گزارش کوتاه

مجله دانشگاه علوم پزشکی بابل
سال ۱۳۹۸، دوره ۲۱، صفحه ۲۰۰-۱۹۶

تاثیر عصاره هیدرو الکلی دارچین بر تغییرات بافت بیضه و باروری موش های صحرائی در مدل الیگواسپرمی ناشی از بوسولفان

پوریا سلیمانی (BSc)[۱]، راضیه چگینی (MSc)[۱]، مرتضی صادقی (PhD)[۲]، فاطمه یونسی (MD)[۱]، فریبا ظفری (PhD)[۳*]

۱-کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران
۲-مرکز تحقیقات ژنتیک، دانشگاه علوم پزشکی بقیه اله، تهران، ایران
۳-مرکز تحقیقات سلولی و ملکولی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران

دریافت: ۹۷/۷/۲۴، اصلاح: ۹۷/۱۲/۱۳، پذیرش: ۹۸/۱/۲۷

خلاصه

سابقه و هدف: بوسولفان یکی از داروهای درمان سرطان است که باعث عقیم شدن بیمار می شود. در طب سنتی یکی از مهمترین خواص دارچین تقویت باروری است، هدف از مطالعه حاضر بررسی تاثیر دارچین بر ساختار فیزیولوژیکی بیضه و میزان باروری موش های تحت درمان با بوسولفان است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، ۲۴ سر موش صحرایی نر بالغ به ۳ گروه ۸ تائی، گروه شاهد (sham): موش های سالم بدون انجام مداخله، گروه کنترل: موش های عقیم شده با بوسولفان (۱۵mg/kg) به صورت تزریق داخل صفاقی، گروه دارچین: موش های تیمار شده با بوسولفان+ عصاره دارچین (۲۰۰ mg/kg) به مدت چهارده روز تقسیم شدند. پارامترهای طول، عرض و وزن بیضه و همچنین میزان تشکیل سلول های جنسی توسط رنگ آمیزی H&E و میکروسکوپ نوری بررسی و مقایسه شد.

یافته‌ها: تعداد سلول های اسپرماتوگونی، اسپرماتسیت اولیه و اسپرماتید در گروه دارچین به ترتیب ۷۲/۲۵±۱۲/۶۳، ۶۱/۷۱±۱۱/۴۷ و ۷۹/۱۰±۱۰/۰۲ و در گروه کنترل برابر ۵۱/۸۳±۲۳/۳۷، ۳۱/۶۷±۵/۲۷ و ۳۸/۶۷±۱۵/۷ بود و افزایش گروه دارچین معنی دار بود ($p<۰/۰۰۵$) پارامترهای وزن و طول و عرض بیضه در گروه دارچین نسبت به گروه کنترل (بوسولفان) دارای افزایش بود ضخامت اپیتلیوم ژرمینال در گروه دارچین و کنترل به ترتیب برابر ۵۳/۲±۱۶/۴ و ۳۰/۴±۱۰/۲۱ بود که درگروه دارچین افزایش داشت ($p<۰/۰۰۱$).

نتیجه‌گیری: براساس نتایج مطالعه عصاره دارچین تاثیر درمانی و محافظتی مثبتی بر بافت بیضه داشته و باعث افزایش تولید اسپرم در موش‌های تحت درمان بوسولفان می‌شود.

واژه‌های کلیدی: بوسولفان، دارچین، اسپرم، بیضه، باروری.

