مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و دوم/شماره ۲۸۷/هفته چهارم تیر ماه ۱۳۹۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۲/۹
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۴/۳

بررسی اثرات دوزهای پایین تیموکینون بیرونی بر حرکت و زنده ماندن اسپرم در مردان نورموزواسپرمی

خاطره فاضلیان[۱]، دکتر غلامرضا دشتی[۲]، دکتر فرهاد گلشن ایرانپور[۳]، شکوفه بقازاده[۴]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: تحرک اسپرم فرایند بسیار پیچیده‌ی مولکولی است که در نتیجه‌ی موج‌های عرضی موجود در طول فلاژلای اسپرم می‌باشد. تیموکینون، فراوان‌ترین بخش فعال جداسازی شده از سیاهدانه است. مشخص گردیده است که به کار بردن تیموکینون در موجود زنده، می‌تواند اسپرماتوژنز را پیشرفت دهد و تعداد و حرکت اسپرم‌ها را افزایش بخشد. هدف از این مطالعه، بررسی اثرات دوزهای پایین تیموکینون در محیط کشت بر روی حرکت و زنده ماندن اسپرم انسان است.

روش‌ها: ۲۰ نمونه‌ی مایع منی مردان نورموزواسپرمی در محیط Ham's F۱۰ حاوی آلبومین شسته شدند. برای هر کدام از غلظت‌های تیموکینون (۵ و ۱۰ µg/ml) ده نمونه در نظر گرفته شد. پس از شستن نمونه، دو کسر از آن با یا بدون دوز مورد نظر تیموکینون انکوبه شدند. حرکت و زنده ماندن اسپرم‌ها پس از دو ساعت انکوبه کردن اندازه‌گیری شدند. علاوه بر آن، حرکت اسپرم به صورت پیش‌رونده‌ی سریع و کند، غیر پیش‌رونده و بی‌حرکت درجه‌بندی شد.

یافته‌ها: هر دو دوز به کار رفته‌ی تیموکینون درصد کل اسپرم‌های متحرک و پیش‌رونده‌ی سریع را افزایش دادند. استفاده از دوز ۱۰ µg/ml تیموکینون درصد اسپرم‌های پیش‌رونده‌ی کند را افزود؛ در حالی که دوز ۵ µg/ml آن را کاهش داد. با به کار بردن تیموکینون، تعداد اسپرم‌های غیر پیش‌رونده و بی‌حرکت کاهش یافت، اما درصد اسپرم‌های زنده تغییر نکرد.

نتیجه‌گیری: تیموکینون در دوزهای پایین می‌تواند تحرک اسپرم‌ها را در محیط کشت افزایش دهد.

واژگان کلیدی: سیاهدانه، اسپرم، حرکت اسپرم، تیموکینون

ارجاع: فاضلیان خاطره، دشتی غلامرضا، گلشن ایرانپور فرهاد، بقازاده شکوفه. **بررسی اثرات دوزهای پایین تیموکینون بیرونی بر حرکت و زنده ماندن اسپرم در مردان نورموزواسپرمی.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۲۸۷): ۷۸۳-۷۷۶

مقدمه

حرکت اسپرم‌ها یک فرایند مولکولی و بسیار پیچیده است که شامل اکسیداسیون و فسفوریلاسیون پروتئین‌ها در انتقال پیام‌ها از طریق غشای پلاسمایی و نیز تبدیل انرژی شیمیایی به مکانیکی در آکسونم می‌باشد. این حرکت با انتشار امواج عرضی در طول تاژک ایجاد می‌شود و انرژی لازم برای تولید این حرکت از طریق آدنوزین تری فسفات (ATP یا

* این مقاله حاصل پایان‌نامه‌ی دوره‌ی کارشناسی ارشد به شماره‌ی ۳۲۲۳۹۳ در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان است.

