مقاله تحقیقی

مجله دانشگاه علوم پزشکی بابل

دوره بیستم، شمارهٔ ۸، مرداد ۱۳۹۷، صفحه ۵۰-۴۴

مقایسه اثر عصاره آبی مرزنجوش (Origanum vulgar) و ویتامین C در کنترل آسیب کلرید کادمیوم در بافت بیضه موش صحرایی نر

مهدیه رئیس زاده (PhD)*[۱]، محمدمهدی فلاح (DVM)[۲]، احسان سلیمی ناغانی (PhD)[۱]

۱-گروه علوم پایه، واحد سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، ایران

۲-گروه دامپزشکی، واحد سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، ایران

دریافت: ۹۶/۷/۲۷، اصلاح: ۹۶/۱۲/۱۵، پذیرش: ۹۷/۱/۶

خلاصه

سابقه و هدف: کادمیوم یکی از آلایندهای موجود در اکوسیستم ها است. این فلز سنگین به عنوان یک توکسین بر سیستم تولیدمثل اثر گذاشته و سبب تخریب روند اسپرماتوژنز می‌شود. هدف از این مطالعه مقایسه تاثیر عصاره‌آبی مرزنجوش و ویتامین C بر آسیب کلریدکادمیوم در بافت بیضه می باشد.

مواد و روش‌ها: این مطالعه تجربی بر روی ۳۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار در ۵ گروه ۶ تایی انجام شد. گروه کنترل کلریدکادمیوم ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم تک دوز صفاقی، آزمایش اول کلریدکادمیوم به همراه ۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ویتامین C، آزمایش دوم، سوم و چهارم کلریدکادمیوم و عصاره‌آبی مرزنجوش ۱۲۵، ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم داخل صفاقی روزانه به مدت ۱۰ روز تجویز شد. در پایان دوره، حیوانات وزن‌گیری شدند. در نمونه سرم جداشده از خون قلب ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سرم و در بافت بیضه، مالون‌دی‌آلدئید اندازه‌گیری شد. بعد از رنگ‌آمیزی، سلول‌های بافت بیضه شمارش شد.

یافته ها: بیشترین غلظت مالون‌دی‌آلدئید در گروه کنترل ۱/۴±۰/۰۱۸ و کمترین در آزمایش چهارم ۰/۹۳±۰/۰۳۰ میکرومول بر میلی‌لیتر مشاهده شد. ظرفیت آنتی‌اکسیدان کمترین در کنترل ۷۹۶/۴۱±۴۰/۷۶ و بیشترین در آزمایش چهارم ۱۱۹۸/۹۱±۵۱/۴۵ میکرومول بر میلی‌لیتر بود. اختلاف آماری معنی‌داری در غلظت مالون‌دی‌آلدئید و ظرفیت آنتی‌اکسیدان بین آزمایش اول با آزمایش سوم دیده نشد(p=۰/۰۷۶). میانگین سلولهای بافت بیضه از جمله (سرتولی، اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت و لیدیک) در آزمایش سوم بیشترین تعداد و در کنترل کمترین تعداد بوده و این اختلاف معنی‌دار بود (p=۰/۰۴۸).

نتیجه گیری: براساس نتایج این مطالعه عصاره آبی مرزنجوش در کنترل آسیب استرس اکسیداتیو کادمیوم وارده به بیضه در دوز یکسان ۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عملکرد بهتری نسبت به ویتامین C خواهد داشت.

واژه‌های کلیدی: کادمیوم، استرس اکسیداتیو، بافت بیضه، ویتامینC، مرزنجوش.

مقدمه

کادمیوم یکی از آلایندهای موجود در اکوسیستم ها است. این فلز سنگین به عنوان یک توکسین بر سیستم تولیدمثل اثر گذاشته و سبب تخریب روند اسپرماتوژنز می‌شود. عملکرد تخریبی فلز کادمیوم با افزایش سطح رادیکال‌های آزاد و القای استرس اکسیداتیو انجام می‌شود(۱). تحقیقات گذشته در ارتباط با کادمیوم بیانگر هموراژی شدید، ادم و نکروز بافت بیضه است. از طرف دیگر، کاهش تعداد اسپرم، کاهش تحرک اسپرم و آسیب غیر قابل برگشت به اپیتلیوم ژرمینال در بیضه را نیز سبب خواهد شد (۳و۲). همچنین مشخص شده که کادمیوم می تواند سبب کاهش تولید هورمون تستوسترون نیز شود (۴). در مطالعه مروری که Kheradmandi و همکاران، اعلام شد که سموم مختلف روی اندام‌های تناسلی اثر سوء دارند. مواجهه با آلاینده‌ها و همچنین استرس‌های جسمی، باعث افزایش نرخ ناباروری می‌شود. تولیدات آنتی اکسیدانی به دلیل اینکه می‌توانند در برابر آلاینده‌ها و حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن واکنش نشان دهند، بسیار مورد توجه قرار گرفته اند. طی مطالعات جدید و معتبر، عناصری مثل ارسنیک، سیکلوفسفامید، کادمیوم، دیازینون و گوسیپول را باعث کاهش میزان تولید مثلی و آسیب به بافت‌های بدن دانسته اند. در نتیجه گیری کلی حاصل از بررسی منابع معتبر پروتکتیو های طبیعی موجود در گیاهان، میوه‌ها و مواد خوراکی جهت جلوگیری از آسیبِ سموم مختلف به دستگاه تولید مثلی پیشنهاد شده است(۵). گیاه مرزنجوش (Origanum vulgar) یک گیاه آروماتیک از خانواده نعناعیان است. در مطالعات پیشین به خواص آنتی اکسیدان و آنتی باکتریال آن اهمیت ویژه ای داده شده است(۷و۶). خواص آنتی‌اکسیدانی مرزنجوش اکثرا به وجود ترکیبات فنولیکی مانند اسید رزمارینیک، کوئرستین، کامفرول، کافئیک اسید و همولوگ‌های توکوفرول مربوط است، که از ترکیبات قوی پاک کننده رادیکال‌های آزاد محسوب می‌شوند (۸). ویتامین C از جمله

▣ این مقاله حاصل پایان نامه محمد مهدی فلاح دانشجوی دکتری دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد سنندج می باشد.

