

## The Protective Effect of *Nigella sativa* on Sperm Parameter in Mice treated with Dexamethasone

Saied Miri<sup>1</sup>, Morteza Abouzarypor<sup>2</sup>, Mohammad jafar Rezaie<sup>3</sup>, Fardin Fathi<sup>4</sup>, Bahram Nikkho<sup>5</sup>, Daem Roshani<sup>6</sup>, Shiva Khalesro<sup>7</sup>, Erfan Daneshi<sup>8</sup>

1. MS.c. Cellular and Molecular Research Center, Research Institute for Health Development, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran. ORCID ID: 0000-0001-7367-11x

2. Assistant Professor, Cellular and Molecular Research Center, Research Institute for Health Development, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran. ORCID ID: 0000-0002-5073-4171

3. Associate Professor, Department of anatomical sciences, School of Medicine, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran. ORCID ID: 0000-0001-7332-1217

4. Professor, Cellular and Molecular Research Center, Research Institute for Health Development, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran. ORCID ID: 0000-0002-4648-5598

5. Associate Professor, Department of pathology, School of Medicine, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran. ORCID ID: 0000-0002-5050-793x

6. Associate Professor, Department of Epidemiology and Biostatistics, School of Medicine, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran. ORCID ID: 0000-0004-7461-114

7. Assistant Professor, Agronomy and plant breeding, department faculty of agriculture university of Kurdistan, Sanandaj, Iran. ORCID ID: 0000-0003-3264-1673

8. Assistant Professor, Cellular and Molecular Research Center, Research Institute for Health Development, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran., (Corresponding author), Tel: 087-33664658, E-mail: erfandaneshi@yahoo.com, ORCID ID: 0000-0003-3427-5478

### ABSTRACT

**Background and Aim:** Dexamethasone affects testis hemostasis through reduction of testosterone level. In one study dexamethasone induced spermatogenesis defects through epithelial vacuolizations and sloughing of germ cell layer.

**Materials and Methods:** Forty NMRI mice were randomly divided into four groups. Control and dexamethasone groups received normal saline and dexamethasone (5 mg/kg) respectively for 7 days. Dexamethasone and *Nigella sativa*(NS) (5 mg/kg) were given to the third group and the fourth group(*Nigella sativa* group) received 5 mg/kg *Nigella sativa* for 7 days. Epididymal sperm parameters were used for evaluation of the effects of dexamethasone and *Nigella sativa* on testis.

**Results:** Epididymal sperm parameters (count, motility and abnormal sperm) showed significant alterations in dexamethasone group ( $p < 0.05$ ). Treatment with NS+ dexamethasone significantly prevented these changes ( $p < 0.05$ ).

**Conclusion:** Numerous studies have been performed to evaluate destructive effects of dexamethasone on male reproductive system. The aim of this study was to assess protective effect of *Nigella sativa* against the side effects of dexamethasone on male reproductive system. We found that dexamethasone could decrease sperm parameters. These changes were reduced by using *Nigella sativa*.

**Keywords:** *Nigella sativa*, Dexamethasone, Sperm parameters

**Received:** Sep 24, 2019

**Accepted:** Dec 31, 2019

**How to cite the article:** Saied Miri, Morteza Abouzarypor, Mohammad jafar Rezaie, Fardin Fathi, Bahram Nikkho, Daem Roshani, Shiva Khalesro, Erfan Daneshi. The Protective Effect of *Nigella Sativa* On Sperm Parameter In Mice Treatment Dexamethasone. SJKU. 2020; 25 (3): 99-105

Copyright © 2018 the Author (s). Published by Kurdistan University of Medical Sciences. This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-Non Commercial License 4.0 (CCBYNC), where it is permissible to download, share, remix, transform, and buildup the work provided it is properly cited. The work cannot be used commercially without permission from the journal

