

اثر عصاره‌ی جوانه‌ی گندم بر تغییرات هورمون‌های جنسی تخمدان در موش صحرایی مواجهه شده با سرب

مهدی هادی جعفری^۱ و حسن مروتی^{۲*}

تاریخ دریافت: ۹۷/۵/۱۲

تاریخ پذیرش: ۹۷/۹/۱۷

چکیده

اثرات سمیت سرب حتی در سطوح پایین دارای چندین اختلال مانند ضعف، اختلال در توانایی و رفتار فکری کودکان، فقدان شنوایی و بینایی، کاهش کیفیت اسپرم و باروری در زنان است. از طرفی، درمان توسط گیاهان دارویی مثل جوانه‌ی گندم که غنی از آنتی‌اکسیدان-هایی مثل ویتامین‌های E، تیامین، روی، اسیدهای فنولی، آلکیلوریزورسینول‌ها، اسیدهای آمینوفنول و آمینوبنزوئیک‌ها می‌باشد، می‌تواند مد نظر قرار گیرد. ۳۰ سر موش صحرایی ماده‌ی بالغ نژاد ویستار (20 ± 240 گرم) در ۶ گروه شامل: کنترل (بدون درمان)، سرب با دوز ۱۰ میلی‌گرم، عصاره‌ی هیدروالکلی جوانه‌ی گندم با دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم، سرب هم‌زمان با عصاره‌ی هیدروالکلی جوانه‌ی گندم با دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم تقسیم شدند. در روز ۳۶، از نمونه‌ها خون‌گیری صورت گرفته و خاصیت آنتی‌اکسیدانی سطح پلاسمایی هورمون‌های LH و FSH و استروژن مورد ارزیابی قرار گرفت. وزن موش و وزن تخمدان در گروه القای سرب با دوز ۱۰ میلی‌گرم کاهش یافت، همچنین غلظت استروژن، LH و FSH و خاصیت آنتی‌اکسیدانی در گروه سرب با مقادیر متفاوتی کاهش داشت و در گروه عصاره‌ی هیدروالکلی جوانه‌ی گندم این مقادیر افزایش یافت. عصاره‌ی هیدروالکلی جوانه‌ی گندم توانایی جبران ضایعات ناشی از سرب را دارد، که میزان جبران بستگی به دوز تجویزی است.

کلمات کلیدی: جوانه گندم، هورمون‌های جنسی، سرب، تخمدان، موش صحرایی

مقدمه

فکری در کودکان، از دست دادن شنوایی و بینایی، کاهش تعداد و کیفیت اسپرم، افزایش خطر سکتة مغزی و حمله قلبی را منجر می‌شود (Morovvati et al. 2016, Silberstein et al. 2006). به دلیل وجود سرب در برخی از لوازم آرایشی و بهداشتی زن‌ها بیش‌تر در مواجهه با سرب قرار دارند (Waseem et al. 2014). سرب یکی از سموم تناسلی است که می‌تواند بر ساختار و عملکرد گنادها تأثیر مخرب داشته باشد و منجر به تغییرات در باروری شود. اثر بر روی فیزیولوژی، هیستومورفولوژی، تکامل و عوامل زیستی در اندام‌های مختلف حیوان و انسان دیده شده است (Morovvati et al. 2016, Sharma)

اثرات سمیت سلولی سرب به طور گسترده در یک قرن اخیر مورد مطالعه قرار گرفته و هم‌زمان مواجهه‌ی انسان با سرب از طریق آلودگی زیست‌محیطی نیز رو به افزایش بوده است. به گزارش سازمان بین‌المللی سلامت و ایمنی شغلی (NIOSH) حدود سه میلیون نفر کارگر در مواجهه شغلی با سرب هستند. به همین دلیل، سمیت با سرب موجب به خطر انداختن سلامتی کارگران شده است. سرب از طرق دیگری همچون هوا، آب، خاک، غذا نیز وارد بدن می‌شود (Ahmed et al. 2013). قرار گرفتن در معرض سرب حتی در سطوح پایین چندین اختلال پزشکی مانند ضعف، اختلال در توانایی و رفتار

^۱ دانش‌آموخته دکترای بافت‌شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

^{۲*} استاد گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

(نویسنده‌ی مسئول)

E-mail: hmorovvati@ut.ac.ir

مرتبط با اثرات جوانه‌ی گندم بر روی تخمدان به عنوان مهم‌ترین عضو سیستم تناسلی ماده هنوز انجام نشده است، تحقیق حاضر جهت ارزیابی اثرات استات سرب بر روی هورمون‌های جنسی موش صحرایی بالغ و متعاقباً نقش عصاره‌ی جوانه‌ی گندم بر این روند طراحی گردید.

مواد و روش کار

عصاره‌ی هیدرالکلی جوانه‌ی گندم با استفاده از روش حجمی یا خیساندن عمل خیساندن یک روش قدیمی و رایج است که به وسیله‌ی آب یا حلال‌های مختلف صورت می‌گیرد. بدین منظور پودر جوانه‌ی گندم داخل یک ظرف دهان گشاد ریخته شد و به آن به نسبت ۱ به ۳ اتانول ۷۰ درصد اضافه گردید. در ظرف محکم بسته شده و به مدت ۳ روز در محل ثابت قرار گرفت. در این فاصله محتویات داخل ظرف گهگاهی هم زده می‌شد. عصاره‌ی صاف شده با استفاده از دستگاه دوار تقطیر در خلا، تغلیظ شده تا حلال آن جدا گردد و عصاره‌ی غلیظ به دست آید. در نهایت به کمک آب مقطر و ترازوی با دقت ۰/۱ میلی‌گرم، غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرمی عصاره تهیه گردید و نهایتاً توسط گاواژ به حیوانات خوراندن شد (Morovvati et al. 2016).

