مقاله تحقیقی
مجله تحقیقات دامپزشکی، ۱۳۹۵، دوره ۷۱، شماره ۲، ۲۴۴-۲۳۷
Journal of Veterinary Research. 71,2:237-244, 2016
Original Article

بررسی کیفیت اسپرم در موش‌های مواجهه شده با کافور و نقش محافظتی ویتامین E

مسعود ادیب مرادی* علی کلانتری حصاری حسن مروتی فرزاد اسدی حمیدرضا مرادی
گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران- ایران

(دریافت مقاله: ۲۳ آذر ماه ۱۳۹۴، پذیرش نهایی: ۳۱ بهمن ماه ۱۳۹۴)

چکیده

زمینه مطالعه: در طب سنتی کشورهای آسیایی از جمله ایران، این تصور وجود دارد که کافور می‌تواند در کاهش میل جنسی افراد نقش داشته باشد. تا به امروز هنوز صحّت این باور به اثبات نرسیده است همچنین مطالعات در این زمینه نیز بسیار محدود می‌باشد. **هدف:** در تحقیق حاضر علاوه بر بررسی دقیق‌تر اثرات کافور بر کیفیت اسپرم موش سوری، نقش ویتامین E بعنوان یک آنتی‌اکسیدانت در درمان عوارض ناشی از کافور بررسی شد. **روش کار:** در این تحقیق از ۳۰ قطعه موش سوری نر بالغ (balb/c) ۲۵- ۲۰ گرمی در ۵ گروه مورد استفاده قرار گرفتند. گروه اول کنترل (CO)، دریافت‌کننده سرم فیزیولوژی، گروه ۲ و ۳ بعنوان کنترل شم، به ترتیب دریافت‌کننده روغن زیتون تنها (OL) و گروه دریافت‌کننده ترکیبی از ویتامین E و روغن زیتون (OL+E)، و نهایتاً دو گروه تجربی دریافت‌کننده کافور تنها (CA) و گروه دریافت‌کننده کافور به‌همراه ویتامین E (CA+E). کافور با دوز ۳۰mg/kg و ویتامین E نیز با دوز ۱۰۰mg/kg و بصورت روزانه تهیه شدند. تمام مواد به صورت خوراکی (گاواژ) تجویز شدند. بعد از اتمام دوره درمان ۳۵ روزه، نمونه اسپرم از قسمت دم اپی‌دیدیم اخذ و از نظر شمارش کلی و بررسی میزان تحرک، میزان زنده بودن، بلوغ هسته و آسیب DNA مورد ارزیابی قرار گرفتند. **نتایج:** نتایج نشان دهنده کاهش معنی‌دار تعداد اسپرم‌ها، درصد اسپرم‌های زنده، افزایش در میزان اسپرم‌های نابالغ و عدم تغییر در میزان تحرک و آسیب DNA اسپرم در گروه دریافت-کننده کافور بود. ویتامین E بعنوان یک آنتی‌اکسیدانت توانسته بود اثرات کافور بر میزان زنده مانی و بلوغ اسپرم‌ها را کاهش دهد ($p<0/05$). **نتیجه‌گیری نهایی:** می‌توان نتیجه گرفت که کافور بر پارامترهای کیفیت اسپرم در موش سوری تأثیر داشته و ویتامین E بعنوان یک آنتی‌اکسیدانت، تا حدی عوارض ناشی از دریافت کافور در رابطه با کیفیت اسپرم را می‌تواند تعدیل کند.

واژه‌های کلیدی: کافور، موش سوری، اسپرم، ویتامین E

مقدمه

کافور ($C_{10}H_{16}O$) ماده‌ای جامد،با حالتی چرب، به صورت بلورهای سفید شفاف و دارای بوی معطر قوی است. این ماده از درختی به نام Cinnamonom camphora به دست می‌آید. کافور کاربردهای مختلفی در بین کشورها بخصوص کشورهای آسیایی دارد. از جمله کاربردهای این ماده در طب گیاهی می‌توان به استفاده از آن به عنوان ماده‌ایماده معطر و خوش‌بو کننده، دارای مصارف آرایشی، تعدیل‌کننده غرایز جنسی و جلوگیری از حاملگی اشاره کرد (۳،۹،۱۰،۱۱،۲۲،۳۵،۳۹). نوع صنعتی کافور از روغن سقز تولید شده و به صورت پماد، لوسیون و ژل برای جلوگیری از گزش حشرات، روغن فیلترهایUV، ضد خارش، خنک‌کننده پوست، به عنوان یک نوع ضد آفتاب و در برخی آدامس‌ها و سیگارها در بازار در دسترس است (۱،۷،۲۰،۲۳،۴۸). از دوزهای خاص کافور برای شبیه‌سازی حملات تشنجی بیماران روانی در مدل‌های آزمایشی نیز استفاده می‌شود (۳۳). در رابطه با اثر کافور بر اندام‌های بدن مدارک محکمی وجود دارد که اکثریت قریب به اتفاق بیان‌کننده خواص مضر این ماده بر بدن می‌باشند (۲۵، ۲۴). اما در رابطه با اثرات این ماده بر اندام تناسلی اطلاعات به نسبت اندکی در دسترس است.کافور می‌تواند از راه پوست، دستگاه گوارش (۵ تا ۹۰ دقیقه پس از مصرف) و دستگاه تنفس جذب شود. کافور در کبد با اسید گلوکورونیک کونژوگه شده و محلول در آب می‌گردد. این ماده با عبور از سد خونی- جفتی می‌تواند اثرات سمی برای جنین داشته باشد (۲۴، ۱۳). مصرف بیش از حد این ماده سمی بوده و می‌تواند باعث تشنج، سر گیجه، تحریک پذیری و بیش فعالی عصبی- عضلانی شود. بطور کلی ۲ گرم از این ماده باعث مسمومیت جدی و ۴g از آن بطور بالقوه کشنده است.

