بررسی اثر عصارهٔ آبی خیاردریایی (*Holothuria arenicola* Semper, 1868) خلیج‌فارس در پیشگیری از آسیب میدان الکترومغناطیسی بر غدد جنسی نر در موش نژاد Balb/C

نازنین واسعی[۱]، جواد بهارآرا[۲]*، سعیده ظفربالانژاد[۱] و الهه امینی[۳]

دریافت: ۱۳۹۴/۸/۱۰/ پذیرش: ۱۳۹۴/۸/۳۰

[۱]گروه زیست شناسی، دانشکدهٔ علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد، مشهد

[۲]گروه زیست‌شناسی و مرکزتحقیقات بیولوژی کاربردی تکوین جانوری، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد، مشهد

[۳]گروه علوم جانوری، دانشکدهٔ علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران

*مسئول مکاتبات: baharara@mshdiau.ac.ir

چکیده. میدان الکترومغناطیسی فاکتور استرس‌زایی است که موجب تغییر عملکرد دستگاه‌های بدن می‌شود. هدف پژوهش حاضر بررسی اثر حفاظتی عصارهٔ آبی خیاردریایی گونهٔ خلیج‌فارس در آسیب‌های ناشی از میدان‌های الکترومغناطیسی با فرکانس کم بر غدد جنسی موش نر نژاد Balb/C است. موش‌ها به گروه‌های شاهد، شاهد آزمایشگاهی و تجربی ۱ و ۲ و ۳ و ۴ و ۵ تقسیم‌بندی شدند. گروه‌های تجربی به‌مدت ۱۰ روز، روزانه ۴ ساعت درمعرض میدان قرار گرفتند. همچنین نمونه‌های گروه‌های تجربی ۵-۲، ۶ ساعت قبل از تیمار با میدان الکترومغناطیسی عصارهٔ خیاردریایی دریافت کردند. نمونه‌ها پس‌از طی دورهٔ تیماری تثبیت و جهت مطالعات بافت‌شناسی آماده و با روش H&E رنگ‌آمیزی شدند. سپس قطر و تعداد لوله‌های منی‌ساز، قطر بیضه، وزن بیضه و اپیدیدیم، ضخامت تونیکاآلبوژینه، تعداد سلول‌های اسپرماتوژنیک شامل اسپرماتوگونی‌ها، اسپرماتوسیت‌ها، اسپرماتیدها، سلول‌های سرتولی‌و سلول‌های لایدیگ اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که تیمار با میدان بر وزن اپیدیدیم، قطر لوله‌های منی‌ساز و ضخامت تونیکا آلبوژینه اثر معنی‌دار ندارد اما باعث کاهش معنی‌دار در وزن و قطر بیضه، تعداد لوله‌های منی‌ساز و سلول‌های اسپرماتوژنیک در گروه تجربی ۱ نسبت به شاهد می‌شود. همچنین نمونه‌های گروه‌های تجربی که قبل‌از تیمار با میدان الکترومغناطیسی عصارهٔ خیاردریایی دریافت کرده بودند افزایش معنی‌دار نسبت به گروه تجربی ۱ نشان دادند. یافته‌ها نشان می‌دهد که میدان الکترومغناطیسی بر پارامترهای بافت بیضه اثر تخریبی دارد، اما عصارهٔ خیاردریایی دارای اثر پیشگیری کننده بر آسیب‌های القایی توسط میدان الکترومغناطیسی بر غدد جنسی نر می‌باشد.

واژه‌های کلیدی. خیاردریایی، میدان مغناطیسی، بیضه، خلیج فارس

An investigation of the protective impact exerted by aqua extract of Persian Gulf sea cucumber (*Holothuria arenicola* Semper, 1868) against damages induced by electromagnetic field on male gonads of Balb/C mice

Nazanin Vasei[1], Javad Baharara[2*], Saeedeh Zafar Balanezhad[1] and Elaheh Amini[3]

Received 01.11.2015 / Accepted 21.11.2015

[1]Department of Biology, Faculty of Sciences, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran
[2]Research Center for Animal Development Applied Biology and Biology Department, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran
[3]Department of Animal Sciences, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran
*Correspondent author: baharara@mshdiau.ac.ir

Abstract. Electromagnetic field is a stress factor which can interfere with the functions of body organs. This study aims to evaluate the protective impact of the aqua extract of Persian Gulf sea cucumber on damages induced by low frequency electromagnetic field in male gonads of Balb/C mice. Mice were divided into control, sham-exposed and 5 experimental groups. The experimental groups were then exposed to electromagnetic field (for 10 days and 4 hours per day). Experimental groups 2-5 also received extract of sea cucumber (6h before electromagnetic field). The samples were fixed for histological studies and stained by H & E method. The measurement of the diameter and number of seminiferous tubules, testis diameter, testis and epididymis weight, tunica albuginea thickness, the number of spermatogenic cells including spermatogonia, spermatocytes, spermatids, Sertoli cells and Leydig cells was then executed. The results showed that the impact of electromagnetic field exposure was not significant on epididymis weight, seminiferous tubules diameter and tunica albuginea thickness, while its impact on the reduction of the testis diameter and weight, the number of seminiferous tubules and spermatogenic cells was significant in experimental group 1. In addition, the experimental groups pre-treated with sea cucumber extract indicated significant increment, as compared with experimental group 1.The results proved the destructive effect of electromagnetic field on testis tissue parameters, while sea cucumber extract prevents damages induced by electromagnetic field on male sexual glands of mice.

Keywords. sea cucumber, electromagnetic field, testis, Persian Gulf

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-27]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1394.2.3.7.8]
[DOI: 10.21859/acadpub.nbr.2.3.216]

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-27]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1394.2.3.7.8]
[DOI: 10.21859/acadpub.nbr.2.3.216]

مقدمه

ناباروری غالباً باعث ایجاد مشکلات روانی-اجتماعی و اقتصادی می‌شود (Khosravi *et al*., 2014). براساس گزارش‌های محققان از دلایل مهم بروز این مشکل گسترش و کاربرد روز-افزون دستگاه‌های مولد میدان مغناطیسی نظیر تلفن همراه می-باشد (Baharara *et al*., 2007).

