

تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره هیدروالکلی هفت بند بر شاخص‌های اختصاصی باروری اسپرم خروس



JOURNAL OF VETERINARY CLINICAL RESEARCH

دوره دهم، شماره اول، بهار و تابستان ۱۳۹۸

سهیل همتی^{۱*}، علیرضا پایمرد^۱، مجید غلامی آهنگران^۲

۱. دانش آموخته دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی،

۲. بخش بیماری‌های طیور، دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد

اسلامی، شهرکرد- ایران

* نویسنده مسئول: soheidvm9690@gmail.com

دریافت مقاله: ۱۹ اسفند ماه ۱۳۹۷، پذیرش نهایی: ۲۹ شهریور ماه ۱۳۹۸

چکیده:

هدف: گیاهان دارویی دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌توانند با ایجاد اختلال در روند تولید رادیکال‌های آزاد و خنثی‌سازی استرس اکسیداتیو باعث بهبود کمی و کیفی شاخص‌های تخصصی باروری اسپرم و افزایش نطفه‌داری در خروس گردند. هدف از این مطالعه، بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره گیاه هفت بند بر پارامترهای بیولوژیک و اندیکس‌های تخصصی باروری اسپرم خروس‌های گلپایگانی می‌باشد. در این بررسی، عصاره هیدروالکلی گیاه هفت بند در غلظت‌های ۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر تهیه و به مدت یک هفته به آب آشامیدنی ۳۶ خروس بالغ (سن ۳۲ هفته) نژاد بومی گلپایگانی اضافه شد. پس از یک هفته، تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره بر پارامترهای تخصصی باروری اسپرم (SMI, FSC, PMSCa, PMSCb) و مقایسه قرار گرفت. به منظور ارزیابی اختصاصی انواع ناهنجاری‌ها در قسمت‌های مختلف اسپرم از رنگ آمیزی پاپانیکولار استفاده شد. نتایج نشان داد افزودن عصاره هفت بند در تمامی غلظت‌ها به آب آشامیدنی موجب افزایش معنی‌دار حرکات پیش‌رونده اسپرم و تحرک تخصصی اسپرم نیاز به افزودن دزهای بالای عصاره (۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم) دارد. بیشترین تعداد اسپرم‌های با حرکات پیش‌رونده سریع (PMSCa)، بالاترین میزان شاخص‌های SMI, FSC و MSC، کمترین میزان ناهنجاری‌های ساختاری و حرکتی اسپرم در غلظت‌های ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم مشاهده شد ($P \leq 0.05$). تفاوت معنی‌داری در برخی شاخص‌های فوق بین دو غلظت متوسط و بالای عصاره دیده نشد ($P > 0.05$). به‌طور کلی، هفت بند بدلیل دارا بودن مقادیر بالای ترکیبات آنتی‌اکسیدانی موجب افزایش معنی‌دار شاخص‌های اسپرم و نیز بهبود پارامترهای تخصصی باروری اسپرم خروس می‌گردد.

کلمات کلیدی: هفت بند، اسپرم، ترکیبات آنتی‌اکسیدان، خروس، باروری

مقدمه:

و به طول ۵۰ سانتی‌متر، کم و بیش ساده یا منشعب تکی، برگ‌های یک درمیان سرنیزه‌ای نوک‌دار، بی بو به رنگ صورتی مایل به سبز، گل‌ها اغلب منفرد. پراکندگی جهانی در اروپا، آسیا، شمال و نواحی معتدل آمریکا، شمال استرالیا و آفریقا می‌روید.

در ایران در نواحی جنگلی و مرطوب در استان‌های گرگان، مازندران، گیلان و آذربایجان می‌روید. این گیاه در چمنزارها، در اراضی مرطوب کناره جاده‌ها پراکنده است (۳، ۵). ترکیباتی نظیر مواد رزینی، موم، مواد قندی، موسیلاژ (کاهش حرکات دودی و ضماد زخم)، اسید اکسالیک، اسید استیک، فرمیک، تانن، نیترات، پتاسیم، گلوکز، اسانس (ضد عفونی کننده و ضد باکتریایی)، سیلیس، در ریشه گیاه یک اکسی متیل آنتراکینون یافت می‌شود.

خواص درمانی: بند آورنده خون، کم کننده ترشحات روده‌ای، ضد دیابت، تصفیه کننده خون و مدر و مسکن می‌باشد و برای درمان اسهال (اثر تانن)، ورم روده، اسهال خونی، خون‌ریزی‌های یائستگی زنانه، خون‌ریزی اندام‌های مختلف، دیابت، سنگ‌های صفراوی و ادراری، روماتیسم و کمی ادرار و بخاطر اسید سیلیسیک در درمان سل ریوی مصرف می‌شود (۳). برگ‌های آن قابض هستند و برای درمان اسهال و در استعمال خارج برای زخمها بکار می‌رود. ریشه‌های آن بند آورنده خون، قابض و تسریع کننده التیام زخمهاست. مصرف زیاد گیاه سبب پیدایش دانه‌های پوستی، اگزما، کهیر و حساسیت و آسیب دیدگی پوست می‌شود (۳، ۵). اغلب ترکیبات فنولی فعال موجود در هفت بند بویژه جینجروولها، جینجردیول، زینجیرین، زینجرون و شوگااولها دارای خاصیت آنتی اکسیدانی بالایی بوده و موجب حذف رادیکال‌های آزاد

