

مطالعه تأثیر اسید فولیک بر برخی از شاخص‌های اسپرم متعاقب القا

ایسکمی - بازخونسازی در بیضه موش صحرایی

آریس فکوری^۱، احمد اصغری^{۲*}، قاسم اکبری^۳

چکیده

ایسکمی - بازخونسازی بازگشت مجدد خون به بافت ایسکمیک می باشد. هدف از این مطالعه بررسی تأثیر تجویز اسید فولیک بر عملکرد بیضه متعاقب القا ایسکمی - بازخونسازی در موش صحرایی بالغ می باشد. این تحقیق روی ۳۶ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار در محدوده سنی ۲۵۰-۳۰۰ گرم صورت گرفت. موشها به طور تصادفی به ۶ گروه ۶تایی تقسیم شدند: گروه کنترل: که هیچ دارویی دریافت نکردند گروه شم: هیچ دارویی دریافت نکرده و هر روز به حجم مساوی سایر گروه‌ها آب مقطر به صورت خوراکی دریافت کردند. گروه IR: که تا زمان ایجاد IR هیچ دارویی دریافت نکرد و بعد از ۱ هفته تحت عمل جراحی جهت ایجاد ایسکمی قرار گرفت. گروه چهارم، پنجم و ششم: ۱ هفته قبل از ایجاد ایسکمی اسید فولیک به ترتیب (۲، ۵ و ۱۰ میلی گرم/کیلوگرم) به صورت روزانه گاوآژ شد و بعد از اتمام ۱ هفته تحت عمل جراحی جهت ایجاد ایسکمی قرار گرفت. بعد از آسان کشی موشها، قسمت دم اپیدیدیم خارج شد و بلافاصله در داخل ۵ سی سی محیط HBSS قرار گرفت و به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد بر روی hot plate اگر مخانه گذاری شد و بعد از آن ارزیابی متغیرهای اسپرم (شمارش تعداد اسپرم و حیات اسپرم و تحرک اسپرم) انجام شد. نتایج آماری مربوط به درصد حرکت پیشرونده اسپرم، درصد حیات اسپرم و غلظت اسپرم در واحد حجم بین گروه درمانی اسید فولیک اختلاف معنی داری ($p < 0.05$) را نسبت به گروه IR نشان می داد. براساس نتایج به دست آمده به نظر می رسد که اسید فولیک می تواند اثرات مناسب و قابل قبولی در پیشگیری از آسیب ایسکمی - بازخونسازی بیضه موش صحرایی داشته باشد.

واژگان کلیدی: بیضه، ایسکمی بازخونسازی، اسید فولیک، موش صحرایی.

تاریخ دریافت: ۹۵/۸/۱۴ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۱/۲۷

مقدمه

بیضه‌ها به تعداد یک زوج در خلف صفاق و در دیواره خلفی محوطه شکمی تکامل می‌یابند و در خلال نمو رویانی مهاجرت کرده و سرانجام درون کیسه‌های بیضه و در انتهای

طناب‌های اسپرماتیک معلق می‌شوند. این اندام دارای لوله‌های پیچ خورده فراوانی به نام لوله‌های اسپرم‌ساز است که اسپرم‌سازی درون این لوله‌ها انجام می‌شود و اسپرم‌های تولید شده به لوله دیگری به نام اپیدیدیم منتقل و در آنجا ذخیره می‌شوند. ناباروری یک اسپرم به پارامترهای مختلفی نظیر تعداد، تحرک، حیات و مورفولوژی اسپرم‌ها بستگی دارد که عوامل متعددی بر آن اثرگذار می‌باشند. دلایل مختلفی ممکن است سبب نرسیدن خون به بافت بیضه شود که این نرسیدن خون، هم سبب نرسیدن اکسیژن به بافت شده، که شرایط هایپوکسی بوجود می‌آید و هم مواد زاید تجمع پیدا می‌کند (۳). کاهش یا توقف خون‌رسانی به بیضه باعث افزایش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن (reactive oxygen species) یا ROS در بیضه می‌شود (۱۸). ROS اثر مخربی بر روی DNA دارد، همچنین باعث اختلال در عملکرد پروتئین‌ها و پراکسیداسیون چربی‌های غشاء می‌شود (۶). اسپرم پستانداران غنی از اسیدهای چرب غیر اشباع می‌باشد، بنابراین به تهاجم ROS بسیار حساس می‌باشد، که نتیجه آن کاهش باروری در جنس نر می‌باشد. مرگ سلولی به دنبال آسیب ایسکمیک - بازخونسازی در ارتباط نزدیک با تولید رادیکال‌های آزاد و پراکسیداسیون چربی ناشی از آن می‌باشد (۱۵). گرچه درمان قطعی برای جلوگیری از آسیب ایسکمی - بازخونسازی پیدا نشده، ولی اخیراً پاره‌ای مداخلات جهت کاهش آسیب پیشنهاد شده است؛ شامل

۱ - دانش آموخته دکترای حرفه‌ای دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

* ۲- گروه جراحی دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

dr.ahmad.asghari@gmail.com

۳ - گروه مامایی دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

یافتن راهکارهایی که بتوانند بر تسریع روند بهبودی کمک نمایند همواره مورد نیاز است و در این پژوهش اثرات اسیدفولیک مورد مطالعه قرار گرفته است.

