مقاله تحقیقی

بررسی پارامترهای اسپرم در موش NMRI نر تیمار شده با روغن ذرت

حسین ایمانی .Ph.D*، زهره زارع .M.Sc*، محمدحسین دشت‌نورد .Ph.D*، اصغر قاسمی .Ph.D، سقراط فقیه‌زاده .Ph.D*** ،**
محمود مفید .M.S.c*، حسین مهدوی‌نسب .M.Sc*، حسین بهادران .Ph.D*، همایون صدرایی .Ph.D*

* دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا... دانشکده پزشکی گروه علوم تشریح و مرکز تحقیقات شیمیایی و علوم اعصاب
**دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا... دانشکده پزشکی گروه فیزیولوژی
***دانشگاه تربیت مدرس دانشکده علوم پزشکی گروه آمار زیستی

وصول: تیرماه۸۵ ، پذیرش : شهریورماه۸۵

چکیده

هدف: بررسی تعداد، تحرک، قابلیت زنده ماندن، مورفولوژی، کیفیت کروماتین اسپرم، تولید روزانه اسپرم (DSP: Daily Sperm Production) و تعداد اسپرماتیدها در هر گرم بافت بیضه‌ای (TSN: Testicular Spermatid Number per gram testis) موشهای سوری نر تیمار شده با روغن ذرت

مواد و روشها: در این تحقیق موشهای نر نژاد NMRI با میانگین سنی ٤ هفته انتخاب و سپس به سه گروه ، یک گروه کنترل و دو گروه تجربی تقسیم شدند. گروههای تجربی به ترتیب به مدت ١٤ روز روزانه ١٥٠ µl و ١٠٠ µl روغن ذرت از طریق دهان دریافت کردند در حالی‌که گروه کنترل روغن ذرت دریافت نکرد. وزن موشها در روز اول و آخرآزمایش اندازه گیری و ثبت شد. موشها از طریق قطع نخاع گردنی کشته شدند و پس از خارج کردن دم اپیدیدیم راست، این ناحیه به وسیله قیچی تحت شرایط استریل قطعه قطعه و داخل محیط کشت T6 حاوی BSA(Bovine Serum Albumine) برای ٤mg/ml به مدت یک ساعت در انکوباتور($37^{\circ}c$) نگهداری شدند. آنالیز اسپرم بر اساس معیارهای سازمان بهداشت جهانی(WHO) انجام شد. برای بررسی مورفولوژی اسپرم و کیفیت کروماتین اسپرم به ترتیب از رنگ آمیزی پاپانیکولاو آنیلین بلو استفاده شد. بیضه راست و چپ را بطور جداگانه وزن کرده و پس از حذف کپسول اطراف بیضه راست عمل هموژنیزاسیون انجام شد. سرهای مقاوم به هموژن توسط یک لام هموسیتومتر شمارش شد. تعداد اسپرماتیدها به عنوان TSN بیان شد.DSP به وسیله تقسیم تعداد کل اسپرماتید در هر گرم بیضه به ٤/٨٤ به‌دست می‌آمد.

یافته‌ها: مطالعه نشان داد که مصرف ١٤ روزه روغن ذرت با مقادیر ١٥٠ µl و ١٠٠ میکرولیتری باعث کاهش تعداد، قابلیت زنده ماندن، تحرک کیفیت کروماتین و مرونولوژی اسپرم اپیدیدیم موش سوری DSP، TSN و وزن بدن موش در مقایسه با گروه کنترل می‌شود، اما این اختلاف از نظر آماری معنی دار نیست ($p>0.05$).

نتیجه‌گیری: بر اساس نتایج به دست آمده مشخص شد مصرف ١٤ روزه روغن ذرت تاثیر منفی بر کلیه پارامترهای اسپرم، DSP و TSN موش دارد، اما این میزان معنی‌دار نیست. بنابراین استفاده از این میزان روغن ذرت به عنوان یک حلال خوب می‌تواند در مطالعات تحقیقاتی روی سیستم تولیدمثـــل موش توصیه می‌شود.

کلیدواژه‌ها: روغن ذرت، تولید روزانه اسپرم، مورفولوژی، کیفیت کروماتین

آدرس مکاتبه: دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله، دانشکده پزشکی، گروه علوم تشریح، مرکز تحقیقات شیمیایی و علوم اعصاب
E-mail:eimanih@yahoo.com

مقدمه

چربی یک منبع فشرده انرژی است و از اکسیداسیون هر گرم آن خواه چربی حیوانی یا گیاهی حدود ۹ کیلوکالری (۲/۵ مرتبه بیشتر از انرژی ایجاد شده از هر گرم کربوهیدرات یا پروتئین) تولید می‌شود. چربی موجود در رژیم غذایی، منبع اسیدهای چرب ضروری است. در میان اسیدهای چرب، لینولئیک اسید در درمان درماتیت و برقراری رشد حیوانات جوانی که غذای فاقد چربی مصرف کرده‌اند مؤثراست و چون این اسید چرب در بدن ساخته نمی‌شود بنابراین یک اسید چرب ضروری است. کمبود اسیدهای چرب ضروری تغییراتی در ساختمان و عمل آنزیمهای داخل میتوکندری و یکپارچگی غشای سلول ایجاد می‌کند. اسید لینولئیک به مقدار زیاد در روغنهای گیاهی وجود دارد. روغنهای ذرت، سویا و آفتابگردان حاوی بیش از ۵۰ درصد اسید لینولئیک هستند [۱]. در بیشتر غذاهای حیوانی مقدار زیادی چربی وجود دارد در حالی که غذاهای گیاهی حاوی چربی کمتری هستند. در جوانه دانه غلات ۹۰-۲ درصد چربی وجود دارد. چربی موجود در دانه ذرت ٤ درصد و در لوبیای سویا ۱۷ درصد است [۱].

