اثر حفاظتی میوه چیکو (*Manilkara zapotilla*) بر روی آسیب بافت بیضه در موش تیمار شده با کادمیوم

زهرا صالحی جهرمی[۱]، وحید حمایت خواه جهرمی[۱]*، الهه سامانی جهرمی[۲]

۱- گروه زیست شناسی، واحد جهرم، دانشگاه آزاداسلامی، جهرم، ایران
۲- باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد جهرم، دانشگاه آزاداسلامی، جهرم، ایران
*مسئول مکاتبات: dr.hemayatkhah@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۴/۱۰/۲۹ تاریخ پذیرش: ۹۵/۳/۵

چکیده

کادمیوم به دلیل خصوصیاتی از قبیل پایداری و تجمع پذیری در محیط زیست خطرناک است. هدف از انجام پژوهش حاضر بررسی اثر حفاظتی میوه چیکو بر روی آسیب بافت بیضه موش تیمار شده با کادمیوم می‌باشد. این مطالعه تجربی بر روی ٤٢ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار انجام شد. حیوانات به ۷ گروه تقسیم شدند. گروه کنترل آب و غذای معمولی دریافت کردند. به گروه شاهد۱ مقدار ۰/۲ میلی‌لیتر آب مقطر تزریق شد. به گروه شاهد ۲، ۰/۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن کادمیوم تزریق گردید. به گروه شاهد ۳ فقط مقدار متوسط عصاره چیکو یعنی ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تزریق شد. به گروه‌های تجربی ۱، ۲ و ۳ در روز اول آزمایش، ۰/۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم کادمیوم تزریق شد و سپس به مدت ١٤ روز نیز به ترتیب مقادیر ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره آبی چیکو تزریق گردید. پس از ١٤ روز از قلب حیوانات خون گیری شد و میزان سرمی هورمون های تستوسترون، دی هیدرواپی آندروسترون (DHEA)، LH و FSH مورد بررسی قرار گرفت. داده‌های آماری توسط آزمون ANOVA و دانکن در سطح معناداری p ۰/۰۵ >توسط نرم افزار SPSS نسخه۱۵ تعیین گردید. میانگین هورمون تستسترون در گروه شاهد کادمیوم در مقایسه با گروه‌های کنترل و تجربی افزایش معنی داری داشت ($p <$ ۰/۰۵). میانگین تغییرات غلظت دی هیدرواپی آندروسترون (DHEA) در گروه‌های شاهد ۳ و تجربی ۱ و ۲ نسبت به سایر گروه ها افزایش معنی داری درسطح ($p<$۰/۰۵) داشته است. هورمون‌های LH و FSH در گروه شاهد ۲ کاهش معنی‌دار و در گروه های تجربی نسبت به شاهد۲ افزایش معنی‌داری داشت($p<$۰/۰۵). این مطالعه نشان داد که عصاره میوه چیکو می‌تواند اثرات تخریبی ناشی از کادمیوم را کاهش دهد.

کلمات کلیدی: میوه چیکو، کادمیوم، تستسترون، دی هیدرو اپی آندروسترون، LH، FSH.

مقدمه

تحقیقات زیادی در مورد تأثیر گیاهان و داروهای گیاهی بر روی رفع بیماری‌های مختلفی صورت گرفته است. اثرات مثبت و منفی بسیاری از این گیاهان از نظر علمی اثبات گردیده است. یافته‌های طب سنتی و تحقیقات علمی انجام شده، نشان می‌دهد که میوه تأثیر بسزایی بر روی افزایش باروری و هورمون‌های جنسی دارد. بخش بزرگی از اعمال جنسی در جنس نر و ماده با ترشح هورمون‌های آزاد کننده گنادوتروپین (GnRH) از هیپوتالاموس آغاز می‌شود. عمل این محور با ترشح ضربان دار هورمون GnRH از نورون‌های پاراسلولار در هسته قوسی شکل برجستگی میانی هیپوتالاموس شروع می‌شود و به سیستم پورتال هیپوفیز قدامی می‌رسد و باعث ترشح و آزاد سازی گنادوتروپین‌ها (FSH و LH) می‌شود. با توجه به آثار سوء و عوارض جانبی داروهای شیمیایی، امروزه استفاده از طب سنتی بخصوص گیاه درمانی مد نظر قرار گرفته است. در سال‌های اخیر توجه زیادی به مطالعه اثر گیاهان مختلف بر روی هورمون‌های جنسی پستانداران آزمایشگاهی شده و از نتایج حاصل از

این مطالعات اطلاعات ارزشمندی به دست آمده است]۳۵[. گیاه چیکو با نام علمی *Manilkara zapotilla* از خانواده Sapotaceae می‌باشد. در حدود ۸۰۰ گونه مختلف از این گیاه شناسایی شده است [۸، ۱۵].