مواد و روش کار

حیوانات مورد استفاده

در این مطالعه از ۳۶ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار و سالم با محدوده وزنی ۲۵۰-۳۰۰ گرم استفاده شد که به صورت تصادفی به ۶ گروه ۶ تایی تقسیم شدند. موش‌ها از تکثیر و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی موسسه پاستور ایران تهیه و در قفسه‌ای مخصوص نگهداری شدند. به منظور پرهیز از تنش و سازگار شدن حیوانات با محیط، هیچگونه آزمایشی به مدت یک هفته روی موش‌ها صورت نگرفت و تمامی حیوانات در شرایط محیطی و تغذیه‌ای یکسان (دما، رطوبت، نور، نوع جیره غذایی و تعداد دفعات غذای یکسان) نگهداری شدند و در چرخه روشنایی/ تاریکی ۱۲ ساعت نگهداری شدند. تغذیه موش‌ها با استفاده از گرد دانه (پلت) آماده مخصوص حیوانات آزمایشگاهی صورت گرفت و آب نیز بصورت آزاد در اختیار حیوانات قرار گرفت. پیش‌نویس این مطالعه مطابق اصول اخلاقی مورد تأیید کار گروه‌های حمایت از حقوق حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران انجام شد.

داروی مصرفی

فولیک اسید به صورت پودر خالص از شرکت سیگما تهیه شد و برای خوراندن در غلظت‌های مختلف با نرمال‌سالین رقیق شد و به مدت یک هفته به گروه‌های درمان خورانده شد.

روش انجام جراحی و ایجاد ایسکمی - بازخونسازی

تمامی حیوانات توسط داروهای کتامین هیدروکلراید (ساخت شرکت آلفاسان هلند) (۶۰ mg/kg) و زایلازین (ساخت شرکت آلفاسان هلند) (۱۰ mg/kg) با تزریق داخل صفاقی بیهوش شده و ناحیه خط وسط شکم برای انجام

مواردی مثل بلوکه کردن مسیرهای تولید رادیکال‌های آزاد، استفاده از داروهای ضدالتهاب، استفاده از مهارکننده‌های آنزیم تبدیل‌کننده آنژیوتانسین، موادی مانند آدنوزین، مورفین و استاتین‌ها می‌باشد (۱۴). مطالعات نشان می‌دهد که ترکیبات آنتی‌اکسیدانت و جمع‌کننده رادیکال‌های آزاد بر روی آسیب ناشی از فرآیند ایسکمی - بازخونسازی دارای اثرات محافظتی هستند (۲۳ و ۲۰). اسید فولیک، شکل صناعی و اکسید شده فولات (۱۷) با دستیابی حیاتی بالا (میزان قابل دسترس بودن یک ماده توسط بافت هدف پس از تجویز آن) و میزان جذبی دو برابر فولات است (۱۳). اسید فولیک که معمولاً به نام فولات یا فولاسین شناخته می‌شود، یک ویتامین B محلول در آب است که به همراه ویتامین B12 فعالیت می‌کند (۴). اسم فولات از کلمه لاتین Folium به معنی leaf یا سبزیجات برگ سبز که منبع غنی آن می‌باشد، گرفته شده است. به صورت عام، فولات و اسید فولیک معمولاً به عنوان ویتامین B9 و بدون هیچ تمایزی شناخته می‌شوند. در حالیکه این دو هم از لحاظ ساختاری و هم میزان پایداری در محیط دارای اختلافاتی می‌باشند (۱۷). اسیدفولیک دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد و در حذف رادیکال‌های آزاد، کاهش استرس اکسیداتیو و در نتیجه کاهش آسیب بافتی نقش مهمی دارد (۱۱). اسید فولیک باعث افزایش ثبات غشاء سلولی (۲۴) و حفاظت DNA از آسیب و نارسایی سلولی جلوگیری کند (۲۷). اسید فولیک موجب حفظ فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنزیم SOD می‌شود، آنزیم SOD به عنوان تسریع‌کننده بازیابی و ترمیم سلولها نیز شناخته می‌شود و آسیب ایجاد شده به وسیله رادیکال‌های آزاد را کاهش می‌دهد (۱۹). با توجه به تاثیر قابل توجه رادیکال‌های آزاد در ایجاد آسیب‌های ایسکمی - بازخونسازی به نظر می‌رسد اسیدفولیک با دارا بودن خاصیت آنتی‌اکسیدانی و تأثیر بر روی پیش‌سازهای التهابی در کاهش آسیب‌های ایسکمی - بازخونسازی موثر باشد. لذا

تا زمان برداشت بیضه سمت چپ، دیواره محوطه بطنی طبق روش روتین بسته شد.

