مقاله پژوهشی

تأثیر روغن گردو بر پارامترهای اسپرمی در موش‌های صحرایی تحت تیمار با بوسولفان

نویسندگان:

خاتون رضایی[1*]، حیدر آقابابا [1]، لادن صادقی[1]

۱- گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ارسنجان، ارسنجان، ایران

Pars Journal of Medical Sciences, Vol. 13, No.1, Spring 2015

چکیده:

مقدمه: اسپرماتوژنز فرآیندی بسیار پیچیده است که عوامل متعددی می‌تواند بر آن اثر کرده و منجر به ناباروری در مردان شود. مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر روغن گردو روی بهبود عوارض ناشی از بوسولفان بر پارامترهای اسپرمی موش‌های صحرایی انجام شد.

روش کار: در مطالعه حاضر ۳۲ سر موش صحرایی نر بالغ، با نژاد ویستار به‌طور تصادفی به چهار گروه شامل گروه‌های کنترل، بوسولفان (۱۵mg/kg) و دو گروه دریافت‌کننده بوسولفان + روغن گردو با دوز ۰/۱ و ۰/۲ سی‌سی به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن تقسیم شدند. بعد از ۴۸ روز میزان هورمون تستوسترون سنجیده شد و از لحاظ پارامترهای اسپرمی موردبررسی قرار گرفتند. در پایان داده‌ها با نرم‌افزار Spss ویرایش ۱۸ و آزمون تحلیل واریانس و آزمون تعقیبی دانکن تحلیل شدند.

یافته ها: نتایج نشانگر کاهش میزان تستوسترون، تعداد اسپرم، تحرک اسپرم ($P\leq ۰/۰۰۱$) و افزایش معنادار میانگین تعداد اسپرم با سر سنجاقی، دم مارپیچی، تعداد اسپرم‌های بی‌حرکت، تعداد اسپرم با حرکت درجا در گروه دریافت‌کننده بوسولفان نسبت به گروه کنترل بود ($P\leq ۰/۰۵$). میزان هورمون تستوسترون در گروه دریافت‌کننده بوسولفان+ ۰/۲ سی‌سی روغن گردو نسبت به گروه دریافت‌کننده بوسولفان تنها افزایش داشت، اما این افزایش معنادار نبود. میانگین تعداد اسپرم با حرکت درجا ($P\leq ۰/۰۵$) و بی‌حرکت در گروه‌های دریافت‌کننده روغن گردو نسبت به گروه بوسولفان کاهش داشت.

نتیجه‌گیری: بر اساس نتایج حاصل از این تحقیق روغن گردو به میزان زیاد سبب بهبود عوارض ناشی از بوسولفان بر میزان هورمون تستوسترون و برخی از پارامترهای اسپرمی می‌شود.

واژگان کلیدی: گردو، اسپرمی، بوسولفان، موش صحرایی

Par J Med Sci 2015;13(1):1-6

مقدمه:

ناباروری و مشکلات ناشی از آن به‌عنوان یکی از مهم‌ترین مسائل در زندگی بشر تلقی می‌شود که سلامت روانی فرد و اجتماع را تهدید می‌کند. بر اساس آمارهای موجود ۳۵ درصد از موارد ناباروری زوجین مربوط به مردان و ۲۵ درصد مربوط به هردو زوج است. شایع‌ترین علت ناباروری در مردان، ناتوانایی در تولید تعداد کافی اسپرم سالم و فعال است [۱،۲].