گیاه چیکو با نام‌های دیگر *Manilkara achras*، *Mimusopus manilkara*، *Achras Zapota* و *Achras sapota* نیز شناخته می‌شود [۳۷].

از ترکیبات شیمیایی موجود در چیکو تانن‌ها هستند که عمدتاً در میوه نارس چیکو یافت می‌شود [۲۸، ۳۰، ۲٤]. همچنین تری ترپن‌ها (triterpenes) [۳۱، ۱۸] و ساپونین نیز به طور عمده در دانه [۳، ۷] وجود دارد و برگ‌های این گیاه خاصیت آنتی‌اکسیدانی [۱۱]، ضد میکروبی [۱۱، ٤] و ضد درد [۳٤] دارد.

کادمیوم (Cd) با عدد اتمی ٤۸ و وزن اتمی ۱۱۲/٤۱ یکی از عناصر کمیاب ولی گسترده در سراسر جهان است. به دلیل افزایش ورود کادمیوم به بدن موجودات زنده از طرق مختلف و افزایش احتمال مسمومیت با آن این موضوع در دستور کار سازمان بهداشت جهانی (WHO) قرار گرفته است. کادمیوم می‌تواند جای روی را در پروتئین‌ها و آنزیم‌های بدن بگیرد و نیز به عنوان یک کاتیون و یا با اتصال به مولکول‌های رسوب دهنده ای از قبیل گلوتاتیون یا سیستئین از حامل‌ها و کانال‌های سلولی که به یون‌های دیگر اختصاص دارد جهت عبور استفاده نماید. دوزهای زیاد کادمیوم در شرایط حاد باعث نکروز و آپوپتوز از هر دو مسیر میتوکندریایی و گیرنده‌های مرگ سلولی می‌شود. در تعداد زیادی از مطالعات بر قابلیت کادمیوم در ایجاد گونه‌های فعال اکسیژن و رادیکال‌های آزاد به عنوان واسطه ایجاد ضایعات روی ژن‌ها تاکید شده است. مطالعات نشان می‌دهد کادمیوم در مراحل ابتدایی بارداری آسیب‌زا و اثرات سمی بر جنین داشته و در مراحل انتهایی بارداری روی جفت اثرات سمی دارد و جریان خون رحم را کاهش می‌دهد. از این رو در تحقیقات انجام شده، کادمیوم به عنوان یک عامل تراتوژن معرفی شده است]٤۰[. کادمیوم با تولید آنیون‌های سوپر اکسیداسیون موجب القای پراکسیداسیون لیپید (LPO) می‌شود. همچنین با مهار آنتی‌اکسیدان‌هایی مثل گلوتاتیون پراکسیداز و سوپراکسیداز دیسموتاز باعث تجمع رادیکال‌های آزاد، آسیب به سلول و بیماری‌های مزمن می‌گردد [۲۵]. مطالعات نشان می‌دهد که کادمیوم باعث نکروز بافت بیضه‌ای می‌گردد [۱۲]. خردمند و همکاران در سال ۱۳۹۲ اذعان داشتند که بتائین احتمالاً به دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌تواند اثرات استرس اکسیداتیو ناشی از کادمیوم را در بافت بیضه کاهش دهد که این امر باعث افزایش سلامت غشاء اسپرم و متعاقباً افزایش نسبی حرکات پیشرونده اسپرم می‌گردد [۱].

تحقیقات فرهنگ دوست در سال ۱۳۹۲ نشان داد که صبرزرد می‌تواند با کاهش میزان اثر اکسیدانی کادمیوم کلراید، اسپرماتوژنز را بهبود ببخشد [۲].

هدف از انجام پژوهش حاضر بررسی اثر حفاظتی میوه چیکو بر روی آسیب بافت بیضه موش تیمار شده با کادمیوم می‌باشد.

