

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 Rahimi¹

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

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

***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

تأثیر آنتی اکسیدانتی مرزه خوزستانی بر باروری و رشد جنین‌های حاصل از لقاح داخل آزمایشگاهی موش‌های سوری نر بالغ تحت درمان با نانیل فنل

عباس احمدی^{۱*}، پریسا رحیمی^۱

چکیده

زمینه و هدف: نونیل فنل 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 تیمار شده با نونیل فنل 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 (دریافت کننده روغن ذرت)، گروه دریافت کننده نونیل فنل (دوز ۲۵۰ میلی گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن) و گروه دریافت کننده نونیل فنل (دوز ۲۵۰ میلی گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن) + اسانس مرزه خوزستانی (دوز ۲۲۵ میلی گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن) تقسیم شدند (هر گروه ۸ قطعه)، سپس به مدت ۳۵ روز تیمار دهانی با گاوآذ صورت گرفت. پس از اتمام دوره تیمار، حیوانات آسان کشی و نمونه اسپرم از دم ایدیدیم گرفته شد. به‌ازای هر موش نر، ۳ موش ماده در نظر گرفته شد. سپس به‌وسیله PMSG و HCG، تحریک تخمک گذاری جهت گرفتن تخمک صورت گرفت. با انجام لقاح در محیط کشت (۴ میلی گرم BSA به‌اضافه HTF)، تخمک‌های لقاح یافته 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 نونیل فنل نسبت به گروه‌های کنترل و تجربی، همچنین افزایش معنی دار این پارامترها در گروه تجربی نسبت به نونیل فنل داشت. **نتیجه گیری:** نتایج این مطالعه نشان داد ساتوره جابخوزستانی به‌عنوان یک آنتی اکسیدانت می‌تواند باعث کاهش اثرات سمی نونیل فنل بر روی میزان باروری موش‌های نر بالغ شود. **کلیدواژه‌ها:** نونیل فنل، اسپرماتوزوئیدها، بارورسازی آزمایشگاهی.

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

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]

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 نانیل فنل (مختل کننده سیستم اندوکرینی EDCs) می‌باشد (۲).

NP (Para-Nonylphenol) محصول نهایی حاصل تجزیه APEs (Alkylphenols Polyethoxylates) بوده (۳)، که به‌صورت گسترده در شوینده‌ها، رنگ‌ها، رزین‌های فنلی (Phenolic Resin) و حشره‌کش‌ها استفاده می‌شود. سطوح NP (از ۲۱۱-۱/۸۲ نانوگرم بر گرم در پلاسما) می‌تواند اختلالات اندوکرینولوژی، ایمنی و تولیدمثلی ایجاد کند (۴، ۵). علاوه بر این، 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 آنتی اکسیدانی خود (شامل آنزیم‌ها، ویتامین‌ها و برخی از مولکول‌های آنتی اکسیدان) یک تعادل بین تولید و تخریب ROS ایجاد کنند و بدین طریق از آسیب‌های اکسیداتیو در امان باشند. اما گاهی این تعادل به هم خورده و ROSها بیش از حد تولید شده که منجر به آسیب اکسیداتیو بافت‌ها می‌شود (۷). یکی از مهم‌ترین منابع آنتی اکسیدانتی طبیعی، ترکیبات فنلی موجود در گیاهان است. ساتوره جاکوزستانی (مرزه خوزستانی)، یک گیاه بومی از خانواده لامیسه بوده که به فراوانی در مناطق جنوبی ایران رشد و گسترش یافته و به علت کاربردهای درمانی آن در پزشکی

ستی و بومی به‌عنوان یک ماده ضدعفونی‌کننده و نیز ضد درد شناخته شده است (۸). در سال‌های اخیر، وجود ترکیبات مختلف در اسانس روغنی ساتوره جاکوزستانی شامل: کاواکرو، پی‌سایمین و فلاونوئیدها مورد شناسایی قرار گرفت (۹، ۱۰). تجویز خوراکی اسانس روغنی ساتوره جاکوزستانی در رت‌ها باعث بروز اثرات عمده و مشخص آنتی اکسیدانتی، ضد دیابتی، ضد افزایش چربی خون، همچنین اثرات محرک و تقویت‌کننده سیستم تولیدمثلی می‌شود. علاوه بر این، در رت‌های ماده‌ای که ساتوره جاکوزستانی را دریافت می‌کنند پس از طی دوران آبستنی، در تعداد مناطق لانه‌گزینی جنینی، همچنین تعداد جنین‌های متولد شده، افزایش معنی‌داری قابل مشاهده است (۱۱). مطالعات نشان داده‌اند تجویز ساتوره جاکوزستانی باعث بهبود بیماری التهابی روده‌ها (IBD) از طریق کاهش بیومارکرهای استرس اکسیداتیو در موش‌های آزمایشگاهی می‌شود (۱۲). در توضیح اثرات محرک و تقویتی ساتوره جاکوزستانی بر باروری، نتایج یک مطالعه نشان داد تجویز روزانه ۲۲۵ میلی گرم به‌ازای هر کیلوگرم 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 آنتی اکسیدانت قوی، همچنین تقویت‌کننده توان باروری، بر روی لقاح داخل آزمایشگاهی موش سوری نر بالغ تیمار شده با نونیل فنل 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 $22 \pm 2^\circ\text{C}$ ، 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.

