

اثر حفاظتی عصاره اتانولی زنجبیل (*Zingiber officinale*) در سمیت اسپرمتوژنز ناشی از داروی دوکسوروبیسین

فاطمه جویبار^۱، مختار مختاری^۲، مهدی دیانت پور^۳، مهرداد شریعتی^۴

^۱ دانشجوی دکتری فیزیولوژی جانوری، گروه زیست شناسی، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران
^۲ استاد فیزیولوژی، گروه زیست شناسی، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران
^۳ استادیار ژنتیک، گروه ژنتیک، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران
^۴ دانشیار زیست شناسی سلولی تکوینی، گروه زیست شناسی، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران

چکیده

سابقه و هدف: DOX یکی از رایج‌ترین داروهای است که برای درمان انواع مختلف سرطان از جمله سرطان بیضه کاربرد دارد. هدف از مطالعه حاضر، بررسی اثر عصاره اتانولی زنجبیل بر اسپرمتوژنز درموش صحرایی به دنبال دریافت داروی دوکسوروبیسین بود. **روش بررسی:** در مطالعه تجربی حاضر، ۵۶ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار را به طور تصادفی به ۶ گروه ۸ تایی گروه‌های کنترل، شاهد، گروه‌های تجربی دریافت کننده دوکسوروبیسین (۳mg/kg.bw)، تجربی ۲ و ۳ دریافت کننده عصاره زنجبیل (۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم) و تجربی ۴ و ۵ دریافت کننده عصاره زنجبیل (۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم) تقسیم شدند. عصاره به صورت خوراکی از روز اول یک ساعت پس از تزریق دوکسوروبیسین به مدت چهار هفته به رت‌ها خوراند شد و داروی DOX (۳bw.kg/gm) یک بار در هفته به صورت داخل صفاقی تجویز شد. در پایان آزمایش برخی از پارامترهای اسپرم از قبیل تعداد، قابلیت حیات و قابلیت تحرک و مورفولوژی اسپرم به وسیله رنگ آمیزی اتوزین - نگرزین بررسی شد. **یافته‌ها:** کاهش معنی‌داری در وزن بدن، تعداد اسپرم، قابلیت حیات و قابلیت تحرک اسپرم‌ها در رت‌های تیمار شده با داروی DOX در مقایسه با گروه‌های کنترل و شاهد مشاهده شد. این کاهش در گروه تیمار شده با DOX همراه با زنجبیل ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم در مقایسه با گروه DOX به طور معنی‌داری جبران شد. **نتیجه‌گیری:** زنجبیل قادر است اثر حفاظتی بر روی برخی از پارامترهای اسپرم به دنبال دریافت داروی دوکسوروبیسین در موش صحرایی نر بالغ اعمال نماید. **واژگان کلیدی:** زنجبیل، دوکسوروبیسین، وزن بدن، بیضه، پارامتر اسپرم، رت.

مقدمه

موارد ناباروری مربوط به مردان، ۴۰ درصد مربوط به زنان و حدود ۱۰ درصد مربوط به هر دو است و در ۱۰ درصد از زوج‌ها نیز عامل ناباروری مشخص نیست (۱). در بروز مشکل ناباروری، عوامل مردانه (۲۵-۴ درصد)، عوامل زنانه (۵۵-۴۹ درصد)، ترکیبی از دو عامل مردانه و زنانه (۱۰ درصد) و ناباروری با علت ناشناخته (۱۰ درصد) دخیل هستند (۲). با صنعتی شدن جوامع بشری، شمار مبتلایان به سرطان رشد

امروزه ناباروری و مشکلات مربوط به آن به عنوان یکی از مسائل مهم در زندگی زوجین شناخته شده است. مشکلات متفاوتی سبب ناباروری می‌شود. این مشکلات ممکن است مربوط به مرد، زن یا هر دو باشد؛ به طوری که ۴۰ درصد

آدرس نویسنده مسئول: کازرون، کیلومتر پنج جاده کازرون-شوشهر، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون،

گروه زیست شناسی، مختار مختاری (email: M.Mokhtari246@yahoo.com)

تاریخ دریافت مقاله: ۹۵/۸/۲۴

تاریخ پذیرش مقاله: ۹۵/۹/۲

چشمگیری داشته و استفاده از داروهای ضد سرطان در درمان بیماران مبتلا کاربرد وسیعی پیدا کرده است (۳).

