

Effect of pumpkin extract regimen on testicular structure and serum biochemical parameters in cyclophosphamide-treated adult rats

Mohammadi F¹, Nikzad H^{1*}, Taghizadeh M², Moravveji SA³

1- Anatomical Sciences Research Center, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I. R. Iran.
2- Research Center for Biochemistry and Nutrition in Metabolic Disorders, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I. R. Iran.
3- Trauma Research Center, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I. R. Iran.

Received April 19, 2012; Accepted September 9, 2013

Abstract:

Background: The aim of this study was to examine the effect of pumpkin extract regimen on testicular structure and serum biochemical parameters in cyclophosphamide (CP)-treated adult rats.

Materials and Methods: In this experimental study, 40 adult male Wistar rats (250-300 g) were allocated into 4 groups (n=10). The first group (control) received a single-dose of saline (1 ml); the second group a single dose of CP (100 mg/kg body weight); the third and fourth group pumpkin extract (300 and 600 mg orally, respectively) for 6-week after CP. Histological and morphological structures of the testis, malondialdehyde (MDA), reactive oxygen species (ROS), the antioxidant and testosterone levels in serum were evaluated in different groups.

Results: Findings of this study showed that the number of germ cells and epithelium thickness in seminiferous tubules were decreased in the CP group compared to the control ($P<0.001$). These variables increased in the pumpkin extract group compared to the CP group ($P<0.001$). Pumpkin extract (300 and 600 mg/kg) increased the antioxidant and ROS levels in serum compared to the control and CP groups, respectively ($P<0.05$).

Conclusion: Pumpkin extract (300 mg/kg) has an antioxidant activity and thus can reduce the adverse effects of CP in testis.

Keywords: Pumpkin, Cyclophosphamide, Testis, Rat

* Corresponding Author.

Email: nikzad_h@kaums.ac.ir

Tel: 0098 913 161 6689

Fax: 0098 361 562 115

Conflict of Interests: No

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences November, 2013; Vol. 17, No 5, Pages 438-446

Please cite this article as: Mohammadi F, Nikzad H, Taghizadeh M, Moravveji SA. Effect of pumpkin extract regimen on testicular structure and serum biochemical parameters in cyclophosphamide-treated adult rats. *Feyz* 2013; 17(5): 438-46.

اثر رژیم غذایی حاوی عصاره‌ی تخم کدو بر روی بیضه و پارامترهای بیوشیمیایی سرم خون موش‌های صحرایی بالغ تیمار شده با سیکلوفسفامید

فروزان محمدی^۱، حسین نیکزاد^{*۲}، محسن تقی‌زاده^۳، سید علیرضا مروجی^۴

خلاصه:

سابقه و هدف: این مطالعه با هدف بررسی تأثیر مصرف رژیم غذایی حاوی عصاره‌ی تخم کدو بر ساختار بیضه و پارامترهای بیوشیمیایی سرم خون موش‌های صحرایی بالغ تیمار شده با سیکلوفسفامید اجرا گردید.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی ۴۰ سر موش بالغ نژاد ویستار با وزن ۲۵۰-۳۰۰ گرم به ۴ گروه ۱۰ تابی تقسیم شدند. گروه اول (دارونما): موش‌های سالم دریافت کننده ۱ میلی‌لیتر نرمالین سالین. گروه دوم: سیکلوفسفامید با یک دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بر وزن بدن، و گروه‌های سوم و چهارم: دوزهای ۳۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در روز، عصاره تخم کدو را به صورت خوارکی و آشته با غذا به مدت ۶ هفته بعد از تزریق داروی سیکلوفسفامید با همان دوز به صورت تزریق داخل صفاقی دریافت کردند. ساختارهای بافت‌شناسی و مورفو‌لولژیک بیضه‌ها و هم‌چنین فاکتورهایی مانند MDA، ROS، سطح آنتی‌اکسیدان و تست‌وترون در سرم خون موش‌ها مورد ارزیابی قرار گرفتند.

نتایج: تعداد سلول‌های جرم و ضخامت اپی‌تلیوم در لوله‌های منی‌ساز در گروه تیمار شده با سیکلوفسفامید در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌داری ($P < 0.001$) نشان دادند. این متغیرها در گروه دریافت کننده عصاره تخم کدو در مقایسه با گروه تیمار شده با سیکلوفسفامید به طور معنی‌داری افزایش یافت ($P < 0.001$). تخم کدو با دوزهای ۳۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سطح آنتی‌اکسیدان و ROS را در مقایسه با گروه‌های کنترل و تیمار شده با سیکلوفسفامید به ترتیب افزایش داد ($P < 0.05$).

نتیجه‌گیری: مطالعه حاضر نشان داد که تخم کدو با دوز ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در روز دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی است و عوارض جانبی داروی سیکلوفسفامید بر روی پارامترهای بیضه موش‌های صحرایی را کاهش می‌دهد.

واژگان کلیدی: تخم کدو، سیکلوفسفامید، بیضه، موش صحرایی

دو ماهنامه علمی-پژوهشی فیض، دوره هفدهم، شماره ۵، آذر و دی ۱۳۹۲، صفحات ۴۴۶-۴۳۸

سیکلوفسفامید دارای یک عامل آلکیله کننده سمی بوده و به عنوان یک داروی ضد سرطان قوی در درمان سرطان‌های مختلف مثل لوسمی و لفوم هوچکین استفاده می‌شود. این دارو هم‌چنین دارای اثرات سرکوب کننده سیستم ایمنی در پیوند اندام‌ها و بیماری‌های خودایمنی مانند لوپوس اریتماتوز و MS می‌باشد [۳]. تصور می‌شود هدف اصلی از فعالیت ضد سرطانی این دارو باشد DNA باشد [۴]. البته سلول‌های اسپرماتوژنیک نیز به دلیل فعالیت تقسیم میتوزی بالایشان مورد هدف این دارو قرار می‌گیرند [۵]. دانشمندان معتقدند که اساس بیوشیمیایی سمیت سیکلوفسفامید مربوط به تولید رادیکال‌های آزاد و گونه‌های اکسیژن فعال در بافت‌ها می‌باشد که هرگاه به مقدار زیادی تولید شود، موجب تکه تکه شدن DNA و از دست رفتن عملکرد طبیعی اسperm در ارتباط با آسیب پراکسیداتیو به میتوکندری و غشاء اسperm می‌شود [۵]. اخیرا در چندین مطالعه گزارش شده است که تعدادی از داروهای گیاهی تاثیرات مثبتی بر پارامترهای اسperm دارند [۶]. استفاده از گیاهان دارویی در میان مردم از زمان‌های باستان معروف بوده و در سال‌های اخیر نیز به استفاده از آنها توجه خاصی شده است [۸,۷]. گیاهان دارویی به خصوص گیاهان غنی از ترکیبات پلی‌فنولی و