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم تشریح، دانشکده‌ی پزشکی و کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲- دانشیار، گروه علوم تشریح، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳- استادیار، گروه علوم تشریح، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۴- کارشناس آزمایشگاه، بیمارستان شهید بهشتی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: دکتر فرهاد گلشن ایرانپور
Email: fgolshaniranpour@yahoo.com

Adenosine triphosphate) تهیه می‌گردد. دو مسیر متابولیک موجود برای تولید ATP در نواحی مختلف دم اسپرم شامل تنفس میتوکندری از طریق فسفوریلاسیون اکسیداتیو و گلیکولیز می‌باشند (۱).

اسپرم‌ها را بر اساس میزان حرکتشان می‌توان به چندین گروه طبقه‌بندی کرد که شامل اسپرم‌های با حرکت پیش‌رونده‌ی سریع، اسپرم‌های با حرکت پیش‌رونده‌ی آهسته، اسپرم‌های با حرکت درجا و اسپرم‌های بی‌حرکت می‌باشند. آکسونم، الیاف متراکم خارجی، غشای میتوکندری و غلاف لیفی، عناصر سیتو اسکلتونی دم هستند که در حرکت اسپرم نقش مهمی ایفا می‌کنند. به نظر می‌رسد که غلاف لیفی، فسفوریلاسیون دینئین آکسونم را که نقطه‌ی تنظیمی حساسی در شروع حرکت فلاژلی است، بر عهده دارد. فسفوریلاسیون و دفسفوریلاسیون دینئین باید به طور غیر همزمان در طول آکسونم رخ دهند. پس از فسفوریلاسیون دینئین، ATPase فعال می‌شود و حرکت میکروتوبولی رخ می‌دهد (۲).

گیاه سیاهدانه با نام علمی Nigella sativa از خانواده‌ی آلاله‌ها (Rananculacea) گیاهی خودرو و یک ساله با گل‌های سفید و آبی رنگ می‌باشد که یکی از پرمصرف‌ترین گیاهان دارویی و فلور طبیعی اروپای جنوبی، آفریقای شمالی و آسیا است (۳). اصلی‌ترین مواد در دانه‌ی این گیاه، تیموکینون (Thymoquinone) (۳۰-۴۸ درصد)، P-Cymene (۷-۱۵ درصد)، ۴-Carvacrol (۶-۱۲ درصد)، ۴-Terpineol (۲-۷ درصد)، T-Anethole (۱-۴ درصد) و Sesquiterpene (۱-۸ درصد) می‌باشند (۴). تیموکینون ($C_{10}H_{12}O_2$) یک ترکیب فتوشیمیایی است که جزء اصلی و فعال این دانه‌ی گیاهی محسوب می‌گردد (۵).

تحقیقات زیادی در زمینه‌های مختلف بر روی سیاهدانه و تیموکینون انجام پذیرفته است که اثرات مفید این دو را اثبات نموده است. نتایج این مطالعات حاکی از اثرات ضد اکسیدانی (۴)، ضد هیستامینی (۶)، ضد التهابی (۷) و همچنین اثر بر سیستم قلب و عروق (۸)، کلیه و کبد (۹) و علاوه بر این‌ها اثرات ضد سرطانی آن‌ها است (۱۰).

در زمینه‌ی بررسی اثرات آن‌ها بر دستگاه تناسلی نر، اثرات تجویز خوراکی، تزریق داخل صفاقی سیاهدانه و تیموکینون در حیوانات آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفته است. با استفاده‌ی خوراکی تیموکینون و سیاهدانه در موش‌های صحرایی، افزایش وزن اندام تناسلی (بیضه‌ها، اپیدیدیم، سمینال وزیکول، بخش ونترال پروستات و وازودفران) مشاهده شد. سرعت حرکت و تعداد اسپرم‌ها در ناحیه‌ی دم اپیدیدیم افزایش یافت و علاوه بر این، روند اسپرماتوژنز در مراحل اسپرماتوسیت اولیه، ثانویه و اسپرماتوزوآ و فعالیت ترشحی غدد فرعی ژنیتال به میزان قابل توجهی بیشتر شد (۱۱).