مواد و روش کار

گروه بندی حیوانات: در این تحقیق مجموعاً از ٤۲ سر موش صحرایی نر بالغ ویستار ۱۱۰-۹۰ روزه با وزن تقریبی ۲۱۰- ۱۹۰گرمی استفاده گردید که بطور تصادفی در گروه‌های ٦ تایی گروه بندی گردیدند.حیوانات به طور تصادفی در گروه های زیر تقسیم بندی شدند:

- گروه کنترل: در این گروه هیچ تیماری برای حیوانات انجام نگرفت و حیوانات فقط از آب و غذای معمولی استفاده کردند.
- گروه شاهد ۱: به این گروه حیوانات صرفاً ۰/۲میلی‌لیتر آب مقطر تزریق گردید.
- گروه شاهد ۲: به این گروه حیوانات صرفاً ۰/۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم کلرید کادمیوم تزریق گردید.
- گروه شاهد ۳: به این گروه حیوانات صرفاً مقدار متوسط عصاره آبی چیکو یعنی ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن تزریق گردید.

▪ گروه تجربی ۱: در این گروه حیوانات دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره آبی چیکو تزریق گردید.
▪ گروه تجربی ۲: در این گروه حیوانات دوز ۱۰۰ میلی-گرم بر کیلوگرم عصاره آبی چیکو تزریق شد.
▪ گروه تجربی ۳: در این گروه حیوانات دوز ۲۰۰ میلی-گرم بر کیلوگرم عصاره آبی تزریق گردید.

همچنین به گروه‌های تجربی ۱، ۲ و ۳ در روز اول انجام آزمایش، مقدار ۰/۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم کلرید کادمیوم نیز تزریق شد. کلیه تزریقات در آزمایش فوق به صورت درون صفاقی و به مدت ۱٤ روز انجام گردید. در پایان دوره موش‌ها بیهوش و از قلب آنها خونگیری شد و سرم خون جدا گردید. سرم‌ها از نظر مقادیر هورمون‌های تستوسترون، DHEA، LH و FSH با استفاده از کیت‌های تشخیص کمی ساخت شرکت Monobind آمریکا مورد بررسی قرار گرفت.

روش تجزیه و تحلیل و محاسبه آماری: اعداد بدست آمده توسط آزمون‌های آنالیز واریانس و سپس آزمون‌های تعقیبی دانکن برای هر آزمون جداگانه آنالیز و با یکدیگر مقایسه شدند و نمودارهای آنها بر اساس اطلاعات بدست آمده از آنالیز اعداد توسط (ANOVA) یک طرفه، توسط نرم افزار SPSS رسم گردیدند. مقادیر بکار گرفته شده میانگین ± خطای انحراف از معیار (SEM) و سطح معنی دار $p < ۰/۰۵$ می‌باشد.

