

تأثیر عصاره جوانه گندم بر ساختار هیستولوژیک و هیستومتریک بیضه و پارامترهای اسپرم موش صحرایی مواجهه شده با سرب

حسن مروتی* حمید رضا مرادی مسعود ادیب مرادی محمد تقی شیبانی جمیله سالار آملی

گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران

(دریافت مقاله: ۶ مهر ماه ۱۳۹۵، پذیرش نهایی: ۱۱ دی ماه ۱۳۹۵)

چکیده

زمینه مطالعه: جوانه گندم غنی از آنتی اکسیدان‌ها، ویتامین‌ها (مخصوصاً ویتامین E)، مواد معدنی و ترکیبات فیتواستروژنی می‌باشد. گیاهان دارویی به‌طور وسیعی برای کاهش مسمومیت‌های فلزات سنگین استفاده شده است. در سال‌های اخیر، تأثیر منفی سرب بر روی دستگاه تناسلی نر نشان داده شده است. **هدف:** هدف این مطالعه بررسی تأثیر عصاره جوانه گندم و ویتامین E بر روی ساختار هیستولوژیک و هیستومتریک بیضه و پارامترهای اسپرم موش‌های صحرایی مواجهه شده با استات سرب بود. **روش کار:** ۳۵ سر موش صحرایی در ۷ گروه شامل: گروه کنترل، دریافت کننده سرم فیزیولوژی با دوز ۱ ml/kg، گروه دریافت کننده استات سرب با دوز ۲۰ mg/kg/day، گروه‌های دریافت کننده عصاره جوانه گندم با دوزهای ۱۰۰ mg/kg/day و ۲۰۰ mg/kg/day، گروه‌های دریافت کننده استات سرب ۲۰ mg/kg/day همزمان با عصاره جوانه گندم با دوزهای ۱۰۰ mg/kg/day و ۲۰۰ mg/kg/day و گروه دریافت کننده استات سرب ۲۰ mg/kg/day همزمان با ویتامین E با دوز ۱۰۰ mg/kg/day به‌طور تصادفی و برابر تقسیم شدند. پس از ۳۵ روز، موش‌ها توسط کلروفرم آسان کشی شده و نمونه‌های خون، اسپرم، بافت‌های کبد و بیضه برای مطالعات هیستومورفومتری و هیستوشیمی جمع‌آوری شدند. **نتایج:** افزایش معنی‌دار تعداد و تحرک اسپرم‌ها تحت تأثیر دوز ۲۰۰ mg/kg/day عصاره جوانه گندم در مقایسه با سایر گروه‌ها دیده شد ($p < 0.01$). نتایج هیستومورفومتری حاکی از افزایش معنی‌دار ضرایب TDI (Tubular Differentiation index) و RI (Repopulation Index)، تعداد سرتولی، قطر و ارتفاع اپی‌تلیوم لوله‌های منی‌ساز تحت تأثیر دوز ۲۰۰ mg/kg/day عصاره جوانه گندم در مقایسه با سایر گروه‌ها بودند ($p < 0.01$). **نتیجه‌گیری نهایی:** عصاره جوانه گندم در بهبود و بالا بردن کیفیت اسپرم و ساختار بافتی بیضه موش‌های صحرایی مواجهه شده با استات سرب مؤثر است.

واژه‌های کلیدی: جوانه گندم، سرب، بیضه، استرس اکسیداتیو، موش صحرایی

مقدمه

گیاهان دارویی جهت درمان ناراحتی‌ها و دردها از دیرباز مورد توجه بشر بوده‌اند. جوانه گندم یکی از گیاهانی است که جایگاه و سابقه بس طولانی در فرهنگ و تغذیه مردم ایران دارد. جوانه گندم یک ماده مغذی با ترکیبات فراسودمند و ارزش غذایی بالا می‌باشد (۵۲). *Triticum aestivum* یکی از گونه‌های اصلاح شده گندم می‌باشد. جوانه زنی موجب ایجاد تغییرات گسترده در دانه می‌گردد. در طی این مرحله سنتز ترکیبات مفیدی از قبیل ویتامین‌ها، فنول‌ها و دیگر آنتی‌اکسیدان‌ها رخ می‌دهد. جوانه گندم دارای آنزیم‌های ردوکس مانند کاتالاز، پراکسیداز و غنی از اجزای آنتی‌اکسیدانی از قبیل اسیدهای فنولی، توکوفرول، آلفا‌توکوفرول، آلفا‌توکوفرینول، اسیدهای آمینوفنول، وانیلیک اسید و آمینوبنزوئیک‌ها می‌باشند. این‌ها در اشکال آزاد و باند شده تنوع دارند و آنتی‌اکسیدان‌های قوی با قابلیت جذب قوی هستند. همچنین، آن‌ها دارای خواص دارویی قوی می‌باشند و به صورت مطلوب و تازه در بازار وجود دارند (۲۷، ۱۲). در سال‌های اخیر، جوانه گندم در برخی کشورهای اروپایی، آمریکا و هند به‌عنوان یک غذای سالم به‌طور وسیعی عرضه می‌شود (۳). توکوفرول‌ها آنتی‌اکسیدان‌های قوی محلول در چربی هستند و جوانه گندم غنی‌ترین منبع شناخته شده توکوفرول (ویتامین E) با منشأ گیاهی است (۱۴). خواص ضددیابت، ضدچاقی،

آنتی‌هیپرگلیسمی و ضدسرطان جوانه گندم در شرایط زنده نشان داده شده است (۲۸، ۲۹، ۱۰). گزارش شده است که مولکول‌های آنتی‌اکسیدانی جدا شده از جوانه گندم در شرایط آزمایشگاهی از آسیب اکسیداتیو DNA جلوگیری می‌کنند (۱۷).

از طرفی گزارش‌های موجود از کاهش باروری مردان اشاره به نقش تماس با عوامل زیست محیطی در اتیولوژی ناباروری انسان دارد (۶). سرب از آلاینده‌های مهم زیست محیطی است که بر بسیاری از ارگان‌های بدن از جمله سیستم تناسلی نر تأثیر می‌گذارد و تهدید بسیار جدی برای سلامت انسان محسوب می‌گردد (۵۰، ۲). در این بین افرادی مانند کارگران معادن سرب، ذوب فلز، کارخانه باطری‌سازی و کارگران سایر شغل‌های مرتبط نیز وجود دارند که در مواجهه شغلی با سرب هستند. از دیگر منابع مهم آلودگی زیست محیطی سرب، ذخیره‌سازی آب آشامیدنی در مخازن، بسته‌بندی مواد غذایی در روزنامه‌ها، مواد غذایی کنسرو شده می‌باشد. تأثیر سرب بر روی دستگاه تناسلی نر و پارامترهای باروری اسپرم نشان داده شده است (۲۰، ۴، ۳). Kakkar و همکاران در سال ۲۰۰۵ بیان نمودند که اختلال در ساختار و عملکرد سیستم تناسلی نر و کیفیت اسپرم یکی از نشانه‌های عمده قرار گرفتن در معرض سرب است (۲۵). سرب موجود در محیط می‌تواند از راه‌های تنفس، گوارش و پوست جذب گردد و در بدن



تزریق روزانه داخل صفاقی (۱۵، ۱۸، ۲۰).

۳- گروه دریافت کننده عصاره جوانه گندم به میزان ۱۰۰ mg/kg روزانه به صورت خوراکی با استفاده از نیدل مخصوص گاواژ.

۴- گروه دریافت کننده عصاره جوانه گندم به میزان ۲۰۰ mg/kg روزانه به صورت خوراکی با استفاده از نیدل مخصوص گاواژ.

۵- گروه دریافت کننده استات سرب با دوز ۲۰ mg/kg به صورت تزریق روزانه داخل صفاقی همزمان با عصاره جوانه گندم به میزان ۱۰۰ mg/kg به صورت خوراکی با استفاده از نیدل مخصوص گاواژ.

۶- گروه دریافت کننده استات سرب با دوز ۲۰ mg/kg به صورت تزریق روزانه داخل صفاقی همزمان با عصاره جوانه گندم به میزان ۱۰۰ mg/kg به صورت خوراکی با استفاده از نیدل مخصوص گاواژ.

۷- گروه دریافت کننده استات سرب با دوز ۲۰ mg/kg به صورت تزریق روزانه داخل صفاقی همزمان با ویتامین E به میزان ۱۰۰ mg/kg به صورت خوراکی با استفاده از نیدل مخصوص گاواژ (۳۵).

این آزمایش به مدت ۳۵ روز به طول انجامید. به منظور تعیین دوز داروها براساس وزن بدن حیوان، اندازه گیری وزن حیوانات به صورت هفتگی انجام می شدند. در روز ۳۶، موش ها پس از وزن گیری با کلروفورم آسان کشی شدند. نمونه های خون جهت اندازه گیری سطح سرمی تستوسترون و نمونه های بافت کبد جهت اندازه گیری مقدار سرب اخذ گردید. نمونه ها تا زمان انجام آزمایش در فریز 20°C - قرار داده شدند. برای ارزیابی تعداد، تحرک، میزان شکستگی DNA، میزان بلوغ هسته و زنده ماندن اسپرم ها، اپیدیدیم با دقت از بیضه ها جدا گردیدند. نمونه های بافت بیضه راست جهت اندازه گیری پراکسیداسیون لیپید با سنجش میزان مواد واکنش دهنده با تیوباربیتوریک اسید (TBARS) جدا گردیدند. این نمونه ها نیز تا زمان انجام آزمایش در فریز 20°C - قرار داده شدند. پس از ثبت وزن و حجم بیضه چپ در موش ها، به منظور ارزیابی هیستوشیمی و هیستومورفومتری در محلول فیکساتیو فرمالین بافر ۱۰٪ قرار داده شدند.

ارزیابی اسپرم: سه قسمت اپیدیدیم شامل سر، بدنه و دم از همدیگر تفکیک شدند. دم اپیدیدیم داخل پتری دیش (۳cm) حاوی ۱ml محیط کشت (HTF) Human Tubal Fluid گذاشته شد. با ایجاد چند برش در دم اپیدیدیم و در شرایط انکوباتور 37°C با ۵٪ CO_2 اسپرم ها خارج شده و مورد بررسی قرار گرفتند. برای انجام این بررسی ها از هر گروه ۵ موش و از هر نمونه اسپرم ۱۰ لام تهیه شدند. بررسی های انجام شده با استفاده از لام نئوبار و میکروسکوپ نوری شامل شمارش میانگین تعداد اسپرم در واحد حجمی و رقت ثابت، تعیین میزان درصد تحرک و درصد زنده ماندن اسپرم (رنگ آمیزی نیگروزین آئوزین)، میزان بلوغ هسته (رنگ آمیزی آنیلین بلو) و میزان شکستگی DNA (رنگ آمیزی آکریدین اورنج) انجام گرفتند (۳۹، ۴۰).

ارزیابی TBARS بافتی بیضه: سطح مالون دی آلدئید به عنوان

بحالت انباشته وجود داشته باشد (۱۸). فلزات سنگین مانند سرب می توانند اثرات مضر خود را از طریق تولید گونه های فعال اکسیژن (ROS) و یا مهار فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی ایجاد کنند (۸، ۱۳، ۳۱). Upasani و همکاران در سال ۲۰۰۱ گزارش کردند که سمیت با سرب در ارتباط با افزایش سطح پراکسیداسیون چربی ها می باشد (۴۸). بنابراین این تصور وجود دارد که ترکیبات آنتی اکسیدانی در مقابل اثرات سمی سرب بر روی دستگاه های مختلف بدن مؤثر و مفید باشند (۱۱، ۴۴). در سال های اخیر، علاقه و پژوهش زیادی در مورد گیاهان و مواد طبیعی که خواص آنتی اکسیدانی و دارویی دارند، وجود داشته است. تأثیر مفید میوه ها و سبزیجات و گیاهان مدیترانه ای به علت داشتن ترکیبات مشابه نظیر مقادیر فراوان فیبر، ریز مغذی ها و آنتی اکسیدان ها به اثبات رسیده است (۱۷). علاقه و هدف این مطالعه نیز بر روی جوانه گندم تمرکز دارد. بنابراین این مطالعه، بررسی نقش محافظتی عصاره هیدروالکلی جوانه گندم و ویتامین E بر روی ساختار هیستولوژیک و هیستومتریک بیضه و پارامترهای اسپرم موش صحرایی مواجهه شده با سرب را مد نظر قرار می دهد.

مواد و روش کار

استات سرب (از شرکت مرک، آلمان)، ویتامین E (α توکوفرول) (از شرکت داروسازی زهراوی، ایران) و کیت اندازه گیری تستوسترون (از DRG، آلمان) خریداری گردیدند. سپس عصاره هیدروالکلی جوانه گندم با استفاده از روش حجمی یا ماسراسیون در مرکز تحقیقات فارماکولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز تهیه شد. سایر مواد شیمیایی مورد استفاده در این آزمایش از شرکت مرک، آلمان خریداری گردیدند.