به منظور انجام مطالعه حاضر تعداد ۳۰ سر موش صحرایی ماده‌ی بالغ نژاد ویستار و به ظاهر سالم با میانگین وزنی 240 ± 20 گرم از مرکز تکثیر و پرورش حیوانات آزمایشگاهی پژوهشگاه علوم اعصاب شفای خاتم تهران خریداری شدند. یک روز قبل از شروع آزمایش، موش-های صحرایی به طور تصادفی به ۶ گروه تقسیم شدند. در هر گروه ۵ سر موش صحرایی که در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی در دمای ۲۵-۲۳ درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شدند. 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 دانشکده‌ی دامپزشکی دانشگاه تهران رعایت گردید.

et al. 2012). گزارش شده است که با افزایش سطح سرب در مواد آرایشی از قبیل رژ لب و استفاده مکرر از آن‌ها شیوع سرطان سینه نیز افزایش یافته است. دستگاه تولید مثل ماده و از این رو، باروری انسان ممکن است با قرار گرفتن در معرض مواد سمی زیست‌محیطی مثل سرب متأثر گردد (Dhir and Dhand 2010, Waseem et al. 2014). مطالعاتی بر روی زنان شاغل در کارخانه‌هایی که مبنای فعالیتشان سرب است صورت گرفته، که در آن زنان مقادیر متناوبی از ناباروری، سقط جنین، زایمان زودرس و مرگ جنین را نشان می‌دهند (Dorostghol et al. 2011). مواجهه با سرب در میمون روزس باعث کاهش غلظت پروژسترون پلازما می‌گردد و اعمال لوتئال را بلوکه می‌کند و همچنین مواجهه به صورت مزمن با سرب موجب کاهش غلظت هورمون‌های LH، FSH و پروستاگلاندین E2 در میمون‌های ساینومولگوس می‌گردد هر چند که تخمک‌گذاری بدون تغییر می‌ماند (Foster 1992). همچنین نشان داده شده است که سطح هورمونی LH و استرادیول در ماده‌هایی که پیش از دوران بلوغ در معرض مقادیر کمی سرب قرار گرفته‌اند، کاهش می‌یابد (Paksy et al. 2001). دستگاه تناسلی ماده در رت حدوداً از هفته‌ی چهارم شروع به فعالیت می‌کند و طول هر دوره استروس ۴-۶ روز می‌باشد (Treuting and Dintzis 2012). در سال‌های اخیر، استفاده و کاربرد مفید گیاهان دارویی در جهت درمان ناراحتی‌ها و بیماری‌ها مورد توجه بوده و به اثبات رسیده است (Morovvati et al. 2016, Waseem et al. 2014). سودمندی‌های سلامت و بهداشت جوانه‌ی گندم نیز به طور گسترده‌ای در سال‌های اخیر گزارش شده است (Moradi et al. 2017, Morovvati et al. 2016). جوانه‌ی گندم غنی از اجزای آنتی‌اکسیدانی از قبیل ویتامین‌های E، تیامین، روی، اسیدهای فنولی، آلکیلوریزورسینول‌ها، اسیدهای آمینوفنول و آمینوبنزوئیک‌ها می‌باشد. این‌ها در اشکال آزاد و باند شده تنوع دارند و آنتی‌اکسیدان‌های قوی هستند (Morovvati et al. 2016). از آن جایی که بررسی‌های

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

۲- گروه دریافت کننده استات سرب با دوز ۱۰ mg/kg (Taupeau et al. 2001) به صورت تزریق روزانه داخل صفاقی (i.p).

۳- گروه دریافت کننده استات سرب با دوز ۱۰ mg/kg به صورت تزریق روزانه داخل صفاقی همزمان با عصاره‌ی جوانه‌ی گندم به میزان ۱۰۰ mg/kg به صورت گاوژ.

۴- گروه دریافت کننده استات سرب با دوز ۱۰ mg/kg به صورت تزریق روزانه داخل صفاقی همزمان با عصاره‌ی جوانه‌ی گندم به میزان ۲۰۰ mg/kg به صورت گاوژ.

۵- گروه دریافت کننده عصاره‌ی جوانه‌ی گندم به میزان روزانه ۱۰۰ mg/kg به صورت گاوژ.

۶- گروه دریافت کننده عصاره‌ی جوانه‌ی گندم به میزان روزانه ۲۰۰ mg/kg به صورت گاوژ.

این مطالعه به مدت ۳۵ روز به طول انجامید و تمام دوز عصاره‌ها بر طبق مطالعه‌ی Morovvati و همکاران در سال ۲۰۱۶ انجام گرفت.