* مسئول مقاله: دکتر مهدیه رئیس زاده

آدرس: سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد سنندج، گروه علوم پایه. تلفن:۰۸۷-۳۳۲۸۸۶۶۱

E-mail: vet_mr@yahoo.com

[DOR: 20.1001.1.15614107.1397.20.8.6.8]

[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.20.8.44]

ویتامین‌های محلول در آب و مشتق گلوکز بوده که در واکنش‌های شیمیایی بدن یک حمل کننده الکترون و از مهم‌ترین آنتی‌اکسیدان‌ها است و در خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد و رفع استرس اکسیداتیو نقش دارد (۹). Vijayprasad و همکاران به تاثیرات محافظت کننده ویتامین C در برابر آسیب‌های ROS بر پارامترهای اسپرم موش سوری اشاره نمودند(۱۰). با توجه به پتانسیل‌های ویژه آنتی اکسیدانی عصاره مرزنجوش و ویتامین C در کنترل استرس های اکسیداتیو، هدف از این پژوهش مقایسه میزان اثربخشی عصاره مرزنجوش و ویتامین C در آسیب کلرید کادمیوم در بافت بیضه موش صحرایی بود.

مواد و روش ها

این مطالعه تجربی پس از تصویب در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی کردستان با کد IR.MUK.REC. ۱۳۹۷/۵۰۰۲ بر روی ۳۰ سر رت از جنس نر و نژاد Wistar با وزن ۳۰±۲۰۰ گرم که در حیوان خانه دانشکده دامپزشکی طی شرایط استاندارد نگه‌داری ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی بودند، انجام شد. آب سالم و کنسانتره استاندارد بدون محدودیت در اختیار حیوانات بود. این تحقیق منطبق با ضوابط بین‌المللی تحقیقات پزشکی در ارتباط با حیوانات که توسط شورای سازمان‌های بین‌المللی علوم پزشکی (CIOMS) و دارای کد اخلاق علوم پزشکی کردستان ۲۰۲۹ می باشد (۱۱)، انجام گردید.

موش‌های صحرایی به صورت تصادفی در ۵ گروه ۶ سری به ترتیب زیر تقسیم بندی و مورد آزمایش قرار گرفتند:

گروه کنترل: کلریدکادمیوم ساخت شرکت مرک (Lot number: FN1035040) ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم در روز دوم تک دوز داخل صفاقی و سپس سالین نرمال هم حجم با عصاره به مدت ۱۰روز صفاقی

گروه آزمایش اول: پیش درمان ویتامین C با دوز ۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سپس در روز دوم کلریدکادمیوم تک دوز و ادامه تا روز دهم ویتامین C روزانه صفاقی

گروه آزمایش دوم: پیش درمان عصاره آبی مرزنجوش ۱۲۵میلی‌گرم بر کیلوگرم سپس در روز دوم کلریدکادمیوم تک دوز و ادامه تا روز دهم روزانه صفاقی

گروه آزمایش سوم: پیش درمان عصاره آبی مرزنجوش ۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سپس در روز دوم کلریدکادمیوم تک دوز و ادامه تا روز دهم با دوز مشابه عصاره به صورت صفاقی

گروه آزمایش چهارم: پیش درمان عصاره آبی مرزنجوش ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم سپس در روز دوم کلریدکادمیوم تک دوز و ادامه تا روزانه به صورت داخل صفاقی تجویز کلرید کادمیوم تک دوز اما عصاره و ویتامین C روزانه به مدت ۱۰ روز داخل صفاقی انجام شد(۱۲). سپس در روز یازدهم موش‌ها با ترازوی دیجیتال (Precisa xb620C) وزن‌گیری شده، خون‌گیری از قلب حیوان انجام شد. با سانتریفیوژ g ۳۰۰۰ به مدت ۲۰ دقیقه سرم جداسازی شد و برای اندازه گیری غلظت آنتی اکسیدانی سرم (TCA) مورد استفاده قرار گرفت. سپس با اوردوز Overdose تیوپنتال حیوانات به روش انسانی معدوم شدند. بیضه چپ برای تهیه مقاطع بافتی و رنگ‌آمیزی هماتوکسین–ائوزین مورد استفاده قرار گرفت. شمارش سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیست‌ها (اولیه و ثانویه)، سلول‌های سرتولی و لیدیک سل‌ها با بزرگ نمایی ۱۰۰ در ۵ میدان میکروسکوپی انجام گردید. اعداد به دست آمده به صورت میانگین تعداد سلول‌ها در هر گروه در نظر گرفته شد.