## بررسی اثر محافظتی سیاهدانه بر پارامترهای اسپرم در موش‌های سوری تیمار شده با دگزامتازون

سعید میری<sup>۱</sup>، مرتضی ابوذر پور<sup>۲</sup>، محمد جعفر رضایی<sup>۳</sup>، فردین فتحی<sup>۴</sup>، بهرام نیکخو<sup>۵</sup>، دائم روشنی<sup>۶</sup>، شیوا خالص رو<sup>۷</sup>، عرفان

دانشی<sup>۸</sup>

۱. کارشناسی ارشد، مرکز تحقیقات علوم سلولی و مولکولی، پژوهشکده توسعه سلامت، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران. کد ارکید: ۷۳۶۷-۰۰۰۱-۰۰۰۰
۲. استادیار، مرکز تحقیقات علوم سلولی و مولکولی، پژوهشکده توسعه سلامت، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران. کد ارکید: ۴۱۷۱-۵۰۷۳-۰۰۰۲-۰۰۰۰
۳. دانشیار، گروه علوم تشریح، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران. کد ارکید: ۱۲۱۷-۷۳۳۲-۰۰۰۱-۰۰۰۰
۴. استاد، مرکز تحقیقات علوم سلولی و مولکولی، پژوهشکده توسعه سلامت، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران. کد ارکید: ۵۵۹۸-۴۶۴۸-۰۰۰۲-۰۰۰۰
۵. دانشیار، گروه پاتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران. کد ارکید: ۷۹۳-۵۰۵۰-۰۰۰۲-۰۰۰۰
۶. دانشیار، گروه اپیدمیولوژی و آمار، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران. کد ارکید: ۱۱۴-۷۴۶۱-۰۰۰۴-۰۰۰۰
۷. استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران. کد ارکید: ۱۶۷۳-۳۲۶۴-۰۰۰۳-۰۰۰۰
۸. استادیار، مرکز تحقیقات علوم سلولی و مولکولی، پژوهشکده توسعه سلامت، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران (نویسنده مسئول)، تلفن: ۰۹۱۸۸۷۱۳۷۲۱، پست الکترونیک: Erfan.daneshi@yahoo.com، کد ارکید: ۵۶۷۸-۳۴۲۷-۰۰۰۳-۰۰۰۰

### چکیده

**زمینه و هدف:** دگزامتازون بر روی هموستاز بیضه، از طریق کاهش سطح تستوسترون تاثیر می‌گذارد، در مطالعه‌ای نشان دادند که دگزامتازون باعث ایجاد نقص‌هایی در روند اسپرماتوژنز به طریق واکوئول جداشدگی و ریزش لایه اپیتلیوم ژرمینال می‌شود. هدف از این مطالعه بررسی اثر محافظتی سیاه‌دانه بر اثرات دگزامتازون در پارامترهای اسپرم می‌باشد.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه ۴۰ سر موش بالغ نژاد به‌صورت تصادفی در ۴ گروه قرار گرفتند. گروه اول که کنترل بود نرمال سالین به مدت ۷ روز داده شد. گروه دوم که گروه دگزامتازون بود به موش‌ها دگزامتازون با دوز ۵ میلی‌گرم به مدت ۷ روز داده شد. به گروه سوم که گروه درمان بود به موش‌ها با همان دوز دگزامتازون و سیاه‌دانه با دوز ۵ میلی‌گرم به مدت ۷ روز دریافت کردند و گروه چهارم که گروه سیاه‌دانه بود موش‌ها سیاه‌دانه را با دوز ۵ میلی‌گرم به مدت ۷ روز دریافت کردند. پارامترهای اسپرم جهت بررسی دگزامتازون و سیاه‌دانه انجام شد.

**یافته‌ها:** پارامترهای اسپرم که شامل "شمارش اسپرم، حرکت اسپرم و اسپرم‌های غیر نرمال" در گروه دگزامتازون بطور معنی‌داری تغییر پیدا کرد ( $p < 0.05$ ) که در گروه درمان این تغییرات به خاطر سیاه‌دانه کاهش کمتر شده بود ( $p < 0.05$ ).