د- گروه چهارم، پنجم و ششم که ۱ هفته قبل از ایجاد ایسکمی اسید فولیک به ترتیب با دوزهای (۲mg/kg، ۵ و ۱۰) روزانه گاوژاژ شده و بعد از اتمام ۱ هفته، حیوانات بیهوش شدند و پس از برش خط وسط شکم، شریان و ورید بیضه سمت چپ بوسیله vascular clamp به مدت ۱ ساعت مسدود شد و ۲۴ ساعت بعد از آن برداشت بیضه سمت چپ صورت گرفت. تا زمان برداشت بیضه سمت چپ، دیواره محوطه بطنی طبق روش روتین بسته شد.

جمع‌آوری اسپرم

قبل از شروع کار تمام وسایل که با اسپرم در تماس است به دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد رسید که برای این کار از بن ماری و Hot plate استفاده شد، که شامل: محیط کشت بافره HBSS حاوی سرم البومین گاوی، لام، لامل، لام هموسیستمتر، رنگ انوزین - نکروزین، لول فالکون، سر سمپلر. بعد از آسان‌کشی رت‌ها با استفاده از تزریق داخل قلبی تیوپنتال سدیم، جداسازی بافت بیضه چپ موش‌ها صورت گرفت و اپیدیدیم در شرایط استریل از بدن خارج شده و در داخل لوله فالکون حاوی ۵ سی‌سی محیط HBSS با ۵ میلی‌گرم در سی‌سی آلبومین سرم گاوی قرار داده شد، سپس به قطعات کوچکی برش داده شد تا امکان خروج اسپرم فراهم شود و به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد.

* شمارش اسپرم

۰/۵ سی‌سی از محلول حاوی اسپرم برداشته شد و با ۱ سی‌سی فرمالدئید مخلوط شد و به کمک لام هموسیستمتر شمارش اسپرم‌ها توسط مربع‌های مربوط به شمارش گلبول قرمز (۴ مربع ۱۶ خانه‌ای) توسط میکروسکوپ نوری انجام شد و در نهایت تعداد اسپرم در سی‌سی از طریق فرمول زیر محاسبه گردید.

$2 \text{ (count in four square } * 6.25) 10000 = \text{sperm count in one ml}$

جراحی تراشیده و اسکراب گردید و برای جراحی آماده شد. جهت جلوگیری از پائین آمدن دمای بدن حیوانات از تشک برقی مخصوص استفاده شد. بعد از گذشت یک هفته از خوراندن داروها، در تمام گروه‌ها جهت ایجاد ایسکمی - بازخون‌رسانی، خط میانی شکم را برش داده، سپس عروق بیضه با پنس غیر ضربه‌ای (non-traumatic) بسته شده و بعد از ۱ ساعت آزاد گردید. جهت مرطوب نگه داشتن ناحیه، از تامپون خیس شده با نرمال‌سالین گرم استفاده شد. پس از گذشت یک ساعت از ایجاد ایسکمی، پنس‌ها را برداشته و عضلات محوطه شکمی توسط الگوی بخیه ساده سرتاسری و با نخ قابل جذب ویکریل ۰-۳ بسته شد و پوست نیز با نخ غیر قابل جذب نایلون ۰-۴ با الگوی بخیه تکی ساده بخیه گردید. حیوانات پس از هوشیاری کامل به قفس باز گردانده شدند و آب و غذا در اختیارشان قرار داده شد.

گروه‌های مورد مطالعه

موش‌ها به ۶ گروه ۶ تایی تقسیم شدند: الف - گروه کنترل. که هیچ دارویی دریافت نکردند و هر روز به حجم مساوی سایر گروه‌ها آب مقطر بصورت خوراکی تجویز گردید و بعد از ۱ هفته بیهوش شدند و بیضه سمت چپ برداشته شد. ب- گروه شم. که هیچ دارویی دریافت نکردند و هر روز به حجم مساوی سایر گروه‌ها آب مقطر بصورت خوراکی تجویز گردید و بعد از ۱ هفته بیهوش شدند و فقط محوطه بطنی باز و پس از خارج کردن بیضه از داخل اسکروتوم و جانداختن دوباره آن، محوطه بطنی بسته شد و در نهایت بیضه سمت چپ برداشته شد.

