

بررسی تاثیر گلاب خالص بر تولید مثل موش نر

انتظار محرابی نسب^۱، مظفر خزاعی^{۲*}

۱- پزشک عمومی، مرکز تحقیقات باروری و ناباروری، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه
۲- فلوشیپ کشت سلول، دانشیار مرکز تحقیقات باروری و ناباروری، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه
*آدرس مکاتبه: کرمانشاه، بلوار شهید شیروودی، خیابان دانشگاه، دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات باروری و ناباروری، تلفن: ۰۸۳۱-۴۲۷۴۶۱۸، دورنگار: ۴۲۸۱۵۶۳ (۰۸۳۱).
پست الکترونیک: mkhazaei1345@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۸۷/۶/۳۱

تاریخ تصویب: ۹۰/۳/۶

چکیده

مقدمه: ترکیبات گل سرخ اثرات متنوعی نظیر خواص ضد میکروبی، ضد آسم و برونشیت، ضد افسردگی و ضد خشکی پوست دارند. هدف: بررسی تاثیر گلاب خالص بر پارامترهای تولید مثل در موش نر.

روش بررسی: در این مطالعه از موش‌های نر بالغ نژاد Balb/c با محدوده وزنی ۳۰-۲۵ گرم استفاده شد. در بخش اول مطالعه، حیوانات در سه گروه کنترل و دوزهای ۱۰ و ۲۰ ml/kg/day و گلاب قرار گرفته و به مدت ۷ روز یکی از دوزهای گلاب و یا آب مقطر را به روش داخل صفاقی دریافت کردند. از روز پنجم موش‌های نر و ماده هم قفس شده و هر روز صبح موش‌های ماده لقاح داشته شناسایی شدند. در بخش دوم آزمایش‌ها، موش‌های نر جوان تشریح و دم اپیدیدیم آنها جدا و در محیط کشت خرد و انکوبه شد. به نمونه‌های اسپرم یکی از دوزهای ۵، ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میکرولیتر بر میلی لیتر گلاب خالص و به گروه کنترل فقط محیط کشت اضافه شد. حرکت اسپرم‌ها طبق معیارهای استاندارد تعیین شد. داده‌ها با روش ANOVA یکطرفه تجزیه و تحلیل و $p < 0.05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج: در آزمایش اول بین گروه کنترل و دوزهای ۱۰ و ۲۰ ml/kg/day گلاب خالص از نظر میزان لقاح اختلاف معنی‌دار وجود نداشت، هرچند در گروه‌های گلاب کاهش داشت. در آزمایش دوم دوزهای مختلف گلاب باعث کاهش معنی‌دار حرکات پیشرونده اسپرم و همچنین تغییر شکل مورفولوژیک آنها شد.

نتیجه‌گیری: گلاب خالص بر تحرک و مورفولوژی اسپرم موش اثر منفی داشته و میزان لقاح را کاهش می‌دهد.

کل واژگان: گلاب، اسپرم، باروری، موش نر



مقدمه

گل محمدی (گل سرخ *Rosa damascena* Mill) گیاهی از خانواده Rosaceae است [۱] که از روزگار باستان در ایران کشت می‌شده است [۲]. این گیاه دارای بوته‌های کوچک، برگ‌های دنداندار و گلبرگ‌هایی به رنگ صورتی روشن یا سفید می‌باشد [۱،۲]. برگ و گلبرگ‌ها و روغن فرار آن در صنایع غذایی، آرایشی و حتی پزشکی نوین کاربردهای گوناگونی دارد [۳]. روغن فرار آن را عطر گل هم می‌نامند که محتوی ترین‌های هیدروکربن و اکسیژن‌دار است [۴].

اسانس گل سرخ دارای دو بخش جامد و مایع است. بخش جامد آن استئاروپتن نام دارد که بدون بو است و بخش مایع آن دارای بوی قوی و تندی به نام التوپتن است که در ساختار آن ژرانیول و سیترونولول، نرول، لینالول و فیل اتیل الکل وجود دارد [۲،۳،۵]. اسانس گل سرخ به طور وسیعی در عطرسازی و فرآورده‌های آرایشی به کار می‌رود [۲،۳]. از اسانس گل سرخ فرآورده‌های دیگری نظیر گلاب غلیظ، پماد گلاب، گلاب قوی و گلاب ۳ برابر به دست می‌آید [۶].