تحقیقات صورت گرفته در دهه‌های اخیر نشان می‌دهد که مصرف بسیاری از آنتی بیوتیک‌ها، داروهای شیمی درمانی، مواد سمی و آفت کشها، تشعشعات رادیواکتیو، استرس، آلودگی هوا و عدم مصرف کافی ویتامین‌ها می‌توانند منجر به اختلال در روند اسپرماتوزن، کاهش قدرت باروری و بروز ناتوانی‌های جنسی شوند (۱۲). این عوامل با تولید رادیکال‌های آزاد و ایجاد استرس اکسیداتیو نه تنها باعث کاهش سنتز و آزادسازی تستوسترون توسط سلولهای لیدیگ و دژنره شدن سلولهای سرتولی بیضه می‌گردند، بلکه منجر به افزایش پروکسید-اسیون لیپیدی در غشای سیتوپلاسمی اسپرم، غیر فعالسازی آنزیمهای گلیکولیز، آسیب به غشای آکروزومی اسپرم، اکسیداسیون DNA و در نهایت اختلال در روند اسپرماتوزن می‌شوند.

از طرف دیگر، گزارشات متعددی نیز در خصوص تاثیر مضر رادیکال‌های آزاد بر تعداد کلی اسپرم، میزان تحرک و مورفولوژی نرمال اسپرمها نیز وجود دارد (۱۳، ۱۹). اخیرا تحقیقات وسیعی در زمینه استفاده از آنتی اکسیدان‌های طبیعی جهت درمان ناتوانی‌های جنسی و افزایش قدرت باروری صورت گرفته است. این ترکیبات از طریق کاهش تولید رادیکال‌های آزاد، پایان دادن به واکنش‌های زنجیره اکسیداسیون، تقویت و استحکام سدخونی - بیضه‌ای و حفاظت از DNA اسپرم باعث بهبود پارامترهای بیولوژیک اسپرم و افزایش شاخص‌های تخصصی باروری می‌گردند (۹، ۱۲ و ۱۸). در سالهای اخیر تلاش‌های زیادی جهت دستیابی به آنتی اکسیدان‌های طبیعی با منشا گیاهی که بتوانند بدون ایجاد آثار تخریبی جانبی باعث تقویت روند اسپرماتوزن و افزایش قدرت باروری شوند صورت گرفته است. گیاهی یکساله، مقاوم به گرما و سرما، ساقه‌ها ایستاده

و جلوگیری از شکل‌گیری متابولیت‌های فعال و مضر در بدن می‌شود (۱۲ و ۱۴). این ترکیبات با افزایش معنی‌دار غلظت هورمون تستوسترون در بدن موجب افزایش وزن بیضه، افزایش میل جنسی، جلوگیری از زودانزالی، تقویت صفات ثانویه جنسی و تسریع روند اسپرماتوژنز در مردان می‌گردند. بررسی‌ها نشان داده است که استفاده از هفت بند باعث افزایش غلظت آنزیم گلوکاتیون پراکسیداز در بیضه و اپیدیدیم می‌گردد. این آنزیم موجب کاهش معنی‌دار رادیکال‌های آزاد، جلوگیری از شکست DNA اسپرم، ترمیم مولکول‌های DNA آسیب دیده، حفاظت تمامی سلول‌های جنسی (اسپرماتوگونی، اسپرما-توسیت، اسپرماتید و اسپرم) در مقابل پراکسیداسیون لیپیدی و در نهایت بلوغ و تکامل نهایی اسپرم می‌گردد (۱۲ و ۲۰). با توجه به حجم بالای اسیدهای چرب غیر اشباع در غشای پلاسمایی اسپرم، این سلول جنسی نسبت به استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپیدی بسیار حساس می‌باشد. پراکسیداسیون لیپیدی موجب تخریب ساختار ماتریکس لیپیدی در غشاهای سیتوپلا-سمی اسپرم و از بین رفتن یکپارچگی غشاء و عدم تحرک اسپرم می‌شود (۷، ۹، ۱۰ و ۱۲). بنابراین، بنظر می‌رسد استفاده از ترکیبات دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی بتواند از پراکسیداسیون لیپیدی و استرس اکسیداتیو اسپرم جلوگیری نموده و موجب افزایش قدرت باروری اسپرم گردد. تاکنون تأثیر عصاره هفت بند بر روند اسپرما-توژنز، شاخص‌های بیولوژیک اسپرم و نیز پارامترهای تخصصی باروری اسپرم مورد بررسی قرار نگرفته است. با توجه به اثرات آنتی‌اکسیدانی این گیاه و تأثیر آن بر غلظت آندروژن‌ها، بنظر می‌رسد استفاده از این گیاه دارویی بتواند موجب بهبود روند اسپرماتوژنز، افزایش کیفیت اسپرم و نطفه داری در ماکیان گردد.

