Downloaded from journal.bums.ac.ir at 0:05 IRDT on Monday July 23rd 2018

Effects of Tail fat enriched diet on male Wistar rat reproductive system

Samira Ezi[1], Mehran Hosseini[2], Mahsa Hassanzadeh-Taheri[3], Farnaz Jahani[3], Mohammad Afshar[4], Mohammad Mehdi Hassanzadeh-Taheri[5],

Background and Aim: Male infertility is increasing worldwide. There is now emerging evidence that nutritional status is regarded as a critical determinant of normal reproductive function. Hence, today, the role of dietary nutrition has attracted the attention of researchers. Thus, the present study was conducted to elucidate the effects of tail fat (TF) enriched diet on male rat reproductive function.

Materials and Methods: In this experimental study, 30 adult male Wistar rats were randomly allocated into three equal groups and were fed with either standard diet (control) or standard diet enriched with 10 % of TF oil or standard diet enriched with 20% TF for 5 consecutive months. Finally, the rats were euthanized, the weights of their bodies, and their testes were measured. Then, the testes were dissected and the sections were stained with Hematoxylin-Eosin for quantitative histopathological examination. Besides, blood samples were collected for testosterone (T) assessment.

Results: Compared to the control group, the rats fed with a diet enriched with 20% TF had significantly *($P \leq 0.05$)* more body weight, while, their testes weight significantly *($P \leq 0.0001$)* decreased. Also, histological changes showed that TF, in a dose dependence manner, significantly decreased germinal layer, seminiferous area, and spermatogonia number in the rats' testes. There was no significant difference in T concentration between the groups.

Conclusion: It was clearly found that excessive and long term intake of TF can be causative of hypogonadism and increase infertility in male rats.

Key Words: Male infertility, Testis, Hypogonadism, Animal fat, Rat.

Journal of Birjand University of Medical Sciences. 2016; 23 (1): 1-10.

Received: February 20, 2016 ***Accepted: April 23, 2016***

1 Department of Anatomical Sciences, Faculty of Medicine, Birjand University of Medical Sciences, Birjand , Iran
2 Department of Public Health, Research Centre of Experimental Medicine, Deputy of Research and Technology, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran.
3 Student Research Committee, Faculty of Medicine, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran.
4 Department of Anatomical Sciences, Faculty of Medicine, Birjand University of Medical Sciences, Birjand , Iran.
*5**Corresponding Author;** Department of Anatomical Sciences, Faculty of Medicine, Birjand University of Medical Sciences, Birjand , Iran. mmhtahery35@gmail.com. Tell: +985632395374, Fax: +985632433001*

Downloaded from journal.bums.ac.ir at 0:05 IRDT on Monday July 23rd 2018

مقاله اصیل پژوهشی

اثرات مصرف رژیم غذایی حاوی روغن دنبه بر سیستم تولید مثلی موش صحرایی نر

سمیرا ایزی[1]، مهران حسینی[2]، مهسا حسن‌زاده طاهری[3]، فرناز جهانی[3]، محمد افشار[4]، محمدمهدی حسن‌زاده طاهری[5]

چکیده

زمینه و هدف: آمار جهانی ناباروری در مردان در حال افزایش است. یافته‌های اخیر نشان می‌دهد که وضعیت تغذیه‌ای، تعیین‌کننده عملکرد طبیعی سیستم تولید مثل می‌باشد؛ از این رو توجه دانشمندان به نقش مواد مغذی خوراکی جلب شده است. مطالعه حاضر به‌منظور ارزیابی اثرات مصرف رژیم غذایی حاوی روغن دنبه بر عملکرد تولید مثلی موش‌های صحرایی نر طراحی و اجرا گردید.

روش تحقیق: در این مطالعه تجربی، 30 سر رت نر بالغ نژاد ویستار به‌طور تصادفی به سه گروه مساوی تقسیم شدند. گروه‌ها به‌ترتیب با غذای استاندارد حیوانات آزمایشگاهی (کنترل)؛ غذای استاندارد حاوی 10درصد روغن دنبه و غذای استاندارد حاوی 20درصد روغن دنبه، به‌مدت 5 ماه متوالی تغذیه شدند. پس از 5 ماه، حیوانات مورد آسان‌کشی قرار گرفتند و وزن بدن و وزن بیضه آنها تعیین گردید. نمونه بیضه برای مطالعه بافت‌شناسی تهیه و مقاطع با روش هماتوکسیلین و ائوزین رنگ‌آمیزی شدند و مورد آنالیز کمّی قرار گرفتند. نمونه خون موش‌ها برای تعیین غلظت پلاسمایی هورمون تستوسترون استحصال گردید.

یافته‌ها: در مقایسه با گروه کنترل، موش‌های دریافت‌کننده رژیم حاوی 20 درصد روغن دنبه به‌طور معنی‌داری دارای وزن بدن بیشتر و وزن بیضه کمتر بودند. همچنین تغییرات بافتی نشان داد که روغن دنبه به صورت وابسته به دوز، سبب کاهش معنی‌دار در تعداد اسپرماتوگونی‌ها، ضخامت لایه زایشی و مساحت لوله‌های اسپرم‌ساز شد. غلظت تستوسترون در بین گروه‌ها اختلاف معنی‌داری را نشان نداد.

نتیجه‌گیری: مصرف طولانی‌مدت و زیاد روغن دنبه می‌تواند سبب ایجاد هیپوگنادیسم و افزایش احتمال ناباروری در موش صحرایی نر گردد.

واژه‌های کلیدی: ناباروری مردان، بیضه، هیپوگنادیسم، روغن حیوانی، رت

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند. 1395؛ دوره 23 (1): 1-10.