**نتیجه‌گیری:** مطالعات زیادی ناشی از تاثیرات مخرب دگزامتازون بر سیستم تناسلی انجام شده است در این مطالعه سعی شده که اثر محافظتی سیاه‌دانه بر عوارض جانبی این دارو در سیستم تناسلی مردانه بررسی شود. در این تحقیق ثابت شد که دگزامتازون باعث کاهش پارامترهای اسپرم آیدیدم می‌شود که سیاه‌دانه این تغییرات را جبران کرده است.

**کلمات کلیدی:** سیاه‌دانه، دگزامتازون، اسپرم، پارامتر

وصول مقاله: ۹۸/۷/۲ اصلاحیه نهایی: ۹۸/۹/۲۷ پذیرش: ۹۸/۱۰/۱۰

## مقدمه

اسپرماتوژن فرآیند بسیار پیچیده و منحصر به فرد است که منتهی به تشکیل اسپرماتوزوئیدها می‌شود، عوامل متعددی می‌توانند بر اسپرماتوژن اثر کرده و منجر به ناباروری و یا کاهش باروری در فرد شود (۱). گلوکوکورتیکوئیدها برای حیات ضروری هستند و نقش‌های کلیدی در متابولیسم، سیستم ایمنی و مغز ایفا می‌کنند (۲). گلوکوکورتیکوئیدها هنگامی که در دوزهای درمانی تجویز می‌شوند، دارای اثرات قوی ضد التهابی و سرکوبگر ایمنی هستند (۳). دگزامتازون مانند سایر گلوکوکورتیکوئیدها مانع تجمع سلول‌های التهابی از جمله ماکروفاژها و لکوسیت‌ها در محل التهاب شده و از فاگوسیتوز و آزاد شدن آنزیم‌های لیزوزومی جلوگیری می‌کند و بدون تأثیر بر علل التهاب باعث کاهش واکنش‌های بافتی در روند التهاب می‌شود (۴). پدیده آپوپتوز ناشی از گلوکوکورتیکوئیدها از نظر بیولوژیکی و کلینیکی بسیار با اهمیت است (۵). دگزامتازون عضوی از خانواده گلوکوکورتیکوئیدها به شمار می‌آید؛ بنابراین یک نوع استروئید با خواص کاتابولیک است (۶). دگزامتازون بر روی هموستاز بیضه، از طریق کاهش سطح تستوسترون تأثیر می‌گذارد (۷)، در مطالعه‌ای نشان دادند که دگزامتازون باعث ایجاد نقص‌هایی در روند اسپرماتوژن می‌شود (۸). سیاه‌دانه (*Nagella sativa*) گیاهی است از خانواده آللاه که اثرات متعدد درمانی بر آن شناخته شده است (۹). این گیاه در طب سنتی بسیاری از کشورها استفاده می‌گردد (۱۰). تایموکنین یکی از ترکیب اصلی سیاه‌دانه است که دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی است (۱۱). مطالعات قبلی اثر محافظتی سیاه‌دانه را بر اثرات سمی موادی مثل بیس فنول و پارانونایل فنل رانشان داده اند (۱۲)؛ بنابراین در این مطالعه با توجه به اثرات مخرب دگزامتازون و استفاده آن در بالین، اثر محافظتی سیاه‌دانه بر اثرات سمی دگزامتازون مورد بررسی قرار گرفت.

## مواد و روش‌ها

## حیوان‌ها

در این مطالعه ۴۰ سر موش بالغ نژاد NMRI (موسسه تحقیقاتی پزشکی بومی) با سن ۸-۶ هفته و وزن ۲۵-۳۰ گرم استفاده شد. حیوانات در شرایط استاندارد آزمایشگاهی نگهداری شدند (۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی ۵۰٪ رطوبت و ۲۲ درجه سانتی‌گراد). قفس موش‌ها تمیز نگه‌داشته شدند و غذا و آب برای موش‌ها فراهم شد.