مقدمه

با توجه به شیوع فراوان انواع سرطان‌ها و نیاز به درمان این بیماری، امروزه انواع مختلفی از داروهای شیمی درمانی مانند سیکلوفسفامید، سیس پلاتین، وین کریستین، و وین بلاستین استفاده می‌شوند و برای اولین بار، آسیب‌های بیضوی ایجاد شده توسط داروهای شیمی درمانی در انسان در سال ۱۹۴۸ گزارش شدند که در ۲۷ تا ۳۰ درصد از بیمارانی که با این داروها درمان شده بودند، آزواسپرمیا، اولیگوزواسپرمیا، تغییرات بافتی و بیوشیمیایی در بیضه و اپیدیدیم و اختلال در ترشح گنادوتروپین مشاهده گردید [۲,۱].

^۱ کارشناس ارشد علوم تشریح، مرکز تحقیقات علوم تشریح، دانشگاه علوم پزشکی کاشان

^۲ دانشیار، مرکز تحقیقات علوم تشریح، دانشگاه علوم پزشکی کاشان
^۳ استادیار، مرکز تحقیقات بیوشیمی و تغذیه در بیماری‌های متابولیک، دانشگاه علوم پزشکی کاشان

^۴ دانشیار، مرکز تحقیقات تروما، دانشگاه علوم پزشکی کاشان

*^۵ نشان نویسنده مسئول؛
کاشان، کیلومتر ۵ بلوار قطب راوندی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، مرکز تحقیقات علوم تشریح

تلفن: ۰۹۱۳۱۶۱۶۸۹، دوچرخه‌سوار: ۰۳۶۱۵۶۲۱۱۵

پست الکترونیک: nikzad_h@kaums.ac.ir

تاریخ پذیرش نهایی: ۹۲/۶/۱۸ تاریخ دریافت: ۹۲/۱/۳۱

بنابراین، تحقیق حاضر با هدف بررسی اثر رژیم غذایی حاوی عصاره‌ی تخم کدو بر روی بیضه موش‌های صحرایی بالغ تیمار شده با سیکلوفسفامید انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

حیوانات: ۴۰ سر موش بالغ و سالم ۸ هفتاهی نژاد ویستار با وزن ۲۵۰-۳۰۰ گرم از مرکز پرورش حیوانات دانشگاه علوم پزشکی کاشان تهیه شده و در قفس‌های سیمی و تحت شرایط نوری (۱۲ ساعت روشایی، ۱۲ ساعت تاریکی) در دمای اتاق 25 ± 2 درجه سانتی‌گراد و رطوبت ثابت (55 ± 5 درصد) برای حداقل یک هفته قبل از آزمایش نگهداری شدند و تا پایان آزمایش این شرایط حفظ شد. قفس‌های حیوانات تمیز نگهداری شده و غذا و آب به طور منظم و روزانه داده شد. همه آزمایشات با توجه به اصول اخلاقی پژوهش بر روی حیوانات آزمایشگاهی مصوب کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی کاشان، اجرا گردید. موش‌ها به طور تصادفی به ۴ گروه ۱۰ تایی تقسیم شدند. گروه اول (دارونما): موش‌های سالم که معادل ۱ میلی‌لیتر نرمال سالین به صورت تزریق درون صفاتی دریافت کردند. گروه دوم: این گروه با سیکلوفسفامید با یک دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بر وزن بدن به صورت داخل صفاتی تیمار شدند. گروه سوم و چهارم: دوزهای ۳۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در روز عصاره تخم کدو را به صورت خوراکی و آغشته با غذا به مدت ۶ هفته بعد از تزریق داروی سیکلوفسفامید دریافت کردند.

نحوه تهییه عصاره‌ی تخم کدو: ابتدا تخم کدوی کاغذی بومی تهیه شد و توسط کارشناس کشاورزی از نظر گونه (*Cucurbita pepo con*) و واریته تایید گردید. سپس آسیاب گردیده و با حال هگزان با نسبت ۵۰ درصد آب در داخل قیف دکانتور ریخته شد. پس از ۱۲ ساعت تماس حلال با تخم کدو فاز روغنی حلال همراه با آب از طریق شیر قیف خارج شده و پسماند روغن‌گیری شده برای عصاره‌گیری در داخل پرکولاتور ریخته شد. سپس، به میزان لازم حلال (الکل ۶۰ درجه) روی آن ریخته شد تا تمام سطح تخم کدوی روغن‌گیری شده را بگیرد. به مدت ۷۲ ساعت حلال با تخم کدو تماس داشت. سپس، با فیلتر کردن مخلوط توسط کاغذ صافی با نسبت ۱ به ۱، عصاره‌ی هیدرولالکلی جدا شد.

نحوه آماده سازی رژیم غذایی: غذای آماده شده موش‌ها (شرکت بهپور) خریداری و آسیاب شد و پس از آسیاب شدن به صورت پودر شده با دوز موردنیاز عصاره تخم کدو مخلوط گردید. عصاره تخم کدو به آرامی به غذای آسیاب شده اضافه