تزریق داخل صفاقی روغن سیاهدانه در موش‌ها سبب افزایش ترشح هورمون‌های جنسی FSH (Follicle stimulating hormone)، LH (Luteinizing hormone) و تستوسترون گردید که این فرایند به دنبال فعال‌سازی محور هیپوتالاموهیپوفیزوتستیکولار ایجاد می‌شود و سپس هورمون LH آزاد می‌شود و منجر به بیوسنتز تستوسترون می‌گردد (۱۲).

مطالعات اندکی در زمینه‌ی اثرات تیموکینون بر باروری اسپرم‌ها در محیط کشت انجام شده است. تنها مطالعه‌ی انجام شده در زمینه‌ی تزریق داخل سلولی اسپرم (Intracytoplasmic sperm injection یا ICSI) و لقاح آزمایشگاهی (In vitro fertilisation یا IVF) موش نشان داده است که استفاده از تیموکینون (۱۰ µg/ml) سرعت حرکت اسپرم‌ها و میزان لقاح و رشد جنین در شرایط in vitro را کاهش می‌دهد (۱۳). این در حالی است که تحقیق دیگری که به بررسی اثرات تیموکینون (۱، ۱۰ و ۱۰۰ میکرومول) در بهبود تغییرات ناشی از تزریق داخل صفاقی سیکلوفسفامید در محیط کشت اسپرم‌ها و تخمک‌های لقاح یافته می‌پردازد، نشان داده است که میزان باروری در رت‌ها افزایش یافته و به طور مؤثری درصد بلاستومرهای ناقص و جنین‌های متلاشی شده کاهش یافته است. نتایج این مطالعه اثبات می‌کند که وجود تیموکینون در محیط کشت، آنتی اکسیدان مناسبی برای حفظ جنین با کیفیت مناسب می‌باشد (۱۴).

همچنین تیموکینون روی پروتئین P۵۳ اثر می‌گذارد و فاز G۱ میوز را تنظیم می‌کند (۱۵). با توجه به مطالعات بسیار کم و وجود نتایج متفاوت، هدف از این مطالعه بررسی اثرات تیموکینون در دوزهای پایین بر حرکت و زنده ماندن اسپرم‌ها در محیط کشت بود.

روش‌ها

طراحی تحقیق

مطالعه‌ی حاضر به صورت کارآزمایی بالینی آینده‌نگر بود که در مرکز ناباروری بیمارستان شهید بهشتی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان انجام شد. ۲۰ نمونه مایع منی مورد استفاده در این بررسی بر اساس معیارهای سازمان جهانی بهداشت (۱۶) نورموزواسپرم بودند.

در این مطالعه، دو دوز ۵ µg/ml و ۱۰ تیموکینون مورد استفاده قرار گرفت که هر یک بر روی ۱۰ نمونه‌ی مایع منی آزمایش شدند. روش کار بدین ترتیب بود که پس از شستشوی نمونه‌ی مایع منی در محیط کشت Hams’ F۱۰ همراه با آلبومین، دو کسر ۰/۵ ml از نمونه در لوله‌ی آزمایش‌های جداگانه به عنوان نمونه‌ی مورد و نمونه‌ی شاهد در نظر گرفته شدند. این دو نمونه، با ۰/۵ ml از محیط کشت با یا بدون دوز مورد نظر از تیموکینون به مدت دو ساعت انکوبه شدند. پس از آن درصد اسپرم‌های متحرک و زنده در نمونه‌های مورد و شاهد اندازه‌گیری شد.

