اثر عصاره هسته *Vitis vinifera* بر روی برخی پارامترهای تولیدمثلی در موش صحرایی نر بالغ

محمدرضا افضل‌زاده[1*]، احمدعلی پاپهن[2]، اشرف امیرزرگر[3]، محمد کاظمی ورنامخواستی[1]، هادی گنجعلی[1]، احسان قریب ممبنی[1]

۱- دانشجوی دکترای حرفه‌ای، بخش فیزیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
۲- دانشیار، بخش فیزیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
۳- مربی، بخش فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز، اهواز، ایران
*آدرس مکاتبه: اهواز، خیابان ۱۷ شرقی کیانپارس، خیابان ۲۲ متری آزادی، نبش خیابان شفیعی، ساختمان ایلیا، طبقه سوم، واحد ۳، کدپستی: ۶۱۵۵۹۷۳۸۶۸، تلفن: ۳۹۲۷۰۸۸ (۰۶۱۱)
پست الکترونیک: reza20afzal@hotmail.com

تاریخ دریافت: ۹۲/۲/۱۵ **تاریخ تصویب:** ۹۳/۴/۱۵

چکیده

مقدمه: گزارش شده که عصاره هسته انگور دارای فعالیت‌های زیستی و دارویی بسیاری مانند اثرات آنتی‌اکسیداتیو است، همچنین در طب سنتی جهت درمان یبوست، التهاب معده و غیره به کار می‌رود، از طرف دیگر، گفته شده که مصرف دانه انگور می‌تواند تعداد اسپرم‌ها را کاهش دهد.

هدف: هدف از مطالعه حاضر بررسی اثرات کاهشی و بی‌حرکت سازی عصاره آبی الکلی هسته انگور بر پارامترهای اسپرم در موش صحرایی نر بالغ می‌باشد.

روش بررسی: در این مطالعه ۱۸ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد (**Wistar**) (۶ - ۵ ماهه) با وزن ۳۰۰ - ۲۵۰ گرم به صورت تصادفی انتخاب شده و به ۳ گروه شامل ۶ موش تقسیم شدند. هسته‌های انگور خرد شده را در اتانول عصاره‌گیری کرده و در دو دوز (۵۰۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به دو گروه آزمون داده شد، همین طور در گروه کنترل تنها ۱ میلی‌لیتر نرمال سالین با استفاده از گاواژ به مدت ۴۲ روز تجویز شد. ۲۴ ساعت پس از آخرین دوز، تمامی حیوانات بی‌هوش شدند، سپس دم اپیدیدیم و بیضه جدا و به صورت جداگانه در نرمال سالین قرار داده شدند؛ پس از آن حرکت اسپرم، تعداد کل اسپرم‌ها و تولید روزانه اندازه‌گیری شد.

نتایج: نتایج حاصله کاهش معنی‌داری را در شمارش اسپرم دم اپیدیدیم و بیضه و نیز تولید روزانه اسپرم، همچنین درصد اسپرم جلو رونده در مقایسه با گروه کنترل را نشان دادند ($p\leq ۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که مصرف عصاره هسته انگور باعث کاهش معنی‌دار حرکت، تعداد و تولید روزانه اسپرم‌ها بدون تغییر در وزن بدن و غدد ضمیمه جنسی می‌شود.