افرادی که چربی مایع مصرف می‌کنند میزان کلسترول خونشان پایین تر از افرادی است که چربی جامد حیوانی مصرف می‌کنند. چون تفاوت چربی مایع با جامد در داشتن مقدار زیاد اسید چرب غیراشباع است، بنابراین در رژیم درمانی تاکید زیادی بر روی مصرف زیاد روغنهای مایع گیاهی شده است. از جمله این روغنها می‌توان به روغن ذرت (corn oil) اشاره کرد که روغنی بی بو و حاوی مقادیر زیاد اسیدهای چرب غیر اشباع (مانند اسید چرب Cub- oleic) و ویتامینها (مثل A، Dو E) است. همچنین این روغن فاقد

کلسترول، آلاتوکسین و بسیاری از مواد زاید دیگر است [۲]. مطالعات تحقیقاتی زیادی آثار روغنهای مختلف از جمله روغن ذرت روی سیستمهای مختلف مثل سیستم عصبی، سیستم گوارش و سیستم گردش خون را مورد بررسی قرار داده است ولی در خصوص دستگاه تناسلی و آثار رژیم غذایی حاوی چربیهای مختلف تحقیقات کمی انجام شده و غالباً آثار مختلفی برای آن ذکر و نتایج گوناگونی ارایه شده است [۳]. در مطالعه ای که در سال ۱۹۸۹ انجام شد آثار جیره‌های غذایی حاوی روغن ذرت و روغن ماهی بر ساختمان دستگاه تناسلی موشهای متولد شده از مادرانی که در دوره بارداری با رژیم غذایی حاوی ۱۰ درصد روغن ذرت و ۱۰ درصد روغن ماهی تغذیه شده بودند، بررسی شد. نتایج این مطالعه بیانگر آن بود که در مقاطع سنی مختلف جیره‌های غذایی حاوی روغن ماهی آثار مهارکنندگی و جیره‌های حاوی روغن ذرت آثار شتاب دهندگی بر رشد دستگاه تناسلی ماده، اعم از لوله‌های رحمی، رحم و تخمدان داشت [٤]. در تحقیق دیگری که آثار تومورزایی ترکیبات موجود در روغن ذرت بر دستگاه تناسلی موش مورد مطالعه قرار گرفت، مشخص شد این ترکیبات موجب افزایش میزان تومور در دستگاه تناسلی موش نسبت به جیره‌های معمولی خواهند شد [۵]. استفاده از جیره غذایی حاوی ۱۰ درصد روغن ذرت و جیره غذایی حاوی ۱۰ درصد روغن ماهی به وسیله خرگوشهای باردار در دوران بارداری به ترتیب موجب بلوغ زودرس و بلوغ دیررس فرزندان ماده این خرگوشها می‌شود [۳].

با توجه به استفاده گسترده از روغن ذرت و مطالعات محدودی که در مورد تاثیر این روغن روی سیستم تولیدمثل جنس مذکر انجام شده، در تحقیق حاضر تاثیر روغن ذرت بر سیستم تولیدمثل موش سوری نررا بررسی شد.

مواد و روشها

در این تحقیق موشهای نر نژاد NMRI با میانگین سنی ٤ هفته آزمایش شدند. موشها پس از ورود به حیوانخانه دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا... (عج) حداقل به مدت یک هفته نگهداری شدند تا با شرایط موجود در حیوانخانه عادت پیدا کنند. حیوانات تحت شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت

تاریکی و دمای ۲۵-۲۰ درجه‌سانتیگراد نگهداری می‌شدند. حیوانات به راحتی به آب و غذا دسترسی داشتند.

باید توجه داشته باشیم که برای بررسی صدمات ایجاد شده بر بیضه از روشهای متفاوتی استفاده می‌شود، از آن جمله می‌توان به روشهای ذیل اشاره کرد: الف- بررسی وزن بیضه، اگر چه در صدماتی مثل ادم، التهاب و هیپرپلازی سلولهای بینابینی ممکن است وزن بیضه نامشخص باقی بماند [٦]. ب- کراس گذاشتن حیواناتی که با داروی خاصی تیمار شده اند با ماده‌هایی که با آن دارو تیمار نشده اند اطلاعات مفیدی را در مورد عملکرد سیستم تولید مثل نر در اختیار ما قرار می‌دهد [۷]. ج- شمارش سرهای اسپرماتیدهای بیضه و سرهای اسپرمهای اپیدیدیم [۷]. از میان سه روش فوق، روش آخر برای تعیین تاثیر عوامل مختلف بر اسپرماتوژنزکارآمدتر می‌باشد [۸]. در این تحقیق از روشهای اول و سوم استفاده کردیم.