ج- گروه I/R. که تا زمان ایجاد I/R هیچ دارویی دریافت نکردند و هر روز به حجم مساوی سایر گروه‌ها آب مقطر بصورت گاوژاژ دریافت کردند و بعد از ۱ هفته بیهوش شدند و پس از برش خط وسط شکم، شریان و ورید بیضه سمت چپ بوسیله vascular clamp به مدت ۱ ساعت مسدود شد و ۲۴ ساعت بعد از آن برداشت بیضه سمت چپ صورت گرفت (۱)

تحلیل آماری

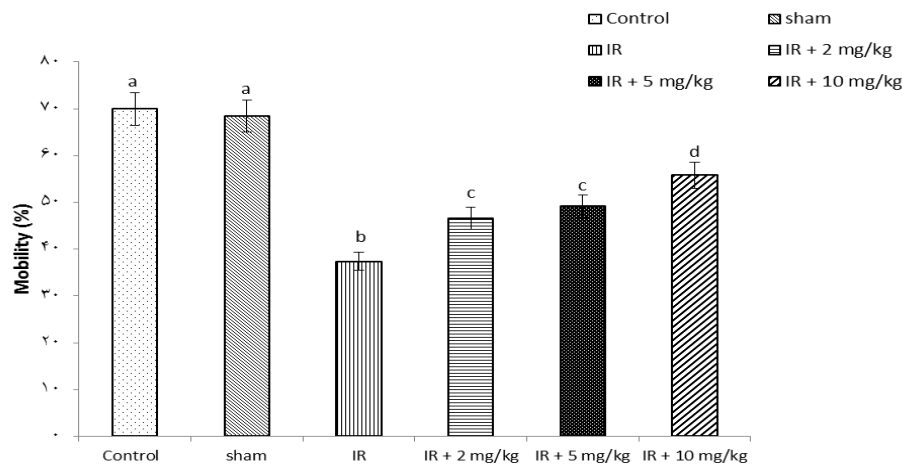
در نهایت داده‌های به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS ویرایش ۱۷ و آزمون one way anova در سطح معنی‌داری $P < 0.05$ از لحاظ آماری مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج

نتایج حاصل از ارزیابی سیمین

* درصد حرکت پیشرونده اسپرم در گروه‌های مختلف

با توجه به نتایج آماری حاصل از بررسی درصد حرکت پیشرونده اسپرم مشخص گردید که گروه‌های درمان بصورت معنی‌داری ($P < 0.05$) نسبت به گروه IR درصد حرکت پیشرونده اسپرم بیشتری دارند (نمودار ۱).



نمودار ۱- درصد حرکت پیشرونده اسپرم در گروه‌های مختلف. حروف غیریکسان، نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($P < 0.05$)

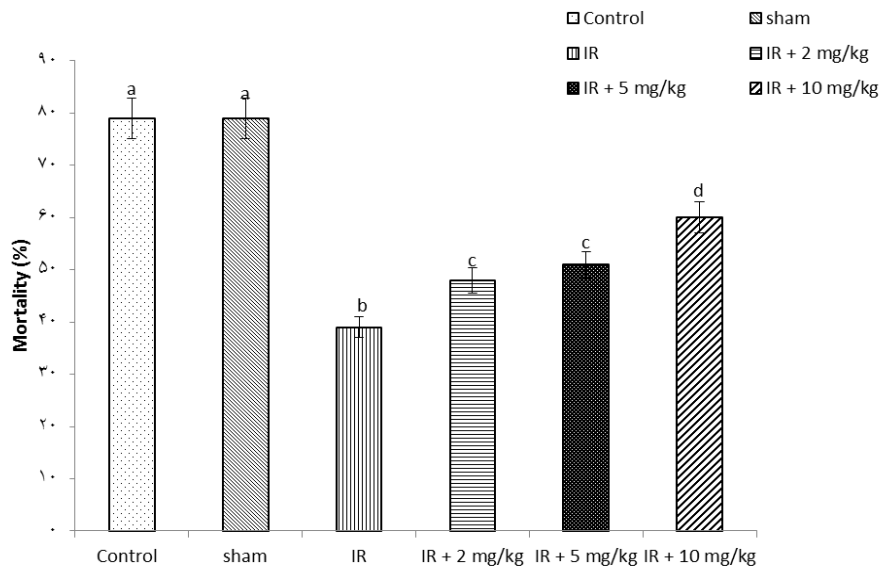
* درصد حیات اسپرم در گروه‌های مختلف
با توجه به نتایج آماری حاصل از بررسی درصد حیات اسپرم مشخص گردید که گروه‌های درمانی بصورت معنی‌داری دارند (نمودار ۲).

* حیات اسپرم

۲۰ میکرولیتر از محلول حاوی اسپرم و ۱۰ میکرولیتر رنگ اتوزین - نکروزین ۰/۰۵٪ اضافه شد. بعد از ۲ دقیقه انکوباسیون در دمای اتاق، لام به کمک میکروسکوپ نوری با بزرگ‌نمایی ۴۰۰ مشاهده شد. اسپرم‌های مرده، بدلیل تخریب غشای پلاسمایی سر اسپرم، رنگ صورتی گرفته و اسپرم‌های زنده رنگ ننگرفته بودند.