گل‌واژگان: انگور، ***Vitis vinifera***، اسپرم، موش صحرایی، هسته

مقدمه

درخت انگور با نام علمی *Vitis vivifera* L. از خانواده انگورسانان (Vitacease) می‌باشد که امروزه در تمام مناطق آب و هوایی دنیا در دسترس است. گزارش‌ها حاکی از آن است که عصاره هسته انگور (GSE) دارای طیف گسترده‌ای از اثرات دارویی و درمانی مانند: فعالیت‌های آنتی‌اکسیداتیو، ضدالتهابی و ضدمیکروبی می‌باشد [۱]. از زمان‌های دور انگور در طب سنتی به عنوان مکمل رژیم غذایی مورد توجه بوده است که از آن جمله می‌توان به مصرف انگور در درمان یبوست، التهاب معده و روده، نقرس و اسهال خونی اشاره کرد. همچنین گفته شده که مصرف انگور می‌تواند برای مثانه و کلیه مضر بوده و علاوه بر این تولید اسپرم را نیز کاهش دهد [۳، ۲]. از طرف دیگر، مشتقات این گیاه موجب مهار شدید آنزیم‌های اختصاصی غشای اسپرم مانند آکروزین و هیالورونیداز که در فرایند لقاح بسیار مهم هستند شود [۴]. این هسته‌ها حاوی چندین ترکیب فعال مانند پروآنتوسیانیدین‌ها (پروآنتوسیانیدین الیگومریک)، رزوراترول [۱]، کاتچین، اپی‌کاتچین و غیره می‌باشند؛ همچنین روغن هسته‌ی انگور حاوی اسیدهای چرب ضروری طبیعی و توکوفرول (ویتامین E)، منبع غنی‌ای از اسید لینولئیک (۷۶ درصد) [۵] و نیز دیمر، تریمر و الیگومرهای فلاون-۳- اول که پروسیانیدین‌ها نامیده می‌شوند، می‌باشد [۶]. برخی مطالعات پیشنهاد کرده‌اند که روغن هسته انگور می‌تواند به عنوان ماده حفاظت‌کننده شیمیایی و محافظت‌کننده سلولی استفاده شود [۷]. در مورد اثرات درمانی GSE مطالعات بسیاری انجام شده است، که از آن جمله می‌توان به اثر محافظتی در برابر اشعه فرابنفش [۸]، اثر ضد سرطانی [۹] و اثر شل کنندگی عروق بر روی آئورت انسان اشاره کرد [۱۰]. با این وجود تحقیقات اندکی در مورد اثرات این گیاه بر روی باروری انجام شده است، لذا هدف از مطالعه‌ی حاضر بررسی اثر عصاره آبی الکلی هسته‌ی انگور بر برخی پارامترهای تولیدمثلی در موش صحرایی نر سالم می‌باشد.

مواد و روش‌ها

تهیه عصاره هسته انگور

میوه انگور به صورت خوشه‌هایی با حبه‌های انگور قرمز از مرکز میوه و تره‌بار واقع در شهر اهواز به عنوان *Vitis vinifera* L. خریداری و بعد از جدا کردن هسته‌ها از حبه‌های انگور، آنها را به مدت یک هفته در سایه خشک و سپس آسیاب کرده تا بسیار ریز شده و پودر مناسبی تهیه شود. پودر هسته انگور به مدت ۷۲ ساعت در اتانول ۷۰ درصد در دمای اتاق خیسانده شد. مخلوط حاصله را به کمک کاغذ صافی (Whatman No. 1) صاف کرده، سپس اتانول عصاره به روش تبخیر در خلأ خارج و عصاره در حمام آب گرم ۶۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا آب آن خارج شده و عصاره آبی الکلی هسته انگور (GSHE) با غلظت بسیار زیاد تهیه شود، عصاره به دست آمده تا زمان استفاده در ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد [۱۱].

حیوانات آزمایش

۱۸ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد Wistar ۶ – ۵ ماهه با محدوده وزنی ۳۰۰ – ۲۵۰ گرم از مرکز تکثیر حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز تهیه شد. روش کار با حیوانات و نگهداری از آنها با کسب اجازه و تحت نظارت کمیته اخلاق تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز انجام شد. حیوانات در قفس‌های با شرایط استاندارد (۶ حیوان در هر کدام) در محدوده دمایی ۲۵ – ۲۰ درجه سانتی‌گراد، ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و با دسترسی آزاد به آب و غذای استاندارد قرار داده شدند. کف قفس‌ها با پودر چوب پوشیده شد و سه بار در هفته تمیز شدند. قبل از شروع آزمایش موش‌ها جهت عادت به محیط به مدت یک هفته در قفس‌ها نگهداری شدند [۱۱].