تهیه و بررسی نمونه‌های مایع منی

افراد مراجعه کننده به مرکز ناباروری حدود ۷-۳ روز مقاربت نداشتند. نمونه‌های مایع منی در ظروف استریل دهانه گشاد (SUPA-Iran) جمع‌آوری شد و سپس حدود ۳۰-۲۰ دقیقه جهت مایع شدن در انکوباتور ۳۷ ^{o}C قرار گرفتند. ابتدا نمونه‌ها توسط محیط کشت Ham’s F۱۰ همراه با آلبومین شسته شدند.

روش اندازه‌گیری درصد اسپرم‌های متحرک و زنده در نمونه‌ها

جهت اندازه‌گیری درصد اسپرم‌های متحرک از تمامی نمونه‌های مورد و شاهد پس از انکوبه کردن، لام مرطوب تهیه شد و سپس لام‌ها با میکروسکوپ نوری مجهز به سیستم CASA (Computer assisted sperm analysis) و با عدسی ۴۰ آنالیز شدند. با این روش، درصد کل اسپرم‌های متحرک و نیز درصد اسپرم‌های متحرک پیش‌رونده‌ی

سریع، متحرک پیش‌رونده‌ی آهسته، متحرک درجا و غیر متحرک در نمونه‌های مورد و شاهد محاسبه گردید.

درصد تعداد اسپرم‌های زنده در نمونه‌های مورد و شاهد نیز با استفاده از روش رنگ‌آمیزی EosinY (Sigma) مورد ارزیابی قرار گرفت به این ترتیب که هر ۵ میکرون از نمونه‌ی اسپرم شسته شده با ۵ میکرون از محلول EosinY روی یک لام مخلوط شد و سپس تعداد اسپرم‌های رنگ نشده (زنده) توسط میکروسکوپ نوری و با عدسی ۴۰ مورد شمارش قرار گرفت. در هر لام، تعداد ۲۰۰ عدد اسپرم شمرده شدند و این کار حداقل دو بار تکرار شد و میانگین دو عدد گرفته شد. اسپرم‌هایی که رنگ ائوزین به سیتوپلاسم آن‌ها نفوذ نکند، غشای سالم دارند و بنابراین زنده هستند.

تهیه‌ی محلول‌های تیموکینون

تیموکینون از شرکت (Sigma, USA) خریداری شد و سپس ۰/۰۲ گرم از آن در کمترین میزان ممکن از DMSO (Sigma, dimethylsulfoxide) حل شد تا محلول استوک تیموکینون به دست آید. غلظت‌های ۵ µg/ml و ۱۰ تیموکینون با افزودن محیط کشت به محلول استوک به دست آمد.

تجزیه و تحلیل اطلاعات

نتایج به دست آمده توسط آنالیز آماری با کمک نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۰ (version 20, SPSS Inc., Chicago, IL) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. جهت آنالیز داده‌ها، از آزمون‌های آماری شامل آزمون One-way ANOVA (One-way analysis of variance) و آزمون تعقیبی Duncan و همچنین آزمون t زوجی استفاده شد.

یافته‌ها

افزودن هر دو دوز ۵ µg/ml و ۱۰ تیموکینون نسبت به نمونه‌های شاهد باعث افزایش درصد اسپرم‌های با حرکت پیش‌رونده‌ی سریع و نیز کاهش اسپرم‌های غیر متحرک شد (جدول ۱).