* تحرک اسپرم

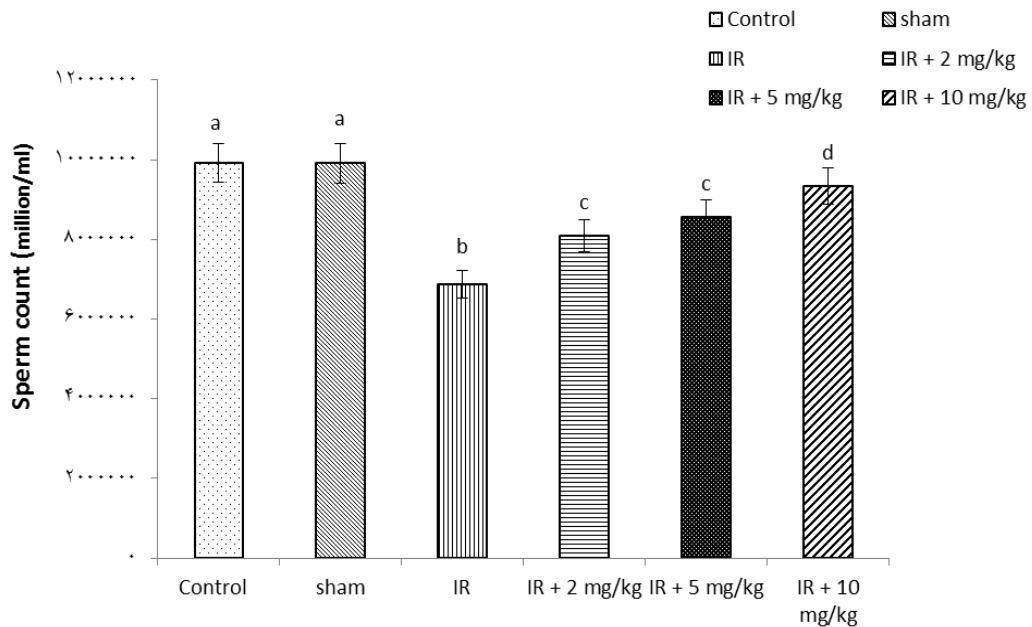
۱۰ میکرولیتر از محلول حاوی اسپرم بر روی لامی که از پیش گرم شده بود، قرار داده شد. سپس لامل کوچک بر روی آن قرار گرفت و با بزرگ‌نمایی ۴۰۰ درصد اسپرم‌هایی که حرکت پیش‌رونده داشتند یادداشت شدند (۲).



نمودار ۲- درصد حیات اسپرم در گروه‌های مختلف. حروف غیریکسان نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($P < 0.05$)

نسبت به گروه IR غلظت اسپرم در واحد حجم بیشتری دارند (نمودار ۳).

غلظت اسپرم در واحد حجم در گروه‌های مختلف
با توجه به نتایج آماری اسپرم در واحد حجم مشخص گردید که گروه‌های درمانی بصورت معنی‌داری ($P < 0.05$)



نمودار ۳- غلظت اسپرم در واحد حجم در گروه‌های مختلف. حروف غیریکسان نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($P < 0.05$)

بحث

ROS بسیار حساس می‌باشد، که نتیجه آن کاهش باروری در جنس نر می‌باشد. مرگ سلولی به دنبال آسیب ایسکمیک - بازخونسازی در ارتباط نزدیک با تولید رادیکال‌های آزاد و پراکسیداسیون چربی ناشی از آن می‌باشد (۱۵). گرچه درمان قطعی برای جلوگیری از آسیب ایسکمیک - بازخونسازی پیدا نشده، ولی اخیراً پاره‌ای مداخلات جهت کاهش آسیب پیشنهاد شده است؛ شامل مواردی مثل بلوکه کردن مسیرهای تولید رادیکال‌های آزاد، استفاده از داروهای ضدالتهاب، استفاده از مهارکننده‌های آنزیم تبدیل‌کننده آنژیوتانسین، موادی مانند آدنوزین، مورفین و استاتین‌ها می‌باشد (۱۴). مطالعات Unal نشان می‌دهد که ترکیبات آنتی‌اکسیدانت و جمع‌کننده رادیکال‌های آزاد بر روی آسیب ناشی از فرآیند ایسکمیک - بازخونسازی دارای اثرات محافظتی هستند (۲۳) و (۲۰). رادیکال‌های آزاد شکل گرفته علاوه بر آسیب به اندوتلیال دیواره عروق و آسیب‌های اکسیداتیو به بافت، منجر به آزادسازی سایتوکینین‌ها نیز می‌شوند. سایتوکینین‌ها پیش‌سازهای التهابی بوده و سبب فراخوانی نوتروفیل‌ها شده، و در نهایت این فراخوانی سلول‌های چند هسته‌ای باعث یک آسیب عمومی و سیستمیک می‌شود (۷). اسید فولیک، شکل صناعی و اکسید شده فولات (۱۷) با دستیابی حیاتی بالا (میزان قابل دسترس بودن یک ماده توسط بافت هدف پس از تجویز آن) و میزان جذبی دو برابر فولات است (۱۳). اسید فولیک دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد و در حذف رادیکال‌های آزاد، کاهش استرس اکسیداتیو و در نتیجه کاهش آسیب بافتی نقش مهمی دارد (۱۱). فولات برای تنظیم سطوح هموسیستین، متابولیسم DNA، RNA و متیلاسیون پروتئین‌های متعدد و اجزاء ساختاری سلول لازم است (۱۶). مطالعات نشان می‌دهند درمان با اسید فولیک به طور معنی‌داری مرگ نوروپاتی حرکتی در اختلالات حرکتی و همچنین بروز بیماری پارکینسون را کاهش می‌دهد (۲۶). همچنین نشان داده شده که کمبود فولات همراه

نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان داد که اسید فولیک می‌تواند موجب کاهش آسیب وارده به بیضه متعاقب القا ایسکمیک - بازخونسازی در موش صحرایی گردد. اکثر مراحل سیکل متابولیکی فولات در انسان و پستانداران در سیستم گوارش و مخصوصاً کبد صورت می‌گیرد. جریان داخل کبدی فولات، تغییر شکل زیستی دهیدروفولات و مشتقات فرمیل‌هیدروفولات به شکل فعال MTHF در روده کوچک انجام می‌شود و فرآیند نهایی شکل‌گیری پلی‌گلوتامات و ذخیره فولات که همگی برای هومئوستاز فولات مورد نیاز است در داخل کبد صورت می‌گیرد. هر بیماری گذرا یا مزمن اثر زیادی بر زیست دسترسی فولات دارد. کمبود فولات رخداد معمول در بسیاری از بیماری‌های کبدی است و اسید فولیک درمان معمول در بیماران کبدی است. اسید فولیک دارای نقش اساسی در سنتز پورین و تیمیدین، تنظیم سیکل سلولی، آپوپتوز و ابقاء ثبات DNA دارد. علی‌رغم وجود اطلاعات مهم در ارتباط با نقش مکمل اسید فولیک در پیشگیری از سرطان و بیماری‌های قلبی عروقی، دانسته‌های کمی در ارتباط با اسید فولیک در سایر بیماری‌ها وجود دارد (۱۷). در سال ۲۰۰۳ power ثابت کرده کاهش یا توقف خونرسازی به بیضه باعث افزایش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن (reactive oxygen species) در بیضه می‌شود (۱۸). رادیکال‌های آزاد اتم‌ها یا ملکولهایی با یک یا تعداد بیشتر الکترون جفت نشده هستند. رادیکال‌های آزاد عناصر اکسیدکننده‌ای هستند زیرا آنها تمایل به گرفتن الکترون از اتم‌ها و مولکول‌های دیگر دارند تا به صورت جفت الکترون درآیند. رادیکال‌های آزاد به DNA، پروتئین‌ها و لیپیدها از راه‌های مختلف صدمه می‌زنند که منجر به تخریب ژن‌ها، پروتئین‌های ساختمانی، آنزیم‌ها و سطح سلول‌ها می‌شوند. Paller نشان داده که اسپرم پستانداران غنی از اسیدهای چرب غیر اشباع می‌باشد، بنابراین به تهاجم

سلولی برای از بین بردن این رادیکال‌های آزاد داخل سلولی کافی نمی‌باشد (۵). در این زمان آنتی‌اکسیدان‌هایی بمانند اسید فولیک می‌توانند عواقب منفی ناشی از جراحت ایسکمی را کاهش دهند (۵). اسید فولیک دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد و در حذف رادیکال‌های آزاد، کاهش استرس اکسیداتیو و در نتیجه کاهش آسیب بافتی نقش مهمی دارد (۱۱). اسید فولیک با کاهش نفوذ لوکوسیت‌ها موجب تخفیف واکنش التهابی می‌شود و تولید بعضی میانجی‌های فیبروزی نظیر TGF توسط لوکوسیت‌ها را کاهش و از افزایش سنتز کلاژن و فیبروز پیشگیری می‌کند (۱۰). اثرات ضد التهابی اسید فولیک می‌تواند همراه با اثرات آنتی‌اکسیدانی یا ضد التهابی تولید سیتوکین باشد. اثر آنتی‌فیبروتیک اسید فولیک می‌تواند مرتبط با بلوک میتوزنیک TGF و سیگنال‌های فیبروزنیک باشد که در نهایت از آپوپتوز سلول‌ها پیشگیری می‌کند (۹). برخی درمان‌های خوراکی که هزینه کمتری دارند، باعث بهبود پارامترهای اسپرم (تعداد، تحرک) می‌شوند. تجویز اسید فولیک در بهبود پارامترهای اسپرم مؤثر شناخته شده است. این ویتامین در تقسیم‌های سلولی نقش بسزایی دارد و حرکت و کیفیت اسپرم را بهبود می‌بخشد (۲۱). نتایج تحقیق حاضر نشان داد که گروه‌های تحت درمان با اسید فولیک نتایج ارزیابی سیمین کیفیت بهتری را نشان می‌داد؛ نتایج اماری مربوط به درصد حرکت پیشرونده اسپرم، درصد حیات اسپرم و غلظت اسپرم در واحد حجم اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های درمان شده با گروه IR را نشان می‌دهد که با مطالعات مشابه همخوانی دارد. در نهایت می‌توان اینطور بیان کرد که اسید فولیک دارویی موثر برای کاهش عوارض ناشی از القا ایسکمی - بازخونسازی در بیضه موش صحرایی می‌باشد و استفاده از آن در کنار سایر روش‌های درمانی، برای کاهش میزان آسیب‌های ایسکمی - بازخونسازی در بیضه می‌تواند مفید باشد.

