



دانشگاه پیام نور استان تهران

مرکز تهران شرق

دانشکده علوم پایه

گروه زیست شناسی

## تأثیر کوئرتستین بر محور هیپوفیز-گناد، پارامترهای اسپرم و بافت بیضه در موش صحرائی نر

پایان نامه برای دریافت درجه کارشناسی ارشد  
در رشته زیست شناسی جانوری گرایش فیزیولوژی-تکوینی

دانشجو:

فاطمه زهره

استاد راهنما:

دکتر سیما نصری

استاد مشاور:

دکتر پریسا کریشچی

اردیبهشت ماه ۱۳۹۳

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

بسمه تعالی

## صور تجلسه دفاع از پایان نامه کارشناسی ارشد

نام مرکز:

نام دانشجو:

شماره دانشجویی:

رشته:

گرایش:

عنوان پایان نامه / رساله:

تاریخ دفاع: / / ۱۳۹

نمره و درجه پایان نامه / رساله:

ردیف	سمت	نام و نام خانوادگی	مرتبۀ دانشگاهی	دانشگاه یا مؤسسه	امضا
۱	استاد راهنما				
۲	استاد راهنمای همکار				
۳	استاد مشاور ۱				
۴	استاد مشاور ۲				
۵	استاد داور				
۶	نماینده گروه آموزشی و پژوهشی استان				

## گواهی اصالت، نشر و حقوق مادی و معنوی اثر

اینجانب **فاطمه زهره** دانشجوی ورودی سال **۱۳۸۸** مقطع کارشناسی ارشد رشته **زیست شناسی جانوری** گواهی می نمایم چنانچه در پایان نامه خود از فکر، ایده و نوشته دیگری بهره گرفته‌ام با نقل قول مستقیم یا غیرمستقیم منبع و ماخذ آن را نیز در جای مناسب ذکر کرده‌ام. بدیهی است مسئولیت تمامی مطالبی که نقل قول دیگران نباشد بر عهده خویش می‌دانم و جوابگوی آن خواهم بود.

دانشجو تأیید می‌نماید که مطالب مندرج در این پایان نامه (یا رساله) نتیجه تحقیقات خودش می‌باشد و در صورت استفاده از نتایج دیگران مرجع آن را ذکر نموده است.

نام و نام خانوادگی دانشجو: **فاطمه زهره**  
تاریخ و امضاء:

اینجانب **فاطمه زهره** دانشجوی ورودی سال **۱۳۸۸** مقطع کارشناسی ارشد رشته **زیست شناسی جانوری** گواهی می‌نمایم چنانچه براساس مطالب پایان نامه خود اقدام به انتشار مقاله، کتاب، و ... نمایم ضمن مطلع نمودن استاد راهنما، با نظر ایشان نسبت به نشر مقاله، کتاب، و ... و به صورت مشترک و با ذکر نام استاد راهنما مبادرت نمایم.

نام و نام خانوادگی دانشجو: **فاطمه زهره**  
تاریخ و امضاء:

(کلیه حقوق مادی مترتب از نتایج مطالعات، آزمایشات و نوآوری ناشی از تحقیق موضوع این پایان نامه متعلق به دانشگاه پیام نور می‌باشد.)

تقدیم بہ:

پدر و مادر عزیزم

کہ ہستی بخش من بودہ و هستند

و

ہمسر مہربانم

کہ ہستی من بی او ممکن نمی باشد

# مشکر و قدردانی فراوان:

از استادگرامی و تقدیرم سرکار خانم دکتر نصری که در تمام مراحل این پژوهش از

مهر و دانش دریایی ایشان بهره‌مند گردیدم

و استاد ارجمندم سرکار خانم دکتر کریشچی که با راهنمایی‌های دلسوزانه ایشان،

این تحقیق به انجام رسید.