در طول قرن بیستم قرارگرفتن درمعرض میدان الکترومغناطیسی موضوعی نگران‌کننده برای سلامت موجودات زنده به شمار می‌رفت. تعدادی از گزارش‌ها نشان دادند که قرارگرفتن در-معرض میدان الکترومغناطیسی با فرکانس پایین هیچ اثر سوئی بر اسپرماتوژنز و ظرفیت تولیدمثلی در حیوانات آزمایشگاهی و انسان ندارد، درحالی‌که برخی مطالعات نشان دادند که میدان های الکترومغناطیسی به روند اسپرماتوژنز آسیب می‌زند (Roshangar & Hamdi, 2014).

تحقیقاتی که درباب آثار مختلف میدان الکترومغناطیسی انجام شده است، تأثیر سوء میدان‌ها را بر رفتار، سیستم عصبی مرکزی، خواب، سیستم قلبی و عروقی و عملکرد سیستم ایمنی اثبات کرده و نشان داده‌است که میدان‌های الکتریکی و مغناطیسی در سطوح زیست‌محیطی ممکن است طول عمر رادیکال‌های آزاد را افزایش دهد و در نتیجه به DNA آسیب برسانند (Roshangar & Hamdi, 2014).

در این میان آسیب به دستگاه تولیدمثل یکی از پیامدهای منفی احتمالی امواج الکترومغناطیسی است و محققان پیشنهاد کرده‌اند که آسیب به DNA اسپرماتوزوآی انسانی، یکی از عواقب قرار-گرفتن در معرض با امواجی است که از تلفن‌های همراه ساطع می‌شود (Kumar & Shukla, 2014). خطر ناشی از پرتوهای الکترومغناطیس بر فرایند تولیدمثل به صورت‌های کاهش باروری، کاهش معنی‌دار در میزان لانه گزینی و تولدهای زنده و بروز برخی ناهنجاری‌های مادرزادی گزارش شده است (Hemayatkhah Jahromi *et al*., 2012).

تحقیقات نشان داده است که امواج مایکروویو بر تخمدان و باروری در موش ماده تأثیر مخربی دارد (Baharara *et al*., 2007). همچنین پژوهش‌ها اثر تلفن همراه بر کاهش کیفیت اسپرم و آثار سوء آن بر باروری و آثار امواج نشتی مایکروویو بر میزان هورمون‌های جنسی در موش‌های کوچک آزمایشگاهی نر و نابالغ را اثبات کرده‌اند (Adams *et al*, 2014; Gherardini *et al*., 2014).

ازاین‌رو اخیراً تلاش برای شناسایی ترکیباتی که بتوانند از آثار آسیب‌رسان میدان‌های الکترومغناطیسی جلوگیری کنند، مورد-توجه قرار گرفته‌است. برخی مواد مغذی مشتق شده از منابع طبیعی به‌ویژه گیاهان در جلوگیری از آسیب‌های تولیدمثلی القا-شده توسط امواج الکترومغناطیسی موثر هستند (Luo *et al*., 2014).

تابه‌حال مطالعات اندکی درباب اثر حفاظتی فراورده‌های طبیعی دریایی بر آسیب القاشده ازطریق میدان‌های الکترومغناطیسی صورت‌گرفته است. ازاین‌رو باتوجه به تنوع ساختاری و عملکردی فراورده های طبیعی دریایی شناسایی ترکیبات موثر در زمینه پیشگیری از آسیب‌های القایی توسط میدان‌های الکترومغناطیسی حائز اهمیت است.

خیارهای دریایی یکی از موجودات دریایی از شاخهٔ خارپوستان و ردهٔ خیارسانان با پوست چرمی و بدن ژلاتینی هستند که در کشورهای جنوب‌شرقی آسیا برای درمان برخی‌از بیماری‌ها از-جمله فشار خون، اگزما و سرطان به‌کار می‌روند (Bordbar *et al*., 2011; Althunibat *et al*., 2013). غالباً خواص دارویی و زیستی خیاردریایی به دلیل حضور طیف وسیعی از مواد فعال زیستی به ویژه گلیکوزیدهای تری‌ترپنی (ساپونین)، کندروئتین سولفات، گلیکوزآمینوگلیکان (GAGs)، استرول‌ها (گلیکوزیدها و سولفات)، فنولیک‌ها، سربروزیدها، پپتیدها، گلیکوپروتئین، گلیکواسفنگولیپید و اسیدهای چرب ضروری است (Soltani *et al*., 2015; Baharara *et al*., 2016).

باتوجه به خواص دارویی زیستی خیاردریایی و اهمیت جلوگیری از اثر زیان‌بار میدان‌های الکترومغناطیسی بر سلامت

موجودات زنده در مطالعهٔ حاضر اثر حفاظتی خیاردریایی در برابر آسیب‌های ناشی از میدان‌های الکترومغناطیسی با فرکانس کم بر غدد جنسی نر موش کوچک آزمایشگاهی نژاد Balb/C بررسی شده است.

مواد و روش‌ها

برای تهیهٔ عصارهٔ خیاردریایی گونهٔ خلیج‌فارس (*Holothuria arenicola*) ابتدا محتویات داخلی خیاردریایی تخلیه و دیوارهٔ بدن خشک شد. سپس هر گرم پودر دیوارهٔ بدن خیاردریایی با ۱۰ میلی‌لیتر متانول مطلق (Merck, Germany) مخلوط و بر روی شیکر (Heidolph, Germany) قرار داده شد. عصاره با استفاده از کاغذصافی واتمن ۱۱ فیلتر و صاف و سانتریوفیوژ شد و سپس عصاره تا زمان خشک‌شدن درون آون (Memmert, USA) قرار داده شد.

برای انجام این مطالعه تجربی آزمایشگاهی، از ۵۶ سر موش نر کوچک آزمایشگاهی نژاد Balb/C استفاده شد. موش‌های ۲ ماهه با محدودهٔ وزنی ۲۸-۲۴ گرم از موسسهٔ سرم‌سازی رازی مشهد خریداری و تا شروع آزمایش به‌منظور تطابق با شرایط به‌مدت دوهفته در اتاق حیوانات، در درجهٔ حرارت ۲±۲۱ سانتی‌گراد، رطوبت ۶۵ تا ۷۰ درصد با دورهٔ نوری طبیعی (۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی) در قفس‌های ویژه‌ای با دوبار شست‌وشو و ضدعفونی در هفته، نگهداری و آب و غذای کافی در اختیار آنها قرار داده شد.