با تعداد زیادی از اختلالات نظیر نقص لوله عصبی، کم خونی مگالوبلاستیک، تسریع فرآیند آترواسکلروز، اختلالات عصبی - روانی، اوستئوپوروز و بعضی سرطان‌ها است (۲۲). اسید فولیک به عنوان یک ماده مغذی نقش مهمی در متابولیسم آمینواسیدها و بیوسنتز نوکلئوتیدها ایفا می‌کند و برای تقسیم سلولی، رشد و هموستاز بدن مورد نیاز است (۲۵). اسید فولیک باعث افزایش ثابت غشاء سلولی (۲۴) و حفاظت DNA از آسیب و نارسایی سلولی جلوگیری کند (۲۷). اسید فولیک موجب حفظ فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنزیم SOD می‌شود، آنزیم SOD به عنوان تسریع کننده بازیابی و ترمیم سلولها نیز شناخته می‌شود و آسیب ایجاد شده به وسیله رادیکال‌های آزاد را کاهش می‌دهد (۱۹). مطالعات مختلف گزارش کرده‌اند که آسیب‌های اکسیداتیو به دنبال کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بر ضد پراکسیداسیون لپیدی ایجاد می‌شود، همچنین از طریق کمبود فولات به دنبال مهار آنزیم دهیدروفولات ردوکتاز ایجاد می‌گردد (۸). یافته‌ها نشان می‌دهند که کمبود فولات موجب افزایش استرس اکسیداتیو می‌شود و رخدادهای تجربی نشان داده که اسید فولیک به وسیله خاصیت آنتی‌اکسیدانی خود و کاهش پراکسیداسیون لپیدی عمل می‌کند (۲۲). در تحقیقی که توسط Mursillach و همکارانش در موش‌هایی که به طور تجربی در معرض تراکلرید کربن قرار گرفته بودند انجام شد، مشاهده گردید که نکروز کبدی، التهاب و ایجاد پل‌های فیبروزی در کبد با دریافت مکمل اسید به میزان زیادی بدتر شد و تغییرات هیستوشیمی و بیوشیمی شدیدی در آن رخ داد. هیستولوژی کبد همراه با ایجاد دیواره‌های فیبروتیک ضخیم، تولید ندول و افزایش بیان ژن‌های درگیر در فرآیند فیبروزن بود. این محقق این اثر را به دوز استفاده شده مکمل اسید فولیک در این مطالعه نسبت می‌دهد و عنوان می‌کند که دوز استفاده شده به طور مشخصی بیشتر از دوز درمانی استاندارد بوده است (۱۲). در شرایط ایسکمی ظرفیت سیستم آنتی‌اکسیدانی داخل