همچنین از عصاره بافت بیضه راست هم برای اندازه‌گیری میزان مالون‌دی‌آلدئید Malondialdehyde (MDA) که محصول نهایی پراکسیداسیون لیپیدها است با کمک روش تیوباربیتوریک اسید استفاده شد (۱۳). به نحوی که به ۵۰۰ میکرولیتر بافت هموژنه شده ۱/۵ میلی لیتر تری کلرواستیک اسید (Sigma-Aldich, Germany) ۱۰ درصد ساخته شده اضافه و به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس ۱/۵ میلی لیتر از محلول رویی را برداشته به آن ۲ میلی لیتر اسید تیوباربیتوریک (Sigma-Aldich, Germany) ۶۷٪ ساخته شده اضافه و به مدت ۳۰ دقیقه در بن ماری جوش گذاشته سپس ۲ میلی لیتر بوتانول به آن اضافه و بعد از ورتکس شدید، به مدت ۱۵ دقیقه در ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ و سپس جذب محلول رویی صورتی رنگ را در طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد. غلظت مالون‌دی‌آلدئید با استفاده از ۱ و ۱ و ۳ و ۳ تترااتوکسی پروپان (Sigma-Aldich, Germany) به عنوان استاندارد تعیین و غلظت مالون دی آلدئید بر حسب میکرومول بر میلی‌لیتر محاسبه شد. محلول استاندارد مالون‌دی‌آلدئید در غلظت‌های ۲-۰/۲ میکرومولاردر اسید سولفوریک ۱۰ درصد تهیه شد(۱۳).

اندازه‌گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سرم: سنجش ظرفیت تام آنتی اکسیدانی ارائه شده توسط Benzie و همکاران با نام روش Ferric-reducing ability of plasma (FRAP) انجام شد. در pH اسیدی، زمانی که کمپلکس FeIII-2,4,6-Tri(2-pyridyl)-s-triazine(TPTZ) به FeII احیا می گردد تولید رنگ آبی می‌نماید. و جذب نوری آن در ۵۹۳ نانومتر خوانده شد. سپس با استفاده از نمودار استاندارد غلظت ۱۰۰۰-۱۰۰ میکرومول بر میلی‌لیتر سولفات آهن مقدار ظرفیت آنتی اکسیدانی تام سرم اندازه گیری شد(۱۴).

روش تهیه عصاره آبی مرزنجوش: بعد از جمع آوری برگ مرزنجوش از اراضی کشاورزی کرمانشاه و تایید مرکز هرباریوم دانشگاه کردستان، برگ ها در سایه خشک شد. سپس با آسیاب به صورت پودر درآمد. به نسبت وزنی–حجمی ۱/۱۰۰ با آب گرم ۹۰ درجه مخلوط شد. سپس در حمام آب گرم ۴۵درجه به مدت ۲۰ دقیقه نگه داری شد. سپس صاف شد. در حمام آب گرم برای تغلیظ و سپس در فور ۳۷ درجه نگه‌داری شد. بعد از خشک شدن کامل درصد رطوبت سنجش شد. غلظت های مختلف عصاره ۱۲۵، ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم مورد تزریق صفاقی قرار گرفت (۱۵). ویتامین C آمپول تزریقی با دوز ۲۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم داخل صفاقی به گروه مربوطه تزریق شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها: داده های به دست آمده از اطلاعات هیستومورفومتریک بیضه ها (قطر و وزن)، سلول شناسی، غلظت مالون دی آلدئید و ظرفیت آنتی اکسیدانی تام سرم با کمک آنالیز واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) و آزمون تعقیبی توکی (Tukey) با استفاده از نرم افزار SPSS21 مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت و $p<0/05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

اختلاف آماری معنی‌داری بین وزن موش‌ها در روز اول وجود نداشت. اما در روز آخر مطالعه کمترین وزن مربوط به گروه کنترل (کلریدکادمیوم) و بیشترین وزن حیوان در گروه آزمایش سوم (دریافت عصاره ۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) مشاهده شد. به نحوی که اختلاف وزن بین گروه کنترل با سایر گروههای ازمایش معنی‌دار شد ($p=0/045$)(جدول ۱). متوسط وزن بیضه راست و چپ در گروه کنترل بیشتر

[DOR: 20.1001.1.15614107.1397.20.8.6.8]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.20.8.44]

ولی قطر بیضه راست و چپ کمترین میزان را در گروه کنترل نشان داد. اگر چه این تغییرات با سایر گروه‌های آزمایش معنی دار نبود (p>۰/۰۵) (جدول ۲).

جدول ۱. میانگین وزن روز اول و آخر حیوانات در گروه‌های مختلف مورد مطالعه

وزن موش گروه‌ها	در روز اول (گرم) Mean±sem	در روز آخر (گرم) Mean±sem
کنترل	[a] ۲۱۴/۶۶±۱/۲۸	[a] ۱۹۵/۶۶±۰/۷۶
آزمایش اول	[a] ۲۲۰/۶۶±۳/۹۰	[b] ۲۱۹/۳۳±۳/۹۰
آزمایش دوم	[a] ۲۳۲±۵/۵۱	[b] ۲۲۷/۳۳±۴/۷۵
آزمایش سوم	[a] ۲۲۴/۳۳±۲/۹۲	[b] ۲۳۰/۳۳±۴/۰۲
آزمایش چهارم	[a] ۲۲۲±۶/۷۰	[b] ۲۱۷±۰/۹۶

حروف لاتین غیرمتشابه به صورت ستونی نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار است p<۰/۰۵

جدول ۲. میانگین وزن بیضه راست و چپ و قطر آنها در حیوانات مورد مطالعه در گروههای مختلف