برنامه درمانی

حیوانات به سه گروه جدا از هم با ۶ موش در هر گروه، به صورت زیر تقسیم شدند: گروه کنترل (به جز آب و غذای

استاندارد) تنها یک میلی‌لیتر نرمال سالین به وسیله سوزن گاواژ دریافت کرد [۱۲] و دو گروه درمانی نیز علاوه بر آب و غذای استاندارد به ترتیب ۵۰۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن از عصاره (GSHE) به وسیله سوزن گاواژ به مدت ۴۲ روز دریافت کردند [۱۳].

حیوانات ۲۴ ساعت بعد از تجویز آخرین دوزاژ دارو با استفاده از بی‌هوشی توسط دارو (کتامین (۱۰ درصد) و زایلازین (۲ درصد)، ۹۰ - ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) (Alfasan-Holland) قربانی شدند [۱۴]، بعد از باز کردن محوطه شکم و خارج کردن بیضه‌ها، دم اپیدیدیم را جدا کرده و در ۲۰ میلی‌لیتر نرمال سالین تازه تهیه شده در دمای آزمایشگاه قرار داده شد، سپس با استفاده از قیچی جراحی در آن شکافی ایجاد و به آرامی به کمک لامل اسپرم‌ها را خارج نموده و با به هم زدن همگن کرده، در مرحله‌ی بعد ۱۰ میلی‌لیتر دیگر از نرمال سالین به آن اضافه کرده تا سوسپانسیون نهایی ۱۰ برابر رقیق شود، سپس با استفاده از میکروپیپت (۱۰ - ۱۰۰ µl) (Biohit-Germany) ۱۰ µl از این سوسپانسیون اسپرمی روی لام هموسیتومتر نئوبار قرار داده و با گذاشتن لامل بر روی آن و توسط بزرگنمایی عدسی شیئ ۱۰ میکروسکوپ (Olympus-Japan) و با توجه به روش عملی شمارش اسپرم‌ها، نواحی مربوط به شمارش گلبول‌های سفید را در نظر گرفته و شمارش اسپرم‌های متحرک و تعداد کل اسپرم‌ها انجام گرفت، میزان تولید روزانه اسپرم توسط بیضه نیز محاسبه شد، که به این منظور پس ازجداکردن و توزین بیضه‌ها آنها را در۵۰ میلی‌لیتر محلول نرمال سالین قرار داده و توسط هموژنایزر کاملاً همگن نموده، سپس به روش فوق ۱۰ میکرولیتر از آن را روی لام نئوبار گذاشته و تعداد اسپرم محاسبه شد که پس از تقسیم تعداد کل اسپرم به وزن بیضه تعداد اسپرم‌ها در هر گرم بیضه به دست می‌آید [۱۵، ۱۱]، از آنجایی که در موش صحرایی نر رشد اسپرماتوزوئیدها تقریباً ۶/۳ روز در طی اسپرماتوژنز طول می‌کشد، لذا مقادیر به دست آمده برای تعداد اسپرم در هر بیضه و هر گرم بیضه را به ۶/۳ تقسیم کرده تا تولید کل اسپرماتوزوییید برای یک روزبه دست آید [۱۶].

وزن بدن و اندام‌های تولیدمثلی

اوزان ابتدای آزمایش و نهایی حیوانات ثبت و در پایان آزمایش، بعد از بی‌هوش و قربانی کردن آنها، اندام‌های ضمیمه جنسی (غده‌های وزیکول سمینال و پروستات) از بافت‌های اطراف جدا و خارج شدند، پس از پاکسازی بافت‌های متصل و خون همراه آنها، مورد بازبینی دقیق قرارگرفته و توزین شدند، شاخص وزن اندام با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد [۱۷]:

شاخص وزن = وزن بدن / وزن اندام × ۱۰۰

تجزیه و تحلیل آماری

جهت تعیین اختلافات میان گروه‌های درمانی و گروه شاهد، نتایج با استفاده از آنالیز واریانس (ANOVA) یک طرفه و آزمون‌های Tukey و LSD توسط نرم‌افزار آماری SPSS 20 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. داده‌ها به صورت (خطای استاندارد ± میانگین) بیان شدند و سطح معنی‌داری کوچک‌تر از ۰/۰۵ به عنوان معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج

وزن اندام‌ها

مقدار اوزان بیضه، اپیدیدیم، غدد ضمیمه (غده‌های وزیکول سمینال و پروستات) و همچنین وزن بدن در جدول شماره ۱ نشان داده شده است. نتایج به دست آمده تفاوت معنی‌داری را در اوزان بیضه، اپیدیدیم، غدد ضمیمه و بدن گروه‌های درمانی در مقایسه با گروه کنترل نشان نمی‌دهند (جدول شماره ۱).