فلاونوئیدها با دارا بودن خاصیت آنتی‌اکسیدانی و با توجه به اینکه ظرفیت‌های اهداء هیدروژن و رسوب دادن یون‌های فلزی را دارند به عنوان عامل حفاظتی در مقابل داروهای شیمی درمانی در نظر گرفته شده‌اند [۹]. ترکیبات فنولی از طریق جاروب کردن رادیکال‌های آزاد و افزایش سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدان میزبان دارای اثرات حفاظتی ثابت شده‌ای در مقابل عوارض تخریبی ژنو- توکسیک سلطان‌زاها هستند [۱۱،۱۰]. بیان شده است که عوامل شیمی درمانی قادر هستند از طریق جاروب کنندگی رادیکال‌های آزاد، ممانعت از شکل‌گیری متabolیت‌های سلطان‌زای واکنشی، القاء آنزیم‌های سمزدای سلطان‌زا و موثر بر آپوپتوز و نیز مهار تکثیر سلولی اثرات‌شان را اعمال کنند [۱۲]. شواهد زیادی وجود دارد که برخی ترکیبات گیاهی مانند ویتامین‌ها، فلاونوئیدها، پلی- فنول‌ها، کاروتونوئیدها، کاتچین و استرتوئیدهای گیاهی می‌توانند به عنوان مهار کننده‌های موتاژنیک عمل کنند [۱۰،۱۱]. از طرف دیگر درمان‌های جایگزین مانند گیاهان دارویی در مقایسه با دیگر روش‌ها کمتر تهاجمی بوده و از لحاظ اقتصادی نیز مقرون به صرفه هستند. ارزش غذایی بالای تخم کدو و نیز توانایی آن در جلوگیری و درمان بیماری‌های پرستات و ناتوانی جنسی مردان در فرهنگ‌های مختلف پذیرفته شده است [۱۳]. دانه و روغن دانه تخم کدو منابع غنی از پروتئین‌ها، فیتاسترول‌ها، اسیدهای چرب غیر اشباع چندگانه شامل لینولنیک، لینولنیک، ویتامین‌ها (E.A) و آنتی‌اکسیدان‌ها مانند کاروتونوئیدها، لوئین، توکوفرول، گاما، کلروفیل و عناصری مثل روی و سلیوم هستند [۱۴،۱۵]. تخم کدو فقط منبع غنی از روی نیست و حاوی مواد معدنی و ویتامین‌های دیگری مثل منیزیوم، آهن، کلسیم، فسفر، ویتامین A، B، E و فولیک اسید می‌باشد که همگی برای اسپرماتوژن طبیعی لازم هستند [۱۳]. بیان شده است که ویتامین A از پراکسیداسیون لیپیدی در بیضه‌ها جلوگیری می‌کند و موجب بهبود اسپرماتوژن و گسترش تمایز ساختاری سلول‌های اپی‌تیال اپیدیدیم می‌شود [۱۶]. همچنین، نشان داده شده است که جذب عصاره تخم کدو با کاهش عالیم هیپرتروفی خوش خیم پرستات همراه است [۱۷،۱۸]. Abd El-Ghany و همکارانش گزارش کرده‌اند که دانه، عصاره و روغن تخم کدو در بهبود توانایی تولید مثلی موش‌های صحرایی نر اهمیت زیادی دارند. همچنین، مصرف این گیاه را در رژیم غذایی روزانه با هدف کاهش عوارض جانی آلودگی با سرب و وضعیت جنسی مطلوب پیشنهاد می‌نمایند [۱۴]. اگرچه در حال حاضر اثرات مثبت تخم کدو بر روی باروری پذیرفته شده است ولی تاکنون نقش حفاظتی عصاره‌ی تخم کدو بر روی پارامترهای بیضه بعد از درمان با سیکلوفسفامید روش نشده است.

توسط دستگاه ELISA Reader مدل 2100 اندازه گیری شد.

مطالعات بافت شناسی: بیضه‌ها به دقت تشريح شده و تمام چربی آنها زدوده گردید. وزن بیضه با یک ترازوی حساس اندازه گیری شد. بیضه چپ در فیکساتیو بوئن به مدت ۴۸ ساعت قرار داده شد و بعد از گذشت ۱۲ ساعت به ۳ قسمت مساوی تقسیم شد و قسمت میانی آن جهت فرایند آماده‌سازی بافت و تهیه بلوک‌های پارافینی استفاده گردید. توسط میکروتوم برش‌های ۵ میکرومتر تهیه شده و سپس لام‌ها با هماتوکسیلین-ائوزین رنگ-آمیزی شدند و با میکروسکوپ نوری تحت بررسی کیفی و کمی قرار گرفتند. برای شمارش سلول‌های مجاری منی‌ساز، ۵ برش به صورت تصادفی و از هر برش، ۲ مجرای منی‌ساز در هر بیضه که در مراحل VII و VIII سیکل سلولی بودند و مقطع کاملاً گرد داشتند، مورد مطالعه قرار گرفتند [۲۰]. شمارش سلولی با استفاده از میکروسکوپ نوری زایس دارای عدسی چشمی با درشت‌نمایی ۴۰× انجام شد. در هر مجزا سلول‌های اسپرماتوگونیا، اسپرماتوسیت اولیه، اسپرماتیدهای گرد و طویل شده و سلول‌های سرتولی شمارش شده و پس از تعیین میانگین سلول‌های فوق در مجاری یک گروه با سلول‌های گروه دیگر مورد مقایسه قرار گرفت. برای اندازه گیری قطر مجاری منی‌ساز، ضخامت اپیتلیوم و قطر لومن نیز از میکروسکوپ نیکون مدل Eclipse Ti-S دارای Camera با بزرگنمایی ۱۰× استفاده شد. روش مطالعه بدین ترتیب بود که ۳۰ مجرای منی‌ساز (۵ مقطع و از هر مقطع ۶ لوله) با مقطع گرد یا نزدیک به گرد در هر بیضه اندازه گیری شد [۲۱].

داده‌ها به صورت $\bar{X} \pm SD$ نمایش داده شد و آنالیزهای آماری با استفاده از آزمون ANOVA و تست‌های تعقیبی Tukey و Dunnett T3 انجام شد. برای بررسی نرمالیتی داده‌ها نیز از آزمون کولموگروف اسمرنوف استفاده گردید. مقادیر $P < 0.05$ از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج

ریزش موها و کاهش اشتها (متوسط غذای روزانه ۸ گرم به جای ۱۶ گرم) در ۵ روز اول بعد از تجویز دارو در موش‌هایی که با داروی سیکلوفسیمید تیمار شدند، مشاهده گردید. هم‌چنین، ایجاد واکنش‌هایی در اپیتلیوم لوله‌های منی‌ساز و ریختن سلول‌های چرم به داخل لومن، ویژگی‌های دیگر گروه تیمارشده با سیکلوفسیمید بود (شکل شماره ۱). گروه کنترل ظاهر بافت شناسی طبیعی لوله‌های منی‌ساز و تعداد نرمال سلول‌ها را در لوله

گردید تا به شکل خمیر درآمد. سپس، روی سینی‌های فلزی را با کاغذ صافی پوشانده و خمیر را پهن کردیم و با استفاده از خط کش به صورت پلیت‌هایی 3×3 سانتی‌متر درآورده و داخل آون با دمای ۵۰ درجه قرار دادیم تا خشک شد. بعد از ۲۴ ساعت غذایی خشک شده را به مدت ۲ ساعت در دمای اتاق قرار دادیم تا سرد شد. این غذا برای یک هفته تهیه گردید و در یخچال نگهداری شد. زمانی که داروی سیکلوفسیمید تزریق شد به دلیل کاهش اشتها میزان دریافت غذایی حیوانات در ۵ روز اول حدود ۸ گرم بود، در حالی که در شرایط معمولی میزان دریافت غذا برای هر موش ۱۷-۱۵ گرم بود که بر این اساس عصاره تخم کدو مبنی بر دوز بر کیلوگرم تنظیم گردید.