موشها به طور تصادفی به سه گروه [گروه کنترل (گروه A) و دو گروه تجربی (گروههای B و C)] تقسیم شدند. گروههای B و C به مدت ١٤ روز، به ترتیب روزانه از طریق دهان µl ۱۵۰ و µl ۱۰۰ روغن ذرت دریافت می‌کردند در حالی‌که گروه A روغن ذرت دریافت نکرد. وزن موشها در روز اول ، قبل از گاواژ روغن ذرت، اندازه‌گیری شد. در روز پانزدهم موشها دوباره وزن و سپس از طریق قطع نخاع گردنی کشته شدند. در ادامه دم اپیدیدیم راست و چپ خارج و آنها را به وسیله قیچی تحت شرایط استریل قطعه قطعه شد. اپیدیدیم‌های قطعه قطعه شده به‌طور جداگانه داخل ۱ml محیط کشت T6 (حاوی ٤ mg/ml BSA) به مدت یک ساعت در انکوباتور(۳۷ درجه سانتیگراد) نگهداری شدند.

بیضه طرف راست و چپ را بطور جداگانه با ترازوی Sartorius ($\frac{1}{1000}$) وزن کرده و بیضه راست را برای تعیین تولید روزانه اسپرم در دمای $-20^{\circ}c$ منجمد شد.

آنالیز اسپرم بر اساس معیارهای سازمان بهداشت جهانی(WHO) و به‌صورت زیر انجام شد.

شمارش اسپرم

µl۵ از محیط کشت حاوی اسپرم را روی مربع مرکزی لام نئوبار قرار داده، ۱۰- ۵ دقیقه اسپرمها ته نشین شدند. فقط اسپرمهای با سر و دم کامل در پنج مربع آن با بزرگنمایی ٤٠ × میکروسکوپ نوری شمارش شدند. بعد از شمارش اسپرمها در پنج مربع تعداد آنها در یک میلی لیتر حجم نمونه با استفاده از فرمول مربوطه محاسبه شد [۹].

تحرک اسپرم

µl۵ از محیط کشت حاوی اسپرم را روی یک لام گذاشته و روی آن یک لامل mm ۱۸×۱۸ قرار داده شد و بلافاصله شمارش آغاز شد. با بزرگنمایی ٤٠ × ، ۱۰۰ اسپرم شمارش شد. تحرک اسپرم بر اساس روش WHO به چهار کلاس تقسیم شد.

۱- کلاس a : حرکت پیشرونده سریع

۲- کلاس b: حرکت پیشرونده آرام

۳- کلاس c: حرکت غیر پیشرونده

٤- کلاس d: حرکت غیر متحرک

درصد تحرک و درصد اسپرمهای پیشرونده نیز محاسبه شدند.

قابلیت زنده ماندن اسپرمها

یک قطره (تقریباً ۵ میکرولیتر) از محیط کشت حاوی اسپرم را برداشته و روی لام گذاشته شد. سپس با یک قطره کوچک ائوزین مخلوط شد. بلافاصله با بزرگنمایی ٤٠ × میکروسکوپ نوری ۱۰۰ اسپرم شمرده می‌شد و درصد اسپرمهای زنده متحرک، زنده غیر متحرک و مرده مشخص شد [۱۰].

مورفولوژی اسپرم

بعد از قرار دادن یک قطره از محیط کشت حاوی اسپرم روی لام با لام دیگر اسمیری از آن تهیه شد. اسمیر در دمای اتاق قرار داده شد تا کمی خشک شود. سپس اسمیر را در مخلوط

اتر و الکل ۹۶ درصد (۱:۱) به مدت ۱۵- ۵ دقیقه تثبیت شد. در ادامه رنگ آمیزی پاپانیکولا انجام شد. در این رنگ آمیزی هسته اسپرم به رنگ آبی، آکروزوم و دم اسپرم به رنگ صورتی و ناحیه پشتی آکروزوم به رنگ آبی تیره در آمد. سپس ۱۰۰ اسپرم با بزرگنمایی ۱۰۰ × میکروسکوپ نوری بررسی شدند [۱۰]. بر اساس مورفولوژی اسپرمها در گروههای طبیعی، Hair ، Bent tail، Double head، [۱۱] Pin head ،Coiled mid piece، pin Cytoplasmic droplet ، Coiled tail ، Amorphous head، [۹] و Triangular head[۱۲] ، قرار گرفتند.

