

مقاله پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان

دوره ۱۶، مهر ۱۳۹۶، ۵۹۳-۶۰۴

تغییرات وابسته به دوز عصاره هیدروالکلی کلم بروکلی در کنترل استرس اکسیداتیو القایی دیازینون بر سلول‌های بافت بیضه موش صحرایی نر بالغ

محمدرضا قادری فروغ^۱، مهدیه رئیس‌زاده^۲، علی‌اکبر امیری^۳

دریافت مقاله: ۹۶/۲/۳ ارسال مقاله به نویسنده جهت اصلاح: ۹۶/۲/۲۴ دریافت اصلاحیه از نویسنده: ۹۶/۶/۲۶ پذیرش مقاله: ۹۶/۶/۲۸

چکیده

زمینه و هدف: دیازینون از سموم ارگانوفسفره بوده که به صورت وسیع به عنوان حشره‌کش استفاده شده و سبب نابرابری در جنس نر می‌شود. هدف از این پژوهش بررسی اثرات عصاره هیدروالکلی کلم بروکلی بر کنترل استرس اکسیداتیو دیازینون در سلول‌های بافت بیضه موش صحرایی بود.

مواد و روش‌ها: این پژوهش از نوع تجربی بر روی ۳۰ سر موش صحرایی نر بالغ به وزن ۲۵۰-۲۰۰ گرم انجام شد. گروه کنترل بدون تیمار بود و گروه آزمایش اول دیازینون به میزان ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به صورت داخل صفاقی و گروه‌های آزمایش دوم، سوم و چهارم علاوه بر سم، به ترتیب عصاره هیدروالکلی کلم بروکلی به مقدار ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به مدت ۲۸ روز به صورت داخل صفاقی دریافت کردند. بعد از وزن‌کشی، حیوانات به صورت انسانی معدوم شدند. بیضه راست برای مطالعات هیستولوژیک و بیضه چپ برای اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدئید استفاده شد. داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی Tukey مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها: در پایان مطالعه، میانگین و انحراف معیار کمترین وزن موش $279/763 \pm 11/899$ گرم در آزمایش اول و بیشترین در آزمایش چهارم $311/831 \pm 8/976$ گرم بود که این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار شد ($P=0/038$). در ارتباط با سلول‌های سرتولی، اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت و اسپرماتید در آزمایش چهارم به ترتیب $28/751 \pm 1/544$ ، $60/501 \pm 4/828$ و $50/3 \pm 11/677$ و $184/120 \pm 19/593$ بیشترین سلول بوده که دارای اختلاف آماری معنی‌داری با آزمایش اول بود ($P=0/040$). بیشترین غلظت مالون‌دی‌آلدئید در آزمایش اول $3/805 \pm 0/017$ و کمترین غلظت در آزمایش چهارم $2/204 \pm 0/056$ میکرومول بر میلی‌لیتر به دست آمد ($P<0/05$).

نتیجه‌گیری: عصاره هیدروالکلی کلم بروکلی در دوز ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن بر آسیب اسپرماتوژنز ناشی از دیازینون در موش صحرایی نر تأثیر مثبت دارد.

واژه‌های کلیدی: استرس اکسیداتیو، عصاره هیدروالکلی کلم بروکلی، دیازینون، بافت بیضه، موش صحرایی

۱- دانشجوی دکتری عمومی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، واحد سنجند، دانشگاه آزاد اسلامی، سنجند، ایران

۲- (نویسنده مسئول) استادیار گروه آموزشی علوم پایه، واحد سنجند، دانشگاه آزاد اسلامی، سنجند، ایران

تلفن: ۰۸۷-۳۳۲۸۸۶۶۱، دورنگار: ۰۸۷-۳۳۲۸۸۶۶۲، پست الکترونیکی: vet_mr@yahoo.com

۳- مربی گروه آموزشی علوم پایه، واحد سنجند، دانشگاه آزاد اسلامی، سنجند، ایران

مقدمه

بررسی علل و عوامل ایجادکننده ناباروری در جنس نر و چگونگی جلوگیری از ایجاد ناباروری دارای اهمیت ویژه‌ای است. اهمیت عوامل استرس اکسیداتیو مانند مواد شیمیایی، دارویی، تشعشعات و ذرات عفونی بر تغییرات کمی سلول‌های بیضه در حیوانات آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفته است و مطالعه بر روی مکانیسم اثر و نحوه پیشگیری از آن‌ها مورد توجه می‌باشد [۱].

گونه‌های فعال اکسیژن (Reactive Oxygen Species; ROS) به عنوان یک فاکتور مشارکت‌کننده در گروهی از آسیب‌های بافتی شناخته شده است. آفت‌کش‌ها ترکیباتی شیمیایی هستند که به طور وسیع در کشاورزی، دامپزشکی، صنعت، باغبانی و منازل استفاده می‌شوند [۲]. این ترکیبات می‌تواند سبب افزایش تولید ROS و یا کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و یا هر دو مورد شود که درواقع مبین وجود شرایط استرس اکسیداتیو است و منجر به آسیب بافتی می‌گردد [۳-۴].

دیازینون سمی بی‌رنگ و روغنی است که موجودات زنده به‌ویژه انسان به‌طور مستقیم و غیرمستقیم در معرض این سم قرار می‌گیرند [۵]. این سم با مهار آنزیم استیل‌کولین استراز، سبب اختلال در عملکرد سیستم اعصاب می‌شود [۶]. از اثرات سیستمیک این سم می‌توان به کاهش سطح هورمون‌های تیروئیدی T3 و T4، کاهش وزن نسبی بدن و ارگان‌های ایمنی مانند تیموس و همچنین کاهش پاسخ بافت‌ها و ارگان‌های جنسی نر به اثرات دی‌هیدروکسی‌تستوسترون اشاره کرد [۷].

همچنین در خصوص عملکرد سموم ارگانوفسفره در دستگاه تناسلی مردان می‌توان به اختلال در روند اسپرماتوژنز، تغییرات هورمونی و ژنوتوکسیک اشاره نمود

[۸]. علاوه بر این، القای استرس اکسیداتیو سبب اکسیداسیون چربی‌ها و تولید مالون‌دی‌آلدئید به‌عنوان شاخص اصلی استرس اکسیداتیو لیپیدها و اعمال عملکرد معیوب اسپرم شود [۹-۱۱]. کاهش کیفیت مایع منی و اسپرم، کاهش تحرک و زنده ماندن اسپرم و افزایش آسیب‌هایی با ناهنجاری‌های مورفولوژیک از جمله موارد آسیب این سموم به بافت بیضه است [۱۲].