در این تحقیق به بررسی غلظت‌های مختلف عصاره هفت بند بر شاخص‌های تخصصی باروری اسپرم (SMI, FSC, PMSCa, Ab. Motility, PMSCb, MSC) در خروس‌های بالغ نژاد بومی گلپایگانی مورد مقایسه قرار گرفت.

مواد و روش کار

تعداد ۳۶ خروس بالغ نژاد بومی گلپایگانی در سن ۳۲ هفتگی وارد مطالعه شده و پس از ارزیابی اولیه و در غالب طرح کاملاً تصادفی در ۴ گروه توزیع شدند. خروس‌ها در قفس‌های انفرادی و با شرایط محیطی استاندارد و یکسان نگهداری شدند. گروه اول بعنوان گروه کنترل و سه گروه دیگر بعنوان گروه‌های درمان در نظر گرفته شدند. در سه گروه درمان، عصاره هیدرو-الکلی هفت بند به ترتیب به میزان ۵۰۰ میلی گرم در لیتر (دز پایین)، ۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر (دز متوسط) و ۲۰۰۰ میلی گرم در لیتر (دز بالا) به مدت یک هفته به آب آشامیدنی خروس‌ها اضافه شد. آب آشامیدنی گروه کنترل فاقد عصاره هیدروالکلی هفت بند بود.

آماده سازی عصاره هیدرولیکی هفت بند

پس از جمع آوری گیاه هفت بند از مراتع شهرستان کیان در توابع استان چهارمحال و بختیاری و تایید توسط کارشناس، این گیاه دور از نور خورشید و در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد خشک و سپس با آسیاب آزمایشگاهی (مدل مولینکس، ساخت کشور ایتالیا) خرد گردید. بمنظور عصاره‌گیری از حلال اتانول ۷۰ درصد استفاده شد (۴ لیتر اتانول برای ۱۰۰۰ گرم گیاه هفت بند) و نمونه به مدت ۷۲ ساعت در آون ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. در مرحله بعد، دبریدها و اجزاء حل نشده گیاه با استفاده از کاغذ صافی واتمن جدا شد و حلال نیز با استفاده از دستگاه روتاری (استریک، ایتالیا)

طی مدت ۳ ساعت از عصاره جدا گردید. عصاره گیری در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد و تحت شرایط خلاء صورت گرفت. در نهایت، از عصاره جمع آوری شده در بالن اصلی رقت های ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی گرم در لیتر تهیه شد. رقت های تهیه شده تا زمان استفاده در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شدند.

نمونه گیری منی و ارزیابی اسپرم

پس از کالبدگشایی خروس‌ها و باز کردن ناحیه کلواک، نمونه منی از مخازن جمع آوری اسپرم که در انتهای بدن و نزدیک کلواک قرار گرفته است اخذ گردید. مایع جمع آوری شده داخل میکروتیوپ ریخته شد و ظرف مدت ۱۵ دقیقه دور از نور و در دمای ۳۷-۲۴ درجه سانتی‌گراد به آزمایشگاه آندروولوژی مرکز تشخیص ناباروری ارسال گردید. بمنظور جلوگیری از هرگونه پیش داری و تبعیض بین گروه‌ها بلافاصله پس از اخذ نمونه، نام گروه تحت مطالعه از روی میکروتیوپ‌ها برداشته و یک کد اختصاصی به آنها تعلق گرفت. سپس میکروتیوپ‌ها بمنظور تکمیل روند مایع (همگن) شدن به مدت ۵ دقیقه در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. پس از اتمام روند همگن شدن، تمامی نمونه‌های دریافت شده مورد ارزیابی ماکروسکوپی و میکروسکوپی قرار گرفتند.

در ارزیابی ماکروسکوپی، ابتدا رنگ، بو و ویسکوزیته نمونه توسط دو کارشناس باتجربه آندروولوژی ثبت گردید. سپس حجم کلی نمونه منی با استفاده از پیپت سرولوژی با درجه بندی ۰/۱ ml و PH آن با استفاده از استریپ‌های استاندارد تعیین و مشخص گردید.

