اثر حمایتی عصاره هیدروالکلی خارخاسک بر سمیت سلولی سیس‌پلاتین روی مورفولوژی اسپرم موش

زهرا کشتمند[1*]، شهربانو عریان[2]، علی قنبری[3]، مظفر خزاعی[3]

۱ـ دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، گروه زیست‌شناسی، تهران، ایران

۲ـدانشگاه خوارزمی، دانشکده علوم زیستی، گروه زیست‌شناسی، تهران، ایران

۳ـ مرکز تحقیقات باروری و ناباروری، دانشکده علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

مسئول مکاتبات: zkeshtmand2001@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۲/۳/۱۶ تاریخ پذیرش: ۹۲/۷/۱۱

چکیده

سیس‌پلاتین، داروی ضدسرطان است که در شیمی درمانی استفاده می‌شود، اثرات جانبی این دارو شامل کاهش عملکرد غدد جنسی، آزواسپرمی و الیگواسپرمی است. خارخاسک گیاهی است که علاوه بر دارا بودن ترکیبات فراوان، عملکرد جنسی را زیاد می‌کند. هدف از این مطالعه بررسی تأثیر حمایتی عصاره هیدروالکلی خارخاسک بر سمیت سلولی (سیتوتوکسیسیتی) سیس‌پلاتین بر مورفولوژی اسپرم در موش سوری است. در این مطالعه تجربی ۳۰ موش سوری بالغ نر باوزن ۲۵- ۳۰ گرم بصورت تصادفی به پنج گروه شش تایی تقسیم شد. گروه کنترل نرمال سالین را دریافت و گروه تجربی ۱ سیس‌پلاتین و سه گروه دیگر به ترتیب دوز mg/kg ۵/۵ سیس‌پلاتین همراه با دوزهای عصاره خارخاسک ۱۰۰، ۳۰۰ و۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی به مدت ٤ روز دریافت کردند. یک روز پس از آخرین تزریق، نمونه‌های خونی به، منظور تعیین غلظت NO سرمی جمع‌آوری و سپس وزن اپیدیدیم و مورفولوژی اسپرم‌های اپیدیدیمی بررسی شد. داده‌های بدست آمده با استفاده از نرم افزار SPSS و آزمون‌های one way-ANOVA ارزیابی شد. نتایج نشان داد که سیس‌پلاتین به تنهایی موجب کاهش وزن بدن، کاهش وزن اپیدیدیم و کاهش اسپرم‌های ترمال و افزایش سطح NO نسبت به گروه کنترل شد که در P< ۰/۰۵ معنی‌دار بوده و در گروه‌هایی که سیس‌پلاتین به همراه عصاره خارخاسک داده شد وزن بدن، اپیدیدیم و تعداد اسپرم با مورفولوژی نرمال نسبت به گروه تجربی۱ افزایش یافت اما سطح NO کاهش آن معنی‌دار نبود. نتایج تأثیر حمایتی عصاره هیدروالکلی خارخاسک بر سمیت سلولی سیس‌پلاتین بر مورفولوژی اسپرم را نشان می‌دهد که احتمالاً مربوط به ترکیبات آنتی‌اکسیدانی خارخاسک است.

کلمات کلیدی: سیس‌پلاتین، خارخاسک، مورفولوژی اسپرم، موش

مقدمه

ناباروری یکی ازمشکلات بهداشتی است که آثار سوء خود را در زمینه‌های فردی، اجتماعی و اقتصادی برجای می‌گذارد. آمارها نشان می‌دهند در حدود ۳۰ درصد تمامی موارد ناباروری مربوط به جنس مذکر است ناباروری در مردان یک مشکل اساسی است که حدود ۷/۵٪ کل جمعیت مردان را شامل شده اگرچه حدود ٦۰٪ علت‌های ناباروری نامشخص است اما بیشترین علت مربوط به ویژگی‌های اسپرم است [٦، ۱۹ و ۳۰].

عوامل مختلفی مانند مواد سمی، آلودگی هوا، کمبود ویتامین‌ها و مصرف داروهای ضدسرطان به روند طبیعی اسپرماتوژنز آسیب می‌زند و بدین ترتیب شیوع ناباروری را در بین مردان افزایش می‌دهند [٤ و ۳۵]. سیس‌پلاتین یک داروی ضدسرطان است که برای اولین بار در سال ۱۹٦۵ به عنوان مهارکننده تقسیم سلولی شناخته شد و در سال ۱۹٦۹ با آزمایش روی مدل حیوانی پی‌بردند که دارای خاصیت ضدتومور می‌باشد. داروی ضدسرطان سیس‌پلاتین علاوه بر از بین بردن سلول‌های سرطانی، در بافت‌های سالم نیز اثرات تخریبی اعمال می‌کند. القاء مرگ سلولی، مکانیسم اصلی عملکرد داروی سیس‌پلاتین است [۲ و ۳٦]. مصرف سیس پلاتین در مدلهای حیوانی منجر

به ایجاد اسپرم های غیر طبیعی و کاهش تحرک اسپرم شده است [۸ ۱ و ۲۷].