مقدمه

ناباروری یکی از مشکلات شایع و روبه افزایش جوامع صنعتی است که پیامدهای روانی و اجتماعی بسیاری برای فرد به دنبال دارد. اختلال در تولید و عملکرد اسپرم و آسیب در روند اسپرماتوژنز از شایع ترین علل ناباروری مردان به شمار می رود (۱و۲). یکی از عوارض شایع داروهای ضد سرطان، ایجاد اختلال در روند اسپرماتوژنز می باشد که در موارد زیادی منجر به ناباروری فرد می گردد. بوسولفان (BSF ،۱و۴ بوتان دیول دی متان سولفونات) یکی از داروهای شیمی درمانی است که قبل از پیوند مغز استخوان در درمان ملانولا استفاده میشود (۳). مشاهده شده که تجویز روزانه ۱۵ mg/kg بوسولفان در موش باعث تخریب بافت لوله های اپیدیدیم بیضه و آزوسپرمی شدید می‌شود (۴)، همچنین تجویز بوسولفان به بیماران مرد مبتلا به سرطان بدخیم می‌تواند منجر به ناباروری دائم یا موقت در آنها گردد (۵). به نظر می رسد که اختلال ایجاد شده در اسپرماتوژنز پس از درمان با بوسولفان ناشی از خاصیت آلکیله کنندگی آن باشد به همین دلیل بوسولفان بیشترین اثر خود را روی سلول های جنسی اسپرماتوگونی میگذارد (۶و۷). بیشترین اثر سایتوتوکسیک بوسولفان در سلول های داخل مرحله G1 سیکل سلولی گزارش شده است و سلول‌های دیگر در فاز G2 توسط آلکیلاسیون بوسولفان کشته خواهند شد (۸). دارچین Cinnamon یکی از گیاهان معطر و مطبوع بومی هند است که در طب سنتی برای تقویت قوای جنسی توصیه شده است، از نظر ترکیبات شیمیایی مهمترین ترکیبات دارچین عبارتند از سینامون آلدئید، ترپنها، سینامیل الکل، فلاندرن و سافرول که اکثر آنها داری خواص انتی اکسیدانی و ضد التهابی هستند (۱۰و۹). شواهد به دست آمده از مطالعات آزمایشگاهی تاییدکننده این حقیقت است که عصاره دارچین در بهبود عملکرد و تقویت کلی سیستم تولیدمثل در موش‌های آزمایشگاهی موثر بوده است (۱۱و۹). با توجه به تحقیقات انجام شده پیش بینی می‌شود که مصرف این عصاره به تنهایی و یا به صورت ترکیبی بتواند در کاهش آسیب‌های وارده به سلول‌های جنسی و سلول‌های تولید کننده هورمون تستوسترون موثر باشد (۱۳و۱۲). مطالعات قبلی نشان می‌دهد که عصاره دارچین در ترمیم زخم‌های ایجاد شده بر موش‌های دیابتی مؤثر می باشد. همچنین اثر این گیاه در درمان تهوع و اسهال نیز به اثبات رسیده است که ناشی از وجود ترکیبات آنتی اکسیدانی در این گیاه است (۱۴و۱۰و۹). با وجود اینکه اثر بوسولفان بر تحلیل بافت بیضه و کاهش

▣ این مقاله حاصل پایان نامه فاطمه یونسی دانشجوی رشته پزشکی دانشگاه علوم پزشکی قزوین می باشد.

* مسئول مقاله: دکتر فریبا ظفری
آدرس: قزوین، دانشگاه علوم پزشکی مرکز، دانشکده پزشکی، تحقیقات سلولی و مولکولی. تلفن: ۵-۳۳۳۳۶۰۰۱-۰۲۸
E-mail: f.zafari@qums.ac.ir

تولید اسپرم ثابت شده است تاکنون مطالعات اندکی به بررسی راه های بر طرف کردن یا کاهش عوارض عقیمی ناشی از بوسولفان در حیوانات پرداخته اند. با توجه به اهمیت بحث نازائی در بیماران سرطانی تحت درمان با داروی بوسولفان و از طرفی وجود ترکیبات آنتی اکسیدانی و فنولی فراوان در دارچین و تاثیرات مثبت دارچین بر تقویت دستگاه تولید مثلی و باروری، این مطالعه به منظور بررسی تاثیر عصاره هیدرو الکلی دارچین بر بافت بیضه و میزان باروری در موش های عقیم شده توسط بوسولفان انجام شد.

مواد و روش ها

تهیه حیوان و ایجاد مدل عقیمی: این مطالعه تجربی با کد اخلاق IR.QUMS.REC.1394.831 در دانشگاه علوم پزشکی قزوین انجام شد. مطالعه بر روی ۲۴ سر موش صحرایی نر بالغ در محدوده وزنی ۲۰۰-۱۸۰ گرم تهیه شده از انسیتو رازی کرج انجام شد. موش ها به سه گروه موش های سالم (شاهد)، موش های تحت تاثیر بوسولفان (کنترل) و موش های تحت تاثیر بوسولفان و دارچین (گروه دارچین) تقسیم بندی شدند. ایجاد مدل عقیمی در موش های دو گروه کنترل و دارچین توسط تزریق بوسولفان به صورت داخل صفاقی در دوز ۱۵ mg/kg روز انجام شد (۱۵).