در ارزیابی میکروسکوپی، حرکت دسته جمعی (توده‌ای) اسپرم‌ها با استفاده از روش قطره‌گذاری روی لام، حرکت انفرادی اسپرم‌ها با استفاده از مشاهده مستقیم

اسپرم‌ها زیر میکروسکوپ فاز کتر است. در نهایت تمامی پارامترهای تخصصی باروری اسپرم با استفاده از دستگاه Sperm analyzer SQA-V gold (Version 2/48) مورد بررسی و ارزیابی قرار گرفت. پارامترهای تخصصی باروری اسپرم که در این تحقیق مورد ارزیابی قرار گرفتند شامل درصد اسپرم‌های با حرکات پیشرونده سریع (PMSCa)، درصد اسپرم‌های با حرکات پیشرونده آهسته (PMSCb)، درصد اسپرم‌های با حرکات غیرطبیعی (Ab. Motility)، شاخص تخصصی تحرک اسپرم (SMI)، درصد اسپرم‌های متحرک در حجم یک میلی‌لیتر (MSC)، اسپرم‌های فعال از نظر عملکردی (FSC) بودند. بمنظور تشخیص دقیق ناهنجاری های سر، قطعه میانی و دم اسپرم از رنگ آمیزی پاپانیکولا نیز استفاده شد. لازم به ذکر است در صورت آلوده بودن نمونه منی با خون و یا هرگونه مواد مداخله گر دیگر، نمونه ۲-۳ بار با محیط Sperm wash شستشو داده شد و با دستگاه اسپرم فیوژ سانترفیوژ گردید.

آنالیز آماری:

داده‌ها با نرم‌افزار آماری Sigma Plote 2.0 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. داده‌های کمی با برنامه آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه داده‌ها (One away ANOVA) آنالیز شد و در صورت وجود اختلاف آماری بین میانگین داده‌ها در گروه‌های مختلف، میزان اختلاف با روش Tukey بیان شد. سطح اختلاف معنی دار کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج

میانگین حجم منی جمع‌آوری شده از ۳۶ خروس تحت مطالعه $11/5 \pm 380$ میکرولیتر ($0/115 \pm 0/38$ میلی لیتر) بود. رنگ منی در تمامی میکروتیوپ‌ها سفید شیری و PH آنها $0/3 \pm 6/8$ اندازه گیری شد. تمامی

میلی گرم مشاهده شد ($P \leq 0.05$, جدول ۱). با افزایش معنی دار تعداد اسپرمهای با حرکات پیشرونده سریع در گروه‌های دریافت کننده دزهای بالای عصاره، درصد اسپرمهای با حرکات پیشرونده آهسته در این گروه‌ها کاهش معنی داری می‌یابد ($P \leq 0.05$).

کمترین میزان PMSCb در گروه دریافت کننده دز بالا و متوسط عصاره هفت بند مشاهده گردید ($2/3 \pm 9/4\%$ و $2/5 \pm 35/57\%$ ؛ $P > 0.05$). افزودن غلظت‌های بالای عصاره هفت بند به آب آشامیدنی موجب کاهش معنی دار تعداد اسپرمهای با حرکات غیرطبیعی (حرکات لرزشی یا حرکات رو به عقب) شد ($P \leq 0.05$). بیشترین میزان حرکات لرزشی و غیرطبیعی اسپرمها در گروه کنترل و سپس در گروه دریافت کننده ۵۰۰ میلی گرم عصاره مشاهده شد ($0/4 \pm 15/6\%$ و $3/21 \pm 13/48\%$ ؛ جدول ۱). افزودن عصاره گیاه هفت بند با غلظت‌های ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی گرم در لیتر موجب افزایش معنی دار تمامی شاخص‌های تخصصی باروری نظیر SMI، FSC و MSC گردید ($P \leq 0.05$). در گروه دریافت کننده غلظت پایین عصاره هفت بند (۵۰۰ میلی گرم) بهبود معنی داری در شاخص‌های تخصصی باروری اسپرم مشاهده نشد. تفاوت معنی داری در شاخص‌های SMI، FSC و MSC بین گروه کنترل و گروه دریافت کننده ۵۰۰ میلی گرم عصاره مشاهده نشد ($P > 0.05$ ، جدول ۱).

نمونه‌های مورد بررسی فاقد خون، دبرید و آلاینده‌های دیگر بود و حرکت دسته جمعی (ماکروسکوپی) اسپرمها نیز بسیار خوب (+) مشاهده شد. قبل از شروع درمان، تمامی شاخص‌های مورد مطالعه اسپرم در جدول ۱ نشان داده شده است. قبل از شروع درمان، تقریباً $15/6\%$ از اسپرمها دارای حرکات غیرطبیعی (لرزشی یا رو به عقب) بودند و حرکات پیشرونده سریع تنها در $30/66\%$ از اسپرمها مشاهده شد. شاخص‌های SMI، MSC و FSC در نمونه‌های اولیه قبل از شروع درمان به ترتیب $0/5 \pm 38/33\%$ ، $0/2 \pm 21/01\%$ و $0/65 \pm 3/2$ بود.

