

www.SID.ir

International License Creative Commons Attribution License 4.0

Archive of SID

مقدمه

امروزه در جوامع مختلف، نگرانی درباره پیامدهای اثرات سوء داروها و مواد سمی مختلف بر سیستم تولیدمثلی، سلول‌های جنسی، توان باروری، همچنین رشد و تکامل جنین، رو به افزایش است. عوامل محیطی آسیب‌رسان به دستگاه تولیدمثل، یکی از دلایل افزایش شیوع و کاهش باروری در سال‌های اخیر می‌باشد. تولید سلول‌های جنسی که از نظر عملکردی و کیفیت آسیب دیده‌اند می‌تواند منجر به بروز ناهنجاری‌های مادرزادی، مرگ جنین و یا زمینه‌ای برای بروز سرطان شود (۱) .در میان این عوامل، نگرانی بیشتر متوجه ترکیبات شیمیایی مانند نانیل‌فنل (مختل‌کننده سیستم اندوکرینی EDCs) می‌باشد (۲).

NP (Para-Nonylphenol) محصول نهایی حاصل تجزیه APEs (Alkylphenols Polyethoxylathes) بوده (۳)، که به‌صورت گسترده در شوینده‌ها، رنگ‌ها، رزین‌های فنلی (Phenolic Resin) و حشره‌کش‌ها استفاده می‌شود. سطوح NP (از ۲۱۱-۱/۸۲ نانوگرم برگرم در پلاسما) می‌تواند اختلالات اندوکرینولوژی، ایمنی و تولیدمثلی ایجاد کند (۵،۴). علاوه‌براین، NP باعث ایجاد استرس اکسیداتیو می‌شود. در استرس اکسیداتیو، متابولیت‌های واکنش‌پذیر اکسیژن

(Reactive Oxygen Stress, ROS)

افزایش می‌یابد. تحقیقات بسیاری نشان داده‌اند ROS احتمالاً با پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع (دارای چند پیوند دوگانه در ناحیه سر و قطعه میانی اسپرم) و در پی آن تغییر شکل اسپرم، کاهش تحرک اسپرم و عدم ادغام موفقیت‌آمیز اسپرماتوزوآ-اووسیت؛ در نقص عملکردی اسپرم نقش اساسی ایفا می‌کند (۶). همچنین سلول‌ها قادرند از طریق مکانیسم‌های آنتی‌اکسیدانی خود (شامل آنزیم‌ها، ویتامین‌ها و برخی ازمولکول‌های آنتی‌اکسیدان) یک تعادل بین تولید و تخریب ROS ایجاد کنند و بدین طریق از آسیب‌های اکسیداتیو در امان باشند. اما گاهی این تعادل به‌هم خورده و ROSها بیش ازحد تولید شده که منجر به آسیب اکسیداتیو بافت‌ها می‌شود (۷). یکی از مهم‌ترین منابع آنتی‌اکسیدانتی طبیعی، ترکیبات فنلی موجود در گیاهان است. *ساتوره جاخوزستانیکا* (مرزه خوزستانی)، یک گیاه بومی از خانواده لامیسه بوده که به فراوانی در مناطق جنوبی ایران رشد و گسترش یافته و به‌علت کاربردهای درمانی آن در پزشکی سنتی و بومی به‌عنوان یک ماده ضدعفونی‌کننده و نیز ضد درد شناخته شده است (۸). در سال‌های اخیر، وجود ترکیبات مختلف در اسانس روغنی *ساتوره جاخوزستانیکا* شامل: کاواکرول، پی‌سایمین و فلاونوئیدها مورد شناسایی قرار گرفت (۱۰،۹). تجویز خوراکی اسانس روغنی *ساتوره جاخوزستانیکا* در رت‌ها باعث بروز اثرات عمده و مشخص آنتی‌اکسیدانتی، ضد دیابتی، ضد افزایش چربی خون، همچنین اثرات محرک و تقویت‌کننده سیستم تولیدمثلی می‌شود. علاوه بر این، در رت‌های ماده‌ای که *ساتوره جاخوزستانیکا* را دریافت می‌کنند پس از طی دوران آبستنی، در تعداد مناطق لانه‌گزینی جنینی، همچنین تعداد جنین‌های متولدشده، افزایش معنی‌داری قابل‌مشاهده است (۱۱). مطالعات نشان داده‌اند تجویز *ساتوره جاخوزستانیکا* باعث بهبود بیماری التهابی روده‌ها (IBD) از طریق کاهش بیومارکرهای استرس اکسیداتیو در موش‌های آزمایشگاهی می‌شود (۱۲). در توضیح اثرات محرک و تقویتی *ساتوره جاخوزستانیکا* بر باروری، نتایج یک مطالعه نشان داد تجویز روزانه ۲۲۵ میلی‌گرم به‌ازای هرکیلوگرم وزن بدن در رت‌های نر به مدت ۴۵ روز، سطح هورمون‌های جنسی FSH و تستوسترون را افزایش داده و سبب افزایش وزن بیضه‌ها، اپیدیدیم و غدد ضمیمه جنسی می‌گردد. در این مطالعه اثر محافظتی مرزه خوزستانی به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدانت قوی، همچنین تقویت‌کننده توان باروری، بر روی لقاح داخل آزمایشگاهی موش سوری نر بالغ تیمارشده با نونیل‌فنل بررسی گردید.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی، از ۲۴ قطعه موش سوری نر نژاد NMRI بالغ ۸-۶ هفته‌ای (با وزن ۲۵-۲۰ گرمی) که باروری آنها قبلاً توسط موش‌های ماده مورد ارزیابی قرار گرفته بود، استفاده گردید. ابتدا حیوانات به مدت ۲ هفته جهت تنظیم سیکل نوری و عادت کردن با شرایط محیطی، در شرایط استاندارد (با دمای ۲C±۲۲، رطوبت ۶۰-۳۰٪ و با سیکل نوری ۱۴ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت تاریکی) نگهداری شدند و به‌صورت آزاد به آب و غذا دسترسی داشتند.۳