دریافت: 1394/12/01 **پذیرش: 1395/02/04**

[1] گروه علوم تشریح، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران؛

[2] مرکز تحقیقات طب تجربی،معاونت تحقیقات و فناوری، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران؛

[3] عضو کمیته تحقیقات دانشجویی دانشجوی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران؛

[4] گروه علوم تشریح، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران؛

[5] نویسنده مسؤول؛ گروه علوم تشریح، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران

آدرس: استان خراسان جنوبی- بیرجند- خیابان غفاری- دانشگاه علوم پزشکی بیرجند- گروه علوم تشریح.

تلفن: 985632395374+ نمابر: 985632433001+ پست الکترونیکی: mmhtahery35@gmail.com

Downloaded from journal.bums.ac.ir at 0:05 IRDT on Monday July 23rd 2018

مقدمه

همزمان با افزایش آمار جهانی ناباروری در مردان، در سه دهه اخیر بروز چاقی در بین مردان واقع در سنین باروری نیز حدود سه برابر افزایش داشته است (1). دانشمندان با انجام مطالعات مختلف، بین افزایش چاقی و کاهش باروری در جنس مذکر وجود ارتباطاتی را گزارش کرده‌اند (2). مطالعات اخیر شواهدی را فراهم ساخته‌اند که نشان می‌دهند اثرات بد چاقی بر سیستم تولیدمثلی جنس مذکر تنها محدود به کاهش کیفیت اسپرم‌ها نمی‌شود، بلکه چاقی می‌تواند با ایجاد آسیب‌هایی در سطح مولکولی و بر سطح سلول‌های زایای بیضه، سبب اختلال در تولید، بلوغ و عملکرد اسپرم‌ها گردد (3). نکته جالب پژوهش‌های اخیر این است که چاقی و رژیم غذایی والد نر می‌تواند با بروز بیماری‌های متابولیک و نقایص عملکرد جنسی در فرزندان (نر و یا ماده) نیز ارتباط داشته باشد. یافته‌های اخیر دانشمندان (5-3 سال گذشته) نیز به این مطلب دامن زده است که رژیم غذایی و چاقی در جنس مذکر می‌تواند با ایجاد مکانیسم‌های اپی‌ژنتیک، ساختارهای مولکولی سلول‌های جنسی را دچار تغییر نماید (4). این یافته‌ها سبب شده است که نقش اثرگذار سلامت مردان بر سیمای سلامتی و بیماری نسل آینده، پر رنگ‌تر از گذشته مطرح شود. از این رو امروزه انجام مطالعات در حیطه بررسی اثرات رژیم‌های غذایی بر عملکرد تولید مثلی جنس مذکر افزایش یافته است.

در حال حاضر تخمین زده می‌شود 80-60 میلیون زوج در سراسر دنیا از ناباروری رنج می‌برند (5). شیوع ناباروری در ایران در مناطق مختلف متفاوت است؛ با این حال میانگین کل ناباروری در ایران 10/9% گزارش شده است (6). بررسی‌ها نشان می‌دهند در طول 50 سال گذشته، غلظت اسپرمی مایع انزالی تا حدود 40درصد کاهش یافته است (7). عوامل متعددی در کاهش توان باروری مردان نقش دارند که از آن بین می‌توان به موارد مهمی نظیر: ناهنجاری‌های مادرزادی دستگاه ادرای- تناسلی، بیماری‌های عفونی، واریکوسل، اختلالات اندوکرینی، اختلالات ژنتیکی و عوامل ایمونولوژیکی اشاره داشت (8). با این حال در 70-60 درصد موارد ناباروری در مردان، نمی‌توان علت مشخصی را پیدا کرد (9).

بررسی منابع علمی نشان می‌دهند که عادات غذایی به‌عنوان شاخصه اصلی سبک زندگی، می‌تواند اثر قابل توجهی بر سیستم باروری در جنس مذکر داشته باشد (10، 11). گسترش مصرف مواد غذایی حاوی اسیدهای چرب اشباع و اسیدهای چرب غیراشباع ترانس و همچنین کاهش مصرف مواد غذایی حاوی آنتی‌اکسیدان‌ها و اسیدهای چرب ضروری مانند: میوه‌ها، سبزیجات و غذاهای دریایی، می‌توانند اثرات زیانباری بر باروری مردان داشته باشند (5). تاکنون مطالعات زیادی در خصوص اثرات روغن‌های خوراکی مختلف بر سیستم باروی انسان انجام شده است. به‌عنوان مثال، عمده تحقیقات نشان می‌دهند که مصرف روغن‌های حاوی اسیدهای چرب اشباع، اثرات زیانباری بر باروری در هر دو جنس مرد و زن دارند (12، 13). تاکنون بررسی اثرات روغن‌های خوراکی چون: زیتون، کنجد، پنبه‌دانه، چربی خوک و ... بر سیستم باروری چه در مدل‌های حیوانی و چه در تحقیقات انسانی انجام شده است (14-17).

روغن دنبه، از دسته روغن‌های حیوانی است و خاص کشورهای منطقه خاورمیانه و آفریقا می‌باشد. بر اساس آمار، هر ساله در کشور ایران حدود 50000 تن دنبه تولید و به مصرف خوراکی می‌رسد (18). با این حال در بررسی‌های پژوهشگران این مطالعه، مطالعه‌ای که اثرات این روغن را بر بیماری‌های متابولیک و یا اختلالات باروری مورد پژوهش قرار داده باشد، یافت نشد. از طرفی با رشد توصیه‌های طب سنتی در سال‌های اخیر، تناقضاتی در مضر بودن یا سودمندی این روغن به‌وجود آمده است که ضرورت انجام تحقیقات بیشتر بر روی این روغن خوراکی را ایجاب می‌کند. بنابراین با توجه به فقدان مطالعات انجام‌شده بر روی روغن دنبه، این پژوهش به‌منظور بررسی اثرات مصرف بلند مدّت این چربی

Downloaded from journal.bums.ac.ir at 0:05 IRDT on Monday July 23rd 2018

بر روی عملکرد جنسی موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار، طراحی و اجرا گردید.