بر اساس مطالعات انجام‌شده روند پیچیده اسپرماتوژنز و گذر از سلول‌های ژرمینال تا رسیدن به مرحله بلوغ سلول‌های جنسی در گروی مصون ماندن از ضایعات پاتولوژیک و سیتوتوکسیکی است که این پدیده را مورد تهدید قرار می‌دهد [۳]. عوامل متعددی می‌توانند تولید اسپرم را تحت تأثیر قرار دهند. از این میان می‌توان به مصرف داروهای مخصوص شیمی‌درمانی سرطان‌ها، آنتی‌بیوتیک‌ها، مواد سمی، آفت‌کش‌ها، تشعشعات، استرس، آلودگی هوا و عدم دریافت کافی ویتامین‌ها اشاره کرد. مشخص‌شده است که این عوامل می‌توانند با تولید رادیکال‌های آزاد و اکسیداسیون سلول‌های ژرمینال جنسی در بافت بیضه غلظت اسپرم را کاهش دهند [۴،۵]. بوسولفان یکی از داروهای مورد استفاده در شیمی‌درمانی است که دارای خاصیت آلکیله کنندگی بوده و عموماً برای درمان لوسمی مزمن، سرطان تخمدان، و همچنین قبل از پیوند مغز استخوان در بیماران سرطانی استفاده می‌شود [۶،۷] این دارو جزء گروه مواد دی استرهای متان سولفونیک اسید و تحت عنوان ۴ و ۱ بوتان دی

* نویسنده مسئول، نشانی: ارسنجان، گاه آزاد اسلامی واحد ارسنجان ;گروه زیست‌شناسی

تلفن تماس: ۰۹۱۷۴۳۶۵۷۴۵ - ۰۷۱۴۳۵۲۲۶۲۴ پست الکترونیک:tamoradavodi@yahoo.com

دریافت: ۱۳۹۳/۱۱/۱۸ اصلاح: ۱۳۹۴/۲/۳۰ پذیرش:۱۳۹۴/۳/۱۷

متیل سولفونات می‌باشد [۸]. در مطالعه‌ای که توسط پناهی و همکاران در سال ۲۰۱۴ انجام شد مشخص شد تجویز بوسولفان درجات مختلفی از ناباروری را نشان می‌دهد [۹]. بنابراین جستجو برای یافتن روش‌هایی که از بروز ناباروری به دنبال تجویز بوسولفان بکاهد بسیار ضروری است.

گردو با نام علمی Juglans regia علاوه بر مصارف تغذیه‌ای کاربردهای فراوانی در طب سنتی [۱] از جمله درمان نارسایی وریدی، پروستات، فشارخون بالا [۱۰]، التهاب [۱۱] و دیابت [۱۲] دارد.

مطالعات اخیر نشان داده است که عصاره مغز گردو به دلیل داشتن ترکیباتی از جمله کوئرسیتین [۱۳]، آرژینین [۱۴] و آسپارتیک اسید [۱۵] که اثر تحریکی بر ترشح هورمون‌های آزادکننده گنادوتروپین و لوتئینی کننده دارند می‌تواند دارویی مؤثر بر قوای جنسی باشد. با توجه به موارد فوق، هدف از مطالعه حاضر بررسی اثر روغن گردو بر تعداد، مورفولوژی و تحرک اسپرم در موش‌های صحرایی تحت تیمار با بوسولفان است.

روش کار:

در این پژوهش، از ۳۲ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار با میانگین وزن ۱۰±۲۰۰ گرم استفاده شد. تمام حیوانات در دمای ۲±۲۲ درجه سانتی‌گراد با دسترسی آزاد به آب و غذا و در شرایط استاندارد ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی در مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم بیمارستان نمازی شیراز نگهداری شدند.

مطابق با راهنمای انستیتوی ملی سلامت و اصول اخلاقی مربوط به کار با حیوانات آزمایشگاهی در همه مراحل آزمایش موارد رعایت شد. حیوانات به‌طور تصادفی به چهار گروه هشت‌تایی شامل گروه کنترل (CON)، گروه دریافت‌کننده بوسولفان (BUS)، گروه دریافت‌کننده بوسولفان+ روغن گردو با دوز ۰/۱ سی‌سی به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدن (BUS+Juglanse1) و گروه دریافت‌کننده بوسولفان+ روغن گردو با دوز ۰/۲ سی‌سی به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدن (BUS+Juglanse2) تقسیم شدند. تزریق بوسولفان به‌صورت درون صفاقی و با دوز ۱۵ mg/kg به‌صورت دو بار تزریق و به فاصله ۱۴ روز انجام شد. سپس روغن گردو با دوز ۰/۱ و ۰/۲ سی‌سی به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدن به‌صورت روزانه و با روش گاواژ به مدت ۴۸ روز به موش‌ها خورانده شد.