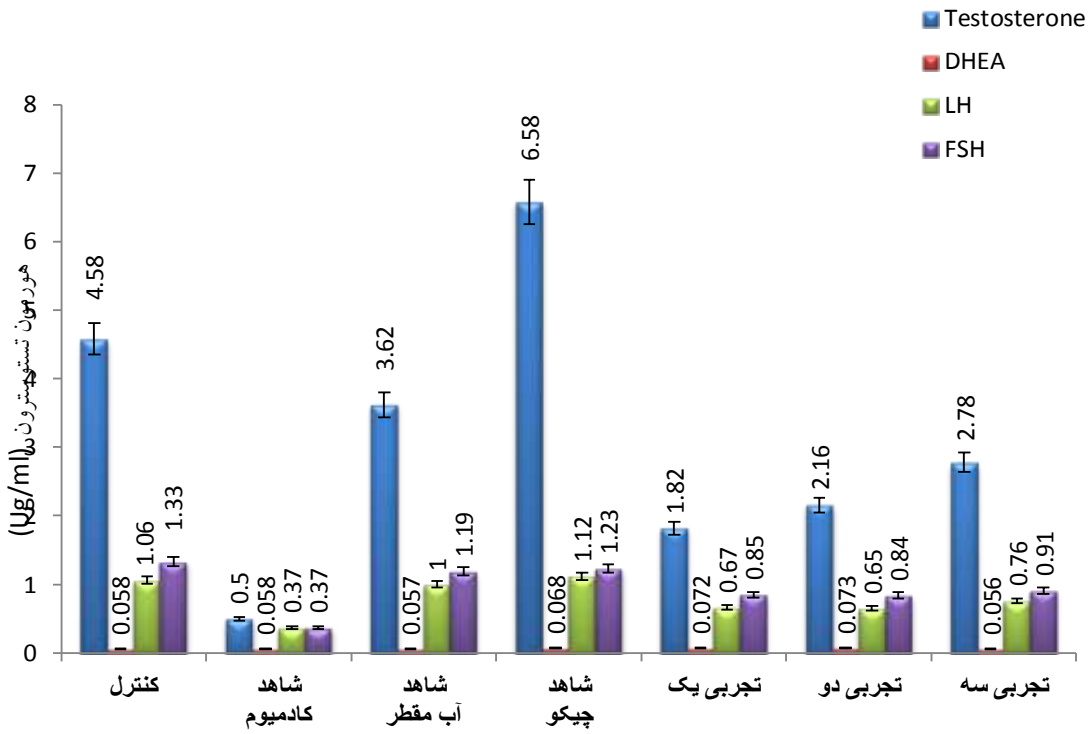
نتایج

تغییرات غلظت تستوسترون: گروه شاهد کادمیوم و گروه‌های تجربی ۱، ۲ و ۳ نسبت به گروه کنترل کاهش نشان داده است. گروه شاهد چیکو نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری نشان داده و گروه های تجربی ۱، ۲ و ۳ نسبت به گروه شاهد چیکو کاهش معنی داری داشته است. همچنین گروه‌های تجربی ۱، ۲ و ۳ افزایش معنی داری نسبت به گروه شاهد کادمیوم در سطح ($p<۰/۰۵$) داشته است.

تغییرات غلظت دی‌هیدرواپی اندروسترون (DHEA): میانگین تغییرات غلظت دی هیدرواپی آندروسترون (DHEA) در گروه شاهد چیکو و تجربی ۱ و ۲ نسبت به سایر گروه های مورد بررسی افزایش معنی داری درسطح ($p<۰/۰۵$) داشته است.

تغییرات غلظت هورمون LH: گروه شاهد کادمیوم و گروه‌های تجربی ۱، ۲ و ۳ نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری نشان داده است همچنین گروه های تجربی ۱، ۲ و ۳ در مقایسه با گروه شاهد چیکو کاهش معنی‌داری داشته است. گروه تجربی ۱، ۲ و ۳ افزایش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد کادمیوم در سطح ($p<۰/۰۵$) نشان داده است.

تغییرات غلظت هورمون FSH: گروه شاهد کادمیوم نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری داشته است. گروه‌های تجربی ۱، ۲ و ۳ نسبت به گروه کنترل و شاهد چیکو کاهش معنی‌داری نشان داده است. همچنین گروه-های تجربی ۱، ۲ و ۳ افزایش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد کادمیوم در سطح ($p<۰/۰۵$) داشته است.



نمودار ۱ـ نتایج مربوط به تغییرات غلظت هورمون‌های تستوسترون، دی هیدرواپی اندروسترون(DHEA)، LH و FSH .
نقاط به صورت Mean±S.E نشان داده شده است. بر اساس آزمون دانکن اگر ستون ها دارای حداقل یک حرف مشترک باشند آن ستون ها با همدیگر تفاوت معنی داری ندارند.

بحث

نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهد که تغییرات غلظت دی هیدرواپی آندروسترون (DHEA) در گروه‌های شاهد۳ (شاهد چیکو) و تجربی ۱ و ۲ افزایش معنی‌داری نسبت به سایر گروه‌ها در سطح ($p<۰/۰۵$) داشته است. همچنین مشخص شد که غلظت تستوسترون در گروه-های مورد بررسی در گروه شاهد کادمیوم و گروه‌های تجربی ۱، ۲ و ۳ نسبت به گروه کنترل کاهش نشان داده است. گروه شاهد چیکو نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری نشان داده و گروه‌های تجربی ۱، ۲ و ۳ نسبت به گروه شاهد چیکو کاهش معنی‌داری داشته است. همچنین گروه‌های تجربی ۱، ۲ و ۳ افزایش معنی داری نسبت به گروه شاهد کادمیوم در سطح ($p<۰/۰۵$) داشته است که این تغییرات بیانگر اثر افزایشی عصاره میوه چیکو بر غلظت هورمون تستسترون و اثر کاهشی کلرید کادمیوم بر این هورمون می‌باشد. در گروه‌های تجربی نیز استفاده از عصاره میوه چیکو توانسته اثر کاهشی کادمیوم را بهبود ببخشد و تا حدودی باعث افزایش هورمون تستسترون شود. همچنین در توجیه افزایش میزان هورمون تستسترون در گروه شاهد چیکو، از آنجا که میوه چیکو دارای فلاونویید می‌باشد مشخص شده است که بعضی از فیتواستروژن‌ها در غلظت کم با افزایش هورمون تری یدوتیرونین (T3)، که باعث افزایش استروئیدوژنز در سلول‌های لایدیگ می‌گردد، قادرند میزان سنتز و ترشح هورمون تستسترون را در این سلول‌ها افزایش دهند [۱۷]. فلاونوییدها همچنین از طریق ممانعت از عملکرد آنزیم ۵-آلفا ردوکتاز از تبدیل تستسترون به دی هیدروتستسترون ممانعت کرده و از این طریق میزان هورمون تستسترون را افزایش می‌دهند [۹].