کیفیت کروماتین اسپرم

با رنگ آمیزی آنیلین بلو کیفیت کروماتین اسپرم بررسی شد. یک قطره از محیط کشت حاوی اسپرم را برداشته و روی لام گذاشته شد. سپس از آن اسمیر تهیه کرده و بعد از خشک شدن آن را در الکل ۷۰ درصد تثبیت شد. در ادامه مراحل رنگ آمیزی آنیلین بلو را انجام شد. با بزرگنمایی ۱۰۰× میکروسکوپ نوری لامها بررسی شدند. اسپرمهای دارای ناهنجاریهای کروموزومی رنگ آبی گرفتند و بر اساس شدت رنگ گرفتگی به سه گروه کم رنگ، متوسط و زیاد رنگ گرفته تقسیم شدند [۹].

تولید روزانه اسپرم

بیضه راست را از حالت انجماد در آورده، سپس با حذف کپسول آن، پارانشیم بیضه را به وسیله دستگاه هموژنایزر در سرعت پایین به مدت ٤ دقیقه در ۲ میلی لیتر نرمال سالین هموژنیزه شد. سپس ۵µl از محلول روی یک لام شمارش سلولهای خونی(هموسیتومتر) گذاشته و سرهای اسپرماتیدهای مقاوم در مقابل هموژنیزاسیون شمارش شدند. تعداد اسپرماتیدها بعنوان اسپرماتیدهای بیضه در هر گرم بافت بیضه (TSN/gram) بیان شدند. DSP از طریق تقسیم اسپرماتید در هر گرم بافت بیضه بر ٤/٨٤ [مدت زمانی که اسپرماتیدهای مرحله ١٦- ١٤ در سیکل اپیتلیال لوله‌های سمنی فر موش سوری باقی می‌مانند[۱۳]] به دست می‌آمد [١٤و١٥].

آنالیز آماری

به منظور مقایسه وزن موش قبل و بعد از آزمایش، تعداد اسپرم موجود در اپیدیدیم‌های راست و چپ و وزن بیضه راست و چپ داخل هر گروه از آزمون آماری Sample T Test Paired استفاده شد. کیفیت کروماتین ، قابلیت زنده ماندن، درصد تحرک وپیشروندگی اسپرم، داخل هر گروه با استفاده از آزمون آماری Wilcoxon مقایسه شد. از آزمون آماری Kruskal-Wallis برای مقایسه کیفیت کروماتین، قابلیت زنده ماندن، درصد تحرک وپیشروندگی اسپرم موجود در اپیدیدیم‌های راست و چپ بین سه گروه مورد مطالعه استفاده شد. یافته‌های مربوط به وزن موش قبل و بعد از آزمایش، وزن بیضه راست و چپ، TSN وDSP بین سه گروه نیز با استفاده از آزمون One- way ANOVA مقایسه و $p<0.05$ از نظر آماری معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در این مطالعه گروههای تجربی (B وC) به ترتیب به مدت ١٤ روز روزانه از طریق دهان ۱۵۰ µl و ۱۰۰ µl روغن ذرت دریافت کردند، در حالیکه گروه کنترل (A) روغن ذرت دریافت نکرد.

بین وزن موشها قبل و بعد از آزمایش در هر سه گروه و نه بین سه گروه از نظر آماری اختلاف معنی دار ($p<0.005$) وجود داشت (جدول ۱). وزن بیضه‌های راست و چپ در هر گروه و بین گروهها (جدول ۱) اختلاف معنی دار نداشتند.

بررسیهای مورفولوژیکی بین اسپرم اپیدیدیمهای راست و چپ بین سه گروه و راست و چپ هر گروه بیانگر عدم وجود اختلاف آماری بین گروهها و داخل هر گروه بود (جدول ۲).

از نظر کیفیت کروماتین (جدول ۳) و قابلیت زنده ماندن اسپرم(جدول ٤) بین گروهها و داخل گروهها نیز تفاوت معنی داری از نظر آماری در سطح $p<0.05$ مشاهده نشد.

جدول ۱ مقایسه وزن موشها و وزن بیضه‌ها در گروههای مورد مطالعه

متغیر	گروهA	گروه B	گروه C	P_{value} ANOVA- test
وزن موش قبل از آزمایش (گرم)	۲۰/۲±۱/٦	۲۱/۸±٤/٤	۱۹/٦±۱	NS
وزن موش بعد از آزمایش (گرم)	۲۷/۱±۳/۸	۲۵/۳±۳/۷	۲٤/٦±۱/٤	NS
وزن بیضه راست (میلی گرم)	۷٦±۱۸*	۷٦±۱۳*	۷۳±۲*	NS
وزن بیضه چپ (میلی گرم)	۷۵±۲	۷٦±۱۱	۷۱±۳	NS

اعداد به‌صورت میانگین± انحراف معیار نشان داده شده اند.