تغییر شاخص‌های تخصصی باروری اسپرم بدنبال استفاده از غلظت‌های مختلف عصاره هفت بند

تغییرات صورت گرفته در شاخص‌های تخصصی باروری اسپرم و تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره هفت بند بر آنها در جدول ۱ نشان داده شده است. استفاده از عصاره هفت بند موجب افزایش معنی دار تعداد اسپرمهای با حرکات پیشرونده می‌گردد. بیشترین میزان PMSCa در گروه‌های دریافت کننده دزهای متوسط و بالای عصاره (۱۰۰۰ میلی گرم و ۲۰۰۰ میلی گرم) مشاهده شد ($1/1 \pm 54/3\%$ و $1/2 \pm 87/06\%$ ؛ $P \leq 0.05$). این در حالی است که تفاوت آماری معنی داری در حرکات پیشرونده سریع اسپرم بین دزهای ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰

جدول ۱: تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره هفت بند بر شاخص‌های تخصصی باروری اسپرم

| گروه | PMSCa (میانگین ± انحراف معیار) | PMSCb (میانگین ± انحراف معیار) | Ab. Motility (میانگین ± انحراف معیار) | SMI (میانگین ± انحراف معیار) | MSC (میانگین ± انحراف معیار) | FSC (میانگین ± انحراف معیار) |
|---------------|--------------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|
| ۵۰۰ میلی گرم | $41/5 \pm 48/6^a$ | $5/145 \pm 1/5^a$ | $13/3 \pm 48/3^a$ | $46/3 \pm 5/2^a$ | $28/4 \pm 2/8^a$ | $5/96 \pm 0/7^a$ |
| ۱۰۰۰ میلی گرم | $54/3 \pm 1/1^b$ | $57/35 \pm 2/5^b$ | $2/14 \pm 0/6^b$ | $83/2 \pm 35/4^b$ | $66/2 \pm 53/9^b$ | $10/66 \pm 2/1^b$ |
| ۲۰۰۰ میلی گرم | $86/06 \pm 1/2^c$ | $4/9 \pm 2/3^c$ | $3/5 \pm 0/4^b$ | $95/4 \pm 1/8^c$ | $69/1 \pm 4/3^b$ | $15/33 \pm 1/6^c$ |
| کنترل | $36/5 \pm 66/5^a$ | $40/2 \pm 77/1^a$ | $15/6 \pm 0/4^a$ | $33/1 \pm 33/5^d$ | $21/7 \pm 71/0^c$ | $1/20 \pm 0/6^d$ |

• بالانویس‌های مختلف در هر ستون نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار آماری در بین گروه‌ها می‌باشد ($P < 0.05$).

بحث

یکی از فاکتورهای مهم که سن باروری، کیفیت منی و پتانسیل تولیدمثلی خروس‌ها را تحت تاثیر قرار می‌دهد تغذیه آنها می باشد. بنظر می‌رسد که استفاده از آنتی اکسیدان‌های طبیعی یا مصنوعی در جیره غذایی بتواند میزان استرس اکسیداتیو در اسپرم را کاهش داده و موجب بهبود کیفیت منی و افزایش قدرت باروری اسپرم گردد. شکل گیری استرس اکسیداتیو در اسپرم منجر به پروکسیداسیون لیپیدی غشای سیتوپلاسمی اسپرم، آسیب غشای آکروزومی، اکسیداسیون و شکست DNA و در نهایت ناهنجاری‌های کروموزومی در اسپرم می‌گردد (۱۶). از طرف دیگر، افزایش میزان استرس اکسیداتیو با کاهش تولید تستوسترون، دژنره شدن سلولهای سرتولی و از هم گسستن سد خونی-بیضه‌ای موجب اختلال در روند اسپرمیوژنز شده و در نهایت منجر به کاهش تعداد اسپرمهای اپیدیدیمی و باروری می‌گردد (۶، ۹ و ۱۸). بنابراین، به منظور کاهش استرس اکسیداتیو، بهبود روند اسپرماتوژنز و افزایش پتانسیل باروری اسپرم، استفاده از ترکیبات حاوی آنتی اکسیدان - های طبیعی یا مصنوعی ضروری به نظر می‌رسد.

داروهای گیاهی با خاصیت آنتی اکسیدانی نظیر هفت بند با برداشتن رادیکال‌های آزاد واسطه‌ای موجب خاتمه یافتن واکنش های زنجیره اکسیداسیون شده و در نهایت منجر به بهبود شاخص‌های تخصصی باروری اسپرم، افزایش پتانسیل باروری و نطفه داری در خروس می‌گردد (۱۲، ۱۳ و ۱۹). در این تحقیق تاثیر عصاره هفت بند بر شاخص‌های تخصصی باروری اسپرم (SMI, FSC, Ab. Motility, PMSCa, PMSCb, MSC) خروس‌های بالغ نژاد بومی گلپایگانی مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت. نتایج بررسی حاضر نشان داده است که استفاده از دز پایین عصاره هفت بند (۵۰۰ میلی گرم)