داروی دوکسوروبیسین (Dox) از خانواده آنتراسیکلین‌ها است (۴). DOX یکی از رایج‌ترین داروهایی است که به طور گسترده برای درمان انواع مختلف سرطان از جمله سرطان خون سرطان بیضه و سایر تومورهای جامد کاربرد دارد (۵). اغلب داروهای ضد سرطان علاوه بر سلول‌های سرطانی بر روی سایر سلول‌های دارای سرعت تقسیم بالا مانند سلول‌های جنسی نیز اثر می‌کنند. برآورد می‌شود بیش از ۹۰ درصد بیماران که دوزهای بالای عوامل شیمی‌درمانی از جمله Dox دریافت می‌کنند، دچار آرواسپرمی طولانی مدت می‌شوند؛ بنابراین ناباروری می‌تواند یک عارضه طولانی مدت مهم به دنبال شیمی‌درمانی باشد (۶و۷). این دارو در تکثیر سلولی مداخله می‌کند. همچنین در بیضه حیوانات آزمایشگاهی، Dox به صورت وابسته به دوز در فرآیند اسپرماتوژنز اختلال ایجاد میکند (۸). بعضی از عوامل آنتی‌اکسیدان و ضد آپوپتوز برای مقابله با آسیب رسیدن ناشی از DOX به بافت بیضه استفاده شده است (۷). اما تاکنون هیچ عامل منفرد ثابت شده موثری که بتواند به اندازه کافی از آسیب رسیدن به این بافت و عوارض جانبی دارو جلوگیری کند، یافت نشده است (۹). تحقیقات نشان می‌دهد مصرف گیاهان دارویی در کشورهای مختلف روز به روز در حال افزایش است. دلیل آن به اثبات رسیدن اثر بخشی بسیاری از این مواد در مجامع علمی و مقبولیت آن در اکثر جوامع بشری است. به دلیل نگرانی روزافزون در مورد عوارض داروهای شیمیایی و بی‌اثر بودن تعدادی از آنها در مصرف طولانی مدت، استفاده از ترکیبات طبیعی به صورت جایگزین یا مکمل درمان، بیش از پیش مورد توجه قرار گرفته است. زنجبیل یا شنگویر یک گیاه خوراکی، ادویه و گیاه دارویی با نام علمی *Zingiber officinale* جزو خانواده *Zingiberaceae* است (۱۰). زنجبیل گیاهی است که به دلیل خواص دارویی گسترده و وسیع آن در سراسر دنیا استفاده می‌شود. طیف وسیع درمانی این دارو شامل روماتیسم، تب، دمانس، پرفشاری خون، استفراغ، یبوست، درد، عفونت، آسم، دیابت، بیماری عصبی، درد قفسه سینه، تنظیم ایمنی، ضد التهاب، ضد آپیتوز، آنتی‌اکسیدان قوی (جهت جلوگیری از تولید رادیکال آزاد) درد معده، اسهال، تهوع، اختلالات قلبی و بیماری‌های تنفسی مورد استفاده قرار می‌گیرد؛ همچنین محرک اشتها، ضداسپاسم، ضد التهاب، ادرارآور، آرامش بخش، آنتی‌باکتریال، گشاد کننده برونش، محرک موضعی، مسهل و ملین و تقویت کننده قوای

جنسی است (۱۱). ترکیبات شیمیایی زنجبیل، شامل جینجرول‌ها از قبیل ۶ جینجرول ۶ شوآگول (آنالوگ هیدروکسیله شده ۶ جینجرول)، ۶ و ۱۰ دی هیدرو جینجریدیون، ۶ و ۱۰ جینجریدیون، ۶ پارادول، گالانال A, B، والینوئید و زینجرول است. ترکیبات دیگر شامل کربوهیدرات، چربی، مواد معدنی، ویتامین‌ها، واکس‌ها و زنجبین (یک آنزیم پروتئولیتیک) و Oleoresin است (۱۱).

جینجرول موجود در زنجبیل موجب از بین رفتن رادیکال‌های آزاد، آنتی‌سروتنوژیک، و مهار تولید پروستاگلاندینها می‌شود (۱۲). و سزکویی ترپن‌ها نیز تولید رادیکال آزاد را مهار می‌کنند (۱۳).

مطالعات نشان می‌دهند، ترکیبات موجود در زنجبیل می‌تواند باعث ترمیم DNA شوند؛ همچنین این ماده باعث افزایش هورمون جنسی تستوسترون می‌شود.

مطالعه Manab و همکارانش (۱۴). نشان داد که تزریق داخل صفاقی داروی دوکسوروبیسین در رت‌ها باعث کاهش وزن بیضه، آتروفی توپول‌ها و کاهش شدید تعداد سلول‌های جنسی می‌شود. Agarwal در سال ۲۰۰۲ گزارش کرد که ایجاد گونه های فعال اکسیژن (ROS) و سایر رادیکال‌های آزاد به طور کنترل نشده یکی از فاکتورهای اساسی است که از طریق استرس اکسیداتیو منجر به کاهش تحرک، قابلیت زیستی و اختلال در واکنش آکروزومی شده و در نهایت منجر به ناباروری می‌شود (۱۵).

Imahie H و همکارانش در سال ۱۹۹۵ نشان دادند که DOX در بیضه حیوانات آزمایشگاهی به صورت وابسته به دوز باعث اختلال در فرآیند اسپرماتوژنز در حیوانات آزمایشگاهی می‌شود.

تحقیقات Amin A در سال ۲۰۰۶ نشان می‌دهد عصاره زنجبیل می‌تواند فعالیت آندروژنیک قوی را در موش صحرایی نر القا کند (۱۳). با توجه به یافته‌های این مطالعات مبنی بر این که مصرف زنجبیل افزایش فعالیت آندروژنیک می‌شود و از آنجا که داروی DOX باعث کاهش تحرک، قابلیت زیستی و در نهایت باعث ناباروری می‌شود، احتمال می‌رود این گیاه بتواند در کاهش مشکلات ناشی از درمان با DOX و اثرات جانبی آن بر اسپرم کاربرد داشته باشد.

مواد و روشها

در این پژوهش تجربی، از ۵۶ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار با وزن تقریبی 200 ± 10 گرم و سن حدود ۴-۳ ماه

تحرك اسپرم (Motility) آنها به طور جداگانه محاسبه شد (۱۷).

