Archive of SID

تأثیر عصاره‌ی جوانه‌ی گندم بر کیفیت اسپرم موش‌های صحرایی مواجه شده با سرب

حسن مروتی[۱*]، حمیدرضا مرادی[۲]، مسعود ادیب‌مرادی[۳]، محمدتقی شیبانی[۴]، جمیله سالارآملی[۳] و علی کلانتری حصاری[۲]

تاریخ دریافت: ۹۴/۲/۱ تاریخ پذیرش: ۹۴/۷/۷

چکیده

در سال‌های اخیر، تأثیر سرب بر دستگاه تناسلی نر و پارامترهای باروری اسپرم مورد توجه قرار گرفته است. گیاهان دارویی جهت درمان ناراحتی‌ها و دردها از دیرباز مورد توجه بشر بوده‌اند. جوانه‌ی گندم، گیاه دارویی منحصر به فردی است که غنی از ویتامین‌ها، مواد معدنی و ترکیبات فیتواستروژنی می‌باشد. هدف از این مطالعه، بررسی تأثیر عصاره‌ی جوانه‌ی گندم بر کیفیت اسپرم موش صحرایی مواجهه شده با سرب است. برای این هدف، ۳۰ سر موش صحرایی بالغ نژاد ویستار با میانگین وزنی ۲۰±۲۲۰ گرم در ۶ گروه شامل: گروه کنترل، دریافت کننده‌ی سرم فیزیولوژی به مقدار ml/kg ۱، گروه دریافت کننده‌ی استات سرب به میزان ۲۰mg/kg/day (i.p)، گروه‌های دریافت‌کننده‌ی عصاره‌ی جوانه‌ی گندم با دوزهای ۱۰۰ و mg/kg/day ۲۰۰ (خوراکی) و گروه‌های دریافت کننده‌ی همزمان سرب ۲۰mg/kg/day و عصاره‌ی جوانه‌ی گندم با دوزهای ۱۰۰ و mg/kg/day ۲۰۰ به طور تصادفی و برابر تقسیم شدند. پس از گذشت ۳۵ روز از انجام آزمایش، موش‌ها با کلروفرم آسان‌کشی شدند. سپس نمونه‌های اسپرم گرفته شده از دم اپیدیدیم بعد از شمارش کلی و بررسی میزان تحرک، از نظر میزان زنده بودن، بلوغ هسته و آسیب DNA مورد ارزیابی قرار گرفتند. داده‌های به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار SPSS 18 مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. نتایج نشان دهنده‌ی کاهش معنی‌دار تعداد، میزان تحرک، درصد زنده بودن اسپرم‌ها و افزایش درصد اسپرم‌های نابالغ تحت تأثیر تجویز سرب در مقایسه با سایر گروه‌ها بودند ($P<۰/۰۱$). در حالی که در گروه‌های دریافت کننده‌ی عصاره‌ی جوانه‌ی گندم وابسته به دوز موجب به حداقل رسیدن این آسیب‌ها گردید ($P<۰/۰۱$). نتایج این تحقیق نشان داد که عصاره‌ی جوانه‌ی گندم در بهبود و بالا بردن کیفیت اسپرم موش‌های صحرایی متعاقب تجویز استات سرب مؤثر است.

کلمات کلیدی: عصاره‌ی جوانه‌ی گندم، سرب، اسپرم، موش صحرایی

مقدمه

گزارش‌های موجود از کاهش باروری مردان اشاره به نقش تماس با عوامل زیست محیطی در اتیولوژی ناباروری انسان دارد (Benoff et al. 2000). سرب از آلاینده‌های مهم زیست محیطی است که بر بسیاری از ارگان‌های بدن از جمله سیستم تناسلی نر تأثیر می‌گذارد و تهدید بسیار جدی برای سلامت انسان محسوب می‌گردد (Arrieta et al. 2004, Watson et al. 2004). سرب از اجزای مهم در آلودگی هوا محسوب می‌شود. سرب موجود در هوا از احتراق بنزین سرب‌دار در وسایل نقلیه حاصل می‌گردد و یکی از منابع اصلی آلودگی در کشورهای در حال توسعه است. نه تنها هوا بلکه منابع آب و خاک نیز از طریق فوق آلوده می‌گردند. آلودگی در

[۱*] استاد گروه علوم پایه، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه تهران (نویسنده‌ی مسئول) E-mail: hmorovvati@ut.ac.ir

[۲] دانشجوی دکترای بافت‌شناسی، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه تهران

[۳] استاد گروه علوم پایه، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه تهران

[۴] دانشیار گروه علوم پایه، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه تهران

www.SID.ir

Archive of SID

شهرهای با جمعیت بالا و تراکم ترافیک سنگین بیش‌تر است (Sokol 1987). در این بین، افرادی همچون کارگران معادن سرب، ذوب فلز، کارخانه‌ی باطری‌سازی و کارگران سایر شغل‌های مرتبط نیز وجود دارند که در مواجهه شغلی با سرب هستند. از دیگر منابع مهم آلودگی زیست محیطی سرب، ذخیره‌سازی آب آشامیدنی در مخازن، بسته‌بندی مواد غذایی در روزنامه‌ها، مواد غذایی کنسرو شده و استفاده از ظروف لعاب‌دار می‌باشد (Markowitz 2000). تأثیر سرب بر دستگاه تناسلی نر و پارامترهای باروری اسپرم اثبات شده است (Hamadouche et al. 2013, Ayinde et al. 2012, Asadpour et al. 2013). Kakkar و Jaffery در سال ۲۰۰۵ بیان نمودند که اختلال در ساختار و عملکرد اسپرم و سیستم تناسلی نر یکی از نشانه‌های عمده‌ی قرار گرفتن در معرض سرب است. فلزات سنگین مانند سرب می‌توانند اثرات مضر خود را از طریق تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و یا مهار فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی ایجاد کنند (Bolin et al. 2006, Marchlewicz et al. 2004). Upasani و همکاران در سال ۲۰۰۱ گزارش کردند که سمیت با سرب در ارتباط با افزایش سطح پراکسیداسیون چربی‌ها می‌باشد. بنابراین این تصور وجود دارد که ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در مقابل اثرات سمی سرب بر دستگاه‌های مختلف بدن مؤثر و مفید باشند (Mishra and Acharya 2004, Shalan et al. 2005).