کلم بروکلی (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) بومی کشور ایتالیا بوده و در ایران در نواحی شمالی کشت می‌شود. یکی از سبزی‌های مهم و با ارزش غذایی بالاست که سرشار از ویتامین‌ها، آنتی‌اکسیدان‌ها و ترکیبات ضد سرطانی است. خواص ضد سرطانی کلم بروکلی به سبب وجود ویتامین E (آلفاتوکوفرول)، ویتامین C (آسکوربیک)، فلاونوئیدها (کوئرستین و کامپفرول)، کاروتنوئیدها (کاروتن و لوتئین) و گلوکوسینات‌ها است [۱۳-۱۴]. پلی فنل‌های موجود در کلم بروکلی با فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالا می‌توانند به‌عنوان خنثی‌کننده‌های بسیار قوی رادیکال آزاد اکسیژن باشند [۱۵]. پوترسین نیز با نقش آنتی‌اکسیدانی خود مقاومت به تنش‌های اکسیداتیو را زیاد می‌کند که با افزایش ترکیبات فنلی همراه است. همچنین می‌تواند با خنثی کردن رادیکال‌های آزاد اکسیژن، از آسیب‌های احتمالی آن بر سلول جلوگیری کند و باعث افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بدن شود [۱۵].

کلم بروکلی اثرات آنتی‌اکسیدانی و سیتوپروتکتیو خود را در مقابل بسیاری از بیماری‌ها از جمله پارکینسون، سرطان پستان، پرستات، مثانه، کلیه و کبد نشان داده است [۱۶-۱۷].

با توجه به پتانسیل‌های آنتی‌اکسیدانی قوی کلم بروکلی و اهمیت کنترل و پیشگیری از استرس اکسیداتیو القایی

توسط سم دیازینون و آسپ‌های ناباروری متأثر از آن [۱۲]، هدف از این مطالعه بررسی تغییرات وابسته به دوز عصاره هیدروالکلی کلم بروکلی بر تغییرات کمی سلول‌های بیضه در استرس اکسیداتیو ناشی از دیازینون در موش صحرایی نر بالغ بود.

مواد و روش‌ها

این پژوهش تجربی بر روی ۳۰ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار با وزن ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم انجام شد. حیوانات در خانه حیوانات دانشکده دامپزشکی سنندج در پاییز سال ۱۳۹۴، در شرایط استاندارد ۱۲ ساعت نور، ۱۲ ساعت تاریکی، دمای 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۴۵-۵۰ درصد نگهداری شدند.

با اضافه کردن ۰/۲ میلی‌لیتر سم دیازینون (شرکت اکسیر کشاورزی) به ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر ۲۵ درجه امولسیون تهیه شد. با انجام آزمایش‌ها و تعیین LD50 (دوز ۵۰ درصد کشندگی)، میزان تجویز داخل صفاقی ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن در نظر گرفته شد [۱۸].

با توجه به عدم انجام آزمایش بر روی عصاره هیدروالکلی کلم بروکلی، طی طرح پایلوت، دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به صورت داخل صفاقی برای حیوانات در نظر گرفته شد [۱۹]. عصاره هیدروالکلی کلم بروکلی نیم ساعت قبل از تجویز سم به حیوان تزریق می‌شد.

برای انجام آزمایش، حیوانات به‌طور تصادفی به ۵ گروه به شرح زیر در قفس‌های جداگانه نگهداری شدند: گروه کنترل بدون دریافت هیچ‌گونه تیماری فقط مشابه گروه‌های دیگر با آب و کنسانتره استاندارد تغذیه شدند. گروه آزمایش اول تزریق داخل صفاقی دیازینون با دوز ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به مدت ۲۸ روز، گروه‌های

آزمایش دوم و سوم و چهارم به همراه تزریق داخل صفاقی دیازینون با دوز ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن و نیز عصاره هیدروالکلی کلم بروکلی به ترتیب با دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، به صورت داخل صفاقی تزریق شد [۱۹-۱۸]. برای تجویز عصاره کلم بروکلی، از پودر تهیه‌شده از عصاره با کمک آب مقطر استریل غلظت‌های ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درصد عصاره ساخته شد. سپس با توجه به محاسبات دارویی انجام‌شده برای دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن، نیازمند ۰/۰۰۱ میلی‌لیتر به ازای هر گرم موش است. با توجه به غلظت‌های متفاوت، با این روش حجم یکسان از عصاره به هر گروه از موش‌ها تجویز شد [۱۹].

یک روز بعد از اتمام دوره، موش‌ها در هر گروه وزن‌گیری شدند. سپس حیوانات با کمک دوز بالای تیوپنتال آسان‌کشی شدند [۱۸]. با ایجاد شکافی در قسمت تحتانی شکم، بیضه‌های راست و چپ خارج گردید. وزن آنها با ترازوی دیجیتال (AND مدل EKI200 ساخت کشور ژاپن) و قطرشان با کولیس (Mahr مدل 16ER ساخت کشور آلمان) اندازه‌گیری شد. بیضه چپ برای بررسی بافت‌شناسی در محلول فیکساتیو (فرمالین بافر ۱۰ درصد) قرار گرفت. بعد از انجام مراحل آب‌گیری، مقطع‌گیری با میکروتوم به ضخامت ۵ میکرون به روش هماتوکسیلین-ئوزین رنگ‌آمیزی شد. از هر بیضه سه مقطع میکروسکوپی (میکروسکوپ نیکون E100 ساخت کشور ژاپن) به صورت سریالی تهیه شد. سپس تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت، سرتولی، اسپرماتید هر لام در سطح مقطع ۵ توبول شمارش شد. اعداد به دست آمده به صورت میانگین برای هر موش محاسبه شد [۲۰].

بیضه راست برای اندازه‌گیری غلظت مالون‌دی‌آلدئید به‌عنوان شاخص اکسیداتیو چربی‌ها در بافت بیضه با روش تیوباربیتوریک اسید (Thio Barbituric Acid; TBA) مورد استفاده قرار گرفت.