در مورد اثرات کافور بر دستگاه تناسلی مطالعات اندکی در دسترس می‌باشد به طوری‌که در یکی از این مطالعات به بررسی نقش کافور بر سیستم تولید مثلی موش سوری نر پرداخته شده است. نتایج حاصل از این تحقیق نشان دادکه کافور با دوز ۳۰mg/kg منجر به ایجاد تغییرات بافت شناسی در بیضه می‌شود، بطوری‌که باعث عدم بلوغ لوله‌های منی‌ساز در بافت بیضه می‌شود (۲۹). در مطالعه دیگری اثر کافور بر بافت‌شناسی رحم در موش‌های صحرایی حامله مورد بررسی قرار گرفت که کاهش تعداد غدد رحمی و تحلیل اپی‌تلیوم پوشاننده حفره مرکزی رحم را نشان داد (۳۹). Shahabi و همکاران در سال ۲۰۱۳ در مطالعه‌ای نشان دادند که کافور اثری بر محور هیپوتالاموسی- هیپوفیزی (Hypothalamus - Pituitary - Gonad Axis) و مسیر مرکزی تولید هورمون‌های جنسی نداشته و چگونگی اثر آن را نیازمند تحقیقات بیشتری دانستند.همچنین به بررسی اثر کافور بر میزان سطح هورمون‌های جنسی پرداختند که عدم تغییر در میزان هورمون تستوسترون، افزایش میزان هورمون LH و کاهش میزان

*) نویسنده مسئول: تلفن: ۰۲۱-۶۱۱۱۷۱۱۲ نمابر: ۰۲۱-۶۶۹۳۳۲۲۲ Email: adibmoradi@ut.ac.ir

هورمـون FSH در گروه‌های دریافت‌کننده کافور را گزارش کردند (۴۴). در حالی که در مطالعه دیگری نشان داده شده است که استفاده از پماد حاوی کافور، تأثیری بر گونادوتروپین‌ها (LH و FSH) و هورمون تستوسترون ندارد (۱۷). ویتامین E (توکوفرول) یک آنتی‌اکسیدانت غیرآنزیمی قوی محسوب می‌شـود که قادر است واکنش پراکسیداسیون لیپید را در غشاهای سلولی بوسیله محدود نمودن عمل رادیکال‌های آزاد مهار و بدین ترتیب غشاهای سـلولی را از آسیب القاء شده بوسـیله آنها محافظت نماید. علاوه بر این، ویتامین E با قابلیت ذکر شـده قادر اسـت سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانتی سلول‌های بیضه و اسپرم را تقویت نماید (۸). با توجه به متناقض بودن نتایج مطالعات انجام شده در مورد تأثیر کافور بر هورمون‌های جنسی و عدم وجود اطلاعات کافی در زمینه پارامترهای بالینی کیفیت اسپرم، لذا مطالعه حاضر به بررسـی کیفیت پارامترهای اسپرم و همچنین ویتامین E به عنوان یک آنتی‌اکسیدان برای جلوگیری از اثرات مخرب کافور پرداخت.

مواد و روش کار

در مطالعه حاضر، ۳۰ عدد موش سـوری نر بالغ ۳۰-۲۵ گرمی سـویه Balb/c انتخـاب و به صورت تصادفی در ۵گـروه (۱گروه کنترل، ۲ گروه شـم و ۲ گروه تجربی) تقسیم شده و تحت شـرایط استاندارد، با غذا و آب مناسب و در دسـترس، تحت مراقبت قرار گرفتند. قبل از شروع آزمایش، حیوانات به مدت دو هفته به محل عادت داده شـده، و میزان روشنایی ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی اعمال شد.به دلیل اینکه مناسب‌ترین و کم ضررترین حلال برای کافـور (Henan Xingfa, China)، روغن زیتون محسـوب می‌شود، به صورت روزانه مقدار ۳۰mg/kg وزن بدن، کافور در ۰/۳ml روغن زیتون حل شده و به صورت گاواژ به مدت ۳۵ روزه تجویز شد (۴). ویتامینE (Zahravi, Iran) نیزبا دوز ۱۰۰mg/kg وزن بدنبه صورت گاواژ و ۱ ساعت پس از دریافت کافور، تجویز شد (۸).

گروه‌بنـدی حیوانات: گروه کنتـرل (CO): گروه دریافت‌کننده سـرم فیزیولوژی به صورت گاواژ با حجم ۰/۳ml به صورت روزانه.

گروه شـم ۱ (OL): گروه دریافت‌کننده حجم یکسان روغن زیتون به صورت گاواژ هر ۲۴ ساعت ۱ بار.

گروه شـم ۲ (OL+E): گروه دریافت‌کننده روغـن زیتون (۰/۳ml) به همراه ویتامین E (با دوز ۱۰۰ mg/kg) به صورت گاواژ هر ۲۴ ساعت ۱ بار.

گروه تجربی ۱(CA): گروه دریافت‌کننده کافور (با دوز۳۰mg/kg وزن بدن)به صورت حل شـده در ۰/۳ml روغن زیتـون به صورت گاواژ هر ۲۴ ساعت ۱ بار (۲۹).

گروه تجربـی ۲ (CA+E):گروه دریافت‌کننده کافور (با دوز۳۰mg/kg وزن بـدن) حل شـده در ۰/۳ml روغن زیتون به همـراه ویتامین E (با دوز ۱۰۰میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) به صورت گاواژ هر ۲۴ ساعت ۱ بار (۸).

تمـام گاواژها به مـدت ۳۵ روزه انجام گرفت. پـس از پایان دوره ۳۵ روزه، موش‌ها به روش بی‌هوشـی با دوز بالا و کشـنده کتامین و زایلازین کشته شده و پس از جدا کردن قسمت اپی‌دیدیم و قرار دادن آن در محیط Human tubal fluid (HTF)، در شـرایط آنکوباتور ۳۷ °C با ۵٪CO۲ نگهداری و پس از گذراندن مدت زمان لازم برای خروج اسپرم (۳۰ دقیقه)، نمونه‌ها از انکوباتور خارج و مورد بررسی قرار گرفتند.