اثرات سیتوتوکسیک ناشی از بازجذب سیس‌پلاتین به واسطه انتقال‌دهنده‌های کاتیونی و افزایش گونه‌های رادیکال اکسیژن صورت می‌گیرد که منجر به فعال شدن مسیرهای آپوپتوزی داخلی، خارجی، تخریب DNA و پراکسیده شدن لیپیدها می‌شود [۹ و ۲۹]. اسپرم یکی از سلول‌هایی است که در اثر استفاده از سیس‌پلاتین دچار تغییر شکل شده و منجر به ایجاد شکل‌های غیرطبیعی، القا مرگ سلولی و کاهش حرکت رو به جلو در اسپرم می شود [١٤ و ۳۲]. مطالعات انجام شده نشان داده است که نیتریک‌اکساید مولکولی گازی شکل بوده که علاوه براینکه نقش مهمی در عملکرد سلول داشته، به عنوان مولکول گازی رادیکالی دربسیاری از شرایط فیزیولوژیکی و پاتولوژیکی سیستم تولیدمثل جنس نر و ماده نقش دارد [۳۸].

خارخاسک گیاه یک‌ساله با نام علمی ***Tribulus terrestris*** از خانواده Zygophyllacea، یک گیاه خوابیده است که در بسیاری از مناطق گرمسیر و معتدل جهان از جمله آمریکا، مکزیک، نواحی مدیترانه و سرتاسر آسیا رشد می‌کند. این گیاه در طب سنتی چین، ایران، عراق، هند، بلغارستان و جنوب آفریقا کاربرد دارد. مطالعات نشان می‌دهد، این گیاه حاوی استروئیدها، ساپونین‌ها، فلاوونیدها، آلکالوئیدها، اسیدهای چرب غیر-اشباع، ویتامین‌ها، تانن‌ها، رزین‌ها، پتاسیم، نیترات، آسپارتیک‌اسید و گلوتامیک‌اسید است [۱]، گیاه خارخاسک حاوی ساپونین استروئیدی می‌باشد که از طریق افزایش هورمون لوتئینی سبب افزایش تستوسترون می‌شود [۲۱]. این گیاه دارای فواید مختلف از جمله بالا بردن عملکرد جنسی در انسان، ضد عفونت ادرار، بی-حسی و کاهش درد، اشتها آور، فعالیت ضدمیکروبی، ضد باکتریایی، آنتی‌اکسیدانی و فعالیت ضدسمی می‌باشد [۱۳،۲۰،۲٤ و۳۳].

تریبستان یکی از ترکیبات خارخاسک است که اثر افزاینده میل جنسی و هم‌چنین اثر مقابله با سرد مزاجی ناباروری و اختلالات یائسگی دارد [۱۰]. محققان نشان داده‌اند، دیوسین موجود در خارخاسک از طریق افزایش سطوح تستوسترون آزاد و تنظیم استروژن، پروژسترون و پرگننولون، باعث افزایش توانایی جنسی در مردان می-شود. این گیاه به دلیل دارا بودن پرتودیوسین‌ها و ساپونین‌ها که موجب افزایش سطوح تستوسترون و هورمون لوتئینی (LH) می‌شود که از دیر باز در طب سنتی چین و هند در درمان ناتوانی‌های جنسی و افزایش میل جنسی کاربرد داشته است [۲۵].

از آنجا که گزارشی مبنی بر تاثیرعصاره خارخاسک بر ناهنجاری‌های ایجاد شده در مورفولوژی اسپرم ناشی از مصرف درمانی سیس‌پلاتین یافت نشده و با توجه به اینکه یکی از شایع‌ترین علل ناباروی مردانی که از داروهای شیمی درمانی ایجاد می‌شود ناهنجاری های مورفولوژیکی اسپرم است، لذا، هدف از این تحقیق بررسی تاثیر حمایتی عصاره هیدروالکلی خارخاسک براثرات سمیت سلولی ناشی از داروی سیس‌پلاتین بر مورفولوژی اسپرم در موش سوری است.

مواد و روش کار

حیوانات مورد آزمایش در این تحقیق ۳۰ سر موش بالغ نژاد Balb/C با وزن متوسط ۲۵-۳۰ گرم بود. موش‌ها به ۵ گروه ٦ تایی تقسیم ودر تمام مدت ٤ روز آزمایش، حیوانات طی دوره ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی قرار گرفتند. آب آشامیدنی حیوانات در تمام طول آزمایش آب لوله‌کشی شهری و تغذیه به صورت غذای مخصوص موش بود. درجه حرارت در طول آزمایش ۲۵ درجه سانتی‌گراد و تابش نور به صورت غیرمستقیم و از طریق پنجره‌های آزمایشگاه صورت می-گرفت.

دارو: داروی سیس‌پلاتین در شرایط تاریکی ۱۵-۲۰ دقیقه قبل از تزریق در نرمال سالین حل شده و بصورت تک دوز(۵/۵ mg/kg) به موش‌ها تزریق گردید [۳۵].

تهیه عصاره: گیاه خشک شده خارخاسک آسیاب و به روش پرکولاسیون عصاره‌گیری شد. طبق این روش ۴۰۰ گرم گیاه آسیاب شده را با ۸۰۰ سی‌سی الکل اتانول ۷۰ درصد در پرکولاتورخیس نموده و ۷۲ ساعت آن را کنار گذاشته و سپس عصاره به صورت قطره قطره از پرکولاتور خارج و جمع‌آوری شد. حلال بوسیله خلأ تبخیر و عصاره در سطح صافی و تمیز خشک و تهیه شد [۲۳].

