

بررسی تاثیر تابش پرتو گاما بر روی تحرک اسپرم قوچ افشاری در محیط رقیق کننده حاوی عصاره گیاه خار مریم

احسان، جوهری^{*۱}؛ اکبر، پیرستانی^۱؛ فریبرز، معطر^۲؛ هادی، فتح الهی^۳

۱. دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان (اصفهان)، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی
۲. دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، دانشکده داروسازی و فارماکولوژی گیاهان دارویی
۳. سازمان انرژی اتمی ایران، پژوهشگاه علوم و فنون هسته ای، (کرج)

چکیده:

در این تحقیق از ۴ راس قوچ افشاری ۳ تا ۴ ساله با میانگین وزن 50 ± 5 کیلوگرم اسپرم گیری گردید. پس از عصاره گیری از گیاه خارمریم، با غلظت ۵٪ به محیط رقیق کننده اسپرم افزوده شد. پس از تقسیم به ۷ سطح و گروه کنترل، پارامترهای حرکت پیش رونده و حرکت کلی نمونه اسپرم در زمان صفر و ۲۴ ساعت توسط نرم افزار کاسا مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج در ساعت صفر و ۲۴ حاکی از تفاوت گری های پایین در هر دو حرکت نسبت به گری های بالا را نشان داده اند با این تفاوت که در زمان ۲۴ به صورت معنی دار بوده است. می توان چنین بیان نمود که این گیاه تاثیرات سوء تابش پرتو گاما بر تحرک اسپرم را تا حدود زیادی کنترل و حتی بعد از ۲۴ ساعت حفظ نماید.

واژگان کلیدی: پرتو گاما، اسپرم قوچ، خارمریم، رقیق کننده، تحرک

مقدمه

امروزه مدیریت تولید مثل یکی از مهمترین راه های موفقیت در صنعت پرورش گوسفند می باشد. برای این منظور روشهای متفاوتی پیشنهاد شده است که یکی از بهترین روشها تلقیح مصنوعی است [۱] در حال حاضر مطالعات نشان داده است که یک اسپرم با کیفیت مناسب موقعی است که توسط یک رقیق کننده خوب نگهداری و در یک بازه زمانی تخریب نشود. در صنعت دامپروری نیاز به شناسایی و انتخاب نژاد قوچ برتر بوده تا بتوانیم با استفاده از اسپرم گیری و رقیق سازی، مراحل انجماد و نگهداری را انجام دهیم [۲]. تابش پرتو گاما باعث ایجاد اختلالات باروری می گردد، مانند تحقیقی که نشان داده اثر تابش پرتو گاما بر روی اسپرم خروس باعث ایجاد اختلالات باروری و فیکس شدن اسپرم ها گردیده است. برای جلوگیری از صدمات وارد بر اسپرم می توان از افزودنی های آنتی اکسیدانی طبیعی مانند عصاره بذر گیاه خار مریم، که گیاهی از خانواده کاسنی، دارای فلاونوئید های متعدد از جمله سیلی مارین، سیلی کریسیتین، سیلی دیانین و ایزوسیلیبین است که همه اینها دارای اثرات آنتی اکسیدانی قوی هستند که مجموعه اینها سیلی مارین گویند [۳]. سیلی مارین به دلیل خواص آنتی اکسیدانی، آنتی لیپید پراکسیداز، آنتی فیبروتیک، ضد التهاب، ضد قارچی، تنظیم سیستم ایمنی و ترمیمی سلوهای کبد و اختلالات کلیوی، چربی خون بالا، سیستم عصبی، درمان انواع سرطان مانند سرطان



پروستات، مسمویت‌های مزمن و حاد و... مورد استفاده قرار می‌گیرد [۴]. این طرح تحقیقاتی با هدف میزان مقاومت این عصاره گیاهی در محیط رقیق کننده پس از تابش پرتو در زمان صفر و ۲۴ ساعت بعد از انزال و انتخاب بهترین سطح پرتو گاما مورد انجام واقع گردیده است.