## انجام آزمایش

موش‌ها به صورت تصادفی به ۴ گروه تقسیم شدند. گروه اول که کنترل بود نرمال سالیین به مدت ۷ روز داده شد. گروه دوم که گروه دگزامتازون بود به موش‌ها با دوز ۵ mg/kg به صورت تزریق داخل صفاقی به مدت ۷ روز دگزامتازون داده شد (۱۳). به گروه سوم که گروه درمان (دگزامتازون+سیاه‌دانه) بود به موش‌ها ۵ mg/kg دگزامتازون داخل صفاقی و ۵ mg/kg سیاه‌دانه به صورت گاوژ داده شد (۱۴). در گروه چهارم که گروه سیاه‌دانه بود با دوز ۵ mg/kg به صورت گاوژ داده شد. ۲۴ ساعت بعد از تزریق آخرین دوز، موش‌ها به طریق جابجایی مهره‌های گردنی قربانی شدند.

## پارامترهای اسپرم

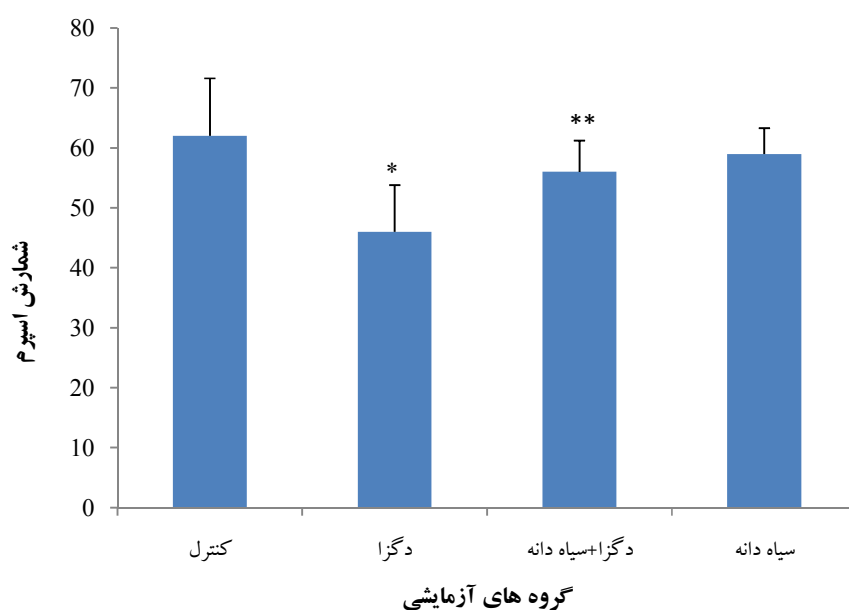
بعد از قربانی کردن موش‌ها به طریق جا به جایی مهره‌های گردنی، شکم آن‌ها را باز کرده با مشخص کردن بیضه‌ها و مشخص نمودن اپی دیدیم، دم اپی دیدیم و ابتدای دفران را جهت خروج اسپرم‌ها ۳ برش مایل می‌زنیم. اسپرم‌های خارج شده در محیط HTF به مدت ۱۰ دقیقه و در دمای ۳۷°C قرار می‌گیرند تا متفرق گردند و با استفاده از لام نئوبار و در زیر میکروسکوپ نوری شمارش اسپرم‌ها، تعداد سلول‌های نرمال، آنورمال و حرکت اسپرم‌ها مورد بررسی قرار گرفت.