مطالعات گذشته نشان داد که کادمیوم باعث کاهش مقدار هورمون تستوسترون می‌گردد [٤٠].

همچنین دالتون اظهار داشت که کادمیوم باعث نکروز بافت بیضه ای و کاهش هورمون تستسترون می‌گردد که نتایج این پژوهش‌ها با مطالعه حاضر نیز همخوانی دارند [١١].

نتایج مربوط به تغییرات غلظت هورمون LH در گروه-های مورد بررسی نشان می‌دهد که گروه شاهد کادمیوم و گروه‌های تجربی ۱، ۲ و ۳ نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری نشان داده است همچنین گروه های تجربی ۱، ۲ و ۳ در مقایسه با گروه شاهد چیکو کاهش معنی‌داری داشته است. گروه تجربی ۱، ۲ و ۳ افزایش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد کادمیوم در سطح $p<۰/۰۵$ نشان داده است. کاهش در گروه شاهد کادمیوم بیانگر اثر کاهشی این ماده بر هورمون LH می‌باشد و همچنین اثر کاهشی خود را در گروه‌های تجربی ۱، ۲ و ۳ نیز بروز داده است که استفاده از عصاره میوه چیکو توانسته اثر کلرید کادمیوم را مهار کند و در نهایت باعث افزایش LH در گروه‌های تجربی در مقایسه با گروه شاهد کادمیوم گردیده است. نتایج مربوط به تغییرات غلظت هورمون FSH در گروه‌های مورد بررسی نشان می‌دهد که گروه شاهد کادمیوم نسبت به گروه کنترل کاهش معنی داری داشته است. گروه‌های تجربی ۱، ۲ و ۳ نسبت به گروه کنترل و شاهد چیکو کاهش معنی داری نشان داده است. همچنین گروه‌های تجربی ۱، ۲ و ۳ افزایش معنی داری نسبت به گروه شاهد کادمیوم در سطح $p<۰/۰۵$ داشته است. اثر کاهشی هورمون FSH در گروه شاهد کادمیوم نشانگر اثر کاهشی این ماده بر هورمون FSH می باشد. در گروه های تجربی نیز استفاده از عصاره میوه چیکو توانسته اثر کاهشی کادمیوم را بهبود بخشد و تا حدودی باعث افزایش هورمون FSH شود. کادمیوم کلراید باعث کاهش سطوح پلاسمایی هورمون FSH و LH در موش-های صحرایی القاء شده با کلرید کادمیوم می‌گردد [۵].

بررسی‌ها نشان می‌دهد ترشح FSH مستقل از GnRH است [۳۹]. گیرنده‌های هورمون FSH در سطح سلول-های سرتولی وجود دارند و هورمون FSH با اتصال به این گیرنده‌ها باعث فعال شدن آنزیم آدنیلیل سیکلاز و افزایش غلظت cAMP و در نتیجه فعال شدن پروتئین کیناز C (PKC) در سیتوزول می گردد. سپس زیر واحد کاتالیتیکی، فعال و وارد هسته شده و رونویسی از ژن ABP را فعال می‌کند [٦]. هورمون FSH برای شروع اسپرماتوژنز یعنی شروع تقسیم میتوز سلول‌های اسپرماتوگونی ضروری است [٣٦]. بنابراین اختلال در میزان هورمون FSH باعث ایجاد اختلال در روند اسپرماتوژنز می‌گردد. همچنین هورمون FSH برای اتصال و چسبیدن اسپرماتیدها به سلول‌های سرتولی ضروری است [١١].

Manilkara zapota گیاه مهم دارای مصارف مختلف دارویی است. در سراسر بنگلادش و هند کشت می شود، هر چند که بومی مکزیک و مرکزی امریکا است [۲۰].