جمع‌آوری نمونه‌ها: در موش‌ها حداکثر سمیت بیضوی ناشی از داروی سیکلوفسیمید در عرض ۲ هفته بعد از تزریق دارو با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بر وزن بدن آشکار می‌گردد [۳]. از آنجایی که دوره‌ی اسپرماتوژن در موش‌ها تقریباً ۴۸ روز است [۱۹]، در این مطالعه حیوانات ۶ هفته بعد از تزریق دارو با اتر بیهوش و سپس وزن شدند. پس از ایجاد برش روی قفسه سینه و شکم ابتدا از قلب آنها خون‌گیری به عمل آمد. خون جمع‌آوری شده از بطن چپ قلب بلا فاصله در لوله‌های آزمایش ریخته شد و به منظور جدا کردن سرم، در دستگاه ساتریفیوژ با دور ۳۰۰۰ RPM به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شد. سپس، بیضه‌ها برداشته شد.

مطالعات بیوشیمیابی: نمونه‌های سرم تا زمان بررسی در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. برای بررسی MDA، ROS و آنتی‌اسیدان و هورمون تستوسترون از کیت‌های ELISA خریداری شده از شرکت Glory Science از تکنیک (روش ساندویچ) استفاده گردید و مراحل آزمایش بر طبق کاتالوگ هر کیت انجام شد. به طور خلاصه، برای هر کیت محلول‌های استاندارد آماده گردید و به پلیت ۹۶ چاهکی اضافه شد. در ابتدا آنتی‌بادی اولیه، سرم خون و سپس آنتی‌بادی ثانویه یه چاهک‌ها اضافه شدند. آنتی‌بادی‌ها در ته چاهک‌ها coat شده گردید و سپس آنتی‌بادی دوم نشاندار شده با استریتوآویدین HRP اضافه شد و به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. پلیت شسته شد و محلول‌های رنگ‌زا اضافه شد و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. در نهایت محلول متوقف کننده اضافه شد تا واکنش متوقف شود که در این مرحله رنگ از آبی به زرد تغییر کرد. بعد از اضافه کردن محلول متوقف کننده، جذب نوری در طول موج ۴۵۰ نانومتر

اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت اولیه، اسپرماتیدهای گرد و طویل شده و سرتولی نسبت به گروه سیکلوفسفامید افزایش معنی داری را نشان داد ($P < 0.001$) و در گروه تخم کدو با دوز ۶۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم افزایش معنی داری در تعداد سلول های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت اولیه، و اسپرماتید نسبت به گروه سیکلوفسفامید مشاهده گردید ($P < 0.001$) (جدول شماره ۲). همچنان، تفاوت معنی داری در وزن بیضه حیوان در بین گروه های مختلف مشاهده نشد (جدول شماره ۲). در بررسی پارامترهای بیوشیمیایی نیز گروه تخم کدو با دوز ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم از نظر میزان آنتی اکسیدان، افزایش معنی داری را در مقایسه با گروه های کنترل و سیکلوفسفامید نشان داد ($P < 0.05$) و میزان ROS هم در گروه تخم کدوی ۶۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم به طور معنی داری افزایش یافت ($P < 0.05$) (جدول شماره ۳).

های منی ساز نشان داد (شکل شماره ۲). در گروه های دریافت کننده تخم کدو نیز افزایش تعداد سلول ها در لوله های منی ساز بیضه، افزایش تعداد مراحل ۷، ۸ و تجمع اسپرم ها داخل لومن لوله های منی ساز مشاهده گردید (شکل شماره ۳). در بررسی نتایج مورفومنتریک، ضخامت اپیتلیوم لوله های منی ساز در گروه های تخم کدو در مقایسه با گروه سیکلوفسفامید افزایش معنی داری را نشان داد ($P < 0.001$). همچنان، ضخامت اپیتلیوم در گروه سیکلوفسفامید به طور معنی داری کاهش یافت ($P < 0.001$). در بررسی قطر لوله و لومن تفاوت معنی داری در گروه های مختلف مشاهده نگردید (جدول شماره ۱). در بررسی تعداد سلول های جرم به طور موش های تیمار شده با سیکلوفسفامید تعداد سلول های جرم به طور معنی داری کاهش یافت ($P < 0.001$). در بیضه موش ها در گروه تخم کدو با دوز ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم تعداد سلول های

جدول شماره ۱- تاثیر تجویز عصاره تخم کدو بر پارامترهای بافت شناسی در لوله های منی ساز بیضه موش های صحرایی تیمار شده با سیکلوفسفامید

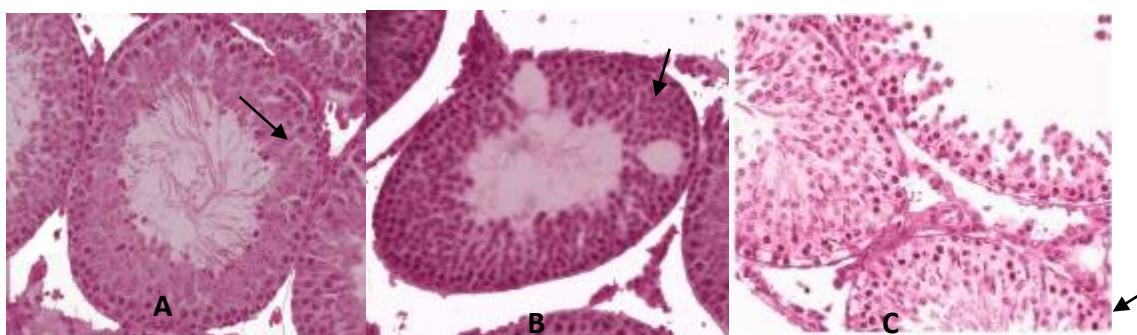
<i>P</i>	تخم کدو ۶۰۰		تخم کدو ۳۰۰		سیکلوفسفامید		کنترل		گروه ها	
	$\bar{X} \pm SD$	متغیر								
۰/۰۵۹	۲۶۵/۶۴±۱۷/۵۴		۲۶۳/۱۰±۱۱/۶۱		۲۷۰/۸۰±۱۹/۸۱		۲۸۶/۲۰±۱۳/۷۴		قطر لوله (میکرون)	
<۰/۰۰۱	۱۴۴/۷۵±۳/۴۱		۱۴۹/۱۹±۵/۲		۱۳۱/۱۶±۶/۶۰		۱۵۲/۷۸±۸/۱۴		ضخامت اپیتلیوم (میکرون)	
۰/۲۷۴	۱۲۷/۵۰±۱۷/۱۶		۱۱۳/۳۰±۹/۳۲		۱۳۹/۶۴±۱۸/۲۱		۱۳۳/۴۲±۷/۴۷		قطر لومن (میکرون)	