## یافته‌ها

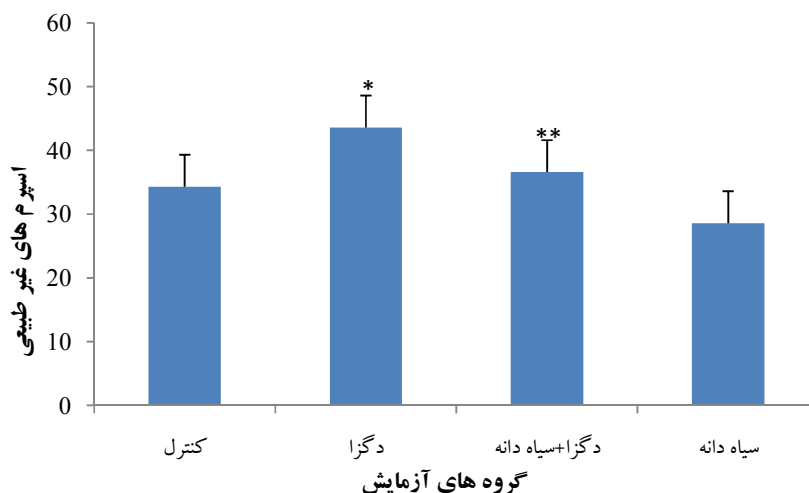
در این بررسی پارامترهای سیمین از نظر تعداد اسپرم، انواع حرکت‌های اسپرم (سریع، آهسته، درجا، بدون حرکت) و مورفولوژی اسپرم مورد مطالعه قرار گرفتند:

دگزاتازون) این کاهش جبران شد و تعداد اسپرم‌ها افزایش یافتند ( $p=0/02$ ) (نمودار ۱). کاهش معنی‌دار تحرک اسپرم و افزایش معنی‌دار اسپرم‌های غیر نرمال در گروه دریافت کننده دگزاتازون به نسبت گروه کنترل نشان داده شد که در گروه درمان (دگزاتازون و سیاه‌دانه) افزایش تحرک اسپرم و کاهش اسپرم‌های غیر نرمال دیده شد (نمودار ۲ و ۳) ( $p<0/05$ ).

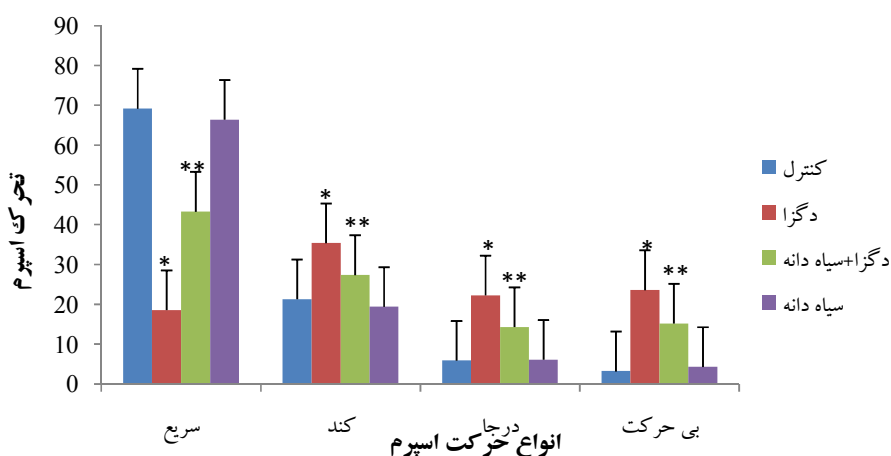
از نظر شمارش اسپرم، تعداد اسپرم‌ها در ۵ میدان مختلف میکروسکوپ نوری در هر موش مورد بررسی قرار گرفتند. در این بررسی اختلاف معنی‌داری بین گروه کنترل و سیاه‌دانه در مورد تعداد اسپرم، تحرک اسپرم و نرمال بودن اسپرم مشاهده نشد ( $p=0/02$ ). کاهش معنی‌دار تعداد اسپرم در موش‌های دریافت کننده دگزاتازون نسبت به گروه کنترل نشان داده شد که در گروه درمان (سیاه‌دانه و



نمودار ۱. ارزیابی شمارش اسپرم در گروه‌های آزمایشی. علامت \* نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار گروه دگزا با کنترل و علامت \*\* نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار گروه درمان با گروه دگزاتازون است ( $p<0/05$ ).



نمودار ۲. ارزیابی اسپریم های غیر نرمال در گروه های آزمایشی. علامت \* نشان دهنده اختلاف معنی دار گروه دگزا با کنترل و علامت \*\* نشان دهنده اختلاف معنی دار گروه درمان با گروه دگزامتازون است ( $p < 0.05$ ).