در این مطالعه موش ها به طور تصادفی به سه گروه هشت تایی به شرح زیر تقسیم شدند:

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

پس از طی مدت زمان ۳۵ روز، موش ها جهت انجام لقاح آزمایشگاهی و کارهای بافتی آماده شدند. به منظور انجام لقاح آزمایشگاهی به ازای هر موش نر، سه موش ماده در نظر گرفته شد. تحریک تخمک گذاری موش های ماده با استفاده از تزریق ۱۰ واحد هورمون PMSG (ساخت شرکت Folligon، هلند) و ۴۶-۴۸ ساعت بعد، تزریق ۱۰ واحد هورمون HCG (ساخت شرکت Folligon، هلند) به حجم ۰/۱ میلی لیتر به روش داخل صفاقی صورت گرفت. روز پیش از لقاح، محیط کشت های لازم برای انجام عمل لقاح آماده شد و جهت به تعادل رسیدن به مدت ۱۲ ساعت در انکوباتور با ترکیب گازی دی اکسید کربن ۵٪ و دمای ۳۷ درجه سانتیگراد قرار گرفتند. هر دیش لقاح حاوی محیط کشت HTF {ترکیب شده با ۴ میلی گرم بر میلی لیتر BSA (sigma)} قطره گذاری و روی سطح قطره ها با روغن معدنی (Mineral oil, sigma) پوشانده شد. در ادامه، بین ۱۰-۱۲ ساعت پس از تزریق HCG (صبح روز بعد) موش ماده آسان کشی شد و لوله های رحمی جدا و در داخل محیط کشت ۳۷ درجه که از قبل به تعادل رسیده بود، قرار گرفتند، سپس با استفاده از تکنیک Dissecting، تخمک ها خارج و بعد از شست و شو، به قطرات محیط کشت لقاح انتقال یافتند. پس از انجام این کار، موش های نر آسان کشی شدند و متعاقب جدا کردن دم اپیدیدیم از بافت های اطراف، بلافاصله درون پتری دیش های حاوی ۱ میلی لیتر محیط کشت HTF که قبلاً در شرایط دی اکسید کربن 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. اسپرم های متحرک به توانایی رسیده، به تعداد یک میلیون به ازای هر میلی لیتر محیط کشت، اضافه و

عمل لقاح حدود ۶-۵ ساعت بعد از افزودن اسپرم، با مشاهده دو پیش هسته مشخص گردید و بدین ترتیب تخمک های بارور شده (زیگوت) به دست آمد، سپس بعد از شست و شو 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 جنین های دو سلولی، درصد بلاستوسیست، کیفیت جنین ها و میزان توقف، همچنین لیز و فراگمانتاسیون جنین های مورد مطالعه، بررسی گردید. برای مطالعه میزان لیز و فراگمانتاسیون، جنین ها تیپ بندی شدند.

انواع تیپ های جنین های متوقف شده براساس معیارهای مختلفی نظیر لیز شدن جنین ها و نکروتیک بودن آنها به شرح ذیل بود:

تیپ I: جنین های با لیز، فراگمانته شدن و نکروتیک بودن کامل؛
تیپ II: جنین های با لیز و فراگمانته شدن در تعدادی از بلاستومرها؛

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

برای ارزیابی مراحل رشد جنینی، ۲۴ ساعت پس از کشت، تعداد جنین های دو سلولی و ۱۲۰ ساعت بعد از کشت، تعداد بلاستوسیست های ایجاد شده و میزان جنین های متوقف شده در هر گروه با میکروسکوپ معکوس مورد بررسی قرار گرفت. همچنین تمایز جنین ها به وسیله ارزیابی بلاستوسیست ها ارزیابی شد. در ادامه، جنین های رشد یافته از نظر شکل درجه بندی (Scoring) شدند و قدرت زیست پذیری جنین ها و سرعت رشد آنها مورد مطالعه قرار گرفت. همچنین بررسی کیفیت روند رشد جنینی، ریت کیواژ و بلاستوسیست های به دست آمده انجام شد. داده ها با استفاده از نرم افزار Minitab و روش آماری پروپورشن - ۲ (مقایسه نسبت ها) تجزیه و تحلیل شدند.