کلم بروکلی جمع‌آوری شده از اراضی کشاورزی همدان در اردیبهشت ماه سال ۱۳۹۴، بعد از تأیید توسط مرکز هرباریوم دانشگاه کردستان (No: 30072)، در حرارت ۲۵ درجه سانتی‌گراد و در شرایط سایه خشک شد. بعد از آسیاب کردن (Waring WCG75E ساخت کمپانی Waring آمریکا)، در داخل ظروف مخصوص ریخته و در ۳۰۰ گرم/یک‌لیتر اتانول ۸۰ درصد به مدت ۴۸ ساعت نگه‌داشته شد. پس از صاف کردن (Whatman, Germany) اتانول از محلول به‌وسیله دستگاه روتاری تحت خلأ (RV8V-C ساخت شرکت IKA آلمان) برداشته شد. عصاره به‌دست‌آمده در نرمال‌سالین حل و تا زمان استفاده در یخچال ۴ درجه (مدل MR94 شرکت توسعه و تجهیز کارما آزما اندیش) سانتی‌گراد نگهداری شد [۱۴].

تعیین غلظت مالون‌دی‌آلدئید به روش تیوباربیتوریک اسید انجام گرفت. نمونه هم‌وزنه بافت بیضه به میزان ۰/۱ گرم به ازای میلی‌لیتر رقیق شد. در هر لوله ۱ میلی‌لیتر از هم‌وزنه حاصل با ۲ میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک اسید (TCA) (۱۰w/v) مخلوط و ورتکس شد تا پروتئین‌ها کاملاً رسوب کنند. سپس لوله‌ها به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ (EBA21 ساخت شرکت Hettich آلمان) شدند. در لوله شاهد نیز ۱ میلی‌لیتر آب مقطر با ۲ میلی‌لیتر TCA (۱۰w/v) مخلوط شد.

برای رسم منحنی استاندارد از محلول استوک مالون‌دی‌آلدئید ۱۰۰۰ میکرومول استفاده شد. ۱۶/۴ میلی‌لیتر از این استوک برداشته در ارلن ۱۰۰ ریخته و

به‌وسیله اسیدسولفوریک (۱٪ حجمی/حجمی) به حجم رسانده شد. غلظت‌های ۰/۳۹، ۰/۷۸، ۱/۵۶، ۳، ۶، ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۲۵ میکرومول ساخته شد. از هر یک از لوله‌های استاندارد، شاهد و لوله‌های حاوی نمونه، به میزان ۶۰۰ میکرولیتر از محلول رویی جهت سنجش غلظت مالون‌دی‌آلدئید مورد استفاده قرار گرفت و در لوله‌های جداگانه ریخته شد. به هر لوله ۱۲۰۰ میکرولیتر معرف تیوباربیتوریک اسید (۶۷٪ وزنی/حجمی) اضافه گردید. لوله‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در بن‌ماری (WB-22 ساخت کمپانی Memmert آلمان) در حال جوش قرار گرفتند و پس از خروج از بن‌ماری خنک شدند. سپس ۴ میلی‌لیتر n-بوتانول افزوده شد. جذب نمونه‌ها در برابر شاهد به‌وسیله دستگاه اسپکتروفوتومتر UV/Vis مدل DR6000 ساخت کمپانی HACH-LANGE آمریکا) در طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد [۲۱].

داده‌های به‌دست‌آمده از اطلاعات وزن موش‌ها، هیستومورفومتريک بیضه (قطر و وزن)، سلول‌شناسی بافت بیضه و غلظت مالون‌دی‌آلدئید به‌صورت میانگین و انحراف معیار گزارش گردید. بعد از انتخاب گروه‌ها به‌صورت تصادفی، با استفاده از آزمون Kolmogorov-Smirnov توزیع نرمال داده‌ها و با استفاده از آزمون Leven پیش‌فرض برابری واریانس‌ها کنترل شد. سپس از آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی Tukey به‌منظور مقایسه میانگین گروه‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۱ استفاده شد. سطح معنی‌داری در آزمون‌ها ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج

بر اساس نتایج به‌دست‌آمده از وزن موش‌ها در پایان مطالعه، میانگین و انحراف معیار کمترین وزن در گروه

($P=0/038$). در ارتباط با میانگین وزن بیضه راست و چپ و قطر بیضه‌ها اگرچه کمترین میزان در گروه دریافت سم و بیشترین در گروه کنترل و دریافت عصاره با دوز ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن مشاهده شد، اما فقط در ارتباط با قطر بیضه چپ بین گروه آزمایش اول و سوم، این اختلاف معنی‌دار شد ($P<0/05$) (جدول ۱).

دریافت سم با $279/763 \pm 11/899$ گرم و بیشترین وزن در گروه دریافت‌کننده عصاره هیدروالکلی کلم بروکلی به میزان ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن $311/831 \pm 8/976$ گرم به دست آمد. اختلاف به‌دست‌آمده از متوسط وزن موش‌های دریافت‌کننده سم دیازینون با گروه کنترل و گروه دریافت‌کننده عصاره کلم بروکلی با دوز حداکثری از نظر آماری معنی‌دار شد

جدول ۱- میانگین و انحراف معیار وزن موش‌ها در ابتدا و انتهای مطالعه در موش‌های نر نژاد ویستار برحسب گروه‌های مختلف

گروه	وزن موش در روز اول (گرم)	وزن موش در روز بیست و هشتم (گرم)
گروه C	$241/832 \pm 5/167^a$	$304/331 \pm 2/780^a$
گروه T1	$242/334 \pm 5/829^a$	$279/763 \pm 11/899^b$
گروه T2	$234/670 \pm 3/947^a$	$292/671 \pm 6/469^{a,b}$
گروه T3	$248/335 \pm 5/667^a$	$300/501 \pm 3/801^{a,b}$
گروه T4	$250/200 \pm 11/180^a$	$311/831 \pm 8/976^a$

حروف غیر مشابه لاتین به‌صورت ستونی نشانه اختلاف آماری معنی‌دار در بین گروه‌ها است ($P<0/05$).