www.SID.ir
International License Creative Commons Attribution License 4.0

Archive of SID

در این مطالعه موش‌ها به‌طور تصادفی به سه گروه هشت تایی به شرح زیر تقسیم شدند:

۱- گروه کنترل، که روزانه تنها روغن ذرت را به میزان ۰/۳دریافت کردند. ۲- گروه نونیل‌فنل، که نونیل‌فنل را به روش Oral با استفاده از سوند گاواژ با دوز ۱۵ میلی‌گرم برکیلوگرم به‌طور روزانه تا ۳۵ روز دریافت کردند. ۳- گروه تجربی اول که علاوه بر دریافت NP، مرزه خوزستانی را به میزان ۲۲۵ میلی‌گرم برکیلوگرم به‌طور روزانه و به روش Oral دریافت کردند.

پس از طی مدت زمان ۳۵ روز، موش‌ها جهت انجام لقاح آزمایشگاهی و کارهای بافتی آماده شدند. به‌منظور انجام لقاح آزمایشگاهی به‌ازای هر موش نر، سه موش ماده در نظر گرفته شد. تحریک تخمک‌گذاری موش‌های ماده با استفاده از تزریق ۱۰ واحد هورمون PMSG (ساخت شرکت Folligon، هلند) و ۴۸-۴۶ ساعت بعد، تزریق ۱۰ واحد هورمون HCG (ساخت شرکت Folligon، هلند) به حجم ۰/۱ میلی‌لیتر به روش داخل صفاقی صورت گرفت. روز پیش از لقاح، محیط کشت‌های لازم برای انجام عمل لقاح آماده شد و جهت به تعادل رسیدن به مدت ۱۲ ساعت در انکوباتور با ترکیب گازی دی‌اکسیدکربن ۵٪ و دمای ۳۷ درجه سانتیگراد قرار گرفتند. هر دیش لقاح حاوی محیط کشت HTF {ترکیب‌شده با ۴ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر BSA (sigma)} قطره‌گذاری و روی سطح قطره‌ها با روغن معدنی (Mineral oil, sigma) پوشانده شد. در ادامه، بین ۱۲-۱۰ ساعت پس ازتزریق HCG (صبح روز بعد) موش ماده آسان‌کشی شد و لوله‌های رحمی جدا و در داخل محیط کشت ۳۷ درجه که از قبل به تعادل رسیده بود، قرار گرفتند، سپس با استفاده از تکنیک Dissecting، تخمک‌ها خارج و بعد از شست‌وشو، به قطرات محیط کشت لقاح انتقال یافتند. پس از انجام این‌کار، موش‌های نر آسان‌کشی شدند و متعاقب جدا کردن دم اپیدیدیم از بافت‌های اطراف، بلافاصله درون پتری‌دیش‌های حاوی ۱ میلی‌لیتر محیط کشتHTF که قبلاً در شرایط دی‌اکسیدکربن ۵٪ و ۳۷ درجه سانتیگراد به تعادل رسیده بودند قرار گرفتند. در نهایت، سوسپانسیون حاوی اسپرم با استفاده از محیط کشت به نسبت ۱ به ۲۰ رقیق گردید. اسپرم‌های متحرک به توانایی‌رسیده، به تعداد یک‌میلیون به‌ازای هر میلی‌لیتر محیط کشت، اضافه و عمل لقاح حدود ۶-۵ ساعت بعد از افزودن اسپرم، با مشاهده دو پیش‌هسته مشخص گردید و بدین ترتیب تخمک‌های بارورشده (زیگوت) به دست آمد، سپس بعد از شست‌وشو در داخل قطرات محیط کشت لقاح ۱۲۰ ساعت، کشت داده شدند. در مرحله بعد، طی ۱۲۰ ساعت روند رشد جنینی از نظر ریت کیواژ با استفاده از بررسی درصد جنین‌های دو سلولی، درصد بلاستوسیست، کیفیت جنین‌ها و میزان توقف، همچنین لیز و فرگمانتاسیون جنین‌های مورد مطالعه، بررسی گردید. برای مطالعه میزان لیز و فراگمانتاسیون، جنین‌ها تیپ‌بندی شدند.