ترکیبات این گیاه، کاربردهای فراوانی دارد. از جمله برای درمان اسهال، درد و عطسه به کار می‌رود [۳]. Rose Oil و Rose Atto نیز به عنوان ضدافسردگی، تسکین‌دهنده و ضد میکروب شناخته شده‌اند [۸]. سایر خواص Rose oil عبارت‌اند از: ضد درد، ضد عفونی کننده، ضد ویروس، ضد قارچ، ضد التهاب و موثر در درمان آسم، فشار خون بالا، برونشیت، نقص گردش خون، اسهال، تب، عفونت ادراری [۲،۳،۷،۹].

از گلاب به عنوان یک ترکیب قابض [۳] و یک ماده با ارزش برای شستشوی چشم‌های ملتهب و زخمی نام برده شده که در درمان خشکی پوست و آگزما و درماتیت و همچنین تقویت پوست مفید است [۸]. محصولات حاصل از گل سرخ می‌تواند دارای اثرات ضدافسردگی نیز باشد [۳،۱۰]. اسانس گل سرخ در درمان چین و چروک‌های ناشی از کشیدگی پوست در دوران بارداری کاربرد دارد [۸].

از ترکیبات آن Rose-otto است که با بالاترین فرکانس (۳۲۰ Hertz) از روغن فرار به دست می‌آید که می‌تواند تعادل بین هورمون‌های مختلف بدن را برقرار کند و ممکن

است در افرادی که ناتوانی جنسی مزمن دارند و همچنین در بهبود و افزایش میل جنسی کمک کننده باشد. در این مقاله مصرف Rose Atto را به زنانی که در رسیدن به ارگاسم مشکل دارند و همچنین مردانی که از اختلال نعوظی زجر می‌برند توصیه شده است. فیل اتیل آمین (phenyl ethylamine, PEA) ماده‌ای است که در گلاب وجود دارد و بهبوددهنده‌ی میل جنسی است [۸،۱۱].

با توجه به خواص آنتی‌اکسیدانی این گیاه از آن به عنوان یک عامل ضدپیری نام می‌برند به نحوی که عصاره آن باعث کاهش مرگ و میر مگس‌های سرکه نر شد [۱۲]. همچنین خواص شل‌کنندگی عضلات [۱۳]، محافظت‌کنندگی کبد در مقابل ضایعات ناشی از CCL₄ [۱۴]، خواص ضد HIV [۱۵] و خواص ضد دیابتی [۱۶] گزارش شده است.

در کتب طب سنتی مطالبی در باره اثرات درمانی یا عوارض جانبی گل سرخ نگاشته شده است ولی تحقیقات تجربی نوین تنها بر روی تعدادی از مشتقات یا اجزای تشکیل‌دهنده عصاره‌ی گل سرخ انجام شده است. همچنین یکی از منابع طب سنتی به خواص کاهش دهنده قوه باه اشاره شده است [۳]. با این وصف از اثر گلاب در بهبود فعالیت جنسی و سلول‌های جنسی مذکر (اسپرم) و میزان لقاح اطلاعات مستندی وجود ندارد. لذا هدف تحقیق حاضر بررسی اثر گلاب خالص بر میزان لقاح، مورفولوژی و میزان تحرک اسپرم در موش نر بود.

موادها و روش‌ها

گیاه

گل‌های تازه گیاه تهیه و پس از تایید توسط گیاه‌شناس، تمیز و گلبرگ‌های آنها مورد استفاده قرار گرفت. گلاب خالص رقیق نشده که به صورت ترکیبی بی‌رنگ و دارای بوی بسیار شدید و شیرین بود به روش تقطیر با بخار آب از گلبرگ‌های تازه گیاه به دست آمد. گلاب‌گیری و خالص‌سازی آن با نظارت یکی از کارشناسان خبره و مسلط در این زمینه انجام شد.



داده‌ها با روش ANOVA یکطرفه تجزیه و تحلیل و $p < 0/05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در آزمایش اول، میزان لقاح در موش‌های نر که گلاب را با دوزهای ۱۰ و ۲۰ ml/kg/day دریافت کردند کمتر از گروه کنترل بود هر چند این تفاوت نظر آماری معنی‌دار نبود (نمودار شماره ۱). همچنین موش‌های گروه آزمایش دچار لاغری و کاهش وزن شده بودند.