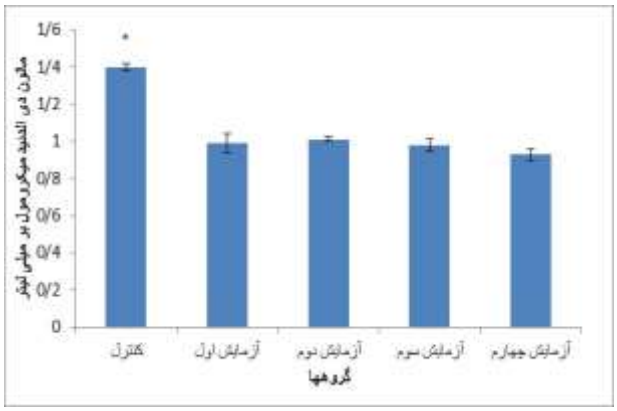
بیضه گروه	وزن راست (گرم) Mean±sem	وزن چپ (گرم) Mean±sem	قطر راست (سانتی متر) Mean±sem	قطر چپ (سانتی متر) Mean±sem
کنترل	۰/۷۵±۰/۰۶۲	۰/۷۹±۰/۰۶۶	۱/۲۰±۰/۰۳۶	۱/۲۰±۰/۰۳۶
اول	۰/۶۴±۰/۰۳۲	۰/۶۵±۰/۰۳۰	۱/۲۰±۰/۰۷۳	۱/۳۳±۰/۰۹۱
دوم	۰/۶۴±۰/۰۲۰	۰/۶۷±۰/۰۲۳	۱/۳۳±۰/۰۲۱	۱/۴۳±۰/۰۸۴
سوم	۰/۷۵±۰/۰۶۰	۰/۷۲±۰/۰۳۹	۱/۳۰±۰/۰۳۶	۱/۳۰±۰/۰۳۶
چهارم	۰/۷۴±۰/۰۶۷	۰/۶۹±۰/۰۴۳	۱/۲۶±۰/۰۵۵	۱/۳۶±۰/۰۴۲

در ارتباط با مالون‌دی‌آلدئید بیشترین غلظت در گروه کنترل دریافت کننده کلریدکادمیوم با متوسط ۱/۴±۰/۰۱۸ میکرومول بر میلی لیتر و کمترین در گروه چهارم با ۰/۹۳±۰/۰۳۰ میکرومول بر میلی لیتر شد اختلاف آماری معنی‌داری بین گروه کنترل با کلیه گروه‌های تحت آزمایش وجود داشت (p=۰/۰۴۲).

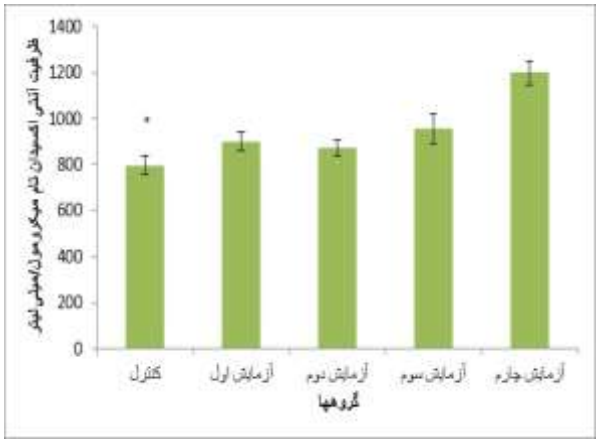
در گروه آزمایش اول و آزمایش سوم به ترتیب غلظت مالون‌دی‌آلدئید ۰/۹۹±۰/۰۵۰و ۰/۹۸±۰/۰۳۴ میکرومول بر میلی‌لیتر بوده که اختلاف آماری معنی‌داری نداشت (نمودار ۱). ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام سرم در گروه ازمایش چهارم بیشترین غلظت ۱۱۹۸/۹۱±۵۱/۴۵ و در گروه کنترل ۷۹۶/۴۱±۴۰/۷۶ میکرومول بر میلی‌لیتر کمترین غلظت را داشت.

در ارتباط با ظرفیت آنتی اکسیدانی تام سرم در گروه دریافت ویتامین C و عصاره مرزنجوش ۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ۹۰۰/۵۸±۴۲/۵۴ و ۹۵۵/۴۱±۶۶/۷۵ میکرومول بر میلی لیتر بود. اگر چه در گروه عصاره مرزنجوش بیشتر از ویتامین C شد اما این اختلاف معنی دار نبود.

براساس نتایج موجود بیشترین سلولهای سرتولی به عنوان سلولهای مقاوم و پشتیبان بافت بیضه در گروه آزمایش سوم با میانگین حدود ۱۲/۰۲±۰/۷۳، سپس گروه آزمایش اول و چهارم برابر با ۷/۶۶±۰/۴۲ و ۷/۰۱±۰/۷۳ است. اختلاف اماری بین گروه سوم با سایر گروهها دیده شد(p=۰/۰۳۴). سلولهای اسپرماتوگونی (رده اول سلولهای جنسی) به ترتیب بیشترین به کمترین در گروههای آزمایش سوم، چهارم، اول، دوم و کنترل با میانگین ۲۸±۱/۳۱، ۱۷/۶۶±۰/۹۱، ۱۲/۶۶±۱/۱۱، ۱۱/۶۶±۰/۴۲، ۱۱/۳۳±۰/۵۵ دیده شد.