روش تحقیق

در این پژوهش تجربی، از رت‌های نر نژاد ویستار با دامنه‌ی وزنی 250-200 گرم (سن 6 هفته) استفاده شد. حیوانات به‌مدّت یک‌هفته بدون انجام مداخله برای تطابق با شرایط محیط نگهداری (دمای 25-21 درجه سانتی‌گراد و سیکل نور/روشنایی 12 ساعته)، درون قفس‌های استاندارد از جنس پلی‌اتیلن در محل آزمایشگاه حیوانات مرکز تحقیقات طب تجربی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند نگهداری گردیدند. در طول اجرای طرح، رت‌ها دسترسی آزاد به غذای استاندارد حیوانات آزمایشگاهی (شرکت جوانه خراسان- مشهد) و آب شهری سالم داشتند.

روغن دنبه پس از تهیه دنبه تازه به روش معمول استحصال گردید. به‌طور خلاصه پس از چرخ‌کردن دنبه، آن را تحت حرارت ملایم قرار داده تا به‌طور تدریجی از حالت جامد به مایع تبدیل شود؛ سپس قسمت مایع آن به کمک صافی از رسوبات آن جدا گردیده و مورد استفاده قرار گرفت. از نمونه روغن به‌دست‌آمده، با استفاده از دستگاه کروماتوگراف گازی (YL 6000, Korea) و براساس استانداردهای ISO 5508(ISIR 4090) و ISO 5509 (ISIRI 4091) پس از سه مرتبه تکرار آزمایش، درصد اسیدهای چرب تشکیل‌دهنده آن اندازه‌گیری گردید.

روغن دنبه با غلظت‌های 10 و 20 درصد در غذای استاندارد حیوانات آزمایشگاهی (شرکت جوانه خراسان- مشهد) اضافه و به‌صورت پلت در آمد. به‌عنوان مثال برای تهیه رژیم 10درصد، 10گرم روغن دنبه به 90گرم غذای استاندارد اضافه شد. تعیین غلظت‌های 10 و 20 درصد به نحوی بود که در بالاترین غلظت (20درصد)، درصد تأمین انرژی از منبع چربی، از 36درصد تجاوز نکند. بر اساس مطالعات قبلی، رژیم‌های غذایی که چربی در آنها تأمین‌کننده 45-20 درصد انرژی می‌باشند، رژیم‌های مناسبی برای بررسی اثرات چربی‌ها و روغن‌ها در نظر گرفته می‌شوند.

30 سر رت نر بالغ به روش انتخاب تصادفی ساده، به سه گروه ده‌تایی تقسیم شدند و به شرح زیر به‌مدت 5ماه متوالی به‌صورت روزانه با رژیم‌های مرتبط تغذیه شدند:

- گروه TF10: دریافت‌کننده غذای حاوی 10درصد روغن دنبه؛
- گروه TF20: دریافت‌کننده غذای حاوی 20درصد روغن دنبه؛
- گروه کنترل: دریافت‌کننده غذای معمول حیوانات آزمایشگاهی.

در طول مدت انجام مطالعه، غذای مرتبط با هر گروه به‌صورت دسترسی آزاد در اختیار موش‌ها قرار داشت؛ به نحوی که همیشه بیش از مصرف روزانه موش‌ها، غذا در اختیار حیوانات قرار می‌گرفت. پس از گذشت 5 ماه، تمامی موش‌های نر، توزین و به‌وسیله دی‌اتیل‌اتر مورد آسان‌کشی و خونگیری قرار گرفتند. بیضه راست هر موش برداشته شد و پس از توزین در محلول فیکساتیو بوئن تثبیت گردید. از نمونه بیضه، به روش معمول بافت‌شناسی، مقاطع بافتی تهیه و با روش هماتوکسیلین و ائوزین مورد رنگ‌آمیزی قرار گرفت. برای ارزیابی تغییرات بافتی از هر موش سه لام (9 مقطع) و از هر لام 10 فیلد میکروسکوپی و در هر فیلد بین 4 تا 10 لوله اسپرم‌ساز (حداقل900 لوله اسپرم ساز برای هر گروه) با درشت‌نمایی‌های 100 برابر (برای اندازه‌گیری مساحت‌ها) و 400 برابر (برای شمارش اسپرماتوگونی‌ها) به‌وسیله میکروسکوپ نوری (Olympous, Japan) مشاهده و تصاویر توسط دوربین دیجیتال (BX51, Japan) کالیبره‌شده توسط لام هموسیتومتر متصل به میکروسکوپ، تهیه گردید. در مجموع 2700 لوله اسپرم‌ساز توسط نرم‌افزار آنالیز تصاویر میکروسکوپی (Image J 1.44p; National inistitute of Health, USA)، مورد اندازه گیری کمّی قرار گرفتند. تعداد اسپرماتوگونی‌ها، ضخامت اپیتلیوم زایشی و مساحت کل

Downloaded from journal.bums.ac.ir at 0:05 IRDT on Monday July 23rd 2018

لوله‌های اسپرم‌ساز برای تمام مقاطع، اندازه‌گیری گردید. غلظت پلاسمایی هورمون تستوسترون نیز به‌روش الایزا و با استفاده از کیت (IBL, Flughafenstrasse, 52a, Hamburg D-22335, Germany) مورد سنجش قرار گرفت.