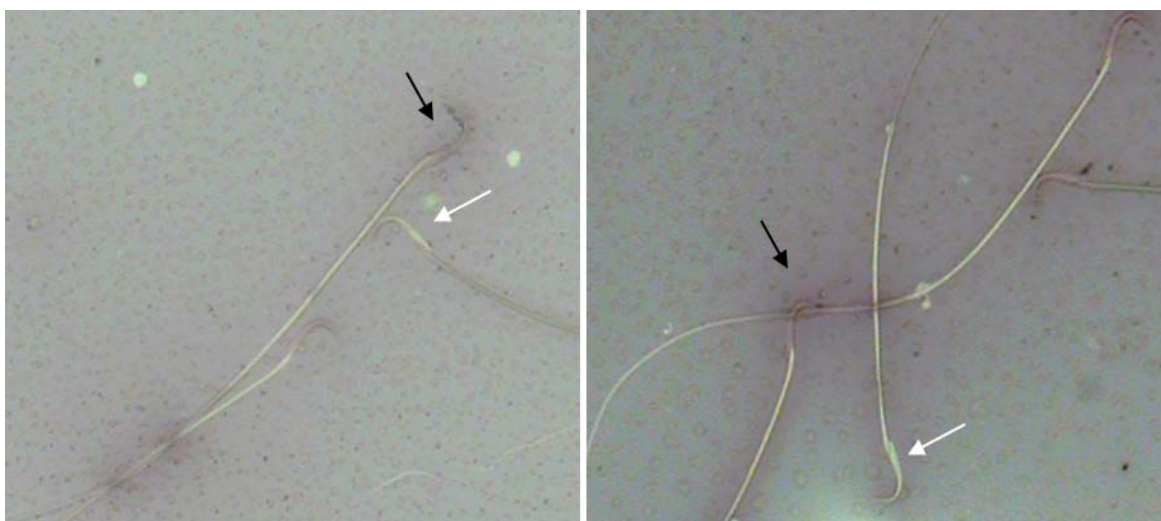
شمارش اسپرم

اپیدیدیم‌های خارج شده از هر حیوان به پلیت حاوی ۵ میلی لیتر محیط کشت Ham's F10 انتقال یافت و برای خروج اسپرم‌ها به درون محیط کشت به قطعات کوچکی بریده شد. پس از گذشت ۱۰ دقیقه قرار دادن در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، یک میلی‌لیتر از مخلوط محیط کشت و اسپرم با ۹ میلی‌لیتر فرمالین ۲ درصد رقیق و فیکس شد. شمارش سرهای اسپرم با استفاده از هموسیتومتر نتوبار انجام گرفت و سپس تعداد اسپرم‌ها در میلی‌لیتر محاسبه شد. شمارش اسپرم بر اساس دستورالعمل ارائه شده از طرف سازمانی جهانی بهداشت (World Health Organization, WHO) انجام شد (۱۷).

قابلیت حیات اسپرم

به منظور بررسی قابلیت حیات اسپرم‌های هر گروه بر اساس دستورالعمل ارائه شده توسط (WHO)، رنگ آمیزی اتوزین-نگروزین انجام شد. به طور خلاصه، اتوزین (۱ درصد، مرک، آلمان) و نگروزین (۱۰ درصد، مرک، آلمان) در آب مقطر آماده شد. ابتدا یک حجم مخلوط محیط کشت و اسپرم با دو حجم اتوزین مخلوط و پس از گذشت زمان ۳۰ ثانیه نگهداری در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد، حجم مساوی از نگروزین به مخلوط ساخته شده (اسپرم و اتوزین) اضافه شد. سپس گسترش‌های نازکی از مخلوط تهیه و پس از خشک شدن در دمای آزمایشگاه توسط میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی

استفاده شد. کلیه حیوانات در خانه حیوانات دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون تهیه و در شرایط آزمایشگاهی استاندارد نگهداری شدند. گیاه زنجبیل توسط دستگاه آسیاب برقی به پودر تبدیل شد و عصاره گیری به روش پرکولاسیون انجام شد. جهت تهیه عصاره الکلی زنجبیل، بعد از تهیه زنجبیل و جداسازی ناخالصی‌های آن مقدار ۱۰۰۰ گرم از ریزوم زنجبیل توسط آسیاب خرد شد و با نسبت ۱ به ۵ یا الکل اتیلیک ۹۸ درصد مخلوط شد. محتوای به دست آمده به صورت در بسته به مدت ۴۸ ساعت در محیط آزمایشگاه نگه داشته شدند. آنگاه به وسیله کاغذ صافی‌های بزرگ و کوچک فیلتراسیون دقیق انجام شد. مایع صاف شده جهت تغلیظ در روتاری قرار گرفت و اتانول از عصاره به صورت کامل جدا شد و در نهایت از عصاره به دست آمده با ماده Tween 20 (مرک آلمان) غلظت-های متفاوت مورد نیاز بر حسب میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن حیوان به ازای یک روز تهیه شد (۱۶). عصاره به صورت خوراکی و از طریق گاواژ از روز اول یک ساعت پس از تزریق دوکسوروبیسین به مدت چهار هفته به رت‌ها خوراندن شد. داروی DOX نیز یک بار در هفته با دوز ۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت تزریق داخل صفاقی تجویز شد (۵). در پایان دوره تیمار با رعایت اصول اخلاقی، حیوان‌ها به وسیله اتر بی‌هوش و سرانجام کشته شدند. پس از خروج بیضه، این اندام از چربی تمیز و وزن آن ثبت شد. سپس ناحیه دمی اپیدیدیم جمع‌آوری شد و به تفکیک گروه‌ها براساس دستور سازمان بهداشت جهانی (WHO)، قدرت زنده ماندن اسپرم (Viability) و



شکل ۱. رنگ آمیزی اتوزین نگروزین. سر اسپرم‌های زنده به رنگ سفید با پیکان سفید، و سر اسپرم‌های مرده به رنگ قرمز با پیکان قرمز نشان داده شده است.

میانگین وزن بدن در گروه‌های دریافت کننده زنجبیل با دوزهای ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم نسبت به گروه های کنترل و شاهد افزایش معنی‌داری را نشان می‌دهد. همچنین میانگین وزن بدن در گروه دریافت کننده داروی DOX نسبت به گروه های کنترل و شاهد کاهش معنی‌داری را نشان داد. میانگین وزن بدن در گروه دریافت کننده داروی DOX همراه با زنجبیل با دوز ۱۰۰۰ میلیگرم برکیلوگرم نسبت به گروه دریافت کننده DOX افزایش معنی‌داری را نشان داد.