آماده سازی حیوانات و طرح آزمایش: ۳۵ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار و به ظاهر سالم با میانگین وزنی 20 ± 22 g از مرکز تکثیر و پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران خریداری شدند. یک روز قبل از شروع آزمایش، موش های صحرایی به طور تصادفی به ۷ گروه تقسیم شدند. در هر گروه ۵ سر موش صحرایی که در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی در دمای $25-23^{\circ}\text{C}$ نگهداری شدند. همچنین، به منظور انجام روند طبیعی فعالیت جنسی موش های نر در هر قفس ۲ سر موش صحرایی ماده نیز قرار گرفتند. آب و غذای مورد نیاز حیوان نیز به صورت آزاد در دسترس قرار داده شدند. حیوانات به مدت یک هفته به منظور سازش با شرایط محیطی نگهداری شدند. دستورالعمل اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران رعایت گردید.

۱- گروه کنترل با تزریق روزانه داخل صفاقی سرم فیزیولوژی به مقدار ۱ ml/kg.

۲- گروه دریافت کننده استات سرب با دوز ۲۰ mg/kg به صورت



تمایز یافته از اسپرماتوگونی نوع A می‌باشند، محاسبه شدند. برای بررسی SI (Spermiogenesis Index)، درصد لوله‌های منی‌ساز که دارای سلول‌های رده اسپرماتید هستند به عنوان لوله‌های SI مثبت و لوله‌های فاقد سلول‌های اسپرماتید به عنوان لوله‌های SI منفی در نظر گرفته شدند. در بررسی RI (Index Repopulation) نسبت تعداد اسپرماتوگونی‌های نوع B به نوع A انجام گرفت (۲۲).

اندازه‌گیری سطح سرمی تستوسترون: نمونه‌های خون از قلب موش‌های صحرایی اخذ و در 37°C انکوبه شدند. سرم نمونه‌ها با استفاده از سانتریفیوژ در $3000 \times g$ به مدت ۱۰ دقیقه جدا گردید. سپس سطح سرمی تستوسترون توسط روش الایزا اندازه‌گیری شدند.

تجزیه تحلیل آماری داده‌ها: داده‌های بدست آمده با استفاده از نرم افزار SPSS V ۱۸ مورد تجزیه تحلیل آماری قرار گرفتند. داده‌ها به صورت $\text{mean} \pm \text{SD}$ ارائه شدند. جهت مقایسه میانگین‌ها در گروه‌های تحت مطالعه از آزمون ANOVA پس آزمون Tukey استفاده شد و در مواردی که $p \leq 0.05$ بود معنی‌دار تلقی گردید.

نتایج

ماکروسکوپی: گروه سرب با میانگین وزنی $14/7 \pm 214$ و گروه سرب + جوانه (200 mg/kg/day) با میانگین وزنی $26/9 \pm 207/4$ کمترین میزان وزن را در بین گروه‌ها نشان دادند. وزن بدن موش‌های صحرایی در گروه سرب + جوانه (200 mg/kg/day) در مقایسه با گروه‌های جوانه (200 mg/kg/day)، سرب + ویتامین E و سرب + جوانه (200 mg/kg/day) کاهش معنی‌دار نشان داد ($p < 0.01$). وزن بدن موش‌های صحرایی در گروه‌های جوانه (200 mg/kg/day) و سرب + ویتامین E در مقایسه با گروه سرب افزایش معنی‌دار نشان دادند ($p < 0.05$). گروه جوانه (mg/kg/day) بیشترین وزن خالص بیضه را در مقایسه با سایر گروه‌ها نشان داد که از لحاظ آماری با گروه سرب + جوانه (100 mg/kg/day) افزایش معنی‌دار داشت ($p < 0.05$). در مقابل، وزن بیضه در گروه‌های دریافت کننده سرب دارای کاهش غیر معنی‌دار در مقایسه با سایر گروه‌ها بودند. در پارامتر وزن بیضه سایر گروه‌ها اختلاف معنی‌داری دیده نشد. کمترین میانگین وزن نسبی ($5/4 \pm 0/6 \text{ g}$) در گروه سرب + جوانه (100 mg/kg/day) دیده شد که در مقایسه با سایر گروه‌های مطالعه به جز گروه سرب + ویتامین E معنی‌دار بود ($p < 0.05$). گروه سرب دارای کمترین میانگین حجم در مقایسه با سایر گروه‌های آزمایش نشان داد. در مقابل، گروه‌های دریافت کننده جوانه در مقایسه دیگر گروه‌ها دارای افزایش حجم بیضه بودند. از لحاظ آماری هیچ اختلاف معنی‌داری در حجم بیضه در بین گروه‌های آزمایش وجود نداشت (جدول ۱).

هیستوشیمی و میکروسکوپی: در مطالعه حاضر، مواجهه با استات سرب موجب از بین رفتن اسپرماتوژنز، کاهش ارتفاع اپی‌تلیوم زایای منی‌ساز،

ماده‌ای است که با اسید تیوباربیتریک (TBARS) واکنش نشان می‌دهد، در نمونه‌های بافت بیضه هموزن شده با توجه به روش Lukaszewicz-Hussain و همکاران در سال ۲۰۰۷ اندازه‌گیری شدند (30). 10% از بافت بیضه هموزن شده در پتاسیم کلرید ($0/15 \text{ mol}$) در $10000 \times g$ به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. $0/5 \text{ ml}$ اسید تری کلرواستیک 50% به حدود $0/5 \text{ ml}$ از محلول رویی اضافه گردید و دوباره در $5000 \times g$ به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. پس از سانتریفیوژ نهایی، لوله‌ها (پوشش داده شده با فویل آلومینیومی) حاوی $0/5 \text{ ml}$ از محلول رویی و $0/5 \text{ ml}$ اسید تیوباربیتریک در حمام آب 90°C به مدت ۱ ساعت قرار داده شدند. جذب در دمای اتاق و طول موج 540 nm توسط دستگاه اسپکتوفتومتری و منحنی استاندارد کالیبراسیون در برابر غلظت بلانک خوانده شد. نتایج غلظت TBARS بر حسب میکرومول TBARS در 1 g بافت بیضه ارائه شدند.

اندازه‌گیری سرب کبد: به منظور تأیید نفوذ، جذب و انباشتگی سرب تجویزی در بدن، سطح سرب نمونه‌های کبد اندازه‌گیری شدند. نمونه‌های کبد هموزن شده توسط $\text{ion conductivity plasma instrument}$ (7300 ; USA Optima DV) در مرکز تحقیقات سم شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، ایران در واحد ppm اندازه‌گیری شدند.

مطالعه هیستومورفومتری و هیستوشیمی: جهت انجام بررسی ماکروسکوپی، بیضه‌ها با استفاده از ترازوی دیجیتال (با دقت $0/001 \text{ g}$) توزین و ثبت شدند. حجم بیضه با روش جابجایی اندازه‌گیری گردید (37). به منظور مطالعه میکروسکوپی نمونه‌های پایدار شده به روش استاندارد تهیه مقاطع بافتی پارافینی، برش‌هایی با ضخامت $5-6 \mu\text{m}$ تهیه و با استفاده از روش‌های H&E و پروبیدیک اسید شیفت (PAS) رنگ‌آمیزی و مورد مطالعه هیستومورفومتری قرار گرفتند. برای رنگ‌آمیزی چربی‌ها و آسیب بافتی، پس از قالب‌گیری با ژل optimal cutting temperature compound (OCT)، برش‌های $15-20 \mu\text{m}$ نمونه بافتی بیضه توسط کرایو استات (SLEE، آلمان) در دمای 40°C - تهیه و با سودان بلک و ALP رنگ‌آمیزی شدند. رنگ‌آمیزی با PAS و سودان بلک به ترتیب جهت مشخص کردن مواد کربوهیدرات و چربی در سیتوپلاسم سلول‌های رده اسپرماتوژنز و سلول‌های بافت بینابینی لوله‌های منی‌ساز بیضه استفاده گردید. رنگ‌آمیزی ALP جهت مشخص کردن میزان آسیب بافتی بیضه در گروه‌های مختلف آزمایش انجام گرفت. در بررسی میکرومتری با استفاده از میکروسکوپ نوری و لنز دیجیتال Dino-Lite و نرم افزار Dino Capture ۲، ساختار هیستومتریکی بیضه از نظر ضخامت کپسول، ارتفاع اپی‌تلیوم لوله‌های منی‌ساز، تعداد سلول‌های سرتولی، اندازه سلول‌های لیدیگ، تعداد سلول‌های لیدیگ، قطر لوله‌های منی‌ساز و ارزیابی اسپرماتوژنز و اسپرمیوژنز از طریق ضرایب SI، RI، TDI مورد بررسی قرار گرفتند. به منظور بررسی TDI (Tubular Differentiation Index)، درصد لوله‌های منی‌ساز که شامل چهار یا بیش از چهار ردیف از سلول‌های



جدول ۱. وزن بدن، وزن خالص، وزن بیضه/وزن بدن و حجم بیضه، وجود حروف متفاوت در هر ردیف عمودی نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های مطالعه می‌باشد (p<۰/۰۵). mg/kg/day*.

گروه	وزن بدن (g)	وزن خالص بیضه (g)	وزن بیضه/وزن بدن × ۱۰ ^۴	حجم بیضه (ml)
کنترل	۲۳۷/۲ ± ۴/۲ ^{ab}	۱/۵ ± ۰ ^{ab}	۶/۴ ± ۰/۱ ^{ab}	۱/۲ ± ۰/۲
سرب	۲۱۴ ± ۱۴/۷ ^{bcd}	۱/۴ ± ۰/۱ ^{ab}	۶/۴ ± ۰/۴ ^{ab}	۱ ± ۰
جوانه (۱۰۰*)	۲۳۷/۴ ± ۱۰/۵ ^{ab}	۱/۵ ± ۰/۲ ^{ab}	۶/۵ ± ۰/۶ ^{ab}	۱/۲ ± ۰/۳
جوانه (۲۰۰*)	۲۵۷/۸ ± ۸ ^a	۱/۶ ± ۰/۱ ^a	۶/۳ ± ۰/۲ ^{ab}	۱/۲ ± ۰/۲
سرب + جوانه (۱۰۰*)	۲۴۴/۶ ± ۱۲/۸ ^{ac}	۱/۳ ± ۰/۱ ^b	۵/۴ ± ۰/۶ ^c	۱ ± ۰/۲
سرب + جوانه (۲۰۰*)	۲۰۷/۴ ± ۲۶/۹ ^{bd}	۱/۴ ± ۰/۱ ^{ab}	۶/۵ ± ۰/۷ ^b	۱/۱ ± ۰/۱
سرب + ویتامین E	۲۵۰ ± ۲/۵ ^a	۱/۴ ± ۰/۱ ^{ab}	۵/۶ ± ۰/۲ ^{ac}	۱/۳ ± ۰/۲

جدول ۲. تغییرات ضرایب SI، RI و ارتفاع اپی تلیوم زایا و تعداد سلول‌های سرتولی بیضه (Mean ± SD). وجود حروف متفاوت در هر ردیف عمودی نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های مطالعه می‌باشد (p<۰/۰۵). mg/kg/day*.

گروه	SI (%)	TDI (%)	RI (%)	ارتفاع اپی تلیوم زایا (μm)	تعداد سلول‌های سرتولی
کنترل	۹۰/۳ ± ۴/۱ ^c	۷۶ ± ۲/۷ ^a	۶۲ ± ۵/۲ ^{ad}	۷۷ ± ۴/۳ ^{bc}	۱۷/۶ ± ۷/۶ ^a
سرب	۸۱ ± ۴/۶ ^{ab}	۶۲/۲ ± ۷/۸ ^b	۵۵/۶ ± ۴ ^a	۶۴/۱ ± ۵ ^a	۱۶/۴ ± ۰/۸ ^a
جوانه (۱۰۰*)	۸۷/۷ ± ۷ ^{ac}	۷۹/۶ ± ۷/۵ ^a	۷۰/۱ ± ۲/۴ ^b	۷۴/۱ ± ۲/۶ ^{bc}	۲۲ ± ۱/۱ ^{bd}
جوانه (۲۰۰*)	۹۵/۹ ± ۱ ^c	۸۵/۴ ± ۰/۵ ^c	۸۰/۶ ± ۷/۲ ^c	۸۹/۲ ± ۴/۳ ^d	۲۸ ± ۷/۲ ^c
سرب + جوانه (۱۰۰*)	۷۶/۲ ± ۳/۸ ^b	۶۷/۶ ± ۲/۲ ^b	۶۶/۵ ± ۰/۹ ^{bd}	۶۶/۴ ± ۵/۳ ^{ac}	۲۲/۳ ± ۰/۶ ^{bd}
سرب + جوانه (۲۰۰*)	۹۴/۲ ± ۷/۹ ^c	۷۷/۲ ± ۷/۳ ^a	۷۷/۷ ± ۷/۳ ^b	۸۵/۴ ± ۷/۴ ^{de}	۲۲/۳ ± ۰/۶ ^{bc}
سرب + ویتامین E	۸۸/۸ ± ۲/۹ ^{ac}	۷۷/۸ ± ۳/۳ ^a	۵۶/۱ ± ۵/۳ ^a	۶۸/۲ ± ۸/۴ ^{abc}	۲۲ ± ۲/۱ ^d

جدول ۳. Mean ± SD و تغییرات پارامترهای بافتی بیضه، وجود حروف متفاوت در هر ردیف عمودی نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های مطالعه می‌باشد (p<۰/۰۵). mg/kg/day.