در این پژوهش، کار با حیوانات بر اساس پروتکل‌های اخلاق کار با حیوانات آزمایشگاهی و چک‌لیست تهیه‌شده توسط مرکز تحقیقات طب تجربی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، با تکیه بر ایجاد حداقل درد و رنج و همچنین استفاده از کمترین تعداد قابل قبول، صورت پذیرفت.

نتایج توصیفی به‌صورت میانگین ± انحراف معیار آورده شده است. برای مقایسه متغیرهای پارامتریک (وزن بدن، وزن بیضه، غلظت تستوسترون و تعداد اسپرماتوگونی‌ها) در بین گروه‌ها، از آزمون آماری ANOVA و تست تعقیبی Tukey و برای مقایسه درجات هیستوپاتولوژیک (مساحت لوله‌های اسپرم‌ساز و مساحت اپی‌تلیوم زایشی) بین گروه‌های مورد مطالعه، از آزمون ناپارامتری Kruskal-Wallis H و در صورت معنی‌دار بودن آزمون مذکور، از تست ناپارامتری Mann-Whitney U با اصلاح Bonferroni مقایسه‌های زوجی (برای کنترل خطای نوع اول) صورت پذیرفت. اختلافات در سطح 0/05 معنی‌دار تلقّی شدند. از آزمون Kolmogorov-Smirnov نیز برای تعیین نرمال‌بودن توزیع داده‌ها استفاده شد. برای انجام آزمون‌های آماری ذکرشده، از نرم‌افزارآماری SPSS (ویرایش 18) استفاده گردید.

یافته‌ها

درصد اسیدهای چرب اشباع و غیر اشباع موجود در روغن دنبه در جدول یک ثبت گردیده است. همانطور که مشاهده می‌شود، روغن دنبه از حدود 51درصد اسیدهای چرب اشباع و 47درصد از اسیدهای چرب غیر اشباع تشکیل شده است. میانگین اسیدهای چرب غیر اشباع ترانس روغن دنبه حدود 7درصد بود.

جدول 1- ترکیب اسیدهای چرب روغن دنبه

اسیدهای چرب اشباع	درصد	اسیدهای چرب غیراشباع	درصد
C4	0/11±0/03	C8:1	0/5 ± 0/02
C6	1/61±0/05	C10:1trans	-
C8	0/40±0/01	C10:1Cis	-
C10	0/3±0/02	C12:1trans	0/2±0/000
C12	0/41±0/06	C12:1Cis	0/3±0/000
C13	-	C14:1trans	0/4 ± 0/01
C14	6/3 ± 0/34	C14:1Cis	2/4±0/03
C15	0/01 ± 0/4	C16:1trans	-
C16	24/8 ±1/05	C16:1Cis	3/9±0/05
C17	2/13±0/17	C17:1trans	-
C18	12/90±1/53	C17:1cis	-
C20		C18:1n-9Cis	37/9±3/21
C22	-	C18:2n-9Cis	2/4±0/07
C24	-	C18:3n-3Cis	0/4±0/000
	-	C20:1	0/2±0/000
		C24:1	-
درصد کل	51/47± 1/23	درصد کل	46/39 ± 3/81

Downloaded from journal.bums.ac.ir at 0:05 IRDT on Monday July 23rd 2018

نتایج وزن موش‌ها، وزن بیضه‌ها و غلظت هورمون تستوسترون در جدول 2 آورده شده است. مقایسه میانگین مقادیر وزن موش‌ها و وزن بیضه آنها با آزمون ANOVA در بین گروه‌ها، اختلاف معنی‌داری را نشان داد (همگی P≤0/0001). اما مقایسه غلظت تستوسترون در بین گروه‌ها با این آزمون نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین گروه‌ها وجود ندارد (P=0/55).

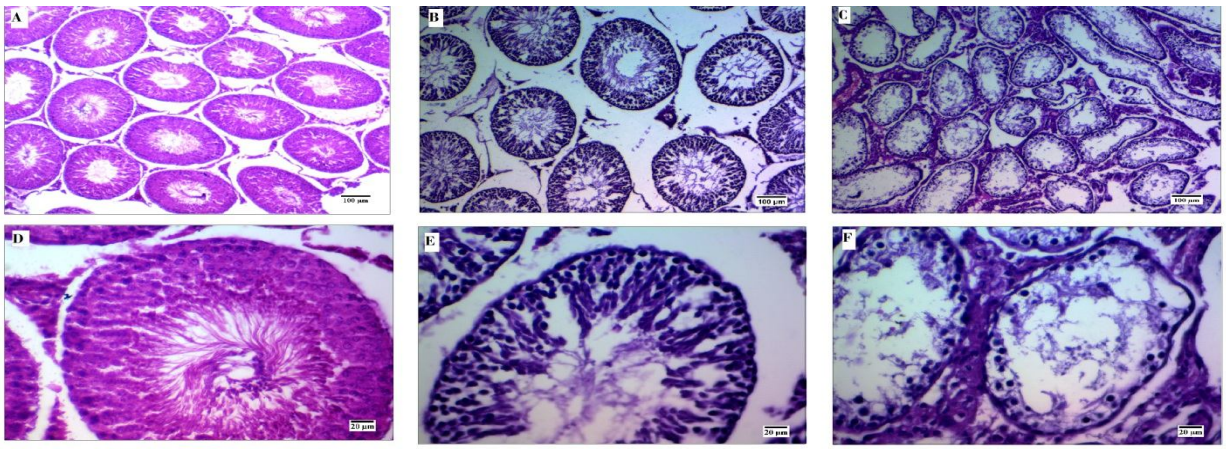
مقایسه میانگین وزن موش‌ها پس از 5 ماه دریافت رژیم‌های غذایی نشان داد که موش‌های دریافت‌کننده رژیم غذایی حاوی 20درصد روغن دنبه در مقایسه با گروه کنترل سالم وزن بیشتری داشتند (P=0/03)؛ همچنین وزن بیضه موش‌های دریافت‌کننده رژیم حاوی 20درصد روغن دنبه به‌طور معنی‌داری کمتر (P≤0/0001) از گروه کنترل بود.