گروه C: گروه شاهد منفی بدون هرگونه مداخله

گروه T1: تجویز سالین نرمال به همراه دیازینون ۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن

گروه T2: به همراه سم، دریافت ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن عصاره هیدروالکلی کلم بروکلی

گروه T3: به همراه سم، دریافت ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن عصاره هیدروالکلی کلم بروکلی

گروه T4: به همراه سم، دریافت ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن عصاره هیدروالکلی کلم بروکلی

آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی Tukey

تعداد در گروه آزمایش اول با $32/754 \pm 4/061$ سلول بود. اختلاف آماری معنی‌داری بین تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی در گروه آزمایش اول با گروه کنترل و سایر گروه‌های آزمایش دیده شد ($P=0/040$). در خصوص سلول‌های اسپرماتوسیت، در گروه آزمایش اول با $119/125 \pm 7/411$ سلول کمترین تعداد و در گروه آزمایش چهارم با $202/503 \pm 11/677$ سلول بیشترین تعداد شمارش شد؛ به‌نحوی که با افزایش دوز عصاره کلم بروکلی تعداد این سلول‌ها افزایش یافت و در گروه آزمایش چهارم بیشترین میانگین را به خود اختصاص داد (جدول ۲).

طی مطالعات سلول‌شناسی بافت بیضه، بیشترین میانگین تعداد سلول‌های سرتولی در گروه آزمایش چهارم (با $28/751 \pm 1/544$ سلول) و کمترین در گروه آزمایش اول (با $16/632 \pm 1/375$ سلول) وجود داشت. اختلاف آماری معنی‌داری بین تعداد سلول‌های سرتولی در گروه آزمایش اول با گروه کنترل، و گروه‌های آزمایش دوم، سوم و چهارم که دریافت‌کننده عصاره کلم بروکلی با دوزهای به ترتیب ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن بودند، دیده شد (جدول ۲).

در ارتباط با سلول‌های اسپرماتوگونی که در اولین لایه سلولی واقع شده‌اند، میانگین و انحراف معیار کمترین

جدول ۲- میانگین و انحراف معیار پارامترهای هیستومورفومتریک بیضه‌های موش‌های نر نژاد ویستار برحسب گروه‌های مختلف

گروه	وزن بیضه چپ (گرم)	قطر بیضه چپ (گرم)	وزن بیضه راست (سانتی‌متر)	قطر بیضه راست (سانتی‌متر)
گروه کنترل	۱/۸۰۲±۰/۰۳۸ ^a	۲/۲۰۱±۰/۰۴۴ ^{a,b}	۱/۷۷۴±۰/۰۳۳ ^a	۲/۴۲۱±۰/۰۳۶ ^a
گروه T1	۱/۶۵۱±۰/۰۷۴ ^a	۱/۹۰۲±۰/۰۴۴ ^a	۱/۷۰۵±۰/۰۳۴ ^a	۲/۱۵۲±۰/۰۲۲ ^a
گروه T2	۱/۷۸۲±۰/۰۱۱ ^a	۲/۱۵۰±۰/۰۵۶ ^{a,b}	۱/۵۹۱±۰/۰۲۸ ^a	۲/۰۸۰±۰/۰۳۰ ^a
گروه T3	۱/۷۴۳±۰/۰۰۴ ^a	۲/۳۳۲±۰/۰۳۳ ^b	۱/۶۹۰±۰/۰۲۰ ^a	۲/۳۵۲±۰/۰۲۲ ^a
گروه T4	۱/۷۷۰±۰/۰۱۵ ^a	۲/۳۰۰±۰/۰۲۱ ^{a,b}	۱/۷۶۰±۰/۰۳۵ ^a	۲/۲۸۳±۰/۰۳۰ ^a

حروف غیرمشابه لاتین به صورت ستونی نشانه اختلاف آماری معنی‌دار در بین گروه‌ها است ($P < 0.05$).

گروه C: گروه شاهد منفی بدون هرگونه مداخله

گروه T1: تجویز سالی‌ن نرمال به همراه دیازینون ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن

گروه T2: به همراه سم، دریافت ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن عصاره هیدروالکلی کلم بروکلی

گروه T3: به همراه سم، دریافت ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن عصاره هیدروالکلی کلم بروکلی

گروه T4: به همراه سم، دریافت ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن عصاره هیدروالکلی کلم بروکلی

آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی Tukey

در مورد سلول‌های اسپرماتید بیشترین میانگین مربوط

به گروه دریافت‌کننده ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن

عصاره کلم بروکلی برابر با ۱۸۴/۱۲۰±۱۹/۵۹۳ سلول بود

و در گروه دریافت‌کننده دیازینون (آزمایش اول) کمترین

تعداد برابر با ۸۱/۶۳۰±۸/۹۱۰ سلول وجود داشت؛

به‌نحوی که عصاره ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن

کلم بروکلی در افزایش سلول‌های اسپرماتید تا بیش از دو

برابر مؤثر بوده است. اختلاف بین گروه آزمایش اول با

گروه کنترل و سایر گروه‌های آزمایش دوم، سوم و چهارم

معنی‌دار شد ($P < 0.05$) (جدول ۲).