در این پژوهش از دستگاه مولد فرکانس پایین ۵۰ هرتز که در وضعیت عادی مقادیر زیادی از این میدان‌ها در محیط وجود داشته، موجب تحریکات عصبی می‌شد و بدن تحت تأثیر این امواج قرار می‌گیرد، استفاده شد (Parivar *et al*., 2011). برای تولید میدان الکترومغناطیس با فرکانس کم لازم از مدار ویژه مولد میدان الکترومغناطیس با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۲۰۰ گاوس استفاده شد (طراحی و ساخته شده در آزمایشگاه تحقیقاتی زیست‌شناسی تکوینی دانشگاه آزاد اسلامی مشهد به کوشش بهارآرا و اشرف). این دستگاه شامل بوبین، ۳ رئوستا، خازن و آمپرمتر است. بوبین از مقادیر مناسبی سیم مسی تشکیل که حول یک لوله از جنس PVC باتوجه به محاسبه انجام شده از رابطه $B= \mu nI$ پیچیده شده است (B= شدت میدان مغناطیسی برحسب تسلا، $\mu= 10x\pi4$، n= تعداد دور در واحد طول، I= شدت جریان). همچنین از رئوستا برای ایجاد تغییر مقدار جریان و خازن با ظرفیت بالا برای جلوگیری از خودالقائی دستگاه (۷ خازن با ظرفیت ۳۰ میکروفاراد) استفاده شد (Baharara *et al*., 2006).

جهت انجام این پژوهش، موش‌ها به طور تصادفی به هفت گروه هشت‌تایی زیر تقسیم شدند:

گروه شاهد که در آن موش‌ها به‌طور طبیعی در درون اتاق پرورش حیوانات نگهداری شدند؛ گروه شاهد آزمایشگاهی به‌مدت ۱۰ روز و هر روز به‌مدت ۴ ساعت در درون دستگاه مولد میدان به حالت خاموش قرار گرفتند؛ گروه تجربی ۱ که به‌مدت ۱۰ روز و هر روز به‌مدت ۴ ساعت درمعرض میدان الکترومغناطیس با فرکانس ۵۰ هرتز با شدت ۲۰۰ گاوس قرار گرفتند؛ گروه‌های تجربی۲ و ۳ و ۴ و ۵ به‌مدت ۱۰ روز، ۶ ساعت قبل از میدان به‌ترتیب عصارهٔ خیاردریایی با دوزهای ۲۵ و ۵۰ و ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم دریافت کردند و هر روز ۴ ساعت درمعرض میدان الکترومغناطیسی با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۲۰۰ گاوس قرار گرفتند.

پس‌از پایان تجربیات موش‌ها با اتر (Merck, Germany) بیهوش شدند و سپس اپیدیدیم و بیضه‌ها جدا و هرکدام به تفکیک توزین شدند. سپس بیضه‌ها جهت بررسی‌های بافت‌شناختی در فرمالین ۱۰٪ قرار گرفت و پس از مراحل آب‌گیری، شفاف‌سازی و قالب‌گیری، برش‌های میکروسکوپی سریال (۵ میکرومتر) از بیضه تهیه و به‌وسیلهٔ هماتوکسیلین-ائوزین رنگ‌آمیزی شد. قطر بیضه، وزن بیضه و اپیدیدیم، تعداد و قطر لوله‌های منی‌ساز، ضخامت تونیکا آلبوژینه، تعداد اسپرماتوگونی‌ها، اسپرماتوسیت‌ها، اسپرماتیدها، سرتولی‌ها و سلول‌های لایدیگ با روش شمارش سلولی در میدان‌های دیدی که به طور تصادفی از روی لام‌ها انتخاب شده بودند توسط نرم افزار نرم Image J. تعیین شد. جهت انجام این پژوهش تجربی پروتکل اخلاق کار با حیوانات در تمام مراحل کار رعایت گردید.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-27]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1394.2.3.7.8]
[DOI: 10.21859/acadpub.nbr.2.3.216]

تحلیل آماری

داده‌های کمی با استفاده از نرم‌افزار SPSS، نسخه ۱۶، تحلیل واریانس یک‌طرفه و تست تعقیبی توکی در سطح معنی‌داری $p<۰/۰۵$ تجزیه و تحلیل شد.

نتایج

وزن بیضه و اپیدیدیم

تحلیل آماری بین گروه‌های شاهد و شاهد آزمایشگاهی اختلاف معنی‌دار در مورد وزن بیضه و اپیدیدیم نشان نداد ($p>۰/۰۵$). مقایسهٔ میانگین وزن بیضه موش‌ها در نمونه‌های گروه تجربی ۱ (گرم ۰/۰۰۵± ۰/۱۲۵) نسبت به گروه شاهد (گرم ۰/۱± ۰/۲۶)، کاهش معنی‌دار نشان داد ($p< ۰/۰۰۱$). درحالی‌که کاربرد توأم میدان و غلظت‌های مختلف عصارهٔ خیاردریایی موجب شد که کاهش وزن القاشده به‌وسیلهٔ میدان جبران شده و افزایش معنی‌دار بین گروه‌های تجربی ۲ و ۳ و ۴ و ۵ در مقایسه با گروه تجربی ۱ مشاهده شد ($p<۰/۰۰۱$). همچنین در مقایسهٔ میانگین وزن اپیدیدیم موش‌ها بین گروه تجربی ۱ نسبت به گروه شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($p>۰/۰۵$)، (جدول۱).

قطر بیضه‌ها

تحلیل آماری، اختلاف معنی‌داری بین میانگین قطر بیضه بین گروه‌های شاهد و شاهد آزمایشگاهی نشان نداد ($p>۰/۰۵$). اما میانگین قطر بیضه در گروه تجربی۱ نسبت به شاهد کاهش معنی‌داری داشت ($p<۰/۰۰۱$) و در گروه‌های تجربی ۲ و ۳ و ۴ و ۵ نسبت به گروه تجربی ۱ افزایش معنی‌دار قطر بیضه مشاهده شد ($p<۰/۰۰۱$)، (شکل ۱).

جدول ۱- میانگین وزن بیضه و اپیدیدیم برحسب گرم.

Table 1. The average weight of the testis and epididymis (in grams).