بررسی بافت‌شناسی نمونه‌های بیضه نشان داد که در موش‌های دریافت‌کننده رژیم غذایی استاندارد، اسپرماتوژنز کامل در حال انجام بوده و سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت، اسپرماتوزوا و لایدیگ بدون هیچ ضایعه‌ای قابل مشاهده بودند (شکل 1). مقایسه تعداد اسپرماتوگونی‌ها در بین گروه‌ها اختلاف معنی‌داری را نشان داد (P≤0/0001). مقایسه مساحت لوله‌های اسپرم‌ساز و همچنین ضخامت لایه زایشی این لوله‌ها در گروه‌های مورد مطالعه با آزمون Kruskal-Wallis نشان داد که اختلاف معنی‌داری در بین گروه‌ها در هر دوی این پارامترها وجود داشت (هر دو، P≤0/0001)

جدول 2- مقایسه میانگین پارامترهای وزن موش، وزن بیضه و غلظت پلاسمایی هورمون تستوسترون در بین گروه‌های مورد مطالعه

گروه	پارامتر		
	وزن بدن(g)	وزن بیضه(g)	تستوسترون (ng/mL)
رژیم غذایی استاندارد (کنترل)	304/63±19/87	1/66±0/19	۱/۰۹ ± 0/18
رژیم حاوی 10 درصد روغن دنبه	337/75±21/25	1/66±0/12	۱/۴۰ ± 0/04
رژیم حاوی 20 درصد روغن دنبه	402/25±18/78*	0/99±0/64*	1/43 ± 0/07

آنالیز آماری مورد استفاده، تحلیل واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی Tukey می‌باشد. مقادیر به‌صورت میانگین±انحراف‌معیار برای 10 سر موش صحرایی برای هر گروه ارائه شده است.*تفاوت معنی‌دار (P≤0/05) در مقایسه با گروه کنترل.



شکل 1- تصاویر مقاطع بافتی از بافت بیضه گروه های مورد مطالعه، بزرگ نمایی 100X(A,B,C) و بزرگ نمایی 400 X (D,E,F). A, D: بیضه گروه دریافت‌کننده رژیم غذایی معمولی؛ B, E: بافت بیضه گروه دریافت‌کننده رژیم حاوی 10درصد روغن دنبه، کاهش اسپرماتوزوا، کاهش اندک ضخامت اپیتلیوم زایشی و واکئوله‌شدن لایه زایا مشاهده می‌شود؛ C, F: بافت بیضه گروه دریافت‌کننده رژیم حاوی 20 درصد روغن دنبه، اپیتلیوم زایشی به‌طور شدیدی از بین رفته است، اسپرماتوگونی‌ها به‌طور محسوسی کاهش پیدا کرده‌اند و کاهش رنگ‌پذیری سلول با ائوزین (رنگ صورتی) نشانگر از بین‌رفتن سلول‌هاست.

Downloaded from journal.bums.ac.ir at 0:05 IRDT on Monday July 23rd 2018

جدول 3- مقایسه میانگین تغییرات کمی بافت بیضه در بین گروه‌های موردمطالعه

گروه	پارامتر		
	تعداد اسپرماتوگونی‌ها (در هر لوله اسپرم‌ساز)	مساحت لوله‌های اسپرم‌ساز (µm2)	مساحت اپیتلیوم زایشی (µm2)
رژیم غذایی استاندارد (کنترل)	35/25 ± 6/48	61991/36 ± 1161/67	47557/11 ± 5506/56
رژیم حاوی 10 درصد روغن دنبه	32/57 ± 5/25	55592/74 ± 3834/78	42673/40 ± 5817/51
رژیم حاوی 20 درصد روغن دنبه	20/33 ± 9/60 *	22669/59 ± 3557/32 *	9266/52 ± 2062/51*

آزمون آماری مورد استفاده، تحلیل واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی Tukey برای متغیّر تعداد اسپرماتوگونی‌ها و آزمون ناپارامتری Kruskal-Wallis و آزمون تعقیبی Mann-Whitney با اصلاح Bonferroni برای متغیّرهای مساحت لوله‌های اسپرم‌ساز و مساحت اپیتلیوم زایشی می‌باشد. مقادیر به‌صورت میانگین±انحراف‌معیار برای 10 سر موش صحرایی برای هر گروه ارائه شده است.*تفاوت معنی‌دار (p≤0/05) در مقایسه با گروه کنترل.