جدول ۱. میانگین انواع حرکت اسپرم‌ها

	نمونه‌ها (انحراف معیار ± میانگین)	۵ µg/ml	۱۰ µg/ml
درصد کل	شاهد	۷۷/۷۰ ± ۵/۶۰	۸۰/۹۰ ± ۴/۶۰
	مورد	۸۸/۵۰ ± ۲/۰۱	۹۲/۶۰ ± ۲/۴۰
	مقدار P	۰/۰۳	۰/۰۲
حرکت پیش‌رونده‌ی سریع	شاهد	۲۷/۰۰ ± ۳/۰۵	۲۴/۷۰ ± ۳/۴۰
	مورد	۵۲/۹۰ ± ۴/۲۰	۳۶/۵۰ ± ۲/۸۰
	مقدار P	< ۰/۰۰۱	< ۰/۰۰۱
حرکت پیش‌رونده‌ی کند	شاهد	۳۲/۸۰ ± ۵/۴۰	۳۳/۰۰ ± ۲/۹۰
	مورد	۲۵/۷ ± ۴/۸۰	۴۳/۱۰ ± ۲/۵۰
	مقدار P	۰/۰۱۰	< ۰/۰۰۱
حرکت درجا	شاهد	۱۷/۹۰ ± ۲/۴۰	۲۳/۲۰ ± ۳/۴۰
	مورد	۹/۹۰ ± ۱/۲۰	۱۳/۰۰ ± ۱/۸۰
	مقدار P	۰/۰۲۰	< ۰/۰۰۱
بی‌حرکت	شاهد	۲۱/۷۰ ± ۶/۳۰	۱۷/۶۰ ± ۳/۶۰
	مورد	۱۱/۴۰ ± ۱/۹۰	۷/۸۰ ± ۱/۹۰
	مقدار P	۰/۰۱۰	< ۰/۰۰۱

جدول ۲. میانگین درصد بقای اسپرم‌ها

گروه‌ها	نمونه‌ی شاهد	نمونه‌ی مورد	مقدار P
	انحراف معیار ± میانگین	انحراف معیار ± میانگین	
۵ µg/ml	۵۸/۷ ± ۲/۷	۵۷/۱ ± ۲/۵	۰/۴۹
۱۰ µg/ml	۶۰/۸ ± ۲/۴	۵۸/۲ ± ۲/۹	۰/۱۰

نتایج حاصل از بررسی حرکت اسپرم‌ها نشان داد که با افزودن تیموکینون درصد کل حرکت اسپرم‌های متحرک در هر دو گروه افزایش می‌یابد و هر دو گروه، تعداد اسپرم‌های با حرکت پیش‌رونده‌ی سریع را افزایش می‌دهند و منجر به کاهش تعداد اسپرم‌های با حرکت درجا و بی‌حرکت می‌شوند. دوز ۱۰ µg/ml تعداد اسپرم‌های با حرکت پیش‌رونده‌ی آهسته را افزایش می‌دهد، اما دوز ۵ µg/ml منجر به کاهش تعداد آن‌ها می‌شود.

نتایج حاصل از بررسی درصد بقای اسپرم‌ها هیچ تفاوت معنی‌داری بین نتایج گروه مورد و شاهد در هر دو دوز ۵ µg/ml و ۱۰ نشان نداد و علاوه بر آن، هیچ تفاوت معنی‌داری بین دو دوز ۵ µg/ml و ۱۰ نیز مشاهده نگردید (جدول ۲).

بدین ترتیب، تیموکینون در دوزهای پایین منجر به افزایش حرکت اسپرم‌ها در محیط کشت می‌شود، بدون آن که در بقای آن‌ها تأثیر منفی بگذارد.

بحث

بررسی مطالعات انجام گرفته، اثرات مؤثر تیموکینون و سیاهدانه را بر بهبود عملکرد دستگاه تناسلی نر در نمونه‌های حیوانی نشان می‌دهد. به این نحو که استفاده‌ی خوراکی تیموکینون سرعت حرکت و تعداد اسپرم‌ها را افزایش می‌دهد و روند اسپرماتوژنز را بهبود می‌بخشد (۱۱). همچنین استفاده‌ی خوراکی سیاهدانه، جمعیت سلول‌های ژرمینال را افزایش می‌دهد و تعداد سلول‌های لیدیگ بالغ و نابالغ را زیاد می‌کند و نیز از دژنره شدن سلول‌ها می‌کاهد. اگر میزان ۳۰۰ mg/kg از سیاهدانه را به موش‌های نر به صورت خوراکی بدهیم، تعداد حاملگی موش‌های ماده‌ی آن‌ها افزایش می‌یابد و تعداد لانه‌گزینی‌ها و جنین‌های زنده‌ی آن‌ها افزایش و تعداد سقط‌ها کاهش می‌یابد و ترشحات مایع منی را افزایش می‌دهد (۱۷).