انواع تیپ‌های جنین‌های متوقف‌شده براساس معیارهای مختلفی نظیر لیزشدن جنین‌ها و نکروتیک بودن آنها به شرح ذیل بود:

تیپ I: جنین‌های با لیز، فراگمانته شدن و نکروتیک بودن کامل؛

تیپ II: جنین‌های با لیز و فراگمانته شدن در تعدادی از بلاستومرها؛

تیپ III: جنین‌های با تعداد کمی بلاستومرهای لیز، فراگمانته و وزیکول سیتوپلاسمیک.

برای ارزیابی مراحل رشد جنینی، ۲۴ ساعت پس از کشت، تعداد جنین‌های دو سلولی و ۱۲۰ ساعت بعد از کشت، تعداد بلاستوسیست‌های ایجادشده و میزان جنین‌های متوقف‌شده در هرگروه با میکروسکوپ معکوس مورد بررسی قرار گرفت. همچنین تمایز جنین‌ها به‌وسیله ارزیابی بلاستوسیست‌ها ارزیابی شد. در ادامه، جنین‌های رشدیافته از نظر شکل درجه‌بندی (Scoring) شدند و قدرت زیست‌پذیری جنین‌ها و سرعت رشد آنها مورد مطالعه قرار گرفت. همچنین بررسی کیفیت روند رشد جنینی، ریت کلیواژ و بلاستوسیست‌های به‌دست‌آمده انجام شد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار Minitab و روش آماری پروپیورشن - ۲ (مقایسه نسبت‌ها) تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

براساس نتایج حاصل از بررسی درصد لقاح داخل آزمایشگاهی اسپرم‌ها، تجویز نونیل‌فنل باعث کاهش معنی‌دار درصد لقاح از ۹۲/۴۷٪ در گروه کنترل به ۶۰/۶۵٪ در گروه نونیل‌فنل شد که نشان از کاهش قدرت باروری اسپرم‌ها با نونیل‌فنل داشت.

www.SID.ir

International License Creative Commons Attribution License 4.0

Archive of SID

با تجویز توأم عصاره مرزه به همراه نونیل‌فنل، عصاره مرزه موجب بهبود آسیب‌های ایجادشده توسط نونیل‌فنل بر توان باروری شد که افزایش معنی‌دار درصد لقاح در مقایسه با گروه نونیل‌فنل به ۸۸/۰۴٪ را در این گروه در پی داشت (p<۰/۰۵).

مقایسه درصد جنین‌های دوسلولی ایجادشده که نشان‌دهنده شروع شکافتگی است، مشخص کرد تجویزنونیل‌فنل باعث کاهش درصد این جنین‌ها از ۸۲/۵۵٪ در گروه کنترل به ۷۰/۲۷٪ در گروه نونیل‌فنل شده است که این کاهش معنی‌دار نبود (p>۰/۰۵). همچنین تجویز عصاره مرزه به همراه نونیل‌فنل در گروه درمانی باعث افزایش درصد جنین‌های دو سلولی نسبت به گروه نونیل‌فنل به میزان ۷۷/۷۷٪ شد که این افزایش معنی‌دار نبود (p>۰/۰۵).

بررسی درصد جنین‌هایی که پس از ۱۲۰ ساعت به مرحله بلاستوسیست رسیده بودند، مشخص کرد نونیل‌فنل باعث کاهش این پارامتر از۶۸/۶۰٪ در گروه کنترل به ۲۷/۰۲٪ در گروه نونیل‌فنل شده است؛ درحالی‌که در گروه درمانی با عصاره مرزه، افزایش درصد بلاستوسیست‌ها به میزان ۳۵/۸۰ مشاهده گردید که این افزایش نسبت به گروه نونیل‌فنل معنی‌دار نبود (p>۰/۰۵)، ولی این افزایش نسبت به گروه کنترل معنی‌دار بود (p<۰/۰۵).