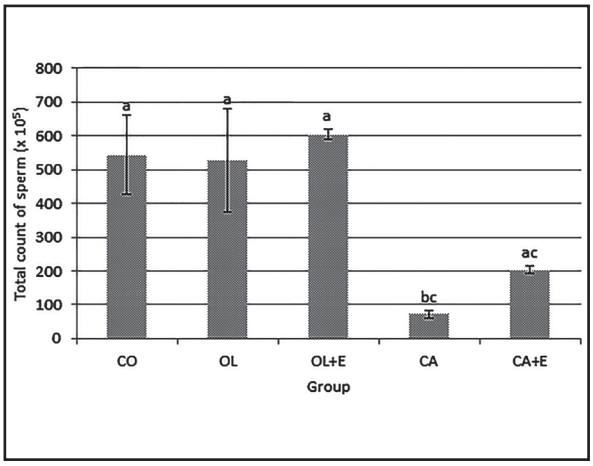
برای انجام این بررسـی از هر گروه ۶ موش و از هر نمونه اسـپرم ۱۰ لام برای هر رنگ‌آمیزی تهیه شـد. بررسی‌های انجام شده شامل شمارش میانگین تعداد اسـپرم با اسـتفاده از لام نئوبار، تعیین میزان درصد تحرک اسـپرم بر اساس تعداد اسپرم‌های متحرک و اسپرم‌های غیرمتحرک در ۵ تا ۶ فیلد میکروسکوپی، درصد زنده بودن اسپرم با استفاده از رنگ آمیزی ائوزین – نگروزین، میزان شکستگی DNA با استفاده از روش رنگ آمیزی آکریدین اورنج، و نهایتاً میزان بلوغ هسته با استفاده از روش رنگ آمیزی آنیلین‌بلو می‌باشـد (۳۷، ۳۶). نتایج حاصل از بررسـی اسپرم‌ها با نرم افزار PASW Statistics ۱۸ (SPSS) و مـدل اثـر ترکیبی با اسـتفاده از روش One-Way ANOVAو میانگین تیمارها با اسـتفاده از آزمون Tukey آنالیز و داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار از میانگین نشان داده شد. $p<۰/۰۵$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

نتایج

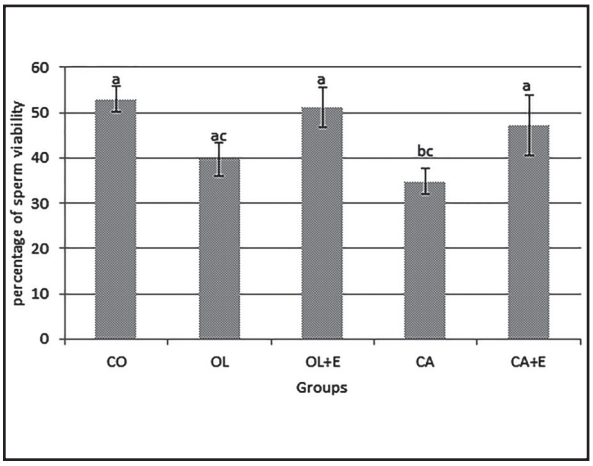
در بررسـی میانگین تعداد اسپرم، گروه CA (۱۱/۶۴±۷۲۵۰۰۰۰ عدد) کاهش چشـم‌گیری را نسـبت به گروه‌هـای CO، OL و OL+E نشـان داد (نمودار ۱). در بررسـی میانگین درصد اسـپرم‌های زنـده در گروه‌های مختلف،گروه CA(۲/۸۱±۳۴/۷۵٪) با گروه‌های CO (۲/۷۴±۵۳ ٪)، گروه OL+E (۴/۴۲±۵۱/۲۵٪) و گـروه CA+E (۶/۶۴±۴۷/۲۵٪) دارای اختلاف معنی‌دار بود (نمودار ۲) (تصویر ۱-A).در بررسی درصد تحرک اسپرم‌هاهیچ اختلاف معنی‌داری بین گروه‌ها مشاهده نشد هر چند در بررسی این فاکتور نیز کم‌ترین درصد تحرک اسـپرم‌ها متعلق به گروه CA (۵/۵۰±۶۲/۲۵٪) بود (نمودار ۳). در بررسی میانگین درصد اسپرم‌های با DNA سالم نیز هیچ اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های مختلف مشاهده نشد (نمودار ۴) (تصویر ۱-B). در بررسـی درصد اسپرم‌های نابالغ در گروه‌های مختلف، گروه CA (۲/۵۰±۲۸/۲۵٪) با گروه‌های CO (۱/۵۵±۹/۵۰٪)، OL (۱/۱۹±۱۳/۵۰٪)، OL+E (۱/۸۰±۱۱/۷۵٪) و CA+E (۱/۳۲±۱۹/۵۰٪) دارای اختـلاف معنـی‌دار بود. همچنین گروه CA+E با گروه‌های CO و OL+E نیز دارای اختلاف معنی‌دار بود(نمودار ۵) (تصویر ۱- C).

بحث

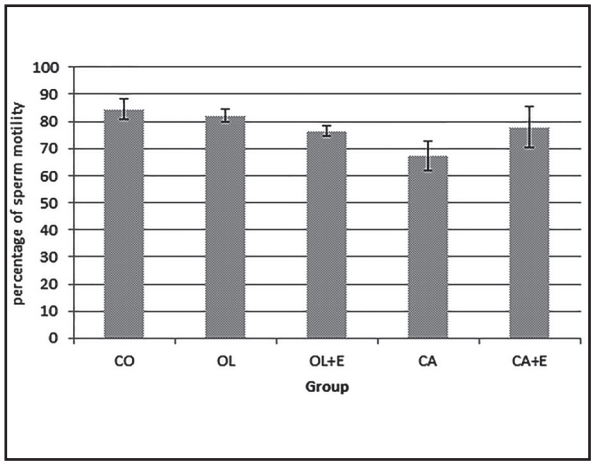
در طب سـنتی آسـیایی و اسـلامی این عقیده وجود دارد که استفاده از کافـور، بخصـوص در جنس نـر، می‌تواند هیجانات جنسـی را کنترل نمایـد. تا حال گزارشـات مختلف و گاهاً متناقضی در مـورد تأثیر کافور بر



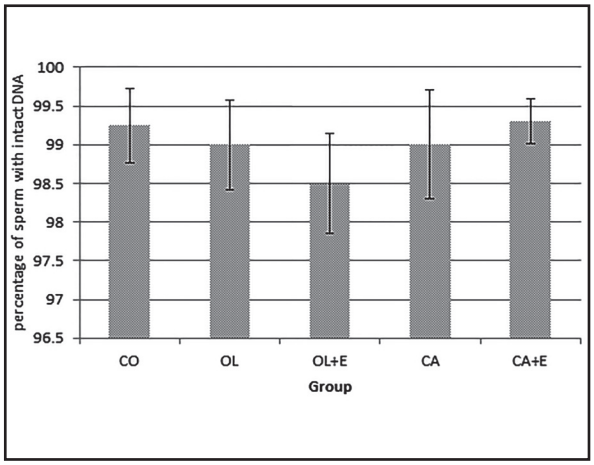
نمودار ۱. نمودار مربوط به شمارش تعداد اسپرم‌ها در گروه‌های کنترل و تجربی (حروف غیر مشابه نشان دهنده دارا بودن اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($p<۰/۰۵$)).