## چکیده

آنتی اکسیدانها از جمله کوئرستین از آسیب سلول اسپرم توسط رادیکالهای آزاد محافظت میکنند. پژوهش حاضر نیز به منظور بررسی اثرات کوئرستین بر اسپرماتوژنز در موش صحرایی نر صورت گرفت. در این پژوهش از ۵۰ سر موش صحرایی نر در قالب یک گروه کنترل و ۴ گروه تجربی استفاده شد. محلول کوئرستین دو هفته روزانه بصورت داخل صفاقی در دوزهای ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ میلی گرم/کیلوگرم به گروههای تجربی تزریق شد. یک هفته پس از آخرین تزریق خونگیری به منظور تعیین غلظت هورمونها انجام و سپس بیضه چپ وزن کشی شد. اسپرمهای اپیدیدیمی و برشهای بافتی بیضه نیز مورد مطالعه قرار گرفت.

در بررسی میزان گنادوتروپینها در سرم خون تفاوت معنی داری مشاهده نشد اما هورمون تستوسترون بویژه در دوز ۲۰ mg/kg ( $6,52 \pm 0,50$ ) ( $P \leq 0.01$ ) افزایش یافت. در تغییرات وزنی بیضهها تفاوت معنی دار قابل قبولی دیده نشد. تعداد اسپرمها در اپیدیدیم بویژه در دوز ۲۰ mg/kg ( $51,35 \pm 1,68$ ) ( $P \leq 0.05$ ) و همچنین تحرک اسپرمها در دوز ۲۰ mg/kg ( $73,88 \pm 5,91$ ) ( $P \leq 0.001$ ) افزایش یافت. در بررسی تعداد سلولهای اسپرماتوگونی در هیچ یک از گروهها تفاوت معنی داری دیده نشد. اما تعداد اسپرماتوسیت اولیه ( $118,25 \pm 7,04$ ) ( $P \leq 0.05$ )، اسپرماتید ( $106,75 \pm 6,28$ ) ( $P \leq 0.01$ ) و اسپرماتوزوئید ( $101,75 \pm 6,30$ ) ( $P \leq 0.001$ ) هر سه در دوز ۲۰ mg/kg افزایش یافت.

با توجه به عدم تغییرات معنی دار گنادوتروپینها احتمالاً کوئرستین بر روی محور هیپوفیز-گناد موثر نبوده است. گمان می رود کوئرستین با افزایش ترشح تستوسترون و اثرات آنتی اکسیدانی خود موجب بهبود کمی و کیفی سلولهای زایا شده است.

**کلید واژه‌ها:** کوئرستین، آنتی اکسیدان، LH، FSH، تستوسترون، اسپرماتوژنز، موش صحرایی نر

## فهرست مطالب

صفحه	عنوان
۱	فصل ۱: کلیات
۲	۱-۱-زادآوری
۲	۲-۱-ناباروری
۲	۳-۱-ناباروری در انسان
۳	۱-۳-۱-تعریف سازمان بهداشت جهانی از ناباروری
۳	۴-۱-علل ناباروری در مردان
۵	۱-۴-۱-عوامل پیش بیضه ای
۶	۲-۴-۱-عوامل بیضه ای
۷	۳-۴-۱-عوامل پس بیضه ای
۸	۵-۱-روشهای تشخیص ناباروری در مردان
۸	۱-۵-۱-نمونه برداری از منی
۹	۲-۵-۱-نمونه برداری از خون
۹	۶-۱-پیشگیری و جلوگیری از ناباروری
۱۰	۷-۱-درمان ناباروری در مردان
۱۰	۱-۷-۱-درمان آناتومیک
۱۰	۲-۷-۱-درمان شیمیایی
۱۰	۱-۲-۷-۱-داروهای آنتی استروژن