جدول شماره ۲- تاثیر تجویز عصاره تخم کدو بر پارامترهای وزن بیضه و تعداد سلول های زایا و سرتولی در لوله های منی ساز بیضه موش های صحرایی تیمار شده با سیکلوفسفامید

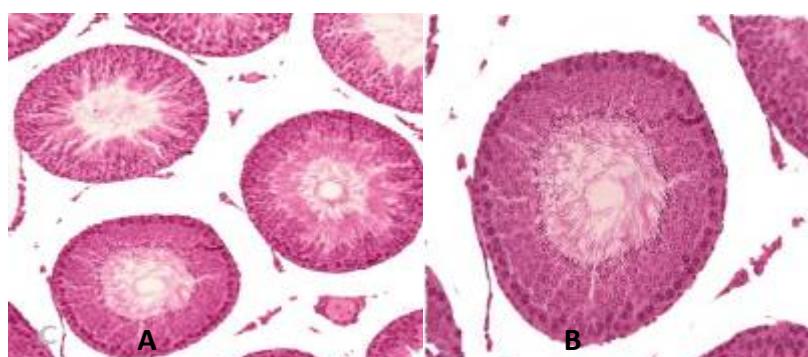
<i>P</i>	تخم کدو ۶۰۰		تخم کدو ۳۰۰		سیکلوفسفامید		کنترل		گروه ها	
	$\bar{X} \pm SD$	متغیر								
۰/۹۸	۱/۳۲±۰/۱۷۱		۱/۳۴±۰/۱۰۵		۱/۳۱±۰/۰۷۰		۱/۳۲±۰/۳۲۰		وزن بیضه (گرم)	
<۰/۰۰۱	۷۰/۹۵±۴/۴۹		۷۸/۹۳±۴/۰۱		۵۱/۵۰±۳/۴۱		۶۳/۱۵±۸/۱۵		اسپرماتوگونیا (تعداد)	
<۰/۰۰۱	۷۷/۹۰±۴/۸۵		۷۹/۰۰±۴/۸۶		۵۷/۳۰±۴/۰۳		۷۴/۲۰±۱۱/۱۶		اسپرماتوسیت اولیه (تعداد)	
۰/۰۰۱	۲۳۲/۰۲±۹/۸۰		۲۴۲/۰۳±۱۸/۹۰		۱۹۶±۹/۱۲		۲۳۰/۰۰±۳۸/۲۷		اسپرماتید گرد (تعداد)	
۰/۰۰۲	۱۸۵/۳۷±۱۲/۲۱		۲۰۳/۹۵±۱۸/۶۸		۱۶۱/۱۱±۱۰/۹۴		۱۹۵/۹۲±۲۶/۰۳		اسپرماتید طویل شده (تعداد)	
۰/۰۰۱	۱۸/۴۲±۲/۲۱		۲۲/۱۰±۳/۵۷		۱۵/۲۶±۲/۸۲		۱۷/۷۵±۳/۸۹		سرتولی (تعداد)	

جدول شماره ۳- تاثیر تجویز عصاره تخم کدو بر پارامترهای سرم خون موش های صحرایی تیمار شده با سیکلوفسفامید

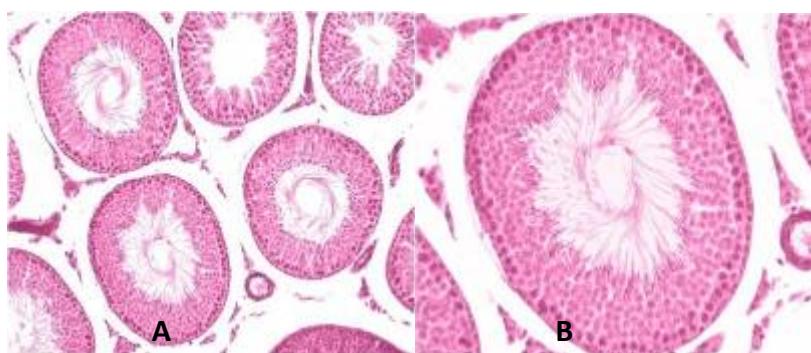
<i>P</i>	تخم کدو ۶۰۰		تخم کدو ۳۰۰		سیکلوفسفامید		کنترل		گروه ها	
	$\bar{X} \pm SD$	متغیر								
۰/۶۳	۸/۱۶±۲/۲۳		۷/۱۲±۲/۲۸		۸/۳۹±۱/۴۳		۷/۳۸±۲/۰۹		تستوسترون (ng/dl)	
<۰/۰۰۱	۷/۷۲±۱/۷۹		۱۱/۳۰±۳/۶۷		۵/۲۰±۲/۴۳		۵/۵۱±۳/۵۲		آنتی اکسیدان (۱۰ ^{-۶} M)	
۰/۴۳	۲/۲۸±۰/۶۸		۲/۴۰±۰/۶۷		۲/۷۱±۰/۴۲		۲/۴۲±۰/۴۶		(nmol/ml) MDA	
۰/۰۰۳	۶/۲۴±۱/۶۴		۴/۰۳±۰/۰۵		۲/۶۰±۱/۰۳		۳/۴۰±۰/۸۵		ROS	



شکل شماره ۱- مقطعی از بافت بیضه در گروه دریافت کننده سیکلوفسفامید. فلش کاهش سلول‌های زایا در لومن (قطع A)، واکوئله شدن اپی‌تیلیوم (قطع B) و ریخته شدن سلول‌های زایا به داخل لوله‌های منی‌ساز و کاهش آنها در اپی‌تیلیوم (قطع C) را نشان می‌دهد. (رنگ آمیزی هماتوکسیلین و انوزین، بزرگنمایی ۴۰۰)



شکل شماره ۲- مقطعی از بافت بیضه در گروه کنترل که ظاهر بافت شناسی طبیعی لوله‌های منی‌ساز را نشان می‌دهد. A. بزرگنمایی ۴۰۰. B. بزرگنمایی ۲۰۰. (رنگ آمیزی هماتوکسیلین و انوزین)



شکل شماره ۳- مقطعی از بافت بیضه در گروه تخم کدو ۳۰۰ که افزایش تعداد سلول‌ها در لوله‌های منی‌ساز بیضه، افزایش تعداد مراحل ۷، ۸ و تجمع اسپرم‌ها را داخل لومن لوله‌های منی‌ساز نشان می‌دهد. A. بزرگنمایی ۴۰۰. B. بزرگنمایی ۲۰۰. (رنگ آمیزی هماتوکسیلین و انوزین)