از طرفی، گیاهان دارویی جهت درمان ناراحتی‌ها و دردها از دیرباز مورد توجه بشر بوده‌اند. جوانه‌ی گندم یکی از گیاهانی است که جایگاه و سابقه‌ی بس طولانی در فرهنگ و تغذیه‌ی مردم ایران دارد. جوانه‌ی گندم یک ماده‌ی مغذی با ترکیبات فراسودمند و ارزش غذایی بالا می‌باشد (Zhu et al. 2006). گندم رایج در ایران با نام علمی *Triticum aestivum* یکی از گونه‌های اصلاح شده گندم می‌باشد. سبوس، جوانه و اندوسپرم اجزای اصلی سازنده‌ی دانه‌ی گندم هستند. جوانه‌ی گندم غنی از اجزای آنتی اکسیدانی از قبیل اسیدهای فنولی، آلکیلوریزورسینول‌ها[1]، اسیدهای آمینوفنول و آمینوبنزوئیک‌ها می‌باشد. این‌ها در اشکال آزاد و باند شده تنوع دارند و آنتی اکسیدان‌های قوی هستند (Dexter and Wood 1996). همچنین، جوانه گندم دارای خواص دارویی قوی بوده و به صورت مطلوب و تازه در بازار وجود دارد. در سال‌های اخیر، علاقه و پژوهش زیادی در مورد گیاهان و مواد طبیعی که خواص آنتی اکسیدانی و دارویی دارند، وجود داشته است. تأثیر مفید میوه‌ها و سبزیجات و گیاهان مدیترانه‌ای به علت داشتن ترکیبات مشابه نظیر مقادیر فراوان فیبر، ریز مغذی‌ها و آنتی-اکسیدان‌ها به اثبات رسیده است (Falcioni et al. 2002). خواص ضددیابت (Mohan et al. 2013)، ضدجهش[2] (Peryt et al. 1992)، آنتی‌هیپرگلیسمی (Lee et al. 2009) و ضدسرطان (Bonfili et al. 2009) جوانه‌ی گندم در شرایط زنده نشان داده شده است. هدف این مطالعه نیز بر اثرات جوانه‌ی گندم تمرکز دارد. بنابراین این پژوهش با هدف بررسی نقش عصاره‌ی هیدروالکلی جوانه‌ی گندم بر فاکتورهای اسپرم موش صحرایی بالغ مواجهه شده با سرب طراحی گردید.

مواد و روش کار

استات سرب از شرکت مرک آلمان و پودر خالص جوانه‌ی گندم (Wheat Sprout powder) از شرکت غذایی توتیا تهران خریداری گردید. سپس با استفاده از روش حجمی یا ماسراسیون عصاره‌ی هیدروالکلی جوانه‌ی گندم تهیه شد. سایر مواد شیمیایی مورد استفاده در این آزمایش از شرکت مرک آلمان خریداری گردیدند.

۳۰ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار به ظاهر سالم با میانگین وزنی ۲۰±۲۲۰ گرم از مرکز تکثیر و پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشکده‌ی دامپزشکی دانشگاه تهران خریداری شدند. یک روز قبل از شروع

1- alkylresorcinols
2- antimutagenicity

www.SID.ir

Archive of SID

آزمایش، موش‌های صحرایی به طور تصادفی به ۶ گروه تقسیم شدند. در هر گروه ۵ سر موش صحرایی در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی در دمای ۲۵-۲۳ درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شدند. به منظور انجام روند فعالیت جنسی موش‌های نر در هر قفس ۲ سر موش صحرایی ماده نیز قرار گرفتند. آب و غذای مورد نیاز حیوان نیز به صورت آزاد در دسترس قرار داده شدند. حیوانات به مدت یک هفته به منظور سازش با شرایط محیطی نگهداری شدند. دستورالعمل اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی دانشکده‌ی دامپزشکی دانشگاه تهران رعایت گردید.

۱- گروه کنترل با تزریق روزانه‌ی سرم فیزیولوژی به مقدار ml/kg ۱.

۲- گروه دریافت کننده‌ی استات سرب با دوز mg/kg ۲۰ به صورت تزریق روزانه داخل صفاقی (i.p) (Hamadouche et al. 2013).

۳- گروه دریافت کننده‌ی استات سرب با دوز mg/kg ۲۰ به صورت تزریق روزانه داخل صفاقی همزمان با عصاره‌ی جوانه‌ی گندم به میزان mg/kg ۱۰۰ به صورت خوراکی با استفاده از نیدل مخصوص گاواژ.

۴- گروه دریافت کننده‌ی استات سرب با دوز mg/kg ۲۰ به صورت تزریق روزانه داخل صفاقی همزمان با عصاره‌ی جوانه‌ی گندم به میزان mg/kg ۲۰۰ به صورت خوراکی با استفاده از نیدل مخصوص گاواژ.

۵- گروه دریافت کننده‌ی عصاره‌ی جوانه‌ی گندم به میزان mg/kg ۱۰۰ به صورت خوراکی با استفاده از نیدل مخصوص گاواژ.

۶- گروه دریافت کننده‌ی عصاره‌ی جوانه‌ی گندم به میزان mg/kg ۲۰۰ به صورت خوراکی با استفاده از نیدل مخصوص گاواژ.

این مطالعه ۳۵ روز به طول انجامید. به منظور تعیین دوز جدید عصاره‌ی جوانه‌ی گندم و سرب (بر حسب وزن بدن حیوان)، اندازه‌گیری وزن حیوانات به صورت هفتگی انجام می‌شد.

بعد از گذشت مدت آزمایش، موش‌ها با کلروفرم آسان‌کشی شدند. سپس اپیدیدیم با دقت از بیضه‌ها جدا گردید. سه قسمت اپیدیدیم: سر، بدنه و دم از همدیگر تفکیک شد. دم اپیدیدیم داخل پتری دیش ۳ سانتی‌متری حاوی ml ۱ محیط کشت HTF گذاشته شد. بعد از تکه تکه کردن دم اپی‌دیدیم توسط قیچی تشریحی، اسپرم‌ها خارج شدند و در شرایط انکوباتور ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد با ۵ درصد CO_2 مورد بررسی قرار گرفتند.

برای انجام این بررسی‌ها از هر گروه ۵ موش و از هر نمونه اسپرم ۱۰ لام برای هر رنگ‌آمیزی تهیه شد. بررسی‌های انجام شده با استفاده از لام نئوبار و میکروسکوپ‌های نوری و فلورسنت شامل شمارش میانگین تعداد اسپرم در واحد حجمی و رقت ثابت، تعیین میزان درصد تحرک اسپرم، درصد زنده بودن اسپرم (رنگ‌آمیزی نیگروزین ائوزین)، میزان شکستگی DNA (با روش رنگ‌آمیزی آکریدین اورنج) و میزان بلوغ هسته (با روش رنگ‌آمیزی آنیلین بلو) می‌باشند (Rezvanfar et al. 2008, Rezvanfar et al. 2013). ضمناً به منظور اطمینان از سالم بودن رنگ آکریدین اورنج نمونه‌ی کنترل مثبت نیز تهیه گردید. بدین منظور نمونه‌های اسپرم از حیوان سالم و بالغ گرفته شد. سپس DNA این اسپرم‌ها تحت تأثیر حرارت بالا (۹۰ درجه‌ی سانتی‌گراد) دناتوره شد. پس از تهیه گسترش، نمونه‌ها توسط روش آکریدین اورنج رنگ‌آمیزی شدند.