شمارش اسپرم‌ها

کاهش معنی‌داری در اسپرم‌های شمارش‌شده‌ی موجود در دم اپیدیدیم، بیضه (میلیون بر میلی‌متر مکعب) و تولید روزانه اسپرم در بیضه (بر گرم وزن بیضه) در هر دو گروه دریافت‌کننده‌ی عصاره در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد ($p\leq ۰/۰۵$). از طرف دیگر، درصد اسپرم‌های متحرک جلورونده نیز کاهش معنی‌داری را در هر دو گروه دریافت‌کننده عصاره در مقایسه با گروه کنترل نشان می‌دهند ($p\leq ۰/۰۵$). همچنین

درصد اسپرم‌های متحرک درجا در هر دو گروه دریافت‌کننده عصاره نسبت به گروه کنترل تغییرات معنی‌داری را نشان نمی‌دهد (جدول شماره ۲).

جدول شماره ۱- اثر عصاره آبی-الکلی هسته انگور بر وزن بدن و وزن غدد ضمیمه جنسی

میزان عصاره (mg/kg)	وزن بدن (g)		بیضه*	دم اپیدیدیم*	پروستات*	وزیکول سمینال*
	اولیه	نهایی				
۰	۲۸۴±۴/۹۴	۲۹۴/۶۶±۵/۲۴	۴۹۴/۷۹±۴۵/۷۸	۱۰۹/۸۵±۸/۴۵	۲۱۷/۸۳±۱۹/۸۶	۵۱۸/۶۸±۷۹/۴۳
۲۵۰	۲۹۱/۵±۹/۶۶	۲۸۸/۶۶±۱۶/۱۵	۴۷۹/۴±۵۷/۵	۱۰۱/۱۵±۲۳/۳	۲۰۳/۲۷±۴۰/۰۶	۴۶۹/۷۹±۱۲۲
۵۰۰	۲۸۸/۶±۸/۵۵	۲۹۱/۶۶±۱۶/۵۹	۵۲۹/۹۱±۸۳/۸	۱۱۹/۲۵±۲۱/۲۵	۲۰۴/۱۷±۳۹/۴۵	۶۰۵/۴۳±۵۴/۰۴

داده‌ها به صورت (خطای استاندارد ± میانگین) بیان شده‌اند.

* اوزان بافت‌های ضمیمه جنسی بر حسب میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم وزن بدن محاسبه شده‌اند.

جدول شماره ۲- اثرات تجویز ۴۲ روز عصاره بر برخی شاخص‌های اسپرم در موش صحرایی نر بالغ

میزان عصاره (mg/kg)	اسپرم متحرک (درصد)		اسپرم شمارش شده (میلیون بر میلی‌متر مکعب)		تولید روزانه اسپرم (بر گرم وزن بیضه)
	دم اپیدیدیم		بیضه	دم اپیدیدیم	
	متحرک جلو رونده	متحرک درجا			
۰	۸۶/۶۶±۶/۶۶	۸۳/۰۷±۴/۳۴	۳۹/۱۹±۸/۵۵	۴۲/۳۶±۳/۹۷	۴۳/۱۸±۱/۹۹
۲۵۰	*۵۹/۹±۶/۶۶	۶۰/۷۳±۲/۸۴	*۱۱/۵۸±۱/۳۷	*۳۱/۰۱±۱/۱۱	*۱۱/۹±۱/۲۸
۵۰۰	*۵۸/۸±۹/۳	۸۱/۰۵±۲/۶۵	*۱۱/۲۴±۱/۵۸	*۳۰/۴±۰/۶۵	*۱۱/۳۴±۱/۳۵

داده‌ها به صورت (خطای استاندارد ± میانگین) بیان شده‌اند.

* نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار ($p\leq ۰/۰۵$) می‌باشد.

بحث

در تحقیق حاضر، عصاره آبی الکلی هسته انگور در هر دو دوز ۵۰۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن تعداد اسپرم‌ها در بیضه و دم اپیدیدیم و نیز تولید روزانه اسپرم در بیضه را کاهش داد. توانایی باروری اسپرم تنها به تحرک آن وابسته نیست بلکه به شاخص‌های عملکردی دیگری مرتبط است. در این تجربه، اثر بی‌حرکت‌سازی اسپرم‌ها وابسته به دوز نبود. علاوه بر این تحرک اسپرم‌ها هنگام قرار دادن آنها در محلول تازه تهیه شده و در محیطی جدید، احیا نمی‌شود؛ که نشان می‌دهد عصاره اثری جبران‌ناپذیر بر اسپرم‌ها گذاشته است.

اغلب گیاهانی که حاوی ترکیبات با قابلیت کشندگی اسپرم هستند، این اثر خود را از طریق ایجاد اختلال در غشای پلاسمایی سطح اسپرم‌ها اعمال می‌کنند [۱۸]. در پژوهشی که توسط رِن (Wren) و همکاران انجام گرفته است [۱۹]، محققین به مدت ۹۰ روز پی‌درپی عصاره هسته انگور را از طریق مخلوط کردن با غذای موش‌های نژاد Sprague-dawley تجویز کردند و با توجه به مشاهدات بالینی، وزن بدن و اندام‌ها، اندازه‌گیری مصرف غذا، معاینه چشم، بررسی خون و فاکتورهای شیمیایی سرم و یا بافت‌شناسی هیچ‌گونه مدرک قابل استنادی مبنی بر سمیت غلظت ۲ درصد (۲ گرم بر کیلوگرم وزن بدن در روز) عصاره در رژیم غذایی موش‌ها

نیافتند، اگرچه اندکی افزایش سطوح سدیم در سرم موش‌های نر و کاهش سطوح کراتینین و اوره‌ی خون در ماده‌ها مشاهده شد، که با نتایج وزن بدن و غدد ضمیمه جنسی تحقیق حاضر هم‌خوانی دارد. همچنین در تحقیقی که در سال ۲۰۰۷ انجام گرفته است، محققین دریافتند که عصاره هسته انگور یا روغن فرار مرزنجوش می‌تواند به طور معنی‌داری کیفیت اسپرم در حیوانات تیمار شده با اتانول را بهبود بخشد [۱۷]. استرس اکسیداتیو می‌تواند نقش حیاتی را در مشخص کردن ناهنجاری‌های اسپرم ایفا کند [۲۰]. در حقیقت، آسیب اکسیداتیو اسیدهای چرب اشباع غشاهای سلولی به طور گسترده‌ای به عنوان دلیل بی‌کفایتی غشاهای نفوذپذیر مطرح شده است. از آنجایی که غشای سلول اسپرم دارای سطوح بالایی از اسیدهای چرب اشباع می‌باشد، آسیب به آن می‌تواند منجر به صدمه دیدن سلول‌های زایشی و اسپرم‌های بالغ شود. عصاره هسته انگور از محصولات آنتی‌اکسیدان طبیعی می‌باشد، و ممکن است از طریق خنثی کردن رادیکال‌های آزاد، و یا از طریق به حداقل رساندن حملات اکسیداتیو به غشاها عمل کند [۱۷]. از طرف دیگر هسته انگور حاوی مقادیر زیادی فلاونوئید می‌باشد، از جمله کاتچین‌ها، اپی‌کاتچین و پلیمرهای پروسیانیدین و نیز پروآنتوسیانیدین‌ها که ترکیبی از فلاونوئیدهای پلی فنولیک فعال شامل پروآنتوسیانیدین‌های الیگومری می‌باشند. همچنین مشخص شده که این پروآنتوسیانیدین‌ها دارای اثرات زیستی، دارویی و درمانی می‌باشند [۲۱]. لذا با توجه به این خصوصیات و نتایج به دست آمده از این مطالعه، به نظر می‌رسد ماده (های) موجود در عصاره هسته انگور بخصوص فلاونوئیدها (پروآنتوسیانیدین‌های الیگومری) قوی‌تر از اثر آنتی‌اکسیدانی آن عمل کرده و موجب فراهم شدن زمینه لازم جهت صدمه دیدن غشای سلول اسپرم شده و یا به طور مستقیم یا غیرمستقیم منجر به کاهش تولید سلول‌های باروری از طریق مهار تقسیم سلولی می‌شوند. نتیجه‌گیری مشابهی در پژوهش صورت گرفته توسط الصنابره (Al-Sanabra) و همکاران بر روی اثر ضدباروری عصاره هسته کرفس در موش صحرایی نر گزارش شده است. آنها توضیح داده‌اند که اثر مهاری عصاره کرفس بر روی فعالیت هیالورونیداز اسپرم موش صحرایی که منجر به کاهش توانایی نفوذ آن به سلول تخم می‌شود با محتوای بالای فلاونوئیدها در این گیاه مرتبط می‌باشد [۲۲].