گروه	ضخامت کپسول (μm)	قطر لوله منی ساز (μm)	تعداد سلول‌های لیدیگ	اندازه سلول‌های لیدیگ (μm)
کنترل	۳۷/۸ ± ۲/۴	۲۵۲/۴ ± ۱۳/۳ ^{ac}	۱۰/۳ ± ۰/۸ ^{bc}	۷/۱ ± ۷/۱
سرب	۳۲/۵ ± ۶	۲۰۶/۶ ± ۸/۹ ^b	۹/۵ ± ۰/۹ ^b	۷/۱ ± ۰/۲
جوانه (۱۰۰*)	۲۸/۹ ± ۴/۵	۲۳۵/۷ ± ۱۷/۲ ^c	۱۲ ± ۷/۴ ^{ac}	۸ ± ۰/۵
جوانه (۲۰۰*)	۳۳/۲ ± ۳	۲۶۷/۵ ± ۱۸/۲ ^a	۱۳/۵ ± ۷/۷ ^a	۸/۲ ± ۰/۳
سرب + جوانه (۱۰۰*)	۳۵/۶ ± ۵/۲	۱۸۶/۵ ± ۱۰ ^b	۱۳/۶ ± ۷/۳ ^a	۷/۱ ± ۰/۷
سرب + جوانه (۲۰۰*)	۳۳/۶ ± ۳/۱	۲۶۸/۴ ± ۸/۶ ^a	۱۰/۹ ± ۷/۲ ^{bc}	۷/۷ ± ۰/۷
سرب + ویتامین E	۳۲/۳ ± ۲/۳	۲۳۵/۶ ± ۱۲/۴ ^c	۱۰/۶ ± ۰/۷ ^{bc}	۷/۳ ± ۰/۸

با استات سرب در بیضه موش‌های صحرایی مشاهده گردید. به‌طوری‌که واکوئل‌های پراکنده در میان اپی تلیوم زایای لوله‌های منی‌ساز بیضه مشاهده گردید. توقف بلوغ اسپرماتوزو و فقدان اسپرماتوزو در لومن بسیاری از لوله‌های منی‌ساز بیضه موش‌های صحرایی مواجهه شده با استات سرب قابل توجه بود. در برش‌های بافتی گروه‌های سرب، سرب + ویتامین E و سرب + جوانه (۱۰۰ mg/kg/day) یا (۲۰۰ mg/kg/day) لوله‌های منی‌ساز تحلیل رفته مشاهده گردید. لوله‌های منی‌ساز تحلیل رفته در دیگر گروه‌ها دیده نشد. دریافت جوانه وابسته به دوز و ویتامین E در گروه‌های مورد مطالعه موجب انسجام حفظ ساختار در بافت شناسی بیضه و افزایش بیشتر لوله‌های اسپرماتوزن فعال گردید. به‌طوری‌که گروه‌های دریافت کننده جوانه بالاخص با دوز ۲۰۰ mg/kg/day، لوله‌های منی‌ساز تحلیل رفته، واکوئل‌ها و بهم ریختگی و اختلال ساختار اپی تلیوم در لوله‌های منی‌ساز بیضه مشاهده نشد. لازم به توضیح است که افزایش اسپرماتوزن

جدول ۴. ارزیابی کیفی رنگ‌آمیزی PAS و ALP بافت بیضه. شماره‌های ۱-۵ نشان‌دهنده واکنش حداکثر و حداقل بافت بیضه به رنگ‌آمیزی PAS و ALP می‌باشد. mg/kg/day*.

گروه	شدت رنگ‌آمیزی PAS	شدت رنگ‌آمیزی ALP
کنترل	+	+
سرب	+	+
جوانه (۱۰۰*)	+	+
جوانه (۲۰۰*)	+	+
سرب + جوانه (۱۰۰*)	+	+
سرب + جوانه (۲۰۰*)	+	+
سرب + ویتامین E	+	+

تغییرات تحلیل برنده در لوله‌های منی‌ساز، افزایش ادم در بافت بینابینی اطراف لوله‌های منی‌ساز و افزایش قطر لومن لوله‌های منی‌ساز گردید. اختلال در انسجام و پیوستگی سلول‌های اسپرماتوزن تحت تأثیر مواجهه



جدول ۵. Mean $\pm$ SD و تغییرات پارامترهای اسپرم در گروه‌های مطالعه. وجود حروف متفاوت در هر ردیف عمودی نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های مطالعه می‌باشد (p < ۰/۰۵). mg/kg/day*.

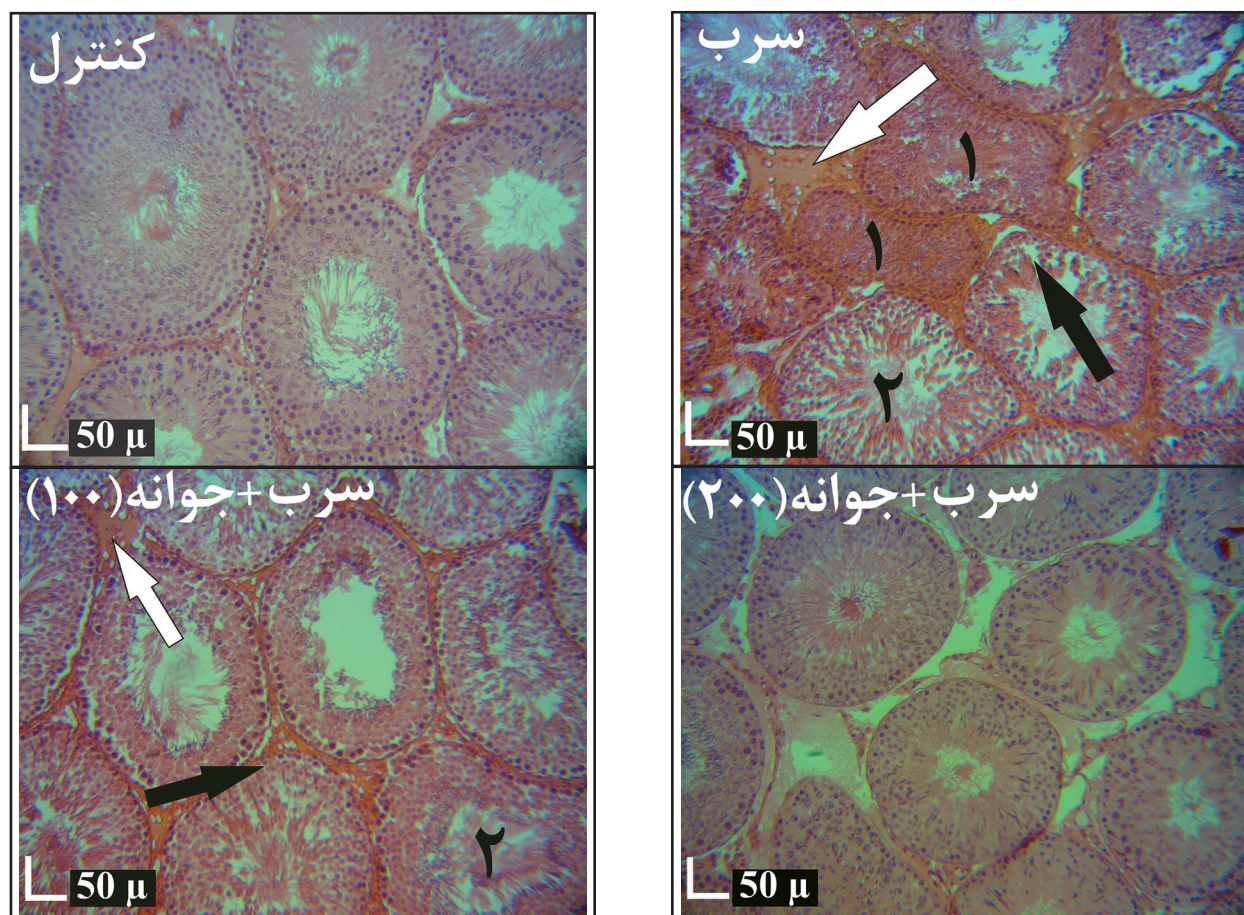
گروه	تعداد اسپرم (میلیون/میلی لیتر)	تحرك اسپرم (%)	زنده ماندن اسپرم (%)	اسپرم نابالغ (%)	اسپرم با DNA سالم (%)
کنترل	۶۹/۶ $\pm$ ۷/۹ ^{ac}	۶۰ $\pm$ ۴/۳ ^b	۸۷/۶ $\pm$ ۴ ^c	۷/۸ $\pm$ ۷/۶ ^b	۹۹/۲ $\pm$ ۰/۴
سرب	۴۸/۹ $\pm$ ۹/۱ ^b	۳۶/۲ $\pm$ ۴/۳ ^a	۶۷/۴ $\pm$ ۶/۱ ^a	۱۳/۲ $\pm$ ۷/۱ ^a	۹۶/۲ $\pm$ ۲/۹
جوانه (۱۰۰*)	۶۲/۳ $\pm$ ۸/۳ ^{ab}	۶۴/۲ $\pm$ ۶/۴ ^b	۹۷/۵ $\pm$ ۲/۲ ^c	۷ $\pm$ ۲ ^{ab}	۹۷/۲ $\pm$ ۷/۶
جوانه (۲۰۰*)	۷۸/۱ $\pm$ ۷/۵ ^c	۷۶ $\pm$ ۵/۱ ^c	۹۲/۵ $\pm$ ۲/۲ ^c	۶/۸ $\pm$ ۷/۶ ^b	۹۹ $\pm$ ۰/۷
سرب + جوانه (۱۰۰*)	۴۷/۹ $\pm$ ۴/۴ ^b	۵۶/۴ $\pm$ ۵/۹ ^b	۷۲/۴ $\pm$ ۵/۹ ^b	۱۰ $\pm$ ۷/۲ ^b	۹۶/۴ $\pm$ ۷/۷
سرب + جوانه (۲۰۰*)	۵۴ $\pm$ ۷/۳ ^b	۶۷/۲ $\pm$ ۷/۱ ^b	۷۵ $\pm$ ۴/۱ ^b	۹/۲ $\pm$ ۷/۹ ^b	۹۷/۲ $\pm$ ۷/۳
سرب + ویتامین E	۵۸/۹ $\pm$ ۷/۹ ^{ab}	۵۵ $\pm$ ۶/۱ ^b	۷۹/۲ $\pm$ ۴/۶ ^b	۷/۴ $\pm$ ۷/۸ ^b	۹۸/۲ $\pm$ ۷/۵

تحت تأثیر جوانه در لوله‌های منی‌ساز محیطی و نزدیک کپسول بیضه بیشتر مشاهده گردید (تصویر ۱).