تعداد ۳۰ موش از نژاد Balb/c با وزن ۲۵±۳۰ در ۵ گروه شش‌تایی تقسیم‌بندی شد. گروه کنترل موش‌های نری بودند که فقط نرمال سالین دریافت کردند. گروه تجربی۱ موش‌های که سیس‌پلاتین ۵/۵ mg/kg به صورت تک دوز به آن‌ها تزریق گردید. گروه تجربی ۲ موش‌هایی که سیس‌پلاتین تک دوز را همراه با عصاره هیدروالکلی خارخاسک با دوز ۱۰۰ mg/kg دریافت کردند. گروه تجربی ۳ موش‌هایی که سیس پلاتین تک دوز همراه با عصاره هیدروالکلی خارخاسک با دوز ۳۰۰ mg/kg به آنها دریافت کردند. گروه تجربی ٤ موش‌هایی که سیس‌پلاتین تک دوز را همراه با عصاره هیدروالکلی خارخاسک با دوز ۵۰۰ mg/kg به آن‌ها تزریق شد. مدت زمان دریافت عصاره در گروه‌های تجربی ۲، ۳ و ٤، ٤ روز و دریافت دارو به صورت تزریق داخل صفاقی می‌باشد. یک روز پس از آخرین تزریق، موش‌ها درون دسیکاتور حاوی پنبه آغشته به اتر قرار گرفته و بیهوش شدند. جهت بررسی مورفولوژی اسپرم، اپیدیدیم چپ حیوانات به دقت از بدن خارج شد. بافت اپیدیدیم در یک پتری دیش حاوی ۵ میلی‌لیتر محیط کشت DMEM محتوای FBS ۵٪ خرد و پس از به هم زدن آن، نمونه به مدت ۱۵ دقیقه، در دمای C ۳۷ انکوبه شد. به منظور بررسی مورفولوژی اسپرم‌ها اسمیر تهیه کرده، بدین منظور یک قطره از نمونه را بر روی لام قرار داده بعد از خشک شدن لام در یک محیط استریل اسمیرها را با استفاده از الکل ۷۰ درصد فیکس، سپس لام‌های تهیه شده با استفاده از رنگ‌آمیزی پاپانیکولا جهت بررسی مورفولوژی اسپرم‌ها رنگ‌آمیزی شد [٤۲]. از هر لام ۱۰۰ اسپرم را از لحاظ مورفولوژی نرمال، غیرنرمال (اسپرم بدون دم، بدون سر، بدون قلاب) با استفاده از میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار داده شد.

آمار: جهت بررسی و مقایسه نتایج حاصل از مورفولوژی اسپرم‌ها بین گروه‌های کنترل و تجربی با استفاده از نرم-افزار SPSS، آزمون one –way ANOVA و به دنبال آن آزمون تکمیلی Tukey استفاده گردید. مرز استنتاج آماری نتایج P<۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج

با توجه به جدول ۱ مشاهده می‌شود، در گروه‌های تجربی ۱، ۲، ۳ و ٤ وزن بدن، نسبت به گروه کنترل کاهش یافته که این کاهش در گروه‌های تجربی ۱ معنی‌دار است (P<۰/۰۵)، درگروه‌های تجربی۲، ۳ و ٤ با افزایش میزان دوز عصاره خارخاسک، وزن بدن نسبت به گروه تجربی ۱ افزایش یافته‌است (نمودار ۱ الف). همچنین با توجه به جدول مشاهده می‌شود در گروه‌های تجربی ۱، ۲، ۳ و ٤ وزن اپیدیدیم نسبت به گروه کنترل کاهش یافته که در گروه‌های تجربی این کاهش معنی‌دار می‌باشد (۰/۰۱ >P). در گروه‌های تجربی ۲، ۳ و ٤ با افزایش میزان دوز عصاره خارخاسک وزن اپیدیدیم نسبت به گروه تجربی ۱ افزایش یافته، البته در گروه تجربی ۳،۲ و ٤ افزایش معنی‌داری نسبت به گروه تجربی ۱ نشان داده نشد (نمودار۱ ب).