بر اساس جدول ۳ میانگین و انحراف معیار غلظت

مالون‌دی‌آلدئید بافت بیضه، در گروه کنترل

۲/۶۲۰±۰/۰۳۲، در گروه دریافت سم دیازینون

۲/۶۲۰±۰/۰۳۲، در گروه دریافت سم دیازینون

۲/۶۲۰±۰/۰۳۲، در گروه دریافت سم دیازینون

۲/۶۲۰±۰/۰۳۲، در گروه دریافت سم دیازینون

۲/۶۲۰±۰/۰۳۲، در گروه دریافت سم دیازینون

۲/۶۲۰±۰/۰۳۲، در گروه دریافت سم دیازینون

۲/۶۲۰±۰/۰۳۲، در گروه دریافت سم دیازینون

۲/۶۲۰±۰/۰۳۲، در گروه دریافت سم دیازینون

۲/۶۲۰±۰/۰۳۲، در گروه دریافت سم دیازینون

۲/۶۲۰±۰/۰۳۲، در گروه دریافت سم دیازینون

۲/۶۲۰±۰/۰۳۲، در گروه دریافت سم دیازینون

۲/۶۲۰±۰/۰۳۲، در گروه دریافت سم دیازینون

۲/۶۲۰±۰/۰۳۲، در گروه دریافت سم دیازینون

۲/۶۲۰±۰/۰۳۲، در گروه دریافت سم دیازینون

۲/۶۲۰±۰/۰۳۲، در گروه دریافت سم دیازینون

۲/۶۲۰±۰/۰۳۲، در گروه دریافت سم دیازینون

۲/۶۲۰±۰/۰۳۲، در گروه دریافت سم دیازینون

۲/۶۲۰±۰/۰۳۲، در گروه دریافت سم دیازینون

۲/۶۲۰±۰/۰۳۲، در گروه دریافت سم دیازینون

۲/۶۲۰±۰/۰۳۲، در گروه دریافت سم دیازینون

۲/۶۲۰±۰/۰۳۲، در گروه دریافت سم دیازینون

۲/۶۲۰±۰/۰۳۲، در گروه دریافت سم دیازینون

۲/۶۲۰±۰/۰۳۲، در گروه دریافت سم دیازینون

۲/۶۲۰±۰/۰۳۲، در گروه دریافت سم دیازینون

۲/۶۲۰±۰/۰۳۲، در گروه دریافت سم دیازینون

۲/۶۲۰±۰/۰۳۲، در گروه دریافت سم دیازینون

۲/۶۲۰±۰/۰۳۲، در گروه دریافت سم دیازینون

۲/۶۲۰±۰/۰۳۲، در گروه دریافت سم دیازینون

۲/۶۲۰±۰/۰۳۲، در گروه دریافت سم دیازینون

۲/۶۲۰±۰/۰۳۲، در گروه دریافت سم دیازینون

۲/۶۲۰±۰/۰۳۲، در گروه دریافت سم دیازینون

۲/۶۲۰±۰/۰۳۲، در گروه دریافت سم دیازینون

جدول ۳- میانگین و انحراف معیار برخی از سلول‌های بافت بیضه در نژاد ویستار برحسب گروه‌های مختلف

گروه	سر تولی	اسپرماتوگونی	اسپرماتوسیت	اسپرماتید
گروه C	۲۰/۸۸۱±۱/۱۸۷ ^a	۵۴/۷۵۰±۳/۷۶ ^a	۱۲۳/۲۵۱±۶/۵۴۱ ^a	۱۷۵/۱۳۲±۵/۲۵۲ ^a
گروه T1	۱۶/۶۳۲±۱/۳۷۵ ^b	۳۲/۷۵۴±۴/۰۶۱ ^b	۱۱۹/۱۲۵±۷/۴۱۱ ^a	۸۱/۶۳۰±۸/۹۱۰ ^b
گروه T2	۲۴/۳۸۲±۱/۸۰۲ ^c	۵۶/۱۳۳±۴/۶۱۹ ^a	۱۷۸/۸۸۳±۱۱/۹۹ ^b	۱۷۱/۵۰۵±۲۳/۷۴۰ ^a
گروه T3	۲۶/۸۸۲±۲/۰۱۳ ^c	۵۶/۵۰۰±۶/۰۸۹ ^a	۱۸۸/۷۵۵±۷/۵ ^b	۱۷۱/۲۵۰±۲۰/۹۸۳ ^a
گروه T4	۲۸/۷۵۱±۱/۵۴۴ ^d	۶۰/۵۰۱±۴/۷۲۸ ^a	۲۰۲/۵۰۳±۱۱/۶۷۷ ^b	۱۸۴/۱۲۰±۱۹/۵۹۳ ^a

حروف غیر مشابه لاتین به صورت ستونی نشان بر اختلاف آماری معنی دار بین گروه‌ها است ($P < 0.05$).

گروه C: گروه شاهد منفی بدون هرگونه مداخله

گروه T1: تجویز سالیین نرمال به همراه دیازینون ۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن

گروه T2: به همراه سم، دریافت ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن عصاره هیدروالکلی کلم بروکلی

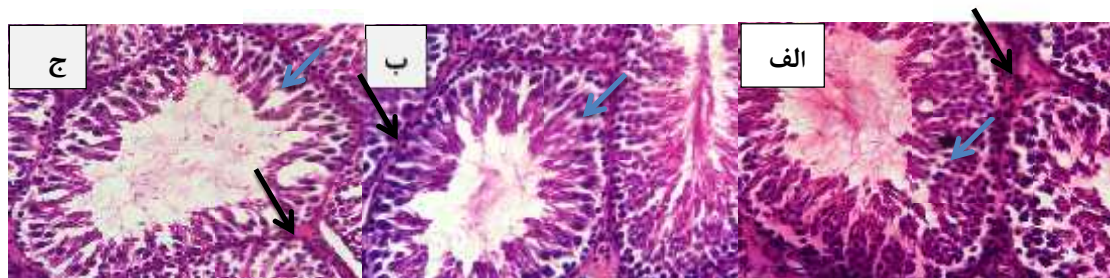
گروه T3: به همراه سم، دریافت ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن عصاره هیدروالکلی کلم بروکلی

گروه T4: به همراه سم، دریافت ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن عصاره هیدروالکلی کلم بروکلی

آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی Tukey

به تصویر ۱، به ترتیب مقطع عرضی بیضه در گروه کنترل و گروه آزمایش اول و در گروه آزمایش دوم نشان داده شده است. همان گونه که در تصاویر به طور مقایسه‌ای دیده می‌شود، قطر لوله‌های منی‌ساز در گروه آزمایش سوم نسبت به گروه دریافت سم افزایش یافت، رده‌های سلولی

در اجتماع بیشتری در یک لوله منی‌ساز دیده شده، بافت همبند بینابینی کاملاً منسجم همراه با رشته‌های کلاژن، دیده می‌شود. به نحوی که تمام رده‌های سلولی از غشاء پایه تا سطح مجرای لوله منی‌ساز قابل تفکیک و شمارش است.



تصویر ۱- الف: برش عرضی لوله اسپرم‌ساز گروه کنترل، ب: برش عرضی لوله اسپرم‌ساز گروه آزمایش اول دریافت کننده ۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن دیازینون، ج: برش عرضی لوله اسپرم‌ساز گروه آزمایش چهارم دریافت کننده ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن عصاره هیدروالکلی کلم بروکلی به همراه سم دیازینون
مارکر مشکی نشان‌دهنده بافت کلاژن و مارکر آبی نشان‌دهنده تغییرات رده سلولی اسپرماتوژنز در گروه‌ها است.