- ۱۱-۲-۲-۷-۱-آنتی اکسیدان‌ها
- ۱۲-۲-۲-۷-۱-آنتی اکسیدان‌ها و ناباروری
- ۱۴-۲-۲-۷-۱-آنتی اکسیدان‌های آنزیمی
- ۱۴-۲-۲-۷-۱-۳-آنتی اکسیدان‌هایی با وزن مولکولی پایین
- ۱۵-۲-۲-۷-۱-۴-آنتی اکسیدان‌های خوراکی
- ۱۶-۲: مبانی نظری
- ۱۷-۲-۱-دستگاه تولید مثل نر
- ۱۸-۲-۱-۱-بیضه
- ۲۱-۲-۱-۲-مجاری تناسلی
- ۲۲-۲-۱-۳-غدد ضمیمه دستگاه تناسلی
- ۲۳-۲-۱-۴-آلت تناسلی مرد
- ۲۴-۲-۱-۵-بافت شناسی بیضه
- ۲۸-۲-۱-۶-اسپرماتوزنز
- ۳۵-۲-۱-۷-تستوسترون و سایر هورمون‌های جنسی مردانه و اثرات فیزیولوژیک آنها
- ۳۹-۲-۱-۸-هورمون‌های گنادوتروپین (FSH و LH)
- ۴۳-۲-۱-۹-عوامل موثر دیگر بر بیضه
- ۴۴-۲-۱-۱۰-دستگاه تناسلی موش صحرائی
- ۴۹-۲-۲-کوئرستین
- ۵۰-۲-۲-۱-پیدایش
- ۵۱-۲-۲-۲-متابولیسم

۵۱	۱-۲-۲-۲-بیوسنتز
۵۳	۳-۲-۲-اثرات دارویی کوئرستین
۵۳	۱-۳-۲-۲-ضد ویروس
۵۳	۲-۳-۲-۲-ضد آسم
۵۳	۳-۳-۲-۲-ضد سرطان
۵۴	۴-۳-۲-۲-ضد اگزما
۵۴	۵-۳-۲-۲-کاهش بیماری‌های قلبی
۵۴	۶-۳-۲-۲-ضد التهاب
۵۵	۷-۳-۲-۲-جلوگیری از سندرم متابولیک
۵۵	۸-۳-۲-۲-مهارکننده مونوآمینواکسیداز
۵۶	<b>فصل ۳: مواد و روش‌ها</b>
۵۷	۱-۳-۱-مواد مورد نیاز
۵۸	۲-۳-۱-وسایل مورد نیاز
۶۰	۳-۳-۱-حیوانات آزمایشگاهی
۶۱	۱-۳-۳-نمونه مورد آزمایش
۶۱	۲-۳-۳-شرایط نگهداری و پرورش حیوان
۶۱	۴-۳-۱-روشها
۶۱	۱-۴-۳-روش تهیه محلول تزریقی
۶۱	۲-۴-۳-روش تعیین دوز مصرفی
۶۱	۳-۴-۳-گروه‌های آزمایشی

- ۶۲ ۴-۴-۳- تشریح موشها و خونگیری
- ۶۲ ۴-۴-۵- جداسازی سرمها
- ۶۳ ۴-۴-۶- سنجش هورمونهای LH، FSH و تستوسترون
- ۶۵ ۴-۴-۷- خارج کردن بیضه‌ها و توزین آنها
- ۶۵ ۴-۴-۸- تهیه محلول حاوی اسپرم‌های اپیدیدیمی
- ۶۵ ۴-۴-۹- روش شمارش تعداد کل اسپرم‌های نرمال اپیدیدیمی
- ۶۶ ۴-۴-۱۰- روش اندازه گیری درصد تحرک اسپرم
- ۶۷ ۴-۴-۱۱- فیکس کردن نمونه‌های بافتی بیضه و آبگیری از آنها
- ۶۷ ۴-۴-۱۲- الکل گیری و نفوذ دادن پارافین
- ۶۸ ۴-۴-۱۳- قالب گیری نمونه‌ها
- ۶۸ ۴-۴-۱۴- برش گیری
- ۶۹ ۴-۴-۱۵- آماده سازی و انتقال برش‌ها بر روی لام
- ۷۰ ۴-۴-۱۶- رنگ آمیزی برش‌ها
- ۷۱ ۳-۵-۵- روش مطالعه بافتی بیضه‌ها
- ۷۱ ۳-۵-۱- روش شمارش
- ۷۱ ۳-۵-۲- روش شمارش تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی
- ۷۱ ۳-۵-۳- روش شمارش تعداد سلول‌های اسپرماتوسیت اولیه
- ۷۱ ۳-۵-۴- روش شمارش تعداد سلول‌های اسپرماتید
- ۷۲ ۳-۵-۵- روش شمارش تعداد سلول‌های اسپرماتوزوئید
- ۷۲ ۳-۶- آنالیز آماری داده‌ها و رسم نمودارها