تاثیر عصاره الکلی زنجبیل بر میانگین وزن بیضه به دنبال دریافت داروی دوکسوروبیسین

نمودار (۲) میانگین وزن بیضه را در پایان آزمایش نشان می‌دهد. میانگین وزن بیضه در موش‌های صحرایی بعد از اتمام آزمایش در گروه‌های کنترل $0.8 \pm 1/36$ گرم و گروه شاهد $0.3 \pm 1/32$ و گروه دریافت کننده DOX $0.2 \pm 1/15$ گرم می‌باشد که میانگین وزن بیضه در میان گروه دریافت کننده DOX نسبت به گروه‌های شاهد و کنترل کاهش معنی‌داری را نشان می‌دهد.

همچنین میانگین وزن بیضه در گروه دریافت کننده عصاره الکلی زنجبیل (500 mg/kg.bw) $0.5 \pm 1/33$ گرم، گروه دریافت کننده عصاره الکلی زنجبیل (1000 mg/kg.bw) $0.5 \pm 1/38$ گرم، در گروه دریافت کننده عصاره الکلی زنجبیل (500 mg/kg.bw) + DOX (3 mg/kg.bw) $0.2 \pm 1/16$ و در گروه دریافت کننده عصاره الکلی زنجبیل (1000 mg/kg.bw) + DOX (3 mg/kg.bw) $0.6 \pm 1/25$ می‌باشد. میانگین وزن بیضه در گروه دریافت کننده DOX + زنجبیل ۵۰۰ نسبت به گروه‌های کنترل و شاهد نیز کاهش معنی‌داری را نشان می‌دهد.

تاثیر دوکسوروبیسین و عصاره الکلی زنجبیل بر شمارش اسپرم در موش‌های صحرایی

اسپرم‌های گرفته شده از اپیدیدیم موش‌های گروه‌های مختلف مورد شمارش قرار گرفت. نمودار ۲ نشان دهنده میانگین تعداد اسپرم در موش‌های صحرایی است. تعداد اسپرم در گروه دریافت کننده دوکسوروبیسین و عصاره الکلی زنجبیل ۵۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم + DOX در مقایسه با گروه‌های کنترل و شاهد کاهش معنی‌داری پیدا کرد ($p \leq 0.05$).

تعداد اسپرم در گروه دریافت کننده عصاره الکلی زنجبیل ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم در مقایسه با

$1000 \times$ تعداد ۱۰۰ اسپرم شمارش و نسبت درصد اسپرم در گروه‌های مختلف محاسبه شد. در این رنگ آمیزی سر اسپرم-های زنده به رنگ سفید، در حالی که سر اسپرم‌های مرده به رنگ قرمز ظاهر می‌شوند.

قابلیت تحرک اسپرم

سنجش حرکات اسپرم بر اساس دستورالعمل ارائه شده توسط WHO انجام شد. به طور خلاصه ۱۰ میکرولیتر مخلوط محیط کشت و اسپرم بر روی لام مخصوص ارزیابی حرکات اسپرم قرار گرفت. در هر لام ۵ میدان میکروسکوپی جهت ارزیابی حرکت حداقل ۲۰۰ اسپرم از هر نمونه مورد بررسی قرار گرفت. سپس درصد سه نوع طرح حرکتی در اسپرم شامل اسپرم‌های با حرکت پیش رونده، اسپرم‌ها با حرکات درجا و اسپرم‌های غیرمتحرک محاسبه شد.

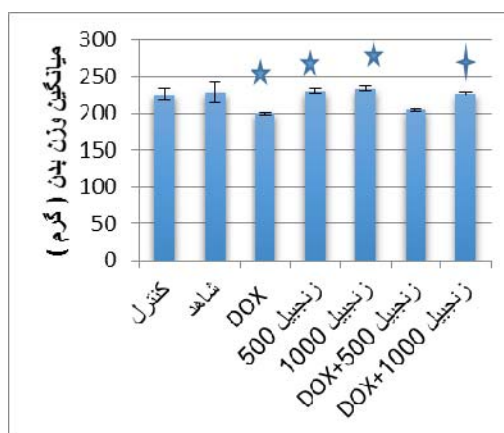
محاسبات آماری

پس از ثبت داده‌ها نتایج در نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۷ مورد تحلیل آماری قرار گرفتند. برای مقایسه گروه‌ها با گروه‌های کنترل، شاهد و DOX از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه استفاده شد. $P \leq 0.05$ به‌عنوان اختلاف معنی‌دار آماری گزارش شد.

یافته‌ها

تاثیر عصاره الکلی زنجبیل بر میانگین وزن بدن به دنبال دریافت داروی دوکسوروبیسین

نمودار (۱) میانگین وزن بدن را در پایان آزمایش را نشان می‌دهد.



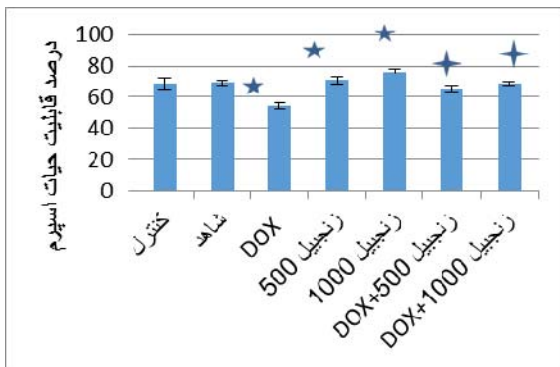
نمودار ۱. میانگین وزن بدن موش‌های صحرایی در پایان آزمایش
★ اختلاف معناداری در میان گروه‌ها نسبت به گروه‌های کنترل و شاهد وجود دارد.

★ اختلاف معناداری در میان گروه‌ها نسبت به گروه دریافت کننده داروی DOX وجود دارد.