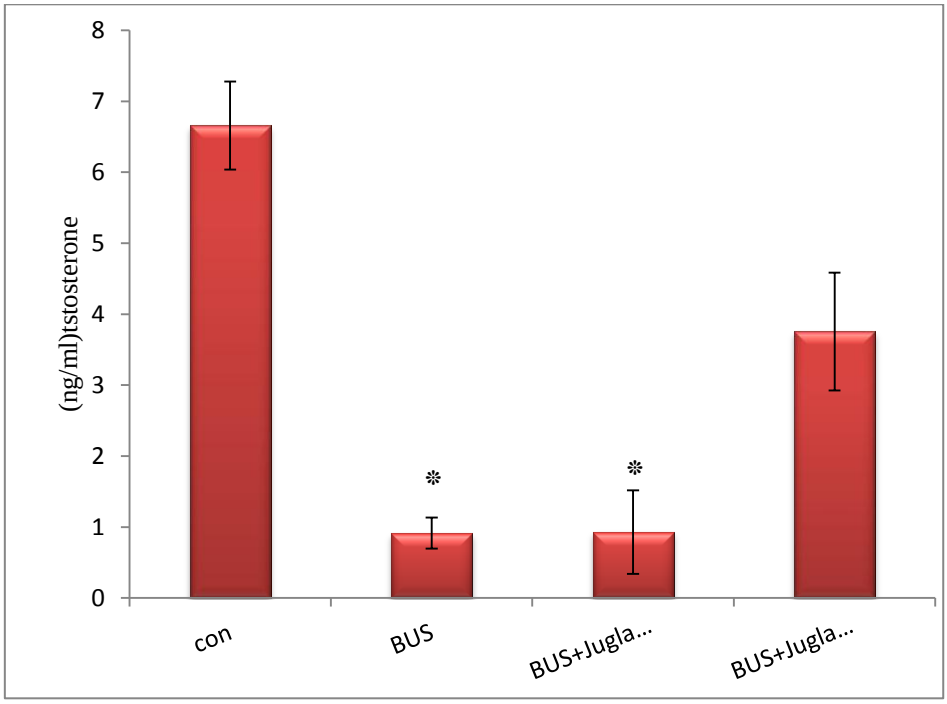
در پایان دوره تیمار، کلیه موش‌ها در جار بیهوشی حاوی پنبه آغشته به اتر بی‌هوش شده و مورد کالبدگشایی قرار گرفتند. برای مطالعه یک سانتی‌متر از ناحیه انتهایی اپیدیدیم، بلافاصله پس از خارج کردن از بدن، با قیچی استریل برش داده و در ۵ سی‌سی محلول ایزوتونیک بافر فسفات سالین به مدت ۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد نگهداری شدند. این زمان جهت خروج کامل اسپرم‌ها از مجرا در نظر گرفته‌شده بود. در این حال برای بررسی درصد تحرک اسپرم‌ها قطره‌ای از سوسپانسیون را روی لام گذاشته و به کمک میکروسکوپ نوری دوچشمی مجهز به دوربین (ساخت شرکت نیکون ژاپن) از ۵ میدان میکروسکوپی با بزرگنمایی ۴۰× فیلم‌برداری شد. با بازبینی این فیلم‌ها در رایانه حرکت اسپرم‌ها به‌صورت اسپرم با حرکت سریع جلو رونده، اسپرم با حرکت درجا و اسپرم‌های بی‌حرکت مورد شناسایی شدند. همچنین برای شمارش اسپرم‌ها مقدار ۱۰ میکرو لیتر از سوسپانسیون اسپرمی که طی مراحل قبل به‌دست‌آمده بود را روی لام نئوبار قرار داده و تعداد کل اسپرم‌ها شمارش شد [۱۶،۱۷].