عصاره‌گیری از دارچین: عصاره گیری توسط متخصصین فارماکولوژی در پژوهشکده علوم دارویی ایران و طبق مراحل زیر انجام شد: به ۱۰ گرم از پودر پوست دارچین تازه ۱ لیتر اتانول اضافه شد و به مدت ۲ ساعت توسط دستگاه اولتراسونیک عصاره‌گیری انجام شد (۱۵ دقیقه عصاره‌گیری، ۱۵ دقیقه استراحت، در مجموع ۲ ساعت). بعد از ۲ ساعت اولتراسوند اولیه، عصاره با کاغذ صافی به بالن منتقل شد. سپس بالن‌ها برای مدت ۲۴ ساعت در دمای آزمایشگاه (۲۵ °C) در محیط تاریک قرار گرفتند. در مرحله بعد عصاره‌ها و فراکسیون‌های صاف شده با کاغذ صافی توسط روتاری (دستگاه تقطیر در خلاء) در دمای زیر ۵۰°C تغلیظ شد و نهایتا عصاره‌ها و فراکسیون‌های تغلیظ شده تا زمان مصرف در فریزر ۱۸°C- نگهداری شد.

گروه بندی حیوانات و انجام آزمایش: حیوانات به سه گروه مساوی تقسیم بندی شدند که شامل: گروه شاهد: حیوانات سالم بدون انجام هیچ مداخله ای، گروه کنترل: حیوانات تیمار شده با بوسولفان در دو دوز ۱۵ mg/kg با فاصله چهارده روز، گروه دارچین: حیوانات تیمار شده با بوسولفان که عصاره دارچین را با دوز ۲۰۰ mg/kg به مدت چهارده روز و به صورت داخل صفاقی دریافت کردند. پس از گذشت چهار هفته از شروع درمان (با توجه به دوره اسپرماتوژنز موش صحرایی که ۴ هفته است)، نمونه گیری از حیوانات انجام شد.

رنگ آمیزی هماتوکسیلین H&E: به منظور مشاهده و ارزیابی وضعیت ترمیمی لوله های اپیتلیوم ژرمینال و همچنین مشاهده انواع سلول‌های جنسی در حال تشکیل از رنگ آمیزی هماتوکسیلین استفاده شد و لام‌های حاصل توسط میکروسکوپ نوری (yw2309، ساخت استرالیا) و نرم افزار Image-J بررسی شدند.

آنالیز آماری: آنالیز آماری نتایج حاصل از این تحقیق با استفاده از برنامه آماری SPSS ورژن ۱۱ انجام شد و برای ارزیابی تفاوت معنی دار بین گروه ها از آزمون آنووا و آزمون تعقیبی توکی(Tukey) استفاده شد و $p\leq ۰/۰۵$ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

مقایسه تغییرات وزن و طول و عرض بیضه در گروه های مورد مطالعه: در پایان هفته چهارم وزن بیضه در گروه دارچین و گروه کنترل به ترتیب برابر ۱/۴۲±۰/۳۳ و ۱/۲۵±۰/۸۹ گرم بود که تفاوت معنی دار نبود. طول بیضه در گروه دارچین و گروه کنترل به ترتیب برابر با ۲/۳۵±۰/۲۷ و ۲/۱۷±۰/۱۸ سانتی متر بود، همچنین عرض بیضه در پایان روز چهاردهم در گروه دارچین و گروه کنترل به ترتیب برابر با ۱/۴±۰/۱ و ۱/۳۶±۰/۱۹ سانتی متر بود و با اینکه طول و عرض در گروه دارچین افزایش داشت ولی این تغییرات معنی دار نبود (جدول ۱).

جدول ۱. مقایسه میانگین وزن (گرم) و طول و عرض بیضه (سانتیمتر) در گروه‌های مورد مطالعه در روز چهاردهم

متغیر	گروه شاهد mean±SD	کنترل mean±SD	دارچین mean±SD
طول	a ۲/۵۰±۰/۲۵	a۲/۱۷±۰/۱۸	a۲/۳۵±۰/۲۷
عرض	a۱/۴۸±۰/۳۸	a۱/۳۶±۰/۱۹	a۱/۴۹±۰/۱
وزن	a۱/۴۷±۰/۱۶	a۱/۲۵±۰/۸۹	a۱/۴۳±۰/۳۳

حروف غیرمشابه نشان دهنده اختلاف معنی دار می‌باشند، داده ها به صورت سطری مقایسه شده اند.