تاثیر دوکسوروبیسین و عصاره الکی زنجبیل بر قابلیت حیات اسپرم در موش‌های صحرایی

میانگین درصد اسپرم‌های زنده که معادل قابلیت حیات است، در گروه دریافت کننده دوکسوروبیسین در مقایسه با گروه‌های کنترل و شاهد کاهش معنی‌داری پیدا کرد. میانگین درصد اسپرم‌های زنده در گروه دریافت کننده عصاره الکی زنجبیل (۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در مقایسه با گروه‌های کنترل و شاهد افزایش معنی‌داری پیدا کرد. افزایش معنی‌داری در میان گروه دریافت کننده عصاره زنجبیل ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم + DOX در مقایسه با گروه ۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم DOX وجود داشت ($p \leq 0.05$).

در سایر گروه‌ها در مقایسه با گروه‌های کنترل و شاهد و در مقایسه با گروه ۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم DOX اختلاف معنی‌داری مشاهده شد.



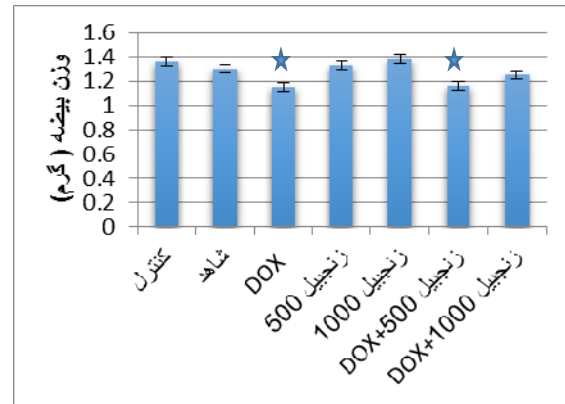
نمودار ۴. مقایسه میانگین قابلیت اسپرم در گروه‌های مختلف در موش صحرایی در پایان آزمایش
 * اختلاف معناداری در میان گروه‌ها نسبت به گروه‌های کنترل و شاهد وجود دارد.
 * اختلاف معناداری در میان گروه‌ها نسبت به گروه دریافت کننده داروی DOX وجود دارد.

نتایج حاصل از تاثیر دوکسوروبیسین و عصاره الکی زنجبیل بر میانگین قابلیت تحرک اسپرم در گروه‌های مختلف

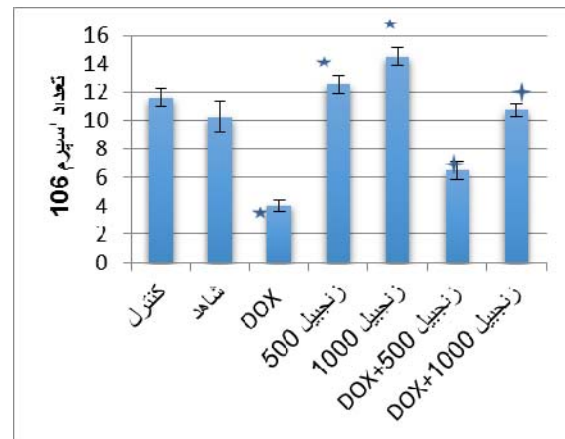
میانگین درصد حرکت جلو رونده اسپرم در گروه دریافت کننده دوکسوروبیسین در مقایسه با گروه‌های کنترل و شاهد کاهش معنی‌داری پیدا کرد. میانگین درصد حرکت جلو رونده اسپرم در گروه دریافت کننده عصاره الکی زنجبیل (۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در مقایسه با گروه‌های کنترل و شاهد افزایش معنی‌داری نشان داد. همچنین افزایش معنی‌داری در سایر گروه‌های دریافت کننده عصاره زنجبیل ۵۰۰ و

گروه‌های کنترل و شاهد افزایش معنی‌داری نشان داد. همچنین تعداد اسپرم در گروه دریافت کننده دوکسوروبیسین همراه با عصاره الکی زنجبیل ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم + DOX در مقایسه با گروه DOX افزایش معنی‌داری را نشان داد ($p \leq 0.05$).

اختلاف معنی‌داری در سایر گروه‌ها در مقایسه با گروه‌های کنترل و شاهد، و نیز میان گروه‌ها در مقایسه با گروه DOX ۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم وجود داشت.



نمودار ۲. میانگین وزن بیضه در موش‌های صحرایی در پایان آزمایش
 * اختلاف معناداری در میان گروه‌ها نسبت به گروه‌های کنترل و شاهد وجود دارد.



نمودار ۳. مقایسه میانگین تعداد اسپرم در گروه‌های مختلف در موش صحرایی در پایان آزمایش
 * اختلاف معناداری در میان گروه‌ها نسبت به گروه‌های کنترل و شاهد وجود دارد.
 * اختلاف معناداری در میان گروه‌ها نسبت به گروه دریافت کننده داروی DOX وجود دارد.

جانبی این دارو فاکتور محدود کننده‌ای برای استفاده از آن است (۱۹). در مطالعه حاضر اثر دوکسوروبیسین بر وزن بدن و بیضه‌ها و پارامترهای اسپرم در موش صحرایی و نقش زنجبیل در ممانعت از سمیت این دارو بررسی شد. در این مطالعه استفاده از دوکسوروبیسین سبب کاهش معنی‌دار وزن بدن و وزن بیضه‌ها در میان گروه دریافت کننده DOX نسبت به گروه‌های کنترل و شاهد شد. اثر گنادوتوکسیک DOX در رت‌های نر توسط ماناب و همکارانش نیز در سال ۱۹۹۷ گزارش شده است. در این مطالعه، تزریق DOX باعث کاهش وزن بدن و وزن بیضه‌ها و آتروفی توپول‌ها و کاهش شدید تعداد سلول‌های جنسی شد (۱۴). زانتی و همکارانش نیز در سال ۲۰۰۷ اثر DOX را در رت‌های نر به صورت کاهش معنی‌دار وزن بدن، بیضه‌ها و کاهش سلول‌های اسپرماٹوژنیک گزارش دادند (۵).