نمودار ۱. بررسی تغییرات غلظت مالون دی آلدئید در بافت بیضه موش های صحرایی مورد مطالعه. *اختلاف آماری معنی داری را با سایر گروهها نشان می دهد



نمودار ۲. بررسی تغییرات ظرفیت آنتی اکسیدانی تام سرم در موش های صحرایی مورد مطالعه. *اختلاف آماری معنی داری را با سایر گروهها نشان می دهد.

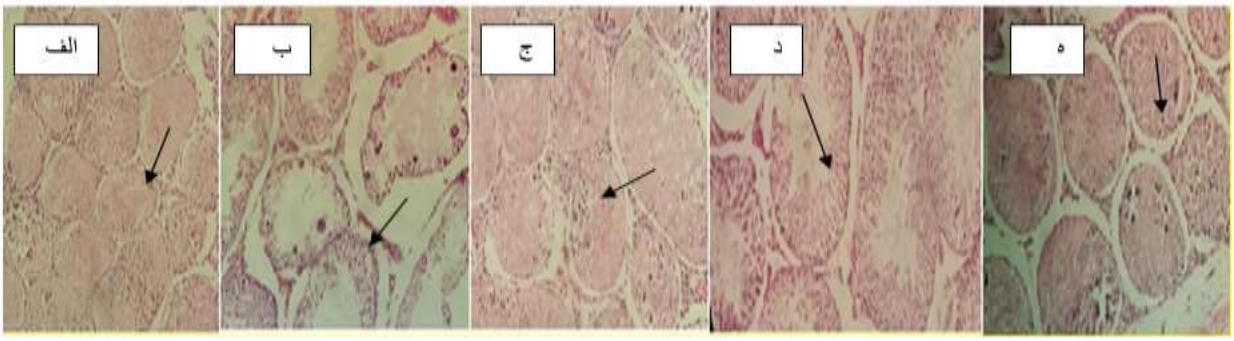
تغییرات میانگین در گروه آزمایش سوم با سایر گروهها معنی دار شد (p=۰/۰۳۸) در حالیکه این اختلاف بین گروه کنترل، آزمایش اول و دوم معنی دار نبود. در ارتباط با سلولهای اسپرماتوسیت که شامل اسپرماتوسیت اولیه و ثانویه بود بیشترین تعداد اسپرماتوسیت‌ها در گروه آزمایش سوم ۳۶/۶۷±۱/۷۲، گروه آزمایش چهارم برابر با ۱۷/۳۳±۰/۲۱، گروه آزمایش دوم با میانگین ۱۳/۰۳±۰/۷۳، گروه آزمایش اول برابر با ۸/۳۳±۰/۵۵ و سپس گروه کنترل ۷/۳۳±۰/۴۲ شد. اختلاف آماری معنی دار بین گروه عصاره ۲۵۰ مرزنجوش با سایر گروهها دیده شد (p=۰/۰۴۱). در ارتباط با سلول‌های لیدیک کمترین تعداد در گروه کنترل با میانگین ۴۲۳/۸۳±۷/۶۱ و بیشترین میانگین تعداد در گروه آزمایش سوم برابر ۵۸۵/۰۰±۳/۹۲ مشاهده شد. میانگین سلولهای لیدیک در گروه آزمایش سوم با سایر گروههای آزمایش و کنترل معنی دار شد (p=۰/۰۴۳).

[DOR: 20.1001.1.15614107.1397.20.8.6.8]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.20.8.44]

جدول ۳. Mean±sem سلولهای مختلف بافت بیضه در گروه‌های مختلف مورد آزمایش

پارامترها / گروه‌ها	سرتولی Mean±SD	اسپرماتوگونی Mean±SD	اسپرماتوسیت‌ها Mean±SD	سلول‌های لیدیک Mean±SD
کنترل	^{a} ۶/۰۰±۰/۳۶	^{a} ۱۱/۳۳±۰/۵۵	^{a} ۷/۳۳±۰/۴۲	^{a} ۴۲۳/۸۳±۷/۶۱
اول	^{a} ۷/۶۶±۰/۴۲	^{a} ۱۲/۶۶±۱/۱۱	^{a} ۸/۳۳±۰/۵۵	^{a} ۴۵۷/۸۳±۱۱/۱۸
دوم	^{c} ۲/۳۳±۰/۲۱	^{a} ۱۱/۶۶±۰/۴۲	^{b} ۱۳/۰۳±۰/۷۳	^{a} ۴۹۳/۳۳±۶/۲۹
سوم	^{b} ۱۲/۰۲±۰/۷۳	^{b} ۲۸/۰۰±۱/۳۱	^{c} ۳۶/۶۷±۱/۷۲	^{b} ۵۸۵/۰۰±۳/۹۲
چهارم	^{a} ۷/۰۱±۰/۷۳	^{c} ۱۷/۶۶±۰/۹۱	^{d} ۱۷/۳۳±۰/۲۱	^{a} ۴۹۸/۱۶±۲/۷۴

حروف لاتین غیرمتشابه به صورت ستونی نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار است p<۰/۰۵



شکل ۱. رنگ آمیزی H&E بزرگنمایی 4x : به ترتیب از چپ به راست گروه کنترل (الف) (کاهش شدید رده های سلولی)، گروه آزمایش اول (ب)، گروه آزمایش دوم (ج). گروه آزمایش سوم (د) (افزایش رده های سلولی بیش از سایر گروهها). گروه ازمایش چهارم (ه).