در آزمایش دوم، میزان حرکات پیشرونده (درجه ۳ و ۴) اسپرم در گروه کنترل با $p < 0/0005$ با تمام دوزهای گلاب (۵، ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰) اختلاف معنی‌دار داشت (نمودار شماره ۲). در حالی که میزان حرکت نوع ۱ و ۲ در گروه کنترل با هیچ کدام از دوزهای گلاب تفاوت معنی‌داری نداشت. در حرکت صفر بین گروه کنترل و دوز ۱۰ گلاب ($p < 0/008$) و در دوز ۵۰ با ($p < 0/002$) و در دوز ۱۰۰ با ($p < 0/002$) تفاوت معنی‌دار بود، اما در دوز ۵ گلاب با ($p < 0/07$) تفاوت از نظر آماری معنی‌دار نبود (نمودار شماره ۳). با وجود آنکه افزایش دوز گلاب حرکات اسپرم‌ها را محدودتر کرد اما تفاوت بین دوزهای مختلف گلاب بر اساس آنالیز واریانس یک طرفه معنی‌دار نبود و اثر مذکور وابسته به دوز نیز نبود. از نظر مورفولوژی در گروه‌های آزمایش، اسپرم‌ها دچار خمیدگی و حالت پیچ خوردگی شدند.

بحث

نتایج حاصل نشان داد که گلاب می‌تواند با کاهش میزان لقاح و همچنین کاهش میزان تحرک و تغییر مورفولوژی اسپرم بر باروری اثرگذار باشد. حرکت پیشرونده اسپرم که در لقاح تخمک اهمیت دارد تحت اثر گلاب به طور معنی‌دار کاهش می‌یابد. همچنین گلاب اثر منفی مستقیم بر مورفولوژی اسپرم‌های موش داشته و باعث خمیدگی و تاب خوردن آنها می‌شود که این نیز می‌تواند منجر به کاهش قدرت لقاح اسپرم‌ها شود.

در این مطالعه از موش‌های نر بالغ نژاد Balb/c با محدوده وزنی ۳۰ - ۲۵ گرم استفاده شد. در هر قفس سه عدد موش قرار داده شد. حیوانات در شرایط معمول، با درجه حرارت 1 ± 22 درجه سانتی‌گراد و دوره روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعته نگهداری شدند و دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند.

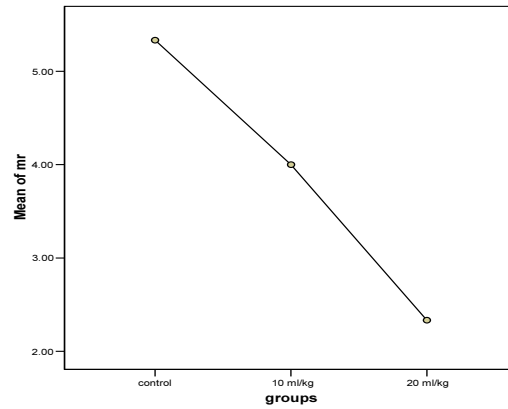
روش آزمایش

آزمایش‌ها در دو بخش انجام شد. در بخش اول، حیوانات به مدت ۷ روز یکی از دوزهای ۱۰ و ۲۰ ml/kg/day گلاب را به روش تزریق داخل صفاقی با فواصل ۲۴ ساعته و گروه کنترل نیز هم حجم آن آب مقطر دریافت کرد. بعد از تزریق روز پنجم، به مدت سه روز متوالی موش‌های نر و ماده با نسبت ۱ به ۳ هم قفس شده و صبح روز بعد موش‌های ماده لقاح داشته (دارای پلاک واژنی) شناسایی و تعداد آنها ثبت شد. تعداد این موش‌ها بین گروه‌های آزمایش (گلاب) و کنترل مقایسه گردید.

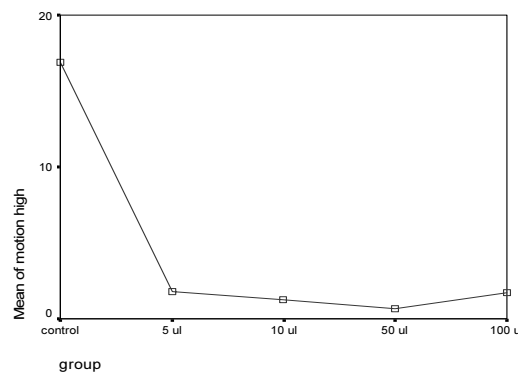
بخش دوم آزمایش مربوط به بررسی اثرات مستقیم گلاب بر پارامترهای اسپرم (مورفولوژی و میزان تحرک) بود. موش‌های نر جوان (Balb/c) انتخاب و پس از مرگ به روش جابجایی گردنی و تشریح، دم اپیدیدیم آنها را برداشته و در محیط کشت DMEM/F12 دارای ۵ درصد FBS خرد شد. پس از انکوباسیون اولیه به ۱۰۰ میکرولیتر از هر یک از دوزهای ۵، ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میکرولیتر بر میلی‌لیتر گلاب، ۱۰۰ میکرولیتر نمونه اسپرم و در گروه کنترل به جای گلاب، محیط کشت اضافه شد. نمونه‌ها مجدداً در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و ۵ درصد CO_2 انکوبه شد و پس از تهیه لام، انواع حرکات اسپرم (درصد و نوع حرکت) طبق معیارهای استاندارد [۱۷] تعیین شد که عبارت‌اند از:

صفر: فاقد حرکت، یک: حرکات لرزشی درجا، دو: جابجایی مختصر، سه: حرکت رو به جلوسریع، چهار: حرکت رو به جلو بسیار سریع.

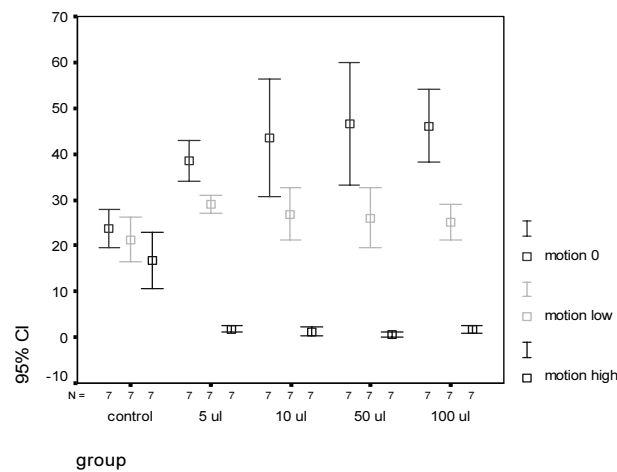




نمودار شماره ۱- مقایسه میزان لقاح بین گروه‌های آزمایش و کنترل



نمودار شماره ۲- مقایسه میانگین حرکت سریع (III+IV) بین گروه‌های آزمایش و کنترل



نمودار شماره ۳- مقایسه حرکات صفر، کند و سریع اسپرم بین گروه‌های آزمایش و کنترل

نیز استفاده می‌شود. مطالعات متعدد نشان‌دهنده که گل سرخ دارای اثرات درمانی مختلفی نظیر خواص ضد افسردگی [۱۰]،

گلاب از فرآورده‌های اصلی گل سرخ و از محصولات سنتی است که علاوه بر مصارف صنعتی به صورت خوراکی



بودن، گلاب می‌تواند به عنوان یک عامل ضدباروری مدنظر قرار گیرد.

بحث بیشتر پیرامون مکانیزم اثرات مذکور نیازمند مطالعات بیوشیمیایی و فیزیوفارماکولوژیک دیگر در این زمینه می‌باشد. بیش از ۳۰۰ ترکیب از گل سرخ به دست آمده [۱۸]. بررسی اثر هر یک از آنها به تنهایی می‌تواند به تفسیر خواص ضدبارداری آن کمک کرده و در ساخت داروهای ضدباروری استفاده شود. همچنین بررسی اثر گلاب بر سایر جنبه‌های تولید مثل از جمله تولید مثل جنس مونث توصیه می‌شود.

ضدپیری [۱۲]، شل‌کنندگی عضلات [۱۳]، محافظت‌کنندگی کبد در مقابل ضایعات ناشی از CCL₄ [۱۴]، خواص ضد HIV [۱۵] و خواص ضددیابتی [۱۶] است.

با توجه به اثرات سایکولوژیک گلاب، اثر احتمالی و مثبت آن بر فعالیت‌های جنسی و لقاح پیش‌بینی می‌شد ولی نتایج تحقیق حاضر که تا حد دانش ما اولین مطالعه علمی در یک مدل حیوانی در این زمینه است، مخالف آن می‌باشد. همچنین با توجه به اینکه گلاب بر تحرک و مورفولوژی اسپرم و باروری اثر منفی دارد و با توجه به سمی نبودن و قابل تحمل