در سیستم‌های سنتی از برگ‌های این گیاه برای درمان سرفه، سرماخوردگی و اسهال استفاده می گردد. برگ این گیاه همچنین دارای فعالیت آنتی اکسیدانی [۲۲]، ضد میکروبی [۳۳]، بالقوه ضد درد، همچنین فعالیت قند خون و hypocholesterolemic را کنترل می‌نمایند [۲۹]. پوست گیاه به عنوان تونیک و عصاره پوست آن در درمان اسهال، اسهال خونی و peludism استفاده دارد [۲۹، ۲۰]. همچنین از پوست این درخت برای درمان اختلال گوارشی، تب، درد و همچنین شرایط التهابی استفاده می-شود [۲۰، ۲۱]. فعالیت‌های بیولوژیکی مشاهده شده به ترکیبات شیمیایی مختلف موجود در این گیاه به طور عمده به ترکیبات فنلی آن نسبت دارد [۳۸، ۱۰].

غربالگری ماده اولیه گیاه چیکو نشان از حضور تری-ترپنوئیدها، فلاونوئیدها و گلیکوزیدهای که دارای خواص ضد توموری قوی می‌باشد دارد [۲۳].

علاوه بر این، فلاونوئیدها دارای مکانیسم های هستند که سلول‌های سرطانی را می‌کشند و مانع تهاجم تومور می-

شوند [۱۳، ١٤، ۲۷]. عصاره اتیل استات از پوست ساقه *Manilkara zapota* دارای فعالیت ضد سرطان قابل توجه است. استفاده از عصاره آبی میوه چیکو اثر قابل ملاحظه ای بر کنترل قند خون و کاهش کلسترول دارد. پلی فنول های محلول در آب میوه چیکو عمدتاً تانن‌ها و فلاونوئیدها هستند که می‌تواند مسئول فعالیت‌های زیستی عصاره آبی میوه چیکو باشد [١٦،١٩، ٢٦، ۲۷، ۲۸، ۳۰، ۳۲، ۳۹، ٤٠].

در توجیه نتایج پژوهش حاضر نیز به استثناء هورمون‌های تستسترون و DHEA که افزایش یافته، در سایر هورمون های مورد آزمایش بافتی بیضه مشخص شده که استفاده از عصاره میوه چیکو باعث بازگشت پارامترهای مورد آزمایش به حد طبیعی می گردد و در گروه های شاهد نیز استفاده از این میوه تغییرات خاصی را به وجود نمی آورد که با پژوهش‌های انجام شده گذشته نیز همخوانی دارد. البته در گروه‌های که با کادمیوم تیمار شدند نیز استفاده از این میوه توانسته اثر تخریبی حاصل از کادمیوم را جبران نماید.

نتیجه‌گیری

این مطالعه نشان داد که عصاره آبی میوه چیکو می‌تواند اثرات تخریبی ناشی از کادمیوم را کاهش دهد و در افراد سالم و عادی عصاره این میوه فقط سبب افزایش هورمون تستسترون می‌گردد. با توجه به این مسئله که زندگی صنعتی امروزه، افراد را ناگزیر در تماس با کادمیوم قرار داده است لذا استفاده از این میوه جهت کاهش اثرات تخریبی کادمیوم توصیه می‌گردد همچنین پیشنهاد می‌گردد تا مطالعات جامع‌تری در این خصوص صورت گیرد.

تشکر و قدردانی

نتایج این تحقیق بر مبنای پایان نامه کارشناسی ارشد سرکار خانم زهرا صالحی جهرمی، دانش آموخته رشته علوم جانوری، دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم با موضوع بررسی تاثیر میوه چیکو (*Manilkara zapota*) بر فیزیولوژی تولیدمثلی در موش‌های صحرایی نر القاء شده با کلرید کادمیوم تدوین گردیده است. بدین وسیله از همکاری جناب آقای حامد حسن‌زاده خانکهدانی در اجرای این طرح قدردانی می‌شود.

منابع

۱- خردمند ا.، علیرضایی م.، دزفولیان ا. ۱۳۹۳. بررسی اثر تجویز بتائین خوراکی بر کیفیت اسپرم موش رت متعاقب مسمومیت با کادمیوم. فصلنامه دانشگاه علوم پزشکی لرستان. دوره شانزدهم، شماره ۱، مسلسل ۵۹: ۷۱-٦٦.

۲- فرهنگ دوست ف.، جعفری برمک م.، حمایت خواه جهرمی و.، عزیزی ا.، محمودی ر.، کشاورزی ا.، نارکی م. ۱۳۹۳. اثر عصاره صبر زرد بر اسپرماتوژنز و بیضه موش صحرایی القاء شده با کلرید کادمیوم. مجله ارمغان دانش. شماره۱،صفحه۵۳-٤۷.

