مقاله پژوهشی

بررسی تاثیر عصاره‌ی آبی گرده‌ی نخل بر میزان زنده ماندن و تکثیر سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی موش نابالغ در محیط کشت

مریم محل‌دشتیان[۱]، مجید نقدی[۲]، محمدتقی قربانیان[۱]، مرتضی کروجی[۳]، زهره ماکولاتی[۲*]، محمدمهدی نقی‌زاده[۴]، سیدامین کوهپایه[۵]، عباس عبداللهی[۶]، محمدابراهیم آستانه[۲]

۱- گروه سلولی -مولکولی، دانشکده زیست شناسی، دانشگاه دامغان، سمنان، ایران.
۲- گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی فسا، فسا، ایران.
۳- مرکز تحقیقات سلولی مولکولی و گروه علوم تشریح، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران.
۴- گروه پزشکی اجتماعی، دانشگاه علوم پزشکی فسا، فسا، ایران.
۵- گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی فسا، فسا، ایران.
۶- گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی فسا، فسا، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۳/۰۱/۲۸ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۳/۰۵/۱۵

چکیده

زمینه و هدف: گرایش رو به رشد سریعی در مصرف داروهای گیاهی در کشورهای در حال توسعه وجود دارد. یکی از داروهای سنتی که برای درمان ناباروری مردان استفاده می‌شود گرده‌ی نخل است. هدف از این مطالعه بررسی تاثیر عصاره‌ی آبی گرده‌ی نخل بر میزان زنده ماندن و تکثیر آزمایشگاهی سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی موش نابالغ می‌باشد.

مواد و روش‌ها: جداسازی تعلیق سلولی شامل سلول‌های سرتولی و سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی ازبیضه‌ی موش سوری شش تا ده روزه با دو مرحله هضم آنزیمی انجام شد. تعلیق سلولی در محیط DMEM حاوی پنج درصد سرم در غیاب و حضور غلظت های ۰/۰۶، ۰/۲۵ و ۰/۶۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره‌ی آبی گرده‌ی نخل به مدت دو هفته کشت داده شد. به منظور ارزیابی رشد سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی در انتهای مرحله کشت، تعداد کل سلول‌ها به عنوان شاخص تکثیر سلولی و تعداد سلول‌های زنده برای ارزیابی میزان زنده ماندن سلولی در نظر گرفته شد.

نتایج: درصد سلول‌های زنده و تکثیر سلولی پس از دو هفته کشت در گروه کنترل و گروه‌های تیمار شده با غلظت‌های ۰/۰۶، ۰/۲۵ و ۰/۶۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره‌ی آبی گرده‌ی نخل تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشت ($P > ۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که تیمار تعلیق سلولی بیضه‌ی موش نابالغ با عصاره‌ی آبی گرده‌ی نخل در محیط کشت، اثرات سمی بر میزان زنده ماندن و تکثیر سلولی این سلول‌ها نداشته است. بنابراین می‌توان از آن در مطالعات بعدی جهت بررسی روند کلونی‌زایی سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی در محیط کشت استفاده نمود.

کلمات کلیدی: سلول بنیادی اسپرماتوگونی، سلول سرتولی، گرده‌ی نخل، زنده ماندن، تکثیر

مقدمه

ناباروری دارای علل متفاوت با منشا مردانه و زنانه می‌باشد. یکی از علل ناباروری در مردان تعداد کم اسپرم (الیگواسپرمی) ویا فقدان اسپرم (آزواسپرمی) می‌باشد (۱). سلول‌های اسپرماتوگونی، سلول‌های بنیادی بیضه هستند که در اثر تکثیر و تمایز سایر سلول‌ها را به وجود می‌آورند. این سلول‌ها تنها سلول‌های بدن هستندکه اطلاعات ژنتیکی را به نسل بعد منتقل می‌کنند (۲)، در نتیجه منبع ارزشمندی جهت انجام آزمایشات بیولوژیکی و

* نویسنده مسئول: زهره ماکولاتی، گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی فسا، فسا، ایران. تلفن: ۰۷۱-۵۳۳۵۰۹۹۴ Email: zohreh1438@yahoo.com

[Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2025-07-13]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2015.4.4.6.4]