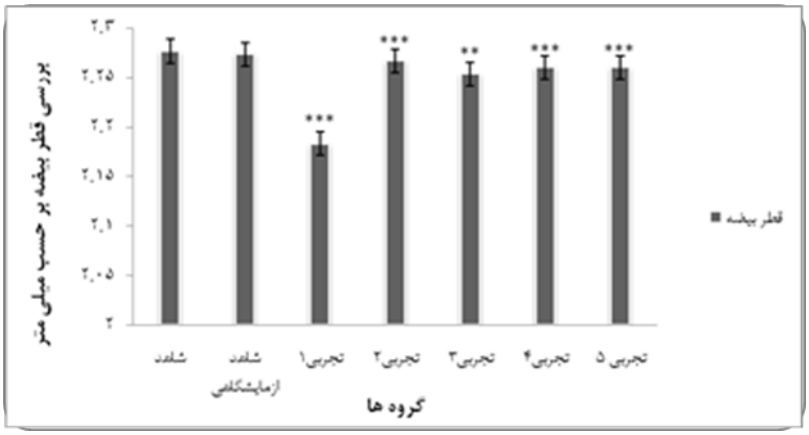
متغیر ها / گروه ها	بیضه (گرم)	اپیدیدیم (گرم)
شاهد	۰/۲۶ ±۰/۰۱	۰/۱۲±۰/۰۰۸
شاهد آزمایشگاهی	۰/۲۵ ±۰/۰۱	۰/۱۱±۰/۰۰۸
گروه تجربی ۱	۰/۱۲۵ ±۰/۰۰۵***	۰/۱۳±۰/۰۱
گروه تجربی ۲	۰/۲۶ ±۰/۰۱***	۰/۱۴±۰/۰۱
گروه تجربی ۳	۰/۲۴ ±۰/۰۱***	۰/۱۲±۰/۰۰۴
گروه تجربی ۴	۰/۲۲ ±۰/۰۱***	۰/۱۳±۰/۰۱
گروه تجربی ۵	۰/۲۳ ±۰/۰۱***	۰/۱۴±۰/۰۱

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-27]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1394.2.3.7.8]
[DOI: 10.21859/acadpub.nbr.2.3.216]

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-27]

[DOR: 20.1001.1.24236330.1394.2.3.7.8]

[DOI: 10.21859/acadpub.nbr.2.3.216]



شکل ۱- مقایسهٔ قطر بیضه‌ها در گروه‌های شاهد، شاهد آزمایشگاهی و گروه‌های تجربی ۱ تا ۵. (***p<۰/۰۰۱)، (**p<۰/۰۱).

Fig. 1. Comparing the diameter of testis in control, sham and experimental groups of 1-5. (**p≤0.01, ***p≤0.001).

قطر لوله‌های منی ساز

بررسی مقایسه‌ای نتایج آماری اختلاف معنی‌دار در میانگین قطر لوله‌های منی‌ساز بین گروه‌های شاهد آزمایشگاهی و تجربی ۱ نسبت‌به گروه شاهد نشان نداد (جدول۲)، (شکل۲). همچنین اختلاف معنی‌داری در قطر لوله‌های منی‌ساز بین گروه‌های تجربی دیگر و گروه تجربی ۱ مشاهده نشد (p>۰/۰۵).

بررسی ضخامت تونیکاآلبوژینه

اندازه‌گیری ضخامت تونیکاآلبوژینه در مقاطع بافتی بیضه در گروه‌های شاهد آزمایشگاهی و تجربی ۱ اختلاف معنی‌داری نسبت به گروه شاهد نشان نداد (p>۰/۰۵)، (جدول۲).

جدول ۲- بررسی قطر لوله منی‌ساز و ضخامت تونیکاآلبوژینه.

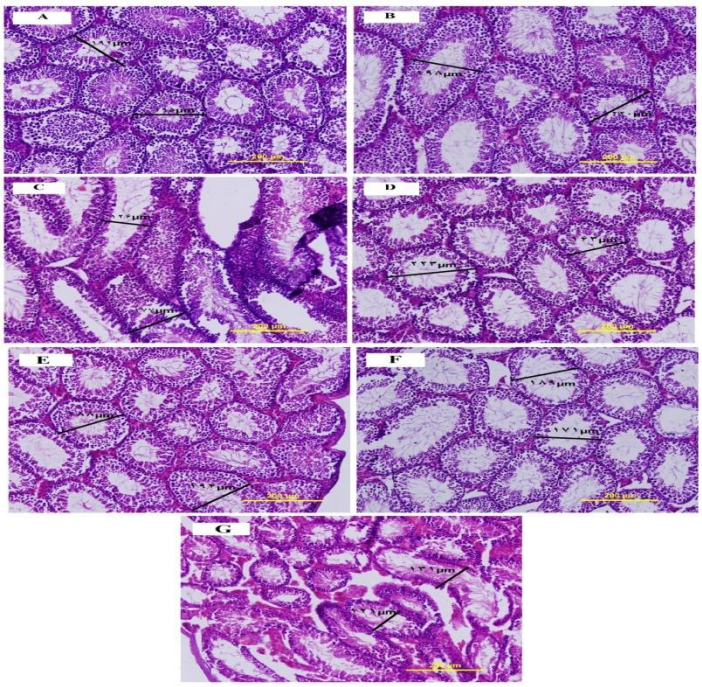
Table 2. Evaluation the diameter of seminiferous tubules and the thickness of tunica albuginea.

متغیر ها / گروه ها	قطر لوله منی‌ساز (µm)	ضخامت تونیکاآلبوژینه (µm)
شاهد	۱۷۳/۳±۱۱/۴	۳۸/۶±۳/۲
شاهد آزمایشگاهی	۱۷۴±۱۴/۱	۳۹±۲/۴
تجربی ۱	۱۵۹±۶/۴	۲۸±۰/۸
تجربی ۲	۱۵۸±۹/۶	۳۰/۶±۴/۴
تجربی ۳	۱۵۵/۶±۱۲/۶	۳۴/۶±۲/۸
تجربی ۴	۱۵۸/۳±۶/۹	۳۳/۶±۵/۴
تجربی ۵	۱۴۳/۶±۱۱/۰۸	۳۳±۳/۷

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-27]

[DOR: 20.1001.1.24236330.1394.2.3.7.8]

[DOI: 10.21859/acadpub.nbr.2.3.216]



شکل ۲- میکروگراف بافت بیضه و لوله‌های منی‌ساز در گروه‌های شاهد، شاهد آزمایشگاهی و گروه‌های تجربی ۱ تا ۵. A) شاهد، B) شاهد آزمایشگاهی، C) تجربی ۱، D) تجربی ۲، E) تجربی ۳، F) تجربی ۴، G) تجربی ۵.