لوله‌ها، لوله‌های منی‌ساز نامنظم و فیبروز پری‌واسکولار گردد [۳]. همچنین، Ali Osman و همکاران به این نتیجه رسیدند که در موش‌های تیمار شده با سیکلوفسفامید تعداد و ضخامت لایه سلول‌های ژرمنیال، تعداد و قطر لوله‌های منی‌ساز نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری دارد [۲۲] که با نتایج این پژوهش همخوانی دارد. طبق نتایج این پژوهش، تغییرات معنی‌داری در وزن پیشه مشاهده نگردید که با مطالعه‌ی Das و همکارانش در تناظر است. آنها دریافتند که وزن اندام‌های تولید مثلی در موش‌های القاء شده با CP به طور معنی‌داری کاهش یافت که مهار آندروژن‌پیشی و ترشح گونادوتروپین‌های هیپوفیز را دلیل کاهش وزن

بحث

در این مطالعه تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوцит اولیه، اسپرماتیدهای گرد و طویل شده و ضخامت اپی‌تیلیوم در لوله‌های منی‌ساز بیضه‌های گروه سیکلوفسفامید کاهش معنی‌داری را نسبت به بقیه‌ی گروه‌ها نشان داد. کاهش آماری تعداد سلول‌ها را می‌توان به مورد هدف قرار گرفتن سلول‌های اسپرماتوژنیک توسط این دارو بهدلیل فعالیت تقسیم میتوزی بالای-شان نسبت داد [۵]. یافته‌های این مطالعه با نتایج Ilbey و همکارانش مطابقت دارد؛ به طوری که آنها دریافتند داروی سیکلوفسفامید می‌تواند موجب کاهش ضخامت لایه‌های اپی‌تیلیوم

خوراکی می‌تواند تعداد سلول‌های زایا و سرتولی در لوله‌های منی-ساز و ضخامت اپی‌تیلیوم لوله‌های منی‌ساز را افزایش دهد. هم‌چنین، عصاره‌ی تخم کدو با دوز ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در روز میزان آنتی‌اکسیدان‌ها را به طور معنی‌داری افزایش داد. بیان شده است که روغن دانه تخم کدو موجب بهبود تعداد اسپرم و ساختار بافت بیضه می‌گردد که با نتایج ما هم‌خوانی دارد و می‌تواند به علت ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی تخم کدو و ترکیباتی مانند تانینس-ها و ویتامین A موجود در روغن آن باشد. هم‌چنین، حضور اسید اوکلیک موجود در تخم کدو حساسیت بیضه‌ها را به پراکسیداسیون لیپید کاهش می‌دهد [۲۹]. در مطالعات انجام گرفته بر روی تخم کدو هیچ گزارشی مبنی بر افزایش وزن بیضه در درمان با این عصاره یافت نشد که در توافق کامل با این مطالعه می‌باشد و فقط یک مطالعه بیان شده است که تجویز تخم کدو به همراه روی عوارض جانبی ناشی از سمیت ایجاد شده با سرب در موش‌های صحرایی را کاهش داده و توانایی تولید مثلی را افزایش می‌دهد. هم‌چنین، آن‌ها گزارش کرده‌اند که تجویز عصاره و روی افزایش معنی‌داری در وزن بدن، سوپراکساید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT)، گلوتاتیون پراکسیداز (GSH)، هورمون‌های تستوسترون، تحرك‌کننده فولیکولی (FSH) و هورمون لوتنینی (LH) را موجب می‌شود [۱۴]. Bataineh و همکاران گزارش کرده‌اند که غلظت LH، FSH و تستوسترون در گروه‌های درمان شده با عصاره تخم کدو و روغن آن و روی طبیعی هستند زیرا همه‌ی گیرنده‌های هورمون استروئید نیاز به آهن و روی دارند تا عملکرد و ساختار ثانویه شان را حفظ کنند [۳۰]. دانه تخم کدو نیز محتوى مقادیری از عصر روی است. روی موجود در دانه تخم کدو به عنوان یک آنتی‌اکسیدان در برابر حمله رادیکال‌های آزاد عمل می‌کند و از اکسیداسیون و تشکیل رادیکال‌های آزاد جلوگیری می‌کند. هم‌چنین، آنزیم‌های درگیر شده در سنتز تستوسترون به ذخایر روی متنکی است تا بتواند تولید تستوسترون و متعاقب آن تعداد اسپرم‌ها را افزایش دهد [۳۱، ۳۲]. گزارش شده است که مکمل روی می‌تواند اکسیداسیون DNA القاء شده توسط کادمیوم در گناهها را تضعیف نماید و سطح تستوسترون، MDA و شمارش اسپرم را به سطح طبیعی برگرداند. هم‌چنین، تجویز روی آسیب‌های اکسیداتیو را به حداقل می‌رساند و اسپرماتوژن را طبیعی می‌کند. کمبود روی در موش‌های صحرایی نر منجر به افزایش میزان پراکسیداسیون لیپیدی و اکسیداسیون پروتئین و نیز کاهش فعالیت SOD و در نهایت کاهش رشد بیضه‌ها در موش‌های صحرایی مواجه شده با کادمیوم می‌شود [۳۳]. Souza پیشنهاد کرده است که حفاظت روی در مقابل سمیت کادمیوم ممکن است مربوط به نگهداری