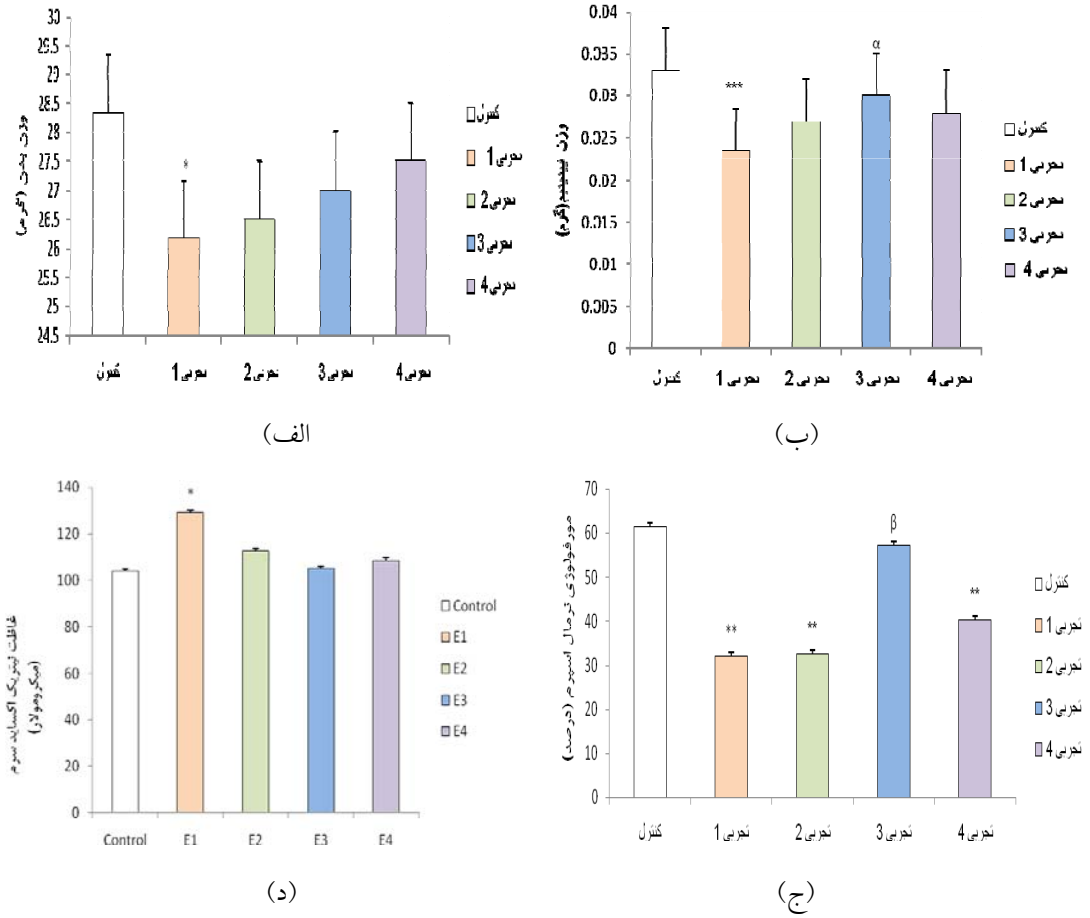
از طرف دیگر در گروه‌های تجربی ۱، ۲، ۳ و ٤ تعداد سلول‌های اسپرم با مورفولوژی نرمال نسبت به گروه کنترل کاهش یافته و این کاهش در گروه‌های ۲، ۳ و ٤ در سطح ۰/۰۵ >P معنی‌دار بود و در گروه‌های تجربی ۲، ۳

و ٤ تعداد سلول‌های اسپرم با مورفولوژی نرمال نسبت به گروه تجربی ۱ افزایش یافته که البته در گروه تجربی ۳ این افزایش در سطح P<۰/۰۱ معنی‌دار است (نمودار ۱ج). فتومیکروگراف ۱ انواع شکل‌های نرمال و غیرطبیعی اسپرم (بدون سر، بدون دم، بدون قلاب) را در این مطالعه نشان می‌دهد، همچنین جدول ۱ نشان می‌دهد غلظت نیتریک اکساید در گروه‌های تجربی ۱،۲، ۳ و ٤ نسبت به گروه کنترل افزایش یافته که این افزایش در گروه تجربی ۱ معنی‌دار بوده است (P< ۰/۰۵). البته غلظت نیتریک اکساید در گروه‌های تجربی ۲، ۳ و ٤ که عصاره خارخاسک را دردوزهای متفاوت همراه با داروی سیس-پلاتین تک دوز دریافت کردند نسبت به گروه تجربی ۱ کاهش یافته که سطح معنی‌داری نشان داده نشده است (نمودار۱ د) (P< ۰/۰۵).

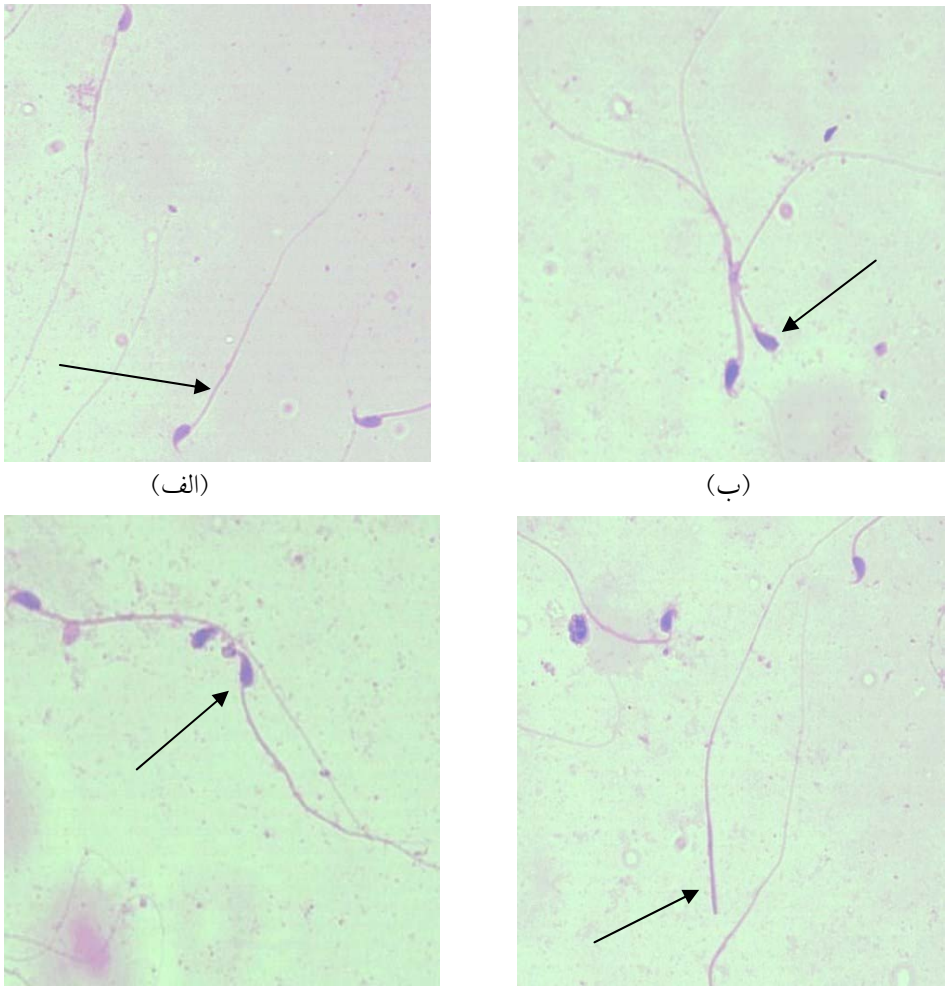
جدول ۱ـ مقایسه گروه‌های کنترل و ٤ گروه تجربی از نظر پارامترهای وزن بدن، اپیدیدیم و تعداد سلول‌های اسپرم با مورفولوژی نرمال و سطح نیتریک اکساید سرم.