تحقیقات پزشکی می‌باشند (۳)؛ لذا حفظ و تکثیر سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی در محیط کشت امری بسیار ضروری است. جهت رسیدن به این هدف، یکی از مهم‌ترین تکنیک‌ها استفاده از سیستم کشت مناسب است که بتواند حمایت لازم را از این سلول-ها فراهم نماید. در تمامی بافت‌ها، تعداد سلول‌های بنیادی نسبت به سلول‌های تمایزیافته کمتر است. این نسبت در سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی بیضه نسبت به کل سلول‌های بیضه بسیار کمتر است و به ازای هر سه یا چهار هزار سلول یک سلول بنیادی اسپرماتوگونی در بیضه بالغ وجود دارد (۴). این موضوع جداسازی و مطالعه‌ی این سلول‌ها را مشکل می‌کند. در نتیجه، انجام پژوهش‌هایی در جهت تکثیر سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی در محیط آزمایشگاه زمینه مناسبی را در درمان ناباروری بوجود خواهد آورد.

در طب سنتی از گیاهان دارویی برای درمان ناباروری استفاده می‌شود. یکی از گیاهانی که از میوه و سایر قسمت‌های مختلف آن استفاده می‌شود نخل یا نخل Date palm (Phoenix (DPP) Pollen Dactylifera) می‌باشد که به طور وسیعی در نواحی گرمسیر ایران پرورش می‌یابد (۵). در مصر قدیم، گرده‌ی به دست آمده از درخت نخل برای افزایش باروری زنان استفاده می‌شده است (۶). امروزه مشخص شده است که گرده‌ی نخل حاوی فاکتورهای تسهیل کنندگی است که هیجانات و میل جنسی را افزایش می‌دهد، این اثر تقویت‌کنندگی گرده‌ی نخل ممکن است به علت وجود آلکالوئید، ساپونین و فلاونوئیدها باشد. گرده‌ی نخل همچنین سطح پلاسمایی تستوسترون و استرادیول را نیز افزایش می‌دهد (۷). این گرده همچنین حاوی کلسترول، رتین و کاروتنوئید است که باعث فعالیت گنادوتروپین‌ها در رت می‌شود (۸). غنی‌سازی و تکثیر سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی در محیط کشت امری بسیار ضروری است و کلونی‌زایی این سلول‌ها، منبع با ارزشی از سلول‌های زایا برای مطالعات بعدی نظیر انجماد، پیوند برای درمان ناباروری، دستکاری ژنتیکی و تمایز سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی در محیط آزمایشگاه را فراهم می‌آورد. جهت رسیدن به این هدف، در این مطالعه تاثیر غلظت‌های مختلف عصاره‌ی آبی گرده‌ی نخل بر میزان زنده ماندن و تکثیر سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی در شرایط آزمایشگاه مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

تهیه‌ی عصاره‌ی آبی گرده‌ی نخل

۸/۵۵ گرم پودر گرده‌ی نخل در ۸۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل و به مدت پنج ساعت در دستگاه شیکر قرار گرفت. بعد از فیلتر کردن محلول داخل پلیت ریخته شد و به مدت پنج ساعت در آون با دمای ۶۰-۵۵ درجه قرار داده شد. سپس پودر خشک را در آب مقطر حل کرده و غلظت‌های ۰/۰۶، ۰/۲۵ و ۰/۶۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره‌ی آبی گرده‌ی نخل تهیه شد.

حیوان آزمایشگاهی

در این تحقیق از بیضه‌ی موش‌های نابالغ شش تا ده روزه استفاده شد و برای هر بار جداسازی سلول جهت کشت، بیضه‌های حداقل شش سر موش برداشت شد. جداسازی سلول‌ها بر اساس روش اسکارپینو (۹) با دو مرحله هضم آنزیمی انجام شد. جهت هضم آنزیمی از آنزیم‌های هیالورونیداز (Sigma, St. Louis, MO, USA)، تریپسین (Sigma, St. Louis, MO, USA) و کلاژناز (Sigma, St. Louis, MO, USA) استفاده شد.