۷۳	<b>فصل ۴: نتایج</b>
۷۴	۴-۱- نتایج حاصل از سنجش‌های هورمونی
۷۴	۴-۱-۱- نتایج حاصل از اثر کوئرستین بر غلظت LH سرم خون
۷۶	۴-۱-۲- نتایج حاصل از اثر کوئرستین بر غلظت FSH سرم خون
۷۸	۴-۱-۳- نتایج حاصل از اثر کوئرستین بر غلظت تستوسترون سرم خون
۸۰	۴-۲- نتایج حاصل از اثر کوئرستین بر وزن بیضه‌ها
۸۲	۴-۳- نتایج حاصل از اثر کوئرستین بر تعداد کل اسپرم‌های اپیدیدیمی
۸۴	۴-۴- نتایج حاصل از اثر کوئرستین بر درصد تحرک اسپرم‌ها
۸۶	۴-۵- نتایج حاصل از مطالعات بافت بیضه
۸۶	۴-۵-۱- نتایج حاصل از اثر کوئرستین بر تعداد سلولهای اسپرماتوگونی
۸۸	۴-۵-۲- نتایج حاصل از اثر کوئرستین بر تعداد سلولهای اسپرماتوسیت اولیه
۹۰	۴-۵-۳- نتایج حاصل از اثر کوئرستین بر تعداد سلولهای اسپرماتید
۹۲	۴-۵-۴- نتایج حاصل از اثر کوئرستین بر تعداد سلولهای اسپرماتوزوئید
۹۹	<b>فصل ۵: بحث و تفسیر</b>
۱۰۵	نتیجه‌گیری
۱۰۶	پیشنهادات
۱۰۷	پیوست‌ها
۱۰۹	منابع

## فهرست جدولها و نمودارها

صفحه

عنوان

- 
- |    |   |
|----|---|
| ۵۰ | جدول ۱-۲: میزان کوئرستین موجود در برخی مواد غذایی                               |
| ۷۴ | جدول ۱-۴: جدول آزمون مقایسه ای جهت بررسی میزان هورمون LH سرم خون                |
| ۷۵ | نمودار ۱-۴: تاثیر دوزهای مختلف کوئرستین بر میزان ترشح LH سرم خون                |
| ۷۶ | جدول ۲-۴: جدول آزمون مقایسه ای جهت بررسی میزان هورمون FSH سرم خون               |
| ۷۷ | نمودار ۲-۴: تاثیر دوزهای مختلف کوئرستین بر غلظت هورمون FSH سرم خون              |
| ۷۸ | جدول ۳-۴: جدول آزمون مقایسه ای جهت بررسی میزان هورمون تستوسترون سرم خون         |
| ۷۹ | نمودار ۳-۴: تاثیر دوزهای مختلف کوئرستین بر غلظت هورمون تستوسترون سرم خون        |
| ۸۰ | جدول ۴-۴: جدول آزمون مقایسه ای جهت بررسی وزن بافت بیضه                          |
| ۸۱ | نمودار ۴-۴: تاثیر دوزهای مختلف کوئرستین بر تغییرات وزنی بیضه چپ                 |
| ۸۲ | جدول ۵-۴: جدول آزمون مقایسه ای جهت بررسی تعداد کل اسپرم                         |
| ۸۳ | نمودار ۵-۴: تاثیر دوزهای مختلف کوئرستین بر تعداد اسپرمهای شمارش شده در اپیدیدیم |
| ۸۴ | جدول ۶-۴: جدول آزمون مقایسه ای جهت بررسی درصد تحرک اسپرم                        |
| ۸۵ | نمودار ۶-۴: تاثیر دوزهای مختلف کوئرستین بر تحرک اسپرمها                         |
| ۸۶ | جدول ۷-۴: جدول آزمون مقایسه ای جهت بررسی تعداد سلولهای اسپرماتوگونی             |
| ۸۷ | نمودار ۷-۴: تاثیر دوزهای مختلف کوئرستین بر تعداد سلولهای اسپرماتوگونی           |
| ۸۸ | جدول ۸-۴: جدول آزمون مقایسه ای جهت بررسی تعداد سلولهای اسپرماتوسیت اولیه        |
| ۸۹ | نمودار ۸-۴: تاثیر دوزهای مختلف کوئرستین بر تعداد سلولهای اسپرماتوسیت اولیه      |