افزایش تعداد کل جنین‌های متوقف‌شده در گروه نونیل‌فنل (۷۲/۹۷٪) در مقایسه با گروه کنترل (۳۱/۳۹٪) مشاهده شد که این افزایش معنی‌دار بود (p<۰/۰۵). اما این افزایش در گروه نونیل‌فنل نسبت به گروه درمانی با عصاره مرزه، معنی‌دار نبود (p>۰/۰۵).

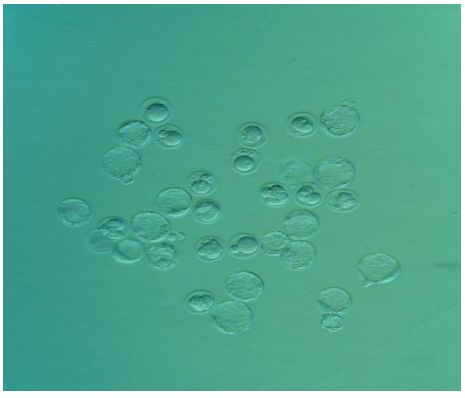
درصد جنین‌های متوقف‌شده تیپ I، افزایش معنی‌داری در گروه نونیل‌فنل (۴۸/۶۴٪) نسبت به گروه‌های کنترل (۱/۱۶٪)، نونیل‌فنل + عصاره مرزه (۲/۴۶٪) نشان داد (p<۰/۰ ۵).

همچنین درصد جنین‌های متوقف‌شده تیپ II در گروه نونیل‌فنل، افزایش معنی‌داری با گروه کنترل و درمانی نداشت (p>۰/۰۵)، اما درصد جنین‌های متوقف‌شده تیپ III در گروه نونیل‌فنل، افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل و درمانی نشان داد (p<۰/۰۵) (جدول).

جدول: درصد باروری، جنین‌های دو سلولی، بلاستوسیست‌ها، درصد جنین‌های متوقف‌شده و نوع آن‌ها، متعاقب استفاده از اسپرم‌های حاصل از گروه‌های کنترل، نونیل‌فنل، گروه‌های درمانی و دریافت‌کننده مرزه خوزستانی

گروه‌ها	متغیر	تعداد اووسیت (NO)	میزان‌لقاح (درصد)	رویان‌های دوسلولی (درصد)	بلاستوسیت (درصد)	کل جنین‌های متوقف‌شده (درصد)	جنین‌های متوقف‌شده نوع I (درصد)	جنین‌های متوقف‌شده نوع II (درصد)	جنین‌های متوقف‌شده نوع III (درصد)
کنترل		۹۳	۹۲/۴۷	۸۲/۵۵	۶۸/۶۰	۳۱/۳۹	۱/۱۶	۵/۸۱	۲۴/۴۱
نونیل‌فنل		۱۲۲	[a]۶۰/۶۵	۷۰/۲۷	[a]۲۷/۰۲	[a]۷۲/۹۲	[a]۴۸/۶۴	۱۳/۵۱	[a]۱۰/۸۱
نونیل‌فنل+عصاره مرزه		۹۲	[b]۸۸/۰۴	۷۷/۷۷	[a]۳۵/۸۰	[a]۶۴/۱۹	[b]۲/۴۶	۶/۱۷	[ab]۵۵/۵۵

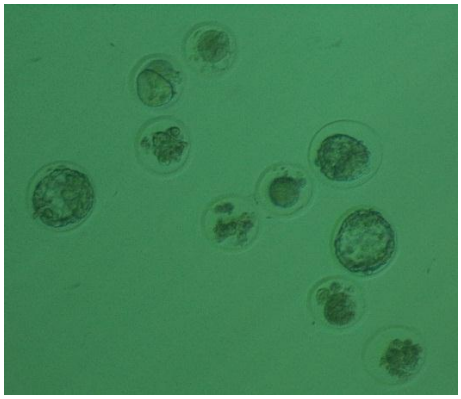
a: نشان‌دهنده معنی‌دار بودن با گروه کنترل؛
b: نشان‌دهنده معنی‌دار بودن با گروه نونیل‌فنل.



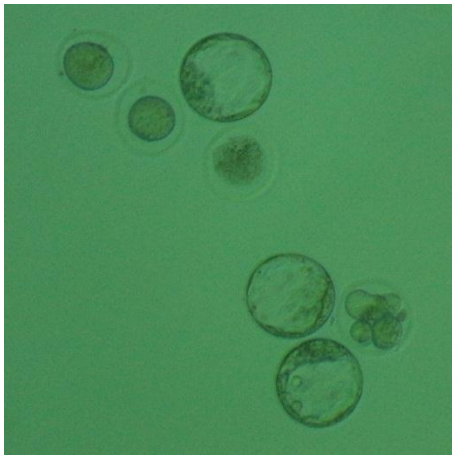
شکل شماره ۱: گروه کنترل، درصد بالایی از جنین‌ها به مرحله بلاستوسیست رسیده و بلاستوسیست‌های حاصله، کیفیت مناسبی از نظر شکل دارند.