مرحله‌ی اول هضم آنزیمی

در این مرحله بیضه‌های بدون کپسول در محیط کشت حاوی آنزیم‌های هیالورونیداز (۰/۰۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)، تریپسین (۰/۰۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) و کلاژناز (۰/۰۵ میلی‌گرم بر میلی-لیتر) بعد از هضم آنزیمی، به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه انکوبه شد. در طی این مدت هر ده دقیقه یک بار به آرامی توسط سمپلر به مدت یک دقیقه پیپتاژ شد. پس از طی این مرحله، محیط حاوی سلول‌ها و قطعات لوله‌های منی‌ساز، به مدت دو دقیقه در دمای چهار درجه‌ی سانتی‌گراد و با سرعت ۱۲۰۰ rpm سانتریفیوژ شد. بعد از سانتریفیوژ محیط بالای رسوب با محیط DMEM جدید جایگزین شد. این کار باعث حذف بافت بینابینی شده و قطعات لوله‌های منی‌ساز که حاصل اولین مرحله از هضم آنزیمی بوده‌اند وارد مرحله‌ی دوم هضم آنزیمی شدند (شکل ۱-الف).

مرحله‌ی دوم هضم آنزیمی

قطعات لوله‌های منی‌ساز حاصل از اولین مرحله هضم آنزیمی، جهت هضم بیشتر و جداشدن سلول‌ها از قطعات لوله‌های منی‌ساز، در محیطی مشابه مرحله اول به مدت یک ساعت در دمای ۳۷

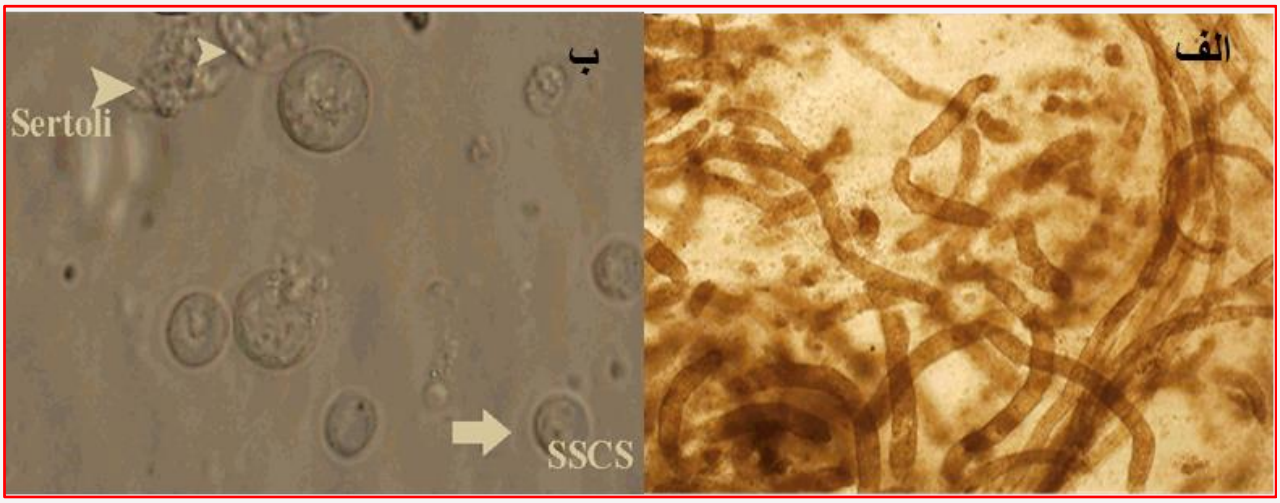
[Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2025-07-13]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2015.4.4.6.4]

درجه انکوبه شدند. در طی این مدت محلول فوق هر ۲۰ دقیقه یک‌بار توسط سمپلر پیپتاژ شد. پس از اتمام زمان انکوباسیون، مجددا به مدت سه تا پنج دقیقه به کمک پیپت کردن و سمپلر، تجمعات سلولی موجود در تعلیق تا حد امکان خرد شدند. سپس سوسپانسیون حاصل جهت جداسازی قطعات هضم نشده با سرعت ۴۰۰ rpm (معادل ۳۰g) در دمای چهار درجه ی سانتی‌گراد و به مدت دو دقیقه سانترفیوژ شد. قطعات هضم نشده‌ی لوله‌های منی‌ساز در ته لوله رسوب کرده و سوسپانسیون حاصل شامل سلول‌های سرتولی و سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی در بالای تعلیق قرار گرفتند. تعلیق سلولی را داخل لوله‌ی فالکون جدید ریخته و مجددا به مدت دو دقیقه در دمای چهار درجه‌ی سانتی-گراد و با سرعت ۱۲۰۰ rpm (معادل 90g) سانتریفیوژ شد. بعد از سانتریفیوژ یک پلاک در ته لوله تشکیل شد آن را نگه داشته و بعد از اضافه کردن محیط سرم چهار درصد به آن، به مدت یک دقیقه پیپتاژ شد سپس آن را با پیپت کشیده، داخل فلاسک کشت ریخته و به انکوباتور CO_2 منتقل شد (شکل ۱-ب).