در تجربه‌ی حاضر، کاهش معنی‌دار اسپرم‌های متحرک، بی‌حرکت شدن اسپرم و شمارش کل آنها در بیضه و اپیدیدیم ممکن است به علت ترکیبات موجود در عصاره بخصوص فلاونوئیدها با مهار تقسیم سلولی و یا اثر آنها بر غشای خارجی آکروزومی و تخریب یا صدمه دیدن آن باشد [۲۳]. به این نکته بایستی توجه شود که غشای اسپرم سبب انتقال انتخابی یون‌ها و مولکول‌ها شده که این عمل برای حرکت طبیعی اسپرم ضروری می‌باشد. همچنین گزارش شده است که فلاونوئیدها با اثر بر DNA سلولی می‌توانند مانع همانندسازی DNA شده و تکثیر سلول‌ها را مهار کرده و نیز روند آپوپتوز سلولی را تحریک کنند [۲۴]. علاوه بر این، مشخص شده که ساختار و عملکرد اپیدیدیم به آندروژن‌ها وابسته می‌باشد؛ همچنین به خوبی دانسته شده است که LH اساساً مسئول تولید توستسترون می‌باشد، پس عصاره مذکور ممکن است با اثر بر آندروژن‌ها (LH و FSH) به طور مستقیم یا غیرمستقیم سبب توقف حرکت اسپرم‌ها در دم اپیدیدیم و ایجاد اختلال در عملکرد اسپرماتوژنز و در نتیجه کاهش حرکت و تعداد اسپرم‌های قابل شمارش شده باشد. عملکرد ضعیف اپیدیدیم نیز ممکن است منجر به کاهش فعالیت بیضه که محل عبور طبیعی مایع بیضه‌ای به درون اپیدیدیم می‌باشد و در نتیجه کاهش تولید و ذخیره اسپرم می‌شود [۲۵].

نتیجه‌گیری

با توجه به تجربه حاضر، پیشنهاد می‌شود که عصاره آبی الکلی هسته انگور در دوزاژ تجویز شده می‌تواند موجب کاهش حرکت اسپرم و نیز تعداد آنها در بیضه و اپیدیدیم موش‌های صحرایی سالم شود که به دلیل محدودیت مالی محققین مطالعه حاضر نتوانستند سایر دلایل را بررسی کنند. بنابراین برای مشخص شدن علت اصلی این اثرات تحقیقات بیشتری مورد نیاز است.

تشکر و قدردانی

پژوهش حاضر به عنوان بخشی از طرح پژوهشی دانشجویی تصویب‌شده در پارک علم و فناوری و با حمایت مالی دانشگاه شهید چمران اهواز انجام شده است. محققین این پژوهش کمال تشکر و قدردانی خود را از سرکار خانم فخری کیانی دهکردی به جهت کمک و همکاری ایشان در تهیه عصاره اعلام می‌دارند.

منابع

1. Hala AH, Khattab ZA, Abdallah G and Kamel M. Grape seed extract treatment reduces hepatic ischemia-reperfusion injury in rats. *J. Am. Sci.* 2010; 6 (12): 1200 - 9.