به منظور بررسی مورفولوژی اسپرم، قطره‌ای از سوسپانسیون روی لام گذاشته و اسمیری از آن تهیه شد. سپس اسمیر در مخلوط اتر الکل ۹۶ درصد (۱:۱) تثبیت و با استفاده از رنگ ائوزین رنگ شد. اسمیر پس از خشک شدن با میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرار گرفت. همچنین سنجش تستوسترون با روش رادیوایمونواسی و با استفاده از کیت حیوانی سنجش تستوسترون (BioSource Testo RIA CT) انجام شد. در پایان برای تحلیل آماری داده‌ها از نرم‌افزار Spss (نسخه ۱۸) و آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی دانکن در سطح ($p\leq ۰/۰۵$) استفاده شد.

یافته ها:

میانگین غلظت هورمون تستوسترون (نمودار ۱)، تعداد اسپرم (جدول ۱، تصویر ۱) و تعداد اسپرم با حرکت سریع جلو رونده (جدول ۱) در گروه دریافت‌کننده بوسولفان کاهش معناداری نسبت به گروه کنترل نشان داد ($p\leq 0.001$). همچنین میانگین تعداد اسپرم با حرکت درجا (جدول ۱)، تعداد اسپرم بی‌حرکت (جدول ۱)، تعداد اسپرم با سر سنجاقی (جدول ۱، تصویر ۲) و تعداد اسپرم با دم مارپیچ (جدول ۱، تصویر ۳) در گروه دریافت‌کننده بوسولفان افزایش معناداری داشت ($p\leq 0.05$). در گروه دریافت‌کننده روغن گردو با دوز ۰/۱ سی‌سی به ازا هر ۱۰۰ گرم وزن بدن در پارامترهای فوق هیچ‌گونه تغییر معناداری نسبت به گروه دریافت‌کننده بوسولفان مشاهده نشد ($p\leq ۰/۰۵$)، اما در گروه دریافت‌کننده روغن گردو با دوز ۰/۲ سی‌سی به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدن، میانگین غلظت هورمون تستوسترون نسبت به گروه دریافت‌کننده بوسولفان افزایش‌یافته بود، اما این افزایش معنادار نبود و تفاوت معناداری هم با گروه

کنترل نداشت. همچنین میانگین تعداد اسپرم با حرکت درجا نسبت به گروه دریافت‌کننده بوسولفان کاهش معناداری داشت (p≤۰/۰۵). در گروه دریافت‌کننده روغن گردو با دوز ۰/۲ سی‌سی به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدن میانگین تعداد اسپرم‌های بی‌حرکت نسبت به گروه دریافت‌کننده بوسولفان کاهش‌یافته بود، اما این کاهش معنادار نبود.



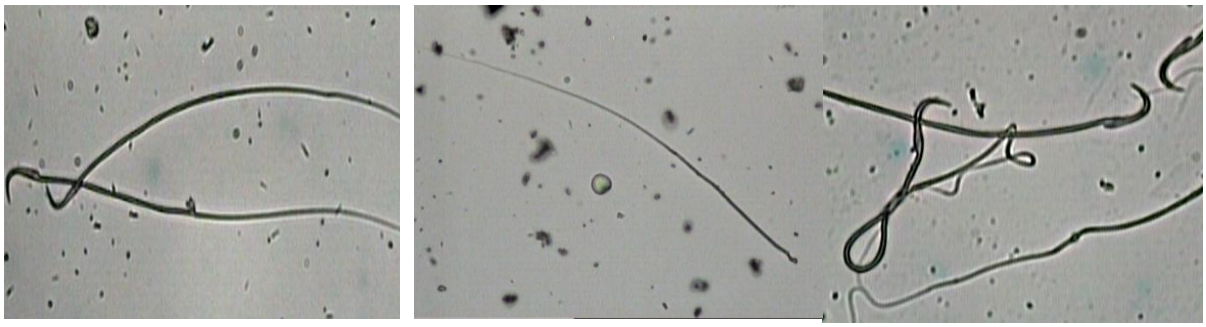
نمودار۱: نقاط به‌صورت Mean±S.D نشان داده شده است.