پارامترها	گروه کنترل	گروه تجربی ۱	گروه تجربی۲	گروه تجربی ۳	گروه تجربی ٤
وزن بدن(گرم)	۲۸/۳۳۳۳±۸٤/۳۲۷	۲٦/۱٦٦۷±۱/۱۳۷۷٤ *	۲٦/۵±۳٦/۵۱۵	۲۷/۵±۳٦/۵۱۵	۲۷/۵±۰/٦۱۹۱٦
وزن اپیدیدیم(گرم)	۰/۰۳۳±۰/۰۰۱۵۳	۰/۰۲۳۵±۰/۰۰۱۸۳ ***	۰/۰۲۷۰±۰/۰۰۱	۰/۰۳±۰/۰۰۲۱۱ α	۰/۰۲۸±۰/۰۰۱۳۳
اسپرم با مورفولوژی نرمال(درصد)	٦۱/۳۳۳۳±٤/۱۷٦٦۵	۳۲±۷۰٤۹۳ **	۳۲/۵±۷۲۷۲۳ **	۵۷/۱٦٦۷±۷٦۳۱۳ β	٤۰/۱٦٦۷±۳٦۹۷۲ **
سطح‌نیتریک اکساید سرم (میکرومولار)	۱۰۳±۷/۱۳۱۱۳	۱۲۸/۹۸۵۰±۱/۱۳٤۰۷ **	۱۱۲/٦۷±۸/۳۰۰۲۸	۱۰۵±۳/٤۸۳۷۹	۱۰۸/٤۳±۷/٤۱۰۳۳

مقادیر براساس میانگین ± خطای معیار میانگین آورده شده است. سطح اختلاف معنی دار۰/۰۵ >P است. علامت * نشان دهنده اختلاف معنی دار ۰/۰۵ >P با گروه کنترل است. علامت ** نشان دهنده اختلاف معنی دار ۰/۰۱ >P با گروه کنترل است. علامت α نشان دهنده اختلاف معنی دار ۰/۰۵ >P با گروه تجربی ۱ است. علامت β نشان دهنده اختلاف معنی دار ۰/۰۱ >P با گروه تجربی ۱ است.



نمودار ۱ـ تاثیرحمایتی عصاره هیدروالکلی خارخاسک بر سیتوتوکسیستی القا شده داروسیس پلاتین در گروه‌های تجربی و کنترل. الف: ورن بدن، ب: وزن اپیدیدیم، ج: تعداد اسپرم با مورفولوژی نرمال، د: سطح نیتریک اکساید سرم . گروه کنترل نرمال سالین دریافت کرد گروه تجربی ۱: سیس‌پلاتین(۵/۵mg/kg) ،گروه تجربی۲ : سیس‌پلاتین + عصاره خارخاسک (۱۰۰ mg/kg) ، سیس‌پلاتین + عصاره خارخاسک (۳۰۰ mg/kg)،گروه تجربی٤: سیس‌پلاتین + عصاره خارخاسک (۵۰۰ mg/kg). علامت * نشان دهنده اختلاف معنی دار $P< ۰/۰۵$ با گروه کنترل است. علامت ** نشان دهنده اختلاف معنی دار $P< ۰/۰۱$ با گروه کنترل است. علامت α نشان دهنده اختلاف معنی دار $P< ۰/۰۵$ با گروه تجربی ۱ است. علامت β نشان دهنده اختلاف معنی دار $P< ۰/۰۱$ با گروه تجربی ۱ است.