نمودار ۳. ارزیابی حرکات اسپریم در گروه های آزمایشی. علامت \* نشان دهنده اختلاف معنی دار گروه دگزا با کنترل و علامت \*\* نشان دهنده اختلاف معنی دار گروه درمان با گروه دگزامتازون است ( $p < 0.05$ ).

گلوکوکورتیکوئیدها و آگونیست های صنایع آنها قادر به کنترل متابولیسم کربوهیدرات ها، پروتئین ها و چربی ها هستند و همچنین توانائی تنظیم عملکرد سیستم ایمنی و دستگاه قلب و عروق را دارا می باشند. گلوکوکورتیکوئیدها با کاهش سطح تستوسترون اسپریماتوزن را مختل می کند (۱۵). گلوکوکورتیکوئیدها دارای اثرات فیزیولوژیک متعدد و گسترده ای هستند. آنها بر روی متابولیسم کربوهیدرات ها، چربی ها و پروتئین ها، تعادل آب و الکترولیت ها (۱۶)، دستگاه قلب و عروق (۱۷)، دستگاه

### بحث

مطالعات زیادی ناشی از تأثیرات مخرب دگزامتازون بر سیستم تناسلی انجام شده است در این مطالعه سعی شده است که اثر محافظتی سیاه دانه بر عوارض جانبی این دارو در سیستم تناسلی مردانه بررسی شود. دگزامتازون یکی از پر فروش ترین داروها در سراسر دنیا محسوب می شود. این دارو جزء دسته داروهای گلوکوکورتیکوئیدی است. گلوکوکورتیکوئیدها بر فعالیت تقریباً تمام سلول های بدن تأثیر دارند و بیان ۱۰٪ از ژن های انسان را کنترل می کنند.

متوجه شدند که تجویز تیتانیوم باعث کاهش پارامترهای اسپرم می‌شود (۲۵).  
 Gao و همکارانش (۲۰۰۳) در تحقیقات خود نشان دادند که افزایش در غلظت گلوکوکورتیکوئیدهای کاهش تعداد سلول‌های لیدیگ می‌شود (۲۶). در این تحقیق همچنین مشخص شد که سیاه‌دانه به طور مؤثری باعث افزایش شمارش اسپرم و کاهش اسپرم‌های غیرطبیعی می‌شود که بیانگر اثرات مفید سیاه‌دانه است. سلیمانی و همکاران (۱۳۹۴) نشان دادند که سیاه‌دانه باعث بهبود حرکت اسپرم و افزایش حیات اسپرم می‌شود (۲۷) در این مطالعه پارامترهای اسپرم توسط سیاه‌دانه تغییرات مثبتی داشته است؛ که مشابه تحقیقات Ghilissi و همکاران (۲۰۱۲) بود که ثابت کردند سیاه‌دانه باعث بهبود حرکت اسپرم و افزایش حیات اسپرم می‌شود (۲۸).

#### نتیجه‌گیری

مطالعه حاضر نشان داد که دگزامتازون اثرات مخرب بر سیستم تناسلی و کاهش باروری دارد. سیاه‌دانه به عنوان یک عامل محافظتی می‌تواند در کاهش این اثرات منفی دگزامتازون نقش داشته باشد.

#### تشکر و قدردانی

بودجه این تحقیق که حاصل پایان‌نامه کارشناسی ارشد سعید میری مصوب با کد ۹۵/۵۹ در تاریخ ۹۵/۱۰/۲۷ است و محل انجام طرح آزمایشگاه سلولی و مولکولی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی استان کردستان بوده است. این طرح از محل اعتبارات معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کردستان در سال ۱۳۹۶ تأمین شده است که بدین وسیله از این معاونت تشکر می‌گردد.