در روز ۳۶، حیوانات وزن و بیهوش شدند. سپس بعد از کالبدشکافی و نمایان شدن قلب، خون‌گیری از قلب انجام گرفت. نمونه‌های خونی در لوله‌های فاقد ماده‌ی ضدانعقاد ریخته شد و در دستگاه سانتریفیوژ (با دور ۳۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه) قرار گرفت، بعد از جداسازی سرم آن‌ها تا زمان اندازه‌گیری هورمون‌های LH و FSH، در یخچال دمای منفی ۶۰ درجه‌ی سانتی‌گراد منجمد شدند. نمونه‌ها نیم ساعت قبل از اندازه‌گیری میزان هورمون‌ها، از یخچال خارج و در دمای اتاق مجدداً به حالت مایع در آمدند. برای اندازه‌گیری هورمون‌ها از کیت‌های الیزا مخصوص موش صحرایی ساخت شرکت Biovender کشور جمهوری چک استفاده شد.

همچنین نمونه‌های سرم برای فعالیت آنتی‌اکسدانی (AOA)^۱ با استفاده از فعالیت پاداکسایشی آهن احیا شده

(FRAP)^۲ و ارزیابی پراکسیداسیون لیپیدها به وسیله‌ی اندازه‌گیری مالون دی آلدئید (MDA)^۳ مورد بررسی قرار گرفتند. روش FRAP بر اساس توان احیاکنندگی آهن سه ظرفیتی می‌باشد و همین طور اساس اندازه‌گیری مالون دی آلدئید بر پایه‌ی واکنش با تیوباریتوریک اسید، استخراج با بوتانول نرمال، اندازه‌گیری جذب با روش اسپکتروفوتومتری و مقایسه با جذب منحنی استاندارد است؛ ۰/۵ میلی‌لیتر از سرم با ۳ میلی‌لیتر اسید فسفوریک (۱ درصد با حجم برابر) با هم مخلوط شد (با کمک استفاده از ورتکس). سپس ۲۰ میلی‌لیتر از تیوباریتوریک اسید با غلظت ۶/۷ گرم بر لیتر به نمونه‌ها اضافه شد و نمونه‌ها را به مدت ۴۵ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده و بعد از آن در یخ سرد شدند. پس از سرد شدن، ۳ میلی‌لیتر آن-بوتانول به نمونه‌ها اضافه شد. مقدار جذب نوری به وسیله‌ی اسپکتروفوتومتری اندازه‌گیری شد و بر اساس منحنی کالیبراسیون استاندارد MDA محاسبه شد (Moradi et al. 2017).

داده‌های به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار SPSS 19 مورد تجزیه تحلیل آماری قرار گرفتند. داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار ارائه شدند. جهت مقایسه‌ی میانگین‌ها در گروه‌های تحت مطالعه از آزمون ANOVA و سپس، پس آزمون Tukey استفاده شد و در مواردی که $P \leq 0/05$ بود معنی‌دار تلقی گردید.

نتایج

نتایج ماکروسکوپی

با توجه به نتایج به دست آمده ماکروسکوپی مندرج در جدول ۱، وزن موش در گروه استات سرب نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری را نشان داد ($P \leq 0/05$). همچنین وزن موش در دیگر گروه‌ها در مقایسه با گروه کنترل کاهش داشته است که در همه‌ی موارد این کاهش معنی‌دار بود ($P \leq 0/05$).

2 - Ferric Reduction Antioxidant Power (FRAP)
3 - Malondialdehyde (MDA)

1- Antioxidant Activity (AOA)

وزن تخمدان در گروه استات سرب نسبت به گروه کنترل افزایش داشت که این افزایش غیر معنی‌دار بود ($P \leq 0/05$). همچنین در دیگر گروه‌ها نیز وزن تخمدان در مقایسه با گروه کنترل افزایش داشت که البته این افزایش غیر معنی‌دار بود ($P \leq 0/05$).

وزن نسبی تخمدان نیز در گروه استات سرب در مقایسه با گروه کنترل افزایش غیر معنی‌داری را نشان داد. در دیگر گروه‌های آزمایش نیز وزن نسبی تخمدان در مقایسه با گروه کنترل افزایش داشت ($P \leq 0/05$).

جدول ۱: میانگین و انحراف معیار داده‌های ماکروسکوپی

عصاره	عصاره	استات + عصاره	استات + عصاره	استات	کنترل	گروه
جوانه گندم ۲۰۰	جوانه گندم ۱۰۰	جوانه گندم ۲۰۰	جوانه گندم ۱۰۰			پارامتر
$193 \pm 13/03^a$	$82/61 \pm 37/9^a$	$187 \pm 40/9^a$	$180 \pm 20/87^a$	$187 \pm 24/11$	237 ± 0^a	وزن موش (گرم)
$0/94 \pm 0/01$	$0/98 \pm 0/01$	$0/90 \pm 0/02$	$0/74 \pm 0/02$	$0/76 \pm 0/024$	$0/54 \pm 0$	وزن تخمدان ^۱
$49 \pm 4/97^a$	$53 \pm 6/50^a$	$47 \pm 10/92^a$	$39 \pm 8/18$	$40 \pm 15/48$	22 ± 0^a	وزن نسبی تخمدان ^۲

* حروف یکسان بیان‌گر معنی‌دار بودن داده‌ها می‌باشد ($P \leq 0/05$).

۱- واحد وزن تخمدان صدم گرم می‌باشد.