www.SID.ir
International License Creative Commons Attribution License 4.0

Archive of SID

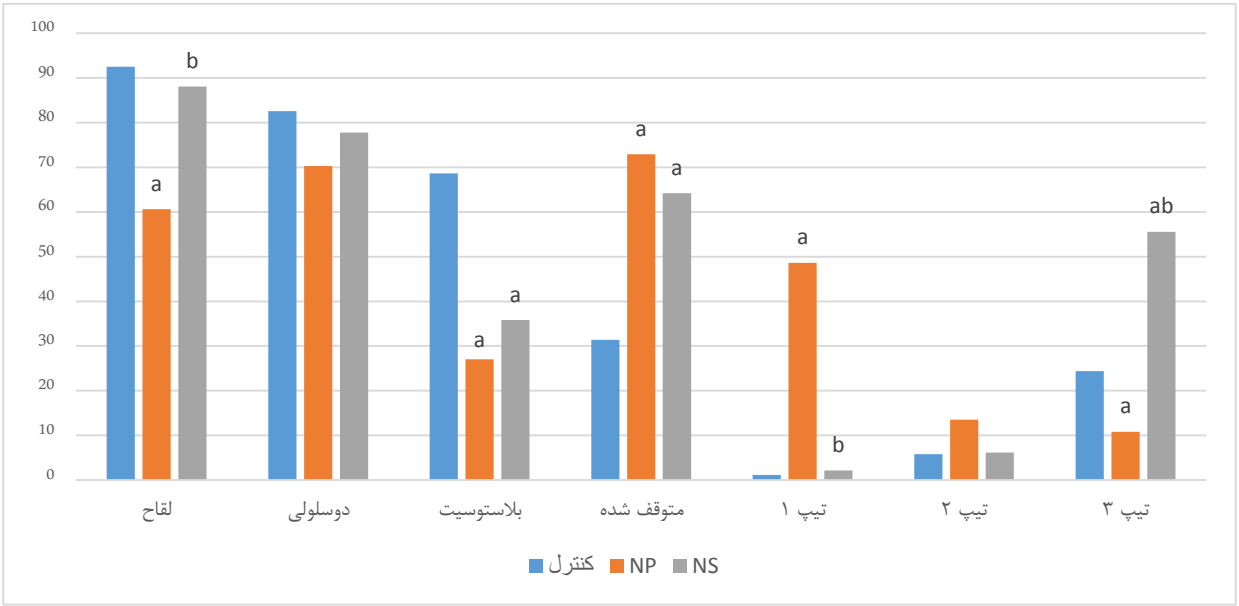


شکل شماره ۲: گروه نونیل‌فنل، درصد بالایی ازجنین‌ها در مراحل مختلف رشد متوقف شده‌اند و تنها درصد کمی از جنین‌ها به مرحله بلاستوسیست رسیده‌اند. بلاستوسیست‌های حاصله از نظر شکل، کیفیت مناسبی ندارند و جنین‌های متوقف‌شده اکثراً از نوع تیپ I و II می‌باشند.



شکل شماره ۳: گروه درمان‌شده با نونیل‌فنل به همراه مرزه.

درصد بالایی از جنین‌ها به مرحله بلاستوسیست رسیده وبلاستوسیست‌های حاصله، کیفیت مناسبی از نظر شکل در مقایسه با گروه نونیل‌فنل دارند. درصد کمی از جنین‌ها متوقف شده و اکثر جنین‌های متوقف‌شده از نوع تیپ II و III می‌باشند.



نمودار: مقایسه نتایج توان باروری داخل آزمایشگاهی در گروه‌های مختلف مورد مطالعه در طی ۱۲۰ ساعت از رشد جنینی.