* بر اساس آزمون آماری Paired Sample T-Test بین وزن بیضه راست و چپ در هر گروه اختلاف معنی دار آماری در سطح $p<0.05$ مشاهده نشد NS= non significant

جدول ۲. مقایسه اسپرم اپیدیدیم‌های راست و چپ در گروههای مورد مطالعه از نظر مورفولوژیکی

گروهها		مورفولوژی									
		Normal %	Amorp. Head %	Coiled mid-piece%	Hair pin %	Bent pin %	Dou. Head %	Coiled tail %	Pin Head %	Cytopl. Droplet %	Triang. Head %
راست**	گروه A (n=۱۰)	٦۲/٤±٤*	۱/۲۵±۰/٤*	۱٤/۷±۱/۸*	۱۵±۳/٤*	۳/۲۵±۰/۹*	۰*	۲/۹۵±۰/٦*	۰/٤±۰/۳*	۰*	/۳±۰/۱۵* ۰
	گروه B (n=۱۰)	۵۷/۲±۳/۳	۲/۲۵±۰/۷	۱۳/۸±۱	۲۰±۲/۸	۳/۷۵±۰/۸	۰/۱۵±۰/۱	۱/۲۵±۰/۳	۰/٤±۰/۲	۰/۵۵±۰/۲	۱±۰/۵
	گروه C (n=۱۰)	٦۰/۵±۱/۷	۱/۸±۰/٤	۱۳/۱±۱/۳	۱۵/۷±۰/۸	٤/٤±۰/۷	۰	۲/۳±۰/٦	۰/۵±۰/۲	۰/٦±۰/۱٦	۱±۰/٤
چپ **	گروه A (n=۱۰)	٦۰±٤/٦*	۱/۹±۰/٤*	۱۳/۷±۱/۹*	۱۸±۳/٦*	٤/۱±۰/۸*	۰/۳±۰/۲*	۲/٤±۰/۹*	۰/۲۵±۰/۲*	۰/٤±۰/۲*	/۲۵±۰/۱* ۰
	گروه B (n=۱۰)	۵۵±۳/۵	۲±۰/٦	۱۳/۷±۲	۲۲/۹±۳/۸	۳/٦±۱	۰/۳۵±۰/۱	۱/۱±۰/۳۵	۰/٦±۰/۳٤	۰/۲۵±۰/۱	۱±۰/٤
	گروه C (n=۱۰)	۵۷/٤±۲/۱	۱/۹±۰/۷	۱۳/۹±۱/۹	۱۹/۷±۲/۳	۳/۱±۰/۷	۰/۵±۰/۲۷	۲/۱»۰/۵	۰/٤±۰/۲	۱±۰/۱	۰/۸±۰/۳

اعداد به‌صورت میانگین ± انحراف معیار نشان داده شده اند.

* بر اساس آزمون آماری Wilcoxon بین راست و چپ هر گروه اختلاف معنی دار آماری در سطح $p<0.05$ مشاهده نشد.

** بر اساس آزمون آماری Kruskal- Wallis H بین گروههای A، B و C اختلاف معنی دار آماری در سطح $p<0.05$ مشاهده نشد.

جدول ۳. مقایسه کیفیت کروماتین اسپرم در گروههای مورد مطالعه

گروهها		کیفیت کروماتین اسپرم		
		رنگ‌پذیری کم(٪)	رنگ‌پذیری متوسط(٪)	رنگ‌پذیری زیاد(٪)
راست**	گروه A (n=۱۰)	٦٨/٧±١٠*	٣١/٥±٩*	٢/٣±١/٦*
	گروه B (n=۱۰)	٧٢/٧±١١/٧	٢٥/٧±١١	١/٨±١/٨
	گروه C (n=۱۰)	٦٨/٦±٧/٢	٢٩/٢±٦/٨	٢/٢±١/٥
چپ**	گروه A (n=۱۰)	٧٥±٧/٧*	٢٥/٣±٦/٩*	١/٩٥±١/٥*
	گروه B (n=۱۰)	٧١/٨±٥/١	٢٥/٥±٥	٢/٨±١/٥
	گروه C (n=۱۰)	٧٥±٦/٤	٢٣±٦	٢±١/٤

اعداد به‌صورت میانگین ± انحراف معیار نشان داده شده اند.

* بر اساس آزمون آماری Wilcoxon بین راست و چپ هر گروه اختلاف معنی دار آماری در سطح $p<0.05$ مشاهده نشد.

** بر اساس آزمون آماری Kruskal- Wallis H بین گروههای A، B و C اختلاف معنی دار آماری در سطح $p<0.05$ مشاهده نشد.

جدول ۴. مقایسه قابلیت زنده ماندن اسپرم در گروههای مورد مطالعه

گروهها		قابلیت زنده ماندن اسپرم		
		زنده متحرک (٪)	زنده غیر متحرک (٪)	مرده (٪)
راست**	گروه A (n=۱۰)	٣٤/٤±١٩/٨*	١٠/٨±٤/٨*	٥٥/١±١٩/٥*
	گروه B (n=۱۰)	٣٥/٧±٢٢/٢	١٠/٤±٦/٦	٥٣/٨±٢١/٤
	گروه C (n=۱۰)	٣٠/٤±٨/٦	١٢/٨±٣/٣	٥٨/٢±١٠/٢
چپ**	گروه A (n=۱۰)	٣٤/٨±١٧/٢*	٩/٩±٦*	٥٤/٤±١٦/٣*
	گروه B (n=۱۰)	٢٨/٦±١٦/٩	٩/٦±٦	٦١/٧±١٤/١
	گروه C (n=۱۰)	٣٣/٢±٦/٧	١٢/٨±٥/٢	٥٤±٨/٧

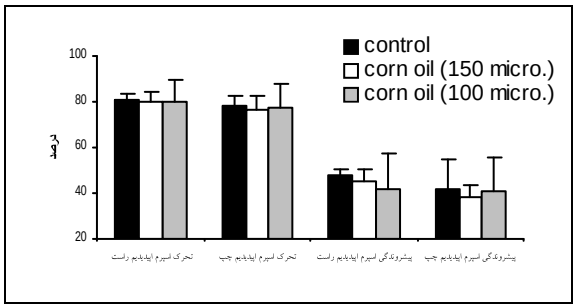
اعداد به‌صورت میانگین ± انحراف معیار نشان داده شده اند.