یافته ها

براساس نتایج حاصل از بررسی درصد لقاح داخل آزمایشگاهی اسپرم ها، تجویز نونیل فنل باعث کاهش معنی دار درصد لقاح از ۹۲/۴۷٪ در گروه کنترل به ۶۰/۶۵٪ در گروه نونیل فنل شد که نشان از کاهش قدرت باروری اسپرم ها با نونیل فنل داشت.

با تجویز توأم عصاره مرزه به همراه نونیل فتل، عصاره مرزه موجب بهبود آسیب‌های ایجاد شده توسط نونیل فتل بر توان باروری شد که افزایش معنی‌دار درصد لقاح در مقایسه با گروه نونیل فتل به $88/04\%$ را در این گروه در پی داشت ($p < 0/05$).

مقایسه درصد جنین‌های دوسلولی ایجاد شده که نشان‌دهنده شروع شکافتگی است، مشخص کرد تجویز نونیل فتل باعث کاهش درصد این جنین‌ها از $82/55\%$ در گروه کنترل به $70/27\%$ در گروه نونیل فتل شده است که این کاهش معنی‌دار نبود ($p > 0/05$). همچنین تجویز عصاره مرزه به همراه نونیل فتل در گروه درمانی باعث افزایش درصد جنین‌های دوسلولی نسبت به گروه نونیل فتل به میزان $77/77\%$ شد که این افزایش معنی‌دار نبود ($p > 0/05$).

بررسی درصد جنین‌هایی که پس از ۱۲۰ ساعت به مرحله بلاستوسیست رسیده بودند، مشخص کرد نونیل فتل باعث کاهش این پارامتر از $68/60\%$ در گروه کنترل به $27/02\%$ در گروه نونیل فتل شده است؛ در حالی که در گروه درمانی با عصاره مرزه،

افزایش درصد بلاستوسیست‌ها به میزان $35/80\%$ مشاهده گردید که این افزایش نسبت به گروه نونیل فتل معنی‌دار نبود ($p > 0/05$)، ولی این افزایش نسبت به گروه کنترل معنی‌دار بود ($p < 0/05$).

افزایش تعداد کل جنین‌های متوقف شده در گروه نونیل فتل ($72/97\%$) در مقایسه با گروه کنترل ($31/39\%$) مشاهده شد که این افزایش معنی‌دار بود ($p < 0/05$). اما این افزایش در گروه نونیل فتل نسبت به گروه درمانی با عصاره مرزه، معنی‌دار نبود ($p > 0/05$).

درصد جنین‌های متوقف شده تیپ I، افزایش معنی‌داری در گروه نونیل فتل ($48/64\%$) نسبت به گروه‌های کنترل ($1/16\%$)، نونیل فتل + عصاره مرزه ($2/46\%$) نشان داد ($p < 0/05$).

همچنین درصد جنین‌های متوقف شده تیپ II در گروه نونیل فتل، افزایش معنی‌داری با گروه کنترل و درمانی نداشت ($p > 0/05$)، اما درصد جنین‌های متوقف شده تیپ III در گروه نونیل فتل، افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل و درمانی نشان داد ($p < 0/05$) (جدول).

جدول: درصد باروری، جنین‌های دوسلولی، بلاستوسیست‌ها، درصد جنین‌های متوقف شده و نوع آن‌ها، متعاقب استفاده از اسپرم‌های حاصل از گروه‌های کنترل، نونیل فتل، گروه‌های درمانی و دریافت کننده مرزه خوزستانی