ارزیابی کمی لوله های اپیتلیوم ژرمینال: اندازه گیری ضخامت اپیتلیوم ژرمینال در پایان هفته چهارم در گروه های مورد مطالعه نشان داد که ضخامت اپیتلیوم ژرمینال در گروه دارچین و گروه کنترل (بوسولفان) به ترتیب برابر با ۵۳/۲۶±۱۶/۴۴ و ۳۰/۴±۱۰/۲۱ میکرومتر بود و در گروه دارچین افزایش معنی داری داشت. قطر لوله‌ها در گروه دارچین و کنترل (بوسولفان) به ترتیب برابر ۱۷۸ /۴۸±۱۷/۵۱ و ۱۲۶/۲۴±۲۴/۸۱ میکرومتر بود که افزایش قطر در گروه دارچین معنی دار بود ($p<۰/۰۰۱$) (جدول ۲)(شکل۱).

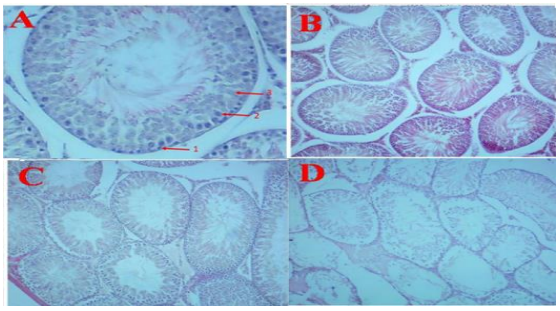
جدول ۲. مقایسه میانگین ضخامت و قطر اپیتلیوم و تعداد سلول های جنسی تشکیل شده در گروه های مورد مطالعه در روز چهاردهم

متغیر	گروه شاهد mean±SD	کنترل mean±SD	دارچین mean±SD
ضخامت اپیتلیوم	a۵۲/۶±۷/۰۸	b ۳۰/۴±۱۰/۲۱	a ۵۳/۲۶±۱۶/۴۴
قطر اپیتلیوم	a۱۷۵/۷۵±۴۱/۰۳	b۱۲۶/۲۴±۲۴/۸۱	a۱۷۸/۴۸±۱۷/۵۱

حروف غیرمشابه نشان دهنده اختلاف معنی دار می‌باشند، داده ها به صورت سطری مقایسه شده اند.

تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی اسپرماتوسیت اولیه و اسپرماتید: در بررسی سلول‌های اسپرماتوگونی در گروه های مورد مطالعه، میانگین تعداد اسپرماتوگونی در گروه دارچین و گروه کنترل به ترتیب برابر با ۷۲/۲۵±۱۲/۶۳ و ۵۱/۸۳±۲۳/۳۷ بود که افزایش تعداد اسپرماتوگونی در گروه دارچین و کاهش آن در گروه کنترل(بوسولفان) نسبت به گروه شاهد مشاهده شد، تعداد اسپرماتوسیت های اولیه در گروه دارچین و کنترل (بوسولفان) به ترتیب برابر با ۶۱/۷۱±۱۱/۴۷ و ۳۱/۶۷±۵/۲۷ بود که افزایش تعداد در گروه دارچین نسبت به گروه کنترل کاملا

معنی دارد (p<۰/۰۰۱) (جدول ۳). تعداد اسپرماتیدها در گروه دارچین و کنترل (بوسولفان) به ترتیب برابر با ۱۰/۰۲±۷۹/۱۰ و ۱۵/۷±۳۸/۶۷ بود که افزایش گروه دارچین در مقایسه با گروه کنترل معنی دار بود (p<۰/۰۰۱)(شکل ۲).