* بر اساس آزمون آماری Wilcoxon بین راست و چپ هر گروه اختلاف معنی دار آماری در سطح $p<0.05$ مشاهده نشد.

** بر اساس آزمون آماری Kruskal- Wallis H بین گروههای A، B و C اختلاف معنی دار آماری در سطح $p<0.05$ مشاهده نشد.

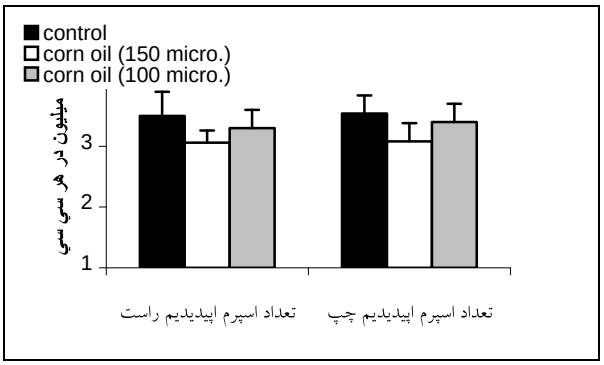
درصد تحرک اسپرم اپیدیدیم چپ در گروه A، ۱۱/۵± ۷۸/۵۵، در گروه B، ۱٤/۹± ۷۵/۲۵ و در گروه C، ۱۰/۳± ۷۷/٦ بود. آنالیز آماری از عدم وجود اختلاف آماری بین سه گروه حکایت داشت ($p>0.05$). درصد تحرک اسپرم اپیدیدیم راست در گروههای A، B و C به ترتیب ۸/۱±۸۰/۵۵، ۹/۱±۷۹/۱ و ۹/۸±۷۹/۹ است و بین گروهها تفاوت معنی دار از نظر آماری مشاهده نشد (نمودار ۱). علاوه بر این در هر گروه نیز درصد تحرک اسپرم اپیدیدمهای راست وچپ نیز تفاوت آماری معنی دار وجود نداشت.

درصد پیشروندگی اسپرم اپیدیدیم راست و چپ به ترتیب در گروه A، ۸/۲± ٤۷/۹ و ۱۳/۳±٤۱/۵، در گروه B، ۱۱/۱±٤٤/۲ و ۱٦/٦±۳۷/۹ و در گروه C ۱۵/۷±٤۱/۹ و ۱٤/۵±٤۱/۳ بود. درصد پیشروندگی اسپرم بین گروهها و در هر گروه اختلاف معنیدار آماری نداشت (نمودار ۱).



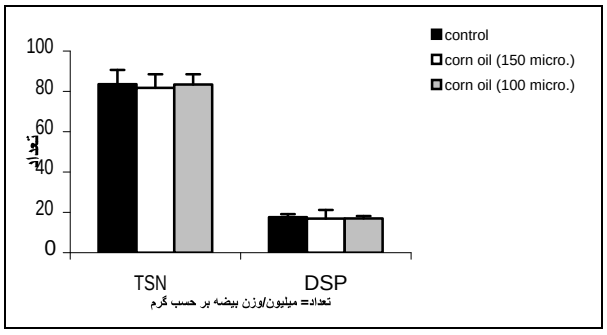
نمودار ۱. مقایسه درصد تحرک و پیشروندگی اسپرم اپیدیدیمهای راست و چپ گروههای مطالعه.بر اساس آزمون آماری Kruskal-Wallis ، درصد تحرک و پیشروندگی اسپرم بین سه گروه از نظر آماری معنی دار نیست. $p<0.05$ از نظر آماری معنی دار در نظر گرفته میشد.

تعداد اسپرم اپیدیدیم راست و چپ به ترتیب در گروه A، ۱/۲±٦ ۱۰ × ۳/۵ و۱/۳±٦ ۱۰ × ۳/۵ درگروه B، ۰/٥٤±٦ ۱۰ × ۳/۱ و ۱±٦ ۱۰ × ۳/۱ و در گروهC،۰/۹±٦ ۱۰ × ۳/۳ و۰/۸±٦ ۱۰ × ۳/٤ بود. اختلاف آماری معنی داری بین گروهها و داخل هر گروه مشاهده نشد (نمودار ۲).



نمودار ۲. مقایسه تعداد اسپرم اپیدیدیمهای راست و چپ بین گروههای مورد مطالعه. بر اساس آزمون آماری One-way ANOVA در سطح $p<0.05$ بین تعداد اسپرم اپیدیدیمهای راست و چپ گروهها از نظر آماری اختلاف معنی دار مشاهده نشد.