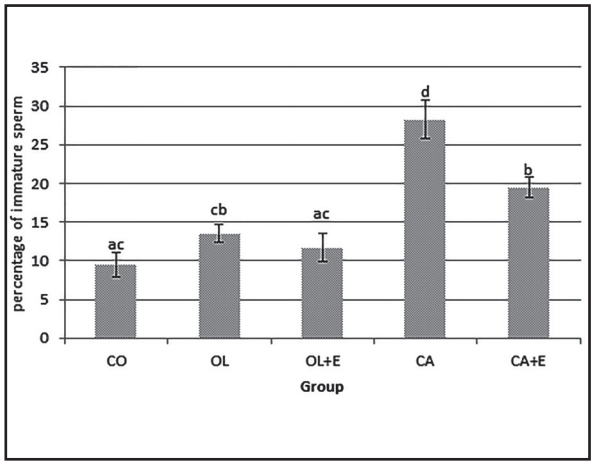
نمودار ۲. نمودار مربوط به بررسی درصد اسپرم‌های زنده در گروه‌های کنترل و تجربی (حروف غیر مشابه نشان دهنده دارا بودن اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($p<۰/۰۵$)).



نمودار ۳. نمودار مربوط به بررسی درصد اسپرم‌های متحرک در گروه‌های کنترل و تجربی (حروف غیر مشابه نشان دهنده دارا بودن اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($p<۰/۰۵$)).

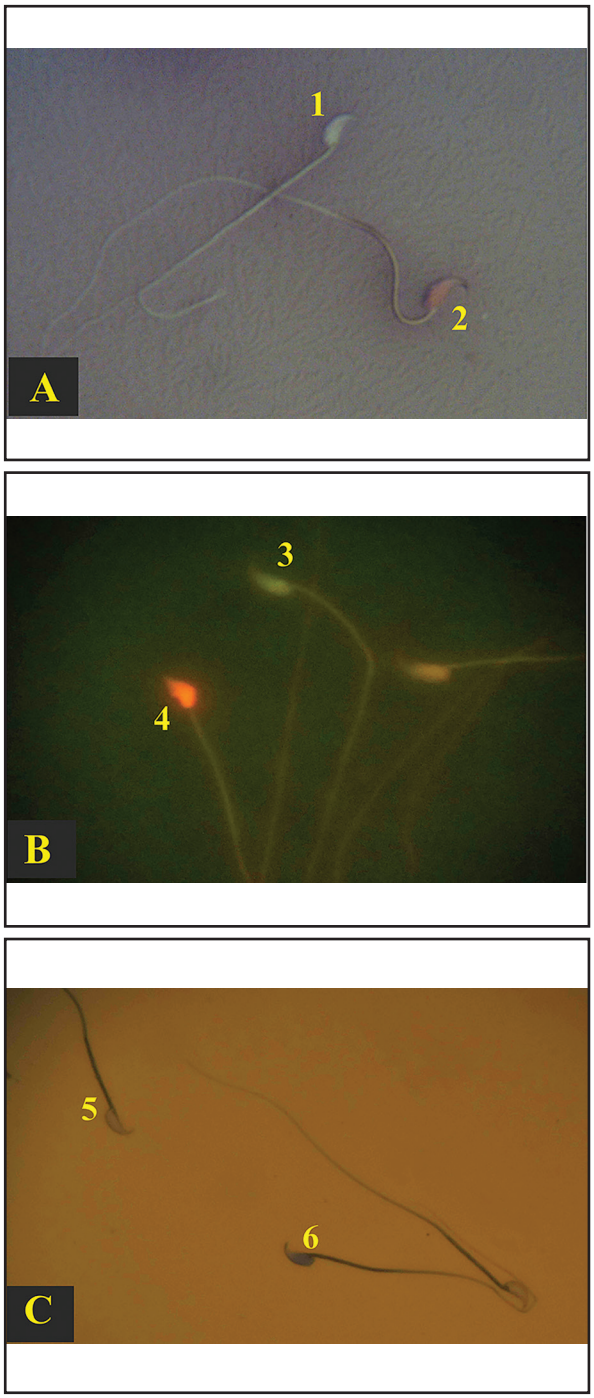


نمودار ۴. نمودار مربوط به بررسی درصد اسپرم‌های با DNA سالم در گروه‌های کنترل و تجربی (حروف غیر مشابه نشان دهنده دارا بودن اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($p<۰/۰۵$)).



نمودار ۵. نمودار مربوط به بررسی درصد اسپرم‌های نابالغ در گروه‌های کنترل و تجربی (حروف غیر مشابه نشان دهنده دارا بودن اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($p<۰/۰۵$)).

دستگاه تناسلی ارائه شده است (۴۴، ۲۹، ۱۶). در مطالعه حاضر کیفیت اسپرم موش‌های سوری مواجهه شده با کافور بررسی، و همچنین نقش محافظتی ویتامین E به عنوان یک آنتی اکسیدانت قوی در رابطه با جبران اثرات سوء کافور مورد ارزیابی قرار گرفت. با وجود اندک بودن مطالعات انجام گرفته در این زمینه، بیان شده است که کافور با هیدروکسی شدن در کربن‌های ۵ و ۸ (و یا ۹) ایجاد هیدروکسی کافور خواهد کرد که متعاقب آن با یک واکنش اکسیده شدن، کتون و دی‌اکسید کربن تولید خواهد شد. این دی‌اکسید کربن-۷ تولید شده توانایی ترکیب (کونژوگه) شدن با اسید گلوکرونیک را دارد (۱۹).اسید گلوکرونیک سه وظیفه مهم در بدن دارد: ۱. سم زدایی مواد سمی بوسیله ترکیب شدن و نهایتاً حذف ماده سمی ۲. حمل و نقل هورمون‌ها و سایر مواد مهم از طریق ترکیب با آن مواد، و متعاقب آن آزاد کردن مواد در محل‌ها یا بافت‌های هدف ۳. همچنین گفته شده است که اسید گلوکرونیک به عنوان یک ماده حد واسط در سنتز اسید آسکوربیک نقش دارد (به جز در پریمات‌ها و خوکچه هندی)(۳۰). نشان داده شده است که کافور با اتصال به گلوکرونیک اسید از فعالیت آن جلوگیری می‌کند (۳۴). با توجه به مطالعات و یافته‌های ذکر شده شاید بتوان