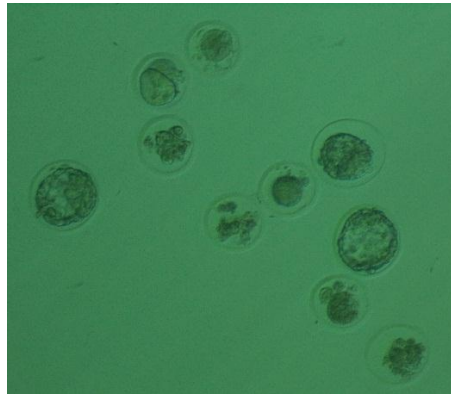
گروه‌ها	متغیر	تعداد اووسیت (NO)	میزان لقاح (درصد)	رویان‌های دوسلولی (درصد)	بلاستوسیست (درصد)	کل جنین‌های متوقف شده (درصد)	جنین‌های متوقف شده نوع I (درصد)	جنین‌های متوقف شده نوع II (درصد)	جنین‌های متوقف شده نوع III (درصد)
کنترل		۹۳	۹۲/۴۷	۸۲/۵۵	۶۸/۶۰	۳۱/۳۹	۱/۱۶	۵/۸۱	۲۴/۴۱
نونیل فتل		۱۲۲	^a ۶۰/۶۵	۷۰/۲۷	^a ۲۷/۰۲	^a ۷۲/۹۲	^a ۴۸/۶۴	۱۳/۵۱	^a ۱۰/۸۱
نونیل فتل + 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؛

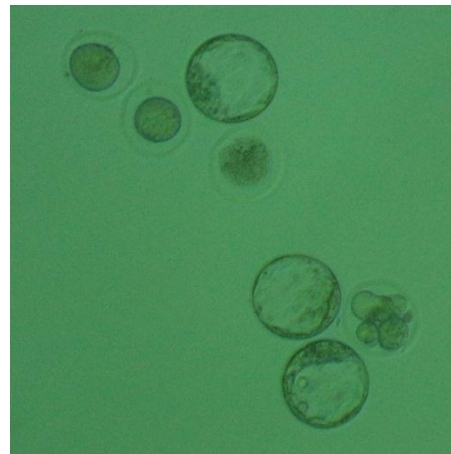
b: نشان‌دهنده معنی‌دار بودن با گروه نونیل فتل.



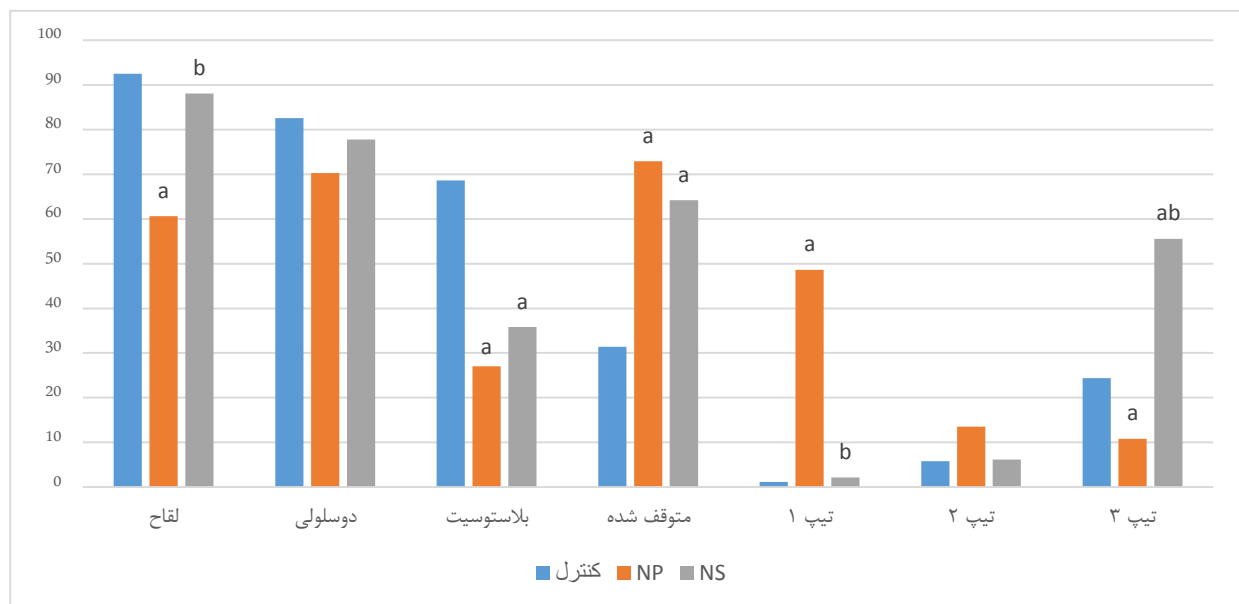
شکل شماره ۱: گروه کنترل، درصد بالایی از جنین‌ها به مرحله بلاستوسیست رسیده و بلاستوسیست‌های حاصله، کیفیت مناسبی از نظر شکل دارند.