TSN و DSP نیز بین سه گروه مورد مقایسه قرار گرفت و در مورد هیچکدام اختلاف معنی دار آماری وجود نداشت (نمودار ۳).



نمودار ۳. مقایسه TSN و DSP در گروههای مورد مطالعه. نتایج مربوط به TSN و DSP گروهها با استفاده از آنالیز آماری One- way ANOVA مقایسه شدند. اختلاف آماری معنیداری در سطح $p<0.05$ مشاهده نشد.

بحث

روغن ذرت به علت دارا بودن اسیدهای چرب غیر اشباع مثل Cub-oleic (کاهنده میزان کلسترول خون و سفت شدن عروق

خونی) [۲]، لینولئیک اسید (درمان درماتیت و برقراری رشد . [۱] و ویتامینها [۲] در مصارف غذایی بسیار مفید است .

در خصوص آثار رژیم غذایی حاوی روغنهای مختلف از جمله روغن ذرت روی سیستمهای مختلف مثل سیستم عصبی، سیستم گوارش و سیستم گردش خون تحقیقات گسترده‌ای انجام شده، اما متأسفانه در مورد آثار رژیم غذایی حاوی این روغنها بر دستگاه تناسلی تحقیقات کمی انجام شده و غالباً آثار مختلفی برای آن ذکر و نتایج گوناگونی ارائه شده است [۳]. در مقاطع سنی مختلف جیره‌های غذایی حاوی روغن ذرت اثر شتاب دهندگی بر رشد دستگاه تناسلی ماده دارد [٤] استفاده از رژیم غذایی حاوی روغن ذرت در خرگوشهای باردار موجب بلوغ زودرس فرزندان ماده آنها می‌شود [۳].

علاوه بر این مشخص شد ترکیبات موجود در روغن ذرت موجب افزایش تومورزایی در دستگاه تناسلی موش می‌شود [۵].چربی موجود در مدفوع محیط مناسبی برای رشد باکتریها است و این باکتریها از افزایش ساخت اسیدهای صفراوی که به علت رژیم پرچرب به وجود آمده، مواد کارسینوژن تولید می‌کنند. به دلایل ناشناخته وقوع سرطان پستان با رژیم پر چرب و وقوع سرطان روده بزرگ در انسان با میزان پایین کلسترول خون همراه است [۱۲].

علاوه بر مصارف غذایی گسترده روغنهای گیاهی، از این روغنها (مثل روغن ذرت و روغن زیتون) در مطالعات تحقیقاتی مختلف روی دستگاه تولیدمثل [۱۹-۱٦] و بر روی سیستم عصبی [۲۱-۲۰] به استفاده شده است. روغن ذرت حلال بسیار خوبی برای مواد مختلف از جمله فتالاتهاست. پارک (Park) و همکاران در سال ۲۰۰۲ به منظور بررسی

در حیوانات جوانی که غذاهای فاقد چربی مصرف کرده اند) تاثیردی اتیل هگزیل فتالات DEHP (Di-ethylhexyl Phthalate) بر بیضه موش صحرایی جوان از روغن ذرت به عنوان حلال DEHP استفاده کردند. آنها دریافتند حلال مورد استفاده روی وزن موش و وزن بیضه تاثیر ندارد [١٦]. در تحقیق حاضر نیز تاثیر روغن ذرت بر وزن موش و وزن بیضه بررسی شد. بر اساس نتایج به‌دست آمده این روغن بر وزن موش و وزن بیضه تاثیر منفی جزیی داشت اما این میزان از نظر آماری معنی‌دار نبود. با توجه به عدم وجود اختلاف معنی دار بین وزن موش، قبل و بعد از آزمایش بین سه گروه، تفاوت مشاهده شده در وزن موشها قبل و بعد از آزمایش در هر گروه را می‌توان با اثر گذشت زمان و افزایش دریافت مواد غذایی طی این مدت توجیه کرد (جدول ۱).

در مطالعات دیگر به منظور بررسی تاثیر DEHP بر تکامل سیستم تولیدمثل موش صحرایی نر [۱۷]، بررسی دوز پایین Bisphenol-A بر اسپرماتوژنز [۱۸]، و چندین ماده دیگر [۱۹] از روغن ذرت به عنوان حلال این مواد استفاده شده است. روغن ذرت بر روی هیچکدام از پارامترهای مورد مطالعه فوق تاثیر منفی معنی دار از نظر آماری نداشت.

بر اساس نتایج به‌دست آمده از این مطالعه روغن ذرت بر تحرک، قابلیت زنده ماندن، تعداد، مورفولوژی و کیفیت کروماتین اسپرم و همچنین DSP، TSN، وزن بیضه و وزن موش تاثیر منفی جزیی داشت که این میزان اثر از نظر آماری معنی دار نبود. بنابراین بر اساس نتایج به‌دست آمده از این مطالعه می‌توان از روغن ذرت به عنوان یک حلال خوب در مطالعات تحقیقاتی روی دستگاه تولیدمثل استفاده کرد.