- ۹۰ جدول ۹-۴: جدول آزمون مقایسه ای جهت بررسی تعداد سلول‌های اسپرماتید
- ۹۱ نمودار ۹-۴: تاثیر دوزهای مختلف کوئرستین بر تعداد سلول‌های اسپرماتید
- ۹۲ جدول ۱۰-۴: جدول آزمون مقایسه ای جهت بررسی تعداد سلول‌های اسپرماتوزوئید
- ۹۳ نمودار ۱۰-۴: تاثیر دوزهای مختلف کوئرستین بر تعداد سلول‌های اسپرماتوزوئید

## فهرست شکلها

صفحه

عنوان

- 
- شکل ۱-۱: نمایی کلی از عوامل ناباروری در مردان ۴
- شکل ۲-۱: طرح شماتیک عملکرد آنتی اکسیدانها در خنثی سازی آسیبهای رادیکالهای آزاد ۱۲
- شکل ۱-۲: نمایی شماتیک از دستگاه تولید مثل مرد ۱۸
- شکل ۲-۲: برش عرضی بیضه و ساختار درونی آن ۲۰
- شکل ۳-۲: برش عرضی آلت تناسلی مرد و ساختار درونی آن ۲۴
- شکل ۴-۲: سلولهای سرتولی و سد خونی بیضه ۲۶
- شکل ۵-۲: برش عرضی لوله منی ساز و سلولهای زایای آن ۲۸
- شکل ۶-۲: طرح کلی اسپرماتوژنز در انسان ۲۹
- شکل ۷-۲: نمایی شماتیک از فرآیند اسپرمیوژنز ۳۱
- شکل ۸-۲: ساختمان اسپرماتوزوئید ۳۴
- شکل ۹-۲: تبدیل تستوسترون به دی هیدروتستوسترون (DHT) توسط آنزیم ۵-آلفا-ردوکتاز ۳۵
- شکل ۱۰-۲: طرح کلی محور هیپوفیز-گناد و تنظیم هورمونی بیضه ۴۱
- شکل ۱۱-۲: آناتومی دستگاه تناسلی موش صحرائی نر ۴۴
- شکل ۱۲-۲: نمایی شماتیک از بیضه، بافت درونی آن و لولههای منی ساز در موش صحرائی نر ۴۵
- شکل ۱۳-۲: اسپرم موش نر با سر قلبی شکل ۴۸

- ۵۲ شکل ۲-۱۴: ساختار مولکولی کوئرستین
- ۵۹ شکل ۳-۱: a دستگاه پاساژ بافتی، b دستگاه میکروتوم، c دستگاه حمام بافتی، d قالبهای پارافینی
- ۵۹ شکل ۳-۲: میکروسکوپ نوری
- ۶۰ شکل ۳-۳: میکروسکوپ دوربین دار
- ۶۳ شکل ۳-۴: دستگاه Elisa reader
- ۹۴ شکل ۴-۱: برش عرضی بافت بیضه گروه کنترل
- ۹۵ شکل ۴-۲: برش عرضی بافت بیضه گروه تجربی ۱ (دوز دریافتی کوئرستین ۵ mg/kg)
- ۹۶ شکل ۴-۳: برش عرضی بافت بیضه گروه تجربی ۲ (دوز دریافتی کوئرستین ۱۰ mg/kg)
- ۹۷ شکل ۴-۴: برش عرضی بافت بیضه گروه تجربی ۳ (دوز دریافتی کوئرستین ۱۵ mg/kg)
- ۹۸ شکل ۴-۵: برش عرضی بافت بیضه گروه تجربی ۴ (دوز دریافتی کوئرستین ۲۰ mg/kg)



فصل ۱:

کلیات

## ۱-۱- زادآوری

تولید مثل یا زادآوری فرایندی زیست شناختی است که در آن موجودات زنده تازه و منفردی به وجود می‌آیند. زادآوری از خصوصیت‌های بنیادین تمام انواع حیات است؛ هر جاندار زنده ای که وجود دارد نتیجه یک زادآوری است. روش‌های شناخته شده زادآوری را در دو گروه عمده طبقه‌بندی می‌کنند: تولید مثل جنسی و تولید مثل غیرجنسی (Litin, 2009).