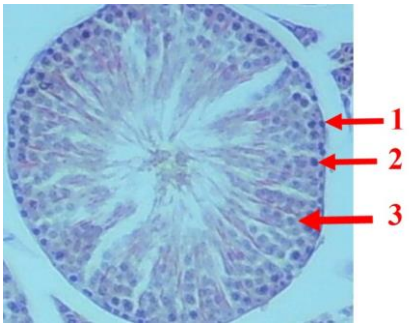
شکل ۱. تصویر مقاطع لوله های منی ساز در گروه های مورد مطالعه توسط رنگ آمیزی H&E در بزرگنمایی 100X

A: گروه دارچین (A1 : اسپرماتوگونی، A2: اسپرماتوسیت اولیه، A3: اسپرماتید). B: گروه شاهد C: گروه دارچین D: گروه کنترل. ترمیم بافت و غشاء لوله ها و همچنین از سرگیری تولید سلول های جنسی در گروه دریافت کننده دارچین کاملا مشهود است.

جدول ۳. مقایسه میانگین تعداد سلول های جنسی تشکیل شده در گروه های مورد مطالعه در روز چهاردهم

گروه / متغیر	شاهد Mean±SD	کنترل Mean±SD	دارچین Mean±SD
اسپرماتوگونی	a۶۹/۱۷±۱۲/۲۸	b۵۱/۸۳±۲۳/۳۷	a۷۲/۲۵±۱۲/۶۳
اسپرماتوسیت اولیه	a ۷۶/۵±۱۶/۶۷	b۱۳/۶۷±۵/۲۷	a۷۱/۱۷±۱۱/۴۷
اسپرماتید	a ۸۵±۱۳/۹	b ۳۸/۶۷±۱۵/۷	a ۷۹±۱۰/۰۲

حروف غیرمشابه نشان دهنده اختلاف معنی دار می‌باشند، داده ها به صورت سطری مقایسه شده اند.



شکل ۲. تصویر واضح رنگ آمیزی H&E در بزرگنمایی 100X از تشکیل سلول‌های جنسی در گروه درمان شده با دارچین (1: اسپرماتوگونی، 2: اسپرماتوسیت اولیه، 3: اسپرماتید).

بحث و نتیجه گیری

در این تحقیق تولید اسپرماتوگونی در موش های عقیم شده با بوسولفان در گروه دریافت کننده دوز ۲۰۰ mg/kg عصاره دارچین نسبت به گروه کنترل افزایش معنی داری داشت. در مطالعات هم راستا Khaki و همکاران گزارش کردند که دارچین باعث افزایش قابل توجه تعداد و توانایی حرکت و زنده ماندن اسپرم ها و بهبود پارامترهای بیضه میشود و میزان کلی تستوسترون را در موش های دیابتی افزایش میدهد (۱۶). در مطالعه دیگری AL-Khamas و همکاران گزارش کردند که عصاره گیاه دارچین باعث افزایش سطح تستوسترون در موش‌های دیابتی می‌شود و از این طریق میتواند باعث تقویت قوای جنسی و اسپرم زائی شود (۱۷). در بررسی میزان ترمیم بافت بیضه در مطالعه حاضر مصرف عصاره دارچین (۲۰۰mg/kg) به مدت چهارده روز باعث افزایش معنی دار ضخامت و قطر لوله‌های اپیتلیوم آسیب دیده در اثر بوسولفان شد، Pirami و همکاران گزارش کردند که عصاره دارچین (۷۵ mg/kg) دارای تاثیرات ترمیمی معنی‌داری در ترمیم بافت لوله‌های اپیتلیوم بیضه موش های تحت استرس صدا است و باعث افزایش توان تولید مثلی این موش‌ها می شود که به خاطر اثرات افزایش هورمون تستوسترون در اثر دارچین است (۱۸) که این یافته ها تائید کننده یافته های مطالعه حاضر است. رادیکال‌های آزاد (Ros) با پراکسیداسیون غشاء اسپرم و آسیب به DNA اسپرم یکی از عوامل اصلی کاهش تولید اسپرم و عدم کارائی اسپرم‌ها هستند، مصرف دارچین باعث افزایش سطح آنزیم های سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) و گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) می‌شود که این آنزیم ها رادیکال های آزاد را خنثی می‌کنند و از این طریق باعث افزایش تعداد و عملکرد اسپرم‌ها می‌شوند. (۲۰و۱۹). Yuce و همکاران گزارش کردند که روغن دارچین سبب افزایش وزن بیضه و اپیدیدیم در موش می شود و کاهش سطح پراکسیداسیون لیپیدی (LPO) و شاخص آپوپتوزیس اسپرم دلیل این تاثیر دارچین عنوان شد (۱۳)، در مطالعه حاضر نیز مصرف دارچین باعث افزایش وزن و قطر بیضه ها نسبت به گروه کنترل شد که تائید کننده یافته های مطالعات قبلی بود (۱۸و۱۳).