در مطالعه‌ای نشان داده شده است که مصرف خوراکی عصاره‌ی سیاهدانه، تولید روزانه‌ی اسپرم را به خصوص در دوزهای بالا افزایش می‌دهد، اما در حرکت و حیات آن‌ها تغییری حاصل نمی‌شود. با این وجود در سایر مطالعات قبلی، ذخیره‌ی اسپرم‌ها در اپیدیدیم و تولید روزانه‌ی اسپرم با مصرف خوراکی سیاهدانه ارتباطی نشان نداده است؛ در حالی که شمارش، حرکت و حیات اسپرم‌ها افزایش داشته است (۱۸). همچنین تزریق داخل صفاقی روغن سیاهدانه در موش‌ها، منجر به افزایش ترشح هورمون‌های جنسی می‌گردد (۱۲).

نتایج تحقیق حاضر حاکی از آن است که تیموکینون در دوزهای ۵ µg/ml و ۱۰ می‌تواند بر درصد کل اسپرم‌های متحرک و نیز درصد اسپرم‌های پیش‌رونده‌ی سریع بیفزاید. این نتایج با نتایج تحقیق انجام شده توسط Alhimaidi (۱۳) مغایر و با نتایج تحقیق Kamarzaman و همکاران (۱۴) مطابق می‌باشد.

Alhimaidi با استفاده از تیموکینون (۱۰ mg) در محیط کشت اسپرم‌ها و نیز در موقع بارور کردن تخمک‌های موش با استفاده از روش‌های ICSI (تزریق داخل اسپرمی) و IVF (لقاح آزمایشگاهی) نتیجه‌گیری کردند که مصرف تیموکینون باعث کاهش سرعت حرکت اسپرم‌ها و میزان لقاح و رشد جنین در محیط کشت می‌شود (۱۳). این در حالی است که Kamarzaman و همکاران جهت بررسی تغییرات ناشی از تزریق داخل صفاقی سیکلوفسفامید در موش‌های نر و ماده، از تیموکینون در دوزهای ۱، ۱۰ و ۱۰۰ میکرومول در محیط کشت IVF استفاده و چنین نتیجه‌گیری کردند که تیموکینون باعث افزایش میزان باروری در موش‌ها می‌شود و تعداد بلاستومرهای ناقص و جنین‌های متلاشی شده را کاهش می‌دهد و در نتیجه، تیموکینون را به عنوان آنتی اکسیدان مناسبی جهت حفظ جنین‌ها محسوب نمودند (۱۴).

با بررسی مغایرت و تضاد نشان داده شده بین نتایج حاصل از مصرف تیموکینون در محیط کشت، می‌توان چنین بیان نمود که این اختلاف ممکن است ناشی از میزان دوزهای مصرفی در این مطالعات باشد. دوزهای استفاده شده در این مطالعه، نزدیک به دوزهای مطالعه‌ی Kamarzaman و همکاران (۱۴) هستند. نتایج حاصل نشان داد که مصرف تیموکینون در دوزهای پایین در نمونه‌های انسانی در محیط کشت، منجر به افزایش کلی حرکت اسپرم‌ها می‌شود و هر دو دوز با کاهش اسپرم‌های غیر متحرک و با حرکت درجا بر تعداد اسپرم‌های با حرکت سریع پیش‌رونده می‌افزایند. دوز ۱۰ µg/ml تعداد سلول‌های پیش‌رونده‌ی کند را نیز افزایش می‌دهد؛ اما دوز ۵ µg/ml از تعداد آن‌ها می‌کاهد.