تصویر ۱. نمایی از نمونه‌های اسپرم رنگ آمیزی شده با ائوزین-نگروزین، آکریدین-اورنج و آنیلین بلو. تصویر A: رنگ‌آمیزی ائوزین-نگروزین، ۱: اسپرم زنده (با سر سفید رنگ) ۲: اسپرم مرده (با سر قرمز رنگ). تصویر B: رنگ‌آمیزی آکریدین-اورنج، ۳: اسپرم با DNA سالم (با سر سبز رنگ) ۴:اسپرم با DNA آسیب دیده (با سر نارنجی تا قرمز رنگ). تصویر C: رنگ‌آمیزی آنلین-بلو، ۵: اسپرم بالغ (با سری به رنگ آبی کمرنگ) ۶: اسپرم نابالغ (با سری به رنگ آبی پررنگ).

بخشی از اثرات مضّر حاصل از تجویز کافور در این مقاله را به کاهش اسید گلوکورونیک و متعاقب آن کاهش ظرفیت سم‌زدایی بدن دانست. به عنوان مثال کاهش در تعداد میانگین اسپرم‌ها، کاهش درصد اسپرم‌های زنده و همچنین افزایش درصد اسپرم‌های بالغ از نظر بلوغ هیستونی را شاید بتوان متعاقب مواد سمی آزاد شده از متابولیسم کافور و یا عدم توانایی لازم بدن در مورد سم‌زدایی مواد سمی دیگر دانست (۳۰). علاوه‌براین در تحقیقی، تأثیر کافور بر میزان تحرک و زنده‌ماندن اسپرم‌های در انسان بررسی شد که نتایج نشان داد که کافور از طریق کاهش دو فراسنجه میزان تحرک و زنده‌مانی اسپرم‌ها می‌تواند در جلوگیری از حاملگی نقش داشته باشد (۱۵). نتایج حاصل از مطالعه حاضر در رابطه با کاهش درصد اسپرم‌های زنده در گروه‌های دریافت‌کننده کافور با نتایج حاصل از مطالعه ذکر شده همخوانی داشت. ویتامین E با تک دوز استفاده شده در این بررسی در حد قابل قبولی توانسته بود از کاهش درصد اسپرم‌های زنده جلوگیری کند.

علاوه‌براین، 4-Methyl-benzylidene camphor (4-MBC) که خود به عنوان شاخصی برای فعالیت استروژنیک در نظر گرفته می‌شود، به عنوان یک گیرنده ترجیحی برای لیگاندهای B- گیرنده استروژن عمل نموده و نقشی مستقیم در رشد و تمایز اندام‌های جنسی و مغز در هر دو جنس بازی می‌کند (۳۰). بیان شده است که 4-MBC اثرات خود را از طریق اثر بر غدد درون-ریز که محل ساخته شدن هورمون‌های مختلفاز جمله هورمون‌های جنسی هستند می‌گذارد (۴۰). همچنین، کافور به عنوان مختل‌کننده غدد درون ریز و مشابه (آگونیست) هورمون استروژن در نظر گرفته می‌شود (۶). اسپرماتوژنز روند پیچیده‌ای است که عملکرد صحیح آن، مستلزم عملکرد همزمان فاکتورهای آندوکرین، پاراکرین و میانکنش سلول‌هایاسپرماتوژنیک و سرتولی می‌باشد. علاوه بر هورمون‌های اصلی تنظیم‌کننده اسپرماتوژنز، تستوسترون، LH و FSH، مطالعات نشان می‌دهد که ۱۷B-استرادیول از طریق گیرنده‌های استروژنی (ER)، نقش بسزایی در تنظیم فرآیند تولید مثلی جنس نر ایفا می‌کند، همان طور که بیان شده است که فقدان گیرنده‌های استروژنی در موش، سبب توقف فرآیند اسپرماتوژنز و ایجاد ناباروری می‌شود (۱۴).نقش سیستم سمپاتیک و پاراسمپاتیک در فعالیت جنسی در جنس نر و همچنین توانایی کافور در مهار ترشح کاتکولامین‌ها ممکن است این فرضیه را ارائه دهد که کافور بواسطه ایجاد اثر بر روس سیستم عصبی سمپاتیک توانایی تغییر در رفتار جنسی، از جمله میزان و کیفیت تولید اسپرم را دارد (۴۵، ۴۴، ۳۲، ۱۶). همچنین مطالعات نشان می‌دهند که ترکیبات آلی مانند کافور باعث کاهش فعالیت آنزیمی سیتوکروم B1 P۴۵۰ می‌شود. این آنزیم با یکی از آنزیم‌های کلیدی برای سنتز تستوسترون که با عنوان هیدروکسیلاز-۱۷ (17-Hydroxilase) نامیده می‌شود تداخل دارد. با کاهش فعالیت سیتوکروم، که سبب کاهش فعالیت آنزیم ذکر شده می‌گردد، تولید تستوسترون نیز کاهش می‌یابد (۴۳، ۲۷، ۲۶، ۲). از این رو شاید بتوان عامل یکسری از اثرات سوء کافور بر پارامترهای اسپرم در مطالعه حاضر را به اختلالات و تغییرات سطح هورمون‌های جنسی نسبت داد که البته نیاز به بررسی‌های بعدی دارد.