بیضه بیان داشتند [۲۳]. یک مطالعه‌ی دیگر نشان داد که وزن بیضه‌ها و اپیدیدیم در موش‌های درمان شده با CP با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم بعد از ۱ هفته به طور معنی‌داری کاهش یافت در حالی که کاهش این اندام‌ها بعد از گذشت ۵ هفته فقط در دوز ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم مشاهده گردید. در دوز ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم CP بعد از ۵ هفته بهبود قابل توجهی در وزن بیضه‌ها و اپیدیدیم دیده شد که از لحاظ عدم تغییر وزن بیضه بعد از ۵ هفته با نتایج حاصل از این تحقیق مطابقت دارد [۲۴]. از طرف دیگر فاکتورهای وابسته به دوز و زمان می‌توانند نقش مهمی در میزان تغییرات ایجاد شده در بافت بیضه و لوله‌های منی‌ساز توسط داروهای شیمی درمانی مانند CP داشته باشند؛ چرا که بیان شده است تمایل به بهبود اسپرماتوژن در گروه‌های درمان شده با CP در دوزهای کمتر در مقایسه با دوز بالا وجود دارد [۲۴]. گزارش گردیده است که تیمار با سیکلوفسفامید باعث کاهش هورمون تستوسترون و سطح گلوتاتیون پراکسیداز و نیز افزایش میزان MDA و ROS می‌شود [۳]. ممکن است افزایش سطح MDA بعد از تجویز CP به علت تولید بیش از اندازه رادیکال‌های آزاد و کاهش سطح گلوتاتیون پراکسیداز در بیضه‌ها بوده و کاهش در فعالیت آنزیم کاتالاز می‌تواند به کاربرد زیاد این آنتی‌اکسیدان کاتالاز در جاروب کردن رادیکال‌های آزاد نسبت داده شود [۲۵]. بیان شده است که آکرولین به عنوان یکی از متابولیت‌های فعال CP با سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی بافت تداخل می‌نماید و میزان بالایی از رادیکال‌های آزاد را تولید می‌کند. هم‌چنین، آسیب اکسیداتیو H2O2 DNA توسط هیدرو پراکسید مشتق CP از طریق تولید ایجاد می‌شود [۲۶]. می‌تواند به باندهای غیر اشباع لیپیدهای غشاء در فرایند اتوکاتالیتیک حمله کرده و پراکسیدازها، الكل و آلدید لیپیدیک را تولید کند. بنابراین، افزایش رادیکال‌های آزاد در سلول‌ها می‌تواند با شکستن اکسیداتیو اسیدهای چرب غیر اشباع در غشاء سلول‌ها، پراکسیداسیون لیپید را القاء کند. مطمئناً پراکسیداسیون لیپیدهای اسپرم ساختار ساختار ماتریکس را در غشاء اسپرماتوژن و تخریب می‌کند که در نتیجه موجب از دست رفتن سریع ATP داخل سلولی شده و منجر به آسیب اکسونمال، کاهش درصد بقاء اسپرم، افزایش نقاچیس مورفو‌لوجیکی و حتی توقف کامل اسپرماتوژنیز می‌گردد [۲۷، ۲۸]. در مطالعه‌ی ما پارامترهای بیوشیمیایی مانند MDA، ROS، آنتی‌اکسیدان‌ها و هورمون تستوسترون تفاوت معنی‌داری را بین گروه کنترل و تیمار شده با سیکلوفسفامید نشان ندادند که با یافته‌های محققان دیگر تناقض دارد. نتایج ما نشان داد که تجویز عصاره‌ی تخم کدو با دوزهای ۳۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در روز به صورت

تخم کدوی ۶۰۰ نشان دادند و از نظر پارامتر بیوشیمیابی آنتی-اکسیدان در گروه تخم کدوی ۶۰۰ افزایش معنی‌داری مشاهده نشد، می‌توانیم دوز ۳۰۰ عصاره الکلی تخم کدو را دوز مناسب-تری در نظر بگیریم.

نتیجه گیری

این مطالعه نشان می‌دهد که عصاره تخم کدو با دوز ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در روز دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد و عوارض جانبی ناشی از داروی سیکلوفسفامید در بیضه موش‌های صحرایی بالغ را کاهش می‌دهد.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از طرح تحقیقاتی به شماره‌ی ۹۱۱۰ مصوب دانشگاه علوم پزشکی کاشان می‌باشد. نویسندهان از تمامی همکاران این طرح در مرکز تحقیقات علوم تشریع دانشگاه علوم پزشکی کاشان تقدیر و سپاسگزاری می‌نمایند.

تعادل ردوکس طبیعی داخل سلول‌ها باشد. روی می‌تواند عملکرد آنتی‌اکسیدانی مستقیم را توسط اشغال کردن آهن یا مس باند شده به مکان‌هایی از لبیدهای پروتئین‌ها و MDA نشان دهد [۳۴]. از عناصری که اثرات مفید آن در زمینه‌ی باروری در جنس مذکور به اثبات رسیده است، سلنیوم است که یکی از عناصر موجود در تخم کدو می‌باشد. سلنیوم از طریق سلنوبروتین‌ها و گلوتاتیون پراکسیدازها مخصوصاً نوع GPX4 اثرات آنتی‌اکسیدانتی خود را بر جای می‌گذارد. فقدان سلنیوم در حیوانات مذکور باعث کاهش تعداد سلول‌های جنسی، تعداد اسپرم‌اتیدهای اسپرماتوزواها می‌شود [۳۵]. با توجه به افزایش معنی‌دار میزان آنتی‌اکسیدان در سرم خون حیوانات درمان شده با تخم کدو ۳۰۰ در این مطالعه، می‌توانیم عناصری مانند روی، سلنیوم، تانیس و ویتامین A را به عنوان عوامل موثر در افزایش میزان آنتی‌اکسیدان در نظر بگیریم و هم‌چنین با توجه به عدم افزایش معنی‌دار در میزان هورمون تستوسترون می‌توانیم بگوییم نقش آنتی‌اکسیدانی تخم کدو بر نقش آندروروژنیکی آن غلبه دارد. البته با توجه به این که داده‌های به دست آمده در گروه تخم کدوی با دوز ۳۰۰ معنی‌داری بیشتری را نسبت به گروه

References:

- [1] Howell SJ, Shalet SM. Testicular function following chemotherapy. *Hum Reprod Update* 2001; 7(4): 363-9.
- [2] Ghosh D, Das UB, Ghosh S, Mallick M, Debnath J. Testicular gametogenic and steroidogenic activities in cyclophosphamide treated rat: a correlative study with testicular oxidative stress. *Drug Chem Toxicol* 2002; 25(3): 281-92.
- [3] Ilbey YO, Ozbek E, Simsek A, Otuncemur A, Cekmen M, Somay A. Potential chemoprotective effect of melatonin in cyclophosphamide-and cisplatin-induced testicular damage in rats. *Fertil Steril* 2009; 92(3): 1124-32.
- [4] Assimopoulou AN, Sinakos Z, Papageorgiou VP. Radical scavenging activity of Crocus sativus L. extract and its bioactive constituents. *Phytother Res* 2005; 19(11): 997-1000.
- [5] Azzarito C, Boiardi L, Vergoni W, Zini M, Portoli I. Testicular function in hypercholesterolemic male patients during prolonged simvastatin treatment. *Horm Metab Res* 1996; 28(4): 193-8.
- [6] Lamfon HA. Effect of fenugreek seed extract on carbendazim-inhibited spermatogenesis in albino rats. *J Applied Pharmaceutical Sci* 2012; 2(04): 09-13.
- [7] Anahara R, Toyama Y, Mori C. Review of the histological effects of the anti-androgen, flutamide, on mouse testis. *Reprod Toxicol* 2008; 25(2):139-43.
- [8] Modaresi M, Mesripour M, Asadi Morghmaleki M, Hamedanian M. The effect of saffron extract on testis tissue. *Iran J Med Aromatic Plants* 2008: 237-43.
- [9] Grzegorczyk I, Matkowski A, Wysokinska H. Antioxidant activity of extracts from in vitro cultures of Salvia officinalis L. *Food Chem* 2007; 104(2): 536-41.
- [10] Weisburger JH. Antimutagenesis and anticarcinogenesis, from the past to the future. *Mutat Res* 2001; 480-481: 23-35.
- [11] Subapriya R, Kumaraguruparan R, Abraham SK, Nagini S. Protective effects of ethanolic neem leaf extract on N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine-induced genotoxicity and oxidative stress in mice. *Drug Chem Toxicol* 2004; 27(1): 15-26.
- [12] Alkan FU, Gursel FE, Ates A, Ozyurek M, Guclu K, Altun M. Protective effects of Salvia officinalis extract against cyclophosphamide-induced genotoxicity and oxidative stress in rats. *Turk J Vet Anim Sci* 2012; 36(6): 646-54.
- [13] Oyeyemi M, Olukole S, Esan O. Sperm morphological studies of West African Dwarf Bucks treated with pumpkin plant (Cucurbita pepo). *Int J Morphol* 2008; 26: 121-6.
- [14] Abd El-Ghany M, Dalia AH, Soha M. Biological study on the effect of pumpkin seeds and zinc on reproductive potential of male rats. Faculty of Specific Education Mansoura University. *The 5th*