* نشان دهنده کاهش معنادار غلظت هورمون تستوسترون در گروه‌های دریافت‌کننده بوسولفان و گروه دریافت‌کننده بوسولفان+ روغن گردو با دوز ۱ سی‌سی به ازای هر صدگرم وزن بدن می‌باشد (P≤۰/۰۵)

جدول ۱: مقایسه نتایج مربوط به پارامترهای اسپرم

sperm parameters (Mean ±SD)						
Spiral tail sperms	Pin head sperms	Immotile sperms	Non Progressive sperms	Progressive sperms	Sperms count×10^4	Groups
4.5±1.6	1.8±0.3	40.9±6.9	11.5±1	12.9±1.7	5888±95.1	control
20.2±4.1*	54.3±2.2*	84±4.7*	1.3±0.3*	1.06±0.09*	5151.5±69*	Busulfan
20.8±2.1*	55.5±13*	71.3±8.8*	1.5±0.4*	1.3±0.4*	5281±126*	BUS+Juglanse1
15.7±2.9*	47.6±13.7*	54.9±14.7	1.4±0.5*	1.06±0.2*	5404±110*	BUS+Juglanse2

* نشان دهنده وجود تغییر معنادار نسبت به گروه کنترل در سطح (p≤0.05) می‌باشد.



تصویر۳: اسپرم با دم پیچ خورده
تصویر ۲: اسپرم سرسنجاقی (pin head)
تصویر ۱: اسپرم نرمال

بحث:

در مطالعه حاضر میانگین غلظت هورمون تستوسترون، تعداد اسپرم و تعداد اسپرم با حرکت سریع جلو رونده در گروه دریافت‌کننده بوسولفان کاهش معناداری نسبت به گروه کنترل نشان داد. بر اساس مطالعات بوجرد در سال ۱۹۹۵ و هوول در سال ۲۰۰۱ درمان با بوسولفان و سیکلوفسفامید مقادیر گنادوتروپین های FSH و LH را افزایش می‌دهد [۱۸،۱۹]. بنابراین کاهش غلظت هورمون تستوسترون به علت ایجاد یک سازوکار خودتنظیمی منفی به دنبال تزریق بوسولفان می‌باشد.

در مطالعه انجام‌شده توسط باعزم و همکاران در سال ۲۰۱۳ مشخص شد که بوسولفان سبب کاهش تعداد اسپرم، تعداد اسپرم با حرکت پیش‌رونده و افزایش تعداد اسپرم‌های بی‌حرکت و با حرکت درجا می‌شود [۲۰] که با نتایج تحقیق حاضر همخوانی دارد.

استفاده از داروهای آلکیله کننده در ۹۰–۱۰۰ درصد مردان منجر به نقص در تولید اسپرم می‌شود. در مطالعه‌ی که توسط اتیک در سال ۲۰۰۶ انجام شد مشخص شد که تجویز بوسولفان سبب القاء آپوپتوز در سلول‌های اسپرماتوگونی می‌شود [۲۱]. همچنین میستریچ و همکاران در مطالعه‌ای نشان دادند که بعد از استفاده از بوسولفان تعداد اسپرماتوگونی در حال تمایز کاهش می‌یابد [۲۰،۲۲]. چوی و همکاران در سال ۲۰۰۴ نشان دادند به دنبال درمان با بوسولفان مارکرهای MAK و Pad51 که در ترمیم DNA نقش دارند کاهش می‌یابند [۲۳]. بنابراین، با توجه به ایجاد آپوپتوز و کاهش سلول‌های زایا احتمالاً روند اسپرماتوژنز مختل شده و درنتیجه تعداد اسپرم‌ها کاهش می‌یابد.