a: نشان‌دهنده معنی‌دار بودن با گروه کنترل؛

b: نشان‌دهنده معنی‌دار بودن با گروه نونیل‌فنل

www.SID.ir

International License Creative Commons Attribution License 4.0

Archive of SID

بحث

مطالعات نشان داده‌اند ارتباط تنگاتنگی بین کیفیت اسپرم، میزان باروری و رشد جنینی وجود دارد. هرگونه اختلال در فرآیند بلوغ داخل اپیدیدیمی اسپرم‌ها، در توان بارورسازی این سلول‌ها ایجاد مشکل می‌کند (۱۳). نونیل‌فنل از طریق برهم زدن تعادل اکسیداسیون - احیا موجب بروز استرس اکسیداتیو و در پی آن سبب بروز سمّیت در دستگاه تناسلی نر می‌شود. در بسیاری از مطالعات مشخص شده است نونیل‌فنل با افزایش تولید ROS منجر به آسیب بافت‌ها می‌گردد (۱۴). همچنین افزایش میزان ROS با کاهش تحرک اسپرم در ارتباط است و از آنجا که اسپرم‌ها به سبب دارا بودن میزان بالای PUFAs (اسیدهای چرب با پیوند چندگانه) و نیز ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی پایین، حساسیت زیادی نسبت به آسیب‌های اکسیداتیو دارند؛ لذا هجوم رادیکال‌های آزاد می‌تواند به کاهش شدید میزان تحرک و قابلیت زنده ماندن، افزایش چشمگیر نقایص مورفولوژیک و اختلالات جدی در ظرفیت‌یابی و واکنش آکروزومی اسپرم‌ها منجر گردد (۱۵). همچنین بین میزان تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) با میزان تولید اسپرم‌های مرده و غیرطبیعی، ارتباط مستقیمی وجود دارد. افزایش ROS باعث تغییر در تمام بازها، حذف و عدم جفت شدن بازهای مکمل، تغییر شکل، اتصال متقاطع در DNA و تغییر در بازآرایی کروموزومی می‌شود (۱۶). افزایش اسپرم‌ها با DNA آسیب‌دیده با افزایش درصد اسپرم‌های مرده نیز در ارتباط بوده و افزایش اسپرم‌های مرده باعث کاهش درصد لقاح می‌شود (۱۷). در مطالعه حاضر درصد لقاح در گروه NP، کاهش معنی‌داری نشان داد. بافت بیضه محل تجمع استادانه رادیکال‌های آزاد رهاشده حاصل از متابولیت‌ها و مواد ضد اکسیداتیو مانند آنزیم‌های آنتی‌اکسیداتیو همچون گلوتاتیون پراکسیداز (GPX)، سوپراکسیداز دسموتاز (SOD) و کاتالاز (CAT)، همچنین مواد آنتی‌اکسیداتیو غیرآنزیمی مانند ویتامین‌های A، E و C می‌باشد که قادر به تجزیه و خنثی کردن رادیکال‌های آزاد هستند (۱۸)؛ به‌طوری‌که میزان ROS تولیدشده به‌وسیله اسپرم‌ها با کیفیت مایع منی و نیز توانایی بارورسازی اسپرم در شرایط آزمایشگاهی رابطه معکوس دارد. تحقیقات بسیاری نشان داده‌اند ROS احتمالاً با پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع (دارای چند پیوند دوگانه در ناحیه سر و قطعه میانی اسپرم) و به موجب آن تغییر شکل اسپرم، کاهش تحرک اسپرم و عدم ادغام موفقیت‌آمیز اسپرماتوزوآ- اووسیت، در نقص عملکردی اسپرم نقش اساسی ایفا می‌کند (۶)؛ در نتیجه آسیب پراکسیداتیو بر روی غشای پلاسمایی باعث اختلال در عملکرد اسپرم و درنهایت، ناباروری در جنس نر می‌شود که علت آن را می‌توان به غشای پلاسمایی اسپرم (حاوی مقدار زیادی از اسیدهای چرب سیرنشده) که با ایجاد استرس اکسیداتیو حساس به پراکسیداسیون لیپیدی همراه است، نسبت داد (۱۹). تغییرات در حرکت اسپرم‌ها به نونیل‌فنل القا و از طریق ایجاد استرس اکسیداتیو، همچنین پراکسیداسیون لیپیدی منجر به اثرات سمی می‌گردد. قابلیت تحرک و زنده‌ماندن اسپرم به‌عنوان مهم‌ترین پارامترهای اسپرم برای سنجش توانایی لقاح و تمامیت غشای اسپرم محسوب می‌شود؛ بنابراین می‌توان چنین نتیجه گرفت کاهش معنی‌دار میزان لقاح، رویان‌های دوسلولی، بلاستوسیست و به‌طورکلی کاهش میزان باروری در حیوانات تحت درمان در گروه نونیل‌فنل نسبت به سایر گروه‌ها به‌علت افزایش تولید رادیکال‌های آزاد ROS می‌باشد. بررسی‌های آزمایشگاهی صورت‌گرفته، نقش آنتی‌اکسیدانت‌ها در کاهش تولید ROS به‌وسیله اسپرم و بهبود توانایی تکاملی جنین را مورد تأیید قرار داده‌اند. در همین راستا، گزارش‌های دیگری بر نقش آنتی‌اکسیدانت‌ها در کاهش آسیب DNA و آپوپتوز در اسپرم‌ها، همچنین افزایش میزان بارداری و لانه‌گزینی بالینی صحه گذارده‌اند (۲۰). *ساتوره جاخوزستانیکا* یک گیاه اندمیک در ایران است که خصوصیات آنتی‌اکسیدانی دارد (۱۲،۱۱). جزء اصلی اسانس، مرزه کارواکرول بوده (۹) و سایر ترکیبات همچون فلاونوئیدها، تری‌ترپنوئیدها، استروئیدها و تانن‌ها نیز در این گیاه گزارش شده‌اند (۲۱). کارواکرول و فلاونوئیدها دارای خواص آنتی‌اکسیدانی هستند (۹). همچنین *ساتوره جاخوزستانیکا* از سمّیت القاشده به‌وسیله مالاتیون از طریق تقویت پارامترهای استرس اکسیداتیو جلوگیری می‌کند (۲۲). به‌علاوه، محققین دیگر نشان داده‌اند کارواکرول دارای اثرات حذف‌کنندگی رادیکال‌های پراکسیل بوده و دارای اثر آنتی‌اکسیدانی خوب و ضدالتهابی است (۲۳). اسانس مرزه خوزستانی، ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی بالایی دارد (۲۴).