بحث و نتیجه گیری

براساس نتایج به دست آمده کمترین وزن موش در روز آخر در گروه دریافت کلریدکادمیوم بود و در ارتباط با اطلاعات هیستومورفومتریک بیضه ها کمترین قطر بیضه به گروه دریافت کادمیوم اختصاص داشت. با توجه به سمیت و اثرات اتروفیک کادمیوم بر بیضه‌ها و بدن، این مسئله قابل توجیه می‌باشد. در خصوص غلظت مالون‌دی‌آلدئید اختلاف آماری معنی‌داری بین گروه کنترل با سایر گروهها دیده شد. در خصوص ظرفیت آنتی‌اکسیدان سرم بین گروه دریافت عصاره در دوز ۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و ویتامین C با دوز یکسان اختلاف معنی‌دار نشد. اما با افزایش غلظت عصاره در ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم این میزان دارای اختلاف آماری معنی‌داری شد. میانگین سلولهای رده اسپرماتوژنز در موش صحرایی براساس نتایج به دست آمده بیشترین میانگین تعداد سلولهای رده اسپرماتوژنز مربوط به عصاره ۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بوده و این اختلاف با سایر گروه‌های آزمایش معنی‌دار بود. در تحقیق مروری Adewoyin و همکاران اسیدهای چرب دارای باندهای دوگانه در غشاء اسپرماتوزوئیدها را حساس به رادیکال‌های آزاد اکسیژن دانستند و ترکیباتی مانند ویتامین C,E و کاروتنوئیدها و کارنتین را جز ترکیبات موثر و آنتی‌اکسیدان خارج بدن در مقابل گونه‌های اکسیژن تک الکترونی و کنترل کننده پراکسیداسیون چربی‌های غشاء اسپرماتوزوئیدها و جلوگیری از ناباروری جنس نر دانستند (۱۶). در پژوهش El-Demerdash و همکاران با عنوان تاثیر ویتامین C و E در روند اسپرماتوژنز در موش سوری مواجه شده با کادمیوم به این نتیجه رسیدند که موش‌های سوری دریافت کننده ویتامین C و E غلظت اسپرم بیشتر، کاهش پراکسیداسیون چربی، کاهش اسپرم‌های غیرطبیعی و همچنین افزایش سطح آنتی‌اکسیدان درون تن را نسبت به گروه دریافت کننده کادمیوم نشان دادند (۱۷).

در مطالعه Emadi و همکاران ویتامین C را با اثرات آنتی‌اکسیدانی عامل موثر و حمایت کننده در خصوص جلوگیری از آسیب ناشی از رادیکال‌های آزاد و دما در عارضه نهان بیضه‌ای در موش دانستند(۱۸). Ognjanović و همکاران به بررسی تاثیر ویتامین E و کوآنزیم Q10 در استرس اکسیداتیو کادمیوم در موش پرداختند. آنان مسمومیت با کادمیوم را سبب کاهش سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوتاتیون و همچنین کاهش غلظت ویتامین C درون سلولی دانستند. به نحوی که اعلام کردند تجویز ویتامین E و کوآنزیم Q10 اثربخشی قوی بر علیه استرس اکسیداتیو کادمیوم در موش از خود نشان داد (۱۹).

نتایج مطالعه اخیر در کنترل استرس اکسیداتیو بافت بیضه در زمان تجویز ویتامین C نسبت به گروه کنترل در راستای تحقیقات انجام شده فوق الذکر بود. در مطالعه ای Mostafavi و همکاران به این نتیجه رسیدند که عصاره مرزنجوش باعث حفظ کیفیت اسپرم در برابر اثرات نامطلوب مسمومیت با مس شود (۲۰). در مطالعه Ghorbani Ranjbary و همکاران که بر روی تاثیر عصاره مرزنجوش وحشی بر سطح گنادوتروپین و هورمون تستوسترون انجام شد، دوز ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم به مدت ۲۸ روز سبب افزایش سطح هورمون ها و اثر بر روی اسپرم و باروری شد(۲۱).

Balubaid در خصوص اثرات حفاظتی مرزنجوش برعلیه مسمومیت با کادمیوم در بیضه موش سوری به این نتیجه رسیدند که در گروه استفاده از مرزنجوش با دوز ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت ۶۰ روز غلظت اسپرم و غلظت هورمون تستوسترون مشابه گروه کنترل اما مقداری بیشتر بود. در گروه تجویز توام مرزنجوش و کلریدکادمیوم غلظت اسپرم و تستوسترون کمی بیشتر از گروه دریافت کننده کلرید کادمیوم و کمتر از گروه کنترل شد. به نحوی که می‌توان نتیجه گرفت

[DOR: 20.1001.1.15614107.1397.20.8.6.8]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.20.8.44]