کشت تعلیق سلولی بیضه

تعلیق سلولی بیضه حاوی سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی و سلول‌های سرتولی (۹, ۱۰) در چهار گروه کنترل و گروه‌های حاوی غلظت‌های ۰/۰۶، ۰/۲۵ و ۰/۶۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره‌ی آبی گرده‌ی نخل در محیط کشت DMEM حاوی ۵٪ FBS و به مدت دو هفته کشت داده شد. غلظت‌های مورد استفاده در این پژوهش بر اساس مطالعات انجام شده بر روی عصاره‌ی آبی گرده‌ی در شرایط in vivo (۷, ۱۱) محاسبه گردید.

تعداد سلول اولیه برای کشت در تمامی گروه‌ها یکسان (10^5 × ۵/۵۵) و میانگین درصد حیات سلول‌های تازه پس از فرایند جداسازی آنزیمی ۲/۲± ۹۸/۶۴ بود. تعویض محیط سلول‌ها هر ۴۸ ساعت یک‌بار انجام شد. پس از پایان مدت کشت، میزان زنده ماندن و تکثیر سلولی در هر چهار گروه بررسی شد. تکرار در هر گروه آزمایش سه بار انجام شد.



شکل ۱- الف: لوله‌های منی ساز موش نوزاد شش تا ده روزه حاصل از مرحله‌ی اول هضم آنزیمی بیضه. ب: جمعیت سلولی به دست آمده از لوله-های منی‌ساز موش نوزاد شش تا ده روزه پس از مرحله دوم هضم آنزیمی بیضه حاوی دو نوع سلول با اندازه و شکل متفاوت است.سلول‌های با حاشیه منظم (پیکان) سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی (SSCs) و سلول‌های با حاشیه نامنظم (نوک پیکان) سلول‌های سرتولی می‌باشد.

[Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2025-07-13]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2015.4.4.6.4]

بررسی میزان زنده ماندن[۱] و تکثیر سلولی[۲] پس از تاثیر عصاره‌ی آبی گرده‌ی نخل بر سلول‌های زنده با استفاده از تست سمیت

برای تعیین تعداد کل سلولی و درصد سلول‌های زنده، ده میکرولیتر از سوسپانسیون سلولی در شرایط استریل برداشته شد و هم حجم آن محلول ۰/۰۴ تریپان بلو اضافه شد. پس از گذشت یک دقیقه توسط لام نئوبار[۳] شمارش سلولی انجام شد. به دلیل تخریب غشا در سلول‌های مرده، رنگ تریپان بلو ۰/۰۴ به درون این سلول‌ها نفوذ می‌کند و سلول‌های مرده آبی رنگ می‌شوند. تعداد کل سلول‌ها به عنوان شاخص تکثیر سلولی و تعداد سلول-های زنده برای ارزیابی میزان بقای سلولی در نظر گرفته شد.

بررسی آماری:

داده‌ها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS و با استفاده از آزمون واریانس یکطرفه مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. از آزمون Tukey برای مقایسه‌های چند گانه استفاده شد. نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شد و میزان p کمتر از ۰/۰۵ معنی-دار در نظر گرفته شد.