منابع

1. Mozaffarian V. A Dictionary of Iranian Plant Names. Farhang Moaser, Tehran, Iran 2006, p: 670.
2. Zarghari A. Medicinal Plant. Ed6, Teheran University Publication, 2006, pp: 281 – 4.
3. Shafie zadeh F. Popular Medicinal plants of Lorestan. Lorestan University publication, Lorestan, Iran 2002, p: 171.
4. Rezaei MB, Jaimand K, Tabaei Aghdai SR, Barazandeh MM. Comparison of experimental and industrial Rosa damascena essence quality and quantity in Kashan province. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plant Res.* 2003; 19 (1): 63 - 72.
5. Mirza M, Najafpour Navaei M. The effect of distillation method on extracted compounds from rose water. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants* 2007; 23 (3): 376 – 81.
6. Moemeni KT, Shahrokhi N. Plant essence and their trapuaetic effect. 2ed, Tehran University publication 1998, pp: 113 – 5.
7. Basim E, Basim H: Antibacterial activity of *Rosa damascena* essential oil. *Fitoterapia* 2003; 74: 394 – 6.
8. Libido and Rose Otto. <http://WWW.roseotto.com/libido.htm> Accessed 11/11/2007.
9. Boskabady MH, Kiani S, Rakhshandah H: Relaxant effects of *Rosa damascena* on guinea pig tracheal chains and its possible mechanism(s). *J Ethnopharmacol* 2006; 106:377–382
10. Zarghami, M., Farzin, D., Bagheri, K.,. Anti depressant effects of Rosa Damascena on laboratory rats (a controlled experimental blind study). *J. Mazandaran Univ. Med. Sci.* 2002; 33: 27 - 33.
11. Sex and Aromatherapy. File://:c:/Documents and settings/lab/My documents/Sex and Aromatherapy.htm Accessed 19/11/2007.
12. Jafari M, Zarban A, Pham S, Wang T. Rosa damascena decreased mortality in adult Drosophila. *J. Med. Food.* 2008; 11: 9 - 13.
13. Rakhshandah, H., Hosseini, M., Dolati, K. Hypnotic effect of Rosa damascena in mice. *Iranian J. Pharmaceut. Res.* 2004; 3: 181 - 5.
14. Monika S, Yamini Sh, Sangeeta Sh.



Antioxidant and hepatoprotective activity of aqueous extract of rosa damascena against CCL4-induced oxidative damage. *Indian J. Pharmacol. suppl 2*, 2008; 40: s162.

15. Mahmood N, Piacenet S, Pizza C, Bruke A, Khan A, Hay A. The anti -HIV activity and mechanisms of action of pure compounds isolated from Rosa damascena. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1996; 229: 73 - 9.

16. Gholamhoseinian A, Fallah H, Sharifi far F. Inhibitory effect of methanol extract of

Rosa damascena Mill, flowers on alpha-glucosidase activity and postprandial hyperglycemia in normal and diabetic rats. *Phytomedicine* 2009; 16 (10): 935 - 41.

17. Equiv AM.J. Male Infertility 2000, pp: 61 – 6.

18. Ohloff G, Demole, E. Importance of the odoriferous principle of Bulgarian rose oil in flavour and fragrance chemistry. *J. Chromatogr.* 1987; 406: 181 – 3.



Survey of Pure Rose Water Extract Effect on Male Mice Reproduction

Mehrabi nasab E ()¹, Khazaei M ()^{1*}

1- Fertility & Infertility Research Center, Kermanshah University of Medical Sciences,
*Corresponding author: Fertility & Infertility Research Center, Medical Faculty, University
Ave., Shahid Shiroodi Blovard Kermanshah, Kermanshah, Iran
Tel: +98 – 831 – 4274618, Fax: +98 – 831 – 4281563
Email: mkhazaei1345@yahoo.com

Abstract

Background: Rosa damascene constitutes showed different properties like antimicrobial, anti asthma and bronchitis, anti depression, and skin protection.

Objective: Survey of effect of rose water extract on male mice reproductive parameter.

Methods: In first part of experiment, adult male mice (Balb/c) 25 - 30 gram were divided into three groups; control, 10 and 20 ml/kg/day rose water. Interaperitoneal injections were done for 7 days and from fifth day, male mice were housed with females. Pregnant female were recognized every morning. In second part of experiment, mice were killed and cauda epididymis were dissected and minced in DMEM/F12 medium. One of rose water doses (5, 10, 50, 100 μ lit/ml) added to sperm sample and their motion were assessed. Data were analyzed by one way ANOVA and $p < 0.05$ were considered significant.

Results: There is no significant difference in fertilization rate between control and case groups in first experiment, mating rate decreased in cases groups. In second experiment, rose water decreased progressive motion of sperm significantly and changed sperm morphology.

Conclusion: Rose water exerts negative effect on sperm motion and morphology and decrease fertilization rate.

Keywords: Rose water, Sperm, Fertilization, Male mice