داده‌های به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار SPSS 18 مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. داده‌ها به صورت mean±SD ارائه شدند. جهت مقایسه‌ی میانگین‌ها در گروه‌های تحت مطالعه از آزمون ANOVA پس آزمون Tukey استفاده شد و در مواردی که $P\leq ۰/۰۵$ بود معنی‌دار تلقی گردید.

نتایج

تزریق استات سرب به موش‌های صحرایی بعد از ۳۵ روز موجب کاهش معنی‌دار ($P<۰/۰۱$) تعداد اسپرم‌ها در

www.SID.ir

Archive of SID

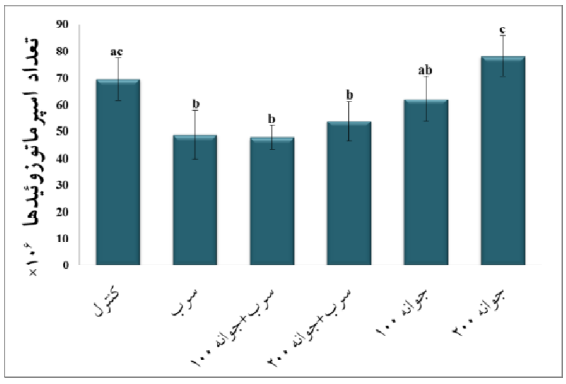
مقایسه با گروه کنترل شد. تعداد اسپرم‌ها در گروه کنترل با میانگین ۷/۹±۶۹/۶۴ (میلیون بر سانتی‌متر مکعب) محاسبه گردید. در حالی که این تعداد در گروه دریافت کننده‌ی استات سرب میانگین ۹/۱±۴۸/۸۶ (میلیون بر سانتی‌متر مکعب) را نشان داد. تعداد اسپرم‌ها تحت تأثیر دریافت عصاره‌ی جوانه‌ی گندم وابسته به دوز افزایش نشان دادند. به طوری که در گروه همزمان استات سرب و عصاره‌ی جوانه‌ی گندم با دوز ۲۰۰ mg/kg/day این تعداد ۷/۳±۵۴/۰۰ (میلیون بر سانتی‌متر مکعب) محاسبه گردید. بیش‌ترین تعداد اسپرم با میانگین ۷/۵±۷۸/۱۴ (میلیون بر سانتی‌متر مکعب) در گروه دریافت کننده‌ی عصاره‌ی جوانه‌ی گندم با دوز ۲۰۰ mg/kg/day محاسبه شد. این افزایش در مقایسه با گروه کنترل از لحاظ آماری معنی‌دار نبود. در حالی که در مقایسه با سایر گروه‌ها افزایش معنی‌دار را نشان داد (P<۰/۰۰۱) (نمودار ۱).

همان طور که در نمودار ۲ مشاهده می‌گردد، درصد تحرک اسپرم موش‌های صحرایی تحت تأثیر استات سرب (۴/۳±۳۶/۲) در مقایسه با سایر گروه‌های تحت مطالعه به طور معنی‌داری کاهش نشان داد (P<۰/۰۰۱). همچنین، درصد تحرک اسپرم‌ها در گروه‌های دریافت کننده‌ی عصاره‌ی جوانه‌ی گندم با دوزهای ۲۰۰ و mg/kg/day ۱۰۰ به ترتیب ۵/۱±۷۶/۰۰ و ۶/۴±۶۴/۲ مشاهده گردید که در مقایسه با گروه کنترل ۴/۳±۶۲/۰۰ افزایش نشان داد. این افزایش تنها بین گروه عصاره‌ی جوانه‌ی گندم با دوز ۲۰۰ mg/kg/day و کنترل معنی‌دار بود (P<۰/۰۱). از لحاظ آماری بین دو گروه دریافت کننده‌ی عصاره‌ی جوانه‌ی گندم نیز اختلاف معنی‌دار مشاهده شد (P<۰/۰۵).

در بررسی درصد اسپرم‌های با DNA سالم در گروه-های مختلف، علی‌رغم کاهش تعداد اسپرم‌های با DNA سالم در گروه‌های دریافت کننده‌ی استات سرب، اختلاف معنی‌داری بین گروه‌ها مشاهده نشد (نمودار ۳) (شکل ۱).

درصد اسپرم‌های زنده در گروه‌های دریافت کننده‌ی عصاره‌ی جوانه‌ی گندم وابسته به دوز در مقایسه با سایر گروه‌ها افزایش نشان داد که از لحاظ آماری با گروه کنترل معنی‌دار نبود. در حالی که در مقایسه با گروه‌های دریافت کننده‌ی استات سرب این افزایش معنی‌دار بود (P<۰/۰۰۱). همچنین، درصد اسپرم‌های زنده در گروه استات سرب (۶/۰۶±۶۱/۴) به نسبت گروه کنترل (۳/۹۷±۸۷/۶) کاهش معنی‌دار نشان داد (P<۰/۰۰۱). گروه‌هایی که هم‌زمان با استات سرب، عصاره‌ی جوانه‌ی گندم را دریافت کردند در مقایسه با سایر گروه‌های مورد آزمایش اختلاف معنی‌دار نشان دادند (P<۰/۰۰۱) (نمودار ۴) (شکل ۲).

در بررسی درصد اسپرم‌های نابالغ در گروه‌های مختلف، گروه استات سرب با میانگین ۱/۱±۱۳/۲ در مقایسه با گروه کنترل با میانگین ۱/۶±۷/۸ دارای افزایش معنی‌دار بود (P<۰/۰۰۱). همچنین، درصد اسپرم‌های نابالغ در گروه‌های عصاره‌ی جوانه‌ی گندم با دوزهای ۲۰۰ mg/kg/day و ۱۰۰ mg/kg/day به ترتیب ۱/۸±۶/۸ و ۲/۰۰±۷/۰۰ مشاهده گردید که در مقایسه با گروه استات سرب کاهش معنی‌دار نشان دادند (P<۰/۰۰۱). گروه استات سرب در مقایسه با گروه هم‌زمان استات سرب با عصاره‌ی جوانه‌ی گندم با دوز ۲۰۰ mg/kg/day (۱/۹±۹/۲) افزایش داشت که از لحاظ آماری این افزایش معنی‌دار بود (P<۰/۰۵) (نمودار ۵) (شکل ۲).