مقایسه زوجی گروه‌ها با تست Mann-Whitney با تصحیح Bonferroni مشخص نمود که در پارامتر مساحت لوله‌های اسپرم‌ساز بین گروه‌های کنترل و رژیم حاوی 10درصد روغن دنبه اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (P=0/11)؛ همچنین مقایسه مساحت لایه زایشی بین این گروه‌ها نیز اختلاف معنی‌داری را نشان نداد (P=0/77). اما مقایسه گروه کنترل با گروه دریافت‌کننده رژیم غذایی حاوی 20درصد روغن دنبه نشان داد که مساحت لوله‌های اسپرم‌ساز (p≤0/0001) و همچنین ضخامت اپیتلیوم زایشی (p≤0/0001) به‌طور معنی‌داری در گروه دریافت‌کننده رژیم 20 درصد روغن دنبه کاهش داشت. مقایسه بین گروه‌های دریافت‌کننده رژیم‌های روغن دنبه نشان داد که گروه دریافت‌کننده غذای حاوی 20درصد روغن دنبه به‌طور معنی‌داری قطر لوله‌های اسپرم‌ساز (p≤0/0001) و همچنین ضخامت لایه زایشی (p≤0/0001) کمتری در مقایسه با موش‌های دریافت‌کننده رژیم 10درصد داشت. همانطور که در تصاویر میکروسکوپی ارائه‌شده مشاهده می‌شود، گروه‌های دریافت‌کننده روغن دنبه، لوله‌های اسپرم‌ساز کوچکتر و مهمتر از آن با لایه زایشی کم ضخامت‌تری داشتند که بررسی‌های کمّی و دقیق ضایعات بافت‌شناسی نشان داد، کاهش معنی‌داری در تعداد اسپرماتوگونی‌ها (p=0/041) در گروه دریافت‌کننده رژیم حاوی 20درصد روغن دنبه در مقایسه با گروه کنترل وجود داشت. اگرچه پارامترهای یادشده در گروه دریافت‌کننده رژیم حاوی 10درصد روغن دنبه به‌طور معنی‌داری کاهش پیدا نکرده بود، اما هم‌راستا با یکدیگر روند کاهشی را نشان داد (جدول 3).

بحث

این پژوهش برای نخستین بار اثرات مصرف روغن دنبه را بر عملکرد جنسی در یک مدل حیوانی مورد ارزیابی قرار داد. به‌منظور ارزیابی نقش مصرف بلندمدت روغن دنبه بر روی عملکرد جنسی موش‌های صحرایی نر، سه گروه از رت‌ها به‌طور تصادفی با سه رژیم غذای معمولی، رژیم حاوی 10 درصد روغن دنبه و رژیم حاوی 20 درصد روغن دنبه به‌مدت 5 ماه متوالی مورد تغذیه قرار گرفتند. در پایان 5 ماه، تمامی موش‌ها مورد آسان‌کشی قرار گرفته و پارامترهای وزن موش، وزن بیضه، مقادیر هورمون تستوسترون و پارامترهای کمّی مربوط به تغییرات بافت‌شناسی بیضه، اندازه‌گیری و در بین گروه‌ها مورد مقایسه قرار گرفت.

یافته‌های این مطالعه به وضوح نشان داد که مصرف بلندمدت روغن دنبه توانست در اثری وابسته به دوز، سبب هیپوگنادیسم و تحلیل توان باروری در موش‌ها گردد.

تاکنون مطالعات انسانی اندکی اثرات نامطلوب رژیم غذایی پر انرژی را بر کاهش باروری در جنس مذکر مورد ارزیابی قرار داده‌اند. از جمله محدودیت‌های مطالعات انسانی در زمینه تحقیقات تغذیه و باروری می‌توان به سختی همسان‌سازی مداخلات، نبود کیفیّت یکسان مواد غذایی، سبک‌های زندگی متفاوت و مواجهه‌های مختلف جوامع

Downloaded from journal.bums.ac.ir at 0:05 IRDT on Monday July 23rd 2018

انسانی بر سایر عوامل اثرگذار بر باروی اشاره نمود. بنابراین بیشتر مطالعاتی که قصد تبیین رابطه بین تغذیه و باروری را دارند، بر روی مطالعات حیوانی طراحی و اجرا می‌گردند (19، 20).

نتایج طرح‌های دیگر که به ارزیابی مصرف سایر روغن‌های خوراکی بر عملکرد جنسی موش‌ها پرداخته‌اند، قابل تأمّل می‌باشد. به‌عنوان مثال؛ در مطالعه عباسی و همکاران که در سال 1386 منتشر گردید، محققین اثرات مصرف 8 هفته مصرف رژیم غذایی حاوی 5درصد روغن کنجد را در رت‌های نر نژاد ویستار مورد بررسی قرار دادند. نتایج مطالعه آنها نشان داد که روغن کنجد سبب افزایش معنی‌دار تعداد اسپرم در رت‌ها شد، اما تأثیری بر پارامترهای وزن، وزن بیضه و غلظت تستوسترون نداشت (17).

از آنجایی‌که مشخصات چربی خوک مشابه روغن دنبه می‌باشد و از طرفی مطالعه‌ای در خصوص اثرات روغن دنبه انجام نشده است؛ بنابراین به‌نظر می‌رسد بتوان نتایج تحقیقات انجام‌شده بر روی اثرات روغن چربی خوک را با روغن دنبه مورد مقایسه قرار داد (21).

مشابه یافته‌های مطالعه حاضر، نتایج مطالعه Campos-Salva و همکاران (2014) که به بررسی اثر رژیم‌های چرب (اشباع/غیر اشباع) بر متابولیسم و عملکرد جنسی در موش‌های صحرایی پرداخته بودند، نشان داد که مصرف 16هفته رژیم غذایی حاوی 50درصد چربی خوک، سبب کاهش ضخامت اپیتلیوم زایشی در لوله‌های اسپرم‌ساز بیضه گردید؛ در حالی که موش‌هایی که رژیم غذایی حاوی 50درصد چربی غیراشباع (روغن کانولا) را دریافت کرده بودند، نه‌تنها این ضخامت در آنها کاهش نیافته بود، بلکه به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل که رژیم معمولی دریافت کرده بودند، افزایش نیز نشان داد؛ اما ترکیب دو روغن (اشباع/غیر اشباع) سبب بروز این مشکل نگردید. در مطالعه مذکور، تغییر معنی‌داری در وزن بیضه، غلظت هورمون تستوسترون و قطر خارجی لوله‌های اسپرم‌ساز در بین گروه‌های مورد مطالعه یافت نشد (16).