ایمنی (۱۸)، استخوان (۱۹) و تشکیل عناصر خونی (۲۰) تأثیر دارند. Chris و همکارانش (۲۰۰۶) گزارش دادند دگزامتازون باعث ایجاد آپوتوز در نوروهای دانه‌ای مخچه در رت می‌شود. آن‌ها متوجه شدند ۲ ساعت پس از تجویز دگزامتازون کاسپاز-۳ و عامل القاء‌کننده آپوتوز فعال می‌شوند (۲۱).  
 اسپرماتوزن فرآیندی کاملاً وابسته به هورمون به ویژه تستوسترون است و بدیهی است هر گونه تغییر در میزان این هورمون می‌تواند در اسپرماتوزن مؤثر باشد. Nadies و همکارانش (۱۹۹۹) با استفاده از EDS (اتان-دی متان-سولفانات) که یک ماده سمی برای سلول‌های لیدیگ است، سلول‌های لیدیگ را از بین بردند و در نتیجه سطوح تستوسترون در رت کاهش یافت. آن‌ها متوجه شدند که به دنبال تجویز EDS آپوتوز در سلول‌های زایا افزایش قابل ملاحظه‌ای می‌یابد (۲۲).

در این مطالعه نشان دادیم که دگزامتازون باعث کاهش تعداد اسپرم‌ها، حرکت اسپرم و بدشکلی اسپرم‌ها می‌شود که این نتایج مشابه نتیجه تحقیق Fioratti و همکاران (۲۰۱۲) بود، که نشان دادند که دگزامتازون باعث کاهش اسپرم و کاهش حرکت پیش‌رونده و سرعت اسپرم و در نهایت باعث کاهش باروری آزمایشگاهی می‌شود (۲۳). حرکات اسپرم می‌تواند تأثیری باشد بر اثر مواد مخرب بر اسپرم‌ها (۲۴).

اسپرماتوزن فرآیندی کاملاً وابسته به هورمون به ویژه تستوسترون است و بدیهی است هر گونه تغییر در میزان این هورمون می‌تواند در اسپرماتوزن مؤثر باشد. در مطالعه‌ای که توسط ابوذری پور و همکارانش (۱۳۹۸) صورت گرفت

#### منابع

1. Nudel D, Monoski M, Hipshultz L. Common medication and drug how they affect male fertility. Urol Clin North Am. 2002; 29(4), 965-73.