مواد و روش‌ها

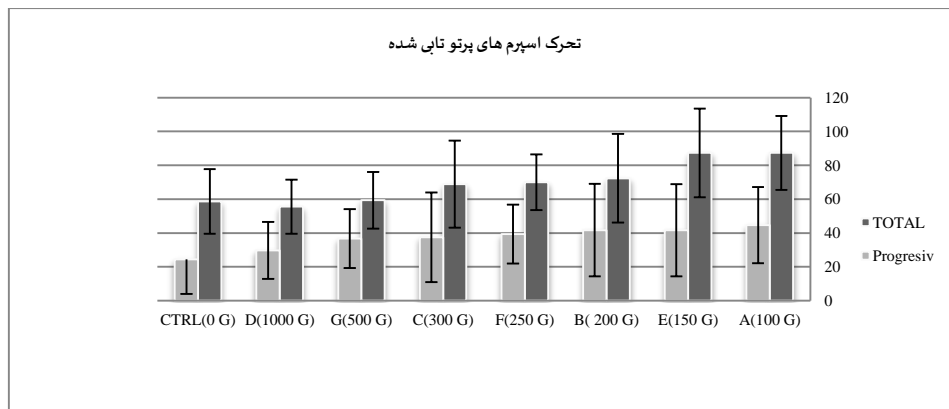
در این طرح چهار راس قوچ افشاری ۳ تا ۴ ساله با وزن 50 ± 5 کیلوگرم انتخاب شدند. اسپرم‌گیری از هر قوچ به وسیله محرک الکتریکی دوبار در هفته انجام شد. بلافاصله بعد از اسپرم‌گیری، نمونه‌ها جهت ارزیابی با رقیق کننده اسپرم حاوی سطح ۵٪ عصاره گیاه خارمریم مورد رقیق سازی قرار گرفتند. برای عصاره‌گیری، از روش عصاره‌گیری پرکولاسیون در شرکت داروسازی گل دارو اصفهان استفاده گردید. تیمار این آزمایش به هفت دوز متفاوت (به ترتیب با دوزهای ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰، ۳۰۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ میلی‌گری و یک گروه کنترل) در ضخامتی از غلاف یا نگهدارنده نمونه که شرایطی تعادل الکترونی را برقرار سازد، پرتو دهی شدند. نمونه‌های اسپرم پس از پرتو دهی جهت بررسی وضعیت تحرک (حرکت پیشرونده بسمت جلو و حرکت کلی اسپرم) در دو زمان صفر و ۲۴ ساعت بعد از انزال با نرم افزار کاسا^۱ مورد ارزیابی قرار گرفتند و تاثیر پرتو گاما را بر روی پارامترهای ذکر شده در دوزهای اشاره شده در پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای گاما با استفاده از دستگاه پرتو دهی پیکر مدل V9 در آزمایشگاه دزیمتری استاندارد ثانویه در سازمان انرژی اتمی تهران، مورد بررسی واقع گردید. داده‌ها در این تحقیق با استفاده از بسته نرم افزاری SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و مقایسات میانگین‌ها نیز با استفاده از آزمون LSD در سطح معنی داری ۵ درصد انجام گرفت.

نتایج

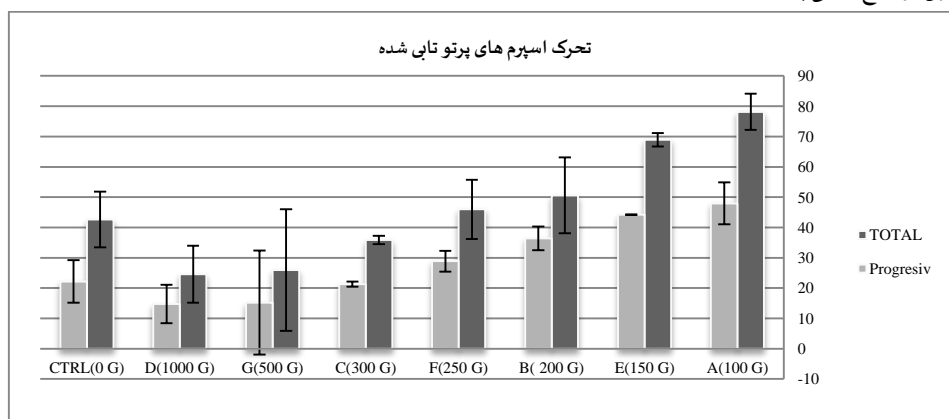
در حال حاضر پویندگان علم در سراسر جهان همواره با تمام قوا در جهت یافتن روش‌های جدید در زمینه ناباروری، مشکلات مورفولوژی و کاهش تحرک و تعداد اسپرم‌ها می‌باشند. در این آزمایش جهت تعیین میزان تحرک اسپرم در هر هشت دوز مورد نظر پس از پرتو دهی توسط نرم افزار کاسا مورد ارزیابی واقع گردید. براساس نمودار {۱} نتایج نشان می‌دهد که در زمان صفر عصاره حاوی گیاه خارمریم در حرکت پیش رونده با افزایش میزان میلی‌گری پرتو شاهد کاهش تحرک اسپرم‌ها بودیم یعنی گروه آزمایشی A با دز اشعه ۱۰۰ میلی‌گری دارای افزایش نسبت به سایر سطح دوزها و نسبت به گروه کنترل هم بوده است ولی معنی دار نبوده است.