بحث

دیازینون به عنوان یک حشره کش ارگانوفسفره سنتتیک در کشاورزی، دامپزشکی، صنعت، باغبانی و منازل [۲۳]، هدف از این مطالعه بررسی اثر عصاره هیدروالکلی کلم بروکلی در آسیب اکسیداتیو دیازینون در بافت بیضه موش

امروزه آلودگی محیط زیست که یکی از علل آن تماس با حشره کش‌ها می‌باشد، به عنوان یک مشکل بهداشتی در مناطق شهری و روستایی است [۲۲]. با توجه استفاده از

صحرائی بود. نتایج به دست آمده از این مطالعه اهمیت عصاره هیدروالکلی بروکلی در کنترل استرس اکسیداتیو دیازینون در بافت بیضه و بهبود وضعیت سلول‌های آن را تأیید می‌کند؛ به نحوی که در دوز ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن علاوه بر کاهش سطح مالون دی‌آلدئید (محصولات اصلی مسیر اکسیداسیون چربی‌ها در بافت بیضه)، سبب افزایش معنی‌دار میانگین سلول‌های بافت بیضه نسبت به گروه کنترل نیز گردیده است.

در مطالعه Rahimi و همکاران در بررسی تأثیر سم دیازینون بر محور هیپوفیزی-گنادی و روند اسپرماتوژنز موش صحرائی نر بالغ، دیازینون خوراکی با دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن باعث تغییر وزن معنی‌داری در موش‌ها نشد [۲۴]. اما در مطالعه اخیر ما، در گروه دریافت دیازینون، وزن نسبت به گروه‌های دیگر کاهش یافت و اختلاف آن با وزن گروه‌های کنترل و عصاره ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن معنی‌دار شد. این تناقض احتمالاً وابسته به دوز و راه مصرف متفاوت سم است.

در مطالعه‌ای Jayachandra و همکارش اعلام شد که سم دیازینون سبب آسیب به بافت بیضه در موش‌های صحرائی در قبل و بعد از تولد می‌شود [۲۵]. همچنین Fattahy و همکاران در مطالعه خود دریافتند دیازینون موجب کاهش وزن اندام‌های جنسی، بقا و حرکت اسپرم و افزایش ناهنجاری‌های مرفولوژیکی در اسپرم می‌شود [۱۰]. بر اساس تحقیق حاضر وزن و قطر بیضه‌های چپ و راست در گروه دریافت دیازینون نسبت به گروه کنترل کاهش یافته بود که می‌تواند هم‌راستا با مطالعات قبلی باشد.

دیازینون همچنین از طریق فسفریلاسیون پروتئین‌های هسته می‌تواند ساختار کروماتین اسپرم را تغییر دهد و بر روی بقا، حرکت و مرفولوژی اسپرم به خصوص در مراحل نهایی بلوغ اثر بگذارد. همان گونه که از نتایج تحقیق حاضر به دست آمد، بیشترین سلول‌های آسیب‌پذیر اسپرماتیدها بودند؛ به نحوی که دیازینون سبب کاهش شدید و معنی‌دار این رده سلولی شده بود و همراه شدن عصاره هیدروالکلی کلم بروکلی در دوز بالای ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن توانسته بود تا بیش از دو برابر این کاهش را جبران نماید. همچنین دیازینون باعث تغییر قطر لوله‌های اسپرم‌ساز و سلول‌های ژرمینال می‌شود [۲۴]؛ به نحوی که ارگانوفسفرها در دوزهای مختلف بافت بیضه را تحت تأثیر قرار می‌دهند و با دژره کردن مجاری اسپرم‌ساز و کاهش ساخت اسپرم، ناباروری‌های ناخواسته را سبب می‌شوند [۲۵].

در مطالعه Fattahy و همکاران تزریق داخل صفاق دیازینون به مدت ۳۰ روز و با دوز ۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن را سبب کاهش سلول‌های ژرمینال و در نتیجه کاهش باروری دانستند [۱۰]. در مطالعه دیگری از Fattahy و همکاران با تزریق داخل صفاقی دیازینون و انجام برش‌های بافتی بیضه رده‌های مختلف سلول‌های اسپرماتوژنیک، سلول‌های لیدیک و عروق خونی بررسی شد. نتایج دال بر کاهش تعداد اسپرم‌ها داشت [۲۶]. این مطالعه در راستای پژوهش حاضر است.

یکی از مکانیسم‌های عملکردی دیازینون ایجاد رادیکال آزاد است. در حالت‌های طبیعی رادیکال‌های آزاد با کمک سیستم کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و گلوکاتایون خنثی و در تعادل می‌باشند. ارگانوفسفرها سبب استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپیدها می‌شود [۲۷].

در مطالعه Sargazi و همکاران با عنوان مقایسه تأثیر دیازینون در جنس نر و ماده و اثرات حفاظتی ویتامین E در موش صحرایی انجام دادند، افزایش سطح مالون‌دی‌آلدئید را در بافت بیضه و تخمدان نتیجه شدت استرس اکسیداتیو دیازینون و کاهش آن را با ویتامین E دلیلی بر مکانیسم محافظتی آسیب اکسیداتیو گنادها دانستند [۲۸]. در این راستا وجود ویتامین C و E در عصاره بروکلی می‌تواند یکی از دلایل کنترل اثرات استرس اکسیداتیو دیازینون به شمار آید که هم‌راستا با مطالعه اخیر است [۱۴-۱۳].

با توجه به وجود بافت چربی در اندام‌های جنسی و بیضه‌ها، مالون‌دی‌آلدئید را به‌عنوان شاخص استرس اکسیداتیو در پژوهش‌های گذشته و مطالعه حاضر در نظر گرفته شد [۲۹]؛ به‌نحوی که بیشترین غلظت مالون‌دی‌آلدئید در گروه آزمایش اول دریافت‌کننده دیازینون دیده شد و این اختلاف با کنترل و آزمایش چهارم معنی‌دار شد. همچنین با کاهش مالون‌دی‌آلدئید موجود در عصاره بافت بیضه در گروه دریافت‌کننده عصاره نسبت به دیازینون می‌توان به اهمیت اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره بروکلی در کنترل استرس اکسیداتیو دیازینون و بهبود روند اسپرماتوژنز پی برد.

در مطالعه‌ای Bahadoran و همکاران به این نتیجه رسیدند که جوانه بروکلی به‌واسطه غلظت بالای سولفورفان می‌تواند در کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و بهبود تعادل اکسیدانی-آنتی‌اکسیدانی در بیماران دیابتی تأثیری مثبت داشته باشد [۳۰]. از این رو می‌توان گفت سولفورفان یکی دیگر از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در عصاره کلم بروکلی است که می‌تواند در مهار استرس اکسیداتیو دیازینون نقش داشته باشد.