در مطالعه حاضر در گروه دریافت‌کننده روغن گردو با دوز ۰/۲ سی‌سی، میانگین غلظت هورمون تستوسترون نسبت به گروه دریافت‌کننده بوسولفان افزایش‌یافته بود، که این افزایش معنادار نبود. آزمایش‌های نشان داده است که سطوح بالای آرژینین موجود در مغز گردو می‌تواند به نیتریک اکسید تبدیل شود. نیتریک اکسید با افزایش آزادسازی هورمون آزادکننده گنادوتروپین، آزادسازی گنادوتروپ ها را با فعال‌سازی آنزیم نیتریک اکسید سنتتاز نورونی در غده هیپوفیز زیاد می‌کند [۲۴،۲۵]. نیتریک اکسید آنزیم همچنین گوانیلات سیکلاز را که باعث آزادسازی گوانوزین مونوفسفات حلقوی می‌شود فعال کرده و باعث افزایش ترشح گنادوتروپین ها و بالا بردن تحرک اسپرم در مردان می‌شود.

آسپارتیک اسید نیز که از آمینواسیدهای موجود در مغز گردو است، اثر تحریکی روی ترشح هورمون‌های آزادکننده گنادوتروپین و لوتئینی کننده دارد [۲۶]. مطالعات نشان می‌دهد که این آمینواسید سنتز هورمون‌های لوتئینی کننده و تستوسترون را به‌واسطه گوانوزین مونو فسفات حلقوی و آدنوزین مونوفسفات حلقوی به‌عنوان پیامبرهای ثانویه به ترتیب در هیپوفیز و بیضه تنظیم می‌کند [۲۶].

علاوه بر این، مطالعات نشان داده است که گردو حاوی مقادیر زیادی اسیدهای چرب غیراشباع همچون اسید لینولنیک و اولئیک اسید می‌باشد که قادرند ۵ آلفا ردوکتاز را در سلول‌های محیط کشت و در سیستم فاقد سلول مهار کنند. ایزومرهای سیس اسید لینولنیک و اولئیک اسید در آزمایش‌های آنزیمی قدرت بالایی در مهار ۵ آلفا ردوکتاز از خود نشان داده‌اند و در نتیجه مانع تبدیل تستوسترون به دی هیدروتستوسترون شده و بدین طریق غلظت سرمی تستوسترون نیز توسط گردو افزایش می‌یابد [۲۷،۲۸]. همچنین میانگین تعداد اسپرم‌های بی‌حرکت، تعداد اسپرم با حرکت درجا، تعداد اسپرم با سر سنجاقی و تعداد اسپرم با دم مارپیچ در گروه دریافت‌کننده بوسولفان افزایش معناداری را نشان داد ($p\leq ۰/۰۵$). از طرفی، گروه‌های تحت تیمار با روغن گردو در کمیت‌های فوق تفاوت معناداری با گروه دریافت‌کننده بوسولفان نداشتند. مطالعات نشان داده است که استفاده از داروهای آزادکننده گنادوتروپین قبل از انجام شیمی‌درمانی حرکت پیش‌رونده اسپرم‌ها را افزایش می‌دهد و از طرف دیگر باعث کاهش اسپرم‌های ثابت می‌شود، اما استفاده از این داروها بعد از شیمی‌درمانی تأثیر معناداری بر حرکت اسپرم‌ها ندارد [۲۱]. بنابراین عدم‌تغییر معنادار پارامترهای فوق می‌تواند ناشی از مصرف این داروها بعد از شیمی‌درمانی باشد. از این رو پیشنهاد می‌شود که در مطالعات بعدی قبل از شروع شیمی‌درمانی، روغن گردو تجویز شود.

نتیجه‌گیری:

بر اساس نتایج حاصل از این تحقیق، روغن گردو در دوز بالا تا حدودی سبب افزایش هورمون تستوسترون در حیوانات تحت تیمار با بوسولفان می‌شود، اما بر پارامترهای اسپرمی تأثیر چندانی ندارد.