Arab and 2nd International Annual Scientific Conference 2010: 2384-403.

- [15] Nakie SN, Rade D, Skevin D, Strucelj D, Mokrovack Z, Bartolic M. Chemical characteristics of oils from naked and husk seeds of *Cucurbita pepo* L. *Eur J Lipid Sci Technol* 2006; 108(11): 936-43.
- [16] Fukuchi S, Hamaguchi K, Seike M, Himeno K, Sakata T, Yoshimatsu H. Role of fatty acid composition in the development of metabolic disorders in sucrose-induced obese rats. *Exp Biol Med* 2004; 229(6): 486-93.
- [17] Stevenson DG, Eller FJ, Wang L, Jane J-L, Wang T, Inglett GE. Oil and tocopherol content and composition of pumpkin seed oil in 12 cultivars. *J Agric Food Chem* 2007; 55(10): 4005-13.
- [18] Glew R, Glew R, Chuang L-T, Huang YS, Millson M, Constans D, et al. Amino acid, mineral and fatty acid content of pumpkin seeds (*Cucurbita spp*) and *Cyperus esculentus* nuts in the Republic of Niger. *Plant Foods Hum Nutr* 2006; 61(2): 49-54.
- [19] George J. The handbook of experimental animals, The laboratory rat; 2000. p. 145-52.
- [20] Nikzad H, Naderian H, Pourahmadi M. Effects of closed-end and open-end vasectomies on rat's testis. *Feyz* 2002; 6(3): 1-10. [in Persian]
- [21] Akpan-Iwo G, Idowu A, Misari S. Collection and evaluation of sesame (*Sesamum spp.*) germplasm in Nigeria. *IGPR/FAO* 2005; 142: 59-62.
- [22] Ceribasi AO, Turk G, Sonmez M, Sakin F, Atessahin A. Toxic Effect of Cyclophosphamide on Sperm Morphology, Testicular Histology and Blood Oxidant-Antioxidant Balance, and Protective Roles of Lycopene and Ellagic Acid. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2010; 107(3): 730-6.
- [23] Das UB, Mallick M, Debnath JM, Ghosh D. Protective effect of ascorbic acid on cyclophosphamide-induced testicular gametogenic and androgenic disorders in male rats. *Asian J Androl* 2002; 4(3): 201-8.
- [24] Elangovan N, Chiou T-J, Tzeng W-F, Chu ST. Cyclophosphamide treatment causes impairment of sperm and its fertilizing ability in mice. *Toxicology* 2006; 222(1-2): 60-70.
- [25] Selvakumar E, Prahalathan C, Sudharsan PT, Varalakshmi P. Chemoprotective effect of lipoic acid against cyclophosphamide-induced changes in the rat sperm. *Toxicology* 2006; 217(1): 71-8.
- [26] Rezvanfar M, Sadrkhanlou R, Ahmadi A, Shojaei-Sadee H, Mohammadirad A, Salehnia A, et al. Protection of cyclophosphamide-induced toxicity in reproductive tract histology, sperm characteristics, and DNA damage by an herbal source; evidence for role of free-radical toxic stress. *Hum Exp Toxicol* 2008; 27(12): 901-10.
- [27] Aitken R, McLaughlin E. Molecular mechanisms of sperm capacitation: progesterone-induced secondary calcium oscillations reflect the attainment of a capacitated state. *Soc Reprod Fertil Suppl* 2007; 63: 273-89.
- [28] Agarwal A, Makker K, Sharma R. Review Article: Clinical Relevance of Oxidative Stress in Male Factor Infertility: An Update. *Am J Reprod Immunol* 2008; 59(1): 2-11.
- [29] Akang E, Oremosu A, Dosumu O, Noronha C, Okanlawon A. The effect of fluted pumpkin (*Telferia occidentalis*) seed oil (FPSO) on testis and semen parameters. *Agric Biol J* 2010; 1(4): 697-703.
- [30] Bataineh ZM, Bani Hani IH, Al-Alami JR. Zinc in normal and pathological human prostate gland. *Saudi Med J* 2002; 23(2): 218-20.
- [31] Takeda A, Tamano H, Tochigi M, Oku N. Zinc homeostasis in the hippocampus of zinc-deficient young adult rats. *Neurochem Int* 2005; 46(3): 221-5.
- [32] Ebuehi OA, Akande GA. Effect of Zinc Deficiency on Memory, Oxidative Stress and Blood Chemistry in Rats. *Adv Med Dent Sci* 2008; 2(3): 74-82.
- [33] Amara S, Abdelmelek H, Garrel C, Guiraud P, Douki T, Ravanat JL, et al. Preventive effect of zinc against cadmium-induced oxidative stress in the rat testis. *J Reprod Dev* 2008; 54(2): 129-34.
- [34] Souza V, Escobar Mdel C, Bucio L, Hernández E, Gutiérrez-Ruiz MC. Zinc pretreatment prevents hepatic stellate cells from cadmium-produced oxidative damage. *Cell Biol Toxicol* 2004; 20(4): 241-51.
- [35] Shalini S, Bansal MP. Role of selenium in spermatogenesis: differential expression of cjun and cfos in tubular cells of mice testis. *Mol Cell Biochem* 2006; 292(1-2): 27-38.