در پژوهش ما در گروه‌های دریافت‌کننده عصاره هیدروالکلی کلم بروکلی، نسبت به گروه دریافت سم به‌تنهایی، افزایش میانگین سلول‌های مختلف اسپرماتوژنز مشاهده شد؛ به‌نحوی که تا حدود دو برابر افزایش میانگین سلول‌های اسپرماتید در گروه دوز ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن عصاره هیدروالکلی کلم بروکلی نسبت به گروه دریافت سم دیده شد. این مسئله با کاهش غلظت مالون‌دی‌آلدئید عصاره بافتی بیضه در گروه‌های تیمار با عصاره بروکلی دال بر کنترل استرس اکسیداتیو ناشی از دیازینون و تأمین تعادل بالانس اکسیدان‌ها و آنتی‌اکسیدان‌هاست.

با توجه به محدودیت‌های زمانی، بررسی‌های آنزیم‌های دیگر شرایط استرس اکسیداتیو امکان‌پذیر نشد؛ بنابراین در راستای تکمیل پژوهش اخیر می‌توان به بررسی دوزهای بالاتر عصاره کلم بروکلی و فاکتورهای دیگر استرس اکسیداتیو از جمله ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام سرم، اندازه‌گیری آنزیم‌های سوپراکسید‌دیسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز نیز پرداخته شود.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج این مطالعه، عصاره هیدروالکلی کلم بروکلی از طریق کاهش شاخص استرس اکسیداتیو، سبب افزایش میانگین سلول‌های بافت بیضه می‌شود و در دوز ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، می‌تواند تأثیر قابل‌توجهی بر کنترل استرس اکسیداتیو ناشی از دیازینون و افزایش سطح باروری در موش صحرایی نر بگذارد.

تشکر و قدردانی

این مقاله مستخرج از پایان‌نامه دکتری عمومی دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد سنجند با کد ۱۱۰۱۰۵۰۱۹۳۲۰۲۳ بود. از معاونت محترم پژوهشی محترم جهت تأیید و حمایت مالی آن کمال تشکر و سپاسگزاری به عمل می‌آید.

References

- [1] Bansal AK, Bilaspuri GS. Impacts of oxidative stress and antioxidants on semen functions. *Vet Med Int* 2010; 20(11): 1-7.
- [2] Takhshid M, Tavasuli AZ, Heidary Y, Keshavarz M, Kargar H. Protective Effect of Vitamins E and C on Endosulfan-Induced Reproductive Toxicity in Male Rats. *Iran J Med Sci* 2012; 37(3): 173-80.
- [3] Saxena R, Garg P, Jain DK. In Vitro Anti-oxidant effect of vitamin E on oxidative stress induced due to pesticides in rat erythrocytes. *Toxicol Int* 2011; 18(1): 73-6.
- [4] Zhu Xin-Qiang, Zheng Yi-Fan, Zhang Qun-Wei, JIANG Huai, Huang Xin-Shu. Effects of endosulfan on spermatogenesis and oxidative damage in rats. *Chinese J Pharmacol Toxicol* 2002; 16(5): 391-5.
- [5] Duysen EG, Cashman JR, Schopfer LM, Nachon F, Masson P, Lockridge O. Differential sensitivity of plasma carboxylesterasenull mice to parathion, chlorpyrifos and chlorpyrifos oxon, but not to diazinon, dichlorvos, diisopropylfluorophosphate, cresyl saligenin phosphate, cyclosarin thiocholine, tabun thiocholine, and carbofuran. *Chem Biol Interact* 2012; 195(3): 189-98.
- [6] Jones RR, Barone-Adesi F, Koutros S, Lerro CC, Blair A, Lubin J, et al. Incidence of solid tumours among pesticide applicators exposed to the organophosphate insecticide diazinon in the Agricultural health study: an updated analysis. *Occup Environ Med* 2015; 72(7): 496-503.
- [7] Goldner WS, Sandler DP, Yu F, Shostrom V, Hoppin JA, Kamel F, et al. Hypothyroidism and pesticide use among male private pesticide applicators in the agricultural health study. *J Occup Environ Med* 2013; 55(10): 1171-8.
- [8] ElMazoudy RH, Attia AA. Endocrine-disrupting and cytotoxic potential of anticholinesterase insecticide, diazinon in reproductive toxicity of male mice. *J Hazard Mater* 2012; 209-210(1): 111-20.
- [9] Bustos-Obregon E, Gonzalez JR, Espinoza O. Melatonin as protective agent for the cytotoxic effects of diazinon in the spermatogenesis in the earthworm *Eisenia foetida*. *Ital J Anat Embryol* 2005; 110(2 Suppl 1): 159-65.
- [10] Fattahy E, Jorsaraei S, Parivar K, Moghaddamnia AA. Influence of diazinon on spermatogenesis in mice. *Koomesh* 2007; 9(1): 75-82. [Farsi].
- [11] Hariri AT, Moallem SA, Mahmoudi M, Memar B, Hosseinzadeh H. Sub-acute effects of diazinon on biochemical indices and specific biomarkers in rats: protective effects of crocin and safranal. *Food Chem Toxicol* 2010; 48(10): 2803-8.
- [12] Leong CT, D'Souza UJ, Iqbal M, Mustapha ZA. Lipid peroxidation and decline in antioxidant status as one of the toxicity measures of diazinon in the testis. *Redox Rep* 2013; 18: 155-64.
- [13] Deng Z, Rong Y, Teng Y, Mu J, Zhuang X, Tseng M, et al. Broccoli-Derived nanoparticle inhibits mouse colitis by activating dendritic cell AMP-Activated protein kinase. *Mol Ther* 2017; 25(7): 1461-63.
- [14] Koh E, Wimalasiri KMS, Chassy AW, Mitchell AE. Content of ascorbic acid, quercetin, kaempferol and total phenolics in commercial broccoli. *J Food Compost Anal* 2009; 22(7-8): 637-43.