Fig. 2. Testis tissue and seminiferous tubules micrographs in control, sham and experimental groups 1-5: A) control, B) sham, C) experimental 1, D) experimental 2, E) experimental 3, F) experimental 4, G) experimental 5.

تعداد لوله‌های منی‌ساز

بررسی آماری میانگین تعداد لوله‌های منی‌ساز بین گروه‌های شاهد و شاهد آزمایشگاهی اختلاف معنی‌داری نشان نداد (p>۰/۰۵)، اما قرارگرفتن موش‌ها درمعرض میدان الکترومغناطیسی موجب کاهش معنی‌داری تعداد لوله‌ها در گروه تجربی ۱ نسبت به گروه شاهد شد (p<۰/۰۰۱) و در گروه‌های تجربی ۳ (p<۰/۰۱) ۴ و ۵ (p<۰/۰۰۱) (تحت تأثیر غلظت‌های مختلف عصارهٔ خیاردریایی) نسبت به گروه تجربی ۱ افزایش معنی‌داری در تعداد لوله‌های منی‌ساز مشاهده شد (جدول۳).

جدول ۳- شمارش لوله های منی ساز.

Table 3. Seminiferous tubules enumeration.

شاهد	۱۹۱/۶±۱/۲
شاهد آزمایشگاهی	۱۸۵/۶±۲/۴
تجربی ۱	۱۵۹±۰/۸***
تجربی ۲	۱۹۷/۳±۱/۶
تجربی ۳	۱۹۶/۶±۱/۶**
تجربی ۴	۱۹۶/۶±۲/۰۵***
تجربی ۵	۱۹۵/۳±۲/۸***

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-27]

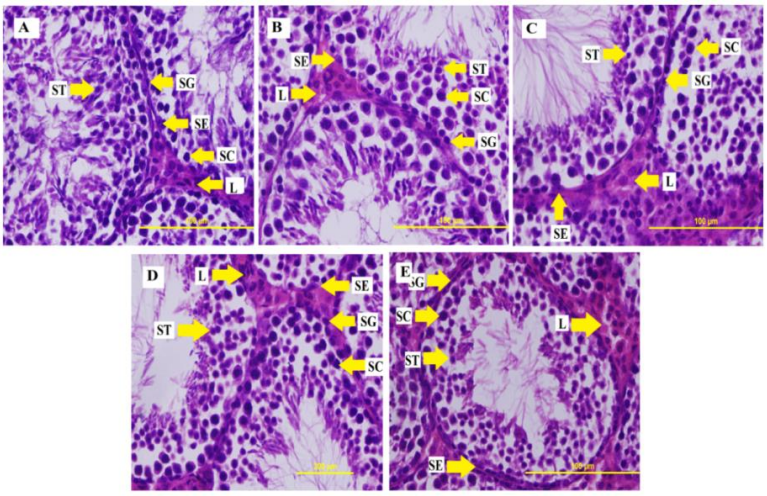
[DOR: 20.1001.1.24236330.1394.2.3.7.8]

[DOI: 10.21859/acadpub.nbr.2.3.216]

تعداد سلول‌های اسپرماتوژنیک

تعداد اسپرماتوگونی‌ها، اسپرماتوسیت‌ها، اسپرماتیدها، سلول‌های سرتولی و سلول‌های لایدیگ در گروه شاهد آزمایشگاهی نسبت به شاهد اختلاف معنی‌دار نشان نداد ($p>۰/۰۵$)، مقایسه با گروه‌های دیگر نشان‌دهندهٔ کاهش معنی‌دار تمامی سلول‌های موردنظر در گروه تجربی ۱ نسبت به گروه شاهد بود ($p<۰/۰۰۱$). شمارش سلول‌های اسپرماتید، افزایش معنی‌داری در گروه‌های تجربی ۲ ($p<۰/۰۱$) ۳ و ۴ و ۵ ($p<۰/۰۰۱$) نشان داد.

شمارش تعداد سلول‌های اسپرماتوسیت در گروه‌های تجربی ۲ و ۳ و ۴، سلول‌های سرتولی در گروه تجربی۳ و ۴، و سلول‌های لایدیگ در گروه تجربی ۳ نسبت به گروه تجربی ۱ افزایش معنی‌دار نشان داد ($p<۰/۰۰۱$). این درحالی است که شمارش تعداد سلول‌های اسپرماتوسیت و اسپرماتوگونی در گروه تجربی ۵، سلول‌های سرتولی در گروه تجربی ۲ و سلول‌های لایدیگ در گروه های تجربی ۴ و ۵ نسبت به گروه تجربی ۱ افزایش معنی‌دار در حد ($p<۰/۰۱$) نشان داد (شکل ۳)، (جدول۴).



شکل ۳- سلول‌های اسپرماتوژنیک لوله‌های منی‌ساز در گروه‌های شاهد، شاهد آزمایشگاهی و گروه‌های تجربی. A) شاهد، B) شاهد آزمایشگاهی، C) تجربی ۱، D) تجربی ۲، E) تجربی ۳، L) لایدیگ، SE) سرتولی، SG) اسپرماتوگونی، SC) اسپرماتوسیت، ST) اسپرماتید.

Fig. 3. Seminiferous tubules spermatogenic cells in control, sham and experimental groups: A) control, B) sham, C) the experimental 1, D) the experimental 2, E) the experimental 3, L) leydig, SE) sertoli, SG) spermatogonium, SC) spermatocyte, ST) spermatid.

جدول۴- تعداد سلول‌های اسپرماتوژنیک.

Table 4. Number of spermatogenic cells.