2. Mirheydar H. [Herbaceous encyclopedia]. 1st ed. Vahid publ. Tehran, Iran. 1985, pp: 68 - 73. (Persian)

3. Shenoy SF, Keen CL, Kalgaonkar S and Polagruto JA. Effects of grape seed extract consumption on platelet function in postmenopausal women. *Thromb. Res.* 2007; 121 (3): 431 - 2.

4. Chakraborti K, Pal S and Bhattacharya AK. Sperm immobilization activity of *Allium sativum* L. and other plant extracts. *Asian J. Androl.* 2003; 5 (2): 131 - 5.

5. Abeer H. Abd El-Rahim and Naglaa A. Hafiz. Investigation on the protective effect of grape seed and linseed oils against cyclophosphamide induced genotoxicity in mice. *Global Veterinaria.* 2009; 3 (5): 377 - 82.

6. Sarkaki A, Farbood Y, Badavi M. The effect of grape seed extract (GSE) on spatial memory in aged male rats. *Pak. J. Med. Sci.* 2007; 23 (4): 561 - 5.

7. Rasmussen SE, Frederiksen H, Struntze Krogholm K and Poulsen L. Dietary proanthocyanidins: occurrence, dietary intake, bioavailability and protection against cardiovascular disease. *Mol. Nutr. Food Res.* 2005; 49 (2): 159 - 74.

8. Mantena SK and Katiyar SK. Grape seed proanthocyanidins inhibit UV-radiation-induced oxidative stress and activation of MAPK and NF-kappaB signaling in human epidermal keratinocytes. *Free Radic. Biol. Med.* 2006; 40 (9): 1603 - 14.

9. Dinicola S, Mariggiò MA, Morabito C, Guarnieri S, Cucina A, Pasqualato A, D'Anselmi F, Proietti S, Coluccia P and Bizzarri M. Grape seed extract triggers apoptosis in Caco-2 human colon cancer cells through reactive oxygen species and calcium increase: extracellular signal-regulated kinase involvement. *Br. J. Nutr.* 2013; 110 (5): 797 - 809.

10. Gharib Naseri MK, Zarei M and Amiri O. Spasmolytic effect of *Vitis vinifera* leaf extract on rat colon. *Daru.* 2006; 14 (4): 203 - 7.

11. Afzalzadeh MR, Amirzargar A, Ahangarpour A, Kazemivarnamkhasti M, Ganjali H, Gharibmombeni E and Papahn AA. Effects of *Vitis vinifera* leave hydro-alcoholic extract on reproductive parameters in adult normal male rats. *J. Phys. Pharm. Adv.* 2013; 3 (6): 159 - 67.

12. Kaushik MC, Misro MM, Sehgal N and Nandan D. Effect of chronic oestrogen administration on androgen receptor expression in reproductive organs and pituitary of adult male rat. *Andrologia.* 2010; 42 (3): 193 - 205.

13. Gonzales C, Rubio J, Gasco M, Nieto J, Yucra S and Gonzales GF. Effect of short-term and long-term treatments with three ecotypes of *Lepidium meyenii* (MACA) on spermatogenesis in rats. *J. Ethnopharmacol.* 2006; 103 (3): 448 - 54.

14. Gehring R, Coetzee JF, Tarus-Sang J and Apley MD. Pharmacokinetics of ketamine and its

metabolite norketamine administered at a sub-anesthetic dose together with xylazine to calves prior to castration. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 2009; 32 (2): 124 - 8.

15. World Health Organization. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen, 5th ed. WHO Press. Switzerland. 2010, pp: 21 - 26 and 32 - 36.

16. Parandin R, Sadeghipour Rodsari HR, Shamili S and Ghasempour HR. Effects of aqueous extract of *Boswellia thurifera* on fertility in male rats. *ZUMS J.* 2009; 16 (65): 23 - 30.

17. El-Ashmawy IM, Saleh A and Salama OM. Effects of marjoram volatile oil and grape seed extract on ethanol toxicity in male rats. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* 2007; 101 (5): 320 - 7.