تشکر و قدردانی:

نویسندگان لازم می‌دانند که مراتب تشکر خود را از کلیه کارکنان مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم بیمارستان نمازی شیراز به‌ویژه آقای فرهاد کوه‌پیما که همکاری صمیمانه‌ای در انجام این پژوهش داشتند، اعلام دارند.

تعارض منافع:

نویسندگان هیچ‌گونه تعارض منافعی را اعلام نکردند.

References:

1. Jegou B, Auger J, Multinger L, et al.The saga of the sperm count decrease in humans, wild and farm animals. In: Gagnon C, editor. The Male Gamete, from Basic Science to Clinical Applications.USA: Cache River Press;1999: 445-54.
2. Khaki A, Fathiazad F, Nouri M, et al. The Effects of Ginger on Spermatogenesis and Sperm parameters of Rat. Iranian J Reprod Med 2009; 7(1):7-12.
Agarwal A, Prabakaran SA, Said TM. Prevention of 3. oxidative stress injury to sperm. J Androl 2005; 26(6): 654-60.
4. Aitken RJ. The Amoroso lecture. The human spermatozoon- a cell in crisis? J Reprod Fertil 1999; 115: 1–7.
5. Mosher WD , Pratt WF. Fecundity and infertility in the United States: incidence and trends. J Fertil Steril 1991; 56(2):192-3.
6. Anderson Ph O, Knoben JE, Troutman WG. Handbook of clinical data.10th Edition. New York, Mc Graw Hill 2002: 136-140.
7.Trevor AJ, Katzung BG, Masters SB. A long medical book Katzung & Trevors Pharmacology examination and board review. 6th Edition.New York, Mc Graw Hill;2002: 206-8.
8. Molenaar R, de Rooij DG, Rommerts FF, et al. Specific destruction of Leydig cells in mature rats after in vivo administration of ethane dimethyl sulfonate. Biol Reprod 1985; 33(5): 1213-22.
9. Panahi M, Karimaghai N. Rahmanifar F, et al. Stereological evaluation of testes in busulfan-induced infertility of hamster. Comp Clin Pathol Pathol 2015; 24(5): 1051-1056
10. Deirdre K, Frank B. Effects of walnut consumption on blood lipids and other cardiovascular risk factors: a meta-analysis and systematic review. Am J Clin Nutr 2009; 90 (1): 56-63.
11. Qadan F, Thewainni Aj, Ali DA, et al. The antimicrobial activities of psidium guajava and Juglans regia leaf extract to acne- developing organisms. J Chin Med 2005; 33 (2): 197–204.
12. Hajikhani R, Solati J. Effects of walnut alcoholic extract (juglans regia l.) septum on serum glucose, insulin and activities of aminotransferase enzymes. J Appl Chemical Res 2010; 12:17-23.
13. Amaral J S, Seabra R M, Andrade PB. Phenolic profile in the quality control of walnut (Juglans regia L.) leaves. Food Chem 2004; 88: 373 – 379.
14. Ruggeri S, Cappelloni M, Gambelli L, et. Chemical composition and nutritive value of nuts grown in Italy. Italian J Food Sci 1996; 3. 243-252.
15. D'Aniello A. D-aspartic acid: An endogenous amino acid with an important neuroendocrine role. Brain Res Rev 2007; 53 (2): 215-234.
16. Seed J, Chapin RE, Clegg ED, et al. Methods for assessing sperm motility, morphology, and counts inthe rat, rabbit,and dog:a consensus rep ort. ILSI Risk Science Institute Expert Working Group on Sperm Evaluation. Reprod Toxicol 1996;10(3):237-44.
17.Chapin RE1, Filler RS, Gulati D, et al. Methods for assessing rat sperm motility. Reprod Toxicol 1992;6(3):267-73.
18.Boujrad N, Hochereau-de Riviers MT, Kamtchouing P, et al. Evolution of somatic and germ cell populations after busulfan treatment in utero or neonatal cryptorchidism in the rat. Andrologia 1995; 27(4):223-8.
19.Howell SJ, Shalet SM. Spermatogenesis after cancer treatment: damage and recovery. J Natl Cancer Inst Monogr 2005; (34):12-17.
20.Baazm M, Darabi MR, Babaei S. Improvement in sperm parameters after using gonadotropinreleasing hormone analogue in busulfan treated prepubertal mice. Arak Med Univ J (AMUJ) 2013; 16(79): 11-18.
21.Ateeq B, Farah MA, Ahmad W. Evidence of apoptotic effects of 2,4-D and butachlor on walking catfish, clarios batrachus, by transmission electron microscopy and DNA degradation studies. Life Sci 2006; 78 (9):977-86.
22.Meistrich ML, Kangasniemi M. Hormone treatment after irradiation stimulates recovery of rat spermatogenesis from surviving spermatogonia. J Androl 1997;18(1):80-7.
23.Choi YJ, Ok DW, Kwon DN, et al. Murine male germ cell apoptosis induced by busulfan treatment correleates with loss of c-kitexpression in a Fas/FasL-and P53-independent manner. FEBS Lett 2004; 575(1-3):41-51.
24. González LC, Pinilla L, Tena-Sempere M, et al. Effects of systemic blockade of nitric oxide synthases on pulsatile lh, prolactin, and GH secretion in adult male rats. Horm Res 2001; 55(5): 229-235.
25. Davies M G, Fulton G, Hagen PO. Clinical biology of nitric oxide. Brit J Sur 1995; 82 (12): 1598–1610.
26.Pampillo M, Scimonelli T, Bottin MC, et al. The effect of D-aspartate on luteinizing hormone-releasing hormone, α-melanocyte-stimulating hormone, GABA and dopamine release. Neuroreport 2002; 13 (17): 2341-2344.
27.Lang T, Liao S. Inhibition of steroid 5x-reductase by specific aliphatic unsaturated fatty acids. Biochem J 1992; 285(2): 557–562.
28.Mokhtari M, Abedinzade M, Naseran N. Effect of walnut extract on serum LH, FSH and testosterone levels in adult male rat. J Ardabil Univ Med Sci 2012; 12(2),157-167.