روند اسپرماتوژنز درون مجاری سمینی فروس با قطر تقریبی $2/8 \pm 96/7$ میکرومتر و در طی سه مرحله متوالی (اسپرماتوسیتوژنز، اسپرمیوژنز و اسپرمیشن) رخ می‌دهد. طول دوره اسپرماتوژنز در پرندگان بسیار کوتاهتر از پستانداران بوده و تقریباً ۲۵ روز می باشد. در طی این روند، سلولهای بنیادی اسپرماتوگونی تکثیر یافته و به سلولهای اختصاصی تر (اسپرماتوسیت اولیه و سپس اسپرماتوسیت ثانویه) تمایز می‌یابند. در هفته‌های ششم و دهم از روند تکامل به ترتیب سلولهای اسپرماتوسیت اولیه و سلولهای اسپرماتوسیت ثانویه در اپی تلیوم مجاری سمینی فروس تظاهر یافته و شروع به تکثیر می‌کنند. رشد بیضه‌ها بعد از هفته پانزدهم تسریع می‌گردد، به طوری که وزن هر یک از آنها در هفته بیست و سوم به تقریباً ۱۲ تا ۲۲ گرم می‌رسد.

در این زمان، تقریباً تمامی مجاری سمینی فروس حاوی سلولهای اسپرماتوسیت ثانویه بوده و روند تمایز آنها به سلولهای اسپرماتید و در نهایت اسپرم بالغ تکمیل می‌گردد. بیشترین وزن بیضه و بالاترین میزان باروری در خروس در سن ۳۰-۲۸ هفتگی حاصل می‌شود. وزن بیضه‌ها، حجم منی و قدرت باروری معمولاً پس از سن ۳۵ هفتگی کاهش معنی داری می‌یابد.

در گله‌های مادر گوستی، بیش‌ترین سطح باروری در خروس‌ها (بیش از ۹۵٪) در آغاز دوره تولید مثلی (سن ۴۰-۳۰ هفتگی) حاصل می‌شود. میزان باروری پس از ۴۵-۴۰ هفتگی بسیار کاهش یافته و در ۷۰-۶۵ هفتگی به پایین‌ترین سطح خود می‌رسد. در این سن، معمولاً خروس‌ها از گله حذف و با خروس‌های بارور جوان جایگزین می‌گردند (۸، ۱۶ و ۱۷).

روی اثرات محافظ هفت بند در برابر اثرات مضر میدان مغناطیسی در بیضه موش بزرگ نر و نتیجه آن اثرات مخرب بر مورفولوژی و ناباروری نرها دارد و عصاره هفت بند اثرات مضر میدان مغناطیسی را کاهش می‌دهد(۱).

در ارتباط با اثر هفت بند بر فعالیت‌های بیولوژیک اسپرم و دستگاه تناسلی در پرندگان تاکنون هیچ مطالعه‌ای صورت نگرفته است و بطور کلی مطالعات اندکی در خصوص ترکیبات تقویت کننده اسپرم و اسپرماتوزنز در پرندگان وجود دارد.

طبق اطلاعات موجود تنها یک گزارش از اثر ال کارنتین بر شاخص‌های باروری در خروس وجود دارد که در این مطالعه اضافه‌سازی ال-کارنتین به جیره غذایی باعث افزایش کیفیت اسپرم و میزان جوجه درآوری گردیده است(۱۵).

باروری اسپرم به پارامترهای مختلفی همچون تعداد و تحرک اسپرم بستگی دارد و بنا بر تحقیقات صورت گرفته این پارامترها تا حد قابل توجهی در برابر رادیکال‌های آزاد آسیب پذیرند (۲). بنابراین استفاده از یک آنتی‌اکسیدان با منشا گیاهی که بتواند بدون ایجاد آثار تخریبی جانبی مانند داروهای تجاری تاثیرات تقویت کننده‌ای داشته باشد ضروری است از جمله این گیاهان هفت بند می‌باشد(۵). نتایج نشان می‌دهد که هفت بند منجر به کاهش آثار نامطلوب استرس ناشی از سن بر پارامترهای اسپرمی می‌شود. مطالعات انجام شده تا به امروز از اثرات گیاهان مختلف بر اسپرم مشخص شده است هرچند که در مورد هفت بند گزارشات معدودی وجود دارد. به طور کلی افزایش رادیکال‌های آزاد در مایع منی باعث کاهش حرکات اسپرم و از بین رفتن اسپرم می‌گردند اما آنتی‌اکسیدان‌های موجود در گیاه

تأثیر مثبت و افزایشی بر برخی پارامترهای باروری اسپرم جمعیت اسپرم‌های با حرکات غیرطبیعی و شاخص‌های SMI، MSC و FSC ندارد. این در حالی است که با افزایش غلظت عصاره در آب آشامیدنی (۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم) تمامی شاخص‌های تخصصی باروری اسپرم افزایش می‌یابد.

باتوجه به اینکه مطالعات بسیار کم از این گیاه صورت گرفته با این حال در تایید نتایج مطالعه حاضر، پلین در قرن ۱۸ اعلام داشت مصرف شیره هفت بند از راه بینی باعث بند آمدن خون در موارد خون‌ریزی از بینی می‌گردد (۳). در سال ۱۸۴۰ مورد توجه بسیاری از دانشمندان قرار گرفت و به عنوان یک داروی قابض با اثر قطعی و تدریجاً برای رفع بیماری دیابت بکار می‌رود. Dr leclerc. به این نتیجه رسید با مصرف هفت بند به دلیل تانن فعال مقدار درصد قند در ادرار بیماران مبتلا به دیابت کاهش حاصل شد.