در مطالعه انجام گرفته بر روی مقاطع بافتی بیضه در حیوانات دریافت‌کننده کافور، کاهش قطر داخلی لوله‌های منی‌ساز مشاهده شده

اســت بطوری که ســلول‌های جداری لوله‌هــای منی‌ســاز از تمایز کافی برخوردار نبوده و نتوانســته بودند به ســرعت بالغ شــده و از جدار لوله‌های منی‌ساز آزاد شوند (۲۹، ۲۱، ۱۱). در این حالت دو پیشامد به وقوع می‌پیوندد: اول اینکه بر اثر جدا نشدن این سلول‌ها و نارس ماندن آنها ضخامت دیواره لوله‌های منی‌ســاز افزایش یافته و قطر داخلی لوله‌ها کم شــده است، دوم اینکه در شمارش سلول‌های آزاد شده مشاهده می‌شود که تعداد سلول‌های جنســی رها شــده در مجاری لوله‌های منی‌ســاز در مقایسه با گروه کنترل کاهش چشمگیری نشــان می‌دهد که این با مطالعات Wingو همکاران در ســال ۱۹۸۲ مطابقت دارد (۴۷). در مطالعه حاضر بررسی میانگین تعداد اسپرم‌ها در گروه‌های کنترل و تجربی، نشان‌دهنده کاهش تعداد اسپرم‌ها در گروه‌های دریافت‌کننده کافور بودکه این موضوع با یافته‌های گزارشات قبلی کاملاً همخوانی داشــت (۲۹). همچنین در تحقیقات انجام گرفته در این زمینه نشان داده شده است که کافور نمی‌تواند اثر موتاژنی داشته باشد (۱۸، ۱۲).نتایج حاصل از بررســی اسپرم‌ها از نظر آسیب DNA در مطالعه حاضر نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های دریافت‌کننده کافور و گروه‌های کنترل، و عدم تغییر در درصد سلول‌های با DNA آسیب دیده بود که با مطالعات قبلی همخوانی داشت.

زیتون یکی از گیاهان غنی از فیتواستروژن می‌باشد که شامل ترکیبات فنل اســت (۳۱ ،۵). گزارشات متعددی نشان داده‌اند که ترکیبات موجود در روغن زیتون می‌توانند ســبب کاهش سطح هورمون تستوسترون، کاهش تعداد و تحرک اسپرم‌ها و همچنین تغییرات ساختاری در اندام‌های اصلی و ضمیمه دستگاه تناسلی نر شوند (۴۶، ۳۸، ۲۸). در تحقیق حاضر در بررسی اکثر پارامترهای کیفیت اسپرم در گروه OL و سایر گروه‌هایی که از روغن زیتون به عنوان یک حلال استفاده شده بود کاهش محسوسی مشاهده شد. این یافته‌ها با گزارشات ارائه شده در این زمینه همخوانی داشت. از این رو بر اساس نتایج حاصل از بررسی حاضر شاید منطقی به نظر برسد که روغن زیتون را به عنوان کم ضررترین حلال برای کافور ندانسته و بخشی از اثرات ســوء مشاهده شده در گروه‌های دریافت‌کننده کافور را به حلال آن نسبت داده و گذارشــات ارائه شده در مورد اســتفاده از روغن زیتون به عنوان کم ضررترین حلال برای کافور را به نوعی زیر سوال برد.

بنابرایــن با توجه به شــواهد موجود می‌توان چنیــن نتیجه گرفت که اگرچــه هنوز هم مکانیســم دقیق اثر کافور بر پارامترهای کیفیت اســپرم مشــخص نیست، ولی این نکته را نمی‌توان نادیده گرفت که تجویز کافور به صورت مستمر، باعث ایجاد تغییرات بافتی در بیضه شده و از فعالیت‌های اسپرم‌ســازی آن تا حد قابــل توجهی می‌کاهد. نتایج کلــی حاصل از این تحقیق در مورد اثرات کافور بر پارامترهای کیفیت اسپرم نشان داد که تجویز خوراکی کافور با تک دوز بیان شده، می‌تواند اثرات سوء بر تعداد، زنده‌مانی و بلوغ اسپرم‌ها داشته باشد. همچنین ویتامین E با تک دوز استفاده شده در این تحقیق فقط بر دو پارامتر میزان زنده مانی و بلوغ اسپرم‌ها تأثیر داشته و از کاهش آن جلوگیری کرده بود. به هر حال به نظر می‌رسد نیاز به تحقیقات بیشتری در این زمینه برای مشخص شدن مکانیسم دقیق اثر کافور است.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله بر خود لازم می‌دانند از تمامی عزیزانی که در انجام این طرح ما را یاری کردند تقدیر و تشکر نمایند.

References

1. Anczewski, W., Dodzuik, H., Ejchart, A. (2003) Manifestation of chiral recognition of camphor enantiomers by alphacyclodextrin in longitudinal and transverse relaxation rates of the corresponding 1:2 complexes anddetermination of the orientation of the guest inside the host capsule. Chirality. 7: 654-659.
2. Barzegari, F., Mirhosseini, M. (2012) Effect of persian hogweed (Heracleum persicum) on the morphological changes in micetestis and the level of hormone testostrone. Razi J Med Sci. 19: 18-24.
3. Blackman, W.P., Curry, H.B. (1957) Camphor poisoning: report of case occurring during pregnancy. J Fla Med Assoc. 43: 999-1000.
4. Budavari, S., O'Neil, M.J., Smith, A., Heckelman, P.E., Kinneary, J.F. (1996) The Merck index, an Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals. (12th ed.) New Jersey: Merck & Co.
5. Carrión, Y., Ntinou, M., Badal, E., Olea europaea, L. (2010) in the North Mediterranean Basin during the Pleniglacial and the Early-Middle Holocene. Quat Sci Rev. 29: 952-968.
6. Caserta, D., Maranghi, L., Mantovani, A., Marci, R., Maranghi, F., Moscarini, M. (2008) Impact of endocrine disruptor chemicals in gynaecology. Hum Reprod Update. 14: 59-72.
7. Chatterjie, N., Alexander, G.J. (1986) Anticonvulsant properties ofspirohydantoins derived from optical isomers of camphor. Neurochem Res. 11: 1669-1676.
8. Ganesh, E., Chowdhury, A., Malarvani, T., Ashok vardhan, N. (2012) Hepatoprotective effect of Vitamin- E & C in Albino rats. Int J Adv Lif Sci. 3: 21-26.
9. Gerald, G.B., Roger, K.F., Sumner, J.Y. (2001)