Original Article

The effects of Walnut oil on sperm parameters in rats treated with Busulfan

Rezaei Khaton[1*], Aghababa Heydar[1], Sadeghi Ladan[1]

Received:2/7/2015 Revised:5/20/2015 Accepted: 6/7/2015

2.Dept of Biology, Islamic Azad University of Arsanjan, Arsanjan, Iran

Pars Journal of Medical Sciences, Vol. 13, No.1, Spring 2015

Par J Med Sci 2015;13(1):1-6

Abstract

Introduction:
Spermatogenesis is a complex process affected by different factors that can cause male infertility. The present study was conducted to investigate the improving effect of walnut oil on the complications of Busulfan therapy on sperm parameters in rats.

Materials and Methods:
This study was conducted on 32 adult male Wistar rats randomly divided into a control group, a Busulfan group (15mg/kg) and two other groups that received Busulfan + walnut oil at 0.1 cc and 0.2 cc doses per 100 g of body weight. The rats' testosterone levels were measured after 48 days of treatment and their sperm parameters were then examined. The data obtained analyzed in SPSS-18 using Duncan's post-hoc test and the ANOVA.

Results:
The results obtained revealed a significant decrease in testosterone levels, sperm count and sperm motility ($p \leq 0.001$) and an increase in the main sperm count for pinhead, spiral tail, immotile and non-progressively motile sperm in the Busulfan group compared to in the control group ($p<0.05$). Testosterone levels also increased in the group receiving Busulfan + 0.2 cc of walnut oil compared to the group receiving only Busulfan, although not significantly. The average count for the non-progressively motile and the immotile sperms also decreased in the two groups receiving walnut oil compared to in the Busulfan group.

Conclusion:
According to the results obtained, the intake of walnut oil in large doses helps reduce the side effects of Busulfan on testosterone levels and some sperm parameters.

Keywords: Walnut, sperm, Busulfan, Rats

* Corresponding author, Email: tamoradavodi@yahoo.com