متغیرها / گروه‌ها	لایدیگ	سرتولی	اسپرماتوگونی	اسپرماتوسیت	اسپرماتید
شاهد	۲۴/۶±۲/۰۵	۱۴±۰/۸	۴۹±۰/۸	۶۱/۶±۲/۸	۷۷/۶±۲/۶
شاهد آزمایشگاهی	۲۳±۰/۸	۱۱/۶±۱/۲	۴۷±۰/۸	۶۰/۳±۱/۲	۷۹/۳±۱/۲
تجربی ۱	۱۲/۶±۱/۶***	۶/۳±۱/۲***	۳۴/۳±۴/۱***	۴۴/۶±۱/۲***	۴۲/۳±۶/۲***
تجربی ۲	۱۵±۰/۸	۱۱±۰/۸*	۳۶/۶±۱/۲	۶۴/۶±۳/۰۹***	۸۰/۶±۳/۰۹**
تجربی ۳	۲۱/۶±۱/۲***	۱۳/۳±۱/۲***	۳۹±۰/۸	۶۵/۳±۲/۰۵***	۸۹±۲/۹***
تجربی ۴	۱۹±۰/۸**	۱۳/۶±۱/۲***	۳۴/۶±۳/۶	۵۹±۴/۱**	۸۸±۱/۶***
تجربی ۵	۲۰±۱/۶**	۱۰/۶±۱/۲*	۴۶±۰/۸**	۵۸±۲/۴**	۸۲/۶±۶/۶***

بحث

نتایج این پژوهش نشان داد که قرارگرفتن درمعرض میدان الکترومغناطیس در گروه تجربی ۱ نسبت به گروه شاهد بر پارامترهایی چون وزن اپیدیدیم، قطر لوله‌های منی‌ساز و ضخامت تونیکاآلبوژینه اختلاف معنی‌دار ایجاد نمی‌کند، در حالی‌که به کاهش معنی‌دار وزن و قطر بیضه، تعداد لوله‌های منی‌ساز و سلول‌های اسپرماتوژنیک (لایدیگ، سرتولی، اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت، اسپرماتید) منجر می‌شود. نتایج بررسی‌های ما در سایر گروه‌های تجربی تحت تأثیر عصارهٔ خیاردریایی در مقایسه با گروه تجربی ۱، افزایش معنی‌دار وزن و قطر بیضه را نشان داد. همچنین اثر عصارهٔ خیاردریایی منجربه افزایش معنی‌دار تعداد لوله‌های منی‌ساز، تعداد سلول‌های لایدیگ، سرتولی، اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت و اسپرماتید در سایر گروه‌های تجربی نسبت به تجربی ۱ شد.

گزارش‌های مختلفی از اثر میدان‌های الکترومغناطیسی و بررسی ارتباط آن با وضعیت‌های پاتولوژیک ارائه شده است که در این راستا نوع میدان، شدت، مدت زمان قرارگرفتن درمعرض میدان در نتایج این آزمایشات موثر نشان بوده است. برای مثال نشان داده شده است که کاربرد توأم راپامایسین و میدان الکترومغناطیسی با فرکانس بسیار پایین اثرات مهاری بر آنژیوژنز جوجه اعمال می‌کند (Popov *et al*., 2013). در مطالعه‌ای دیگر در سال ۲۰۱۲ ، بررسی اثر امواج ۹۵۰ مگاهرتز سیستم تلفن همراه بر حافظهٔ موش های کوچک آزمایشگاهی نر نشان داد که عملکرد حافظه و تجزیه و تحلیل حیوانات در معرض امواج تلفن‌های همراه، کاهش وابسته به زمان در معرض قرارگیری و توان نشان می دهد (Ibrahim, 2012).

دربارهٔ تأثیر میدان‌های الکترومغناطیسی بر دستگاه تولیدمثل مطالعات نشان داده‌اند که میدان‌های الکترومغناطیسی می‌توانند تأثیر مهمی بر ساختار غدد تناسلی، سیستم آندوکرینی و باروری داشته باشند. تحقیقاتی که با هدف بررسی اثر میدان‌های الکترومغناطیسی بر باروری موش نر صورت گرفته است اثرات زیان‌بار میدان‌های الکترومغناطیسی بر بافت بیضه را اثبات کرده‌است (Baharara *et al*., 2007).

Parivar و همکاران (2011) نشان دادند که قرارگرفتن موش‌های بالغ درمعرض میدان الکترومغناطیسی با فرکانس پایین موجب تغییراتی در اسپرماتوژنز از جمله افزایش تعداد اسپرماتوسیت های ثانویه، ایجاد حالت سن سیتیوم در سلول‌های اسپرماتوژنیک و تخریب بافت بینابینی بیضه شده که می تواند به کاهش باروری در موش‌های نر منجر شود. تجربهٔ حاضر نیز نشان داد که میدان الکترومغناطیسی ۵۰ هرتز موجب کاهش تعداد سلول‌های اسپرماتوژنیک اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت اولیه، سرتولی و لیدیگ می‌شود.

تحقیقاتی که دربارهٔ اثر حفاظتی فرآورده‌های طبیعی دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی صورت گرفته، کارایی برخی فراورده‌های طبیعی در پیشگیری از آسیب‌های موادشیمیایی و میدان‌های مغناطیسی مختلف را تأئید کرده است. اثر آنتی‌اکسیدان ترکیبات طبیعی در کاهش اختلالات میدان‌های الکترومغناطیسی بررسی شده است؛ نتایج نشان داد که فراورده‌های طبیعی می تواند در خنثی‌کردن اثرات مضر مواد شیمیایی فیزیکی آلاینده‌های محیطی مانند میدان‌های الکترومغناطیسی موثر باشد (Zahedifar *et al*., 2015). Poljsak و Fink (2014) اثر حفاظتی آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی را درمقابل آسیب‌های ناشی از آلاینده‌های زیستی مورد بررسی قرار داده و نشان دادند که قرارگیری در معرض آلاینده‌های زیست‌محیطی استرس اکسیداتیو را افزایش می‌دهد. درمقابل، آنتی‌اکسیدان‌ها اثر حفاظتی دربرابر استرس اکسیداتیو نشان می‌دهند.

در گزارشی اثر حفاظتی آنتی‌اکسیدان‌های ویتامین C و E بر بیضهٔ آسیب‌دیده ناشی از امواج الکترومغناطیسی تلفن همراه تحت‌بررسی قرار گرفت و مشاهده شد که میدان الکترومغناطیسی می‌تواند باعث افزایش قطر لوله‌های اسپرم‌ساز شود، درحالی‌که ویتامین C و E موجب کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از امواج الکترومغناطیسی تلفن همراه می‌شود (Al-Damegh, 2012). یافته‌های این پژوهش نیز نشان داد که

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-27]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1394.2.3.7.8]
[DOI: 10.21859/acadpub.nbr.2.3.216]

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-27]

[DOR: 20.1001.1.24236330.1394.2.3.7.8]

[DOI: 10.21859/acadpub.nbr.2.3.216]

عصارهٔ خیاردریایی پتانسیل بالایی در پیشگیری از آسیب ناشی‌از میدان ۵۰ هرتز بر بافت بیضه و لوله‌های منی‌ساز دارد.