نتایج مطالعه فوق با نتایج مطالعات ذکر شده همخوانی داشت. در موش صحرایی نر تیمار شده با داروی دوکسوروبیسین وزن بدن و وزن بیضه‌ها کاهش یافته بود.

میانگین وزن بدن در میان گروه دریافت کننده DOX+ زنجبیل (۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) نسبت به گروه دریافت کننده DOX افزایش معنی‌داری را نشان داد. از آنجا که جینجروول‌ها که از جمله ترکیبات محرک اشتها و ضد تهوع در زنجبیل است (۲۰) و نیز سزکویی ترپن‌ها موجب حذف رادیکال‌های آزاد می‌شوند، پس این گیاه خاصیت انتی

۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم + DOX در مقایسه با گروه DOX (3mg/kg.bw) مشاهده شد ($p \leq 0.05$)

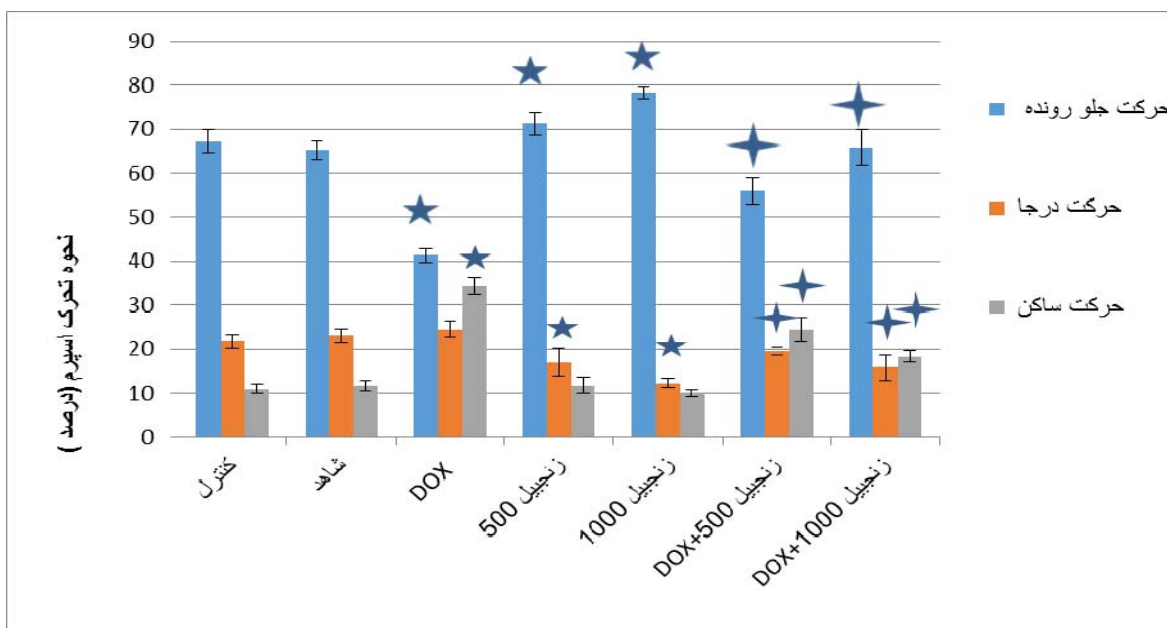
میانگین درصد حرکت درجا در اسپرم در گروه‌های دریافت کننده عصاره زنجبیل ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در مقایسه با گروه‌های کنترل و شاهد کاهش معنی‌داری پیدا کرده است. کاهش معنی‌داری در میانگین درصد حرکت درجا در میان گروه دریافت کننده عصاره زنجبیل ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم + DOX در مقایسه با گروه DOX (3mg/kg.bw) مشاهده شد ($p \leq 0.05$).

میانگین درصد حرکت ساکن در گروه دریافت کننده دوکسوروبیسین در مقایسه با گروه‌های کنترل و شاهد افزایش معناداری پیدا کرده است. کاهش معنی‌داری در میان گروه دریافت کننده عصاره زنجبیل ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم + DOX در مقایسه با گروه DOX (3mg/kg.bw) وجود داشت ($p \leq 0.05$).

اختلاف معنی‌داری در سطح $p \leq 0.05$ در سایر گروه‌ها در مقایسه با گروه‌های کنترل و شاهد مشاهده شد. اختلاف معنی‌داری در سطح $p \leq 0.05$ میان گروه‌ها در مقایسه با گروه DOX (3mg/kg.bw) وجود داشت.

بحث

دوکسوروبیسین، یک داروی ضد سرطان شناخته شده است (۱۸)، که سبب ناباروری در نرها می‌شود (۷). بنابراین عوارض



نمودار ۵. مقایسه درصد تحرک اسپرم در گروه‌های مختلف در موش صحرایی در پایان آزمایش

اکسیدانی دارد و موجب جلوگیری از تولید و موجب حذف متابولیت های فعال بدن می شود (۲۰).

پس با حذف متابولیت های فعال حاصل از DOX در بدن جلوی کاهش سنتز پروتئین در نتیجه کاهش وزن بدن، با افزایش دوز زنجبیل مهار می شود. جینجرول های موجود در زنجبیل، آنتی سروتونرژیک هستند و می توانند گیرنده نوع ۳ سروتونین را مهار کنند. محققان معتقدند مصرف طولانی مدت مهارکننده های اختصاصی باز جذب سروتونین در طولانی مدت باعث افزایش وزن بدن می شود (۲۱). پس در گروه شیمی درمانی همراه با دریافت کننده زنجبیل دوز ۱۰۰۰ میلی گرم برکیلوگرم نسبت به گروه شیمی درمانی شده تنها، تا حدودی کاهش وزن بدن جبران می شود.