۲- واحد وزن نسبی تخمدان میلی‌نیوم گرم (10^{-6}) می‌باشد.

نتایج سرمی

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سرم در گروه استات سرب نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری داشته است ($P \leq 0/05$), همچنین در گروه استات سرب به همراه عصاره‌ی جوانه‌ی گندم با دوز ۱۰۰ میلی گرم و استات سرب به همراه عصاره-ی جوانه‌ی گندم با دوز ۲۰۰ میلی گرم ظرفیت آنتی-اکسیدانی نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری داشته است اما نسبت به گروه استات سرب افزایش داشته است که البته این افزایش غیر معنی‌دار می‌باشد.

طبق داده‌های موجود در جدول ۲، شاخص MDA در گروه استات سرب نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری داشته است ($P \leq 0/05$). همچنین در گروه استات سرب به همراه عصاره‌ی جوانه‌ی گندم با دوز ۱۰۰ میلی گرم و استات سرب به همراه عصاره‌ی جوانه‌ی گندم با دوز ۲۰۰ میلی گرم این شاخص نسبت به گروه کنترل کاهش داشته است که در هر دو مورد غیر معنی‌دار بوده است.

جدول ۲: میانگین $\pm$ انحراف معیار تغییرات شاخص‌های مورد مطالعه سرم خون موش‌های صحرایی

AOA ^۱	MDA ^۱	پارامتر
($\mu\text{mol/L}$)	($\mu\text{mol/ml}$)	گروه
$1/2 \pm 0/06^a$	$0/25 \pm 0/02^a$	کنترل
$0/84 \pm 0/02^{ab}$	$0/32 \pm 0/01^{ab}$	سرب
$1/01 \pm 0/03^a$	$0/29 \pm 0/02^{acd}$	جوانه (۱۰۰*)
$1/13 \pm 0/08^b$	$0/23 \pm 0/02^{bcd}$	جوانه (۲۰۰*)
$0/91 \pm 0/02^{ac}$	$0/22 \pm 0/02^{bcd}$	سرب + جوانه (۱۰۰*)
$0/97 \pm 0/01^{ac}$	$0/24 \pm 0/03^{bc}$	سرب + جوانه (۲۰۰*)

حروف یکسان نشان‌دهنده‌ی تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های مطالعه می‌باشد.

۱- شاخص اندازه‌گیری پراکسیداسیون لیپیدها

۲- شاخص اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی

* mg/kg/day

نتایج هورمونی

با توجه به نتایج به دست آمده هورمونی مندرج در جدول ۳، میزان غلظت هورمون استروژن در گروه سرب نسبت به گروه کنترل، کاهش داشته است که این کاهش معنی‌دار بوده است ($P \leq 0/05$). همچنین پس از تجویز عصاره‌ی جوانه‌ی گندم، غلظت استروژن روند افزایشی داشته است. در گروه‌هایی که رت‌ها سرب و عصاره‌ی جوانه‌ی گندم را به صورت همزمان دریافت نموده‌اند، این افزایش غیر معنی‌دار بوده ($P \leq 0/05$) اما در گروه‌هایی که سرب به صورت منفرد به رت‌ها خورانده شده، افزایش غلظت استروژن معنی‌دار می‌باشد ($P \leq 0/05$).
میزان غلظت هورمون LH، پس از تجویز سرب، نسبت به گروه کنترل، به طور معنی‌داری کاهش یافته است ($P \leq 0/05$). استفاده از عصاره‌ی جوانه‌ی گندم باعث بهبود و افزایش میزان غلظت هورمون LH گردید.

بدین نحو که در گروه عصاره‌ی جوانه‌ی گندم با دوز ۱۰۰ همزمان با تجویز سرب، این افزایش غیر معنی‌دار بود ($P \leq 0/05$) اما در سایر گروه‌ها افزایش غلظت هورمون LH نسبت به گروه سرب، معنی‌دار بود ($P \leq 0/05$).
بر طبق نتایج مندرج در جدول ۳، میزان هورمون FSH در گروه سرب نسبت به گروه کنترل کاهش داشته است که این کاهش غیر معنی‌دار بود ($P \leq 0/05$). همچنین پس از تجویز عصاره‌ی جوانه‌ی گندم، غلظت این هورمون افزایش داشته است. به نحوی که در گروه تجویز همزمان سرب و عصاره‌ی جوانه‌ی گندم با دوز ۱۰۰ این افزایش غلظت نسبت به گروه سرب، غیر معنی‌دار بود اما در سایر گروه‌های تجویزی افزایش غلظت هورمون FSH معنی‌دار بوده است ($P \leq 0/05$).