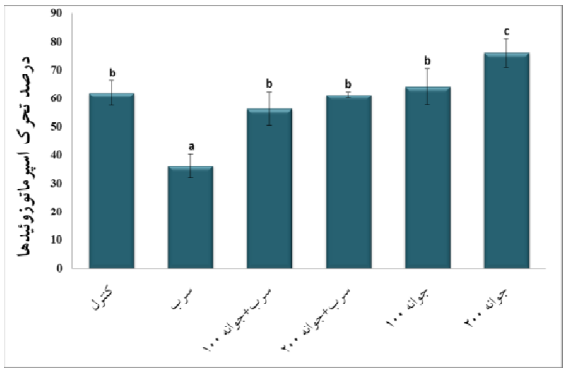


نمودار ۱: تغییرات میانگین و انحراف معیار شمارش تعداد اسپرم‌ها در بین گروه‌های مورد آزمایش.

حروف لاتین متفاوت نشان‌دهنده‌ی اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های مطالعه می‌باشد (P<۰/۰۵).

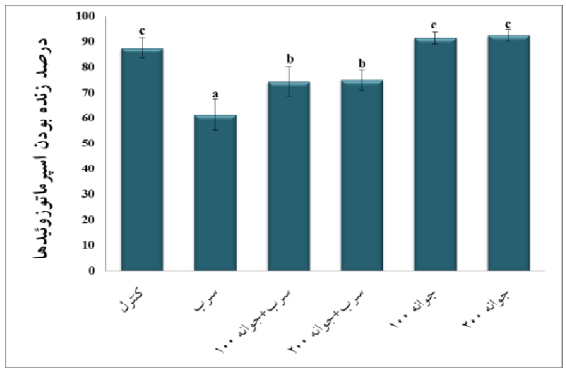
www.SID.ir

Archive of SID



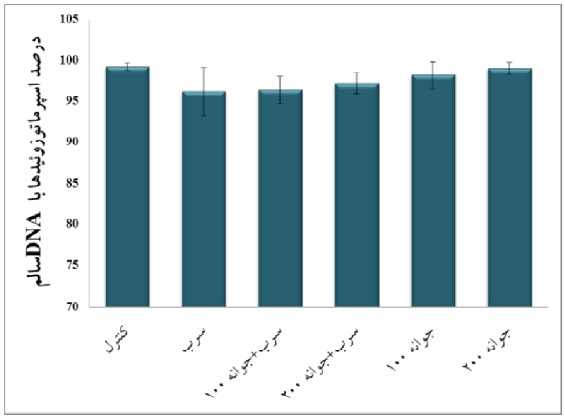
نمودار ۲: تغییرات میانگین و انحراف معیار درصد اسپرم-های متحرک در بین گروه‌های مورد آزمایش.

حروف لاتین متفاوت نشان‌دهنده‌ی اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های مطالعه می‌باشد (P<۰/۰۵).



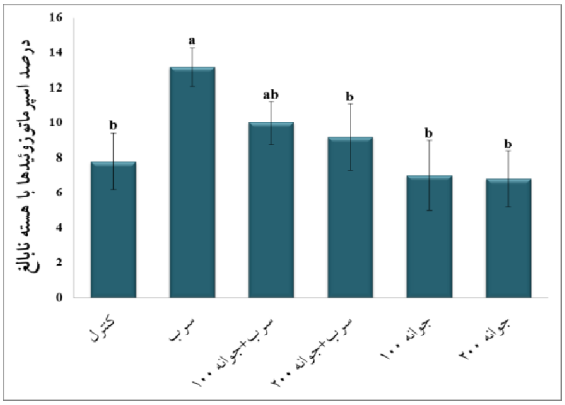
نمودار ۴: تغییرات میانگین و انحراف معیار درصد اسپرم-های زنده در بین گروه‌های مورد آزمایش.

حروف لاتین متفاوت نشان‌دهنده‌ی اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های مطالعه می‌باشد (P<۰/۰۵).



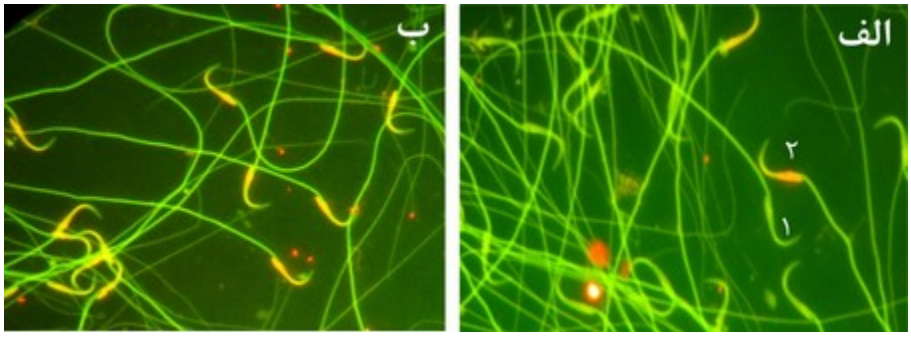
نمودار ۳: تغییرات میانگین و انحراف معیار درصد اسپرم-های با DNA سالم در بین گروه‌های مورد آزمایش.

اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های مطالعه دیده نشد (P<۰/۰۵).



نمودار ۵: تغییرات میانگین و انحراف معیار درصد اسپرم-های نابالغ در بین گروه‌های مورد آزمایش.

حروف لاتین متفاوت نشان‌دهنده‌ی اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های مطالعه می‌باشد (P<۰/۰۵).



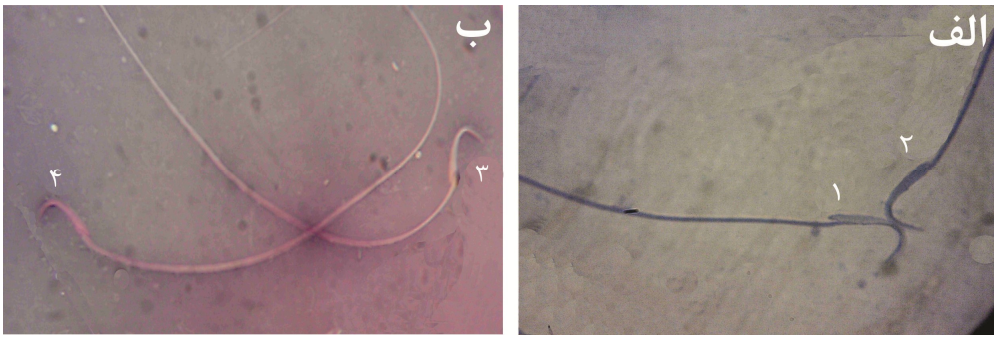
شکل ۱: نمایی از نمونه‌های اسپرم‌های رنگ‌آمیزی شده با آکریدین-اورنج.