تعداد اسپرم در گروه دریافت کننده دوکسوروبیسین و عصاره الکلی زنجبیل ۵۰ میلی گرم برکیلوگرم + DOX در مقایسه با گروه های کنترل و شاهد کاهش معنی داری را نشان داد. نتایج این مطالعه کاهش شدید میزان اسپرم را در گروه شیمی درمانی شده گزارش می دهد. به و همکارانش نشان دادند تزریق DOX در سه روز متوالی به صورت داخل صفاقی پس از ۲۸ روز می تواند باعث کاهش معنی دار وزن بدن، اختلال در اسپرما توژنز و کاهش تعداد اسپرم می شود (۹). همچنین زانتی نشان داد که بعد از مصرف DOX به مدت چهار هفته الیگواسپرمی رخ می دهد و در تیمار طولانی مدت به مدت ۹ هفته سبب آرواسپرمی می شود (۵) همچنین گزارشی مبنی بر کاهش میزان هورمون های جنسی در زمان تیمار با DOX و لیز شدن سلول های لاپدیگ وجود دارد که این کاهش میزان هورمون های جنسی می تواند باعث اختلال در عملکرد اپیدیدیم و بلوغ اسپرم شود (۲۲) که نتایج این مطالعه با سایر مطالعات همخوانی دارد. بررسی های آماری نشان می دهد که تعداد اسپرم در گروه های دریافت کننده عصاره الکلی زنجبیل (۵۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم برکیلوگرم) در مقایسه با گروه های کنترل و شاهد افزایش معنی داری پیدا کرد. تعداد اسپرم نیز در گروه دریافت کننده دوکسوروبیسین و عصاره الکلی زنجبیل ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم برکیلوگرم + DOX در مقایسه با گروه DOX افزایش معنی داری پیدا کرد که نشان می دهد زنجبیل با دوز ۱۰۰۰ میلی گرم برکیلوگرم می تواند اثرات مخرب DOX را بر روی تعداد اسپرم را جبران کند. مطالعات نشان می دهند که غلظت بالای تستوسترون در تقسیم اسپرما توسیت و اسپرما توگونی نقش دارد. تحقیقات نشان می دهند مصرف عصاره زنجبیل باعث افزایش هورمون تستوسترون می شود (۲۳). مطالعات نشان می دهند که

جینجرول ها و سزکویی ترین ها با مهار مسیر لیپواکسیژناز و سیکلواکسیژناز از تولید اسید آراشیدونیک جلوگیری می کنند و با توجه به نقش پروستاگلاندین ها در تولید گنادوتروپین، در نتیجه میزان تستوسترون افزایش می یابد (۲۴). با افزایش میزان هورمون تستوسترون، میزان اسپرم نیز در گروه دریافت کننده زنجبیل افزایش می یابد، همچنین زنجبیل می تواند اثرات مخرب ناشی از داروی DOX را تا حدودی بر روی تعداد اسپرم جبران کند.

میانگین درصد اسپرم های زنده در گروه دریافت کننده دوکسوروبیسین در مقایسه با گروه های کنترل و شاهد کاهش معنی داری پیدا کرد. ایجاد گونه های فعال اکسیژن (ROS) و سایر رادیکال های آزاد به طور کنترل نشده یکی از فاکتورهای اساسی است که از طریق استرس اکسیداتیو منجر به کاهش تحرک، قابلیت زیستی و اختلال در واکنش آکروزومی شده و در نهایت منجر به ناباروری می شود (۲۵). اثر دارویی DOX از طریق مهار سنتز DNA و افزایش تولید انواع اکسیژن سمی فعال (ROS) اعمال می شود. بنابراین، این دارو در تکثیر سلولی مداخله می کند. در بیضه حیوانات آزمایشگاهی، DXR به صورت وابسته به دوز در روند اسپرما توژنز اختلال ایجاد می کند (۸). پس کاهش درصد زنده مانی اسپرم در گروه های دریافت کننده DOX می تواند به دلیل مصرف این دارو باشد.

میانگین درصد اسپرم های زنده در گروه دریافت کننده عصاره الکلی زنجبیل (۱۰۰۰ میلی گرم برکیلوگرم) در مقایسه با گروه های کنترل و شاهد افزایش معنی داری پیدا کرد. جینجرول موجود در زنجبیل موجب از بین رفتن رادیکال های آزاد، آنتی سروتونرژیک، مهار تولید پروستاگلاندین ها می شود (۱۲) و سزکویی ترین ها نیز موجب مهار تولید رادیکال آزاد می شوند (۱۳). در نتیجه مصرف زنجبیل می تواند درصد زنده مانی اسپرم را تقویت کند که در این مطالعه مصرف زنجبیل باعث افزایش درصد زنده مانی اسپرم ها شد.

یکی از نتایج قابل توجه پژوهش حاضر این بود که مصرف زنجبیل به تنهایی توانست درصد حرکت جلو رونده اسپرم را افزایش دهد و همچنین عوارض ناشی از داروی دوکسوروبیسین که منجر به کاهش حرکت جلو رونده اسپرم و افزایش یافتن حرکت درجا و حرکت ساکن را نیز جبران کند، بدین صورت که افزایش معنی داری در میان گروه دریافت کننده عصاره زنجبیل ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم برکیلوگرم + DOX در مقایسه با گروه ۳ میلی گرم برکیلوگرم DOX وجود دارد که به دلیل خواص گفته شده زنجبیل و ترکیبات خاصی از قبیل جینجرول و سزکویی ترین ها می توان ادعا کرد که

حدودی بر روی تعداد درصد زنده مانده و حتی نحوه حرکت اسپرم را بهبود بخشد.

زنجبیل می‌تواند عوارض مخرب داروی DOX ناشی از داروی DOX را تا حدودی بر روی درصد زنده مانده و حتی نحوه حرکت اسپرم را بهبود بخشد.