جدول ۳: میانگین $\pm$ انحراف (خطای استاندارد) داده‌های هورمونی

عصاره	عصاره	سرب + عصاره	سرب + عصاره	سرب	کنترل	گروه
جوانه گندم ۲۰۰	جوانه گندم ۱۰۰	جوانه گندم ۲۰۰	جوانه گندم ۱۰۰			پارامتر (ng/ml)
۴/۹۳ $\pm$ ۰/۴۱ ^{bcdf}	۳/۸۵ $\pm$ ۰/۲۰ ^{bcde}	۲/۲۱ $\pm$ ۰/۶۱ ^{ad}	۱/۷۶ $\pm$ ۰/۴۷ ^{ac}	۱/۳۲ $\pm$ ۰/۵۱ ^{ab}	۴/۵۱ $\pm$ ۰/۴۷ ^a	استروژن
۴/۳۵ $\pm$ ۰/۴۲ ^{abf}	۴/۱۴ $\pm$ ۰/۷۲ ^{abe}	۳/۷۹ $\pm$ ۰/۲۵ ^{abd}	۳/۱۱ $\pm$ ۰/۳۶ ^{ac}	۲/۳۳ $\pm$ ۰/۳۱ ^{ab}	۶/۴۱ $\pm$ ۰/۴۴ ^a	LH
۴/۰۷ $\pm$ ۰/۸۱ ^{bcd}	۳/۶۵ $\pm$ ۰/۶۱ ^b	۳/۵۴ $\pm$ ۰/۵۸ ^b	۲/۳۲ $\pm$ ۰/۵۱ ^{ac}	۱/۷۸ $\pm$ ۰/۴۳ ^b	۴/۵۱ $\pm$ ۰/۴۷ ^a	FSH

حروف یکسان بیان‌گر معنی‌دار بودن داده‌ها می‌باشد ($P < 0/05$).

بحث

مطالعه‌ی حاضر اولین تحقیق در مورد استفاده از عصاره‌ی جوانه‌ی گندم در محافظت و جلوگیری از سمیت ناشی از سرب بر روی تخمدان می‌باشد. گفته شده است که جوانه‌ی گندم به خاطر داشتن منیزیم، روی، کلسیم، ویتامین E، ویتامین C، اسیدفولیک، تیامین، ریبوفلاوین، آهن، نیاسین و B12 گیاهی منحصر به فرد است (Kumar et al. 2011, Moradi et al. 2017). در پژوهش حاضر مشخص شد که سرب خاصیت آنتی-اکسیدانی سرم را به طور معنی‌داری کاهش می‌دهد و

تحت تأثیر عصاره‌ی جوانه‌ی گندم خاصیت آنتی‌اکسیدانی افزایش می‌یابد. کاهش خاصیت آنتی‌اکسیدانی موضوعی است که همواره پژوهشگران به عنوان یکی از نتایج مصرف سرب به آن اشاره نموده‌اند: Aykin-Burns و Ercal در سال ۲۰۰۶، Taupeau و همکاران در سال ۲۰۰۱، Waseem و همکاران در سال ۲۰۱۴، Arak و Assi در سال ۲۰۱۲ برخی از این پژوهشگران هستند. Hammed و همکاران در سال ۲۰۱۲ در پژوهش‌های خود به کاهش خاصیت آنتی‌اکسیدانی بر اثر مصرف سرب

اشاره نموده‌اند. نکته‌ای که با یافته‌های حاصل در پژوهش پیش رو مطابقت دارد. در مورد مکانیسم اثر سرب اختلاف وجود دارد، اما مهم‌ترین مکانیسم فلزات سنگین مخصوصاً سرب و کادمیوم را بر هم زدن تعادل پرو-اکسیدان/آنتی‌اکسیدان می‌دانند (Wang et al. 2007). همچنین در این پژوهش مشخص شد که سرب غلظت MDA سرم را به طور معنی‌داری افزایش می‌دهد و تحت تأثیر عصاره‌ی جوانه‌ی گندم غلظت MDA کاهش می‌یابد. به طوری که بیش‌ترین غلظت MDA در گروه استات سرب و کم‌ترین مقدار MDA در گروه استات سرب به همراه عصاره‌ی جوانه‌ی گندم با دوز ۱۰۰ میلی-گرم مشاهده شد. افزایش پراکسیداسیون لیپیدها از دیگر نتایج مصرف سرب می‌باشد. شواهد نشان می‌دهد که مواجهه با سرب موجب افزایش انواع اکسیژن واکنش‌گر (ROS) و پراکسیداسیون لیپید و در نتیجه منجر به آسیب بافتی می‌گردد (Moradi et al. 2017). نتایج ارزیابی آنتی‌اکسیدانی سرم در مطالعه‌ی حاضر نشان‌دهنده‌ی افزایش معنی‌دار غلظت مالون دی آلدئید (MDA) و کاهش معنی‌دار فعالیت آنتی‌اکسیدانی (AOA) در گروه سرب در مقایسه با گروه کنترل بود. در تطابق با این نتایج، گزارش شده است که سرب یک تحریک اکسیداتیو است که در برگیرنده‌ی تولید رادیکال‌های آزاد به میزان زیاد و در همان زمان تخلیه‌ی ذخایر آنتی‌اکسیدان است. به این ترتیب توانایی سیستم بیولوژیک را تخریب می‌کند (Morovvati et al. 2018). سرب به گروه‌های سولفیدریل و یا کوفاکتورهای فلزی در آنزیم‌های آنتی-اکسیدان مانند SOD و GPX باند می‌شود که منجر به کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌گردد (Dorostghol et al. 2014). وزن موش در گروه استات سرب نسبت به گروه کنترل کاهشی معنی‌دار داشته است، اما تجویز عصاره‌ی جوانه‌ی گندم جبران وزن از دست رفته را کرده است. در گروه استات سرب به همراه عصاره‌ی جوانه‌ی گندم با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم نسبت به گروه استات سرب افزایش معنی‌داری در افزایش وزن