همان‌طور که در نتایج میکرومتری مربوط به ضریب SI در جدول ۲ مشاهده می‌گردد گروه‌های سرب و سرب + جوانه (۱۰۰ mg/kg/day) به‌ترتیب با میانگین‌های $۱۰۸ \pm ۴/۶\%$ و $۷۶/۲ \pm ۳/۸\%$ در مقایسه با گروه کنترل $۹۲/۳ \pm ۴/۲\%$ کاهش معنی‌دار داشتند ($p < ۰/۰۵$). افزایش ضریب SI تحت تأثیر دریافت جوانه وابسته به دوز در مقایسه با گروه سرب معنی‌دار بود ($p < ۰/۰۰۱$). نتایج ضریب TDI حاکی از افزایش معنی‌دار تعداد لوله‌های TDI مثبت در گروه‌های دریافت‌کننده جوانه وابسته به دوز و ویتامین E در مقایسه با گروه سرب بود ($p < ۰/۰۰۱$). ضریب TDI در گروه جوانه (mg/kg/day) با میانگین $۸۵/۴ \pm ۰/۶\%$ در مقایسه با گروه کنترل $۷۶/۲ \pm ۲/۷\%$ افزایش معنی‌دار نشان داد ($p < ۰/۰۰۱$). (جدول ۲). ضریب RI در گروه جوانه (۲۰۰ mg/kg/day) با میانگین $۸۰/۶ \pm ۱/۲\%$ به‌صورت معنی‌داری در مقایسه با سایر گروه‌های مورد مطالعه افزایش نشان داد ($p < ۰/۰۰۱$). کمترین مقدار ضریب RI در گروه‌های دریافت‌کننده استات سرب دیده شد. ضریب RI در گروه سرب با میانگین $۵۵/۷ \pm ۴/۵\%$ و گروه سرب + ویتامین E با میانگین $۵۶/۱ \pm ۵/۳\%$ در مقایسه با گروه کنترل $۶۲ \pm ۵/۲\%$ کاهش غیرمعنی‌دار نشان دادند. گروه‌های جوانه (۱۰۰ mg/kg/day) و سرب + جوانه (۲۰۰ mg/kg/day) در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی‌دار نشان دادند ($p < ۰/۰۰۱$). (جدول ۲). در بررسی پارامترهای هیستومتری ساختار بافتی بیضه، ارتفاع اپی‌تلیوم زایای لوله‌های منی‌ساز گروه سرب دارای کاهش معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل بود ($p < ۰/۰۰۱$). در مقابل، ارتفاع اپی‌تلیوم زایا در گروه جوانه (۲۰۰ mg/kg/day) با میانگین $۸۹/۲ \pm ۴/۳\mu m$ در مقایسه با سایر گروه‌های مورد مطالعه به‌جز گروه سرب + جوانه (mg/kg/day) افزایش معنی‌دار نشان داد ($p < ۰/۰۰۱$). ارتفاع اپی‌تلیوم زایا در گروه سرب + جوانه (۱۰۰ mg/kg/day) و سرب + ویتامین E (۱۰۰ mg/kg/day) دارای افزایش معنی‌دار بود ($p < ۰/۰۰۱$). (جدول ۲). قطر لوله‌های منی‌ساز در گروه جوانه (۲۰۰ mg/kg/day) در مقایسه با گروه‌های سرب، سرب + جوانه (۱۰۰ mg/kg/day)، سرب + ویتامین E و سرب + جوانه (۱۰۰ mg/kg/day) دارای افزایش معنی‌دار بود ($p < ۰/۰۰۱$). (جدول ۲). قطر لوله‌های منی‌ساز در گروه جوانه (۲۰۰ mg/kg/day) در مقایسه با گروه‌های سرب، سرب + جوانه (۱۰۰ mg/kg/day)، سرب + ویتامین E و جوانه (۱۰۰ mg/kg/day) افزایش معنی‌دار نشان داد ($p < ۰/۰۰۱$).

قطر لوله‌های منی‌ساز گروه سرب دارای کاهش معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل بود ($p < ۰/۰۰۱$). گروه سرب + جوانه (۱۰۰ mg/kg/day) با میانگین $۱۰۸۶/۵ \pm ۱۰\mu m$ در مقایسه با سایر گروه‌های مطالعه دارای کمترین قطر لوله منی‌ساز بود. در نتیجه، جوانه (۱۰۰ mg/kg/day) نتوانست تأثیر سمیت سرب را در پارامتر قطر لوله‌های منی‌ساز تعدیل کند. به‌طوری‌که از لحاظ آماری این گروه در مقایسه با گروه کنترل اختلاف معنی‌دار داشت ($p < ۰/۰۰۱$) (جدول ۳). تعداد سلول‌های لیدیک در گروه سرب در مقایسه با سایر گروه‌های مطالعه کمترین تعداد را نشان داد. اما این کاهش در مقایسه با گروه کنترل معنی‌دار نبود. بیشترین تعداد سلول لیدیک در گروه‌های دریافت‌کننده جوانه دیده شد. به‌طوری‌که این تعداد در گروه جوانه گندم (۲۰۰ mg/kg/day) با میانگین $۱۳/۵ \pm ۱/۷$ در مقایسه با گروه‌های کنترل، سرب، سرب + ویتامین E و سرب + جوانه (۲۰۰ mg/kg/day) افزایش معنی‌دار داشت ($p < ۰/۰۵$). تفاوت معنی‌داری در اندازه سلول‌های لیدیک بین گروه‌های مطالعه مشاهده نگردید. تنها اندازه سلول‌های لیدیک در گروه‌های دریافت‌کننده جوانه وابسته به دوز نسبت به سایر گروه‌ها دارای میانگین بیشتری بود (جدول ۳). تعداد سلول‌های سرتولی در جوانه (mg/kg/day) در مقایسه با گروه‌های کنترل، سرب، سرب + جوانه (mg/kg/day) و سرب + ویتامین E (۱۰۰ mg/kg/day) دارای افزایش معنی‌دار بود ($p < ۰/۰۰۱$). در مقابل، گروه سرب با تعداد $۱۵/۴ \pm ۰/۸$ در مقایسه با سایر گروه‌های مطالعه کمترین سلول سرتولی را در لوله‌های منی‌ساز نشان داد. این تعداد در گروه سرب در مقایسه با همه گروه‌ها به‌جز گروه کنترل دارای اختلاف معنی‌دار بود ($p < ۰/۰۰۱$). قابل توجه است که تعداد سلول‌های سرتولی در همه گروه‌های دریافت‌کننده جوانه و ویتامین E در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی‌دار نشان دادند ($p < ۰/۰۰۱$) (جدول ۲). بررسی آماری داده‌های به‌دست آمده نشان داد که هیچ اختلاف معنی‌داری در تغییرات ضخامت کپسول بیضه در بین گروه‌های مطالعه وجود ندارد (جدول ۳). نکته قابل توجه در بررسی پارامترهای هیستومتری افزایش همه پارامترهای ساختار بافتی بیضه در گروه سرب + جوانه (۲۰۰ mg/kg/day) در مقایسه با گروه سرب + ویتامین E بود. به‌طوری‌که از نظر آماری تعداد سلول سرتولی، ضریب RI، ارتفاع اپی‌تلیوم زایا و قطر لوله‌های منی‌ساز افزایش معنی‌دار نشان داد.



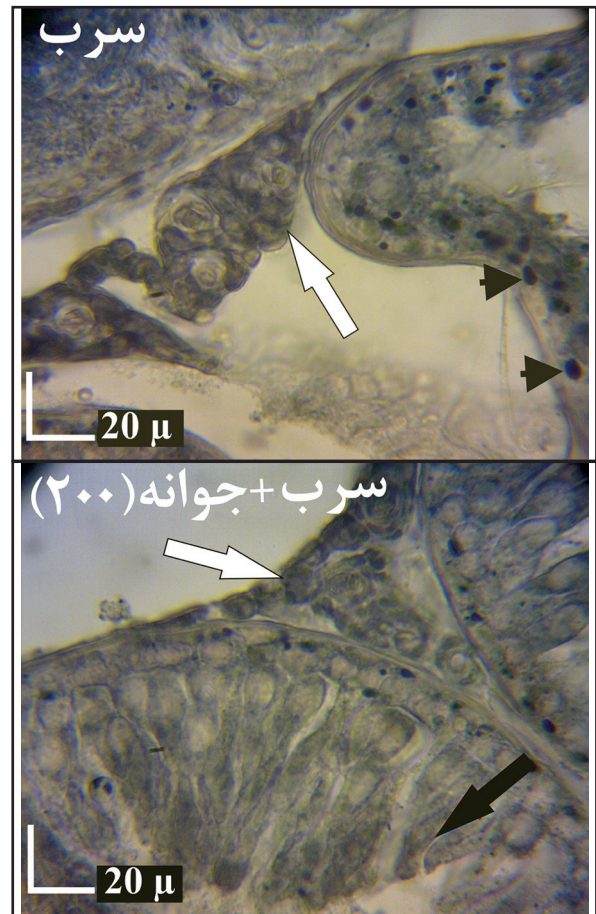
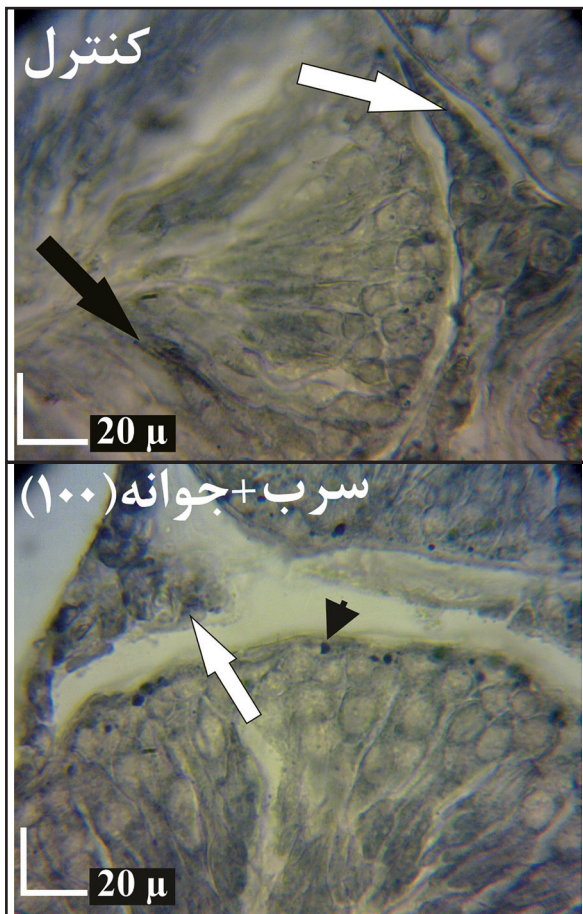


تصویر ۱. ساختار بافتی بیضه موش صحرایی (H&E). لوله‌های منی‌ساز غیرفعال و تحلیل رفته (۱)، ادم بافت همبندی (پیکان‌های سفید)، واکوئل‌های پراکنده و ناپوستگی سلولی در اپی‌تلیوم زایا (پیکان‌های سیاه) در بافت بیضه گروه‌های دریافت کننده سرب در مقایسه با دیگر گروه‌ها قابل مشاهده است. ۲: لوله‌های منی‌ساز فعال؛ اعداد داخل پرانتز بر حسب mg/kg/day می‌باشند

سیاه رنگ (حاوی چربی) در سیتوپلاسم سلول‌های رده پایینی اپی‌تلیوم زایا (مجاور غشای پایه لوله‌های منی‌ساز) گردید. سیتوپلاسم سلول‌های لیدینگ گواه و نشانگر واکنش مثبت به رنگ آمیزی سودان بلک می‌باشند. کاهش میزان ذخیره چربی در سلول‌های لیدینگ نیز در گروه‌های دریافت کننده سرب قابل مشاهده بودند. ذرات چربی در داخل سیتوپلاسم سلول‌های مجاور غشای پایه مشاهده گردید. در مقابل، دریافت جوانه وابسته به دوز موجب افزایش واکنش به رنگ سودان بلک در سلول‌های لیدینگ و در سلول‌های مجاور حفره داخلی لوله‌های منی‌ساز گردید. نکته قابل ذکر در این رنگ آمیزی وجود دانه‌های متراکم، فراوان و سودان بلک مثبت در سیتوپلاسم سلول‌های سرتولی بالاخص در گروه‌های دریافت کننده سرب می‌باشد. این دانه‌های متراکم که سودان بلک مثبت بودند در سیتوپلاسم سلول‌های سرتولی و مجاور غشای پایه لوله‌های تحلیل رفته منی‌ساز بیشتر قابل مشاهده بودند (تصویر ۲). رنگ آمیزی ALP به صورت دانه‌های ریز قهوه‌ای تا سیاه در سیتوپلاسم سلول‌های آسیب دیده مقاطع بافتی بیضه مشخص می‌گردد. کمترین میزان واکنش به این رنگ آمیزی در گروه‌های کنترل، جوانه (200 mg/kg/day)، جوانه (100 mg/kg/day) و سرب + جوانه (200 mg/kg/day) مشاهده گردید. در مقابل، بیشترین میزان

نتایج هیستوشیمی مطالعه با رنگ آمیزی‌های PAS، ALP و سودان بلک نشان دهنده اثرات مثبت عصاره جوانه گندم وابسته به دوز بر روی ساختار بافتی بیضه موش‌های صحرایی مواجهه شده با سرب بودند. در مطالعه حاضر، سیتوپلاسم سلول‌های لیدینگ، بافت همبند اطراف لوله‌های منی‌ساز و غشای پایه به رنگ آمیزی PAS واکنش مثبت داشتند. نقاط پاس مثبت در سیتوپلاسم سلول‌های رده بالایی اپی‌تلیوم زایا (مجاور حفره داخلی لوله‌های منی‌ساز) در گروه‌های دریافت کننده سرب مشاهده گردید. دریافت استات سرب (20 mg/kg/day) موجب واکنش منفی سلول‌های مجاور غشای پایه به رنگ PAS بالاخص، سلول‌های سرتولی گردید. در مقابل، استفاده از جوانه (200 mg/kg/day) چه همراه با سرب و یا به تنهایی موجب کاهش قابل توجه نقاط PAS مثبت در ردیف فوقانی سری اسپرماتوزن در مقایسه با سایر گروه‌ها گردید. نقاط PAS مثبت در سیتوپلاسم سلول‌های رده بالایی اپی‌تلیوم زایا در گروه سرب + ویتامین E کمتر از گروه سرب قابل مشاهده بود (جدول ۴). ذرات سیاه تا قهوه‌ای رنگ حاوی چربی در سیتوپلاسم سلول‌های مجاور حفره داخلی لوله‌های منی‌ساز به میزان بسیار کم و پراکنده و به طور مشخص در سلول‌های لیدینگ بیضه دیده می‌شوند. تجویز سرب با دوز 20 mg/kg/day موجب ایجاد نقاط