شکل ۱ـ انواع شکل‌های نرمال و غیرطبیعی اسپرم با بزرگنمایی ٤٠٠x. الف: اسپرم نرمال، ب: اسپرم بدون قلاب، ج: اسپرم بدون دم، د: اسپرم بدون سر

بحث

در مطالعه حاضر، کاهش میانگین وزن اپیدیدیم و تعداد اسپرم‌ها با مورفولوژی نرمال در گروه تجربی ۱ که سیس-پلاتین را به صورت تک دوز دریافت کردند نشان داده شد. روش‌های متعددی برای کاهش اثرات جانبی داروهایی که در شیمی درمانی استفاده می‌شود وجود دارد،هورمون درمانی و استفاده از عصاره گیاهان از جمله این روش‌هاست [۱۱، ۲ ، ۲٦، ۲۸، ۳۷].

مطالعات نشان داده است از جمله عواملی که باعث ایجاد اسپرم به شکل‌های غیرطبیعی می‌شود انباشته شدن رادیکال‌های آزاد و پراکسیده شدن اسیدهای چرب مهم دخالت کننده در مورفولوژی و تحرک اسپرم است [۳۹]. انتقال دهنده‌های کاتیونی/ کارنیتینی بیضه، اپیدیدیم و اسپرم در نگهداری شرایط فیزیولوژیک اسپرم، شکل اسپرم، مهاجرت، قدرت باروری اسپرم دارای اهمیت هستند [٤١]. اثرات سمیت سلولی سیس‌پلاتین در بیضه و اسپرم‌از طریق انتقال دهنده‌های کاتیونی/ کارنیتینی اتفاق می‌افتد. کارنیتین اسید چرب بسیار مهمی است که از طریق این انتقال دهنده‌ها به درون سلول وارد شده از سویی، کارنیتین ارتباط نزدیکی با کارنیتین آسیل

ترانسفرازها دارد. که، نقش مهمی در انتقال اسیدچرب با زنجیره بلند مانند آسیل کارنیتین استرها به درون میتوکندری برای بتا اکسیداسیون و تولید ATP دارد. غلظت کارنیتین در اغلب بافت‌ها از جمله کبد، کلیه، ماهیچه فراوان بوده اما بیشترین غلظت در اپیدیدیم پستانداران دیده شده است[۳، ۷ و ۳٤]. با توجه به داده-های به دست امده احتمال می‌رود عصاره خارخاسک در عملکرد این انتقال دهنده‌های کارنیتینی جهت انتقال سیس‌پلاتین مداخله نموده و انتقال سیس‌پلاتین را به درون سلول کاهش و به دنبال آن منجر به کاهش اثرات سمیت سلولی سیس پلاتین بر مورفولوژی اسپرم می‌شود. عصاره خارخاسک تاثیر مثبتی بر خصوصیات کیفی و کمی و تحرک اسپرماتوزوئیدها، مقدار کلسترول و افزایش حجم انزال در پرندگان دارد [۱۷]. خروج مواد به واسطه انتقال‌دهنده‌ها نقش بسیار مهمی در محدود کردن بازجذب داروهای سیتوتوکسیک به درون سلول‌ها و عبور آنها از سد خونی ـ بیضه‌ای دارد [۱۲] که به نظر می‌رسد بر اساس نتایج به دست آمده در این تحقیق احتمالا خارخاسک بر این واسطه های کاتیونی نقش دارد. مطالعات نشان داده است که نیتریک اکساید و ترکیبات مشابه آن منجر به القا استرس اکسیداتیو و شروع آپوپتوز می‌شود [۱۵]. در مطالعات دیگر نشان داده شده است که عصاره خارحاسک دارای ترکیبات آنتی اکسیدانتی است [۲۰]. مطالعات نشان می‌دهد که گیاه خارخاسک به دلیل دارا بودن ساپونسین‌ها باعث افزایش ترشح هورمون لوتئینی از غده هیپوفیز می‌شود. هورمون لوتئینی نیز محرک ویژه برای تولید تستوسترون است و از این رو قادر به بهبود عملکرد جنسی از جمله افزایش تولید اسپرم نرمال، بهبود عملکرد جنسی از جمله افزایش میل جنسی می‌شود [٤۰]. همچنین مطالعات نشان می‌دهد که عصاره خارخاسک باعث بهبود نعوظ و رفتار جنسی در رت و افزایش هورمون‌های جنسی در رت، خرگوش و پریمات شده است [۱٦ و ۳۱].

فروستانول یکی از ساپونین‌های خارخاسک است که اثر محرک بر اسپرناتوژنز دارد. این ماده باعث بهبود معنادار کیفیت و کمیت اسپرم می‌شود [۸]. از سوی یکی از علل مهم ناهنجاری در شکل اسپرم در نتیجه مصرف داروی سیس‌پلاتین افزایش رادیکال های آزاداست [۹].

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که عصاره خارخاسک اثر حمایتی بر سمیت سلولی القا شده توسط سیس‌پلاتین بر مورفولوژی اسپرم داشته که احتمالا به دلیل‌دارا بودن ترکیلات آنتی‌اکسیدانی این عصاره، کاهش گونه‌های رادیکال آزاد، کاهش تولید نیتریک اکسایداز طریق مکانیسم‌های متعدد ردوکس سیگنالینگ و احتمالا مسیرهای دیگر می‌باشد. احتمالاً گنجانیدن این گیاه سرشار از ترکیبات مفید و مؤثر در برنامه غذایی کسانی که به دلایلی به خاطر مصرف داروهای شیمیایی، باروری آنها (فعالیت تولیدمثلی) دچار اختلال شده می‌تواند به نوعی در این اختلال (ناتوانی در باروری) مؤثر واقع شود.