www.SID.ir
International License Creative Commons Attribution License 4.0

Archive of SID

در یک مطالعه، رت‌های ماده‌ای که *ساتوره جاخوزستانیکا* را دریافت کرده بودند، پس از طی دوران آبستنی، یک افزایش معین و معنی‌دار در تعداد مناطق لانه‌گزینی جنینی، همچنین تعداد جنین‌های متولدشده آنان مشاهده گردید (۲۵)؛ در نتیجه می‌توان گفت مرزه خوزستانی با تأثیرات آنتی‌اکسیدانتی خود منجر به افزایش معنی‌دار درصد باروری در گروه درمانی نسبت به گروه نونیل‌فنل می‌شود؛ بنابراین می‌توان افزایش معنی‌دار درصد باروری در گروه درمانی نسبت به گروه نونیل‌فنل را به نقش آنتی‌اکسیدانتی مرزه خوزستانی در سرکوب ROS تولیدشده توسط نانیل‌فنل نسبت داد که موجب بهبود عملکرد اسپرم در لقاح موفقیت‌آمیز با تخمک در این گروه آزمایشی در مطالعه حاضر گردید.

نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان داد مرزه خوزستانی بسیاری از اثرات نامطلوب نونیل‌فنل بر روی میزان باروری و سلامت سلول‌های جنسی را جبران می‌کند؛ بنابراین از مرزه خوزستانی می‌توان به‌عنوان یک مکمل در مسمومیت‌های ناشی از نونیل‌فنل، همچنین تقویت‌کننده باروری استفاده کرد.

تشکر و قدردانی

مقاله حاضر حاصل بخشی از پایان‌نامه تحت عنوان "ارزیابی اثرات اسانس مرزه خوزستانی بر اختلالات اسپرماتوژنز و توان باروری اسپرم موش‌های تحت استرس اکسیداتیو القاشده توسط نونیل‌فنل در مقایسه با ویتامین E" در مقطع دکتری حرفه‌ای (با شماره پایان‌نامه ۱۴۴۰ در سال ۱۳۹۴) می‌باشد که با حمایت دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه اجرا گردید. بدین‌وسیله نویسندگان مقاله از معاونت پژوهشی و همکاران محترم در دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه، کمال تشکر و قدردانی را دارند.

References:

1. Robaire B, Hales BF. Mechanisms of action of cyclophosphamide as a male-mediated developmental toxicant. Adv Exp Med Biol 2003;518:169-80. PubMed

2. A Soares B, Guieysse B, Jefferson E, Cartmell JN. Nonylphenol in the environment: critical review on occurrence, fate, toxicity and treatment in wastewaters. Environ Int 2008;34(7):1033-1049. PubMed

3. Blake CA, Bookfor FR, Nair-Menon JU, Millette FC, Raychoundhury SS, McCoy GL. Effects of 4-tert-octylphenol given in drinking water for 4 months on the male reproductive system of Fisher 344 rats. Reprod. Toxicol 2004;18(1):43-51. PubMed

4. Ying GG, Williams B, Kookana R. Environmental fate of alkylphenols and alkylphenol ethoxylates-a review. Environ Int 2002;28(3):215-26. PubMed

5. Miller WL. Mitochondrial specificity of the early steps in steroidogenesis. J Steroid Biochem Mol Biol 1995;55(5-6):607-16. PubMed

6. Aitken RJ, Clarkson JS. Cellular basis of defective sperm function and its association with the genesis of reactive oxygen species by human spermatozoa. J Reprod Fertil 1987;81(2):459-69. PubMed