نتایج به دست آمده در زمینه‌ی کاهش میزان اسپرم‌های زنده در دوزهای مختلف تیموکینون، در عمل مؤید نتایج مربوط به تحرک می‌باشد و بیانگر آن است که تیموکینون در دوزهای پایین، برای اسپرم‌ها کشنده نیست و می‌تواند بر بهتر نمودن تحرک اسپرم‌ها مؤثر باشد.

به طور کلی نتایج این مطالعه، نتایج مطالعه‌ی Kamarzaman و همکاران (۱۴) را تأیید می‌کند. در مورد نتایج مطالعه‌ی Alhimaidi (۱۳)، به دلیل میزان بالای دوز تیموکینون به کار برده شده، نیاز به تحقیقات بیشتری می‌باشد. بدین ترتیب، دوزهای پایین تیموکینون می‌توانند سبب افزایش تعداد اسپرم‌های متحرک در محیط کشت شوند و احتمال می‌رود بتوانند در آینده جهت بهبود محیط‌های کشت و نگاهداری اسپرم‌ها مفید واقع گردند.

تشکر و قدردانی

از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی اصفهان به دلیل حمایت مالی سپاسگزاری می‌گردد.

References

1. Ford WC. Glycolysis and sperm motility: does a spoonful of sugar help the flagellum go round? Hum Reprod Update 2006; 12(3): 269-74.
2. Tash JS. Protein phosphorylation: the second messenger signal transducer of flagellar motility. Cell Motil Cytoskeleton 1989; 14(3): 332-9.
3. Goreja WG. Black seed: Nature's Miracle Remedy. New York, NY: Amazing Herbs Press; 2003.

4. Burits M, Bucar F. Antioxidant activity of Nigella sativa essential oil. Phytother Res 2000; 14(5): 323-8.
5. Chaieb K, Kouidhi B, Jrah H, Mahdouani K, Bakhrouf A. Antibacterial activity of Thymoquinone, an active principle of Nigella sativa and its potency to prevent bacterial biofilm formation. BMC Complement Altern Med 2011; 11: 29.
6. Boskabady MH, Shirmohammadi B, Jandaghi P, Kiani S. Possible mechanism(s) for relaxant effect of aqueous and macerated extracts from Nigella sativa on tracheal chains of guinea pig. BMC Pharmacol 2004; 4: 3.
7. Mansour M, Tornhamre S. Inhibition of 5-lipoxygenase and leukotriene C4 synthase in human blood cells by thymoquinone. J Enzyme Inhib Med Chem 2004; 19(5): 431-6.
8. Boskabady MH, Shafei MN, Parsaee H. Effects of aqueous and macerated extracts from Nigella sativa on guinea pig isolated heart activity. Pharmazie 2005; 60(12): 943-8.
9. Nagi MN, Alam K, Badary OA, al-Shabanah OA, al-Sawaf HA, al-Bekairi AM. Thymoquinone protects against carbon tetrachloride hepatotoxicity in mice via an antioxidant mechanism. Biochem Mol Biol Int 1999; 47(1): 153-9.
10. Ait ML, Ait MH, Elabbadi N, Bensalah M, Gamouh A, Aboufatima R, et al. Anti-tumor properties of blackseed (Nigella sativa L.) extracts. Braz J Med Biol Res 2007; 40(6): 839-47.
11. AL- Zuhairy RGM. The phytotherapeutic effect of traditional crude oil of Nigella sativa on male reproductive system of albino mice treated with low toxic dose of paracetamol. Medical Journal of Babylon 2012; 9(1): 229-37.
12. El Khasmi M, Allah AI, Farh M, Riad F, Safwate A, El Abbadi N, et al. Effet de l'huile fixe de la nigelle (Nigella sativa L.) sur le profil des androgènes chez le rat male. Phytothérapie 2011; 9(6): 338-42.
13. Alhimaidi AR. Thymoqunone treatment of intracytoplasmic sperm injection (ICSI) compared to in vitro fertilization (IVF) of mice oocytes and their development in vitro. Adv Mol Med 2005; 1(3): 119-23.
14. Kamarzaman S, Yazmie A, Rahman SA. Effects of thymoquinone supplementation on cyclophosphamide toxicity of mouse embryo In vitro. Global Veterinaria 2014; 12(1): 80-90.
15. Al-Zahrani S, Mohany M, Kandeal S, Badr G. Thymoquinone and vitamin E supplementation improve the reproductive characteristics of heat stressed male mice. Journal of Medicinal Plants Research 2012; 6(3): 493-9.
16. World Health Organization, Department of Reproductive Health and Research. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. Geneva, Switzerland: WHO; 2010.
17. Mohamad MA, Mohamad MMJ, Daradka H. Effects of black seeds (Nigella sativa) on spermatogenesis and fertility of male albino rats. Research Journal of Medicine and Medical Sciences 2009; 4(2): 386-90.
18. Bashandy AS. Effect of fixed oil 0f Nigela sativa on male fertility in normal and hyperlipidemic rats. Int J Pharmacol 2007; 3(1): 27-33.