تشکر و قدردانی

از مرکز تحقیقات باروری و ناباروری و گروه آناتومی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه که در انجام این پروژه ما را یاری نمودند تشکر و قدردانی می‌نماییم.

منابع

1- Ahmed, A.H., A.M. Abbas, H.I. Heba, H.A. Amir (2009), Study the Biological Activities of Tribulus Terrestris Extracts. *Journal of Enginiering material and Technology*, 433-435.

2- Altena, R, E.C. Haas, J. Nuver, C.A. Brouwer, M.P. Van den Berg, A.J. Smit, A. Postma, D.T. Sleijfer, J.A. Gietema (2009), Evaluation of sub-acute changes in cardiac function after cisplatin-based combination hemotherapy for testicular

cancer. *British Journal of Cancer,* 100(12): 1861-6.
3- Amsay, R.R. (2000), The carnitine acyl-transferases: modulators of acyl-CoA-dependent reactions. *Journal of Biochemical Society Transaction*, 28:182-186.
4- Badia, R., A. Iborra, J.R. Palacio, M. Antich, P. Martínez (2008), The effect of oxidative environment on nosuppressive properties of human seminal plasma. *American Journal of Reproductive Immunology*, 60(4): 354-60.
5- Bagnis, C., H. Beaufils, C. Jacquiaud, Y. Adabra, C. Jouanneau, G. Le Nahour, M.C. Jaudon, R. Bourbouze, C. Jacobs, G. Deray (2001), Erythropoietin enhances recovery after cisplatin induced acute renal failure in the rat. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 16: 932.
6- Baker, H.W.G., H.G. Burger, D.M. Krester, B. Hudson (1986), Relative incidence of etiological disorders in male infertility, Male Reproductive Dysfunction. *Journal of Marcel Dekker,* New York, 350 pp.
7- Bremer, J (1983), Carnitine-metabolism and functions. *Physiological Reviwes*, 63: 1420-1480.
8- Brown, A.G., M.D. Vukovich, E.R. Martina (2002), Endocrine and lipid responses to chronic androstenediol herbal supplementation in 30 to 58 years old men. *Journal of American Coll Nutrtioion.* 20(5): 520-8.
9-Brozovic, A., A. Ambriović-Ristov, M. Osmak (2010), The relationship between cisplatin-induced reactive oxygen species, glutathione, and BCL-2 and resistance to cisplatin. *Critical Reviews and Toxicology*, 40: 347-359.
10- Chemexcil, *Tribulus terrestris* L. (Zygophyllaceae) (1982), Selected medicinal plants of India. A monograph of identity, safety and clinical usage. Bombay: Tata Press, 1992: 323-6.
11- Delic, J.I., C. Bush, M.J. Peckham (1986), Protection from procarbazine induced damage of spermatogenesis in the rat by androgen, *Cancer Research,* 46: 1909.
12- Ehling, U.H. (1984), Differential spermatogenic response of mice to the induction of mutations by anti-neoplastic drugs. *Mutation Research*, 26: 285-295.
13- Firas A., A.L. Bayati, F. Hassan (2008), An tibacterial and antifungal activities of different parts of *Terribulus terrestris* L. growing in Iraq. *Journal of Zhejiang University Sciences*, 9(2): 154-9.
14- Gandini L., P. Sgrò, F. Lombardo, D. Paoli, F. Culasso, L. Toselli, P. Tsamatropoulos, A. Lenzi (2006), Effect of chemo-or radiotherapy on sperm parameters of testicular cancer patients. *Journal of Human Reproductive,* 21(11): 2882-2889.
15- Gao J.J., X.P. Liu, B. Rigas (2005), *National Academy of Science Journal*,102: 17207–17212.
16- Gauthaman, K., A.P. Ganesan (2008), The hormonal effects of *Tribulus terrestris* and its role in the management of male erectile dysfunction: an evaluation using primates, rabbit and rat. *Phytomedicincy*, 15: 44-54.
17- Grigorova, S., Kashamo B., Sredkova V. (2008), Effect of *Tribulus terrestris* extract on semen quality and serum total cholesterol container in white plymouth rock-mini-cocks. *Biotechnology Animal Husbandry*, 24(3-4): 139-46.
18- Hansen P.V., H. Trykker, P.E. Helkjoer, J. Andersen (1989), Testicular function in patients with testicular cancer treated with orchiectomy alone or orchiectomy plus cisplatin base chemotherapy. *Journal of Natal Cancer Institute*, 81: 1246.
19-Jensen T.K., E. Carlsen, N. Jorgensen, J.G. Berthelsen, N. Keiding, K. Christensen, J.H. Petersen, L.B. Knudsen, N.E. Skakkebaek (2002), Poor semen quality may contribute to recent decline in fertility rates. *Human Reproductive,* 17(6): 1437-1440.
20- Kadry, H., B.L. Abou, E.L. Gindi (2010), Antioxidant activity of aerial parts