Dr.steinberg در سال ۱۹۳۹ گیاه هفت بند را بخاطر حالت گلیکوزیدی یک ماده بند آورنده خون معرفی کرد(۳). در تحقیقی که در سال ۲۰۰۶ صورت گرفت نشان داد گیاه هفت بند به دلیل داشتن ترکیبات فنولیک، فلاونوئیدها، اسیدهای فنولیک دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی زیادی است(۳). در خصوص اثرات هفت بند بر شاخص‌های تولیدمثلی تاکنون مطالعات اندکی صورت گرفته است. در بررسی قنبری و همکاران در سال ۱۳۹۰ اثر عصاره هفت بند بر آثار تخریبی میدان مغناطیسی بر مورفولوژی و تحرک اسپرم در موش بررسی شده است که در این تحقیق بیان گردیده، عصاره هفت بند می‌تواند مانع از اثرات تخریبی میدان مغناطیسی بر شکل و حرکت اسپرم در موش شود (۴). انصاری و همکاران در سال ۱۳۹۳ با مطالعه بر

سطح هورمونهای گنادوتروپینی (LH, FSH) و هورمون-های جنسی نظیر تستوسترون و غیره موجب بهبود کیفیت منی و افزایش پتانسیل باروری اسپرم می‌گردد. ویژگی آنتی اکسیدانی و آندروژنی هفت بند موجب شکل‌گیری اسپرمهایی با ساختار مورفولوژی (سر، قطعه میانی و دم) سالم‌تر و کروماتین یکپارچه و منسجم‌تر می‌گردد.

میزان شکست DNA و آسیب ژنوم میتوکندریایی در این سلولها در حداقل میزان خود بوده و دارای بیشترین تحرک پیشرونده، بالاترین قابلیت زنده ماندن و بهترین پتانسیل بارورسازی می‌باشند.

بنابراین، استفاده از هفت بند در رژیم غذایی یا آب آشامیدنی تمامی موجودات زنده بویژه انسان و یا حیوانات دارای قدرت باروری پایین توصیه می‌گردد. استفاده از عصاره این گیاه بویژه در غلظت‌های ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی گرم موجب بهبود معنی دار در افزایش تمامی شاخص‌های تخصصی باروری اسپرم خروس می‌گردد.

هفت بند مانع از تولید این رادیکالها می‌گردند یا آنها را خنثی می‌سازند(۵). با توجه به آنکه هفت بند دارای ترکیبات فنولیک و فلاونوئید زیادی است از طریق واکنش با گلوکاتیون پروکسیداز عملکرد آنتی اکسیدانی خود را انجام می‌دهد(۵). هال (hall) و همکاران در سال ۱۹۹۸ نشان دادند که وجود گلوکاتیون پراکسیداز در گیاه هفت بند باعث افزایش تعداد و تحرک اسپرم می‌شود(۱۱). تاکنون مطالعات زیادی با استفاده از عصاره گیاهان بر پارامترهای اسپرم انجام گردیده که پس از استفاده از عصاره گیاهان دارای آنتی اکسیدانی بهبود پارامترهای اسپرمی مشاهده گردید(۵). با توجه به نتایج مطالعه حاضر و نیز تحقیقات مشابه صورت گرفته در سایر گونه‌ها، بنظر می‌رسد که گیاه دارویی هفت بند علاوه بر دارا بودن خاصیت آنتی اکسیدانی قوی (بدلیل وجود ترکیبات فنولی فعال و ترپن‌ها در ساختار شیمیایی خود) دارای فعالیت آندروژنی نیز می‌باشد. این گیاه دارویی با ایجاد اختلال در روند تولید رادیکال‌های آزاد، منحل نمودن واکنش‌های زنجیره ای اکسیداسیون، کاهش استرس اکسیداتیو، تغییر در