مشاهده می‌شود که با تجویز دوز بیش‌تر عصاره‌ی جوانه‌ی گندم در گروه استات سرب به همراه عصاره‌ی جوانه‌ی گندم با دوز ۲۰۰ میلی‌گرم باز هم وزن موش بیش‌تر شده است. در گروه عصاره‌ی جوانه‌ی گندم با دوز ۱۰۰ میلی-گرم افزایش وزن موش اندک است اما در گروه عصاره‌ی جوانه‌ی گندم با دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بیش‌ترین وزن موش را داریم. وزن تخمدان در گروه استات سرب نسبت به گروه کنترل افزایش یافته است. همچنین در گروه‌هایی که عصاره‌ی جوانه‌ی گندم تجویز شده است وزن تخمدان نسبت به گروه کنترل افزایش نشان می‌دهد و وزن تخمدان در این گروه‌ها از گروه استات سرب نیز بیش‌تر می‌باشد. وزن نسبی تخمدان در گروه استات سرب نسبت به گروه کنترل افزایش یافته است. در دیگر گروه‌ها نیز افزایش وزن نسبی تخمدان نسبت به گروه کنترل مشاهده می‌گردد که در گروه‌های استات سرب به همراه عصاره‌ی جوانه‌ی گندم با دوز ۲۰۰ میلی‌گرم و عصاره‌ی جوانه‌ی گندم با دوز ۲۰۰ میلی‌گرم به دلیل تجویز بیش‌تر عصاره‌ی جوانه‌ی گندم این مقدار بیش‌تر است. گفته شده است که مکانیسم‌هایی که قبل از بلوغ منجر به کاهش وزن در موش می‌گردد، ارتباط مستقیم با تأخیر در بلوغ و همین‌طور نخستین تخمک‌گذاری دارد (Dijkstra et al. 1996). Taupeau و همکاران در سال ۲۰۰۱ بیان نمودند که وزن بدن موش سوری در گروه کنترل و گروه القا شده توسط سرب مشابه هم بوده است، امری که برخلاف یافته‌های این پژوهش می‌باشد. همچنین گفته شده است که استات سرب باعث افزایش وزن تخمدان به وزن بدن (وزن نسبی تخمدان) در رت می‌گردد (Arak and Assi 2011). همچنین علت افزایش وزن تخمدان در گروه استات سرب را به افزایش هورمون‌های گونادوتروپینی (LH و FSH) مرتبط دانسته‌اند که موجب تغییرات ساختاری و بافت‌شناسی نظیر وزن و قطر تخمدان می‌گردد (Froment et al. 2002). Dorostghol و همکاران در سال ۲۰۱۱ بیان نمودند که تجویز سرب در دوزهای ۲۰، ۱۰۰ و ۳۰۰ mg/L/day به صورت

خوراکی در آب در نوزادان ۱ تا ۲۱ روزه باعث کاهش وزن موش‌ها می‌گردد. Roins و همکاران مشاهده نمودند که مواجهه با سرب در دوران آبستنی و شیرواری باعث کاهش وزن نوزادهای متولد شده و همین طور کوتاه شدن طول crown-to-rump می‌گردد. McGivern و همکاران در سال ۱۹۹۱ و ghorbel و همکاران در سال ۲۰۰۰ نشان دادند که سرب موجب کاهش وزن تخمدان در رت می‌گردد.

در پژوهش حاضر القای سرب موجب کاهش غلظت LH و FSH و استروژن گردید و تجویز عصاره‌ی جوانه‌ی گندم تا حدودی نقایص ناشی از سرب را کاهش داد. Foster و Warren در سال ۱۹۹۲ بیان نمودند که سرب موجب کاهش غلظت هورمون LH و FSH در میمون‌های ساینومولگوس می‌گردد. همچنین گفته شده است که سرب موجب کاهش مقادیر غلظت LH پلاسما و هیپوفیز و اشغال جایگاه‌های پیوند LH در بیضه می‌گردد (Sokol 1990). Kimel و همکاران در سال ۱۹۸۰ نیز پس از القای سرب در رت، با کاهش غلظت LH مواجه شدند، امری که با یافته‌های حاصل از پژوهش پیش رو مطابقت دارد. Hammed و همکاران در سال ۲۰۱۲ در تحقیقی جهت مطالعه‌ی اثرات گرده‌ی خرما بر روی رت‌های ماده مشاهده نمودند که تجویز سرب به میزان ۱۰ میلی- گرم/کیلوگرم باعث کاهش غلظت هورمون LH و FSH در رت‌ها می‌گردد و خوراندن گرده‌ی نخل به صورت محلول به رت‌ها تا حدودی این کاهش غلظت را جبران نمود (Hammed et al. 2012). همچنین Assai و Arak در سال ۲۰۱۱ با تجویز سرب به میزان ۱۰ میلی- گرم/کیلوگرم غلظت هورمون LH و سپس خوراندن