فهرست منابع

1. Asghari, A., Akbari, G., Beigi, A., Mortazavi, P. (2016): Tramadol reduces testicular damage of ischemia-reperfusion rats. *Anim. Repro.* 13(4): 811-819.
2. Asghari, A., Akbari, G., Galustanian, G. (2016): Magnesium sulfate improves sperm characteristics against varicocele in Rat. *Cres. J. Med. Bio. Sci.* 355-59.
3. Asghari, A., Akbari, G., Meghdadi, A., Mortazavi, P. (2016): Effects of melatonin and metformin co-administration on testicular ischemia/reperfusion injury in rats. *J. Ped. Uro.* 12(6): 410. e1-410. e7.
4. Bjelakovic, G., Pavlovic, D., Jevtovic, T., Stojanovic, I., Sokolovic, D., Bjelakovic, G. B., Nikolic, J., Basic, J. (2006): Vitamin B12 and folic acid effects on polyamine metabolism in rat liver. *Pteridines.* 17(3): 90-94.
5. Dernek, S., Ikizler, M., Erkasap, N., Ergun, B., Koken, T., Yilmaz, K., Sevin, B., Kaygisiz, Z., Kural, T. (2004): Cardioprotection with resveratrol pretreatment: improved beneficial effects over standard treatment in rat hearts after global ischemia. *Scan. Cardio. J.* 38(4): 245-254.
6. Etensel, B., Özkısacık, S., Özkara, E., Karul, A., Öztan, O., Gürsoy, H. (2007): Dexpanthenol attenuates lipid peroxidation and testicular damage at experimental ischemia and reperfusion injury. *Pediatric surg. int.* 23(2): 177-181.
7. Fellstrom, B., Akuyrek, LM, Zezina, L (1998): Post ischemic reperfusion injury and allograft arteriosclerosis. *Transplant Proc.* 384278-4280.
8. Lambie, D. G., Johnson, R. H. (1985): Drugs and folate metabolism. *Drugs.* 30(2): 145-155.
9. Liu, R.-M., Pravia, K. G. (2010): Oxidative stress and glutathione in TGF- β -mediated fibrogenesis. *Free Radical Bio. and Medic.* 48(1): 1-15.
10. Maher, J. J. Interactions between hepatic stellate cells and the immune system. *Seminars in liv. dis.* , 2001. 417-426.
11. Mannino, D. M., Mulinare, J., Ford, E. S., Schwartz, J. (2003): Tobacco smoke exposure and decreased serum and red blood cell folate levels: data from the third national health and nutrition examination Survey. *Nicotine & tobacco res.* 5(3): 357-362.
12. Marsillach, J., Ferre, N., Camps, J., Riu, F., Rull, A., Joven, J. (2008): Moderately high folic acid supplementation exacerbates experimentally induced liver fibrosis in rats. *Experiment. Bio. and Medic.* 233(1): 38-47.
13. Milman, N. (2012): Intestinal absorption of folic acid-new physiologic & molecular aspects. *The India. j. medic. res.* 136(5): 725.
14. Oldenburg, O., Qin, Q., Krieg, T., Yang, X.-M., Philipp, S., Critz, S. D., Cohen, M. V., Downey, J. M. (2004): Bradykinin induces mitochondrial ROS generation via NO, cGMP, PKG, and mitoKATP channel opening and leads to cardioprotection. *Amerin J. Physio. Heart and Circulatory Physio.* 286(1): H468-H476.
15. Paller, M. S., Hoidal, J., Ferris, T. F. (1984): Oxygen free radicals in ischemic acute renal failure in the rat. *J. Clinic. Investigation.* 74(4): 1156.
16. Pietrzik, K., Bailey, L., Shane, B. (2010): Folic acid and L-5-methyltetrahydrofolate. *Clinic. pharmacokinetics.* 49(8): 535-548.
17. Ponziani, F. R., Cazzato, I., Danese, S., Fagioli, S., Gionchetti, P., Annicchiarico, B., D'Aversa, F., Gasbarrini, A. (2012): Folate in gastrointestinal health and disease. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 16(3): 376-85.
18. Power, R. E., Scanlon, R., Kay, E. W., Creagh, T. A., Bouchier-Hayes, D. J. (2003): Long-term protective effects of hypothermia on reperfusion injury post-testicular torsion. *Scandinavian j. uro. and nephro.* 37(6): 456-460.
19. Sarna, L. K., Wu, N., Wang, P., Hwang, S.-Y., Siow, Y. L., O, K. (2012): Folic acid supplementation attenuates high fat diet induced hepatic oxidative stress via regulation of NADPH oxidase. *Canadian j. physio. and pharmaco.* 90(2): 155-165.
20. Seth, P., Kumari, R., Madhavan, S., Singh, A. K., Mani, H., Banaudha, K. K., Sharma, S. C., Kulshreshtha, D. K., Maheshwari, R. K. (2000): Prevention of renal ischemia-reperfusion-induced injury in rats by

- picroliv. *Biochemic.pharmaco.* 59(10): 1315-1322.
21. Sinclair, S. (2000): Male infertility: nutritional and environmental considerations. *Alternative med. review: j.clinical therapeutic.* 5(1): 28-38.
22. Soliman, M. E. (2009): Evaluation of the possible protective role of folic acid on the liver toxicity induced experimentally by methotrexate in adult male albino rats. *Eg.J Histol.* 32(1): 118-128.
23. Unal, D., Yeni, E., Erel, O., Bitiren, M., Vural, H. (2002): Antioxidative effects of exogenous nitric oxide versus antioxidant vitamins on renal ischemia reperfusion injury. *Uro. Research.* 30(3): 190-194.
24. Vogel, H. (2002): Carbon tetrachloride induced liver fibrosis in rats. *Drug discovery and evaluation, pharmaco.assays*, 2nd edn. Vogel HG, Vogel WH (eds). Springer Verlag: Berlin. 942pp.
25. Ying, Y., Bing, Y., CHEN, D.-w., Gang, T., MAO, X.-b., ZHENG, P., LIU, J.-b. (2013): Effect of Dietary folic Acid supplementation on growth performance and hepatic protein metabolism in early-weaned intrauterine growth retardation piglets. *J. Integrative Agricul.* 12(5): 862-868.
26. Zhang, X., Chen, S., Li, L., Wang, Q., Le, W. (2008): Folic acid protects motor neurons against the increased homocysteine, inflammation and apoptosis in SOD1 G93A transgenic mice. *Neuropharmaco.* 54(7): 1112-1119.
27. Zviarynski, I., Zavodnik, L. (1999): The effect of folic acid on the drug metabolizing liver function in man with viral hepatitis. *Experiment. and Toxic. Patho.* 51(4): 455-457.