of *Tribulus alatus* in rats. *Pakistan Journal of pharmacology Science*, 23(4): 59-62.
21- Karimi, J., H. Malekzadeh, S. Shiravani, F. Hoshmand (2012), The effect of the *T. terrestris* extract on spermatogenesis in the rat. *Journal of Jahrom University Medical Sciense*, 9(4): 7-11.
22- Kangasniemi, M., G. Wilson, I. Huhtaniemi, M.L. Meistrich (1995), Protection against procarbazine-induced testicular damage by GnRH-agonist and antiandrogen treatment in the rat.*Endocrinology*,136: 3677.
23- Khazaei, M., S. Salehi (2006), Protective effect of *Falcaria vulgaris* extract on ethanol- induced gastric ulcers in rat.*Iranian Journal of Pharmacology Therapeuticsr*, 5(1): 1-4.
24- Kianbakbat, S., F. Jahaiani (2003), Evaluation of antibacterial activity of *T. terrestris*. L. growing in Iran. *Iranian Journal of Pharmacology Therapeuticsr*, 2: 22-4.
25- Koumanov, F., E. Bozadjieva, M. Andreeva (1982), Clinical trial of Tribestan. *Journal of Experimental Medicine*, 4: 211-5.
26- Kurdoglu, B., G. Wilson, N. Parchuri, W.S. Ye, M.L. Meistrich (1994), Protection from radiation in duced damage to spermatogenesis by hormone treatment, *Radiation Research* ,139 : 97.
27- Oshio, S., H. Tomamasa, T. Amemiya, T. Yazaki, H. Moheri, T. Umeda, M. Waku (1990), Damaging effects of cisplatin on mouse spermatozoa, *Archives of Andrology*, 24: 13.
28- Pogach, L.M., Y. Lee, S. Gould, W. Giglio, H.F. Huang (1996), Partial prevention of procarbazine induced germinal cell aplasia in rats by sequential GnRH antagonist and testosterone administration, *Cancer Research*, 48: 4354.
29- Pabla, N., S. Huang, Q.S. Mi, R. Daniel, Z. Dong (2008), ATR-Chk2 Signaling in p53 activation and DNA damage response during cisplatin-induced apoptosis. *Journal of Biology and Chemistry*, 283: 6572-6583.
30- Rosa, M.D., S. Zarrilli, L. Paesano, U. Carbone, B. Boggia, M. Petreta (2003), Traffic pollutants affect fertility in men. *Human Reproductive,* 18(5):1055-1061.
31- Sang-Won, P., L.bChan–Ho, S. Das-Hee (2006), Effect of SA1, aHerbal formulation, on sexual behavior and penile erection. *Biology Pharmaceutical Bulletin*, 29(7): 1383-6.
32- Sawhney, P., C.J. Giammona, M.L. Meistrich, J.H. Richburg (2005), Cisplatin induced longterm failure of spermatogenesis in adult C57/Bl/6J mice. *Journal of Andrology*, 26(1): 136-45.
33- Svetlana, G., K. Borislav, S. Veselina (2008), Effect of Tribulus terrestris extract on semen quality and serum total cholesterol content in White Plymouth Rock-mini cocks. *Biology and Biotechnology in Animal Husbandry*, 24(3-4): 139-146.
34- Ton, B.T., A.M. Snoswel, B.P. Setchell (1970), The concentration of carnitine in the luminal fluid of the testis and epididymis of the rat and other mammals.*Journal of Reproductive Fertility*,56:105–111.
35- Turner, P. (1988), Recent observations on drugs and human fertility. *Postgraduate Medical Journal*, 64: 578-580.
36- Tsukamoto, G., H. Ichikawa, M. Kobashi, Y. Yamada, T. Kikuchi, H. Mese, A. Sasaki (2007), Cisplatin-induced long-term dynorphin A-immune reactivity in cell somata of rat area postrema neurons. *Journal Neurosciences of Letter*, 424(2): 122-6.
37- Ward, J.A., J. Robinson, B.J. Furr, S.M. Shalet, I.D. Morris (1990), Protection of spermatogenesis in rats from the cytotoxic procarbazine by the depot formulation of Zoladex, gonadotropin-releasing hormone agonist. *Cancer Research,* 50: 568.
38- Wink, D.A., J.A. Cook, D. Christodoulou, M.C. Krishna, R. Pacelli, S. Kim, W. DeGraff, J. Gamson, Y.

Vodovotz, A. Russo (1997), *Nitric Oxide: Biology and Chemistry journal*,1:88-94.
39- Wozniak, K., A. Czechowska, J. Blasiak (2004), Cisplatin evoked DNA fragmentation in normal and cancer cells and its modulation by free radical scavengers and the tyrosine kinase inhibitor TI571. *Chemico-Biological International Journal*, 309-318.
40- Xu, Y.J., S.X. Xie, F. Zhao (2001), Studies on the chemical constituents from *T. terrestris*. *Yao Xue Xue Bao* , 36(10): 750-753.
41- Yakushiji, K., S. Kai, M. Yamauchi, M. Kuwajima, Y. Osada, K. Toshimori (2006), Expression and distribution of OCTN2 in mouse epididymis and its association with obstructive azoospermia in juvenile visceral steatosis mice. *International Journal of Urology* 13: 420-426.
42- Zare, Z., H. Eimani, M. Mohammadi, M. Mofid, H. Dashtnavard (2010), The effect of Orally Administered L-carnitine on Testis Tissue, Sperm Parameters and Daily Sperm Production in Adult Mice. *Yakhteh medical Journal*, 11(4): 382-389.