3- Abu Osman M., Abdul Aziz M., Rowshanul M., Rezaul M. (2011), Antimicrobial investigation on *Manilkara zapota* (L.) P. Royen. *International Journal of Drugs and Developmental Research*, 3: 185-190.

4- Acharya U.R., Mishra M., Patro J. (2008), Effect of vitamins C and E on spermatogenesis in mice exposed to cadmium. *Reproduction Toxicolology*, 25(1): 84-88.

5- Adam J.A., Menhere P.P.C.A, Van Dieelen F.M., Soeters P.B. (2000), Decreased plasma orexin A level in obese individuals. *Endocrinology*, 26(2): 274-276.

6- Ahmed R., Rashid F., Ahmed V.U., Mohammad F.V., Noorwala M., Bibi N., et al. (2008), Saponins from the seeds of *Achras sapota*. *Journal of Asian National Production Research*, 10:7–16.

7- Anjaria J., Parabia M., Dwivedi S. (2002), Ethnovet heritage: Indian ethnoveterinary medicine, an overview. 1st ed. Ahmedabad (India): Pathik Enterprise Publishers, 301-303.

8- Bialymstoku W. (2004), Influence of nargenin on the activating of enzymes

Jahromi H. (2013), Effect of hydroalcoholic extract of *Citrus aurantifolia* peel on serum level of testosterone, FSH, LH and testis tissue in adult male rats. *International Journal of Biological Pharmacy and Allied Science*, 2: 1307-1315.

18- Hnatyszyn O., Mino J., Ferraro G., Acevedo C. (2002), The hypoglycemic effect of *Phyllanthus sellowianus* fractions in streptozotocin induced diabetic mice. *Phytomedicine*, 9: 558-559.

19- Hossain H., Jahan F., Howlader S.I., Dey S.K., Hira A., Ahmed A. (2012), Evaluation of anti-inflammatory activity and total flavonoids content of *Manilkara zapota* (L.) Bark. *International Journal of Phytopharmacology Research*, 2(1): 35-39.

20- Kaneria M., Baravalia Y., Vaghasiya Y., Chanda S. (2009), Determination of antibacterial and antioxidant potential of some medicinal plants from Saurashtra region, India. *Indian Journal of Pharmacy Science*, 71: 406-412.

21- Kintzios S.E. (2006), Terrestrial plant derived anticancer agents and plants used in anticancer research. *Critical Review Plant Science*, 25: 79-113.

22- Koyuturk M., Yanardag R., Blokent S., Tundi S. (2006), Influence of combined antioxidants against cadmium induced testicular damage. *Environental Toxicology Pharmacology*, 21(3): 235-240.

23- Kulkarni A.P., Policegoudra R.S., Aradhya S.M. (2007); Chemical composition and antioxidant activity of *Achras sapota* Lin. fruit. *Journal of Food Biochemistry*, 31: 399-414.

24- Lotito S.B., Frei B. (2006), Consumption of flavonoid-rich foods and increased plasma antioxidant capacity in humans: cause, consequence, or epiphenomenon. *Free Radical Biological Medicine*, 41: 1727-1746.

25- Ma J., Luo X., Protiva P., Yang H., Ma C., Basile M.J., et al. (2003), Bioactive Novel Polyphenols from the fruit of *Manilkara zapota* (Sapodilla). *Journal of Natural Productions*, 66: 983-986.

participating in steriodogenesis in male rats. *Ruczniki Akademii Medyczne*, 49: 37-46.

9- Cai Y., Luo Q., Sun M., Corke H. (2004), Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Science*, 74: 2157–84.

10- Chanda S.V., Nagani K.V. (2010), Antioxidant capacity of *Manilkara zapota* leaves extracts evaluated by four *in vitro* methods. *Nature Science*, 8: 260–266.

11- Choi J.S., Kang T.S., Kwack S.J., Min B.S., Ha D.T., Ngoc T.M., Hung T.M., Thuojg P.T., Bae K. (2009), Antioxidant activities of coumarins from Korean medicinal plants and their structure-activity relationships, College of Pharmacy, Chungnam National University, Daejeon, 26: 305-764.

12- Dalton T., Fu K., Enders G.C., Palmiter R.D., Andrews G.K. (1996), Analysis of the effects of overex pression metallothionein-I in toxicology of cadmium. *Journal of Environmental Health Perspective*, 104(1): 68-76.

13- De Sousa R.R., Queiroz K.C., Souza A.C., Gurgueira S.A., Augusto A.C., Miranda M.A. (2007), Phosphoprotein levels, MAPK activities and NF kappa B expression are affected by fisetin. *Journal of Enzyme Inhibitory Medical Chemistry*, 22: 439-444.