- [15] Verma S, Mishra SN. Putrescine alleviation of growth in salt stressed Brassica juncea by inducing antioxidative defense system. *J Plant Physiol* 2005; 162 (6): 669-77.
- [16] Aboul-Enein AM, Abu El-Ela F, Shalaby EA, El-Shemy HA. Traditional medicinal plants research in Egypt: Studies of antioxidant and anticancer activities. *J Med Plant Res* 2012; 6(5): 689-703.
- [17] Zhang D, Hamauzu Y. Phenolics, ascorbic acid, carotenoids and antioxidant activity of broccoli and their changes during conventional and microwave cooking. *Food Chem* 2004; 88: 503-9.
- [18] Toman R, Hluchy S, Siska B, Cabaj M, Golian J, Massanyi P. Structural changes in the rat testes caused by diazinon administration. *Lucrari stiintifice zootehnie si biotehnologii* 2009;42 (1): 295-9.
- [19] Vadivel S, Gowry S. Antitumor activity and antioxidant role of brassica oleracea italic against erlich ascites carcinoma in swiss albino mice. *Research J Pharma Bio Chem Sci* 2011; 2(3): 275-85.
- [20] Fattahy SGA, Jorsaraei K, Parivar Moghaddamnia AA. Influence of diazinon on spermatogenesis in mice. *Koomesh* 2007; 9(1): 75-81.
- [21] Yngo J, Garcia Antonio J, Rodríguez-Malaver, NancyPeñaloza. Lipid peroxidation measurement by thiobarbituric acid assay in rat cerebellar slices. *J Neurosci Methods* 2005;144(1): 127-35.
- [22] Stoytcheva M. Pesticides-formulations, effects, fate. India: Intec, 2011: 226-44.
- [23] Colovic M, Krstic D, Petrovic S, Leskovac A, Joksic G, Savic J, et al. Toxic effects of diazinon and its photodegradation products. *Toxicol Lett* 2010; 193: 9-18.
- [24] Rahimi S, Zamiri MJ, Shariati M, Changizi-Ashtiyani S, Moghadamnia D, Rahimi A. effect of diazinon on pituitary-gonadal axis and histological alteration of seminiferous tubules in adult rat testis. *J Gorgan Uni Med Sci* 2016; 18(1): 23-9. [Farsi]
- [25] Jayachandra S, D'Souza UJ. Pre- and postnatal toxicity of diazinon induces disruption of spermatogenic cell line evidenced by increased testicular marker enzymes activities in rat offspring. *J Environ Pathol Toxicol Oncol* 2013; 32(1): 73-90.
- [26] Fattahi E, Jorsaraei SG, Parivar K, Moghaddamnia AA. The effects of a single dosage of Diazinon and Hinosan on the structure of testis tissue and sexual hormones in mice. *Cell J* 2010; 12(3): 405-10.
- [27] Slotkin TA, Seidler FJ. Developmental neurotoxicity of organophosphates targets cell cycle and apoptosis, revealed by transcriptional profiles in vivo and in vitro. *Neurotoxicol Teratol* 2012; 34(2): 232-41.
- [28] Sargazi Z, Nikravesht MR, Jalali M, Sadeghnia HR, Rahimi Anbarkeh F, Mohammadzadeh L. Gender-Related differences in sensitivity to diazinon in gonads of adult rats and the protective effect of vitamin E. *IJWHR* 2015; 3(2): 40-7.
- [29] Ahmadi S, Jafari M, Asgari A, Salehi M. Acute effect of diazinon on the antioxidant system of rat's heart tissue. *Kowsar Med J* 2011; 16(2): 87-93. [Farsi]
- [30] Bahadoran Z, Mirmiran P, Tohidi M, Mehran M, Azizi F. Effect of broccoli sprouts powder on lipid peroxidation and balance antioxidant in patients with diabetes. *J Res Med Sci* 2011; 3(35): 215-20. [Farsi]

Dose-Response Changes of *Brassica Oleracea* Var. *Italica* Hydroalcoholic Extract in the Control of Oxidative Stress by Induction of Diazinon on the Cells of Testicular Tissue in Male Adult Rat

M. Qaderi Forough¹, M. Raeeszadeh², A.A. Amiri³

Received: 23/04/2017 Sent for Revision: 14/05/2017 Received Revised Manuscript: 17/09/2017 Accepted: 19/09/2017

Background and Objectives: Diazinon is one of the organophosphorus poisons that is widely used as insecticide and causes male infertility. The aim of this study was to evaluate the effects of broccoli hydroalcoholic extract on the changes of the cells of testicular tissue and the control of oxidative stress by diazinon.

Materials and Methods: In this experimental research, 30 adult male Wistar rats weighing 200-250 gr were used. The control group received no treatment and the T1 group received the peritoneal administration of 30 mg/kg b.w diazinon and the other experimental groups (T2, T3, and T4) received diazinon as well as broccoli extract at dosage of 100, 200, and 300 mg/kg b.w, respectively for 28 days. At the end of the study, the animals were weighed and euthanized. The right testicle was used for histological study and the left testis for measuring malondialdehyde. The data was analyzed using one-way ANOVA and Tukey's post hoc test.

Results: The lowest mean of body weight was 279.763 ± 11.899 gr in the T1 group and the highest was 311.831 ± 8.976 gr in the T4 group and it was observed a statistically significant difference ($P=0.038$). The number of the sertoli, spermatogonia, spermatocyt, and spermatides cells were 28.751 ± 1.544 , 60.501 ± 4.828 , 202.503 ± 11.677 , and 184.120 ± 19.593 , respectively in the T4 group. The highest number average was in the T4 group and the lowest in the T1 group ($P=0.040$). The highest malondialdehyde concentration was 3.805 ± 0.017 in the T1 group and the lowest was 2.204 ± 0.056 $\mu\text{mol/ml}$ in the T4 group, which was significant ($P<0.05$).

Conclusion: Broccoli extract at dosage of 300 mg/kg b.w has a positive effect on the spermatogenesis damage caused by diazinon in male rats.

Key words: Oxidative stress, *Brassica oleracea* var. *italica* hydroalcoholic extract, Diazinon, Testicular tissue, Rat

Funding: This study was funded by Islamic Azad University of Sanandaj Branch.

Conflict of interest: None declared.

Ethical approval: The Ethics Committee of Sanandaj University approved the study.

How to cite this article: Qaderi Forough M, Raeeszadeh M, Amiri A.A. Dose-Response Changes of *Brassica oleracea* var. *italica* Hydroalcoholic Extract in the Control of Oxidative Stress by Induction of Diazinon on the Cells of Testicular Tissue in Male Adult Rat. *J Rafsanjan Univ Med Sci* 2017; 16(7): 593-604. [Farsi]

1- MSc Student of D.V.M, Faculty of Veterinary Sciences, Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, Iran

2- Assistant Prof., Dept. of Basic Sciences, Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, Iran

(Corresponding Author) Tel: (087)33288661, Fax: (087) 33288662, E-mail: vet_mr@yahoo.com

3- Instructor, Dept. of Basic Sciences, Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, Iran