در مطالعه Yan و همکاران که در سال 2015 منتشر گردید، مصرف 8 هفته‌ای رژیم غذایی حاوی 16درصد چربی خوک نشان داد که موش‌های صحرایی نر پس از پایان مطالعه به‌طور معنی‌داری مقادیر وزن بالاتر، وزن بیضه کمتر و همچنین کاهش چشمگیری در اسپرماتوژنز و تعداد اسپرم در مقایسه با گروه دریافت‌کننده رژیم غذایی استاندارد داشتند. یافته‌های آنان همچنین نشان داد که در گروه دریافت‌کننده رژیم پرچرب، غلظت تستوسترون به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل کاهش داشت (22).

اندازه‌گیری اسیدهای چرب تشکیل‌دهنده روغن دنبه استفاده‌شده در این پژوهش نشان داد که این روغن از حدود 51درصد اسیدهای چرب اشباع و 47درصد از اسیدهای چرب غیر اشباع تشکیل شده است. در بین اسیدهای چرب اشباع؛ اسیدهای چرب پالمیتیک (25 درصد)، استئاریک (13 درصد) و میریستیک (6/3 درصد) به‌ترتیب بیشترین اسیدهای چرب تشکیل‌دهنده روغن دنبه بودند.

اسید پالمیتیک به‌عنوان یک اسید چرب شاخص روغن‌های اشباع مطرح می‌باشد. بر اساس مطالعات مختلفی که انجام شده است، این اسید چرب سبب فعال‌شدن مسیرهای آپوپتوزی و سیتوتوکسیسیتی شده و اثرات زیانباری بر رشد سلول‌ها به‌ویژه سلول‌های جنسی دارد (23). در مطالعه‌ای که توسط LU و همکاران در سال 2003 انجام شد، سلول‌های تولیدکننده تستوسترون (لایدیگ) در مجاورت اسیدهای چرب پالمیتیک، استئاریک و آراشیدونیک (غیر اشباع) قرار گرفتند. نتایج جالب این مطالعه با یافته‌های مطالعه ما مطابقت دارد؛ زیرا سلول‌های لایدیگی که در مجاورت اسید استئاریک و یا اسید پالمیتیک قرار گرفته بودند، با افزایش غلظت اسید چرب و مدت زمان مجاورت، به‌صورت معنی‌داری رشد آنها متوقف و سرکوب شد؛ اما در عوض سلول‌های مجاورشده با اسید آراشیدونیک نه‌تنها رشد آنها افزایش قابل ملاحظه‌ای پیدا کرده بود، بلکه مرگ سلولی نیز

Downloaded from journal.bums.ac.ir at 0:05 IRDT on Monday July 23rd 2018

در آنها کاهش محسوسی نشان داد. نکته قابل ملاحظه پژوهش مذکور این بود که زمانی که ترکیب این سه اسید چرب با یکدیگر در مجاورت سلول‌های لایدیگ قرار گرفت، کاهش رشد سلولی مشاهده نشد و محققین این‌طور نتیجه گرفتند که اسید آراشیدونیک می‌تواند اثرات زیانبار اسید پالمیتیک و اسید استئاریک بر روی سلول‌های لایدیگ را مهار نماید (24). روغن دنبه علاوه بر اینکه از میزان بالایی اسیدهای چرب اشباع تشکیل شده است، میزان قابل توجهی نیز اسید چرب غیر اشباع اولئیک (38 درصد) در آن یافت می‌شود. یکی از روغن‌های دارای مقادیر اسید اولئیک مشابه روغن دنبه، روغن تخم کدو می‌باشد که مطالعات گذشته نشان داده‌اند مصرف آن اثرات سودمندی بر سیستم باروری از طریق افزایش اسپرم، میل جنسی و هورمون تستوسترون دارد (25).

نتیجه‌گیری

با توجه به این مطالب و یافته‌های مطالعه ما، به‌نظر می‌رسد وجود توأم اسیدهای چرب اشباع و غیر اشباع در روغن دنبه سبب تعدیل اثرات زیانبار آن بر قدرت باروری در موش‌های صحرایی شده است. اما در غلظت بالاتر (20درصد) با افزایش وزن و تغییر در متابولیسم، اثرات زیانبار آن بر سیستم تولید مثلی جنس نر ظاهر شده است. با توجه به نتایج این مطالعه، مصرف روغن دنبه می‌تواند احتمالاً سبب اختلال در عملکرد جنسی و حتی ناباروری گردد. انجام مطالعات بیشتر به‌خصوص مطالعات بالینی در این زمینه پیشنهاد می‌شود.

تقدیر و تشکر

بدین‌وسیله نویسندگان مقاله از خانم سارا نانوازاده (مؤسسه استاندارد مواد غذایی ایران) برای همکاری در تعیین اسیدهای چرب روغن دنبه تشکر می‌نمایند. این مقاله حاصل بخشی از یافته‌های پایان‌نامه کارشناسی ارشد خانم سمیرا ایزی (کد: 814) و همچنین طرح تحقیقاتی مصوب معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی بیرجند می‌باشد (کد: 1043). بدین‌وسیله نویسندگان مراتب تشکر و قدردانی خود را از معاونت محترم تحقیقات و فناوری دانشگاه برای تأمین مالی هزینه‌های اجرای این طرح تحقیقاتی، اعلام می‌نمایند.

منابع:

1- Palmer NO, Bakos HW, Fullston T, Lane M. Impact of obesity on male fertility, sperm function and molecular composition. Spermatogenesis. 2012; 2(4): 253-63.