نتایج

پس از جداسازی بیضه از موش نابالغ شش تا ده روزه، جمعیت سلولی به دست آمده از لوله‌های منی‌ساز حاوی دو نوع سلول با اندازه و شکل متفاوت است. سلول‌های با حاشیه منظم سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی و سلول‌های با حاشیه نامنظم سلول‌های سرتولی می‌باشد (شکل ۱-ب). همانگونه که در جدول ۱ مشاهده می‌شود، میانگین میزان زنده ماندن و تکثیر سلولی پس از ۲ هفته کشت در گروه کنترل و گروه‌های تیمار شده با غلظت‌های ۰/۰۶، ۰/۲۵ و ۰/۶۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره‌ی آبی گرده‌ی نخل تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشت ($P > ۰/۰۵$).

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که تیمار تعلیق سلولی بیضه‌ی موش نابالغ با عصاره‌ی آبی گرده‌ی نخل در محیط کشت، اثرات سمی بر میزان زنده ماندن و تکثیر سلولی این سلول‌ها نداشته است.

کشت طولانی مدت سلول‌های تعلیق بیضه از جمله سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی به دلایل مختلف مشکل است. بر اساس گزارشات آپونته یکی از دلایل این امر این است که این سلول‌ها به طور فعال در محیط کشت دچار فرآیند آپوپتوز می‌شوند (۱۲, ۱۳). آپوپتوز زمانی اتفاق می‌افتد که مانیتورهای داخل سلولی یک آسیب یا سوء عملکرد را نشان دهند. در این زمان آبشارهای سیگنالی شروع می‌شود تا در نهایت کاسپازها و اندونوکلئازها که سلول‌ها را می‌کشد، فعال شوند. در بسیاری از شکل‌های آپوپتوز، آبشار سیگنالی از گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) به عنوان مولکول‌های انتقال دهنده‌ی بینابینی اساسی استفاده می‌نماید (۱۴). در شرایط کشت آزمایشگاهی، غلظت اکسیژن در مقایسه با شرایط داخل بدن به مراتب بیشتر است و این امر سبب افزایش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن در شرایط کشت آزمایشگاهی می-شود (۱۵). آنتی اکسیدان‌ها قادر به مهار فرایند آپوپتوز می‌باشند. آنتی‌اکسیدان‌ها می‌توانند به طور وسیع آسیب‌های ناشی از اکسیدان‌ها را کاهش دهند و این کار را از طریق خنثی کردن رادیکال‌های آزاد قبل از حمله‌ی سلولی که باعث جلوگیری و آسیب به لیپوپروتئین‌ها، آنزیم‌ها، کربوهیدرات‌ها و DNA سلولی می‌گردد، انجام می‌دهند. آنتی اکسیدان‌ها به دو دسته‌ی آنزیمی و غیر آنزیمی تقسیم می‌شوند. نوع غیر آنزیمی شامل توکوفرول، کاروتنوئید، اسیدآسکوربیک، فلاونوئید و تانن می‌باشد (۱۶).

مطالعات نشان داده است که معمولاً فراکسیون آبی گیاهان، حاوی موادی نظیر گلیکوزیدها، آلکالوئیدها و تانن‌ها می‌باشد (۱۷-۲۰). بر اساس گزارشات مختلف، گرده‌ی نخل حاوی آنتی اکسیدان‌های مختلف از جمله کاروتنوئید، آلکالوئید و فلاونونوئید می‌باشد (۷, ۸). بنابراین به نظر می‌رسد که گرده‌ی نخل با واسطه-ی وجود آنتی اکسیدان‌های مختلف نظیر فلاونوئید، کاروتنوئید و تانن‌ها می‌تواند مسیرهای ضدآپوپتوزی را در سلول‌های کشت داده شده مهار نماید و از این طریق نقش مهمی در تعادل زنده ماندن و تکثیر سلول‌ها داشته باشد (۷،۸).

در سال‌های اخیر پیشنهاد شده است که استروژن ممکن است در تنظیم خودنوزایی سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی نقش داشته باشد (۲۱).

---

[۱] Viability Percent
[۲] Proliferation Rate
[۳] Neubauer hemacytometer

[Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2025-07-13]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2015.4.4.6.4]

جدول ۱- مقایسه درصد سلول‌های زنده و تکثیر سلولی پس از ۲ هفته کشت در گروه کنترل و گروه‌های تیمار شده با غلظت‌های ۰/۰۶، ۰/۲۵ و ۰/۶۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره‌ی آبی گرده‌ی نخل. تعداد سلول اولیه برای کشت در تمامی گروه‌ها یکسان ($۵/۵۵ \times ۱۰^{۵}$) بود. آزمایش برای هر گروه سه بار تکرار شده است. تفاوت معنی‌داری در میانگین میزان زنده ماندن و تکثیر سلولی در انتهای کشت در گروه‌های مختلف با یکدیگر مشاهده نشد ($P > ۰/۰۵$).