2. Oppong E, Cato A. Effects of Glucocorticoids in the Immune System. *Adv Exp Med Biol.* 2015;872:217–33.
3. Iyalomhe G, Iyalomhe SI. Current use of corticosteroids in rheumatology. *Int Res J Pharm Pharmacol.* 2013; 3(6):85-90.
4. Pitter JN, Flower RJ. The adrenal cortex. *Pharm.* 2007; 427-436.
5. Jia W, Wu J, Jia H, Yang Y, Zhang X, Chen K, et al. The peripheral blood neutrophil-to-lymphocyte ratio is superior to the lymphocyte-to-monocyte ratio for predicting the long-term survival of triple-negative breast cancer patients. *PLoS One.* 2015;10(11).
6. Sean CS, Paul SB. the complete drug reference. *Pharm Press.* 2007;421-439.
7. Orr TE, Mann DR. Role of glucocorticoid in the stress induced suppression of testicular steroidogenesis in adult male rats. *Horm Behav.* 1992; 26: 350-363.
8. Khorsandi L, Mirhoseini M, Mohamadpour M, Orazizadeh M, Khaghani S. Effect of curcumin on dexamethasone-induced testicular toxicity in mice. *Pharm Biol.* 2013;51(2):206-12
9. Mohammed T I, Bishwajit G, Thoufiqul A, Sarrin S. Nigellalology: A Review on Nigella Sativa. *MOJ.* 2017;3(6): 00056
10. Shafiq H, Ahmad A, Masud T, Kaleem M. Cardio-protective and anti-cancer therapeutic potential of Nigella sativa. *Iran J Basic Med Sci.* 2014;17(12):967-79.
11. Zeinab S, Badlishah Sham B, Hossein B. Antioxidant Property, Thymoquinone Content and Chemical Characteristics of Different Extracts from Nigella sativa. *J Am Oil Chem Soc.* 2014; 91(2): 295-300.
12. Shariatzadeh MA, Hajian Karahroodi A. Evaluation of the effect of Nigella sativa oil on sperm parameters in adult NMRI mice treated with Bisphenol A. *AMUJ.* 2015; 17(93): 47-5.
13. Chrysis D, Ritzen E M and Sävendahl L. Growth retardation induced by dexamethasone is associated with increased apoptosis of the growth plate chondrocytes. *J Endocrinol.* 2003;176, 331–337.
14. Ait Mbarek L, Ait Mouse H, Elabbadi N, Bensalah M, Gamouh A, Aboufatima et al.. Antitumor properties of blackseed (Nigella sativa L.) extracts. *Braz J Med Biol Res.* 2007; 40 (6): 839 – 47.
15. Julia CB. Glucocorticoids, exemplars of multi-tasking. *Br J Pharmacol* 2006; 147:258-268.
16. Munk A, Guyre PM, Holbrook NJ. Physiological functions of glucocorticoids and their relation to pharmacological actions. *Endor Rev.* 1984; 5: 25-44.
17. Pearl JM, Nelson DP, Schwartz SM. Glucocorticoids reduce ischemia-reperfusion-induced myocardial apoptosis in immature hearts. *Ann Thorac Surg.* 2002; 74: 830-836.
18. Jondal M, Pazirandeh A and Okret S. A role for glucocorticoids in the thymus. *Trends Immunol.* 2001; 22: 185-189.
19. Canalis E, Delany AM. Mechanism of glucocorticoid action in bone. *Acad Sci.* 2002; 966: 71-73.
20. Chauhan S, Leach CH, Kunz S, Bloom JW and Miesfeld RL. Glucocorticoid regulation of human eosinophil gene expression. *Mol Biol.* 2003; 84: 441-452.
21. Chris M, Minh T, Terje R, Jon L, Ragnhild P. Dexamethasone induces cell death which may be blocked by NMDA receptor antagonists but is insensitive to Mg<sup>2+</sup> in cerebellar granule neurons. *Brain Res Brain Res Rev.* 2006; 1070: 116-123.
22. Nandi S, Partha P, Zirkin BR. Germ cell apoptosis in the testes of Sprague Dawley rats following testosterone withdrawal by ethane 1, 2-dimethanesulfonate administration: relationship to Fas?. *Biol Reprod.* 1999; 61: 70–5.
23. Fioratti E, Villaverde A, Meli C, Tsunemi M, Papa F, Avarenga M, Influence of steroid anti-inflammatory drugs on viability and fertility of equine semen. *J Equine Vet Sci.* 2012;32 771-5.
24. El-Demerdash FM, Yousef MI, Kedwany FS, Baghdadi HB. Role of  $\alpha$ -tocopherol and  $\beta$ -carotene in ameliorating the fenvalerate-induced changes in oxidative stress, hemato-biochemical parameters, and semen quality of male rats. *J Environ Sci Health.* 2004;39:443–59.
25. Abouzaripour, M, Hosaini Bae, M, Rezaie, M.J, Nikkho, B., Khalesro, S.H, Daneshi, E. et al. Protective effect of Nigella sativa on sperm parameters in mice exposed to titanium dioxide during embryonic development. *Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences.* 2019; 60: 461-470.
26. Gao HB, Tong MH, Hu HY, You HY, Guo QS, Ge RS, Hardy MP. Mechanism of glucocorticoid-induced Leydig cell apoptosis. *Mol Cell Endocrinol.* 2003; 199: 153-63.
27. Soleimani MM, Shariatzadeh S, Azadpour M. Protective effect of Nigella sativa oil on the Bisphenol A induced-testicular toxicity in adult mice NMRI. *Journal of cell & tissue.* 2015; 6 : 87 - 96
28. Ghlissi Z, Hamden K, Saoudi M, Sahnoun Z, Zeghal KM, El Feki A, et al. Effect of Nigella sativa seeds on reproductive system of male diabetic rats. *Afr J Pharm Pharmacol.* 2012;6:1444-50A