عصاره‌ی هسته‌ی سیاه دانه به میزان ۱۰۰ میلی گرم به مدت ۸ هفته، یافته‌های خود را منتشر نمودند که در گروه استات سرب غلظت هر دو هورمون افزایش و در گروه استات سرب به همراه تجویز عصاره‌ی هسته‌ی سیاه دانه کاهش هر دو هورمون LH و FSH و همین طور استروژن را گزارش نمودند. Wiebe و همکاران در سال ۱۹۹۸ بیان نمودند که یک پارچگی سلولی برای اعمال تخمدانی و گیرنده‌های گونادوتروپینی موجود در غشای سلولی سلول‌های گرانولوزا مهم است. گونادوتروپین‌های LH و FSH با این گیرنده‌های موجود در غشا باند می‌شوند و روند استروئیدوژنز آغاز می‌گردد که این روند کنترل کننده‌ی تخمک‌گذاری و چرخه‌ی استروس می‌باشد (Wiebe et al. 1988). همچنین گزارش شده که قرار گرفتن در معرض سرب و یا کادمیوم ترکیب گونادوتروپین با این گیرنده‌ها را کاهش می‌دهد که منجر به کاهش تولید استروئید می‌گردد (Paksy et al. 2001).

با انجام پژوهش پیش رو مشخص گردید که تجویز استات سرب به میزان ۱۰ میلی گرم وزن بدن می‌تواند باعث کاهش غلظت هورمون‌های استروژن و LH و FSH در رت و افزایش خاصیت آنتی اکسیدانی می‌گردد. ضمن این که تجویز عصاره‌ی جوانه‌ی گندم می‌تواند کاهش غلظت هورمون‌های استروژن و LH و FSH و همین طور موجب کاهش شاخص MDA را جبران نماید. در نهایت می‌توان گفت که مصرف عصاره‌ی جوانه‌ی گندم به دلیل خاصیت ضد استرس اکسیداتیو می‌تواند در بهبود ضایعات ناشی از سرب بر هورمون‌های جنسی موش صحرایی مؤثر واقع گردد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه تهران به دلیل همکاری‌های بی شائبه قدردانی می‌گردد.

- Ahmed, M.B.; Ahmed, M.I.; Meki, A.R. and Abdraboh, N. (2013). Neurotoxic effect of lead on rats: Relationship to Apoptosis. *International Journal of Health Science (Qassim)*, 7(2): 192-199.
- Arak, J.K. and Assi, M.A. (2011). Effect of Nigella Sativa L. seeds on ovaries function in adult Rats treated with Lead Acetate. *Al-Anbar Medical Journal*, 9(1): 59-70.
- Dhir, V. and Dhand, P. (2010). Toxicological approach in chronic exposure to lead on reproductive functions in female rats (*Rattus norvegicus*). *Toxicology International*, 17(1): 1.
- Dijkstra, Grietje; de Rooij, Dirk G.; de Jong, Frank, H. and van den Hurk, Robert. (1996). Effect of hypothyroidism on ovarian follicular development, granulosa cell proliferation and peripheral hormone levels in the prepubertal rat. *European Journal of Endocrinology*, 134(5), 649-654.
- Dorostghoal, M.; Seyyednejad, S.M. and Jabari, A. (2014). Protective effects of *Fumaria parviflora* L. on lead-induced testicular toxicity in male rats. *Andrologia*, 46(4): 437-446.
- Dorostghoal, M.; Moazedi, A.A. and Moattari, M. (2011). Long-term Developmental Effects of Lactational Exposure to Lead Acetate on Ovary in Offspring Wistar Rats. *International Journal Fertil Steril*, 5(1): 39-46.
- Ercal, Nuran.; Gurer-Orhan, Hande, and Aykin-Burns, Nukhet. (2001). Toxic metals and oxidative stress part I: mechanisms involved in metal-induced oxidative damage. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 1(6): 529-539.
- Foster, Warren G. (1992). Reproductive toxicity of chronic lead exposure in the female cynomolgus monkey. *Reproductive Toxicology*, 6(2): 123-131.
- Froment, Pascal.; Seurin, Danielle.; Hembert, Stéphanie.; Levine, Jon E.; Pisselet, Claudine.; Monniaux, Danielle.; Monget, Philippe. (2002). Reproductive abnormalities in human IGF binding protein-1 transgenic female mice. *Endocrinology*, 143(5): 1801-1808.
- Ghorbel, F.; Smaoui, M.; Makni-Ayadi, F. and Kammoun, A. (2000). Effects of automobile lead on the general growth and sexual activity of the rat. *Gynecologie, Obstetrique and Fertilité*, 28(1): 51-59.
- Hammed, M.S.; Arrak, J.K.; Al-Khafaji, N.J. and Hassan, A.A. (2012). Effect of date palm pollen suspension on ovarian function and fertility in adult female rats exposed to lead acetate. *Diyala Journal Medical*, 3(1): 90-96.
- Kimmel, Carole. A.; Grant, Lester, D.; Sloan, Carol S. and Gladen, Beth C. (1980). Chronic low-level lead toxicity in the rat: I. Maternal toxicity and perinatal effects. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 56(1): 28-41.
- Kumar, Pawan.; Yadava, R.K.; Gollen, Babita.; Kumar, Sandeep.; Verma, Ravi Kant.; & Yadav, Sanjay. (2011). Nutritional contents and medicinal properties of wheat: a review. *Life Science Medical Research*, 22: 1-10.
- McGivern, Robert. F.; Sokol, Rebecca. Z.; & Berman, Nancy G. (1991). Prenatal lead exposure in the rat during the third week of gestation: long-term behavioral, physiological, and anatomical effects associated with reproduction. *Toxicology and applied pharmacology*, 110(2): 206-215.
- Moradi, H.R.; Morovvati, H.; Adibmoradi, M. and Najafzadeh Varzi, H. (2017). The Effect of Wheat Sprout Extract on Skin Injury Following Injection of Lead Acetate in Rat. *Armaghane Danesh*, 22(2): 161-175. (in persian).
- Morovvati, H.; Moradi, H.R. and Biabani, M. (2018). Effect of Hydroalcoholic Extract of Wheat Sprout On Histology and Histometry Structure of Rat's Prostate Exposed to Lead. *Iranian South Medical Journa*, 20(6): 540-552. (in persian)
- Morovvati, H.; Moradi, H.R.; Adibmoradi, M.; Sheybani, M.T.; Salar amoli, J. and Kalantari hesari, A. (2016). Effects of Wheat Sprout Extract on the Quality of Sperm in Rats Exposed to Lead. *Scientific-Research Iranian Veterinary Journal*, 12(3): 76-85. (in persian)
- Paksy, Katalin.; Gáti, István.; Náray, Miklós.; & Rajczy, Klára. (2001). Lead accumulation in human ovarian follicular fluid, and in vitro effect of lead on progesterone production by cultured human ovarian granulosa cells. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 62(5): 359-366.
- Ronis, Martin J.J.; Badger, Thomas M.; Shema, Sarah J.; Roberson, Paula K. and Shaikh, Fatima. (1996). Reproductive Toxicity and Growth Effects in Rats Exposed to Lead at Different Periods during Development. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 136(2): 361-371.