زنجبیل با ترکیبات خاص خود قادر است اثرات مخرب داروی دکسوروبیسیلین را بر پارامترهای اسپرم محافظت نماید زنجبیل می‌تواند عوارض مخرب ناشی از داروی DOX را تا

تشکر و قدردانی

با تشکر و قدردانی از کارمندان محترم مرکز حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون که در انجام این کار ما را یاری کردند.

REFERENCES

1. Ebisch IM, Thomas CM, Peters WH, Braat DD, Steegers-Theunissen RP. The importance of folate, zinc and antioxidants in the pathogenesis and prevention of subfertility. *J Hum Reprod Update* 2007;13:163-74.
2. Berek JS, Novak E, eds. *Berek & Novak's gynecology*. 15th ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2011.
3. Tomoda R, Seto M, Hioki Y, Sonoda J, Matsumine A, Kusuzaki D. KLow-dose methotrexate inhibits lung metastasis and lengthens survival in rat osteosarcoma. *Clin ExpMetastasis* 2005;22:559-64.
4. Katzung BG, ed. *Basic pharmacology*. 10th ed. Tehran: Aajmand Book; 2007. PP. 1116- 1130.
5. Zanetti SR, Maldonado EN, Aveldano MI. Doxorubicin Affects Testicular Lipids with Long-Chain (C18-C22) and Very Long-Chain (C24-C32) Polyunsaturated Fatty Acids. *Cancer Res* 2007;67:6973-80.
6. Brougham FH, Kelnar JH, Sharpe M, Wallace B. Male fertility following childhood cancer: current concepts and future therapies. *Asian J Androl* 2003;5:325-37.
7. Hou M, Chrysis D, Nurmio M, Parvinen M, Eksborg S, Soder O, et al. Doxorubicin induces apoptosis in germ line stem cells in the immature rat testis and amifostine cannot protect against this cytotoxicity. *Cancer Res* 2005;65: 9999-10005.
8. Imahie H, Adachi T, Nakagawa Y, Nagasaki T, Yamamura T, HoriM. Effects of adriamycin, an anticancer drug showing testicular toxicity, on fertility in male rats. *J Toxicol Sci* 1995;20:183-93.
9. Yeh Y, Lai H, Ting C, Lee W. Protection by doxycycline against doxorubicin-induced oxidative stress and apoptosis in mouse testes. *Biochem Pharmacol* 2007;7:969-80.
10. Iwami M, Shiina T, Hirayama H, Shima T. Inhibitory effects of zingerone, a pungent component of *Zingiber officinale* Roscoe, on colonic motility in rats. *J Nat Med* 2011;65:89-94.
11. Rehman R, Akram M, Akhtar N. *Zingiber officinale* roscoe (pharmacological activity). *J Med Plant Res* 2011;5:3-6.
12. Moallem SA, Tafazoli M, Niapour M. Evaluation of teratogenic effects of *Zingiber Officinale* in mice. *Iran J Basic Med Sci* 2003;6:43-52.
13. Amin A, Hamza AA. Effects of Roselle and Ginger on cisplatin-induced reproductive toxicity in rats. *Asian J Androl* 2006;8:607-12.
14. Manabe F, Takeshima H, Akaza H. Protecting spermatogenesis from damage induced by doxorubicin using the luteinizing hormone-releasing hormone agonist leuprorelin: an image analysis study of a rat experimental model. *Cancer* 1997;79:1014-21.
15. Agarwal A, Saleh RA. Role of oxidants in male infertility: rationale, significance, and treatment. *Urol Clin North Am* 2002;29:817-27.
16. Bardi D, Halabi M, Abdullah N, Rouhollahi E, Hajrezaie M. In Vivo Evaluation of Ethanolic Extract of *Zingiber officinale* Rhizomes for Its Protective Effect against Liver Cirrhosis. *Biomed Res Int*. 2013;2013:918460.
17. World Health Organization (WHO) laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction. Cambridge University Press; 1999.
18. Baumgartner A, Schmid TE, emeli EC, Anderson D. Parallel evaluation of doxorubicin-induced genetic damage in human lymphocytes and sperm using the comet assay and spectral karyotyping. *Mutagenesis* 2004;19:313-18.
19. Ichihara S, Yamada Y, Kawai Y, Osawa T, Furuhashi K, Duan Z, et al. Roles of oxidative stress and Akt signaling in doxorubicin cardiotoxicity. *Biochem Biophys Res Commun* 2007;359:27-33.

20. Kota N, Krishna P, Polasa K. Alterations in antioxidant status of rats following intake of ginger through diet Food Chemistry. *Biochem Biophys Res Com* 2008;106:991-96.
21. Sharma SS, Gupta YK. Reversal of cisplatin-induced delay in gastric emptying in rats by ginger (*Zingiber officinale*). *J Ethnopharmacol* 2009;62:49-55.
22. Debnath D, Mandal T. Study of quinalphos (an environmental oestrogenic insecticide) formulation (Ekalux 25 EC)-induced damage of the testicular tissues and antioxidant defence systems in Sprague-Dawley albino rats. *J Appl Toxicol* 2000;20:197-204.
23. Shukla Y, Prasad S, Tripathi C, Singh M, George J, Kalra N. In vitro and in vivo modulation of testosterone mediated alterations in apoptosis related proteins by [6]-gingerol. *Mol Nutr Food Res* 2007;51:1492-502.
24. Murakami A, Takahashi D, Kinoshita T, Koshimizu K, Kim HW, Yoshihiro A, et al. Zerumbone, a Southeast Asian ginger sesquiterpene, markedly suppresses free radical generation, proinflammatory protein production, and cancer cell proliferation accompanied by apoptosis: the alpha,beta-unsaturated carbonyl group is a prerequisite. *Carcinogenesis* 2002;23:795-802.
25. Agarwal A, Saleh RA. Role of oxidants in male infertility: rationale, significance, and treatment. *Urol Clin North Am* 2002;29:817-27.