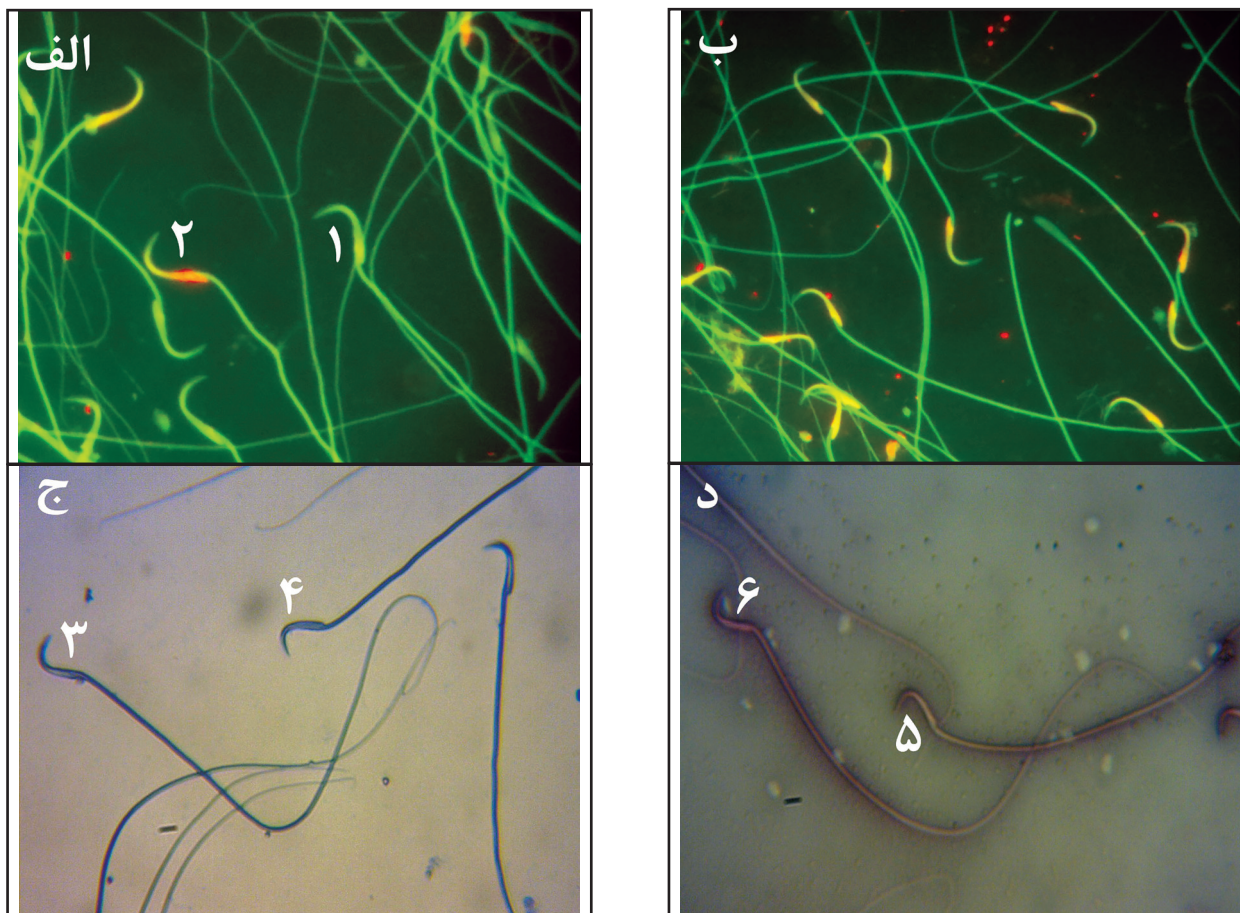
تصویر ۲. ساختار بافتی بیضه موش صحرایی (سودان بلک). مقادیر طبیعی چربی در سلول‌های لیدیک (پیکان‌های سفید) و اسپرماتوژنیک (پیکان‌های سیاه) در گروه کنترل دیده می‌شود. همچنین، نقاط متراکم سودان بلک مثبت (سر پیکان‌ها) در سیتوپلاسم سلول‌های مجاور غشاء پایه (سلول‌های سرتولی) بالاخص در لوله‌های تحلیل‌رفته در گروه سرب قابل توجه است. اعداد داخل پرانتز برحسب mg/kg/day می‌باشند.

مطالعه به‌طور معنی‌داری کاهش نشان داد ($p < 0/001$). همچنین، تحرک اسپرم‌ها در گروه‌های جوانه (200 mg/kg/day) و جوانه (100 mg/kg/day) به‌ترتیب $1/5 \pm 0/7\%$ و $4/4 \pm 2/6\%$ مشاهده گردید که در مقایسه با گروه کنترل $3/4 \pm 0/6\%$ افزایش نشان داد. از لحاظ آماری این افزایش تنها بین گروه جوانه (200 mg/kg/day) و کنترل معنی‌دار بود ($p < 0/001$). همچنین، از لحاظ آماری بین دو گروه دریافت‌کننده جوانه (200 mg/kg/day) و جوانه (100 mg/kg/day) اختلاف معنی‌دار نشان داد ($p < 0/05$). اسپرم‌های زنده در گروه‌های دریافت‌کننده جوانه وابسته به دوز در مقایسه با گروه‌های دریافت‌کننده سرب افزایش معنی‌دار نشان داد ($p < 0/001$). در حالی که از لحاظ آماری با گروه کنترل غیرمعنی‌دار نشان داد. اسپرم‌های زنده در گروه سرب $1/4 \pm 0/6\%$ به نسبت گروه کنترل $4/6 \pm 0/8\%$ کاهش معنی‌دار نشان داد ($p < 0/001$). اسپرم‌های زنده در گروه‌های سرب + جوانه (200 mg/kg/day)، سرب + جوانه (100 mg/kg/day) و سرب + ویتامین E در مقایسه با دیگر گروه‌های مطالعه اختلاف معنی‌دار نشان دادند ($p < 0/001$) (جدول ۵ و تصویر ۳). اسپرم‌های نابالغ در گروه سرب با میانگین $1/1 \pm 0/3\%$ در مقایسه با گروه کنترل با میانگین $1/6 \pm 0/7\%$ دارای افزایش معنی‌دار بود ($p < 0/001$). اسپرم‌های نابالغ در گروه‌های جوانه (100 mg/kg/day)

واکنش به این رنگ‌آمیزی در گروه‌های دریافت‌کننده سرب مشخص گردید. نتایج این رنگ‌آمیزی مشخص کرد که در گروه‌های سرب + جوانه (100 mg/kg/day) همچنان دارای واکنش به این رنگ‌آمیزی نشان دادند. به‌طوری که دانه‌های ریز قهوه‌ای تا سیاه در سیتوپلاسم سلول‌های آسیب‌دیده قابل مشاهده بودند (جدول ۴).

ارزیابی اسپرم: تعداد اسپرم‌ها در گروه سرب در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌دار نشان داد ($p < 0/001$). تعداد اسپرم‌ها در گروه کنترل با میانگین $9/7 \pm 6/6$ میلیون/میلی لیتر محاسبه گردید. تعداد اسپرم در گروه سرب با میانگین $1/9 \pm 4/9$ میلیون/میلی لیتر نشان داد. تعداد اسپرم‌ها تحت تأثیر دریافت وابسته به دوز جوانه افزایش نشان دادند. به‌طوری که در گروه سرب + جوانه (200 mg/kg/day) تعداد $3/3 \pm 5/4$ میلیون/میلی لیتر محاسبه گردید. بیشترین تعداد اسپرم با میانگین $5/7 \pm 8/7$ میلیون/میلی لیتر در گروه جوانه (200 mg/kg/day) محاسبه شد. تعداد اسپرم گروه جوانه (200 mg/kg/day) در مقایسه با گروه کنترل افزایش غیرمعنی‌دار نشان داد. تعداد اسپرم گروه جوانه (200 mg/kg/day) در مقایسه با سایر گروه‌ها افزایش معنی‌دار نشان داد ($p < 0/001$) (جدول ۵). تحرک اسپرم‌ها در گروه سرب با میانگین $3/3 \pm 2/3\%$ در مقایسه با سایر گروه‌های





تصویر ۳. نمایی از نمونه‌های اسپرم رنگ‌آمیزی شده با آکریدین-اورنج، اتوزین-نیگروزین و آنیلین بلو. تصویر الف: رنگ‌آمیزی آکریدین-اورنج، ۱: اسپرم با DNA سالم (سر سبز رنگ)، ۲: اسپرم با DNA آسیب‌دیده (سر نارنجی تا قرمز رنگ). تصویر ب: نمونه کنترل مثبت رنگ‌آمیزی آکریدین-اورنج، اسپرم‌های با سر نارنجی بیانگر اسپرم‌هایی است که DNA آنها توسط حرارت بالا دناتوره شده است. تصویر ج: رنگ‌آمیزی آنیلین-بلو، ۳: اسپرم بالغ (سر آبی کمرنگ)، ۴: اسپرم نابالغ (سر آبی پررنگ). تصویر د: رنگ‌آمیزی اتوزین-نیگروزین، ۵: اسپرم زنده (سر سفید رنگ)، ۶: اسپرم مرده (سر قرمز رنگ).

غیرمعنی‌دار بودند. کمترین مقدار TBARS در گروه جوانه (mg/kg/day) ۲۰۰ مشاهده گردید که از لحاظ آماری این کاهش در مقایسه با گروه‌های سرب، سرب + ویتامین E و سرب + جوانه (mg/kg/day) ۱۰۰ معنی‌دار نشان دادند ($p < 0.05$) (نمودار ۱).

سرب کبد: نتایج حاصل از بررسی سطح سرب در بافت کبد تأیید کننده وجود سرب در کبد و متعاقباً در بدن موش‌های صحرایی مواجهه شده با استات سرب با دوز mg/kg/day ۲۰ بود. افزایش سرب کبد در گروه سرب در مقایسه با گروه‌های کنترل، جوانه (mg/kg/day) ۲۰۰ و جوانه (mg/kg/day) ۱۰۰ معنی‌دار دیده شد ($p < 0.01$). در مقابل، گروه‌هایی که عصاره جوانه گندم و ویتامین E را همزمان با استات سرب دریافت کرده بودند کاهش سرب کبد را نشان دادند. این کاهش در مقایسه با دیگر گروه‌های مطالعه معنی‌دار نبود (نمودار ۲).

تستوسترون سرم: بیشترین سطح تستوسترون سرم در گروه جوانه (mg/kg/day) ۲۰۰ مشاهده گردید که این افزایش در مقایسه با گروه‌های سرب، سرب + جوانه (mg/kg/day) ۱۰۰ و سرب + ویتامین E معنی‌دار نشان داد ($p < 0.01$). در مقابل، تستوسترون سرم در گروه سرب در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌دار نشان داد ($p < 0.001$), همچنین،

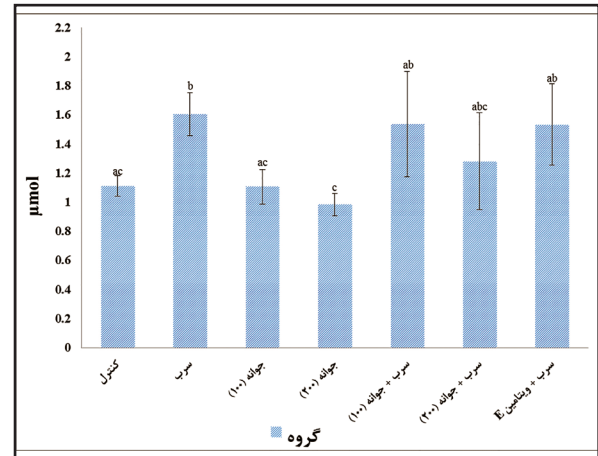
day ۲۰۰، جوانه (mg/kg/day) ۱۰۰ و سرب + ویتامین E در مقایسه با گروه سرب کاهش معنی‌دار نشان دادند ($p < 0.001$). همچنین، اسپرم‌های نابالغ در گروه‌های جوانه (mg/kg/day) ۲۰۰ و جوانه (mg/kg/day) ۱۰۰ در مقایسه با گروه کنترل کاهش نشان دادند که معنی‌دار نبود. اسپرم‌های نابالغ گروه سرب در مقایسه با گروه سرب + جوانه گندم (mg/kg/day) ۲۰۰ افزایش داشت که از لحاظ آماری این افزایش معنی‌دار بود ($p < 0.05$) (جدول ۵، تصویر ۳). در بررسی درصد اسپرم‌های با DNA سالم در گروه‌های مطالعه، اختلاف معنی‌داری بین گروه‌ها مشاهده نشد (جدول ۵، تصویر ۳).