- Sharma, R.; Qureshi, N.; Mogra, Sh. and Panwar, K. (2012). Lead Induced Infertility in Swiss Mice and Role of Antioxidants. *Universal Journal of Environmental Research and Technology*, 2(2): 72-82.
- Silberstein, Tali,; Saphier, Oshra,; Paz-Tal, Ofra,; Trimarchi, James R.; Gonzalez, Liliana, & Keefe, David L. (2006). Lead concentrates in ovarian follicle compromises pregnancy. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 20(3): 205-207.
- Sokol, R.Z. (1990). The Effect of Duration of Exposure on the Expression of Lead Toxicity on the Male Reproductive Axis. *Journal of Andocrinology*, 11(6): 521-526.
- Taupeau, C.; Poupon, J.; Nome, F. and Lefevre, B. (2001). Lead accumulation in the mouse ovary after treatment-induced follicular atresia. *Reproductive Toxicology*, 15(4): 385-391.
- Treuting, Piper M. and Dintzis, Suzanne M. (2012). *Comparative Anatomy and Histology A Mouse and Human*. Amsterdam ; Boston : Elsevier/ Academic Press, Pp: 56-64.
- Wang, Chunhong,; Liang, Jiancheng,; Zhang, Chunlian,; Bi, Yongyi,; Shi, Xianglin,; & Shi, Qun. (2007). Effect of ascorbic acid and thiamine supplementation at different concentrations on lead toxicity in liver. *Annals of Occupational Hygiene*, 51(6): 563-569.
- Waseem, N.; Butt, S.A. and Hamid, S. (2014). Amelioration of lead induced changes in ovary of mice, by garlic extract. *Journal Pakistan Medical Associate*, 64(7): 798-801.
- Wiebe, John P.; Barr, Kevin J. and Buckingham, Kevin D. (1988). Effect of prenatal and neonatal exposure to lead on gonadotropin receptors and steroidogenesis in rat ovaries. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 24(4): 461-476.

Effect of Wheat Sprout Extract on Changes in Ovarian Sex Hormones in Rat Exposed to Lead

Hadijafari, M.¹ and Morovvati, H.²

Received: 03.08.2018

Accepted: 08.12.2018

Abstract

The effects of lead toxicity, even at low levels, have several disabilities, such as weakness, impaired ability and intellectual behavior of children, loss of hearing and vision, reduced sperm quality and fertility in women. On the other hand, treatments by medicinal herbs such as wheat germ, which is rich in antioxidants such as E, thiamine, zinc, phenolic acids, alkylaryosuronquids, aminophenols, and aminobenzoic acids, can be considered. Thirty adult male Wistar rats (240 ± 20 g) were divided in 6 groups: control (without treatment), 10 mg lead, hydroalcoholic extract of wheat germ with doses of 100 and 200 mg, lead in conjunction with hydroalcoholic extract of wheat germ with Doses of 100 and 200 mg were divided. On day 36, blood samples were taken and the antioxidant properties of the LH and FSH hormones and estrogen levels were evaluated. Rat weight and ovarian weight decreased in the induction group with a dose of 10 mg. Also, the concentration of estrogen, LH and FSH and antioxidant activity in the lead group decreased with different amounts, and in the hydroalcoholic extract group, wheat germ increased. Hydroalcoholic extract of wheat germ can compensate for lead-induced lesions, which depends on the dose of prescription.

Key words: Wheat sprout, Sex Hormones, Lead, Ovary, Rat

1- PhD Graduated of Histology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

2- Professor, Department of Basic Science, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

Corresponding Author: Morovvati, H., E-mail: hmorovvati@ut.ac.ir