14- Elizabeth S. (2004), Effect of selection for testosterone production on testicular morphology and daily sperm production in pigs, (Dr. Joseph Cassady), *Journal of Animals*, 82: 2259-2263.

15- Guevarra M.T., Panlasigui L.N. (2000), Blood glucose responses of diabetes mellitus II patients to some local fruits. *Asian Journal of Clinical Nutrition*, 9: 303-308.

16- Gunnarsson D., Selstam G., Ridderstrale Y., Holm L., Ekstedt E., Madej A. (2009), Effects of dietary phytoestrogens on plasma testosterone and triiodothyronine (T3) levels in male goat kids. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 51(1): 1-6.

17- Hemayatkhah Jahromi V., Farajmand M., Azhdari S., Ghaedi Sh., Farzam M., Kargar

26- Mahajan R.T., Badgujar S.B. (2008), Phytochemical investigations of some laticiferous plants belonging to Khandesh region of Maharashtra. *Ethnobotanical Leaflets*, 12: 1145-1152.

27- Melinda K.P., Rathinam X., Marimuthu K., Diwakar A., Ramanathan S., Kathiresan S., et al. (2010), A comparative study on the antioxidant activity of methanolic leaf extracts of *Ficus religiosa* L. *Chromolaena odorata* (L.) King & Rabinson, *Cynodon dactylon* (L.) Pers. and *Tridax procumbens* L. *Asian Journal of Tropical Medicine*, 3(5): 348-350.

28- Mulla W.A., Kuchekar S.B., Kuchekar B.S. (2010), Antioxidant, anti-nociceptive and anti-inflammatory activities of ethanolic extract of leaves of *Alocasia indica* (Schott.) *Journal of Young Pharmacology*; 2(2): 137-143.

29- Nagani K.M., Chanda S.V. (2010), Antioxidant capacity of *Manilkara zapota* (L.) leaves extracts evaluated by four *in vitro* methods. *Nature Science*, 8: 260-266.

30- Nair R., Chanda S. (2008), Antimicrobial activity of *Terminalia catappa*, *Manilkara zapota* and *Piper betel* leaf extract. *Indian Journal of Pharmacy Science*, 70(3): 390-393.

31- Pankaj K.J., Prashant S., Neeraj U., Yogesh S. (2011), Evaluation of analgesic activity of *Manilkara zapota* (leavea). *European Journal of Experimental Biology*, 1: 14-17.

32- Parandin R., Ghorbani R., Sadeghipour Roodsari H.R. (2011), Effect of alcoholic extract of Achillea millefolium flowers on fertility parameters in mail rats. *Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences*, 19(1): 84-93.

33- Toni M., Gary R. (2001), The significance of FSH in spermatogensis and the control of its secretion in male primates, Department of biology and physiology and medicine university of Pittsburg school of medicine Pittsburg, Pennsylvania, pp: 844-849.

34- Ponthes P.V., Moreira R.F., Trugo L.C., Maria C.A. (2003), The content of chlorogenic acids in tropical fruits. *Journal of Science Food Agriculture*, 82: 1171-1181.

35- Quattrocchi F.L. (2000), Boca Raton, London, New York, Washington, DC: CRC Press; CRC World Dictionary of Plant Names-Common Names, Scientific Names, Eponyms, Synonyms and Etymology, 1609-1610.

36- Shazly A., Meselhy R., Mossa M., Monem A., Fayek N. (2012), Chemical and biological study of *Manilkara zapota* (L.) Van Royen leaves (Sapotaceae) cultivated in Egypt. *Pharmacology Research*, 4(2): 85-91.

37- Shui G., Wong S.P., Leong L.P. (2004), Characterization of antioxidants and change of antioxidant levels during storage of *Manilkara zapota* L. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 52: 7834-7841.

38- Suda I., Oki T., Nishiba Y., Masuda M., Kobayashi M., Nagai S., et al. (2005), Polyphenol contents and radical-scavenging activity of extracts from fruits and vegetables in cultivated in Okinawa, Japan. *Journal of Japan Society Food Science Technology*, 52: 462-471.

39- Thompson J., Bannigan J. (2008), Cadmium: toxic effects on the reproductive system and the embryo. *Reproduction Toxicology*, 25(3): 304-315.

40- Turek P.J. (2000), Hypothalamic-pituitary-gonadal axis and control of spermatogenesis, Director male reproductive laboratory department of Urology, University of California at San Francisco, 455-458.