طبق یافته های این مطالعه تزریق داخل صفاقی عصاره دارچین به همراه بوسولفان می تواند تا حدود زیادی تاثیرات عقیمی بوسولفان را کاهش دهد و به ترمیم بافت بیضه و افزایش تولید سلولهای جنسی کمک کند و احتمالا در آینده بتوان از این نتایج برای جلوگیری از عقیمی بیماران تحت درمان با بوسولفان استفاده کرد. طبق آخرین بررسی، یافته‌های مطالعه حاضر، اولین مطالعه ای است که در آن به بررسی تاثیر دارچین در فعالیت و ساختار بیضه در موش های تحت تیمار بوسولفان پرداخته میشود.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی قزوین به خاطر فراهم کردن امکانات مورد نیاز این مطالعه، تقدیر و تشکر می گردد.

Evaluation of Hydroalcoholic Extract of Cinnamon Effect on Testicular Tissue and Fertility of Busulfan-Induced Oligo-Spermic Model Rats

P. Soleimani (BSc)[1], R. Chegini (MSc)[1], M. Sadeghi (PhD)[2], F. Yonesi (MD)[1], F. Zafari (PhD)*[3]

1.Student Research Committee, Faculty of Medicine, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, I.R.Iran
2.Genetics Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, I.R.Iran
3.Cellular and Molecular Research Center, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, I.R.Iran

J Babol Univ Med Sci; 21; 2019; PP: 196-200
Received: Oct 16th 2018, Revised: Mar 4th 2019, Accepted: Apr 16th 2019.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Busulfan is one of the cancer treatment drugs that cause infertility of the patient. In traditional medicine, one of the important properties of cinnamon is enhancement of fertility. The aim of this study was to investigate the effect of cinnamon on the physiological structure of testes and fertility rate of busulfan-treated rats.

METHODS: In this experimental study, 24 adult male rats were divided into 3 groups of 8 subjects, Sham: healthy rats without intervention. Control group: Busulfan-sterilized rats (15 mg/kg) intraperitoneal injection, Cinnamon group: Busulfan-treated rats + cinnamon extract (200 mg/kg) for fourteen days. The testicles length, width and weight parameters as well as the formation of germinal cells were analyzed by H & E staining and optical microscopy.

FINDINGS: The number of spermatogonia cells, primary spermatocytes and spermatid in the cinnamon group was 72.25±12.63, 61.71±11.47, and 79.1±10.02, and in the control group was 51.83±23.37, 31.67±5.27 and 38.67±15.7 respectively, and the increase in cinnamon group was significant ($p<0.005$). The testicles length, width and weight parameters in the cinnamon group were increased compared to the control group (busulfan). The thickness of germinal epithelium in the cinnamon and control group was 53.46 ± 16.44 and 30.4±10.21 respectively, which was significantly higher in the cinnamon group ($p<0.001$).

CONCLUSION: According to the findings of this study, cinnamon extract has positive therapeutic and protective effects on testicular tissue and increases sperm production in busulfan-treated rats.

Key words: *Busulfan, Cinnamon, Spermatozoa, Testis, Fertility*.

Please cite this article as follows:

Soleimani P, Chegini R, Sadeghi M, Yonesi F, Zafari F. Evaluation of Hydroalcoholic Extract of Cinnamon Effect on Testicular Tissue and Fertility of Busulfan-Induced Oligo-Spermic Model Rats. J Babol Univ Med Sci. 2019;21:196-200.

***Corresonding Author: F. Zafari (PhD)**
Address: Cellular and Molecular Research Center, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, I.R.Iran
Tel: +98 28 33336001-5
Email: f.zafari@qums.ac.ir

References

1.Nojoumi M, Ashrafi M, Kouhpayehzadeh Esfahani J. Study of couples infertility in the west of Tehran, in the year of 2000. J Iran Univ Med Sci. 2002; 8 (27):633-41.

2.Shalaby MA, Mouneir SM. Effect of zingiber officinale roots and cinnamon zeylanicum bark on fertility of male diabetic rats. Glob Veter. 2010; 5(6):341–7.