در زمینهٔ پتانسیل آنتی‌اکسیدانی خارپوستان‌دریایی گزارشات زیادی در دسترس است (Amini *et al*., 2015). پژوهش‌های بسیاری بر پتانسیل آنتی‌اکسیدانی خیاردریایی و ترکیبات فعال موجود در آن تأکید کرده‌اند (Soltani *et al*., 2015). بنابراین ممکن است در این پژوهش اثر حفاظتی عصارهٔ خیاردریایی در کاهش اثرات میدان ۵۰ هرتز بر روی بیضه، اپیدیدیم و سلول‌های اسپرماتوژنیک ناشی از خواص زیستی ترکیبات فعال زیستی موجود در عصارهٔ آبی باشد.

مطالعات نشان داده است که عصارهٔ آبی گونه‌های مختلف خیاردریایی دارای ترکیبات هیدروفیل همچون پلی‌ساکارید، گلیکوپروتئین و پپتیدهای مختلف است که دارای پتانسیل زیستی و دارویی دارند و اثر سیتوتوکسیک، آنتی‌اکسیدان و ضدسرطان این ترکیبات گزارش شده است (Baharara *et al*., 2016).

تاکنون تحقیقات بسیاری درزمینهٔ اثرات خیاردریایی صورت گرفته‌است. یافته‌ها حاکی از این است که گونه‌های مختلف خیاردریایی منبعی از آنتی‌اکسیدان های طبیعی در نظر گرفته می شوند (Soltani *et al*., 2015). در یکی از پژوهش‌های قبلی، نتایج مطالعات گروه ما نشان داد که عصارهٔ دیوارهٔ بدن خیاردریایی *Holothuria leocospilota* به دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی و افزایش محتوای مواد معدنی در سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان، پتانسیل تمایزی اوستئوژنیک در این سلول‌ها دارد (Baharara *et al*., 2014).

Wu و همکاران (2014) اثر حفاظتی خیاردریایی گونهٔ *Cucumaria frondosa* را بر استرس‌اکسیداتیو القا شده بر سلول‌های PC12 و SAMP8 موش بررسی کردند و دریافتند که فعالیت آنتی‌اکسیدانی خیاردریایی ممکن است باعث مهار آپوپتوز شود که نشان‌دهندهٔ اثر حفاظتی خیاردریایی بر سلول‌های PC12 و SAMP8 است. در مطالعهٔ دیگری اثر آنتی‌اکسیدانی دو گونهٔ خیاردریایی *Stichopus horrens* Selenka و *Holothuria edulis* lesson تحت بررسی قرار گرفت و اثر آنتی‌اکسیدانی این دوگونه و اثر ضدتکثیری آن بر سلول‌های سرطان ریه A549 به تأئید رسید (Althunibait *et al*., 2013). دربارهٔ اثر حفاظتی خیاردریایی در یک پژوهش در سال ۲۰۱۵ نشان داده شد که عصارهٔ خیاردریایی *H. arenicola* دارای اثر حفاظتی بر روی زخم معده ایجادشده در رت‌ها است که با یافته‌های پژوهش حاضر مبنی بر اثر حفاظتی این گونه خیاردریایی مطابقت دارد (Fahmy *et al*., 2015). درمجموع با توجه به اثر بیولوژیک گونه‌های مختلف خیاردریایی و متابولیت‌های فعال موجود در آن، اثر حفاظتی عصارهٔ آبی خیاردریایی *H. arenicola* بخشی مرهون خواص آنتی‌اکسیدانی خیاردریایی است که توانسته‌است از آسیب ناشی‌از میدان مغناطیسی ۵۰ هرتز بر بافت بیضه پیشگیری کند.

نتیجه‌گیری

درمجموع یافته‌های حاصل از این پژوهش نشان داد که عصارهٔ خیاردریایی به‌دلیل وجود ترکیبات فعال زیستی متنوع دارای اثر حفاظتی بر آسیب ناشی‌از میدان الکترومغناطیسی با فرکانس ۵۰ هرتز ازجمله کاهش وزن و قطر بیضه، کاهش تعداد لوله‌های منی‌ساز و کاهش تعداد سلول‌های اسپرماتوژنیک غدد جنسی موش نر است که این عصاره را گزینهٔ مناسبی جهت حفظ عملکرد تولیدمثلی و جلوگیری از تخریب سلول‌های جنسی نر آسیب‌دیده از میدان مغناطیسی معرفی می‌کند.

تقدیر و تشکر

از همکاران مرکز تحقیقاتی بیولوژی کاربردی تکوین جانوری دانشگاه آزاد اسلامی مشهد که در اجرای این طرح پژوهشی همکاری داشتند قدردانی می‌گردد.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-27]

[DOR: 20.1001.1.24236330.1394.2.3.7.8]

[DOI: 10.21859/acadpub.nbr.2.3.216]

References

Adams, J.A., Galloway, T.S., Mondal, D., Esteves, S.C. and Mathews, F. 2014. Effect of mobile telephones on sperm quality: A systematic review and meta-analysis. – Environment International 70: 106-112.

Al-Damegh, M.A. 2012. Rat testicular impairment induced by electromagnetic radiation from a conventional cellular telephone and the protective effects of the antioxidants vitamins C and E. – CLINICS 67:785-792.

Althunibat, O.Y., Ridzwan, B.H., Taher, M., Daud, J.M., Jauhari Arief Ichwan, S. and Qaralleh, H. 2013. Antioxidant and cytotoxic properties of two sea cucumbers, *Holothuria edulis* Lesson and *Stichopus horrens* Selenka. – Acta Biologica Hungarica 64: 10-20.

Amini, E., Nabiuni, M., Baharara, J., Parivar, K. and Asili, J. 2015. Metastatic inhibitory and radical scavenging efficacies of saponins extracted from the Brittle Star (*Ophiocoma erinaceus*). – Asian Pac. J. Cancer Prev. 16: 4751-4758.