TBARS بافتی بیضه: این نتایج نشان‌دهنده افزایش معنی‌دار سطح TBARS بافت بیضه تحت تأثیر تجویز استات سرب با دوز mg/kg/day ۲۰ (1.15 ± 0.16) در مقایسه با گروه کنترل (1.01 ± 0.11) بود ($p < 0.05$). سطح TBARS در گروه‌های سرب + ویتامین E و سرب + جوانه (mg/kg/day) ۱۰۰ به ترتیب (1.28 ± 0.15) و (1.36 ± 0.14) مشاهده گردید که در مقایسه با گروه سرب کاهش غیرمعنی‌دار داشتند. سطح TBARS بافت بیضه در گروه‌های سرب + ویتامین E و سرب + جوانه (mg/kg/day) ۱۰۰ در مقایسه با گروه کنترل دارای افزایش

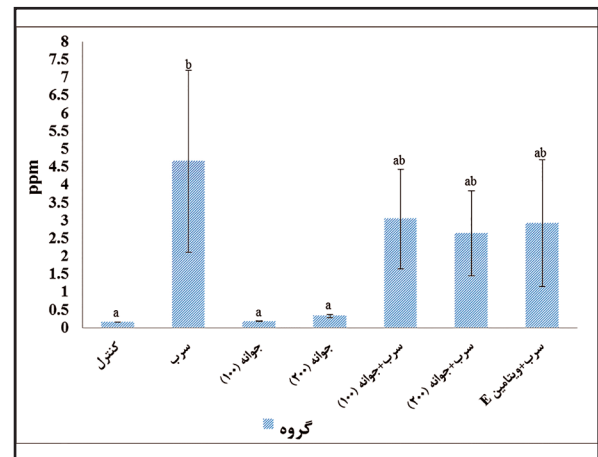


بحث

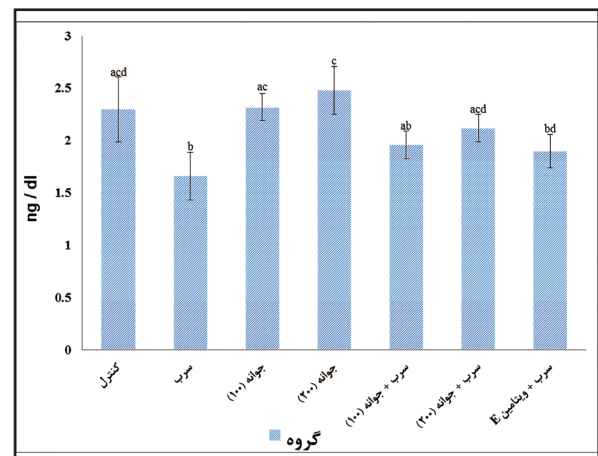
انسان‌ها در مواجهه با انواع مختلفی از آلودگی‌های زیست محیطی قرار دارند. همراه با توسعه سریع صنعت مدرن، آلودگی محیط زیست توسط فلزات سنگین به شدت افزایش یافته است. در طول چند سال گذشته، سرب در میان این فلزات به طور قابل ملاحظه‌ای سطح آن افزایش یافته است. سرب یک آلاینده زیست محیطی و صنعتی است که با مشکلات بهداشتی در سراسر دنیا همراه است. در سال‌های اخیر تأثیر منفی عوامل شیمیایی محیطی بر روی دستگاه تناسلی نر مورد توجه زیادی قرار گرفته است (۷،۲۰). سرب از شناخته شده‌ترین فلزات در مسمومیت‌های زیست محیطی است. پس آشکار است که مواجهه با سرب به طور جدی موجب به خطر انداختن سلامت انسان و حیوانات می‌گردد (۲۳). مواجهه شغلی با سرب در مردان خصوصاً کارگران حرفه‌ای منجر به عقیمی و ناباروری می‌گردد (۱۱). در کشورهای در حال توسعه و صنعتی مواجهه شغلی و زیست محیطی با سرب به عنوان مشکلی جدی باقی مانده است. مطالعات بسیاری نشان داده‌اند که مسمومیت باروری از ویژگی‌های بارز سمیت سرب محسوب می‌شود. بطوریکه مسمومیت با سرب موجب تخریب اسپرماتوژنز و آپوپتوز اپی‌تلیوم زایای بیضه می‌شود (۱،۵،۵۱). Rubio و همکاران در سال ۲۰۰۶ بیان کردند که اثرات شدید سرب بر روی عملکرد سیستم تناسلی نر از طریق تغییرات در اسپرماتوژنز و عملکرد اسپرم می‌باشد (۴۱). در مورد مکانیسم اثر سرب اختلاف وجود دارد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که مواجهه با سرب عملکرد دستگاه تناسلی نر را مختل می‌کند. به طوری که موجب تغییرات وسیع تحلیل برنده، غیرفعال شدن اسپرماتوژنز، کاهش قطر لوله‌های منی‌ساز، ایجاد ادم شدید در بافت همبندی و کاهش ارتفاع اپی‌تلیوم زایای منی‌ساز در بیضه می‌گردد. همچنین، تزریق داخل صفاقی استات سرب روزانه به میزان 20 mg/kg در مقایسه با گروه کنترل موجب کاهش معنی‌دار تعداد، تحرک و درصد اسپرم‌های زنده و افزایش معنی‌دار اسپرم‌های نابالغ گردید. نتایج ارزیابی اسپرم تحت تأثیر سرب در مطالعه حاضر همسو با تحقیقات و مطالعات اخیر که به منظور بررسی اثرات سرب بر روی پارامترهای اسپرم انجام شده است بود (۳،۱۳،۱۹،۲۰). نتایج به دست آمده در این تحقیق نشان داد که سرب اثری بر روی ساختار DNA اسپرم ندارد. به طوری که اسپرم‌های با DNA سالم در گروه سرب در مقایسه با دیگر گروه‌ها کاهش معنی‌داری نشان ندادند. Bonde و همکاران با ارزیابی سرب خون کارگران شاغل در کارخانه‌های مرتبط با سرب و نیز شمارش اسپرم‌ها و ساختار DNA اسپرم‌ها بیان کردند که سرب عملاً تأثیری بر روی ساختار DNA اسپرم‌ها ندارد. در حالی که سرب موجب کاهش شمار اسپرم‌ها شده بود (۹). شاید بتوان گفت که اثرات منفی سرب بر اسپرم‌ها بیشتر در حد ارگان‌ها و غشای سیتوپلاسمی باشد. به طوری که نشان داده شده است که وقتی موش‌های نر آلوده به سرب با موش‌های ماده بدون



نمودار ۱. Mean $\pm$ SD و تغییرات TBARS بافتی بیضه. وجود حروف متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار است ($p < 0.05$).



نمودار ۲. Mean $\pm$ SD و تغییرات سرب کبد. وجود حروف متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار است ($p < 0.05$).



نمودار ۳. Mean $\pm$ SD و تغییرات تستوسترون سرم. وجود حروف متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار است ($p < 0.05$).

تستوسترون سرم در گروه‌هایی که همزمان استات سرب را دریافت کرده بودند در مقایسه با دیگر گروه‌ها کاهش نشان داد که از لحاظ آماری این کاهش غیر معنی‌دار بودند (نمودار ۳).



آلودگی به سرب جفت گیری کنند، تعداد جنین‌های جذب شده یا دارای ناهنجاری در مقایسه با جنین‌های حاصل از جفت گیری زوج‌های غیر آلوده افزایشی را نشان نمی‌دهند (۲۴). بدین ترتیب ظاهراً سرب بر روی ساختار DNA هسته اسپرم اثرات نامطلوبی برجای نمی‌گذارد.

کاهش قابل توجه تعداد سلول‌های سرتولی، لیدیگ، ارتفاع اپی‌تلیوم زایا و قطر لوله‌های منی‌ساز بیضه موش‌های صحرایی تحت تأثیر سرب گزارش شده است (۳، ۱۳، ۱۹) که موافق با نتایج ارزیابی هیستومورفومتری در مطالعه حاضر می‌باشد. متعاقب کاهش فعالیت متابولیکی سلول‌های زایا و کاهش تعداد و تقسیم سلولی، از ارتفاع اپی‌تلیوم و قطر لوله‌های منی‌ساز بیضه کاسته می‌شود، که به نوبه خود باعث افزایش فضای بینایی و در نتیجه ادم بافتی می‌گردد (۲۲). ایجاد اختلال و آسیب در ماهیت DNA و یا افزایش و تحریک آپوپتوز سلول‌های زایای لوله‌های منی‌ساز بیضه را یکی از مکانیسم‌های اثر سرب می‌دانند (۱، ۴۴). از طرفی گزارش شده که ممکن است مکانیسم آن از طریق سرکوب محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-بیضه باشد (۱۳). استرس اکسیداتیو یکی دیگر از مکانیسم‌های مطرح شده در مورد آسیب‌های بافتی ناشی از سرب می‌باشد (۲۱). با ایجاد اکسیداسیون چربی‌ها، ROS موجب تغییر در یکپارچگی و سیالیت ساختار غشاء سلولی می‌گردد (۳). چندین دهه است که ROS به عنوان عامل مخرب و آسیب رسان به سلول‌ها و بافت‌ها شناخته شده است. اسپرم نخستین سلولی بود که تولید ROS در آن اثبات شد (۴۶). حال، با توجه به افزایش معنی‌دار سطح TBARS بیضه در مطالعه حاضر می‌توان گفت که استرس اکسیداتیو مکانیسم اصلی تأثیر سرب در بافت بیضه می‌باشد. گزارش شده است که یکی از دلایل اصلی ناباروری در افراد، تولید بیش از حد ROS و یا کاهش توانایی آنتی‌اکسیدانی در مایع منی است که باعث ایجاد شرایط استرس اکسیداتیو و در نهایت افزایش مرگ و میر و کاهش تعداد و تحرک اسپرم‌ها می‌گردد (۴۷). در مطالعه حاضر، ضرایب اسپرماتوژنز و اسپرمیوژنز شامل RI، TDI و SI در لوله‌های منی‌ساز بیضه تحت تأثیر استرس اکسیداتیو ناشی از سرب کاهش معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل نشان دادند. گزارش شده است که ایجاد شرایط استرس اکسیداتیو موجب کاهش شدید ضرایب RI، TDI و SI در لوله‌های منی‌ساز بیضه موش‌های سوری می‌گردد لذا همسو با نتایج مطالعه حاضر می‌باشند (۲۲، ۴۲).