Journal of Isfahan Medical School Received: 29.04.2014

Vol. 32, No. 287, 4th Week, July 2014 Accepted: 24.06.2014

Effects of Low Doses of Exogenous Thymoquinone on Sperm Motility and Viability of Normozoospermic Men

Khatereh Fazelian[1], Gholamreza Dashti PhD[2], Farhad Golshan-Iranpour PhD[3], Shekofeh Baghazadeh[4]

Original Article

Abstract

Background: Sperm motility is a highly complex molecular process which is the result of transverse waves exist along its flagellum. Thymoquinone (TQ) is the most abundant active component isolated from black seed (Nigella Sativa). It was revealed that in-vivo administration of thymoquinone could improve spermatogenesis and increase number and motility of spermatozoa. The aim of this study was to assess in-vitro effects of low doses of thymoquinone on motility and viability of human spermatozoa.

Methods: Twenty semen samples of normozoospermic men were washed in modified Ham's F10 medium containing albumin. 10 semen samples were used for each concentration of thymoquinone (5 and 10 µg/ml). Each sample was washed and two aliquots of it were incubated with or without considered dose of thymoquinone. Sperm motility and viability were assessed after two hours of incubation. Also, sperm motility was graded as fast- and slow-progressive, non-progressive and immotile.

Findings: Both doses of thymoquinone increased the percentage of total motile and fast-progressive sperms. Administration of 10 µg/ml of thymoquinone increased the percentage of slow-progressive sperms while the dose of 5 µg/ml reduced it. The percentage of non-progressive and immotile sperms was decreased but the percentage of viable sperms was not changed after using thymoquinone.

Conclusion: Low doses of thymoquinone can increase sperm motility in culture media.

Keywords: Nigella sativa, Spermatozoa, Sperm motility, Thymoquinone

Citation: Fazelian Kh, Dashti Gh, Golshan-Iranpour F, Baghazadeh Sh. **Effects of Low Doses of Exogenous Thymoquinone on Sperm Motility and Viability of Normozoospermic Men.** J Isfahan Med Sch 2014; 32(287): 776-83

* This paper is derived from a MSc thesis No. 322393 in Isfahan University of Medical Sciences.

1- MSc Student, Department of Anatomical Sciences, School of Medicine AND Student Research Committee, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
2- Associate Professor, Department of Anatomical Sciences, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
3- Assistant Professor, Department of Anatomical Sciences, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
4- Andrology Laboratory, Shahid Beheshti Hospital, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
Corresponding Author: Farhad Golshan Iranpour PhD, Email: fgolshaniranpour@yahoo.com