Baharara, J., Amini, E. and Vazifedan, V. 2016. Concomitant use of sea cucumber organic extract and radiotherapy on proliferation and apoptosis of cervical (HeLa) cell line. – Zahedan J. Res. Med. Sci. In Press.

Baharara, J., Amini, E., Namvar, F. and Soltani, M. 2014. The Effect of Persian Gulf sea cucumber alcoholic extract on osteogenic and adipodgenic differentiation of Rat mesenchymal stem cells. – Iranian J. Basic Med. Sci. 5: 273-280.

Baharara, J., Ashraf, A.R., Jafari, M.R. and Helalat, H. 2007. The effects of exposure to simulation cell phone waves on gonads of male mouse. – Arak Medical University Journal 10: 8-16.

Baharara, J., Oryan, S. and Ashraf, A.R. 2007. Effects of microwaves (940 MHz) of the ovary and female fertility of Balb/C. – Journal of Tarbiat Moalem University 7: 931-940.

Baharara, J., Parivar, K., Oryan, S. and Ashraf, A. 2006. Effects of low frequency electromagnetic fields on gonads and fertility of female Balb/c mouse. – Arak Medical University Journal 9: 1-11.

Bordbar, S., Anwar, F. and Saari, N. 2011. High-value components and bioactives from sea cucumbers for functional foods. A review. **–** Marine Drugs 9: 1761-1805.

Fahmy, S.R, Amer, M.A and Alkillidar M.H. 2015. Ameliorative effect of the sea cucumber *Holothuria arenicola* extract against gastric ulcer in rats. – The Journal of Basic & Applied Zoology 72: 16-25.

Gherardini, L., Ciuti, G., Tognarelli, S. and Cinti, C. 2014. Searching for the perfect Wave: The effect of radiofrequency electromagnetic fields on cells. – International Journal of Molecular Sciences 15: 5366-5387.

Hemayatkhah Jahromi, V., Karimi Jashni, H., Mosallanezhad, M., Mosallanejad, M., Jamali, H, and Izadpanah, P. 2012. The Effect of microwave ovens radiation leakage on testis tissue and sex hormones in immature Mice. – Journal of Fasa University of Medical Sciences 2: 6-11.

Ibrahim, H.A.H. 2012. Antibacterial carotenoids of three Holothuria species in Hurghada. Egyptian. – Journal of Aquatic Research 38: 185-194.

Khosravi, F., Valojerdi, M.R., Amanlou, M., Karimian, L. and Abolhassani, F. 2014. Relationship of seminal reactive nitrogen and oxygen species and total antioxidant capacity with sperm DNA fragmentation in infertile couples with normal and abnormal sperm parameters. – First International Journal of Anthology 46: 17-23.

Kumar, P. and Shukla, V. 2014. Ultrastructural changes in Rat testicular tissue after whole body exposure to electromagnetic radiation emitted from mobile phones. – Journal of International Academic Research for Multidisciplinary 2: 518-526.

Li, P., Huo, L., Su, W., Lu, R., Deng, C. and Liu, L. 2011. Free radical-scavenging capacity, antioxidant activity and phenolic content of Pouzolzia zeylanica. – Journal of the Serbian Chemical Society 76: 709-717.

Luo, Q., Li, J., Cui, X., Yan, J., Zhao, Q. and Xiang, C. 2014. The effect of Lycium barbarum polysaccharides on the male rats' reproductive system and spermatogenic cell apoptosis exposed to low-dose ionizing irradiation. – Journal of Ethnopharmacol 154: 49-58.

Parivar, K., Nabiuni, M., Golestanian, N. and Amini E. 2011. Effect of low frecuency electromagnetic fields on the spermatogenesis and blood serum protein of Balb/c mice. – Journal Cell Tissue 2: 47-56.

Poljšak, B. and Fink, R. 2014. The Protective role of antioxidants in the defence against ROS/RNS-mediated environmental pollution. – Oxidative Medicine and Cellular Longevity 2014: 1-22.

Popov, A., Artyukov, A., Krivoshaoko, O. and Kozlovskaya, E. 2013. Biological activities of collagen

peptides obtained by enzymic Hydrolysis from Far-Eastern holothurians. – American Journal of Biomedical and Life Sciences 1: 17-26.

Roshangar, L. and Hamdi, B.A. 2014. Effect of low-frequency electromagnetic field exposure on oocyte differentiation and follicular development. – Advanced Biomedical Research 3: 1-76.

Soltani, M., Parivar, K., Baharara, J., Kerachian, M.A. and Asili, J. 2015. Putative mechanism for apoptosis-inducing properties of crude saponin isolated from sea cucumber (*Holothuria leucospilota*) as an antioxidant compound. – Iranian Journal of Basic Medicine Sciences 18: 180-187.

Wu, F.J., Xue, Y., Liu, X.F., Xue, C.H., Wang, J.F. and Du, L. 2014. The protective effect of eicosapentaenoic acid-enriched phospholipids from sea cucumber Cucumaria frondosa on oxidative stress in PC12 cells and SAMP8 mice. – Neurochem. Inter. 64: 9-17.

Zahedifar, Z., Baharara, J., Branch, M. and Branch M. 2015. Effect of green tea in decreasing electromagnetic waves damages. – Zahedan J. Res. Med. Sci. 17:29-34.

*****

Vasei, N., Baharara, J., Zafar Balanezhad , S. and Amini., E. 2015. An investigation of the protective impact exerted by aqua extract of Persian Gulf sea cucumber (*Holothuria arenicola* Semper, 1868) against damages induced by electromagnetic field on male gonads of Balb/C mice. – Nova Biologica Reperta 2: 216-226.

واسعی، ن.، بهارآرا، ج.، ظفربالانژاد. س. و امینی، ا. ۱۳۹۴. بررسی اثر عصارهٔ آبی خیاردریایی (*Holothuria arenicola* Semper, 1868) خلیج‌فارس در پیشگیری از آسیب میدان الکترومغناطیسی بر غدد جنسی نر در موش نژاد Balb/C.– یافته‌های نوین در علوم زیستی ۲: ۲۲۶-۲۱۶.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-27]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1394.2.3.7.8]
[DOI: 10.21859/acadpub.nbr.2.3.216]

[DOI: 10.21859/acadpub.nbr.2.3.216] [DOR: 20.1001.1.24236330.1394.2.3.7.8] [Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-27]