در مطالعه حاضر تجویز سرب موجب کاهش در وزن بدن، حجم، وزن خالص و نسبی بیضه در مقایسه با گروه کنترل گردید اما این کاهش از لحاظ آماری غیرمعنی‌دار بود. گزارش شده است که وزن اندام‌های تناسلی یکی از معیارهای مهم برای مطالعات سم‌شناسی می‌باشد. به‌طوری‌که وزن اندام‌های تناسلی بالاخص بیضه‌ها در شرایط استرس اکسیداتیو کاهش می‌یابند. در تحقیقات مشابه گزارش شده است که استرس اکسیداتیو ناشی از سرب موجب کاهش وزن بدن، وزن خالص، وزن نسبی و حجم بیضه موش‌های صحرایی می‌گردد (۱۳، ۱۹، ۲۰، ۲۲). در حالی که Asadpour و

همکاران در سال ۲۰۱۳ بیان نمودند که تجویز سرب تأثیری بر روی وزن بدن و وزن بیضه موش‌های صحرایی مواجهه شده ندارد (۳). در مطالعه حاضر، گروه‌های جوانه (۲۰۰ mg/kg/day) و سرب + ویتامین E بیشترین وزن بدن را در مقایسه با سایر گروه‌ها نشان دادند. همچنین، حجم، وزن نسبی و خالص بیضه تحت تأثیر عصاره جوانه گندم وابسته به دوز در بین گروه‌های آزمایش افزایش غیرمعنی‌دار نشان دادند. گزارش شده که تجویز ترکیبات آنتی‌اکسیدانی می‌تواند موجب افزایش وزن بدن، وزن و حجم اندام‌های تناسلی نر گردد (۱۳، ۲۰، ۲۲، ۳۷). مطالعه حاضر اولین تحقیق در مورد استفاده از عصاره جوانه گندم در محافظت و جلوگیری از سمیت ناشی از سرب بر روی روند اسپرماتوژنز، پارامترهای اسپرم و ساختار بافتی بیضه می‌باشد. نتایج این تحقیق نشان داد که تجویز عصاره جوانه گندم وابسته به دوز دارای اثرات محافظتی بر روی پارامترهای اسپرم و ساختار بافتی بیضه موش‌های صحرایی مواجهه شده با سرب می‌باشد. به‌طوری‌که عصاره جوانه گندم موجب افزایش معنی‌دار تعداد، تحرک و درصد اسپرم‌های زنده در مقایسه با دیگر گروه‌ها گردید. شمارش تعداد اسپرم‌های اپیدیدیم به دلیل این که نتیجه‌ای از تمام مراحل میوز، اسپرمیوژنز و عبور از اپیدیدیم را نشان می‌دهد به‌عنوان یکی از حساس‌ترین تست‌ها جهت ارزیابی اسپرماتوژنز شناخته شده است (۳۳). ضخامت کپسول بیضه تغییرات معنی‌دار در بین گروه‌های مطالعه را نشان نداد. در مطالعه حاضر برای بررسی اسپرماتوژنز و اسپرمیوژنز، ضرایب RI، TDI و SI ارزیابی گردید. نتایج نشان داد که عصاره جوانه گندم وابسته به دوز موجب افزایش ضرایب RI، TDI و SI در مقایسه با دیگر گروه‌ها می‌گردد. جوانه (۲۰۰ mg/kg/day) توانست به‌طور کامل اثرات مخرب استرس اکسیداتیو ناشی از سرب را بر روی ساختار بافتی بیضه مهار نماید. جوانه گندم در میان گیاهان دارویی منحصر بفرد است. به‌طوری‌که غنی از ویتامین‌ها، مواد معدنی، ترکیبات فیتواستروئیدی و آنتی‌اکسیدان‌ها می‌باشد. علاوه بر این جوانه گندم دربرگیرنده منیزیم، روی، کلسیم، ویتامین E، ویتامین C، اسید فولیک، تیامین، ریبوفلاوین، آهن، نیاسین و B۱۲ است (۲۸، ۴۵). تاکنون به‌طور مستقیم تأثیر عصاره جوانه گندم بر روی آسیب‌های سیستم تناسلی نر و پارامترهای اسپرم ناشی از مواجهه با سرب گزارش نشده است. در حالی که اثرات مثبت بسیاری از ترکیبات موجود در جوانه گندم که در بالا ذکر گردید بر روی آسیب‌های سیستم تناسلی نر و پارامترهای اسپرم ناشی از مواجهه با سرب نشان داده شده است. در مطالعه حاضر تجویز ویتامین E به‌همراه سرب در پارامترهای قطر لوله‌های منی‌ساز، TDI، تعداد سلول سرتولی، تحرک و درصد اسپرم‌های زنده افزایش معنی‌دار نشان داد. ویتامین E آنتی‌اکسیدان قوی است که اثرات مفید آن بر روی سیستم تناسلی و پارامترهای باروری اسپرم در نرهای مواجهه شده با سرب گزارش شده است (۳، ۲۰). علاوه بر این، تأثیر مفید ویتامین‌های C، E، اسید فولیک، تیامین، نیاسین و B۱۲ به‌عنوان ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در تحقیقات مختلف گزارش شده است (۴، ۲۶، ۴۹).



سطح تستوسترون سرم در مقایسه با گروه کنترل می‌گردد. همچنین، کاهش تعداد سلول‌های لیدیک و کاهش میزان رنگ پذیری سیتوپلاسم سلول‌های لیدیک در رنگ‌آمیزی سودان بلک حاکی از افت فعالیت این سلول‌ها تحت شرایط استرس اکسیداتیو بود. Dorostghol و همکاران در سال ۲۰۱۴ بیان نمودند که استرس اکسیداتیو موجب کاهش تستوسترون در موش‌های مواجهه شده با سرب می‌گردند که همسو با نتایج مطالعه حاضر می‌باشد (۱۳). افزایش تستوسترون سرم تحت تأثیر گیاهان دارویی و ترکیبات آنتی اکسیدانی و معدنی از قبیل روی و ویتامین‌های C، E در مطالعات مختلف گزارش شده است (۴، ۱۳، ۳۵، ۳۷). در مطالعه حاضر، گروه‌های دریافت‌کننده ویتامین E و عصاره جوانه گندم وابسته به دوز موجب بالا رفتن سطح تستوسترون سرم شدند. علاوه بر این، نتایج این مطالعه نشان داد که گروه‌های دریافت‌کننده عصاره جوانه گندم و ویتامین E موجب افزایش تعداد و فعالیت سلول‌های لیدیک بیضه می‌شوند. با توجه به نتایج ارزیابی سلول‌های لیدیک و سرتولی در مطالعه حاضر، بررسی فراساختاری این سلول‌ها توسط میکروسکوپ الکترونی می‌تواند در جهت درک بهتر مکانیسم عمل عصاره جوانه گندم، ویتامین E و استات سرب بکار گرفته شود.

نتیجه‌گیری: در مجموع می‌توان گفت که تجویز سرب با دوز mg/kg/day ۲۰ موجب ایجاد استرس اکسیداتیو در ساختار بافتی بیضه موش‌های صحرایی می‌گردد. در مقابل، تجویز عصاره جوانه گندم وابسته به دوز توانست اثرات مخرب سرب بر روی بافت بیضه را مهار نماید. همچنین، با توجه به نتایج مطالعه حاضر قابل ذکر است که مصرف خوراکی جوانه گندم اثرات بهتری در مقایسه با ویتامین E با دوز mg/kg/day ۱۰۰ در مهار استرس اکسیداتیو بر روی ساختار بافتی بیضه موش‌های صحرایی مواجهه شده با سرب دارد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله بر خود لازم می‌دانند از جناب آقای دکتر حسین نجف زاده به خاطر همکاری‌هایشان در اجرای این طرح تقدیر و تشکر نمایند.

References

1. Adhikari, N., Sinha, N., Narayan, R., Saxena, D. (2001) Lead induced cell death in testes of young rats. *J Appl Toxicol.* 21: 275-277.
2. Arrieta, M.A., Bruzzone, L., Apartin, C., Rosenberg, C.E., Fink, N.E., Salibian, A. (2004) Biosensors of inorganic lead exposure and effect in an adult amphibian. *Arch Environ Contam Toxicol.* 46: 224-230.
3. Asadpour, R., Shahbazfar, A., Kianifard, D.,

از طرفی، نتایج بدست آمده از ارزیابی TBARS بیضه نشان داد که عصاره جوانه گندم وابسته به دوز موجب کاهش سطح TBARS بیضه می‌گردد. لذا می‌توان گفت عصاره جوانه گندم از طریق فعالیت آنتی اکسیدانی نقش محافظتی خود را ایفا کرده است.

آنزیم آلکالین فسفاتاز نقش مهمی در فرآیندهای سلولی دارد. آسیب غشاء سلول باعث آزاد شدن این آنزیم در داخل سلول و نهایتاً در سرم می‌گردد. بنابراین، اندازه‌گیری آنزیم آلکالین فسفاتاز به عنوان یک شاخص برای تغییرات بافت بیضه استفاده می‌گردد (۲۲). در مطالعه حاضر، عصاره جوانه گندم وابسته به دوز همزمان با سرب در مقایسه با گروه سرب موجب کاهش میزان آنزیم آلکالین فسفاتاز در برش‌های بافتی بیضه گردید. در شرایط سالم، سلول‌های سری اسپرماتوزن بر روی غشای پایه لوله‌های منی‌ساز دارای منابع کربوهیدرات هستند. در حالی که سلول‌های نزدیک حفره داخلی لوله‌های منی‌ساز برای متابولیسم از لیپید استفاده می‌کنند. در مواردی که چرخه متابولیکی دچار اختلال گردد متعاقباً متابولیسم سلولی نیز تغییر می‌کند. در این شرایط، سلول از دیگر منابع غذایی موجود در محیط برای سوخت و ساز استفاده می‌کند (۲۲). نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که در بافت بیضه موش‌های صحرایی مواجهه با سرب افزایش نقاط PAS مثبت (ذرات کربوهیدرات) در سلول‌های مجاور حفره داخلی لوله‌های منی‌ساز، کاهش شدید ذخیره چربی در سلول‌های لیدیک و سلول‌های سری اسپرماتوزن نزدیک غشای پایه را نشان داد. این نتایج حاکی از اختلال در سوخت و ساز سلول‌های بافت بیضه تحت تأثیر مواجهه با سرب بود. در بین گروه‌های آزمایش، عصاره جوانه گندم با دوز mg/kg/day ۲۰۰ توانست نقش محافظتی کاملی را در برابر اثرات سمی سرب ایفا کند. لذا دریافت عصاره جوانه گندم با دوز mg/kg/day ۲۰۰ موجب گردید سلول‌های بافت بیضه با وجود تجویز همزمان سرب دارای سوخت و ساز طبیعی باشند. رنگ‌آمیزی سودان بلک در مطالعه حاضر دانه‌های فراوان، متراکم و کاملاً سیاه رنگ در سیتوپلاسم سلول‌های سرتولی بالاخص در گروه‌های دریافت‌کننده سرب مشاهده گردید. دانه‌های متراکم قهوه‌ای-سیاه رنگ در رنگ‌آمیزی سودان بلک در سیتوپلاسم سلول‌های سرتولی در مجاور غشای پایه لوله‌های تحلیل رفته منی‌ساز بیشتر قابل مشاهده بودند. از وظایف مهم سلول‌های سرتولی، فاگوسیتوز سلول‌های اسپرماتوزنیک تحلیل رفته و جدا کردن اجسام باقی مانده اسپرماتیدها می‌باشد. در نتیجه این مواد با آنزیم‌های لیزوزومی ترکیب و لیپوفوشین نامیده می‌شود که به صورت پیگمانت‌های زرد-قهوه‌ای قابل تشخیص‌اند (۱۶). حال می‌توان گفت که این دانه‌های قهوه‌ای متراکم در اثر فعالیت فاگوسیتوز بیش از حد سلول‌های تحلیل رفته اسپرماتوزن تحت تأثیر استرس اکسیداتیو ناشی از سرب در سیتوپلاسم سلول‌های سرتولی وجود دارند.

نتایج اندازه‌گیری سطح تستوسترون سرم در مطالعه حاضر نشان داد که تجویز سرب و ایجاد شرایط استرس اکسیداتیو موجب کاهش معنی‌دار