References

1. انصاری س.، بروکی پ.، دل آزار الف.، محمدی الف.، محمدنژاد د.، مرتضوی م. (۱۳۹۳). بررسی اثرات محافظ عصاره هفت بند در برابر اثرات مضر EMF یا میدان مغناطیسی در بافت بیضه موش بزرگ نر. علوم دارویی، ۱۹(۴): ۱۳۹-۱۴۴.
2. حسینی الف.، زارع س.، قادری ف.، احمدی الف. (۱۳۹۲). بررسی تاثیر عصاره کالیگونوم بر پارامترهای اسپرم و میزان مرگ سلولی برنامه ریزی شده در بافت بیضه موش مسن. گروه علوم تشریح، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ۱(۱۶): ۵۴-۴۱.
3. زرگری ع. (۱۳۷۶). گیاهان دارویی. جلد چهارم، انتشارات دانشگاه تهران، ۲۵۴-۲۶۴.
4. قنبری الف.، گلدوست م.، محمدی الف.، میلان پ.، نصرآبادی چ.، رودکنار م.، سلیمانی راد ج. (۱۳۹۰). اثر عصاره هفت بند بر پارامترهای اسپرم پس از قرار گرفتن در معرض میدان مغناطیسی. مجله علوم زیستی پاکستان، ۱۴(۱۳): ۷۲۱-۷۲۴.
5. Alvarez JG, Touchstone JC, Blasco L, Storey BT. Spontaneous lipid peroxidation and production of hydrogen peroxide and superoxide in human spermatozoa. Superoxide dismutase as major enzyme protectant against oxygen toxicity. *J Androl* 1987; 8(5): 338-48.
6. EL-Shahat, A.E., Gabr, A., Meki, A.R., Mehana, E.S. (2009): Altered testicular morphology and oxidative stress induced by cadmium in experimental rats and protective effect of simultaneous green tea extract. *Int. J. Morphol.* 27(3): 757-64.
7. Hosseini, J., Mardi Mamaghani, A., Hosseinifar, H., Sadighi Gilani, M.A., Dadkhah, F., Sepidarkish, M. (2016): The influence of ginger (*Zingiber officinale*) on human sperm quality and DNA fragmentation: A double-blind randomized clinical trial. *Int. J. Reprod. Biomed. (Yazd)*. 14(8): 533-540.
8. Jones, D.R., Johansen, K. (1972): The blood vascular system of birds. In: *Avian Biology*, 2nd edition (eds. Farner DS, King JE). Academic Press: New York; 157-285.
9. Jorsaraei, S.G.A., Yousefnia Pasha, Y.R., Zainalzadeh, M., Moghadamnia, A.A., Beiky, A.A., Rayati Damavandi, M. (2008): The effects of methanolic extracts of Ginger (*Zingiber officinale*) on human sperm parameters; An in vitro study. *Pak. J. Biol. Sci.* 11: 1723-1727.
10. Khaki, A., Fathiazad, F., Nouri, M., Khaki, A.A., Ozanci, C.C., Ghafari-Novin, M., Hamadeh, M. (2009): The effects of Ginger on spermatogenesis and sperm parameters of rat. *Iranian J. Reprod. Med.* 7(1): 7-12.
11. Hall L, Williams K, Perry AC, Frayne J, Jury JA. The majority of human glutathione peroxidase type 5 (GPX5) transcripts are incorrectly spliced: implications for the role of GPX5 in the male reproductive tract. *Biochem J* 1998; 333 (Pt 1): 5-9.
12. Khaki, A., Khaki, A.A., Hajhosseini, L., Sadeghpour Golzar, F., Ainehchi, N. (2014): The Anti-Oxidant Effects of Ginger and Cinnamon on Spermatogenesis Dysfunction of Diabetes Rats. *Afr. J. Tradit. Complement Altern. Med.* 11(4): 1-8.
13. Kubra, I.R., Jaganmohanrao, L. (2012): An overview on inventions related to ginger processing and products for food and pharmaceutical applications. *Recent Pat. Food Nutr. Agric.* 4(1): 31-49.
14. Mares, A.K., Abid, W., Najam, W.S. (2010): The effect of Ginger on semen parameters and serum FSH, LH & testosterone of infertile men. *Tikrit. Med. J.* 18: 322-324.
15. Palmero, S., Leone, M., Costa, M., Messeni, M. and Fugassa, M. (1990) The

effect of l-acetylcarnitine on semen reproductive functions in the oligoasthenospermic rat. *Hormone Metabolism Res.* 22: 622-630.

16. Razi, M., Hassanzadeh, S.H., Najafi, G.R., Feyzi, S., Amin, M., Moshtagion, M., Janbaz, H., Amin, M. (2010): Histological and anatomical study of the White Rooster of testis, epididymis and ductus deferens. *Int. J. Vet. Res.* 4: 229-236.

17. Rothwell, B. (1973): The ultrastructure of Leydig cell in the testis of the domestic fowl. *J. Anat.* 116: 245-253.

18. Sakr, S.A., Badawy, G.M. (2011): Effect of ginger (*Zingiber officinale* R.) on

metiram-inhibited spermatogenesis and induced apoptosis in albino mice. *J. Appl. Pharm. Sci.* 4: 131-136.

19. Shokri Mashhadi, N., Ghiasvand, R., Askari, G., Hariri, M., Darvishi, L., Mofid, M.R. (2013): Anti-Oxidative and Anti-Inflammatory Effects of Ginger in Health and Physical Activity: Review of Current Evidence. *Int. J. Prev. Med.* 4(1): 36-42.

20. Shukla, Y., Prasad, S., Tripathi, C., Singh, M., George, J., Kalra, N. (2007): In vitro and in vivo modulation of testosterone mediated alterations in apoptosis related proteins by [6]-gingerol. *Mul. Nutr. Food Res.* 51(12): 1492-502.