شکل شماره ۲: گروه نوبیل فنل، درصد بالایی از جنین‌ها در مراحل مختلف رشد متوقف شده‌اند و تنها درصد کمی از جنین‌ها به مرحله بلاستوسیت رسیده‌اند. بلاستوسیت‌های حاصله از نظر شکل، کیفیت مناسبی ندارند و جنین‌های متوقف شده اکثراً از نوع تیپ I و II می‌باشند.



شکل شماره ۳: گروه درمان شده با نوبیل فنل به همراه مرزه. درصد بالایی از جنین‌ها به مرحله بلاستوسیت رسیده و بلاستوسیت‌های حاصله، کیفیت مناسبی از نظر شکل در مقایسه با گروه نوبیل فنل دارند. درصد کمی از جنین‌ها متوقف شده و اکثراً جنین‌های متوقف شده 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 نوبیل فنل

بحث

مطالعات نشان داده اند ارتباط تنگاتنگی بین کیفیت اسپرم، میزان باروری و رشد جنینی وجود دارد. هرگونه اختلال در فرآیند بلوغ داخل اپیدیدیمی اسپرم ها، در توان بارورسازی این سلول ها ایجاد مشکل می کند (۱۳). نونیل فنل از طریق برهم زدن تعادل اکسیداسیون - احیا موجب بروز استرس اکسیداتیو و در پی آن سبب بروز سمیت در دستگاه تناسلی نر می شود. در بسیاری از مطالعات مشخص شده است نونیل فنل با افزایش تولید ROS منجر به آسیب بافت ها می گردد (۱۴). همچنین افزایش میزان ROS با کاهش تحرک اسپرم در ارتباط است و از آنجا که اسپرم ها به سبب دارا بودن میزان بالای PUFAs (اسیدهای چرب با پیوند چندگانه) و نیز ظرفیت آنتی اکسیدانی پایین، حساسیت زیادی نسبت به آسیب های اکسیداتیو دارند؛ لذا هجوم رادیکال های آزاد می تواند به کاهش شدید میزان تحرک و قابلیت زنده ماندن، افزایش چشمگیر نقایص مورفولوژیک و اختلالات جدی در ظرفیت یابی و واکنش آکروزومی اسپرم ها منجر گردد (۱۵). همچنین بین میزان تولید گونه های فعال اکسیژن (ROS) با میزان تولید اسپرم های 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 می شود (۱۶). افزایش اسپرم ها با DNA آسیب دیده با افزایش درصد اسپرم های مرده نیز در ارتباط بوده و افزایش اسپرم های مرده باعث کاهش درصد لقاح می شود (۱۷). در مطالعه حاضر درصد لقاح در گروه NP، کاهش معنی داری نشان داد. بافت بیضه محل تجمع استادانه رادیکال های آزاد رها شده حاصل از متابولیت ها و مواد ضد اکسیداتیو مانند آنزیم های آنتی اکسیداتیو همچون گلوکاتایون پراکسیداز (GPX)، سوپراکسیداز دسموتاز (SOD) و کاتالاز (CAT)، همچنین مواد آنتی اکسیداتیو غیر آنزیمی مانند ویتامین های A، E و C می باشد که قادر به تجزیه و خنثی کردن رادیکال های آزاد هستند (۱۸)؛ به طوری که میزان ROS تولید شده به وسیله اسپرم ها با کیفیت مایع منی و نیز توانایی بارورسازی اسپرم در شرایط آزمایشگاهی رابطه معکوس دارد. تحقیقات بسیاری نشان داده اند 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 موفقیت آمیز اسپرماتوزوآ-اووسیت، در نقص عملکردی اسپرم نقش اساسی ایفا می کند (۶)؛ در نتیجه آسیب پراکسیداتیو بر روی غشای پلاسمایی باعث اختلال در عملکرد اسپرم و در نهایت، ناباروری در جنس نر می شود که علت آن را می توان به غشای پلاسمایی اسپرم (حاوی مقدار زیادی از اسیدهای چرب سیر نشده) که با ایجاد استرس اکسیداتیو حساس به پراکسیداسیون لیپیدی همراه است، نسبت داد (۱۹). تغییرات در حرکت اسپرم ها به نونیل فنل القا و از طریق ایجاد استرس اکسیداتیو، همچنین پراکسیداسیون لیپیدی منجر به اثرات سمی می گردد. قابلیت تحرک و زنده ماندن اسپرم به عنوان مهم ترین پارامترهای اسپرم برای سنجش توانایی لقاح و تمامیت غشای اسپرم محسوب می شود؛ بنابراین می توان چنین نتیجه گرفت کاهش معنی دار میزان لقاح، رویان های دوسلولی، بلاستوسیست و به طور کلی کاهش میزان باروری در حیوانات تحت درمان در گروه نونیل فنل نسبت به سایر گروه ها به علت افزایش تولید رادیکال های آزاد ROS می باشد. بررسی های آزمایشگاهی صورت گرفته، نقش آنتی اکسیدانت ها در کاهش تولید ROS به وسیله اسپرم و بهبود توانایی تکاملی جنین را مورد تأیید قرار داده اند. در همین راستا، گزارش های دیگری بر نقش آنتی اکسیدانت ها در کاهش آسیب DNA و آپتوز در اسپرم ها، همچنین افزایش میزان بارداری و لانه گزینی بالینی صحه گذارده اند (۲۰). ساتوره جاخوزستانی یک گیاه اندمیک در ایران است که خصوصیات آنتی اکسیدانی دارد (۱۱، ۱۲). جزء اصلی اسانس، مرزه کارواکرول بوده (۹) و سایر ترکیبات همچون فلاونوئیدها، تری ترپنوئیدها، استروئیدها و تانن ها نیز در این گیاه گزارش شده اند (۲۱). کارواکرول و فلاونوئیدها دارای خواص آنتی اکسیدانی هستند (۹). همچنین ساتوره جاخوزستانی از سمیت القاشده به وسیله مالاتیون از طریق تقویت پارامترهای استرس اکسیداتیو جلوگیری می کند (۲۲). به علاوه، محققین دیگر نشان داده اند کارواکرول دارای اثرات حذف کنندگی رادیکال های پراکسیل بوده و دارای اثر آنتی اکسیدانی خوب و ضد التهابی است (۲۳). اسانس مرزه خوزستانی، ظرفیت تام آنتی اکسیدانی بالایی دارد (۲۴).