تصویر الف: رنگ‌آمیزی آکریدین-اورنج، ۱: اسپرم با DNA سالم (با سر سبز رنگ) ۲: اسپرم با DNA آسیب دیده (با سر نارنجی تا قرمز رنگ).

تصویر ب: نمونه‌ی کنترل مثبت، اسپرم‌های با سر نارنجی بیانگر اسپرم‌هایی است که DNA آن‌ها توسط حرارت بالا دناتوره شده است.

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۲: نمایی از نمونه‌های اسپرم رنگ‌آمیزی شده با ائوزین-نیگروزین و آنیلین بلو.

شکل الف: رنگ‌آمیزی آنیلین-بلو، ۱: اسپرم بالغ (با سری به رنگ آبی کم‌رنگ) ۲: اسپرم نابالغ (با سری به رنگ آبی پررنگ).

شکل ب: رنگ‌آمیزی ائوزین-نیگروزین، ۳: اسپرم زنده (با سر سفید رنگ) ۴: اسپرم مرده (با سر قرمز رنگ).

بحث

سرب یک آلاینده‌ی زیست محیطی و صنعتی است که موجب مشکلات بهداشتی در سراسر دنیا شده است (Bilandzic et al. 2009). در سال‌های اخیر تأثیر منفی عوامل شیمیایی محیطی بر کیفیت و کمیت اسپرم مورد توجه زیادی قرار گرفته است (Hamadouche et al. 2013). سرب از شناخته شده‌ترین فلزات در مسمومیت-های زیست محیطی است. پس آشکار است که مواجهه با سرب به طور جدی موجب به خطر انداختن سلامت انسان و حیوانات می‌گردد (Hu 2000). در کشورهای در حال توسعه و صنعتی، مواجهه‌ی شغلی و زیست محیطی با سرب به عنوان مشکلی جدی باقی مانده است. مطالعات بسیاری نشان داده‌اند که مسمومیت باروری از ویژگی‌های بارز سمیت سرب محسوب می‌شود. مسمومیت با سرب از طریق تخریب اسپرماتوژنز، آپوپتوز اپی‌تلیوم زایای بیضه را تحریک می‌کند (Yucebilgic et al. 2009, Batra et al. 2001, Adhikari et al. 2001). سرب از طریق تغییرات در اسپرماتوژنز و عملکرد اسپرم، مستقیماً بر عملکرد سیستم تناسلی نر اثرات شدیدی دارد (Rubio et al. 2006). مواجهه با سرب در مردان خصوصاً کارگران حرفه‌ای، منجر به عقیمی و ناباروری می‌گردد (Cullen et al. 1984). Naha و همکاران در سال ۲۰۰۵ نشان دادند که کارگران کارخانه‌های مرتبط با سرب در فاکتورهای کمی و کیفی اسپرم ضعف دارند. کاهش تعداد و تحرک اسپرم ناحیه‌ی دم اپیدیدیم و افزایش اسپرم‌های ناهنجار (دارای مورفولوژی غیرطبیعی) در موش‌های صحرایی مواجهه شده با استات سرب نشان داده شده است (Dorostghol et al. 2014). نتایج مطالعه-ی حاضر نشان داد که تزریق داخل صفاقی استات سرب روزانه به میزان ۲۰ mg/kg (در مدت ۳۵ روز) در مقایسه با گروه کنترل موجب کاهش معنی‌دار تعداد، تحرک و نسبت زنده/مرده اسپرم‌ها و افزایش اسپرم‌های نابالغ ناحیه‌ی دم اپیدیدیم موش صحرایی گردید. دوره‌ی اسپرماتوژنز لوله‌های منی‌ساز بیضه در موش ۳۵ روز می-باشد (Piper and Suzanne 2012). بنابراین مطالعه‌ی حاضر برای مدت ۳۵ روز طراحی گردید. در حالی که برخی مطالعات بدون توجه به دوره‌ی زمانی اسپرماتوژنز موش پایه‌گذاری شده‌اند. Hamadouche و همکاران در سال ۲۰۱۳ در مطالعه‌ای اثرات سمیت استات سرب بر موش‌های صحرایی را با دوز روزانه ۲۰ mg/kg به مدت ۲۰ روز انجام دادند. آن‌ها گزارش کردند که در این مدت تعداد، تحرک و درصد اسپرم‌های زنده کاهش معنی‌دار و درصد اسپرم‌های ناهنجار تحت تأثیر استات سرب در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی‌دار داشتند. همچنین، مطالعاتی نیز وجود دارند که در مدت بیشتری (تا دو