2- Sunderam S, Chang J, Flowers L, Kulkarni A, Sentelle G, Jeng G, et al. Assisted reproductive technology surveillance--United States, 2006. MMWR Surveill Summ. 2009; 58(5): 1-25.

3- Fullston T, Palmer NO, Owens JA, Mitchell M, Bakos HW, Lane M. Diet-induced paternal obesity in the absence of diabetes diminishes the reproductive health of two subsequent generations of mice. Hum Reprod. 2012; 27(5): 1391-400.

4- Ng SF, Lin RC, Laybutt DR, Barres R, Owens JA, Morris MJ. Chronic high-fat diet in fathers programs beta-cell dysfunction in female rat offspring. Nature. 2010; 467(7318): 963-6.

5- Hosseini B, Djafarian K. Dietary Nutrients and Male Infertility: Review of Current Evidence. Galen. 2015; 4(4): 123-29.

6- Parsanezhad ME, Namavar Jahromi B, Zare N, Keramati P, Khalili A, Parsa-Nezhad M. Epidemiology and etiology of infertility in Iran, systematicreview and meta-analysis. J Womens Health Issues Care. 2013; 6: 2.

7- Carlsen E, Giwercman A, Keiding N, Skakkeb? k NE. Evidence for decreasing quality of semen during past 50 years. BMJ. 1992; 305(6854): 609-13.

Downloaded from journal.bums.ac.ir at 0:05 IRDT on Monday July 23rd 2018

8- World Health Organization. WHO manual for the standardized investigation and diagnosis of the infertile couple. Cambridge: Cambridge University Press; 2000.

9-Dohle GR, Colpi GM, Hargreave TB, Papp GK, Jungwirth A, Weidner W; EAU Working Group on Male Infertility. EAU guidelines on male infertility. Eur Urol. 2005; 48(5): 703-11.

10- Connor KL, Vickers MH, Beltrand J, Meaney MJ, Sloboda DM. Nature, nurture or nutrition? Impact of maternal nutrition on maternal care, offspring development and reproductive function. J Physiol. 2012; 590(9): 2167-80.

11- Batra N, Nehru B, Bansal MP. Reproductive potential of male Portan rats exposed to various levels of lead with regard to zinc status. Br J Nutr. 2004; 91(3): 387-91.

12- Mu YM, Yanase T, Nishi Y, Tanaka A, Saito M, Jin C-H, et al. Saturated FFAs, palmiticacid and stearic acid, induce apoptosis in human granulosa cells. Endocrinology. 2001; 142(8): 3590-7.

13- Attaman JA, Toth TL, Furtado J, Campos H, Hauser R, Chavarro JE. Dietary fat and semen quality among men attending a fertility clinic. Hum Reprod. 2012; 27(5): 1466-74.

14- Saez Lancellotti TE, Boarelli PV, Romero AA, Funes AK, Cid-Barria M, Cabrillana ME, et al. Semen quality and sperm function loss by hypercholesterolemic diet was recovered by addition of olive oil to diet in rabbit. PloS one. 2013; 8(1): e52386.

15- Oyewopo OA, Dare JB, Towolawi AO, Olaniyan OT, Omotoso OD, Shafe MO, et al. Cottonseed Extract and Anti-fertility: Metabolic Versus Hormonal Changes in Rat Model. World J Life Sci Med Res. 2012; 2(5): 196-9.

16- Campos-Silva P, Furriel A, Costa WS, Sampaio FJ, Greg?rio BM. Metabolic and testicular effects of the long-term administration of different high-fat diets in adult rats. Int Braz J Urol. 2015; 41(3): 569-75.

17- Abbasi Z, Tabatabaei SRF, Mazaheri Y, Barati F, Morovvati H. Effects of sesame oil on the reproductive parameters of diabetes mellitus-induced male rats. World J Mens Health. 2013; 31(2): 141-9.

18- Alipanah M, Kashan NE. Fatty acid composition of fat tail, visceral and meat fat of three Iranian sheep breeds. J Food Agric Environ. 2011; 9(2): 416-8.

19- Bakos HW, Mitchell M, Setchell BP, Lane M. The effect of paternal diet-induced obesity on sperm function and fertilization in a mouse model. Int J Androl. 2011; 34(5 pt 1): 402-10.

20- Rato L, Alves M, Dias T, Lopes G, Cavaco J, Socorro S, et al. High-energy diets may induce a pre-diabetic state altering testicular glycolytic metabolic profile and male reproductive parameters. Andrology. 2013; 1(3): 495-504.

21- Dornellas APS, Watanabe RLH, Pimentel GD, Boldarine VT, Nascimento CMO, Oyama LM, et al. Deleterious effects of lard-enriched diet on tissues fatty acids composition and hypothalamic insulin actions. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids. 2015; 102-103: 21-9.

22- Yan WJ, Mu Y, Yu N, Yi TL, Zhang Y, Pang XL, et al. Protective effects of metformin on reproductive function in obese male rats induced by high-fat diet. J Assist Reprod Genet. 2015; 32(7): 1097-104.

23- Witty JP, Bridgham JT, Johnson AL. Induction of apoptotic cell death in hen granulosa cells by ceramide. Endocrinology. 1996; 137(12): 5269-77.

24- Lu ZH1, Mu YM, Wang BA, Li XL, Lu JM, Li JY, et al. Saturated free fatty acids, palmitic acid and stearic acid, induce apoptosis by stimulation of ceramide generation in rat testicular Leydig cell. Biochem Biophys Res Commun. 2003; 303(4): 1002-7.

25- Mohammadi F, Nikzad H, Taherian A, Amini Mahabadi J, Salehi M. Effects of herbal medicine on male infertility. Anat Sci J. 2013; 10(4): 3-16.