- Azari, M., Zaboli, N. (2013) Comparison of the protective effects of garlic (*Allium sativum* L) extract, vitamin E and N acetyl cysteine on testis structure and sperm quality in rats treated with lead acetate. *Revue Med Vet.* 164: 27-33.
4. Ayinde, O.C., Ogunnowo, S., Ogedegbe, R.A. (2012) Influence of Vitamin C and Vitamin E on testicular zinc content and testicular toxicity in lead exposed albino rats. *BMC Pharmacol Toxicol.* 13: 13-17.
 5. Batra, N., Nehru, B., Bansal, M. (2001) Influence of lead and zinc on rat male reproduction at 'biochemical and histopathological levels. *J Appl Toxicol.* 21: 507-512.
 6. Benoff, S., Jacob, A., Hurley, I.R. (2000) Male infertility and environmental exposure to lead and cadmium. *Hum Reprod Update.* 6: 107-121.
 7. Bilandzic, N., Sedak, M., Vratarić, D., Perić, T., Simić, B. (2009) Lead and cadmium in red deer and wild boar from different hunting grounds in Croatia. *Sci Total Environ.* 407: 4243-4247.
 8. Bolin, C.M., Basha, R., Cox, D., Zawia, N.H., Maloney, B., Lahiri, D.K., Cardozo-Pelaez, F. (2006) Exposure to lead and the developmental origin of oxidative DNA damage in the aging brain. *FASEB J.* 20: 788-790.
 9. Bonde, J.P., Joffe, M., Apostoli, P., Dale, A., Kiss, P., Spano, M., Caruso, F., Giwercman, A., Bisanti, L., Porru, S., Vanhoorne, M., Comhaire, F., Zschiesche, W. (2002) Sperm count and chromatin structure in men exposed to inorganic lead: lowest adverse effect levels. *Occup Environ Med.* 59: 234-242.
 10. Bonfili, L., Amici, M., Cecarini, V., Cucciolo-ni, M., Tacconi, R., Angeletti, M., Fioretti, E., Keller, J.N., Eleuteri, A.M. (2009) Wheat sprout extract-induced apoptosis in human cancer cells by proteasomes modulation. *Biochimie.* 91: 1131-44.
 11. Cullen, M.R., Kayne, R.D., Robins, J.M. (1984) Endocrine and reproductive dysfunction in men associated with occupational inorganic lead intoxication. *Arch Environ Health.* 39: 431-440.
 12. Dexter, J., Wood, P. (1996) Recent applications of debranning of wheat before milling. *Tren Food Sci Tech.* 7: 35-41.
 13. Dorostghoal, M., Seyyednejad, S., Jabari, A. (2014) Protective effects of *Fumaria parviflora* L. on lead induced testicular toxicity in male rats. *Andrologia.* 46: 437-446.
 14. Eisenmenger, M., Dunford, N.T. (2008) Bioactive components of commercial and supercritical carbon dioxide processed wheat germ oil. *JA-OCS.* 85: 55-61.
 15. El-Neweshy, M.S., El-Sayed, Y.S. (2011) Influence of vitamin C supplementation on lead-induced histopathological alterations in male rats. *Exp Toxicol Pathol.* 63: 221-227.
 16. Eurell, J.A., Frappier, B.L. (2006) *Dellmann's Textbook of Veterinary Histology.* (6th ed.) Blackwell. New York, USA.
 17. Falcioni, G., Fedeli, D., Tiano, L., Calzuola, I., Mancinelli, L., Marsili, V., Gianfranceschi, G. (2002) Antioxidant activity of wheat sprouts extract in vitro: inhibition of DNA oxidative damage. *JFS.* 67: 2918-2922.
 18. Ghanem, K.Z., Ramadan, M.M., Farrag, A.R.H., Ghanem, H.Z., Farouk, A. (2009) Egyptian artichoke volatile compounds protect against lead-induced hepatic and renal toxicity in male rats. *Pol J Food Nutr Sci.* 59: 175-181.
 19. Graca, A., Ramalho-Santos, J., de Lourdes Pereira, M. (2004) Effect of lead chloride on spermatogenesis and sperm parameters in mice. *Asian J Androl.* 6: 237-242.
 20. Hamadouche, N.A., Sadi, N., Kharoubi, O., Slimani, M., Aoues, A. (2013) The protective effect of vitamin E against genotoxicity of lead acetate intraperitoneal administration in male rat. *Arch Biol Sci Belgrade.* 65: 1435-1445.
 21. Hermes-Lima, M., Pereira, B., Bechara, E. (1991) Are free radicals involved in lead poisoning?, *Xenobiotica.* 21: 1085-1090.
 22. Hesari, A.K., Shahrooz, R., Ahmadi, A., Malekinejad, H., Saboory, E. (2015) Crocin prevention of anemia-induced changes in structural and functional parameters of mice testes. *JAB.* 53: 1-11.
 23. Hu, H. (2000) Exposure to metals. *Prim Care.* 27: 983-996.



24. Johansson, L., Wide, M. (1986) Long-term exposure of the male mouse to lead: effects on fertility. *Enviro res.* 41: 481-487.
25. Kakkar, P., Jaffery, F.N. (2005) Biological markers for metal toxicity. *Env Toxicol Pharmacol.* 19: 335-349.
26. Khan, M., Mostofa, M., Jahan, M., Sayed, M., Hossain, M. (2008) Effect of garlic and vitamin B-complex in lead acetate induced toxicities in mice. *Banglad J Vet Med.* 6: 203-210.
27. Kulkarni, S.D., Tilak, J., Acharya, R., Rajurkar, N.S., Devasagayam, T., Reddy, A. (2006) Evaluation of the antioxidant activity of wheatgrass (*Triticum aestivum* L.) as a function of growth under different conditions. *Phytother Res.* 20: 218-227.
28. Kumar, P., Yadava, R., Gollen, B., Kumar, S., Verma, R., Yadav, S. (2011) Nutritional contents and medicinal properties of wheat: A review. *Life Sci Med Res.* 22: 1-10.
29. Lee, S., Lee, Y., Lee, H., Kim, D. (2009) Antioxidative and anti-hyperglycemia effects of *Triticum aestivum* wheat sprout water extracts on the streptozotocin-induced diabetic mice. *Korean J Pharmac.* 40: 1-9.
30. Lukaszewicz-Hussain, A., Moniuszko-Jakoniuk, J., Rogalska, J. (2007) Assessment of lipid peroxidation in rat tissues in subacute chlorfenvinphos administration. *Polish J Environ Stud.* 16: 233-236.
31. Marchlewicz, M., Michalska, T., Wiszniewska, B. (2004) Detection of lead-induced oxidative stress in the rat epididymis by chemiluminescence. *Chemosphere.* 57: 1553-1562.
32. Markowitz, M. (2000) Lead poisoning: a disease for the next millennium. *Curr Probl Pediatr.* 30: 62-70.
33. Meistrich, M. (1989) Evaluation of reproductive toxicity by testicular sperm head counts. *International J Toxicol.* 8: 551-567.
34. Mishra, M., Acharya, U.R. (2004) Protective action of vitamins on the spermatogenesis in lead-treated Swiss mice. *J Trace Elem Med Biol.* 18: 173-178.
35. Mohamed, D.S., Omar, A., Soliman, A. (2014) Effect of Cadmium on the Testes of Adult Albino Rats and the Ameliorating Effect of Zinc and Vitamin E. *British J Sci.* 11: 72-94.
36. Mohan, Y., Jesuthankaraj, G.N., Ramasamy, T.N. (2013) Antidiabetic and antioxidant properties of *Triticum aestivum* in streptozotocin-induced diabetic rats. *Advan Pharmacol Sci.* 1: 1-9.
37. Moradi, H.R., Majd, N.E., Esmaeilzadeh, S., Tabatabaei, S.R.F. (2015) The histological and histometrical effects of *Urtica dioica* extract on rat's prostate hyperplasia. *Vet Res Forum.* 6: 23-29.
38. Peryt, B., Szymczyzyk, T., Lesca, P. (1992) Mechanism of antimutagenicity of wheat sprout extracts. *Mutat Res.* 269: 201-215.
39. Rezvanfar, M., Sadrkhanlou, R., Ahmadi, A., Shojaei-Sadee, H., Rezvanfar, M., Mohammadirad, A., Salehnia, A., Abdollahi, M. (2008) Protection of cyclophosphamide-induced toxicity in reproductive tract histology, sperm characteristics, and DNA damage by an herbal source; evidence for role of free-radical toxic stress. *Hum Exp Toxicol.* 27: 901-910.
40. Rezvanfar, M.A., Rezvanfar, M.A., Shahverdi, A.R., Ahmadi, A., Baeeri, M., Mohammadirad, A., Abdollahi, M. (2013) Protection of cisplatin-induced spermatotoxicity, DNA damage and chromatin abnormality by selenium nano-particles. *Toxicol Appl Pharmacol.* 266: 356-365.
41. Rubio, J., Riqueros, M.I., Gasco, M., Yucra, S., Miranda, S., Gonzales, G.F. (2006) *Lepidium meyenii* (Maca) reversed the lead acetate induced—damage on reproductive function in male rats. *Food Chem Toxicol.* 44: 1114-1122.
42. Sajjadian, F., Roshangar, L., Hemmati, A., Nori, M., Soleimani-Rad, S., Soleimani-Rad, J. (2014) The effect of BSO-induced oxidative stress on histologic feature of testis: testosterone secretion and semen parameters in mice. *Iran J Basic Med Sci.* 17: 606-612.
43. Shalan, M., Mostafa, M., Hassouna, M., El-Nabi, S.H., El-Refaie, A. (2005) Amelioration of lead toxicity on rat liver with vitamin C and silymarin supplements. *Toxicol.* 206: 1-15.
44. Shan, G., Tang, T., Zhang, X. (2009) The protective effect of ascorbic acid and thiamine supple-



- mentation against damage caused by lead in the testes of mice. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci.* 29: 68-72.
45. Singh, N., Verma, P., Pandey, B. (2012) Therapeutic potential of organic *Triticum aestivum* linn.(wheat grass) in prevention and treatment of chronic diseases: An overview. *Int J Pharm Sci Drug Res.* 4: 10-14.
46. Tremellen, K. (2008) Oxidative stress and male infertility—a clinical perspective. *Hum Reprod Update.* 14: 243-258.
47. Tvrdá, E., Knazicka, Z., Bardos, L., Massanyi, P., Lukac, N. (2011) Impact of oxidative stress on male fertility—a review. *Acta Vet Hung.* 59: 465-484.
48. Upasani, C., Khera, A., Balararnan, R. (2001) Effect of lead with vitamin E, C, or Spirulina on malondialdehyde, conjugated dienes and hydroperoxides in rats. *Indian J Exp Biol.* 39: 70-74.
49. Wang, C., Liang, J., Zhang, C., Bi, Y., Shi, X., Shi, Q. (2007) Effect of ascorbic acid and thiamine supplementation at different concentrations on lead toxicity in liver. *Ann Occup Hyg.* 51: 563-569.
50. Watson, W.A., Litovitz, T.L., Rodgers, G.C.Jr., Klein-Schwartz, W., Youniss, J., Reid, N., Rouse, W.G., Rembert, R.S., Borys, D. (2004) 2003 annual report of the American association of poison control centers toxic exposure surveillance system. *Am J Emerg Med.* 22: 335-404.
51. Yucebilgic, G., Bilgin, R., Tamer, L., Tukul, S. (2003) Effects of lead on Na⁺-K⁺ ATPase and Ca²⁺ ATPase activities and lipid peroxidation in blood of workers. *International J Toxicol.* 22: 95-97.
52. Zhu, K.X., Zhou, H.M., Qian, H.F. (2006) Comparative study of chemical composition and physicochemical properties of defatted wheat germ flour and its protein isolate. *J food biochem.* 30: 329-341.



Wheat sprout effects on histological and histometrical structure and sperm parameters in testis of rat exposed to lead

Morovvati, H. *, Moradi, H.R., Adibmoradi, M., Sheybani, M.T., Salar Amoli, J.

Department of Basic Science, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

(Received 27 September 2016, Accepted 31 December 2016)

Abstract:

BACKGROUND: Wheat sprout contains a high amount of antioxidants, vitamins (especially vitamin E), minerals and phytoestrogen compounds. Use of medicinal herbs in reducing heavy metal toxicities has increased worldwide. In recent years, negative effects of lead on the male reproductive system and sperm fertility parameters have been shown broadly. **OBJECTIVES:** This study investigated the effects of wheat sprout extract (WSE) and vitamin E on sperm parameters and testicular oxidative stress in rats exposed to lead acetate. **METHODS:** Thirty-five rats were divided randomly into seven groups: G1 (control group) received 1 ml/kg/day of normal saline, G2 received 20 mg/kg/day of lead acetate, G3 and G4 received 100 mg/kg/day and 200 mg/kg/day of WSE respectively, G5 and G6 received 100 mg/kg/day and 200 mg/kg/day of WSE respectively with 20 mg/kg/day of lead acetate, and G7 received 100 mg/kg/day of vitamin E with 20 mg/kg/day of lead acetate. After 35 days, rats were sacrificed and blood, sperm, liver and testicle tissue samples were collected for histomorphological and histochemical studies. **RESULTS:** Results showed that count, motility and viability of sperms increased following the administration of 200 mg/kg/day of WSE ($p < 0.01$). Histomorphological studies showed a significant increase in tubular differentiation index (TDI), Repopulation index (RI), number of Sertoli cells, and epithelium of seminiferous tubules in groups receiving 200 mg/kg/day of WSE ($p < 0.001$). **CONCLUSIONS:** Results of the current study show that dose dependent WSE significantly prevents testicular toxicity and oxidative stress effects of lead acetate.

Keyword: wheat sprout, lead, testis, oxidative stress, rat

Figure Legends and Table Captions

Table 1. Rat body weight, net weight, testis/body weight and testis volume. Values in parentheses are shown in mg/kg/day.

Table 2. SI, TDI, RI, and epithelium height of seminiferous tubules and number of Sertoli cells (mean $\pm$ SD). Values in parentheses are shown in mg/kg/day.

Table 3. Characteristic changes in rat testis (mean $\pm$ SD). Values in parentheses are shown in mg/kg/day.

Table 4. Alitative evaluation of PAS and ALP staining of testicular tissue among the study groups. Values in parentheses are shown in mg/kg/day.

Table 5. Characteristic changes in rat sperms (mean $\pm$ SD). Values in parentheses are shown in mg/kg/day.

Figure 1. Histological structure of rat testis using H&E staining. Values in parentheses are shown in mg/kg/day.

Figure 2. Histological structure of rat testis using Sudan black staining. Values in parentheses are shown in mg/kg/day.

Figure 3. Acridine orange staining, Aniline blue staining and Eosin-nigrosin staining of sperms.

Grapp 1. Mean $\pm$ SD and changes in testicle TBARS level of the study groups. Values in parentheses are shown in mg/kg/day.

Grapp 2. Mean $\pm$ SD and changes in liver lead level of the study groups. Values in parentheses are shown in mg/kg/day.

Grapp 3. Mean $\pm$ SD and changes in serum testosterone level of the study groups. Values in parentheses are shown in mg/kg/day.