در تولید مثل غیرجنسی، هر فرد می‌تواند به تنهایی زادآوری کند اما در تولید مثل جنسی به دو فرد از یک گونه زیستی نیاز است، معمولاً از هر جنس یکی. تولید مثل معمولی در انسان مثالی از زادآوری جنسی است (Tobler, 2005).

اگر گونه ای از جانداران نتواند فعالیت تولید مثل انجام دهد نسل آن گونه جانوری منقرض خواهد شد. یکی از مهمترین کارهای موجودات زنده بویژه انسان فعالیت در جهت بقای نسل خود است (Litin, 2009).

## ۱-۲- ناباروری

ناباروری<sup>۱</sup> یا سترونی، عدم توانایی جاندار در راستای بوجود آوردن مانند خویش می باشد که می تواند شامل همه جانداران از جمله گیاهان، حیوانات و همچنین آدمی می‌باشد (Augood, 2002).

## ۱-۳- ناباروری در انسان

در پزشکی هرگاه زن و مردی در سن باروری ۱۲ ماه پس از شروع آمیزش علی‌رغم انجام فعالیت جنسی طبیعی و بدون استفاده از روش‌های پیشگیری، بچه دار نشوند یکی از آنها دچار ناباروری است. ناباروری در انسان می‌تواند منشا پدری مانند واریکوسل<sup>۲</sup> و آزواسپرمی<sup>۳</sup> داشته باشد یا منشا مادری مانند سندرم ترنر<sup>۴</sup>، آژنزی تخمدان<sup>۵</sup>، سندرم آشرمن<sup>۶</sup>. البته باید توجه داشت که ناباروری به معنی عدم

---

<sup>1</sup> infertility

<sup>2</sup> Varicocele

<sup>3</sup> Azoospermia

<sup>4</sup> Turner syndrome

<sup>5</sup> ovarian agenesis

<sup>6</sup> sherman syndrome

تولید گامت نیست بلکه عدم توان تولد نوزاد زنده را گویند مثلاً در مردان بیماری اولیگواسپرمی از انجام وازکتومی فرد بالقوه اسپرم تولید می‌کند ولی در عمل نمی‌تواند بچه‌دار شود.

مشابه این حالت در زنان نداشتن مادرزادی رحم و نیز پس از انجام عمل قطع لوله‌های فالوپ (T.L) است (Augood, 2002).

حدود ۴۰ درصد از مسائل درگیر با ناباروری به دلیل مرد، ۴۰ درصد دیگر به دلیل به زن، و ۲۰ درصد از عوارض با هر دو طرف است (Gurunath, 2011).

### ۱-۳-۱- تعریف سازمان بهداشت جهانی از ناباروری

براساس تعریف سازمان جهانی بهداشت، ناباروری به شرح زیر است:

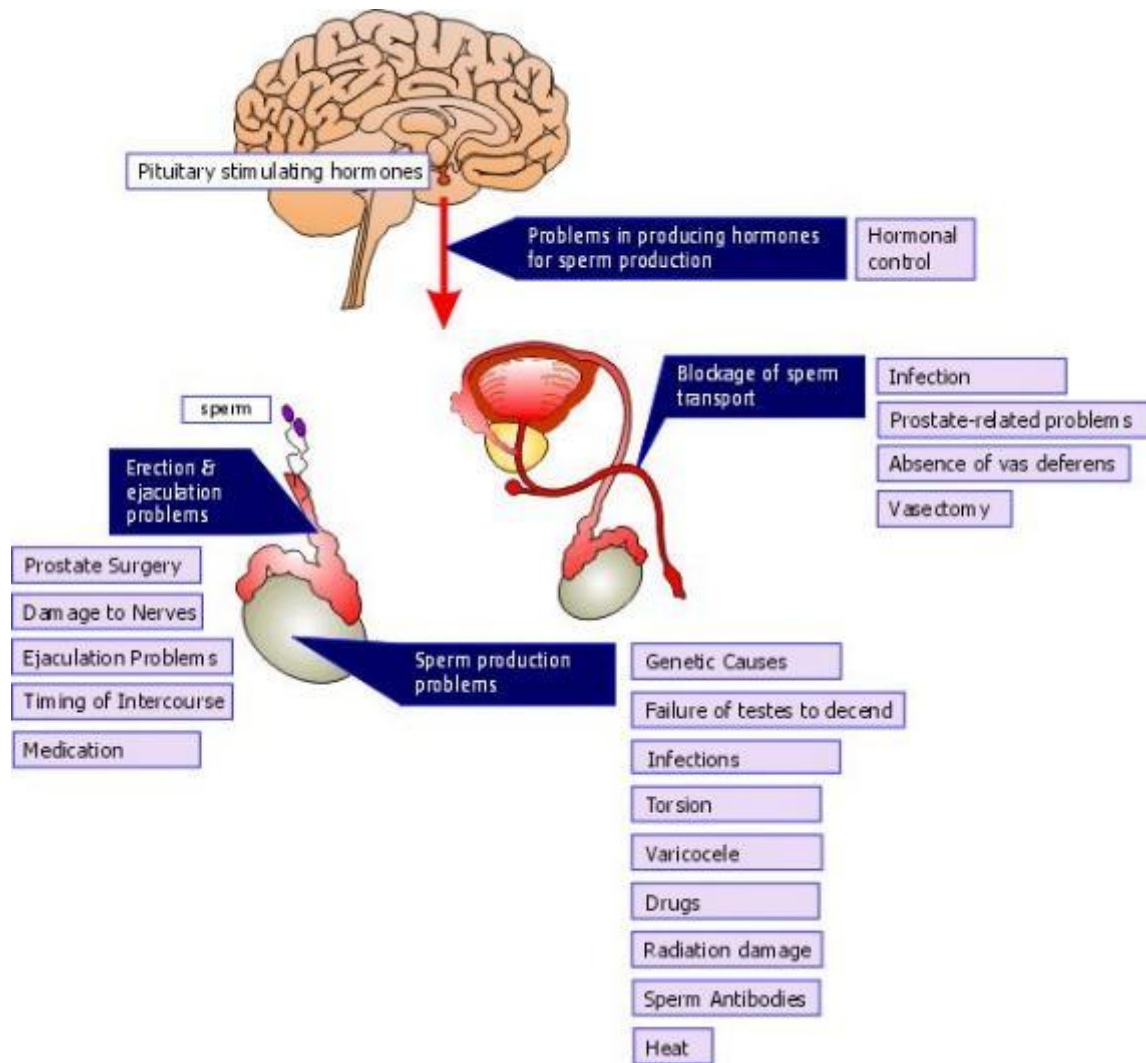
اگر زوجی پس از دو سال مقاربت جنسی منظم بدون استفاده از روش‌های جلوگیری از بارداری، زن باردار نشود (و همچنین بدون دلایلی مانند تغذیه با شیر مادر و یا آمنوره<sup>۷</sup> پس از زایمان) به آن زوج نابارور گفته می‌شود (WHO, 2013).

### ۱-۴-۱- علل ناباروری در مردان

ناباروری مردان به معنی ناتوانی یک مرد برای بارورسازی یک زن با توانایی زادآوری می‌باشد و در انسان ۴۰-۵۰٪ از علل ناباروری‌ها را به خود اختصاص داده است. کمبود مایع منی و یا کیفیت مایع منی از جمله دلایل معمول در ناباروری مردان می‌باشد (Brug, 2004) (شکل ۱-۱).

---

<sup>7</sup> amenorrhea



شکل ۱-۱: نمایی کلی از عوامل ناباروری در مردان

[http://www.just.edu.jo/~mafika/733\\_Reproductive%20Endocrinology/Infertility\\_Male\\_](http://www.just.edu.jo/~mafika/733_Reproductive%20Endocrinology/Infertility_Male_)

(Causes\_1.jpg