Drugs in pregnancy and lactation. (6th ed). Lippincott Williams and Wilkins publishers. Philadelphia, USA.
10. Gibson, D.E., moore, G.P., Pfaff, J.A. (1989) Camphor injestion. Am J Emerg Med. 7: 41-43.
11. Goel, H.C., Singh, S., Adhikari, J.S., Rao, A.R. (1985) Radiomodifying effect of camphor on the spermatogonia of mice. Jpn J Exp Med. 55: 219-223.
12. Gomes-Carneiro, M.R., Elzenszwalb, I.F., Paumgartten, F.J. (1998) Mutagenicity testing (+/-)-camphor, 1, 8-cineole, citral, citronellal, (-)-menthol and terpineol with the Salmonella/ microsome assay. Mutat Res. 416: 129-136.
13. Guilbert, J., Flamant, C., Hallalel, F., Doummar, D., Frata, A., Renolleau, S. (2007) Anti-flatulencetreatment and status epilepticus: a case of camphor intoxication.Emerg Med J. 24: 859-860.
14. Hess, R.A. (2003) Estrogen in the adult male reproductive tract: a review. Reprod Biol Endocrinol. 1: 52.
15. Jadhav, M.V., Sharma, R.C., Rathore, M., Gangawane, A.K. (2010) Effect of Cinnamomum Camphora on human sperm motility and sperm viability. Journal of Clinical research letters. J Clin res lett. 1: 1-10.
16. Jamshidzadeh, A., Sajedianfardb, J., Nekooeianc, A.K., avakolia, F., Omranid, G.H. (2006) Effects of Camphor on Sexual Behaviors in Male Rats. IJPS. 2: 209-214.
17. Janjua, N.R., Mogensen, B., Andersson, A.M., Petersen, J.H., Henriksen, M., Skakkebaek, N.E., Wulf, H.C. (2004) Systemicabsorption of the sunscreens benzophenone-3, octylmethoxycinnamate, and 3-(4-methyl-benzylidene) camphor after whole-body topical application and reproductive hormone levelsin humans. J Invest Dermatol. 123: 57-61.
18. Knezevic-Vukcevic, J., Vukovic-Gacic, B., Stevic, T., Stanojevic, J., Nikolic, B., Simic, D. (2006) Antimutagenic effect of essential oil of sage (Salvia officinalis L.) and its fractions against uv-induced mutations in bacterial and yeast cells. Arch Biol Sci. 57: 163-172.
19. Koppel, C., Tenczer, J., Schirop, T., Ibe, K. (1982) Camphor poisoning - abuse of camphor as a stimulant. Arch Toxicol. 51: 101-106.
20. Lattanzi, A., Iannece, P., Vicinanza, A., Scettri, A. (2003) Renewable camphor-derived hydroperoxide: synthesis and usein the asymmetric epoxidation of allylic alcohols. Chem Common. 12: 1440-1441.
21. Leuschner, J. (1997) Reproduction toxicity studies of D-camphor in rats and rabbits. Arzneimittel-forschung. 47: 124-128.
22. Libelt, E.L., Shannon, M.W. (1993) Small doses, big problems: a selected review of highly toxic common medications. Pediatr Emerg Care. 9: 292-297.
23. Liu, C.H., Mishra, A.K., Tan, R.X., Tang, C., Yang, H., Shen, Y.F. (2006) Repellent and insecticidal activities of essential oils from Artemisia princeps and Cinnamomum camphora and their effect on seed germination of wheat and broad bean. Bioresour Technol. 97: 1969-4973.
24. Manoguerra, A.S., Erdman, A.R., Wax, P.M., Nelson, L.S., Caravati, E.M., Cobaugh, D.J., Chyka, P.A., Olson, K.R., Booze, L.L., Woolf, A.D., Keyes, D.C., Christianson, G., Scharman, E.J., Troutman, W.G. (2006) CamphorPoisoning: an evidence-based practice guideline for out-of-hospitalmanagement. Clin Toxicol. 44: 357-370.
25. Michiels, E.A., Mazor, S.S. (2010) Toddler with seizures due toingesting camphor at an Indian celebration. Pediatr Emerg Care. 26: 574-575.
26. Mojab, F., Nickavar, B. (2003) Composition of theessential oil of theroot of Heracleum persicum from Iran. Iranian J Pharm Res. 2: 245-247.
27. Mokhtari, M., Sharifi, E., Moghadamnia, D. (2007) Effect of alcoholicextract of phoenix dactylifera spathe on histological change intestis and concentrations of LH, FSH and testosterone in malerat. IJBMS. 9: 265-271.
28. Najafizadeh, P., Dehghani, F., Panjeh Shahin, M.R., Hamzei Taj, S. (2013) The effect of a hydro-alcoholic extract of olive fruit on reproductive argons in male sprague-dawley rat. Iran J Reprod Med. 11: 293-300.
29. Nikravesh, M.R., Jalali, M. (2004) The Effect of Camphor on the Male Mice Reproductive Sys-