7. Bindhumol V, Chitra KC. Mathur PP. Bisphenol A induces reactive oxygen species generation in the liver of male rats. Toxicology 2003;188(2-3):117-24. PubMed

www.SID.ir

International License Creative Commons Attribution License 4.0

Archive of SID

8. Jamzad Z. A new species of the genus Satureja (Labiate) from Iran. Iran J Bot 1994;6:215-8. Link

9. Farsam H, Amanlou M, Radpour MR, Salehinia AN, Shafiee A. Composition of the essential oils of cultivated satureja Khuzistanica Jamzad form Iran. Flavour Fragr J 2004;19:308-10. Link

10. Sefidkon F, Ahmadi S. Essential oil of satureja Khuzistanica Jamzad. J Essent Oil Res 2000;12(4):427-8. Link

11. Abdollahi M, Salehnia A, mortazavi SH, Ebrahimi M, Shafie A, Fouladian F, et al. Antioxidant, antidiabetic, antihyperlipidemic, reproduction stimulatory properties and safety of essential oil of Saturja Khuzestanica in Rat in vivo: A toxicopharmacological study. Med Sci Monit 2003;9(9):331-5. PubMed

12. Ghazanfari G, minaie B, Yasa A, Ashtral Nakhai L, Mohammadirad A, Nikfar S, et al. Biochemical and histopathological evidences for beneficial effects of Satureja Khuzestanica Jamzad essential oil on the mouse model of inflammatory bowel diseases. Toxicol Mech Methods 2006;16(7):365-72. PubMed

13. Evenson DP, Jost LK, Marshall D, Zinaman MJ, Clegg E, Purvis K, et al. Utility of the sperm chromatin structure assay as a diagnostic and prognostic tool in the human fertility clinic. Hum Reprod 1999;14(4):1039-49. PubMed

14. Chitra KC, Rao KR, Mather PP. Effect of bisphenol A and co-adminstration of bisphenol A and vitamin C on epididymis of adult rats: a histopathological and biochemical study. Asian J Androl 2003;5(3):203-8. PubMed

15. de Lamirande E, Gagnon C. Reactive oxygen species and human spermatozoa. II. Depletion of adenosine triphosphate plays an important role in the inhibition of sperm motility. J Androl 1992;13(5):379-86. PubMed

16. Duru NK, Moshedi M, Oehninger S. Effects of hydrogen peroxide on DNA and plasma membrane integrity of human spermatozoa. Fertil Steril 2000;74(6):1200-7. PubMed

17. Hammadeh ME, Al Hasani S, Rosenbaum P, Schmidt W, Fischer Hammadeh C. Reactive oxygen species, total antioxidant concentration of seminal plasma and their effect on sperm parameters and outcome of IVF/ICSI patients. Arch Gynecol Obstet. 2008;277(6):515-26. PubMed

18. Chen H, Liu J, Luo L. Vitamin E, Baig MU, Kim JM, Zirkin BR. Aging and Leyding cell steroidogenesis. Exp Gerontol 2005;40:728-36. PubMed

19. Agarwal A, Prabakaran SH. Mechanism, measurement and prevention of oxidative stress in male reproductive physiology. Indian J Exp Biol 2005;43(11):963-74. PubMed

20. Greco E, Iacobelli M, Rienzi L, Ubaldi F, Ferrero S, Tesarik J. Reduction of the incidence of sperm DNA fragmentation by oral antioxidant treatment. J Androl 2005;26(3),349-53. PubMed

21. Moghaddam FM, Farimani MM, Salahvarzi S, Amin G. Chemical constituents of dichloromethane extract of cultivated Satureja Khuzistanica. Evid Based Complement Alternat Med 2007;4(1):95-8. PubMed

22. Basiri S, Esmaily H, Vosough-Ghanbari S, Mohammadirad A, Yasa N, Abdollahi M. Improvement by Satureja khuzestanica essential oil of malathion-induced red blood cells acetylcholinesterase inhibition and altered hepatic mitochondrial glycogen phosphorylase and phosphoenolpyruvate carboxykinase activities. Pestic Biochem Physiol 2007;89(2):12-9. Link

23. Amanlou M, Dadkhah F, Salehnia A, Farsam H. An anti-nociceptive effects of hydroalcoholic extract of Satureja khuzistanica Jamzad extract. J Pharm Pharmaceut Sci 2005;8(1):102-6. PubMed

24. Ahmadvand H, Tavafi M, Gholamreza G, Khosrobeigi A, Bagheri S, Abdolahpour F. Hypolipidemic and antiatherogenic effects of Satureja Khozestanica essential oil in alloxan-induced Type 1 diabetic rats. Zahedan J Res Med Sci 2012;13:52-5. Link

25. Nunez-Delicado E, Sanchez-Ferrer A, Garoia-Carmona F. Hydroperoxidative oxidation of diethylstilbesterol by lipoxygenase. Arch Biochem Biophys 1997;348(2):411-4. PubMed

www.SID.ir
International License Creative Commons Attribution License 4.0