www.SID.ir

Archive of SID

برابر) از دوره‌ی زمانی اسپرماتوژنز موش انجام شده‌اند. به طور مثال Dorostghol و همکاران در سال ۲۰۱۴ اثرات استات سرب را با دوز روزانه ۰/۱ درصد در آب آشامیدنی به مدت ۷۰ روز در موش‌های صحرایی بررسی کردند. آن‌ها گزارش کردند که در این مدت تعداد اسپرم-ها کاهش معنی‌دار و درصد اسپرم‌های ناهنجار افزایش معنی‌دار داشتند. شمارش تعداد اسپرم‌ها در اپیدیدیم به دلیل این که نتیجه‌ای از تمام مراحل میوز، اسپرمیوژنز و عبور از اپیدیدیم را نشان می‌دهد، به عنوان یکی از حساس‌ترین تست‌ها جهت ارزیابی اسپرماتوژنز شناخته شده است (Meistrich 1989). تحرک، دیگر فاکتور اسپرم که به شدت تحت تأثیر سرب می‌باشد. نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که تزریق سرب موجب کاهش معنی‌دار درصد اسپرم‌های متحرک موش صحرایی در مقایسه با سایر گروه‌های مورد مطالعه می‌گردد. در بسیاری از مطالعات مشابه نشان داده شده که در اثر تزریق سرب، تحرک اسپرماتوزوئیدها به طور معنی‌داری کاهش می‌یابند (Dorostghol et al. 2014, Hamadouche et al. 2013, Asadpour et al. 2013). در برخی مطالعات تأثیر سرب بر DNA اسپرم، درصد اسپرم‌های زنده و نابالغ نیز ارزیابی و تعیین شده است. نشان داده شده است که تزریق استات سرب موجب کاهش معنی‌دار درصد اسپرم-های زنده/مرده در موش‌های صحرایی می‌گردد (Asadpour et al. 2013, Hamadouche et al. 2013). تزریق استات سرب در مطالعه‌ی حاضر نیز موجب کاهش معنی‌دار درصد اسپرم‌های زنده/مرده در مقایسه با سایر گروه‌های آزمایش گردید. نتایج مطالعه‌ی حاضر در مورد درصد اسپرم‌های نابالغ افزایش معنی‌دار آن را تحت تأثیر سرب در مقایسه با سایر گروه‌ها نشان دهد. در مرحله‌ی اسپرمیوژنز، بیوسنتز چربی‌ها از اهمیت خاصی برخوردار است. همچنین، در این مرحله متراکم شدن کروماتین و جایگزینی پروتامین به جای هیستون (که در طی بلوغ اسپرم اتفاق می‌افتد) در اسپرم رخ می‌دهد (Komljenovic et al. 2009, Roquetra-Rivera et al. 2009). از طرفی، گزارش شده است استرس اکسیداتیو مکانیسم احتمالی سرب در ایجاد شرایط آسیب می‌باشد (Dorostghol et al. 2014). لذا می‌توان گفت که افزایش درصد اسپرم‌های نابالغ در مطالعه‌ی حاضر احتمالاً به دلیل استرس اکسیداتیو ناشی از تزریق سرب بوده است. نتایج به دست آمده در این تحقیق نشان داد که سرب اثری بر ساختار DNA اسپرم ندارد. به طوری که درصد اسپرم‌های با DNA سالم در گروه استات سرب در مقایسه با سایر گروه‌ها کاهش معنی‌داری نشان ندادند. Bounde و همکاران در سال ۲۰۰۲ با بررسی سطح سرب سرم کارگران شاغل در کارخانه‌های مرتبط با سرب و نیز بررسی شمارش اسپرم‌ها و ساختار DNA اسپرم‌ها بیان کردند که سرب عملاً تأثیری بر ساختار DNA اسپرم‌ها ندارد. در حالی که سرب موجب کاهش شمار اسپرم‌ها شده بود. شاید بتوان گفت که اثرات منفی سرب بر اسپرم‌ها بیش‌تر در حد ارگانل‌ها و غشای سیتوپلاسمی باشد. به طوری که نشان داده شده است که وقتی موش-های نر آلوده به سرب با موش‌های ماده‌ی بدون آلودگی به سرب جفت‌گیری کنند، تعداد جنین‌های جذب شده یا دارای ناهنجاری در مقایسه با جنین‌های حاصل از جفت-گیری زوج‌های غیرآلوده افزایشی را نشان نمی‌دهند. بدین ترتیب ظاهراً سرب بر ساختار DNA هسته‌ی اسپرم اثرات نامطلوبی برجای نمی‌گذارد (Johansson and Wide 1986).

مطالعه‌ی حاضر اولین تحقیق در مورد استفاده از عصاره‌ی جوانه‌ی گندم در جلوگیری از سمیت ناشی از سرب بر پارامترهای اسپرم می‌باشد. نتایج این تحقیق نشان داد که تجویز عصاره‌ی جوانه‌ی گندم وابسته به دوز در مدت ۳۵ روز می‌تواند اثرات مثبتی بر همه‌ی پارامترهای ارزیابی اسپرم داشته باشد. به طوری که در گروه‌های دریافت کننده‌ی عصاره‌ی شاهد افزایش معنی-دار تعداد، تحرک و درصد زنده بودن اسپرم‌ها و کاهش درصد اسپرم‌های نابالغ به نسبت سایر گروه‌ها بودیم. در حالی که تجویز هم‌زمان عصاره تا حدی توانست کیفیت

www.SID.ir

Archive of SID

اسپرم را با وجود تزریق سرب، ارتقاء و بهبود بخشد. اما کیفیت پارامترهای اسپرم در گروه‌های دریافت کننده‌ی هم‌زمان عصاره‌ی جوانه‌ی گندم و سرب در حد گروه کنترل ارتقاء نیافت. جوانه‌ی گندم غنی از ویتامین‌ها، مواد معدنی و ترکیبات فیتواستروژنی می‌باشد. اثرات مثبت مصرف جوانه‌ی گندم در درمان بیماری‌هایی از قبیل سرطان، دیابت، تنگی نفس، کم خونی، فشار خون بالا، اگزما، زخم‌ها و التهاب معده گزارش شده است. جوانه‌ی گندم دارای منیزیم، روی، کلسیم، ویتامین E، ویتامین C، اسید فولیک، تیامین، ریبوفلاوین، آهن، نیاسین و B_{12} است (Singh et al. 2012, Kumar et al. 2011). تاکنون به طور مستقیم تأثیر عصاره‌ی جوانه‌ی گندم بر آسیب‌های سیستم تناسلی نر و پارامترهای اسپرم ناشی از مواجهه با سرب گزارش نشده است. در حالی که اثرات مثبت بسیاری از ترکیبات جوانه‌ی گندم که در بالا ذکر گردید بر آسیب‌های سیستم تناسلی نر و پارامترهای اسپرم ناشی از مواجهه با سرب نشان داده شده است. ویتامین E آنتی اکسیدان قوی است که اثرات آن بر سیستم تناسلی و پارامترهای باروری اسپرم در نرهای مواجهه شده با سرب به اثبات رسیده است (Hamadouche et al. 2013, Asadpour et al. 2013). بنابراین اثرات مطلوب جوانه‌ی گندم بر کیفیت اسپرم در مطالعه‌ی حاضر، ممکن است به دلیل میزان ویتامین E آن باشد. گزارش شده است که عنصر روی می‌تواند از اثرات منفی استرس اکسیداتیو بر تعداد و تحرک اسپرم‌ها در موش‌های صحرایی جلوگیری کند. در اثر کمبود روی، انسجام غشای اسپرم از بین می‌رود و در نتیجه تحرک و زنده ماندن اسپرم کاهش می‌یابد (Amara et al. 2008, Ayinde et al. 2012). نتایج مطالعه‌ی Falcioni و همکاران در سال ۲۰۰۲ حاکی از آن است که ترکیبات آنتی اکسیدانی جدا شده از جوانه‌ی گندم از آسیب اکسیداتیو DNA در شرایط آزمایشگاهی (*In vitro*) جلوگیری می‌کنند. همچنین، Shan و همکاران در سال ۲۰۰۹ اثر اسکوربیک اسید و تیامین را در مدت ۶ هفته بر موش‌هایی که همزمان سرب را دریافت کردند، بررسی نمودند. آن‌ها نقش محافظتی اسکوربیک اسید و تیامین را در مقابل آسیب‌های ناشی از دریافت سرب شامل افزایش تعداد و تحرک اسپرم‌ها نسبت به گروه کنترل تأیید کردند. لذا می‌توان اثرات مطلوب جوانه‌ی گندم بر کیفیت اسپرم در مطالعه‌ی حاضر را به دلیل میزان تیامین و اسکوبیک اسید دانست.