tem. Urology J. 4: 268-72.
30. Oser, B. (1965) Hawk's Physiological Chemistry. (14th ed.) McGraw Hill. New York.
31. Owen, R., Mier, W., Giacosa, A., Hull, W., Spiegelhalder, B., Bartsch, H. (2000) Identification of lignans as major components in the phenolic fraction of olive oil. Clin Chem. 46: 976.
32. Park, T.J., Seo, H.K., Kang, B.J., Kim, K.T. (2001) Noncompetitive inhibition by camphor of nicotinic acetylcholine receptors. Biochem Pharmacol. 61: 787-793.
33. Pearce, J.M. (2008) Leopold Auenbrugger: camphor-inducedepilepsy - remedy for manic psychosis. Eur Neurol. 59: 105-107.
34. Rabl, W., Katzgraber, F., Steinlechner, M. (1997) Camphor ingestion for abortion (case report). Forensic Sci Int. 89: 137-140.
35. Reynolds, J.E.F. (1996) Martindale, the Extra Pharmacopoeia. (29th ed). Pharmaceutical Press. London, Uk.
36. Rezvanfar, M., Sadrkhanlou, R., Ahmadi, A., Shojaei-Sadee, H., Rezvanfar, M., Mohammadirad, A., Salehnia, A., Abdollahi, M. (2008) 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. 12: 901-910.
37. Rezvanfar, M.A., Shahverdi, A.R., Ahmadi, A., Baeeri, M., Mohammadirad, A., Abdollahi, M. (2013) Protection of cisplatin-induced spermatotoxicity, DNA damage and chromatin abnormality by selenium nano-particles. Toxicol Appl Pharmacol. 266: 356-365.
38. Roberts, D., Veeramachaneni, D.R., Schlaff, W.D., Awoniyi, C.A. (2000) Effects of chronic dietary exposure to genistein, a phytoestrogen, during various stages of development on reproductive hormones and spermatogenesis in rats. Endocrine. 13: 281-286.
39. Sabah, A.L. (2009) Effect of Camphor on Uterus Histology of Pregnant Rats. JKAU: Med Sci. 16: 77-90.
40. Saleha, Y.M.A. (2009) Evaluation of camphor mutagenicity in somatic cells of pregnant rats. Asian J Biotechnol. 1: 111-117.
41. Seidlova-Wuttke, D., Christoffel, J., Rimoldi, G., Jarry, H., Wuttke, W. (2006) Comparison of effects of estradiol with those of octylmethoxycinnamate and 4-methylbenzylidene camphor on fat tissue, lipids and pituitary hormones. Toxicol Appl Pharmacol. 214: 1-7.
42. Sharafkandi, A., Avicenna. (2010) The Canon. Tehran, Soroush Press; [Book in persian].
43. Shiuam, C., Cho, M., Karlsberg, K., Zhou, D., Yuan, Y.C. (2004) Biochemical andbiological characterization of a novel anti-aromatase coumarinederivative. from the department of surgical research and divisionof informational science. J Biol. 279: 48071-48087.
44. Shahabi, S., Jorsaraei, S.G., Moghadamnia, A., Barghi, E., Zabihi, E., Golsorkhtabar Amiri, M., Maliji, G., Sohan Faraji, A., Abdi Boora, M., Ghazinejad, N., Shamsai, H. (2013) The Effect of Camphor on Sex Hormones Levels in Rats. Cell J (Yakhteh). 16: 231-234.
45. Waller, D.P., Kilinger, J.M., Zaneveld, L.J.D. (1985) Physiology and toxicology of the male reproductive tract. (3rd ed.) Raven PressNew York, USA.
46. Weber, K., Setchell, K., Stocco, D., Lephart, E. (2001) Dietary soy-phytoestrogens decrease testosterone levels and prostate weight without altering LH, prostate 5alpha-reductase or testicular steroidogenic acute regulatory peptide levels in adult male Sprague-Dawley rats. J Endocrinol. 170: 591-599.
47. Wing, T.Y., Christensen, A.K. (1982) Morphometric studies on rat seminiferous tubules. Am J Anat. 165: 13-25.
48. Yu, S.C., Bochot, A., Bas, G.L., Chéron, M., Mahuteau, J., Grossiord, J.L., Seiller, M., Duchêne, D. (2003) Effect of camphor/cyclodextrin-complexation on the stability of O/W/O multiple emulsions. Int J Pharm. 261: 1-8.
49. Zuccarini, P. (2009) Camphor: risks and benefits of a wide usednatural product. J Appli Sci Enviorn Manage. 13: 69-74.

Evaluation of sperm quality in mice exposed to camphor and protective role of Vitamin E

Adibmoradi, M.*, Kalantari Hesari, A., Morovvati, H., Asadi, F., Moradi, H.R.

Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Tehran University, Tehran- Iran
(Received 14 December 2015, Accepted 20 February 2016)

Abstract:

BACKGROUND: In traditional medicine in some Asian countries, including Iran, there is a belief that camphor is a suppressor of sexual activity. Not only has the validity of this hypothesis not been established, but also studies in this field are very limited. **OBJECTIVES:** In this study, we investigated the effects of camphor on sperm quality in mice, and to protect sperm damage vitamin E as an antioxidant was used. **METHODS:** This study was conducted on 30 adult male mice (balb/c) with weight range 20-25 gr in 5 groups. First group was control (CO) and treated with normal saline, groups 2 and 3 were sham groups treated respectively with Olive oil (OL) and the combination of olive oil and vitamin E (OL+E), and finally, two experimental groups were treated using camphor (CA) and camphor with vitamin E (CA+E). Camphor at doses of 30 mg/kg/day and vitamin E at doses of 100 mg/kg/day were prepared. All materials were administered orally (gavage). After 35 days semen were collected from tail of epididymis, and then total count, motility, viability, nuclear maturity, and DNA damage were examined. **RESULTS:** Results showed significant reduction in sperm total count, percentage of viability, increase in the number of immature sperms and no significant difference in rate of motile sperms and sperms with damaged DNA in groups that received Camphor was observed. Vitamin E as a strong antioxidant administered lightly was able to reduce the effects of Camphor on viable and mature sperms ($p<0.05$). **CONCLUSIONS:** It can be concluded that Camphor could affect on mice sperm quality and vitamin E as an antioxidant, was able to slightly reduce Camphor effects in sperm quality.

Keyword: sperm, mice, camphor, vitamin E

Figure Legends and Table Captions

Graph 1. The graph of spermtotal countin control and experimental groups (Dissimilar letters indicate significant differences between the groups ($p< 0.05$)).

Graph 2. The graph of percentage of sperm viability in control and experimental groups (Dissimilar letters indicate significant differences between the groups ($p< 0.05$)).

Graph 3. The graph of percentage of sperm motility in control and experimental groups (Dissimilar letters indicate significant differences between the groups ($p< 0.05$)).

Graph 4. The graph of percentage of sperm with intact DNA in control and experimental groups (Dissimilar letters indicate significant differences between the groups ($p< 0.05$)).

Graph 5. The graph of percentage ofimmature sperm in control and experimental groups (Dissimilar letters indicate significant differences between the groups ($p< 0.05$)).

Figure 1. A view of the Eosin-Nigrosin, Acridine-Orange and Aniline-blue staining in sperm samples. A: Eosin-Nigrosin staining, 1: Live sperm (Withwhite head) 2: Dead sperm (With Red head). B: Acridine-Orange staining, 3: sperm with intact DNA (With green head) 4: sperm with damaged DNA (With Orange- Red head). C:Aniline-Blue staining, 5: mature sperm (With Light blue head) 6: immature sperm (With Bold blue head).

***Corresponding author's email: adibmoradi@ut.ac.ir, Tel: 021-61117112, Fax: 021-66933222**