18. Lohiya NK, Kothari LK, Manivannan B, Mishra PK and Pathak N. Human sperm immobilization effect of *Carica papaya* seed extracts: as in vitro study. *Asian J. Androl.* 2000; 2: 103 - 9.

19. Wren AF, Cleary M, Frantz C, Melton S and Norris L. 90-day oral toxicity study of a grape seed extract (IH636) in rats. *J. Agric. Food Chem.* 2002; 50 (7): 2180 - 92.

20. Agarwal A, Saleh RA. Role of oxidants in male infertility: rationale, significance, and treatment. *Urol. Clin. North Am.* 2002; 29 (4): 817 - 27.

21. Mansouri E, Panahi M, Ghaffari MA and Ghorbani A. Effects of grape seed proanthocyanidin extract on oxidative stress induced by diabetes in rat kidney. *Iran Biomed. J.* 2011; 15 (3):100 - 6.

22. Al-Sanabra OMF, Qunaibi EA, Aburjai TA, Al-Qaadan FA, Shomaf MS and Disi MS. Antifertility activity of ethanolic seed extract of celery (*Apium graveolens* L.) in male albino rats. *Jordan J. Pharmaceutic. Sci.* 2013; 6 (1): 30 - 9.

23. Mali PC, Ansari AS and Chaturvedi M. Antifertility effect of chronically administered *Martynia annua* root extract on male rats. *J. Ethnopharmacol.* 2002; 82 (2-3): 61 - 7.

24. Takzaree N, Mortazavi H, Hassanzadeh G, Safaye S and Hossini M. Male rat spermatogenesis influenced by *Achillea millefolium* L. *Tehran Univ. Med. J.* 2013; 70 (11): 684 - 90.

25. Modaresi M, Ghalamkaria G and jalalizand A. The effect of celery (*Apium graveolens* L.) extract on the reproductive hormones in male mice. *APCBEE Procedia.* 2012; 4: 99 - 104.

Effect of *Vitis vinifera* Seed Extract on some of the Reproductive Parameters in Adult Male Rat

Afzalzadeh MR (D.V.M.)[1*], Papahn AA (Ph.D.)[1], Amirzargar A (M.Sc.)[2], Kazemi Varnamkhasti M (D.V.M.)[1], Ganjali H (D.V.M.)[1], Gharib mombeni E (D.V.M.)[1]

1- Department of Physiology, Veterinary Faculty, Shahid Chamran University, Ahvaz, Iran
2- Department of Physiology and Diabetes Research Center, Faculty of Medical Sciences, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran
* Corresponding author: Ahvaz, Eastern kiyanpars, 17th Street, Azadi 22 meters Street, in the corner of Shahid Shafiee Street, Elya building 3rd floor 3rd Unit
Postal code: 6155973868, Tel & Fax: +98-61-33927088
E-mail: reza20afzal@hotmail.com

Abstract

Background: Grape seed extract (GSE) (*Vitis vinifera* L., Vitacease) has been reported to have many biological and pharmacological activities such as antioxidative affects; also it used traditionally to treat constipation, gastritis and etc. On the other hand, it said that used of GSE can reduced sperms.

Objective: The present study aimed to investigate the effect of decrease and immobilization grape seed hydroalcoholic extract (GSHE) on sperm parameters in adult male rat.

Methods: In this study eighteen sexually mature male Wistar rats (5 - 6 month old) weighing between 250 - 300 g were used randomly and divided into three groups of 6 rats each. Crushed grape seeds were extracted in ethanol, and the two doses of it (250 and 500 mg/kg) was administered into two experimental groups, so the control group only received 1ml normal saline by gavage for 42 days consecutively. 24h after last dosage, all the animals were anesthetized. Then, their couda epididymis and testes were isolated and they were put into normal saline separately; after that, sperm motility, total sperm and daily sperm production were measured.

Results: The results revealed a significant decrease in cauda epididymal, testicular sperm counts and daily sperm production, also percent of sperm-progressive motility in comparison with control group ($p \leq 0.05$).

Conclusion: Our results of this study show that GSHE causes significant decrease in the sperm motility, count and daily sperm production without any change in body and accessory sex glands weight.

Keywords: *Vitis vinifera*, Grape, Rat, Seed, Sperm