در صنعت باید فلز کادمیوم را به سبب اثرات ناباروری قوی حذف و موارد دیگر فلزی جایگزین شود. هر چند می‌توان به اثر حفاظتی مرزنجوش در مقابل کادمیوم امیدوار بود (۲۲). در پژوهش Fallah و همکاران تاثیر عصاره مرزنجوش در دوز مناسب سبب کنترل استرس اکسیداتیو و بهبود شرایط اسپرماتوژنز و باروری شد (۲۳). در این مطالعه دوز ۲۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره مرزنجوش مناسب ترین دوز در کنترل اثرات اکسیداتیو کادمیوم در روند اسپرماتوژنز بود. براساس مطالعه اخیر دوز مشابه ویتامین C پتانسیل کمتری را در کنترل استرس اکسیداتیو و بهبود شرایط اسپرماتوژنز در موش صحرایی نسبت به عصاره مرزنجوش نشان داد. در مطالعه Kazami و همکاران اشاره به تغییرات FSH شده است که با دوزهای ۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت خوراکی عصاره اتانولی مرزنجوش تغییرات هورمون به ترتیب ۰/۰۳۱±۰/۳۸۳ و ۰/۰۲۶±۰/۳۷۲ بوده است به نحوی که در دوز ۴۰ میلی‌گرم میزان هورمون کاهش یافته و احتمالا می‌تواند تاثیر بر اسپرماتوژنز نیز داشته باشد. هر چند مدت مطالعه و سریال دوز استفاده شده متفاوت و همچنین نوع عصاره نیز اتانولی می‌باشد که با مطالعه اخیر متفاوت بود (۲۴). در ارتباط با فاکتور استرس اکسیداتیو بر اساس نتایج تحقیق بیشترین غلظت مالون دی الدئید در گروه کنترل و کمترین در گروه آزمایش چهارم بود. در حالیکه بیشترین ظرفیت آنتی اکسیدانی در گروه آزمایش چهارم دیده شد. به نحوی که افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی سبب کاهش غلظت مالون دی الدئید شده است. البته این تاثیر کاملا مثبت بر روند اسپرماتوژنز نبوده است. چرا که غلظت آنتی‌اکسیدان ها در دوز مناسب می تواند مطلوب و غیر توکسیک باشد. در تایید نتایج اندازه گیری غلظت آنزیم های سوپراکسیددیسموتاز، کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز و همچنین پروفایل هورمونی نیز می تواند تکمیل کننده مطالعه اخیر باشد. با توجه به نتایج گرفته شده از بافت شناسی بیضه و فاکتورهای استرس اکسیداتیو می‌توان به موثربودن عصاره مرزنجوش نسبت به ویتامین C در دوز ۲۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم دست یافت. با انجام مطالعات جامع‌تر می‌توان از پتانسیل‌های ویژه این عصاره در ساخت داروهای تقویت باروری در جنس نر استفاده کرد.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد سنندج و همچنین از خانم مهندس شفیعی کارشناس آزمایشگاه تحقیقاتی دانشکده به سبب همکاری در انجام پژوهش تشکر و قدردانی می گردد.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1397.20.8.6.8]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.20.8.44]

The Comparison of the Effect of Origanum Vulgar Aqueous Extract and Vitamin C on the Control of Cadmium Chloride Damage in Testicular Tissue in Male Rats

M. Raeeszadeh (PhD)*[1], M.M. Fallah (DVM)[2], E. Salimi Naghani (PhD)[1]

1. Department of Basic Sciences, Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, I.R.Iran
2. Department of Veterinary, Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, I.R.Iran

J Babol Univ Med Sci; 20(8); Aug 2018; PP: 44-50
Received: Oct 19th 2017, Revised: Mar 6th 2018, Accepted: Mar 26th 2018.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Cadmium is one of the pollutants in ecosystems. This heavy metal as a toxin affects the reproductive system and causes the destruction of the spermatogenesis process. The aim of this study was to compare the effect of *Origanum vulgar* aqueous extract and vitamin C on cadmium chloride damage in testicular tissue.

METHODS: This experimental study was performed on 30 wistar male rat in four groups of six rats. The control received Cadmium 2 mg/kg of single dose intraperitoneal, T1 group received cadmium with vitamin C 250 mg/kg. T2, T3 and T4 groups received cadmium and aqueous extract of Marjoram at 125, 250 and 500 mg/kg, respectively for 10 days intraperitoneal. At the end of the period, the animals were weighed. Serum antioxidant level and malondialdehyde in testis tissue were measured. In addition, after staining were counted calls in testicular tissue.

FINDINGS: The highest concentration of MDA was observed in the control group at 1.4±0.018 and the lowest in the T4 at 93.03±0.30 µmol/ml. The lowest antioxidant capacity in control was 796.41±40.76 and the highest in T4 group was 1198.91±51.45 µmol/ml. There was no statistically significant difference in the concentration of MDA and TCA between T1 and T3 groups (p=0.076). However, the mean of testicular tissue cells (sertoli, spermatogonia, spermatocytes and laydic) in T3 was the highest and lowest mean in control group and the difference was significant (P=0.048).

CONCLUSION: According to results of this study, Marjoram aqueous extract in controlling oxidative stress damage in the same dose 250 mg/kg has a better performance than vitamin C.

KEY WORDS: *Cadmium, Oxidative stress, Testicular tissue, Vitamin C, Origanum vulgar.*

Please cite this article as follows:

Raeeszadeh M, Fallah MM, Salimi Naghani E. The Comparison of the Effect of Origanum Vulgar Aqueous Extract and Vitamin C on the Control of Cadmium Chloride Damage in Testicular Tissue in Male Rats. J Babol Univ Med Sci. 2018;20(8):44-50.

***Corresponding Author: M. Raeeszadeh (PhD)**
Address: Department of Basic Sciences, Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, I.R.Iran
Tel: +98 87 33288661
E-mail: vet_mr@yahoo.com

[DOR: 20.1001.1.15614107.1397.20.8.6.8]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.20.8.44]

References

1.Skolarczyk J, Budzyński M, Pekar J, Małecka-Massalska T, Skórzyńska-Dziduszko K. The impact of cadmium on male infertility. J Elem. 2017; 22(2):35-44.