در مجموع نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که عصاره‌ی جوانه‌ی گندم در بهبود و بالا بردن کیفیت اسپرم موش‌های صحرایی متعاقب تجویز استات سرب مؤثر است. اگرچه مکانیسم دقیق این تأثیرگذاری مشخص نیست اما می‌توان گفت که مکانیسم احتمالی تأثیرات منفی سرب، ایجاد شرایط استرس اکسیداتیو می‌باشد. انجام مطالعات بیش‌تر در خصوص مکانسیم فعالیت و نحوه‌ی عملکرد عصاره‌ی جوانه‌ی گندم و سرب بر پارامترهای باروری اسپرم و سیستم تناسلی نر ضروری هستند.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله بر خود لازم می‌دانند از جناب آقای دکتر حسین نجف‌زاده و سرکار خانم کیانی به خاطر همکاری در اجرای این طرح تقدیر و تشکر نمایند.

منابع

Amara, S.; Abdemelek, H.; Garrel, C.; Guiraud, P.; Douki, TH. and Ravanat, J.L. (2008). Preventive effect of zinc against cadmium-induced oxidative stress in the rat testis. Journal of Reproduction and Development, 54(2): 129-134.

Adhikari, N.; Sinha, N.; Narayan, R. and Saxena, D. (2001). Lead-induced cell death in testes of young rats. Journal of Applied Toxicology, 21(4): 275-277.

www.SID.ir

Archive of SID

Arrieta, M.A.; Bruzzone, L.; Apartin, C.; Rosenberg, C.E.; Fink, N.E. and Salibian, A. (2004). Biosensors of inorganic lead exposure and effect in an adult amphibian. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 46(2): 224-230.

Asadpour, A.; Shahbazfar, A.A.; Kianfard, D.; Azari, M. and Zaboli, N. (2013). Comparison of the protective effects of garlic (*Allium sativum L*) extract, vitamin E and N acetyl cystein on testis structure and sperm quality in rats treated with lead acetate. Revue de Medecine Veterinaire, 164 (1): 27-33.

Ayinde, O.C.; Oqunnowo, S. and Ogededbe, A. (2012). Influence of vitamin C and vitamin E on testicular zinc content and testicular toxicity in lead exposed albino rats. BMC Pharmacology and Toxicology, 13 (17): 1-8.

Batra, N.; Nehru, B. and Bansal, M.P. (2001). Influence of lead and zinc on rat male reproduction at biochemical and histopathological level. Journal of Applied Toxicology, 21(6): 507-512.

Benoff, S.; Jacob, A. and Hurley, R.I. (2000). Male infertility and environmental exposure to lead and cadmium. Human Reproduction Update. 6 (2): 107-121.

Bilandzic, N.; Sedak, M.; Vrataric, D.; Peric, T. and Simic, B. (2009). Lead and cadmium in red deer and wild boar from different hunting grounds in Croatia. Science of the Total Environment, 407: 4243-4247.

Bolin, C.M.; Basha, R.; Cox, D; Zawia, N.H.; Maloney, B.; Lahiri, D.K. and Cardozo-Pelaez F. (2006). Exposure to lead and the developmental origin of oxidative DNA damage in the aging brain. The FASEB Journal, 20(6): 788-790.

Bonfili, L.; Amici, M.; Cecarini, V.; Cuccioloni, M.; Tacconi, R.; Angeletti, M.; Fioretti, E.; Keller, J.N. and Eleuteri, A.M. (2009). Wheat sprout extract-induced apoptosis in human cancer cells by proteasomes modulation. Biochimie, 91(9): 1131-1144.

Bounde, J.P.; Joffe, M.; Apostoli, P.; Dale, A.; Kissp, P.; Spano, M.; Caruso, F.; Giwercman, A.; Bisanti, L.; Porru, S.; Vanhoorne, M.; Comhaire F. and Zschiesche, W. (2002). Sperm count and chromatin structure in men exposure to inorganic lead: lowest adverse effect levels. Occupational and Environmental Medicine, 59(4): 234-242.

Cullen, M.R.; Kayne, R.D. and Robins, J.M. (1984). Endocrine and reproductive dysfunction in men associated with occupational inorganic lead intoxication. Archives of Environmental Health, 39: 431-440.

Dexter, J.E. and Wood, P.J. (1996). Recent applications of debranning of wheat before milling. Trends in Food Science and Technology, 7: 35-41.

Dorostghoal, M.; Seyyednejad, S.M. and Jabari, A. (2014). Protective effects of *Fumaria parviflora L.* on lead-induced testicular toxicity in male rats. Andrologia, 46: 437–446.

Falcioni, G.; Fedeli, D.; Tiano, L.; Galzuola, I.; Mancinelli, L.; Marsili, V. and Gainfranceschi, G. (2002). Antioxidant activity of wheat sprouts extract In vitro: inhibition of DNA oxidative damage. Journal of Food Science, 67 (8): 2918-2922.

Hamadouche, N.A.; Sadi, N.; Kharoubi, O.; Slimani, M. and Aoues, A. (2013). The protective effect of vitamin E against genotoxicity of lead acetate intraperitoneal administration in male rat. Archives of Biological Science, 65 (4): 1435-1445.

Hu, H. (2000). Exposure to metals. Primary Care, 2: 983-996.

Johansson, L. and Wide, M. (1986). Long term exposure of the male mouse to lead: effects on fertility. Environmental Research, 41(2): 481-7.

Kakkar, P. and Jaffery, F.N. (2005). Biological markers for metal toxicity. Environmental Toxicology and Pharmacology, 19: 335-349.

Komljenovic, D.; Sandhoff, R.T.; Tiegler, A.; Heid, H.; Just, W.W. and Gorgas, K. (2009). Disruption of blood-testis barrier dynamics in ether-lipid-deficient mice. Cell and Tissue Research, 337(2): 281-299.

Kumar, P.; Yadava, R.K.; Gollen, B.; Kumar, S.; Verma, R.K. and Yadav, S. (2011). Nutritional contents and medicinal properties of wheat: A review. Life Sciences and Medicine Research, 22: 1-10.

Lee, S.H.; Lee, Y.M.; Lee, H.S. and Kim, D.K. (2009). Anti-oxidative and anti-hyperglycemia effects of *Triticum aestivum* wheat sprout water extracts on the streptozotocin-induced diabetic mice. Korean Journal of Pharmacognosy, 40(4): 1-9.

Marchlewicz, M.; Michalska, T. and Wiszniewska, B. (2004). Detection of lead-induced oxidative stress in the rat epididymis by chemiluminescence. Chemosphere. 57(10): 1553-1562.

www.SID.ir

Archive of SID

Markowitz, M. (2000). Lead poisoning: a disease for the next millennium. Current Problems in Pediatrics, 30 (3), 62-70.