3.Qu N, Kuramasu M, Hirayanagi Y, Nagahori K, Hayashi Sh, Ogawa Y, et al. Gosha-Jinki-Gan Recovers Spermatogenesis in Mice with Busulfan-Induced Aspermatogenesis. Int. J. Mol. Sci. 2018, 19, 2606.

4.Ploemacher RE, Johnson KW, Rombouts EJ, Etienne K,Westerhof GR, Baumgart J, et al. Addition of treosulfan to a nonmyeloablative conditioning regimen results in enhanced chimerism and immunologic tolerance in an experimental allogeneic bone marrow transplant model. Biol Blood Marrow Transplant. 2004, 10(4), 236-45.

5.Bucci LR, Meistrich ML. Effects of busulfan on murine spermatogenesis: cytotoxicity, sterility, sperm ab- normalities, and dominant lethal mutations. Mutat Res. 1987; 176(2):259-68.

6.Schrader M, Müller M, Straub B, Miller K. The impact of chemotherapy on male fertility: a survey of the biologic basis and clinical aspects. Reprod Toxicol. 2001; 15(6):611-7.

7.Anjamrooz SH, Movahedin M, Mowla SJ, Pour Bairanvand S. Assessment of morphological and functional changes in the mouse testis and epididymal sperms following busulfan treatment. Irani Biomed J. 2007; 11(1):15-22.

8.Payehdar A, Hosseini E, Mehrabani D, Forouzanfar M. Busulfan treatment effects on testicular tissue and serum levels of anti- mullerian hormone and testosterone in adult mice. Indones Biomed J. 2017; 9(2):106-12.

9.Kamath JV, Rana AC, Chowdhury AR. Pro-healing effect of cinnamomum zeylanicum bark. Phytother Res. 2003; 17(8):970-2.

10.Skidmore-Roth, L. Mosby's Handbook of Herbs and Natural Supplements. 2nd Ed. St. Louis: Mosby; 2004.

11.Ruberto G, Baratta MT, Deans SG, Dorman HD. Antioxidant and antimicrobial activity of Foeniculum vulgare and Crithmum maritimum essential oils. Planta Med. 2000; 66(8):687-93.

12.Hafez DA. Effect of extracts of ginger goots and cinnamon bark on fertility of male diabetic rats. J Am Sci. 2009; 6:940-7

13.Yüce A, Türk G, Çeribaşı S, Güvenç M, Çiftçi M, Sönmez M, et al. Effectiveness of cinnamon (Cinnamomum zeylanicum) bark oil in the prevention of carbon tetrachloride-induced damages on the male reproductive system. Andrologia. 2014; 46(3):263-72.

14.Nir Y, Potasman I, Stermer E, Tabak M, Neeman I. Controlled trial of the effect of cinnamon extract on Helicobacter pylori. Helicobacter. 2000; 5(2): 94-7.

15.Azizollahi S, Aflatoonian R, Sedigi-Gilani MA, Asghari Jafarabadi M, Behnam B, Azizollahi G, et al. Recruiting Testicular Torsion Introduces an Azoospermic Mouse Model for Spermatogonial Stem Cell Transplantation. Urol J. 2014; 11(3):1648-55.

16.Khaki A. Effect of Cinnamomum zeylanicumon on Spermatogenesis. Iran Red Crescent Med J. 2015; 17(2): e18668.

17.AL-Khamas A. Effect of cinnamon zeylanicum bark water extract on male diabetic albino rats fertility. Basrah J Vet Res. 2018; 17(1):123-35.

18.Pirami H, Khavanin A, Mazaheri Z, Nadri F. The Protective Effect of Cinnamon Hydroalcoholic Extract on Testicular Tissue changes and Fertility Capacity in Male Rats Exposed to Noise Stress. J Birjand Univ Med Sci. 2018; 25(1):21-30. [In Persian]

19.Khaki A, Fathiazad F, Nouri M, Khaki A, Maleki NA, Khamnei HJ, et al. Beneficial effects of quercetin on sperm parameters in streptozotocin-induced diabetic male rats. Phytother Res. 2010;24(9):1285-91.

20.Jedlinska-Krakowska M, Bomba G, Jakubowski K, Rotkiewicz T, Jana B, Penkowski A. Impact of oxidative stress and supplementation with vitamins E and C on testes morphology in rats. J Reprod Dev. 2006;52(2):203–9.