2. Aziz DM. Assessment of bovine sperm viability by MTT reduction assay. Anim Reprod Sci 2006; 92(1-2): 1-8.

3. Aitken RJ, Baker MA. Oxidative stress, sperm survival and fertility control. Mol Cell Endocrinol. 2006; 250(1-2): 66-9.

4. Bernard A. Cadmium & its adverse effects on human health. Indian J Med Res. 2008;128(4): 557-64.

5. Kheradmandi R, Jorsaraei S. The Effect of Protective Factors on Induced Toxins in Genital Organs. J Babol Univ Med Sci. 2017; 19(10): 48-56.

6. Roofchaee A, Irani M, Ebrahimzadeh MA, Akbari MR. Effect of dietary oregano (Origanum vulgare L.) essential oil on growth performance, cecal microflora and serum antioxidant activity of broiler chickens. Afr J Biotechnol. 2011; 10(32): 6177-83.

7. Skoula M, Grayer RJ, Kite GC, and Veitch NC. Exudate flavones and flavanones in Origanum species and their interspecific variation. Biochem Syst Ecol. 2008; 36(8): 646–54.

8. Cervato G, Carabelli M, Gervasio S, Citterra A, Cazzola R, Cestaro B. Antioxidant properties of oregano (Origanum Vulgare) leaf extracts. J Food Biochem. 2000; 24(6): 453-65

9. Aly N, El-Gendy K, Mahmoud F, El-Sebae AK. Protective effect of vitamin C against chlorpyrifos oxidative stress in male mice. Pestic Biochem Physiol. 2010; 97(1):7-12.

10. Vijayprasad S, Bb G, Bb N. Effect of Vitamin C on Male Fertility in Rats Subjected to Forced Swimming Stress. J Clin Diagn Res. 2014; 8(7): HC05–C08.

11. Albus U. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. 8th ed. USA: The National Academies Press; 2011: 11-40.

12. Sen Gupta R, Sen Gupta E, Dhakal BK, Thakur, Ahnn J. Vitamin C and vitamin E protect the rat testes from cadmium-induced reactive oxygen species. Mol Cells 2004; 17(1): 132-39.

13. Satoh K. Serum lipid peroxide in cerebrovascular disorders determined by a new colorimetric method. Clin Chim Acta 1978; 90: 37-43.

14. Benzie IFF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: The FRAP assay. Analyt Biochem 1996 ; 239: 70-76.

15. Abbasnejad M, Mirtajadini M, Afarinesh M, Hassibi N. Evaluation of origanum leaves extract on spatial learning in male rats. J Physio Pharma. 2006; 10(2): 143-50.

16. Adewoyin M, Ibrahim M, Roszaman R, Isa MLM, Alewi NAM, Rafa AAA, et al. Male Infertility. The Effect of Natural Antioxidants and Phytocompounds on Seminal Oxidative Stress. Diseases. 2017 Mar 1;5(1). pii: E9.

17.El-Demerdash FM, Yousef MI, Kedwany FS, Baghdadi HH. Cadmium-induced changes in lipid peroxidation, blood hematology, biochemical parameters and semen qualityof male rats: protective role of vitamin E and beta-carotene. Food Chem Toxicol. 2004; 42(10): 1563-71.

18. Emadi L, Azar O, Gholipur H, Saeedi M. Effect of Vitamin C on epididymal sperm quality in the rat experimentaly induced unilateral cryptorchidism. Iran J Veterin Surg. 2012; 7(1-2): 63- 74.

19. Ognjanović BI, Marković SD, Ethordević NZ, Trbojević IS, Stajn AS, Saicić ZS. Cadmium-induced lipid peroxidation and changes in antioxidant deeense system in the rat testes: protective role of coenzyme Q(10) and vitamin E. Reprod Toxicol. 2010, 29(2): 191-7.

20. Mostafavi A, Sakhayee E.A, Abshanas J. Effect of Marjoram extract on the concentration of spermatic epidermis following copper poisoning in mice. [PhD Thesis]. Kerman: Shahid Bahonar Univ, 2013. Available from: https://ganj-old.irandoc.ac.ir/articles/660581. [In Persian]

21.Ghorbani Ranjbary A, Ghorbani Ranjbary N, Ghorbani Ranjbary Z, Jouibar F. Effects of Intraperitoneal Injection of Extracts of Origanum Vulgare on Gonadotropin and Testosterone Hormones in Male Wistar Rats. J Babol Univ Med Sci. 2014; 16(4):57-63. [In Persian]

22. Falah MM, Raeeszadeh M, Salimi Naghani E. The Different Doses of Aqueous Extract of Marjoram Effects on Spermatogenesis and Sperm Concentration in Cadmium-induced Oxidative Damage in Rats. J Shahid Sadoughi Univ Med Sci 2017; 25(3): 230-40. [In Persian]

23. Balubaid S.O.A. B. Protective Effect of Marjoram Plant against the Toxicity of Cadmium Chloride in Testes of Albino Rat. Biosci Biotech Res Asia 2010; 7(2): 667-74.

24.Kazemi P, jowhary H, Sharifi E, Zeraat-Pishe A. Androgenic Effect of Origanum vulgarel L.spp viride extract on Hormone Level of Pituitary - gonadal Axis in Mature Male Vistar Rats. Arak Med Univ J. 2012; 14(59): 89-96.[In Persian]

[DOR: 20.1001.1.15614107.1397.20.8.6.8]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.20.8.44]