Meistrich, M.L. (1989). Evaluation of reproductive toxicity by testicular sperm head counts. Journal of the American College of Toxicology, 8: 551-67.

Mishra, M. and Acharya, U.R. (2004). Protective action of vitamins on the spermatogenesis in lead-treated Swiss mice. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, 18(2): 173-178.

Mohan, Y.; Jesuthankaraj, G.N. and Ramasamy, T.N. (2013). Antidiabetic and antioxidant properties of *Triticum aestivum* in streptozotocin-induced diabetic rats. Advances in pharmacological sciences, 2013(1): 1-9.

Naha, N.; Bhar, R.; Mukherjee, A. and Chowdhury, A.R. (2005). Structural alteration of spermatozoa in the persons employed in lead acid battery factory. Indian Journal Physiology Pharmacology, 49: 153-162.

Peryt, B.; Szymcyzyk, T. and Lesca, P. (1992). Mechanism of antimutagenicity of wheat sprout extracts. Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis, 269(2): 201-215.

Piper, M.T. and Suzanne, M.D. (2012). Comparative Anatomy and Histology A Mouse and Human Atlas. Academic Press is an imprint of Elsevier, First edition, Pp: 290.

Rezvanfar, M.A.; Shahverdi, A.R.; Ahmadi, A.; Baeeri, M.; Mohammadirad, A. and Abdollahi, M. (2013). Protection of cisplatin-induced spermatotoxicity, DNA damage and chromatin abnormality by selenium nano-particles, Toxicology and Applied Pharmacology, 266: 356-365.

Rezvanfar, M.; Sadrkhanlou, R.; Ahmadi, A.; Shojaei-Sadee, H.; Mohammadirad, A.; Salehnia, A. and Abdollahi, M. (2008). Protection of cyclophosphamide-induced toxicity in reproductive tract histology, sperm characteristics, and DNA damage by an herbal source; evidence for role of free-radical toxic stress. Human & Experimental Toxicology, 27(12): 901-910.

Roqueta-Rivera, M.; Stroud, C.K.; Haschek, W.M.; Akare, S.J.; Segre, M.; Brush, R.S.; Agbaga, M.P.; Anderson, R.E.; Hess, R.A. and Nakamura, M.T. (2009). Docosahexaenoic acid supplementation fully restores fertility and spermatogenesis in male delta-6 desaturase-null mice. The Journal of Lipid Research, 51(2): 360-367.

Rubio, J.; Riqueros, M.I.; Gasco, M.; Yucra, S.; Miranda, S. and Gonzales, G.F. (2006). *Lepidium meyenii* (Maca) reversed the lead acetate induced-damage on reproductive function in male rats. Food and Chemical Toxicology, 44: 1114-1122.

Shalan, M.; Mostafa, M.; Hassouna, M.; El-Nabi, S.H. and El-Refaie, A. (2005). Amelioration of lead toxicity on rat liver with vitamin C and silymarin supplements. Toxicology, 206(1): 1-15.

Shan, G.; Tang, T. and Zhang, X. (2009). The protective effect of ascorbic acid and thiamine supplementation agairst damage caused by lead in the testes of mice. Journal of Huazhong University of Science and Technology, 29(1): 68-72.

Singh, N.; Verma, P. and Pandey, B.R. (2012). Therapeutic potential of organic *Triticum aestivum* Linn.(wheat grass) in prevention and treatment of chronic diseases: an overview. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research, 4(1): 10-4.

Sokol, R.Z. (1987). Hormonal effects of lead acetate in the male rat: mechanism of action. Biology of Reproduction, 37: 1135-1138.

Upasani, C.; Khera, A. and Balararnan, R. (2001). Effect of lead with vitan1in E, C, or *Spirulina* on malondialdehyde, conjugated dienes and hydroperoxides in rats. Indian Journal of Experimental Biology, 39: 70-74.

Watson, W.A.; Litovitz, T.L. and Klein-Schwartz, W.I. (2004). 2003 Annual report of the American association of poison control centers toxic exposure surveillance system. American Journal of Emergency Medicine, 22 (5), 335-404.

Yucebilgic, G.; Bilgin, R.; Tamer, L. and Tukel, S. (2003). Effects of lead on Na(+)-K(+) ATPase and Ca(+2) ATPase activities and lipid peroxidation in blood of workers. International Journal of Toxicology, 22: 95-97.

Zhu, K.X.; Zhou, H.M. and Qian, H.F. (2006). Comparative study of chemical composition and physicochemical properties of defatted wheat germ flour and its protein isolate. Journal of Food Biochemistry, 30: 329-341.

www.SID.ir

Archive of SID

Vol. 12, No. 3, Autumn, 2016

Effects of wheat sprout extract on the quality of sperm in rats exposed to lead

Morovvati, H.[1]; Moradi, H.R.[2]; Adibmoradi, M.[1]; Sheybani, M.T.[3]; Salar Amoli, J.[1] and Kalantari Hesari, A.[2]

Received: 21.04.2015 Accepted: 29.09.2015

Abstract

In recent years, the effects of lead have been shown on the male reproductive system and sperm fertility parameters. To treat of human problems and the pains, medicinal plants have been considered. The wheat sprout contains high amount of vitamins, minerals and phytoestrogens compounds. This study investigated the wheat sprout effects on sperm quality in rats exposed to lead. For this purpose, 30 healthy adult male Wistar rats (220 ±20 g) were divided randomly into six groups: G1 (Control group) received 1 ml/kg/day normal saline, G2 received 20 mg/kg/day lead acetate (intraperitoneally), G3 and G4 received 100 mg/kg/day and 200 mg/kg/day wheat sprout extract (orally) respectively, G5 and G6 received 100 mg/kg/day and 200 mg/kg/day wheat sprout extract (orally) respectively along with 20 mg/kg/day lead acetate (intraperitoneally). After 35 days, the rats were sacrificed using chloroform and sperm samples were taken from the caudal of the epididymis. Sperm total count, motility, viability, nuclear maturity, and DNA damage as the sperm quality parameters were determined. For statistical analysis, data were analyzed using SPSS 18 software. The results showed that sperm count, motility and viability were decreased and percentage of immature sperms was increased significantly following administration of the lead ($P<0.01$). In addition, sperm quality parameters were significantly improved by wheat sprout extract in a dose dependent manner ($P<0.01$). Results suggested that sperm quality in rats can be improved by wheat sprout extract following administration of lead acetate.

Key words: Wheat Sprout Extract, Lead, Sperm, Rat

1- Professor, Department of Basic Science, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran
2- PhD Student of Histology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran
3- Associate Professor, Department of Basic Science, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran
Corresponding Author: Morovvati, H., E-mail: hmorovvati@ut.ac.ir

www.SID.ir