گروه‌ها	درصد سلول‌های زنده (میانگین) ± (انحراف معیار)	تکثیر سلولی (میانگین) ± (انحراف معیار)
کنترل	۹۱ ± ۳/۶	$۶/۶۸ \times ۱۰^{۵}$ ± ۰/۲۳
غلظت ۰/۰۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره‌ی گرده نخل	۹۵/۹۵ ± ۳/۵	$۷/۱۱ \times ۱۰^{۵}$ ± ۰/۱۳
غلظت ۰/۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره‌ی گرده نخل	۹۴/۱ ± ۰/۶۳	$۸/۴۵ \times ۱۰^{۵}$ ± ۱/۰۵
غلظت ۰/۶۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره‌ی گرده نخل	۹۱/۵۸ ± ۳/۶۲	$۴/۱۳ \times ۱۰^{۵}$ ± ۰/۱

تحقیقات نشان داده است که عصاره پودر هسته‌ی نخل (palm kernel) و دانه‌ی گرده‌ی نخل محتوی مواد استروژنیک نظیر استرون و استرول‌ها به عنوان ترکیبات محرک گناد است که سبب بهبود ناباروری مردانه می‌شود (۲۲).

تعلیق دانه‌ی گرده‌ی نخل یک ترکیب گیاهی است که به صورت گسترده برای درمان ناباروری مردانه در طب سنتی استفاده می‌شده است (۲۲, ۲۳). دانشمندان مصری خاصیت تحریک کنندگی گنادها توسط دانه‌ی گرده‌ی نخل را گزارش نمودند (۲۴).

مطالعات بهمن‌پور و همکاران در سال ۲۰۰۶ نیز حاکی از تاثیر دانه‌ی گرده‌ی نخل برفرآیند اسپرماتوژنز و فعالیت تولید مثلی در رت بالغ نر بود. به نحوی که بهبود تعداد، تحرک، مورفولوژی اسپرم‌ها و کیفیت DNA و نیز افزایش وزن بیضه و اپی دیدیم پس از استفاده از این گرده مشاهده شد (۱۱).

عابدی و همکاران در سال ۲۰۱۲ اثرات عصاره‌ی آبی دانه‌ی گرده‌ی نخل بر رفتارهای جنسی رت‌های نر را بررسی کرده و تحریک رفتارهای جنسی مردانه نظیر تاخیر در انزال را به دنبال استفاده از این ماده گزارش نمودند. بر اساس نتایج مطالعات این محققین دانه‌ی گرده‌ی نخل به عنوان تقویت کننده جنسی برای درمان انزال زودرس و ناتوانی جنسی مناسب بوده و استفاده از آن برای درمان ناباروری مردانه پیشنهاد شده است (۷). یکی از علل ناباروری مردانه می‌تواند به علت نقص فرآیند اسپرم زایی در اثر شکست در تکثیر سلول زایا باشد (۲۵). از این رو، تکثیر و غنی-سازی سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی در محیط کشت امری بسیار ضروری است و کلونی‌زایی این سلول‌ها، منبع با ارزشی از سلول‌های زایا را برای مطالعات بعدی نظیر تمایز سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی در محیط آزمایشگاه فراهم می‌آورد. از آنجا که نتایج این مطالعه نشان داد که تیمار تعلیق سلولی بیضه‌ی موش نابالغ با عصاره‌ی آبی گرده‌ی نخل در محیط کشت، اثرات سمی بر میزان زنده ماندن و تکثیر سلولی این سلول‌ها ندارد و نیز با توجه به نتایج مثبت مطالعات پیشین در مورد تاثیر گرده‌ی نخل بر فرآیند باروری در شرایط درون بدن، می‌توان در مطالعات آینده اثرات این ماده را بر روند کلونی‌زایی سلول‌های بنیادی بیضه در شرایط آزمایشگاهی بررسی کرد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از دانشگاه‌های علوم پزشکی فسا و دامغان به دلیل حمایت‌های مالی و اجرایی کمال تشکر را دارند.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ گونه تعارض منافعی را اعلام نکرده اند.

[Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2025-07-13]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2015.4.4.6.4]

References

1. Radford J, Shalet S, Lieberman B. Fertility after treatment for cancer. Questions remain over ways of preserving ovarian and testicular tissue. Bmj. 1999; 319(7215):935-6.
2. Kanatsu-Shinohara M, Miki H, Inoue K, Ogonuki N, Toyokuni S, Ogura A, et al. Long-term culture of mouse male germline stem cells under serum-or feeder-free conditions. Biology of reproduction. 2005;72(4):985-91.
3. Brinster RL, Nagano M. Spermatogonial stem cell transplantation, cryopreservation and culture. Seminars in cell & developmental biology. 1998;9(4):401-9.
4. Mohammadi S. A Comparison between the Colony Formation of adult Mouse Spermatogonial Stem Cells in Co cultures with Sertoli and STO(Mouse Embryonic Fibroblast Cell Line). Yakhteh Medical Journal. 2010;12(2):231-40.
5. Shafieesarvestani M. Palm pollen extracts on testis histopathologic changes and spermatogenesis in rat. Tabriz Modarres Unive Press. 2000:10-23. (article in persian)
6. Bajpayee K. Ethnobotany of Phoenix (Arecaceae). J Econ Taxon Bot. 1997;21:155-57.
7. Abedi A, Parviz M, Karimian S, Sadeghipour Rodsari H. The Effect of Aqueous Extract of Phoenix Dactylifera Pollen Grain on Sexual Behavior of Male Rats. Journal of Physiology and Pharmacology Advances. 2012;2(6):235-42.
8. Dostal LA, Faber CK, Zandee J. Sperm motion parameters in vas deferens and cauda epididymal rat sperm. Reproductive toxicology (Elmsford, NY). 1996;10(3):231-5.
9. Scarpino S, Rita Morena A, Petersen C, Fröysa B, Söder O, Boitani C. A rapid method of Sertoli cell isolation by DSA lectin, allowing mitotic analyses. Molecular and Cellular Endocrinology. 1998 ;146(1–2):121-7.
10. Eslahi N, Hadjighassem MR, Joghataei MT, Mirzapour T, Bakhtiyari M, Shakeri M, et al. The effects of poly L-lactic acid nanofiber scaffold on mouse spermatogonial stem cell culture. International journal of nanomedicine. 2013;8:4563-76.
11. Bahmanpour S. Effect of Phoenix dactylifera pollen on sperm parameters and reproductive system of adult male rats. IJMS. 2006;31(4):208-12.
12. Aponte PM, Soda T, van de Kant HJ, de Rooij DG. Basic features of bovine spermatogonial culture and effects of glial cell line-derived neurotrophic factor. Theriogenology. 2006;65(9):1828-47.
13. Koruji M, Movahedin M, Mowla SJ, Gourabi H, Arfaee AJ. Efficiency of adult mouse spermatogonial stem cell colony formation under several culture conditions. In vitro cellular & developmental biology Animal. 2009;45(5-6):281-9.
14. Zeisel SH. Antioxidants suppress apoptosis. The Journal of nutrition. 2004;134(11):3179S-80S.
15. Luvoni GC, Keskintepe L, Brackett BG. Improvement in bovine embryo production in vitro by glutathione-containing culture media. Molecular reproduction and development. 1996;43(4):437-43.
16. Naskar S. In Vitro and In Vivo Antioxidant Potential of Hydromethanolic Extract of Phoenix dactylifera Fruts. J Sci Res. 2010;2(1):144-57.
17. Tang J, Wang CK, Pan X, Yan H, Zeng G, Xu W, et al. Isolation and characterization of cytotoxic cyclotides from Viola tricolor. Peptides. 2010;31(8):1434-40.
18. Seidel V. Initial and bulk extraction of natural products isolation. Methods in molecular biology. 2012;864:27-41.
19. Dominguez Mea. Effects of extracts flavonoids and iridoids from Penstemon gentianoides (Plantaginaceae) on inhibition of inducible nitric oxide synthase (iNOS), cyclooxygenase-2 (COX-2) in LPS-Activated RAW 264.7 macrophage cells and their antioxidant activity. Bol Latin Car Plant Med Aromát. 2010;9:397-413.
20. Tian S, Shi Y, Zhou X, Ge L, Upur H. Total polyphenolic (flavonoids) content and antioxidant capacity of different Ziziphora clinopodioides Lam. extracts. Pharmacognosy magazine. 2011;7(25):65-8.
21. Miura T, Ohta T, Miura CI, Yamauchi K. Complementary deoxyribonucleic acid cloning of spermatogonial stem cell renewal factor. Endocrinology. 2003;144(12):5504-10.
22. Zargari A, Midgley G, Back O, Johansson SG, Scheynius A. IgE-reactivity to seven Malassezia species. Allergy. 2003;58(4):306-11.
23. Soliman FA, Soliman A. The gonad stimulating potency of date palm pollen grains. Experientia. 1958;14(3):92-3.
24. Nayernia K, Li M, Jaroszynski L, Khusainov R, Wulf G, Schwandt I, et al. Stem cell based therapeutical approach of male infertility by teratocarcinoma derived germ cells. Human molecular genetics. 2004;13(14):1451-60.

[Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2025-07-13]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2015.4.4.6.4]

Original Article

The Effect of Aqueous Extract of Phoenix Dactylifera Pollen on the Rates of in Vitro Viability and Proliferation of Neonatal Mouse Spermatogonial Stem Cells

Mahaldashtian M[1], Naghdi M[2], Ghorbanian MT[1], Koruji M[3], Makoolati Z[2*], Naghizadeh MM[4], Kouhpayeh SA[5], Abdollahi A[6], Astaneh ME[2]

1- Department of Molecular and Cellular Biology, Faculty of Biology, Damghan University, Semnan, Iran.
2- Department of Anatomical Sciences, School of Medicine, Fasa University of Medical Sciences, Fasa, Iran.
3- Cellular and Molecular Research Center and Department of Anatomical Sciences, School of Medicine, Iran University of Medical Science, Tehran, Iran.
4- Department of Community Medicine, School of Medicine, Fasa University of Medical Sciences, Fasa, Iran.
5- Department of Pharmacology, School of Medicine, Fasa University of Medical Sciences, Fasa, Iran
6- Department of Microbiology, School of Medicine, Fasa University of Medical Sciences, Fasa, Iran.

Received: 17 Apr 2014 Accepted: 06 Aug 2014

Abstract

Background & Objective: There is a fast growing tendency in the consumption of herbal remedies in developing countries. One of the traditional medicines used for male infertility is Date Palm Pollen (Phoenix Dactylifera) (DPP). The goal of the present study is to investigate the effect of aqueous extract of DPP on the rates of in vitro viability and proliferation in neonate mouse Spermatogonial Stem Cells (SSCs).

Materials & Methods: Cell suspension including sertoli cells and SSCs were isolated from testes of six to 10 day-old mice by two steps enzymatic digestion. The cell suspension was cultured in Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) with or without 0.06, 0.25, and 0.62 mg/ml of aqueous extract of DPP during two weeks. In order to evaluate the rate of SSCs growth at the end of culture, the total number of the cells and living cells were considered as proliferation and survival rates, respectively.

Results: The results showed that there were no significant difference between the percent of viability and proliferation in control and 0.06, 0.25 and 0.62 mg/ml of DPP-treated groups (P> 0.05).

Conclusion: Our study showed that treatment of neonatal mouse testicular cell suspension with DPP had no toxic effects on viability percent and the proliferation rate of these cells. Therefore, we can use DPP to evaluate the in vitro pattern of SSCs colonization in the future studies.

Keywords: **Spermatogonial Stem Cell, Date Palm Pollen, viability, proliferation**

[*]**Corresponding author: Zohreh Makoolati,** Department of Anatomical Sciences, School of Medicine, Fasa University of Medical Sciences, Fasa, Iran.
Email: zohreh1438@yahoo.com
Tel: +98 7153350994

Journal of Fasa University of Medical Sciences/ Winter 2015/ Vol.4/ No.4/ P 402-408

[Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2025-07-13]

[DOR: 20.1001.1.22285105.2015.4.4.6.4]