جنسی را جبران می کند؛ بنابراین از مرزه خوزستانی می توان به عنوان یک مکمل در مسمومیت های ناشی از نونیل فنل، همچنین تقویت کننده باروری استفاده کرد.

تشکر و قدردانی

مقاله حاضر حاصل بخشی از پایان نامه تحت عنوان "ارزیابی اثرات اسانس مرزه خوزستانی بر اختلالات اسپرماتوژنز و توان باروری اسپرم موش های تحت استرس اکسیداتیو القا شده توسط نونیل فنل در مقایسه با ویتامین E" در مقطع دکتری حرفه ای (با شماره پایان نامه ۱۴۴۰ در سال ۱۳۹۴) می باشد که با حمایت دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه اجرا گردید. بدین وسیله نویسندگان مقاله از معاونت پژوهشی و همکاران محترم در دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه، کمال تشکر و قدردانی را دارند.

در یک مطالعه، رت های ماده ای که ساتوره جاکوزستانی را دریافت کرده بودند، پس از طی دوران آبستنی، یک افزایش معین و معنی دار در تعداد مناطق لانه گزینی جنینی، همچنین تعداد جنین های متولد شده آنان مشاهده گردید (۲۵)؛ در نتیجه می توان گفت مرزه خوزستانی با تأثیرات آنتی اکسیدانی خود منجر به افزایش معنی دار درصد باروری در گروه درمانی نسبت به گروه نونیل فنل می شود؛ بنابراین می توان افزایش معنی دار درصد باروری در گروه درمانی نسبت به گروه نونیل فنل را به نقش آنتی اکسیدانی مرزه خوزستانی در سرکوب ROS تولید شده توسط نونیل فنل نسبت داد که موجب بهبود عملکرد اسپرم در لقاح موفقیت آمیز با تخمک در این گروه آزمایشی در مطالعه حاضر گردید.

نتیجه گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان داد مرزه خوزستانی بسیاری از اثرات نامطلوب نونیل فنل بر روی میزان باروری و سلامت سلول های

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, Raychoudhury 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

8. Jamzad Z. A new species of the genus *Satureja* (Labiata) from Iran. *Iran J Bot* 1994;6:215-8. Link
9. Farsam H, Amanlou M, Radpour MR, Salehnia 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-administration 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, Abdolapour F. Hypolipidemic and antiatherogenic effects of *Satureja khuzestanica* 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