Reference

۱. **گتری آرتور**، مبانی تغذیه، ترجمه دکتر مینو فروزانی، تهران، انتشارات چهر ۱۳٦۹، صفحات ٦۹-٦۰ .

2. **Shafer TJ, Meyer DA, and Croften KM**. Developmental neurotoxicity of pyrethroid insecticides. Critical Rev future research. Environ Health Perspectives. 2005, 113(2),

123-39.

۳. **نوری سید محمد حسین**، آثار روغن ذرت و روغن ماهی بر ساختمان تخمدان خرگوشهای ماده در دوره رویانی. پایان نامه دوره دکتری بافت شناسی و جنین شناسی، ۱۳۷۲، صفحات ۳۰-۲۳.

٤. **رشیدی هدایت ا...**، آثار جیره‌های غذایی محتوی روغن ذرت و روغن ماهی بر روی ساختمان دستگاه تناسلی موش ماده. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران،۱۳٦۸، (۳)٤٤: ۱۹-۱.

۵. **رشیدی هدایت ا... و پاپهن محمدعلی**، بررسی آثار تومورزایی ترکیبات موجود در روغن ذرت، دانشگاه علوم پزشکی اهواز، گروه آموزشی علوم پایه، دانشکده دامپزشکی،۱۳٦۹ ٦۸-٦۵.

6. **Meistrich ML**. Evaluation of reproductive toxicity of testicular sperm head count. J Am Cell Toxicol 1989; 8: 551-67.
7. **Kempians WDG, Suarez JD, Roberts NL, Strader L, Ferrel J, Goldman JM**. Rat epididymal sperm quality, and transient time after guanethidine- induced sympathectomy. Biol Repro 1998; 59: 890- 96.
8. **Ban Y, Komatsu T, Kemi M, Inagaki S, Nakatsuka T, Matsumoto H**. Testicular spermatid and epidimyal sperm head count as an indicator for reproductive toxicity in rats. Exp Anim 1995; 44(4): 315-22.

۹. **رضازاده ولوجردی مجتبی**. تزریق درون سیتوپلاسمی اسپرم. انتشارات بشری، ۱۳۸۱، صفحات ۵۱-۵۰ .

10. **Rashidi I, Movahedi M, and Tiraihi T**. The effect of pentoxifyline on mouse epididymal sperm parameters, fertilization, and cleavage rats after short time preservation. Iranian J Repro Med 2004; 2(2): 51-7.
11. **Butter A, He X, Gordon RE, Wa H, Gatt S, Schuchman EH.** Reproductive pathology and sperm physilogy in acid sphingomyelinase-deficient mice. Am J Pathol, 2002; 161(3): 1061-75.
12. **Kishikawa H, Tateno H, and Yanagimadi R**. Chromosome analysis of BALB/C mouse spermatozoa with normal and abnormal head morphology. Biol Repro 1999; 61: 809-12.
13. **Ventela S, Ohta H, Parvinen M, Nishimune Y**. Development of the stages of the cycle in mouse semniferous epithelium after transplantation of green fluorescent protein-labeled spermatogonial stem cells. Biol Repro 2002; 66: 1422-29.
14. **Guang- Xun LI, Kang KS, Lee YS**. 2-Bromopropane induced germ cell apoptosis during spermatogenesis in male rat. J Vet Med Sci 2000; 63(4): 373-82.
15. **Goyal HO, Braden TD, Mansour M, Williams CS, Kamaledin A, Srivastava KK.** Diethylstilbestrol- treated adult rats with altered epididymal sperm numbers and sperm motility parameters, but without alterations in sperm production and sperm morphology. Biol Repro 2001; 64: 927-34.
16. **Park TD, Habeebu SSM, and Klassen CD.** Testicular toxicity of di (2- ethylhexyl) phthalate in young sprague- Dowley rats. Toxicology 2002; 171: 105-15.
17. **Moore RW, Rudy TA, Lin T, Ko K, Peterson RE**. Abnormalities of sexual development in male rats with in utero and lactational exposure to the antiandrogenic

plasticizer di (2- ethylhexyl) phthalate. Environ Health Pers 2001; 109(3): 229-37.

18. **Motoharu S, Seiichiroh O, Ryata I, Shuichi K, Masamichi K, Yoshihiro H**. Biphend- A effects spermatogenesis in the adult rat even at a low dose. J Occup Health 2001; 43: 185-90.
19. **Nakai M, Toshimeri K, Yoshinag K, Hess RA**. Spermatids of prepubertal male rats are susceptible to carbenzadim during early spermiogenesis. Arch Histol Cytol 1998; 61(5): 433-37.
20. **Malaviya M, Husain R, Seth PK.** Perinatal effects of two pyrethroid insecticides on brain neurotransmiter function in the neonatal rat. Vet Hum Toxicol 1993; 35: 119-22.
21. **Imamura L, Hasegawa H, Kurashina K.** Neonatal exposure of newborn mice to pyrethroid (permethrin) represses activity-dependent C- fos mRNA expression in cerebellum. Arch Toxicol 2002; 76: 392-97.