^۱ CASA: Computer Assisted Semen Analysis

می توان به این نکته اشاره نمود بهترین سطح در پارامتر های اصلی تحرک اسپرم سطح ۱۰۰ میلی گری در ساعت صفر می باشد.. اما بعد از ۲۴ ساعت نتایج این آزمایش بر اساس نمودار {۲} چنین نشان می دهد که در حرکت کلی سطح A نسبت به سایر سطوح با افزایش گری شاهد افزایش معنی داری بوده ایم و همچنین سطح E با سایر غلظت هایی که درجه گری بالاتر بوده و سطح B و F باز به همین ترتیب افزایش معنی داری داشته است ($P < .05$). در حرکت پیش رونده به سمت جلو سطح A و E نسبت به سایر سطوح افزایش معنی داری داشته است و همچنین سطح F با سایر غلظت گری افزایش معنی داری داشته است ($P < .05$).



نمودار (۱): تحرک اسپرم قوچ پرتو تابی شده در دوز های مختلف در ساعت صفر اختلاف معنی داری در سطح ۵٪ می باشد.



نمودار (۲): تحرک اسپرم قوچ پرتو تابی شده در دز های مختلف در ساعت ۲۴ اختلاف معنی داری در سطح ۵٪ می باشد.

بحث و نتیجه گیری :

تابش پرتو گاما به اسپرم باعث تولید رادیکال های آزاد اکسیژن می شود که برای سلامت اسپرم مضر است. اثر محافظتی عصاره گیاهان دارویی بر تابش پرتو گاما و کاهش اثرات زیان بار آن در مدل های انسانی و



حیوانی بیش از ۵۰ سال است که مورد مطالعه قرار گرفته است. تشعشعات گاما به علت تولید رادیکال های آزاد می توانند یک اتصال شیمیایی را بشکنند و زنجیرهای از وقایع را که تغییرات زیستی از جمله جهش و آسیب در غشاها را شروع نماید. اکسیژن می تواند با رادیکالهای آزاد ترکیب شده و در نتیجه یک پراکسید آلی و غیرقابل برگشت به وجود می آید که باعث تثبیت آسیب ها می شود، بدون حضور اکسیژن این واکنش نیز روی نمی دهد و بسیاری از مولکول های یونیزه شده هدف، می توانند خودشان را ترمیم و قابلیت عمل طبیعی خود را نیز باز یابند [۶]. بنابراین می توان بیان نمود، اسپرم نیازمند تحرک و فعالیت بوده تا بتواند وظیفه خود را اعمال نماید که این وظیفه رسیدن به تخمک بوده تا ایجاد باروری نماید و این خود نیازمند انرژی کافی بوده که باید در محیط رقیق کننده با آن برسد و می توان اشاره نمود گیاه خارمریم دارای این انرژی می باشد. خاصیت آنتی اکسیدانی سیلی مارین در شرایط آزمایشگاهی بر بافت های حیوانات مختلف به اثبات رسیده است [۴]. در تحقیقی که موافق تحقیق فعلی می باشد نشان داده شده است که بیشتر گیاهانی که سرشار از ترکیبات آنتی اکسیدانی هستند تعداد اسپرم، قدرت تحرک و قابلیت های مورفولوژیکی اسپرم را افزایش می دهند [۷]. از آنجایی که فرآیند اسپرماتوزن فرآیندی است که تقسیم میتوز به وفور در آن دیده می شود، تابش گاما می تواند تاثیرات بسزایی در آن داشته باشد [۸]. امروزه داروهایی که ادعا می شوند واکنش سلولها به پرتوها را تعدیل می کنند، محافظت کننده نامیده می شوند، خارمریم یکی از موثرترین داروهای سنتی است که در قبال تشعشعات انواع پرتوهای رادیو اکتیو مقاومت ایجاد می کند: یکی از اجزای طیف وسیع اشعه فرابنفش خورشیدی یعنی UVB (290-303nm) و پرتو گاما می باشد که می تواند به عنوان یک عامل آغازگر تومور و نیز یک القاگر با تخریب ماکرومولکول های یاخته ای از جمله DNA پروتئین و لیپید به صورت یک سرطان زای کامل عمل نماید [۹]. تحقیقات نشان دادند که استفاده از گیاه خارمریم که حاوی مقادیر بالای سیلی مارین است در دفع و حفاظت انواع سلول های زنده بدن مقابل اشعه ها و پرتوهای یون ساز پر انرژی نقش مهمی داشته است، استفاده از سیلیمارین بر روی پوست بدون موی موش های SKH-1 از سرطان زایی UVB جلوگیری می کند. اثر فوتوپروتکتیو سیلیمارین بر ضد اشعه فرابنفش بر میزان شیوع تومورها (درصد موش های مبتلا به تومور تعداد تومورها (تعداد کل تومورها در هر موش) و اندازه تومورها در مقایسه با گروه کنترلی که سیلیمارین را دریافت نکرده اند نیز تأثیر دارد [۱۰]. همچنین اثر فوتوپروتکتیو سیلیمارین بر ضد تمام مراحل سرطان زای نوری از جمله آغازو یا مراحل کامل پیشروی تومور به اثبات رسیده است [۱۰]. مالیکارجونا و همکارانش در سال ۲۰۰۴ نشان دادند که مصرف خوراکی سیلیمین نیز می تواند در تعدادحجم و اندازه تومورها در حیوانات نقش پیشگیری کننده داشته باشد هر چند که بر روی میزان شیوع تومور در موش ها نسبت به استعمال پوستی اثر ضعیف تری دارد. علاوه بر این درمان با سیلیمارین یا سیلیمین می تواند فاز تاخیری که از زمان برخورد با سرطان زا تا



زمان ظهور تومور به طول می انجامد را به خصوص در فرایندهای سرطان زایی کامل UVB به نحو چشمگیری افزایش دهد.

تحقیق صورت گرفته نشان داده که پرتو گاما در دوزهای بالا دارای اثرات سوء بوده ولی در دوزهای پایین اثرات سوء بسیار کاهش یافته، پس می توان بیان نمود از دلایل این موفقیت اثر عصاره گیاه خارمریم در محیط رقیق کننده بوده که باعث نقش حفاظت در مقابل پرتو گاما شده است. می توان برای اولین بار اعلام کنیم، با توجه به جستجوهای فراوانی که انجام گردیده، هیچ گونه تحقیقی دال بر نقش محافظت خارمریم بر اسپرما توژنز وجود نداشته و شاید این دریچه ای باشد برای انجام تحقیقات بیشتر روی این گیاه دارویی اسرار آمیز، اما آنچه که به چشم می خورد اثر محافظتی عصاره خارمریم در محیط رقیق کننده بوده که پس از تابش پرتو گاما بر دوزهای مختلف روی تحرک اسپرم بوده است که ناشی از اثرات آنتی اکسیدانی قوی این گیاه می باشد و این عصاره را می توان مورد استفاده در جهت افزایش باروری و مقاومت در برابر اشعه های گاما دانست.

منابع:

- [۱] Adams, N R. permanent infertility in ewes exposed to plant oestrogens. Australian Veterinary Journal 67, 197-201, 1990.
- [۲] Cognic, Y, colas, G, Thimonier, J. Control of reproduction in the ewe. In: The reproductive potential of Cattle and Sheep. INRA Publication, pp. 175-190, 1999.
- [۳] Gazak R, Walterova D, Kren V. Silibin and silymarin, new and emerging applications in medicine. Current Medicinal Chemistry, 14:315-324, 2007.
- [۴] Agarwal R, Agarwal CH, Chikaw H, Rana P. Anticancer potential of silymarin : From Bench to Bed side (review), 2006.
- [۵] Ramesamy K, Agarwal R. Multitargeted therapy of cancer by silymarin (mini-review). Cancer Letters. 269: 352-362, 2008.
- [۶] Benkhaled L, Barrios L, Mestres M, Caballin MR, Ribas M, Barquinero J F Analysis of gamma-rays induced chromosome aberrations : a fingerprint evaluation with a combination of pan-centromeric and pantelomeris. Int Journal of Radiat Biology, 82: 869-874, 2006.



- [۷] Oluyemi Kayoe A, Jimoh Olusegun R, Adesanya Olamie A, Omotuyi Idowu O, Josiah Sunday J, Oyesola Tolulope O. Effects of crude ethanolic extract of *Garcinia cambogia* on the reproductive system of male Wistar rats (*Rattus Novergicus*). *Afr J Biotechnol*; ۶: ۱۲۳۶-۸, ۲۰۰۷.
- [۸] Ozuner M, Koya A, Cesur G, Ural M, Ozguner F, Gokcimen A. Biological and morphological effects on the reproductive organ of rats exposure to electromagnetic field. *Saudi med Journal*, ۲۶: ۴۰۵-۴۱۰, ۲۰۰۵.
- [۹] Robertson F M, Bijur G N, Oberyszyn A S. Interleukin-۱۰ in murine multistage skin carcinogenesis. In: *Skin Cancer : Meechanism and Human Relevance*. Mukhtar H(ed). CRC press, Boca Raton, FL, pp, ۲۵۵-۲۷۲, ۱۹۹۵.
- [۱۰] Katiyar S K, Mukhtar H. Green tea polyphenol (-)- epigallocatechin-۳- gallate treatment to mouse skin prevents UVB induced infiltration of leukocytes, depletion antigen presenting cells and oxidative stress. *Journal of Leukocyte Biol*, ۶(۹): ۷۱۹-۷۲۶, ۲۰۰۱.